

**NOUVELLE MÉTHODE DE DRAINAGE LYMPHATIQUE ET D'AMINCISSLEMENT
PAR UN MASSAGE PROFOND**



**www.annecalei.com
06 31 15 60 11
contact@annecalei.com**

NOUVELLE MÉTHODE DE DRAINAGE LYMPHATIQUE ET D'AMINCISSLEMENT PAR UN MASSAGE PROFOND

G.A.D.

GLISSEZ APPUYER DÉCOLLER

- Glisser → manœuvre de pression glissée
Appuyer → pression entre 10 et 20 kilogrammes
Décoller → décollement de Tissus mous des plants durs sous-jacents

L'action de « Glisser Appuyer » aura une action sur le drainage lymphatique que nous allons démontrer.

La manœuvre « Décoller » aura une action sur le phénomène de Mecanotransduction qui entraîne une réponse cellulaire des tissus lymphatiques fibroblastes et adipocytes.

L'ensemble de ces trois manœuvres permet d'obtenir des résultats très performants au niveau du drainage lymphatique, et une action amincissante.

I - RAPPEL DE LA COMPOSITION DE LA CELLULITE

A ce sujet, pour plus de détails, voir en annexe 1 l'article du Dr. Philippe Blachemaison.

(*Classification des cellulites - conséquences thérapeutiques*)

Qu'est-ce que la cellulite ?

Définie uniquement par un aspect de « peau d'orange » spontanée ou lors du pincement cutané, la cellulite est une augmentation de la masse grasse de l'hypoderme superficiel, souvent associée à un phénomène de rétention d'eau et à une fibrose péri-adipocytaire.

Ces trois acteurs, rétention d'eau, fibrose, et adipose, sont présents à des degrés variables et permettent de définir trois formes de cellulite. Chacune de ces formes peut bénéficier d'un traitement agissant préférentiellement sur la rétention d'eau, la fibrose, ou l'adipose (l'augmentation de la masse grasse).

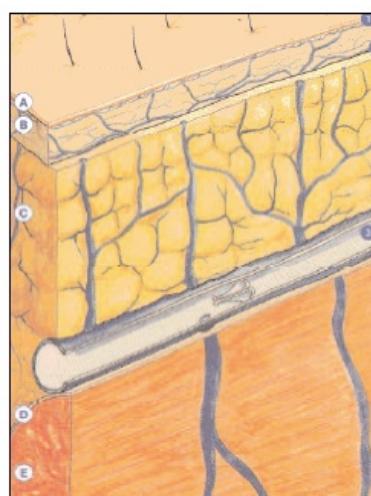


Figure 1
reproduite d'après l'article du Dr. Philippe Blachemaison,
(voir Annexe 1 du présent document). Extrait de : Nouv. Dermatol. 2007 ; 26: Suppl. 7 : 1-44)

Figure 1
reproduite d'après l'article du Dr. Philippe Blachemaison,

(voir Annexe 1 du présent document). Extrait de :

Nouv. Dermatol. 2007 ;

26: Suppl. 7 : 1-44)

Avec son aimable autorisation.

II - ACTION SUR LE DRAINAGE LYMPHATIQUE

1) Qu'est-ce que la rétention d'eau ?

Le cœur propulse le sang dans les artères. Ce sang est riche en oxygène et en éléments nutritifs (minéraux, vitamines, hormones...). Nos cellules vont utiliser ces substances pour fonctionner et elles vont rejeter les éléments utilisés ou dégradés. Ces déchets sont récupérés à 98% par le système veineux grâce à un système de pressions. Ils seront ensuite évacués en dehors des tissus puis éliminés du corps.

Les molécules trop grosses pour traverser la paroi dans les capillaires sanguins vont se retrouver « en attente » dans les tissus et elles vont être prises en charge par le système lymphatique. C'est le cas des protéines, toxines et agents pathogènes. Un déséquilibre filtration/réabsorption peut survenir, d'où le phénomène de rétention d'eau. Les tissus vont alors se gorgier d'eau, se gonfler.

La rétention d'eau correspond à une filtration supérieure à la réabsorption par les capillaires veineux et lymphatiques.

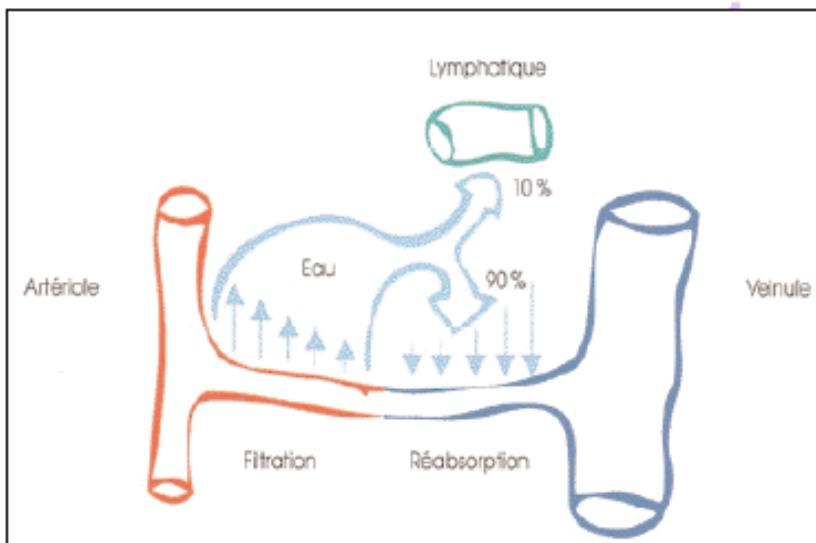


Figure 2: La rétention d'eau correspond à une filtration supérieure à la réabsorption par les capillaires veineux et lymphatiques

Figure 2

reproduite d'après l'article du Dr. Philippe Blachemaison,

(voir Annexe 1 du présent document). Extrait de : Nouv. Dermatol. 2007 ; 26: Suppl. 7 : 1-44)

Avec son aimable autorisation.

Pour obtenir un drainage, un mouvement de liquide d'un point A vers un point B, il faut créer un gradient de pression. À l'état normal physiologique, dans notre corps, suivant la posture debout assis couché, ou en activité, selon les contractions musculaires, les gradients de pression entre les compartiments lymphatiques vasculaires, et interstitiels, sont différents.

P. moy.interstitiel : 10 mnhg
interstitiel

P. réabsorption > P. lymphatique - P.

P. moy lymphatique : 20 mnhg

> 20 - 10
> 10

P. moy vasculaire : 30 mnhg

P réabsoption < P. vasculaire - P.interstitiel

P réabsoption < 30 - 10
P réabsoption < 20

Pour que le liquide soit réabsorbé du compartiment interstitiel, il faudra donc que la pression soit comprise entre 10 et 20 mnhg

$$10 < P \text{ réabsoption} < 20$$

- la surface de la main étant d'environ 20 cm^2
- la surface totale de la peau d'un corps humain environ $1,7 \text{ m}^2$
- la surface totale des lymphatiques est de 6300 m^2 dans le corps humain
- la surface des lymphatiques correspondant à la surface massée par une main est donc de 6300 m^2 dans le corps humain

$$S = \frac{6300 \times 0,2}{1,7}$$

$$S = 741 \text{ m}^2$$

Correspondance des pressions:

$$1 \text{ mmhg} = 0,0133 \text{ Pa}$$

$$10 \text{ mmhg} = 0,133322 \text{ Pa}$$

$$20 \text{ mmhg} = 0,266644 \text{ Pa}$$

$$P(\text{Pa}) = \frac{F(N)}{S(\text{m}^2)}$$

$$F = P \times S$$

Pour 10 mmhg

$$F = 0,133322 \times 741$$

$$F = 98 \text{ N}$$

$$F = 9,8 \text{ Kg}$$

Pour 20 mmhg

$$F = 0,266644 \times 741$$

$$F = 197 \text{ N}$$

$$F = 19,7 \text{ Kg}$$

La force de pression à exercer doit donc être comprise entre 10 et 20 Kg.

2) D'où vient le phénomène de rétention d'eau ?

Il provient d'un mauvais retour veineux ou lymphatique. Mais il peut également provenir d'un déséquilibre hormonal entre oestrogène et progestérone. Et enfin il peut provenir d'un déséquilibre entre les pressions osmotiques intra et extra cellulaires .

3) Actions du massage sur le drainage lymphatique

Une action de pression comprise entre 10 et 20 Kg peut donc permettre de faciliter la réabsorption du liquide interstitiel vers les capillaires lymphatiques. Le massage augmente ainsi considérablement la circulation lymphatique.

A ce sujet, pour plus de détails, voir en Annexe 2 l'article :

« Mesure de la circulation de la lymphe de la peau par la clairance isotope - la fiabilité, la reproductibilité, la dynamique d'injection, et l'effet de massage. »

(par Mortimer PS , Simmonds R , Rezvani M , M Robbins , Hopewell JW , Ryan TJ)

Département de dermatologie, Hôpital Slade, Oxford, Royaume-Uni
publication INVEST DERMATOL Décembre 1990

Il se produit une chasse immédiate du liquide interstitiel vers les compartiments lymphatiques. De plus on agit également sur le phénomène de Mecanotransduction.

III - LE PHÉNOMÈNE DE MECANOTRANSDUCTION

1 - Qu'est-ce que le phénomène de Mecanotransduction ?

La mécanotransduction est une stimulation mécanique d'étirement des cellules qui entraîne une réponse biologique. A ce sujet, consulter en Annexe 3 l'article intitulé:

« Nouveau dispositif pour étirer plusieurs échantillons de tissus avec des motifs variables: application de la réglementation de l'ARNm dans les constructions du génie tissulaire »

(par Jasmin Imsirovic , Kelsey Derricks , Jo Ann Buczek-Thomas , Celeste B. Rich , Matthew A. Nugent et Béla Suki)

Extrait du Dossier spécial: « Les soins de santé de biomatériaux et de bioingénierie de demain»
(publication de Landes Bioscience - 01/04/2013)

Différents stimuli mécaniques ou étirements cycliques réguliers amènent les cellules à modifier leur production d'ARN messager (intermédiaire utilisé par les cellules pour la synthèse des protéines) à condition que ces stimuli soient variables. L'effet de Mecanotransduction concerne les trois types de cellules suivantes:

- les cellules endothéliales des parois vasculaires veineuses et lymphatiques
- les fibroblastes du tissu interstitiel
- les adipocytes

Action sur les cellules endothéliales des parois vasculaires :

Voir (Annexe 4) l'article :

«Mécanotransduction dans les cellules endothéliales lymphatiques»

*par de Rossi A , Weber E , G Sacchi , Maestrini D , Di Cintio F , R Gerli
(publication du Département des Neurosciences - Section de médecine moléculaire de
l'Université de Sienne, Italie. - Septembre 2007)*

Dans le corps, les cellules sont soumises à des stimuli mécaniques irréguliers, et variables, par exemple respiratoires. L'effet du massage « Glisser Appuyer Décoller » permet de recréer les différences de pressions naturelles présentes dans le corps humain. Le phénomène d'étirements mécaniques (ou Strech) de ces cellules entraîne une réponse. Cette réponse se manifeste par une action cellulaire, chimique, au niveau du noyau de la cellule. Le noyau a la fonction de contrôler les réactions chimiques de la cellule. Le liquide interstitiel, responsable de la rétention d'eau entre les cellules, pourra alors être éliminé plus facilement.

De plus lorsque le liquide interstitiel monte en pression, les cellules endothéliales sont étirées et les jonctions intercellulaires sont alors ouvertes pour absorber le liquide interstitiel .

Voir également (Annexe 5), l'article :

« Mechanoinduction of lymph vessel expansion »

*par de Lara Planas-Paz, Boris Strilic, Axel Goedecke, Georg Breier, Reinhard Fassler,
Eckhard Lammert
The EMBO Journal / (European Molecular Biology Organization - publication 2012)
cote 31, ref 788-804 - 2012*

La Mecanotransduction est donc essentielle pour le développement normal de l'homéostasie. L'homéostasie est le processus de régulation par lequel l'organisme maintient les différentes constantes du milieu intérieur (ensemble des liquides de l'organisme) entre les limites des valeurs normales du fluide. Ces liquides jouent un rôle fondamental dans l'organisme : en dehors de baigner les cellules de celui-ci, ils permettent les échanges et les transferts d'éléments nutritifs et d'éléments éliminés par les cellules.

Avec ce massage on apporte une pression importante avec stimulation mécanique des cellules, la chasse du liquide est immédiate et les cellules paresseuses redeviennent actives avec une modification chimique au niveau de leur noyau.

2 - Action sur les fibroblastes:

L'action de stretching sur les fibroblastes permet de diminuer la dégradation du collagène.

voir (Annexe 6) l'article:

« Les effets biologiques d'étirement cellulaire sur les fibroblastes dermiques humains. »

par Huang C , K Miyazaki , Akaishi S , Watanabe A , Hyakusoku H , R Ogawa .

publication de « USA National Library of Medicine / National Institutes of Health - », d'après une publication originale du Département de Chirurgie Plastique, Reconstructrice et Esthétique Nippon Medical School, Tokyo Japon et du Département de la chirurgie plastique, Hôpital général Meitan, Beijing, Chine.) - 20 août 2013

Ces effets biologiques sont dus au phénomène de Mecanotransduction .

3 - Action sur les adipocytes:

Voir (Annexe 7), l'article intitulé:

« Adipogenesis is inhibited by brief, daily exposure to high-frequency, extremely low-magnitude mechanical signals »

par C. T. Rubin, E. Capilla, Y. K. Luu, B. Busa, H. Crawford, D. J. Nolan, V. Mittal, C. J. Rosen, J. E. Pessin, and S. Judex

Article extrait de « Actes de l'Académie nationale des sciences des États-Unis », mis à disposition à titre gracieux par la National Academy of Sciences (Proc Natl Acad Sci U S A. 2007 November 6; 104(45): 17879-17884. Publié en ligne le 24 Octobre 2007 sous la référence PMCID: PMC2077057 -

L'exposition à des signaux mécaniques freine de 30 % l'adipogenèse (la fabrication du tissu adipeux et le stockage de lipides par les adipocytes). Plus de 9 semaines après, la production de matières grasses est toujours réduite de 22 %.

Ce résultat est atteint non pas en métabolisant le tissu adipeux existant mais en supprimant la différenciation des cellules souches en adipocytes. De plus on peut considérer que ces cellules sont dotées d'une mémoire car le métabolisme d'inhibition reste actif même après la disparition des stimuli.

IV - DESCRIPTIF DE L'ÉTUDE

1 - Matériels et méthode

L'étude a été réalisée sur 10 patients (neuf femmes, un homme) qui ont eu 15 séances de massage de 30 minutes à raison de trois séances par semaine. L'étude s'est déroulée pendant cinq semaines, les mesures ont été prises à J0, J15 et J37.

Les critères d'inclusion étaient : un âge compris entre 20 et 65 ans, aucune pathologie en cours, aucune femme enceinte ou allaitante, aucun programme d'amincissement quelconque, ni régime alimentaire particulier. Les patients ont suivi le Programme National Nutrition Santé.

8 patients avait un IMC inférieur à 25

2 patients avait un IMC supérieurs à 30

2 - Résultats

RÉSULTATS ÉTUDE ANNE CALI			
RÉSULTATS OBTENUS EN 15 SÉANCES DE MASSAGES DE 30 MINUTES, ACCOMPAGNÉS D'UNE ACTIVITÉ PHYSIQUE MODÉRÉE ET D'UNE ALIMENTATION ÉQUILIBRÉE (RECOMMANDÉE PAR LE PROGRAMME NATIONAL NUTRITION SANTÉ)			
	Perte minimale	Moyenne	Perte maximale
POIDS	1,3	4,06	7
Taille en cm	2	8	17
Tour de hanches en cm	1	4,25	7
Tour de cuisses en cm	1	3,7	6
Épaisseur de l'hypoderme cuisse en mm	2,5	6,03	12,6
Pourcentage de masse graisseuse	2,1	3	7,1
Masse musculaire en kg	+ 4,9 kg	0,57	5,4 kg
IMC	0,4	1,26	2,5

MÉTHODE D'AMINCISSLEMENT ANNE CALI

MESURES EFFECTUÉES SUR UNE PATIENTE ÂGÉE DE 49 ANS

RESULTATS QUANTITATIFS	05/03/13	12/03/13	19/03/13	25/03/13	03/04/13	10/04/13	17/04/13	Évolution
Tour de taille en cm	93	78	75	75	76	76	76	-18,27 %
Tour de hanches en cm	105	103	104	103	103	102	101	- 3, 80 %
Tour de cuisses en cm	66	62	62	61	60	60	60	-9,09 %
Épaisseur de l'hypoderme cuisse en mm	30	28,9	27,8	25	21	20	19	-36,66 %
Épaisseur de l'hypoderme ventre en mm								
Poids en kg	76,1	72,6	72,4	71,8	72,4	70,7	69	-9,32 %
Pourcentage de masse graisseuse	38,1	37,1	35,6	34,5	33,42	32,21	31	-19,48 %
IMC	25,6	24,7	24,4	24,2	24,1	24,1	24,2	-5,46 %
Nombre de jours	1	8	15	21	28	35	42	
Masse musculaire en kg	44,8	44	44,1	44,2	45	45,4	45,8	+ 2,23 %



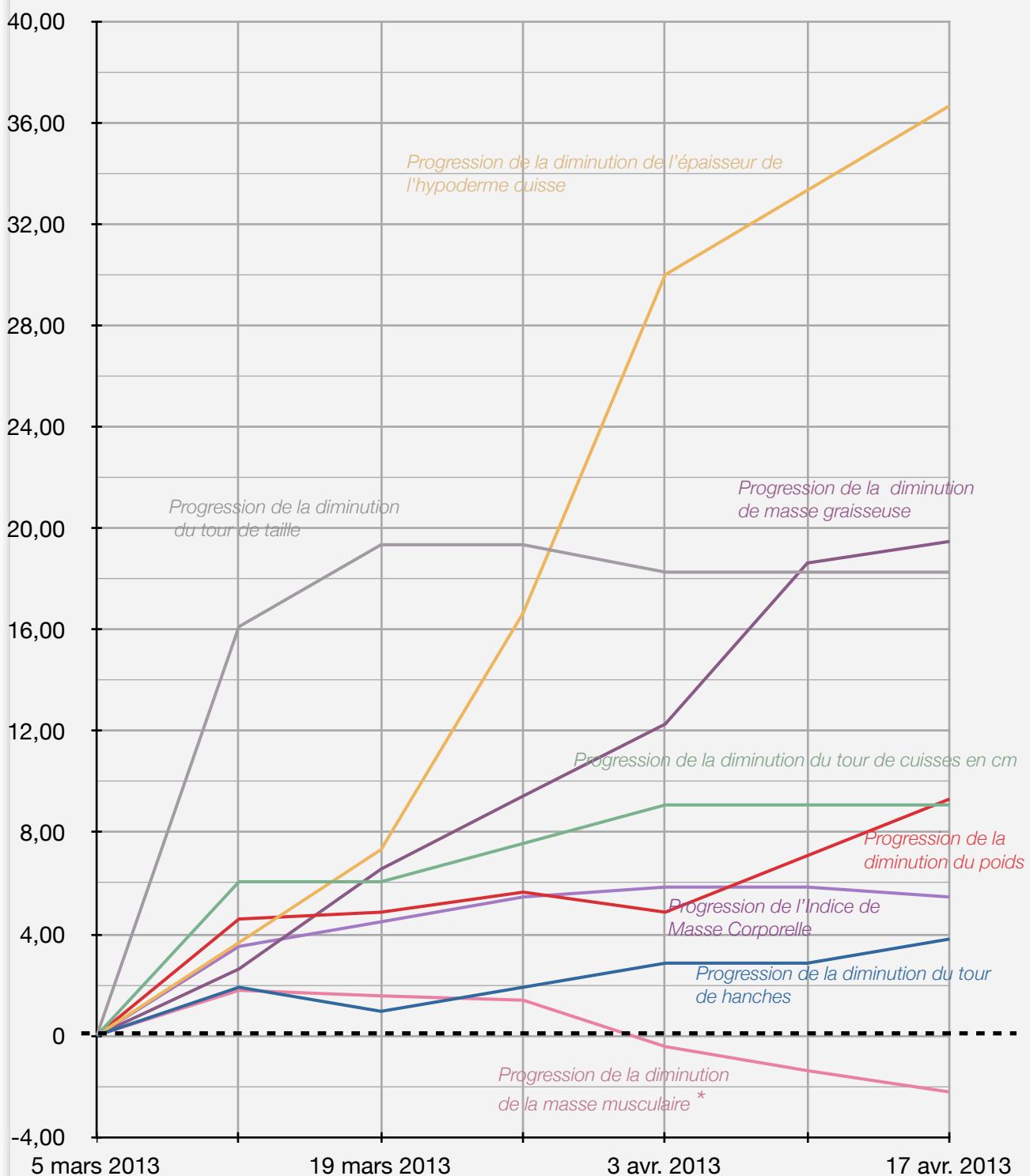
Données relevées par le Dr. Philippe BLANCHEMAISON



Données relevées par Mme. Anne CALI



EVOLUTION DES RÉSULTATS OBTENUS (POURCENTAGE)



* (les valeurs **négatives** correspondent pour le sujet à un **accroissement** de sa masse musculaire, toujours exprimée en pourcentage)

Dans le cadre de notre étude, les pertes pour la taille sont en moyenne de 8 cm, et pour les cuisses en moyenne de 3,7 cm. **La réduction de l'hypoderme en moyenne de 6,03 mm nous montre bien que la réduction de circonférence en centimètres n'est pas liée qu'à la réduction de l'hypoderme, mais au drainage.**

Voir (Annexe 8), l'article écrit d'après l'étude de Brightman :

Amélioration des bras et post-partum abdominale et le flanc graisse sous-cutanée dépôts et relâchement de la peau en utilisant une radiofréquence bipolaire, infrarouge, vide et dispositif mécanique de massage. (*Improvement in arm and post-partum abdominal and flank subcutaneous fat deposits and skin laxity using a bipolar radiofrequency, infrared, vacuum and mechanical massage device*)

par Brightman L , E Weiss , Chapas AM , Karen J , Hale E , L Bernstein , Geronemus RG .
publication du «Laser & Skin Surgery Center of New York», New York, USA. - Décembre 2009 -
référence 41(10):791-8. doi 10.1002/lsm.20872.

La combinaison d'Infrarouges, Radiofréquence bipolaire, d'aspiration, et Massage mécanique Velashape permet d'obtenir en 16 séances sur 10 personnes une moyenne de réduction de circonférence de 1,43 cm.

Abcoq et Al ont étudié l'endermologie sur des porcs et n'ont constaté aucune diminution du tissu sous-cutané au niveau de l'hypoderme.

Voir (Annexe 9), l'article intitulé :

« L'analyse des effets de profonds massages mécaniques sur des modèles porcins. » / (Analysis of the effects of deep mechanical massage in the porcine model.)

par Adcock D, Paulsen S, Jabour K, Davis S, Nanney LB, Shack RB.
publication de « USA National Library of Medicine / National Institutes of Health - », d'après une publication originale du Département de Chirurgie Plastique Reconstructive de 2001, sous la référence 108: 233-240.

Voir (Annexe 10), l'article suivant :

Nous avons constaté une diminution de l'hypoderme dans notre étude.

Montheux et Lafontan ont montré que le massage mécanique a amélioré la mobilisation des lipides et la diminution des circonférences après 12 séances, de 3,1 à 3,3 cm. **Soit des résultats inférieurs aux nôtres.**

« Utilisation de la technique de mycrodialyse pour évaluer la réactivité lipolytique fémorale de tissu adipeux après douze séances d'une technique de massage mécanique »/ (Use of the microdialysis technique to assess lipolytic responsiveness of femoral adipose tissue after 12 sessions of mechanical massage technique)

par Monteux C, M. Lafontan. J Eur Acad Dermatol Venereol
publication de décembre 2008, in «Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology»
Volume 22, Issue 12, sous la référence 1465-1470. Précédemment mis en ligne le 29 Août 2008

Conclusions

Bien que les techniques non invasives soient largement acceptées et continuent à être de plus en plus utilisées aujourd'hui, les recherches concernant ces traitements ont peu de validation scientifique .

En conclusion nous pouvons dire que le massage G.A.D. est une méthode sûre et efficace pour la réduction localisée des cellules graisseuses et les diminutions de circonférence de la taille des hanches et des cuisses par une action drainante.

Le G.A.D. ne prétend pas être un véritable substitut de chirurgie esthétique comme la liposuccion mais il peut être une bonne alternative pour les patients qui ne souhaitent pas de techniques invasives.

Enfin, il se propose comme une excellente méthode de drainage ce qui ouvre de nouvelles perspectives du traitement des lymphodèmes.

BIBLIOGRAPHIE & ANNEXES

ANNEXE 1

Article du Dr. Phillippe Blanchemaison,
Extrait de : Nouv. Dermatol. 2007 ; 26: Suppl. 7 : 1-44).

Ici reproduit avec son aimable autorisation. pages 15 à 20

ANNEXE 2

« Mesure de la circulation de la lymphe de la peau par la clairance isotope - la fiabilité, la reproductibilité, la dynamique d'injection, et l'effet de massage. »

(par Mortimer PS , Simmonds R , Rezvani M , M Robbins , Hopewell JW , Ryan TJ)
Département de dermatologie, Hôpital Slade, Oxford, Royaume-Uni
publication INVEST DERMATOL Décembre 1990

..... pages 21

ANNEXE 3

« Nouveau dispositif pour étirer plusieurs échantillons de tissus avec des motifs variables: application de la réglementation de l'ARNm dans les constructions du génie tissulaire »

(par Jasmin Imsirovic , Kelsey Derricks , Jo Ann Buczek-Thomas , Celeste B. Rich , Matthew A. Nugent et Béla Suki)

Extrait du Dossier spécial: « Les soins de santé de biomatériaux et de bioingénierie de demain»
(publication de Landes Bioscience - 01/04/2013)

..... pages 22 à 31

ANNEXE 4

«Mécanotransduction dans les cellules endothéliales lymphatiques»

par de Rossi A , Weber E , G Sacchi , Maestrini D , Di Cintio F , R Gerli
(publication du Département des Neurosciences - Section de médecine moléculaire de l'Université de Sienne, Italie. - Septembre 2007)

..... pages 32

ANNEXE 5

« Mechanoinduction of lymph vessel expansion »

par de Lara Planas-Paz, Boris Strlic, Axel Goedecke, Georg Breier, Reinhard Fassler, Eckhard Lammert
The EMBO Journal / (European Molecular Biology Organization - publication 2012) cote 31, ref 788-804 - 20

..... pages 33 à 54

ANNEXE 6

« Les effets biologiques d'éirement cellulaire sur les fibroblastes dermiques humains. »

par Huang C , K Miyazaki , Akaishi S , Watanabe A , Hyakusoku H , R Ogawa .

publication de « USA National Library of Medicine / National Institutes of Health - », d'après une publication originale du Département de Chirurgie Plastique, Reconstructrice et Esthétique Nippon Medical School, Tokyo Japon et du Département de la chirurgie plastique, Hôpital général Meitan, Beijing, Chine.) - 20 août 2013

..... pages 55

ANNEXE 7

« Adipogenesis is inhibited by brief, daily exposure to high-frequency, extremely low-magnitude mechanical signals »

par C. T. Rubin, E. Capilla, Y. K. Luu, B. Busa, H. Crawford, D. J. Nolan, V. Mittal, C. J. Rosen, J. E. Pessin, and S. Judex

Article extrait de « Actes de l'Académie nationale des sciences des États-Unis », mis à disposition à titre gracieux par la National Academy of Sciences (Proc Natl Acad Sci U S A. 2007 November 6; 104(45) : 17879-17884. /Publié en ligne le 24 Octobre 2007 sous la référence PMCID: PMC2077057 -

..... pages 56 à 67

ANNEXE 8

Amélioration des bras et post-partum abdominale et le flanc graisse sous-cutanée dépôts et relâchement de la peau en utilisant une radiofréquence bipolaire, infrarouge, vide et dispositif mécanique de massage.
(Improvement in arm and post-partum abdominal and flank subcutaneous fat deposits and skin laxity using a bipolar radiofrequency, infrared, vacuum and mechanical massage device)

par Brightman L , E Weiss , Chapas AM , Karen J , Hale E , L Bernstein , Geronemus RG .

publication du «Laser & Skin Surgery Center of New York», New York, USA. - Décembre 2009 - référence 41(10): 791-8. doi 10.1002/lsm.20872.

..... pages 69 à 70

ANNEXE 9

« L'analyse des effets de profonds massages mécaniques sur des modèles porcins. » / (Analysis of the effects of deep mechanical massage in the porcine model.)

par Adcock D , Paulsen S , Jabour K , Davis S , Nanney LB , Shack RB .

publication de « USA National Library of Medicine / National Institutes of Health - », d'après une publication originale du Département de Chirurgie Plastique Reconstructive de 2001, sous la référence 108: 233-240.

..... pages 71

ANNEXE 10

« Utilisation de la technique de mycrodialyse pour évaluer la réactivité lipolytique fémorale de tissu adipeux après douze séances d'une technique de massage mécanique »/ (Use of the microdialysis technique to assess lipolytic responsiveness of femoral adipose tissue after 12 sessions of mechanical massage technique)

par Monteux C , M. Lafontan. J Eur Acad Dermatol Venereol

publication de décembre 2008, in «Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology» Volume 22, Issue 12, sous la référence 1465-1470. Précédemment mis en ligne le 29 Août 2008

..... pages 72 à 73

quement superficielle, mais également parce qu'elle s'associe à deux autres phénomènes : la rétention d'eau et la fibrose (**Fig. 1**).

D'où vient ce phénomène de rétention d'eau ?

Avant tout d'une mauvaise circulation veineuse ou lymphatique. Mais il peut également provenir d'un déséquilibre hormonal entre cestrogènes et progestérone (hypercéstrogénie relative). Enfin, il peut provenir d'un déséquilibre entre les pressions osmotiques intra et extra-cellulaires.

Comment une mauvaise circulation veineuse ou lymphatique peut-elle entraîner une rétention d'eau ?

Notre corps contient plus de 60 % d'eau, autrement dit, une femme de 40 ans pesant 55 kg contient environ 30 litres (soit 30 kg d'eau) !

Sur ces 30 litres d'eau, les 3/5 (18 litres) sont liés à la matière qui constitue notre corps et entrent dans la composition des muscles, des os, de la peau... On l'appelle « eau intracellulaire » ; indispensable au bon fonctionnement de nos cellules, on ne peut et, surtout, on ne doit pas y toucher.

Reste environ 12 litres d'eau « extracellulaire » qui circulent dans l'ensemble du corps, dont 4 litres environ se retrouvent dans le sang, le liquide digestif, la salive, le liquide céphalorachidien...

Les 8 litres restants constituent ce que l'on appelle le liquide interstitiel. Il baigne nos cellules mais ne reste jamais immobile. C'est-à-dire que, chaque jour, ces 8 litres d'eau sortent de nos artères, lavent nos cellules et sont ensuite réabsorbés par nos veines et nos vaisseaux lymphatiques.

Cet extraordinaire mouvement de lavage quotidien suppose un équilibre parfait : il faut que la même quantité d'eau sorte des artéries et soit réabsorbée par les veines et les lymphatiques (équilibre de Starling). Au moindre déséquilibre, c'est-à-dire lorsque trop d'eau sort des artères ou trop peu d'eau est réabsorbée par les veines et les lymphatiques, de l'eau en excès restera et stagnera entre les cellules. C'est cet excès d'eau qui constitue ce que l'on appelle la rétention d'eau (**Fig. 2**).

Dans le pire des cas, cette quantité d'eau en excès peut aller jusqu'à doubler, c'est-à-dire passer de 8 à 16 litres. Ces 8 litres en excès peuvent déformer la silhouette, empâter la partie basse du corps au même titre qu'un stockage de graisse. La rétention d'eau peut entraîner un surpoids de 1,5 à 8 kg. C'est sur cette eau extracellulaire que l'on peut et que l'on doit agir par une action drainante ou un drainage.

Définitions et nomenclature

La cellulite est une lipodystrophie, c'est-à-dire

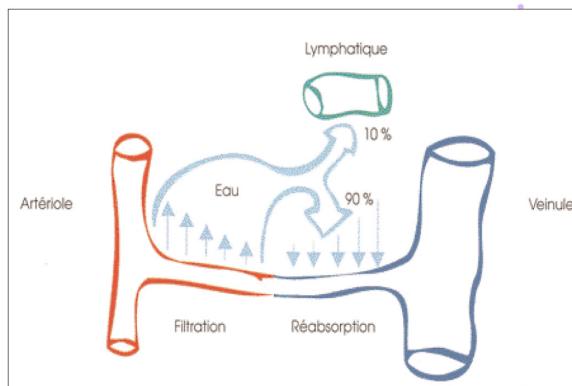


Figure 2: La rétention d'eau correspond à une filtration supérieure à la réabsorption par les capillaires veineux et lymphatiques

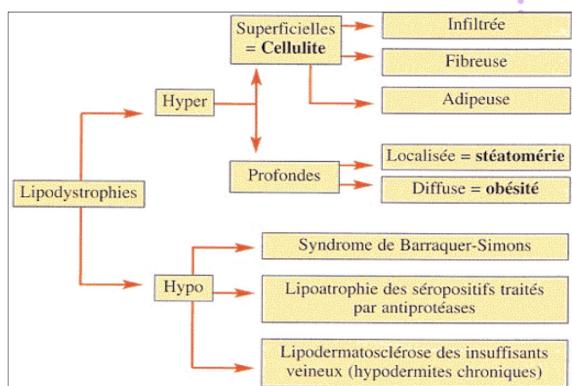


Figure 3: Définition de la cellulite, de la stéatométrie et de l'obésité

une dystrophie du tissu graisseux sous-cutané (1).

Il s'agit d'une hyperlipodystrophie superficielle, c'est-à-dire une augmentation du volume ou du nombre des adipocytes situés dans l'hypoderme superficiel (2).

Elle se distingue des hyperlipodystrophies profondes qui concernent les adipocytes situés dans la partie profonde de l'hypoderme, proche de l'aponévrose musculaire. Lorsque ces hyperlipodystrophies profondes sont localisées, on parle de stéatoméries, sites des liposuctions, et lorsqu'elles sont diffuses, on parle d'obésité (**Fig. 3**).

La cellulite ne se distingue pas seulement de la stéatométrie et de l'obésité par son siège, mais également par sa nature. En effet, il ne s'agit pas de la même graisse que celle de l'obèse. La graisse de la cellulite est compactée par le phénomène de fibrose péri-adipocytaire plus ou moins associé à un phénomène de rétention d'eau d'origine vasculaire.

Dans la lipodystrophie de l'obèse, ces deux acteurs, fibrose et rétention d'eau, sont absents. La graisse de l'obèse est plus facilement mobilisée



Figure 4: Aspect clinique de la cellulite
(Collection/Courtesy of P. Blanchemaison)

par le régime hypocalorique et l'exercice physique que celle de la cellulite.

Toutes les femmes qui cherchent à se débarrasser de leur cellulite se plaignent, en cas de régime draconien, de maigrir préférentiellement de la partie haute du corps.

C'est donc l'association de ces deux acteurs, fibrose et rétention d'eau, à la surcharge graisseuse qui définit la cellulite, ainsi que son siège dans la partie superficielle de l'hypoderme (3).

En fonction de l'importance de chacun de ces acteurs, rétention d'eau, fibrose ou adipose, on définira trois formes de cellulite, selon une nomenclature que l'on a appelée Classification R-FAT : Rétention d'eau, Fibrose et Adipose des Tissus.

Le terme adipose, qui figure dans le dictionnaire Larousse® en dix volumes, correspond à une accumulation graisseuse étendue du tissu sous-cutané. Le terme adiposité correspond à une accumulation locale de graisse dans les tissus sous-cutanés : nuque, abdomen (adiposité cervicale ou abdominale).

Lorsque l'accumulation de graisse est très localisée, de type kystique, on parlera de lipome, tumeur bénigne hypodermique provenant d'une hypertrophie limitée du tissu graisseux. Lorsque ces lipomes sont multiples, on parle de lipomatose.

En terme d'étymologie, deux préfixes sont utilisés indifféremment : adipo, qui veut dire graisse en latin, et lipo, qui veut dire graisse en grec. Ainsi l'adipolyse, fonte et mobilisation du tissu graisseux de réserve, est équivalente à la lipolyse ; de la même façon, l'adipogenèse et la lipogenèse signifient la fabrication et le stockage du tissu graisseux.

En ce qui concerne la cellulite, le traitement sera orienté en fonction de la prédominance de l'un des trois acteurs qui la composent.

Les trois formes de cellulite

L'aspect clinique suffit pour diagnostiquer la

cellulite : aspect de peau d'orange spontané ou apparaissant lors du pincement cutané, en position debout ou couchée (Fig. 4). Ses deux localisations les plus fréquentes sont la face externe des cuisses (grasse féminale, culotte de cheval) et la face interne des genoux (4).

Depuis le début du siècle dernier, plusieurs auteurs dont Lagèze (5), Allen (6), Braun, Falco, Nürnberger (7), Merlen (8, 9) et Curri (10) ont proposé diverses classifications et dénominations concernant la cellulite. Toutes cherchent à mettre en évidence les trois acteurs que sont la rétention d'eau, la fibrose et l'adipose qui apparaissent dans des termes tels que « paniculopathie œdémato-fibreuse » proposée par Curri.

Ces classifications fondées sur des constatations visuelles d'excellente qualité présentent l'inconvénient de se vouloir évolutives en stades successifs. Or, la confirmation d'une évolutivité linéaire de cette sorte nécessiterait une étude prospective sur une durée suffisamment longue, de plusieurs années, de l'évolution des différents paramètres graisseux, vasculaires et fibreux chez une même personne.

Or, ce qui intéressera au premier chef le thérapeute face à une patiente consultant pour sa cellulite, c'est de pouvoir quantifier, le jour de la consultation, l'importance des trois principaux acteurs. Ainsi, apparaîtront trois formes de cellulite : adipeuse, fibreuse ou œdèmeuse, suivant la prédominance de l'un des trois acteurs.

C'est pourquoi, en nous appuyant sur ce raisonnement, nous proposons une nouvelle classification appelée classification R-FAT de la cellulite : Rétention d'eau, Fibrose, Adipose des Tissus.

Cette classification s'appuie sur la mise au point d'un indice de rétention d'eau qui permet de quantifier par échographie de haute fréquence le phénomène de rétention d'eau. Cet indice a été validé au cours d'une étude prospective de 48 patients (11).

Chacun des trois acteurs de la cellulite, rétention d'eau, fibrose et adipose, peut alors être défini de la façon suivante :

- **l'adipose** : elle correspond à une augmentation du nombre ou du volume des adipocytes associée à un dysfonctionnement chronique de leur métabolisme (d'où le suffixe ose proposé). Ce dysfonctionnement a été bien décrit (12, 13) : altération des mécanismes de la lipogenèse (synthèse des triglycérides) et de la lipolyse (lyse des triglycérides en glycérol et acides gras). Ce mécanisme est lié à l'altération du fonctionnement d'une enzyme clé, la lipoprotéine lipase (LPL), et d'une hormone de découverte plus récente, la leptine. Ces altérations peuvent être d'origine génétique, hormonale ou vasculaire.

Il peut coexister un trouble de la captation du glucose par l'adipocyte, contrôlé par l'insuline, jouant un rôle fondamental dans la lipogenèse ;



ce mécanisme explique l'action négative de la consommation de sucre industriel sur la formation de la cellulite.

Enfin, les catécholamines (noradrénaline etadrénaline) sont les facteurs physiologiques les plus puissants agissant sur l'équilibre lipolyse-lipogénèse, pouvant expliquer l'action négative du stress sur la cellulite. Un trouble des récepteurs alpha 2 adrénergiques et des récepteurs des prostaglandines PGE1 et PGE2 ou des récepteurs PYY a également été quantifié dans la membrane des adipocytes de patients cellulitiques. À l'état physiologique, la stimulation de ces récepteurs provoque une inhibition de l'enzyme adényl-cyclase. L'abondance de ces récepteurs pourrait être en partie responsable de la faible activité lipolytique des adipocytes chez les patients porteurs de cellulite. C'est sur ce mécanisme qu'agit l'un des facteurs pharmacologiques lipolytiques les plus puissants connus : la caféine (14, 15).

Ces notions récentes permettent de comprendre que l'adipocyte ne doit plus être considéré comme une simple cellule de stockage des graisses. Il se comporte comme une véritable glande endocrine dont le mécanisme est très complexe (Fig. 4), intimement lié à des facteurs génétiques, hormonaux, vasculaires, alimentaires et nerveux.

- **La rétention d'eau :** chaque jour, plus de 20 litres d'eau sont filtrés à travers nos vaisseaux capillaires artériels pour être ensuite réabsorbés par nos capillaires veineux et lymphatiques (16). Ces véritables lavages quotidiens de nos cellules nécessitent un équilibre parfait entre la quantité d'eau qui est filtrée depuis les artéries vers le tissu graisseux et la quantité d'eau qui est réabsorbée du tissu graisseux vers les veinules et les lymphatiques. S'il existe un mauvais retour veineux ou une insuffisance lymphatique, ou si la perméabilité capillaire est modifiée du fait d'un déséquilibre hormonal, une partie de l'eau filtrée restera dans les tissus interstitiels et, dans le cas de la cellulite, dans les tissus graisseux péri-adipocytaires. D'où les fameux « lacs liquidiens » observés par Lageze, Allen, Braun et Falco, ainsi que Merlen et Curri. Cette rétention d'eau concerne le derme et l'hypoderme, d'où la possibilité de la mesurer au niveau du derme, partie la plus accessible à l'échographie de haute fréquence (11, 17-20).

- **La fibrose :** consécutive au passage d'eau et de peptides incomplètement dégradés dans le tissu conjonctif interstitiel, elle est considérablement majorée par le phénomène de glycation du collagène. Une hyperglycémie modérée et transitoire liée à une consommation excessive de sucres industriels, associée à une insuffisance du capital musculaire, va entraîner un phénomène de pontage des protéines du collagène péri-adipocytaire de même nature que celui que l'on retrouve dans des pathologies telles que la cataracte, le diabète et l'artériosclérose. Ce collagène

glyqué enserre les lobules graisseux dans une gangue fibreuse, caractéristique de la cellulite, visible en microscopie électronique (Fig. 5) et absente chez l'obèse.

En pratique, il est possible de consommer des sucres industriels, phénomène qui est devenu considérable chez l'humain depuis deux siècles, à condition d'avoir un capital musculaire périphérique suffisamment important pour métaboliser le sucre sanguin. Plus de 40 % du métabolisme du sucre devrait se faire dans nos muscles (le cerveau en métabolisant environ 20 %). Toute augmentation de la consommation de sucre chez une personne ayant un capital musculaire insuffisant entraînera une hyperglycémie modérée et transitoire, permettant la survenue du phénomène de glycation du collagène péri-adipocytaire, à l'origine de la cellulite fibreuse (21).

Enfin, des études sur les métalloprotéinases sécrétées par les fibroblastes ont également montré le rôle des modifications qualitatives et quantitatives du collagène sur la fibrose péri adipocytaire (22).

Comment reconnaître le type de cellulite ?

Si l'indice de rétention d'eau est une manière fiable et reproductible de quantifier la rétention d'eau, la clinique suffit, dans la majorité des cas, pour distinguer les trois formes de cellulite.

Il est possible de s'aider d'un outil simple, le Liposcore® (Encadré I).

Deux autres types sont fréquents : les cellulites mixtes, adipeuses avec rétention d'eau (égalité de A et de B), les cellulites mixtes adipo-fibreuses (égalité de B et de C).

Ce test a été validé sur un suivi de 84 patientes et s'est révélé suffisamment sensible et spécifique, c'est-à-dire que les questions sont assez discriminatives pour distinguer les 3 types de cellulite, mais leur valeur diffère d'une question à l'autre : c'est pourquoi on augmente la sensibilité du test en gardant un nombre de questions élevé.

Un phénomène de rétention d'eau existe si l'une au moins des questions suivantes a une réponse positive :

- si la patiente éprouve des sensations de pieds ou de chevilles gonflés en fin de journée, ou à la chaleur ;
- si elle éprouve des sensations de gonflement avant ou pendant les règles ;
- si elle a constaté des variations de poids supérieures à 1 kg en moins de 48 heures.

La fibrose est évidente à la palpation lorsqu'elle existe (cellulite indurée), de même que l'adipose, parfois associées à la rétention d'eau.



Figure 5 :
Fibrose péri-adipocytaire (collagène glyqué) visible en microscopie électronique au niveau de la graisse féminale (Collection/Courtesy of P. Blanchemaison)

Test : Déterminez votre type de cellulite grâce au Liposcore® (autoquestionnaire d'après P. Blanchemaison)

« Pour savoir si votre cellulite est plutôt adipeuse (excès de masse graisseuse), fibreuse (indurée du fait de la perte de souplesse des fibres collagénées qui entourent les adipocytes) ou avec rétention d'eau (liée à une mauvaise circulation veineuse ou lymphatique), répondez aux questions suivantes :

1 - Vous avez moins de 30 ans (A), entre 30 et 50 ans (B), plus de 50 ans (C)

2 - Dans votre famille, avez-vous déjà entendu d'autres femmes se plaindre de gonflements des jambes (A), d'excès de poids (B), de cellulite « indélogable » (C) ?

3 - Votre cellulite est présente de façon diffuse sur les hanches ou les jambes (A) ou sur une seule région de votre corps (les hanches ou la face interne des genoux) (B)

4 - Avez-vous un excès de poids par rapport au poids où vous vous sentez en forme ?

Oui, mais variable d'une semaine à l'autre (A), oui mais variable d'un âge à l'autre (adolescence, grossesse, ménopause) (B), oui mais toujours stable ou croissant (C)

5 - Souffrez-vous parfois de la sensation de gonflement des chevilles (A), de jambes lourdes (B), de douleurs au pincement de la peau des jambes (C)

6 - Avez-vous constaté l'apparition de veinules visibles sur vos jambes (A), de bourrelets graisseux (B) ou de zones indurées dans la moitié inférieure du corps par rapport à la moitié supérieure (C)

7 - Vous estimatez avoir de la cellulite depuis moins de un an (A), de un à cinq ans (B), depuis plus de cinq ans (C)

8 - Dans votre régime alimentaire, vous avez une préférence pour les aliments salés (B), les aliments gras (B), les aliments sucrés (C)

9 - Dans la répartition de votre alimentation, vous mangez surtout le matin (A), le soir (B), entre les repas (C)

10 - En terme d'activité physique, ne pratiquez-vous : aucune activité d'endurance (B), aucune activité entraînant une sudation (A), moins de 1 heure de marche par jour (C)

11 - Votre poids peut-il varier de 1 à 3 kg en moins de 48 heures ? Oui (A)

12 - Si vous portez des chaussettes, laissent-elles une empreinte sur la peau ? Oui (A)

13 - Vos règles sont-elles extrêmement abondantes ou irrégulières ? Oui (A)

14 - Ressentez-vous des douleurs au niveau du bassin pendant les règles ? Oui (A)

15 - Faites-vous souvent des bleus au niveau des jambes, même pour un choc minime ? Oui (A)

16 - Ressentez-vous des sensations de faim dans la journée ? Oui (B)

17 - Lorsque vous êtes contrariée, mangez-vous plus que d'habitude ? Oui (B)

18 - Avez-vous déjà grossi après avoir pris une pilule contraceptive ou un traitement hormonal ? Oui (B)

19 - Avez-vous tendance aux malaises hypocaloriques, ou aux coups de fatigue brutaux dans la journée ? Oui (C)

20 - Si vous faites un régime draconien, maigrissez-vous du haut et rarement du bas ? Oui (C)

RÉSULTATS

Majorité de A : cellulite avec rétention d'eau.

Majorité de B : cellulite adipeuse.

Majorité de C : cellulite fibreuse.

Encadré I

Le Liposcore® constitue un simple moyen mnémotechnique pour distinguer les trois formes de cellulite en sachant qu'il arrive fréquemment que ces formes soient intriquées, mais toujours avec un facteur dominant.

Le Liposcore® répond à la question « comment ? », c'est-à-dire le mécanisme qui a constitué la cellulite et qui intéresse au premier chef la mise en place du programme de traitement immédiat.

Il se distingue ainsi du Celluscore® (23) qui correspond à la question « pourquoi ? », c'est-à-dire la cause de la cellulite, génétique, hormonale, alimentaire, vasculaire, ainsi qu'à sa perception par la patiente. Ces aspects sont tout aussi essentiels pour tenter d'agir à la source du problème ou à la façon de le percevoir lorsque cela est possible.

En pratique quotidienne, les traitements mis en place comportent sept volets :

- les crèmes amincissantes ;
- les gélules amincissantes ;
- les conseils alimentaires ;

- les conseils musculaires ;
- les soins en institut de beauté et en kinésithérapie ;
- les soins en thalassothérapie et en cures thermales ;

- les traitements médicaux ou chirurgicaux.

Suivant le type de cellulite et la prédominance de l'un des trois acteurs principaux, chacun de ces volets thérapeutiques pourra être choisi.

Ainsi pour une cellulite avec rétention d'eau, on préférera des crèmes et des gélules à action drainantes, un régime anti-rétention d'eau une gymnastique active sur le retour veineux (gymnastique vasculaire active), des soins en institut ou en centre d'hydrothérapie favorisant les méthodes de drainage et, en milieu médical, des injections de substances drainantes (**Encadré II**).

Cependant, il ne faut pas attendre de toutes ces méthodes des résultats miraculeux. La qualité de l'alimentation, l'exercice musculaire, le terrain génétique, l'équilibre hormonal et vasculaire restent des éléments déterminants.

CELLULITE AVEC RÉTENTION D'EAU (Fig. 6)

1) Crèmes drainantes contenant des principes actifs tels le *Ginkgo biloba*, la pilosèle, le fragon, le lierre, le marron d'Inde ou la *Vitis vera*.
2) Par voie orale : des produits contenant de la vigne rouge, du marron d'Inde, de l'hamamélis, du *Ginkgo biloba*, du *Ruscus*, des citroflavonoïdes, des extraits de pépins de raisin.
3) Au niveau alimentaire : supprimer certaines protéines transformées favorisant la rétention d'eau, et suivre les principes du régime anti-rétention d'eau (24) : rechercher les aliments riches en vitamines du groupe C (agrumes), P (fruits rouges), E (avocats), K (brocolis), les OPC (pépins de raisins), les enzymes protéolytiques (ananas, papaye), les fibres (légumes verts), les acides gras mono insaturés (olives et huile d'olives), les oméga 3 (poissons des mers froides, pourpier, graine de lin, huile de colza), les vitamines B6, B9 et le magnésium (légumineuses, pois, lentilles, haricots blancs), le riz complet, très supérieur en valeur biologique aux pommes de terre frites et aux pâtes au beurre, le sélénium (crustacés).

4) Au niveau musculaire : des mouvements renforçant les muscles posturaux des membres inférieurs, dont les récentes études Bed-Rest ont démontré leur action quatre fois supérieure sur le retour veineux par rapport aux autres muscles. Il s'agit d'une méthode de gymnastique spécifique, appelée gymnastique vasculaire active (25).
5) En institut de beauté et en kinésithérapie : les méthodes de drainage lymphatique manuel ou mécanique (pressothérapie, Cellu M6) ou électrothérapie (26-28).

6) En thalassothérapie et en cures thermales : les méthodes de drainage aquatique, dont l'aquadrainage lymphatique, méthode ayant démontré son efficacité sur la rétention d'eau et les œdèmes des membres inférieurs (29-32).
7) En médecine : prescription de mesures hygiéno-diététiques, injections ou applications de substances drainantes, prescription de médicaments aquarétiques (classification du Vidal®). Aucune indication chirurgicale dans le cadre de la rétention d'eau.



Figure 6 :
Cellulite avec rétention
d'eau (Collection/
Courtesy of
P. Blanchemaison)

CELLULITE FIBREUSE (Fig. 7)

1) Crèmes défibrosantes : utilisation de molécules tel l'acide madécassique extrait du *Centella asiatica*, la vitamine C, la vitamine E, la gluconolactone extraite du maïs, les extraits de pois, les extraits de pépins de raisins. L'ensemble de ces molécules agit sur le collagène péri-adipocytaire et les protéoglycans (33).
2) Par voie orale : sont utilisés les oligomères pro-cyanidoliques extraits du pépin de raisin, la *Centella asiatica*, la vitamine C et la vitamine E.
3) Au niveau alimentaire, il faut augmenter la part d'aliments anti-oxydants contenant de la vitamine C, de la vitamine E, du sélénium, du bétacarotène, du zinc, et diminuer la part des sucres industriels dont l'excès favorise le phénomène de glycation du collagène péri-adipocytaire.
4) Au niveau musculaire : augmenter le tonus et

le volume global musculaire qui permet le métabolisme des sucres industriels absorbés en excès et limite le phénomène de glycation des protéines, notamment du collagène péri-adipocytaire.

5) En institut et en kinésithérapie : méthode de massages manuels ou mécaniques, tels le CelluM6® et le Vélasmooth®, seuls appareils à avoir démontré une efficacité sur la fibrose péri-adipocytaire (34).

6) En thalassothérapie et en cures thermales : massages sous l'eau et jets sous-marins.

7) En milieu médical : conseils hygiéno-diététiques, évaluation du rapport masse maigre sur masse grasse, prescription des méthodes de massages, laser transcutané (Nd-Yag), laser endograissoseux (Diode 980 nm d'Osyris®, Nd-Yag de Deka®). Pas d'indication chirurgicale.



Figure 7 : Cellulite fibreuse
(Collection/Courtesy of
P. Blanchemaison)

CELLULITE ADIPEUSE (Fig. 8)

1) En cosmétologie : utilisation de substances qui augmentent la lipolyse au niveau des adipocytes en stimulant les récepteurs adrénergiques de leurs membranes, tels la caféine, le fucus, certaines algues marines, le géranium, l'absolue d'*Allium sativum*, le forskoline extrait du kœlculs qui agit comme la caféine sur la lipolyse et stimulate la production de leptine par les adipocytes. Certaines substances ont pour effet de limiter la transformation des pré-adipocytes en adipocytes tel la *Garcinia cambogia*.
2) Par voie orale : les produits contenant des enzymes protéolytiques, ou stimulant la lipolyse par la voie de l'AMPc tels la papaye et l'ananas, et surtout l'acide linoléique conjugué (35-37).
3) Au niveau alimentaire : diminuer la consommation de graisses cuites, de fritures, de sucres industriels et de glucides lents raffinés, en alternant le plus possible avec le riz complet et les légumineuses. Favoriser la consommation d'aliments non transformés.
4) Au niveau musculaire, une gymnastique spécifique permettant de rétablir le rapport masse

maigre sur masse grasse, et de positiver la balance énergétique.

5) En institut et en kinésithérapie : les méthodes favorisant la lipolyse, tels les appareils infrarouges, la radiofréquence, les ondes électromagnétiques (mais aucune étude référencée disponible à ce jour) et le Cellu M6® (38, 39).

6) En thalassothérapie et en cures thermales : les méthodes de gymnastique aquatique associant des soins raffermissants, tonifiants et remodelants, tout en renforçant la tonicité cutanée.

7) En médecine : trois méthodes de lipolyse sont actuellement proposées :

- les injections de phosphatidylcholine (mais aucune AMM n'a été délivrée en France dans cette indication) ou de solution hypo-osmolaire ;
- les ultrasons focalisés (Ultrasound®) ;
- le laser endograissoseux (Osyris®) qui constitue actuellement la méthode la mieux référencée.

8) Lorsque la peau est suffisamment tonique et la cellulite associée à des zones de stéatométrie, indication chirurgicale de liposuccion (1, 40, 41).



Figure 8 : Cellulite
adipeuse
(Collection/Courtesy of
P. Blanchemaison)

Dans le cadre particulier de la cellulite, la classification R-FAT permet de positionner chacun de ces éléments en fonction du type de cellulite.

Conclusion

Cette approche analytique de la cellulite qui tient compte de son élément constitutionnel dominant, masse graisseuse, rétention d'eau ou fibreuse, a le mérite de pouvoir orienter le traitement en fonction de chaque type de cellulite. En pratique, le bilan initial mettra souvent en évidence l'association de deux facteurs, donnant des cellulites mixtes, par exemple adipeuse avec rétention d'eau. La combinaison des techniques ou des principes actifs sera alors envisagée.

Des protocoles pourront ainsi être proposés à chaque niveau de traitement : régime alimentaire, type de gymnastique, ingrédients utilisés dans les crèmes amincissantes ou les gélules, soins proposés en instituts de beauté, chez les kinésithérapeutes, chez les médecins ou chirurgiens esthétiques.

Cette approche ne permet pas néanmoins d'agir sur la cause, qu'elle soit génétique, hormonale, vasculaire ou métabolique. Comme dans tout processus chronique, la part liée au terrain et à la génétique n'est pas accessible, et la part liée au facteur de risque et à l'environnement nécessiterait une action sur l'alimentation, l'exercice physique et le stress à long terme.

RÉFÉRENCES

- 1 - Blanchemaison P. La cellulite : physiopathologie, diagnostic, évaluation et traitement. Angiologie 2004 ; 56 : 77-83.
- 2 - Elia D, Raison J. La composition corporelle. Paris : Ed. Flammarion, 2001.
- 3 - Blanchemaison P. La cellulite : de la physiopathologie à la classification IFAT. Act Vasc Int 2000 ; 85 : 15-9.
- 4 - Blanchemaison P, Elia D, Hagege JC et al. La cellulite. Paris : Édition Privat, 1997.
- 5 - Lagèze P. Sciatique et infiltration cellulalgique. Thèse de médecine, 1929, Lyon.
- 6 - Allen EW. Lipocœdema of the leg : syndrom characterized by fat leg and oedema. Proc Staff Meet Mayo Clinic 1940 ; 15 : 184.
- 7 - Nürnberg F, Müller G. So-called Cellulite : an invented disease. J Dermatol Surg Oncol 1978 ; 4 : 3.
- 8 - Merlen JF, Curi FB, Sarteel AM. La cellulite, affection micro-vasculo-conjonctive. Phlébologie 1979 ; 3 : 279-82.
- 9 - Merlen JF, Curri SB. Raisons anatomo-pathologiques de la cellulite. J Mal Vasc 1984 ; 9 : 53-4.
- 10 - Curri SB, Merlen JF. Troubles micro-vasculaires du tissu adipeux. J Mal Vasc 1986 ; 11 : 303-9.
- 11 - Blanchemaison P, Diridollou S, Cauquil J et al. L'indice de rétention d'eau : une nouvelle méthode de quantification par échographie de haute fréquence de la cellulite. Act Vasc Int 2000 ; 85 : 6-11.
- 12 - Lafontan M, Berlan M. Fat cell adrenergic receptors and the control of white and brown fat cell function. J Lipid Res 1993 ; 34 : 1057-91.
- 13 - Lafontan M. Régulation adrénérique de la lipolyse et de la vascularisation du tissu adipeux. Rev Prat 1994 ; 44 : 19-23.
- 14 - Lafontan M, Berlan M. Evidence for the alpha₂-nature of the alpha-adrenergic receptor inhibiting lipolysis in human fat cells. Eur J Pharmacol 1980 ; 66 : 87-93.
- 15 - Galitzky J, Lafontan M, Nordenström J, Amer P. Role of vascu-
- lar alpha₂-adrenoceptors in regulating lipid mobilization from human adipose tissue. J Clin Invest 1993 ; 91 : 1997-2003.
- 16 - Blanchemaison P. Physiopathologie et classification des œdèmes vasculaires. Angiologie 2000 ; 52 : 47-50.
- 17 - Diridollou S, Derson M. An *in vivo* method for measuring the mechanical properties of the skin using ultrasound. Int Med 1998 ; 4 : 215-24.
- 18 - Blanchemaison P. L'échographie de haute fréquence en phlébologie. Phlébologie 2000 ; 53 : 271-3.
- 19 - Perin F, Pittet JC, Schnebert S. Ultrasonic assessment of variations in thickness of subcutaneous fat during the normal menstrual cycle. Eur J Ultrasound 2000 ; 11 : 7-14.
- 20 - Mole B, Blanchemaison P, Elia D, Lafontan M et al. L'ultrasonographie à haute fréquence et le celluscore : un progrès dans l'évaluation objective du phénomène de cellulite. Ann Chir Plast Esthet 2004 ; 49 : 387-95.
- 21 - Blanchemaison P. D'où viennent la fibrose et le relâchement des tissus dans la cellulite ? Genesis 2005 ; 103 : 32-6.
- 22 - Croissantea G, Chrétien M, Mbikay M et al. Involvements of matrix metalloproteinases in the adipose conversion of T 3-L1 pre-adipocytes. Biochem J 2002 ; 364 : 739-46.
- 23 - Blanchemaison P, Elia D, Hagège JC et al. Méthodes d'évaluation de la cellulite : indice de rétention d'eau et Celluscore®. J Med Esth Chir Derm 2004 ; 31 : 48-54.
- 24 - Blanchemaison P. Rétention d'eau et surpoids. Nutritions 2004 ; 2 : 8-13.
- 25 - Blanchemaison P. La gymnastique vasculaire active (GVA) : principe et technique. Angiologie 2003 ; 55 : 46-51.
- 26 - Földi E. Physiothérapie complexe décongestive. Paris : Éditions Prison-Roche, 1993.
- 27 - Leduc A. Le drainage lymphatique manuel. Paris : Éditions Masson, 1986.
- 28 - Theys S. La pressothérapie dans les affections veineuses des membres inférieurs. Kinesither Scient 2001 ; 412 : 11-6.
- 29 - Blanchemaison P. Le traitement de l'œdème veino-lymphatique des membres inférieurs. Phlébologie 1998 ; 51 : 365-6.
- 30 - Blanchemaison P. L'aquadrainage lymphatique : une nouvelle méthode de traitement de la rétention d'eau et de l'œdème des membres inférieurs. Phlébologie 2004 ; 57 : 75-80.
- 31 - Blanchemaison P, Louisy F et al. Evaluation de l'aquadrainage lymphatique dans le traitement de l'œdème vasculaire des membres inférieurs et de la rétention d'eau. Genesis 2004 ; 93 : 20-3.
- 32 - Blanchemaison P. Peut-on quantifier la rétention d'eau dans l'œdème des membres inférieurs ? Phlébologie 1989 ; 42 : 151-6.
- 33 - Lotti T, Ghersetich J, Grappone C et al. Proteoglycans in so-called cellulite. Int J Dermatol 1990 ; 29 : 272-4.
- 34 - Ortonne JP, Queille-Roussel C, Duteil L. Traitement de la cellulite : efficacité et rendement à 6 mois de l'endermologie. Nouv Dermatol 2004 ; 23 : 261-9.
- 35 - Fantino AS. Acides linoléiques conjugués et composition corporelle : étude pilote de l'efficacité et de la tolérance chez le sujet humain (Thèse de doctorat en médecine). Université Claude Bernard, Lyon I, 2001, 105 p.
- 36 - Noone EJ, Roche HM, Nugent AP et al. The effect of dietary supplementation using isomeric blends of conjugated linoleic acid on lipid metabolism in healthy human subjects. Br J Nutr 2002 ; 88 : 243-51.
- 37 - Blankson H, Stakkestad JA, Fagertun H et al. Conjugated linoleic acid reduces body fat mass in overweight and obese humans. J Nutr 2000 ; 130 : 2943-8.
- 38 - Adcock D, Paulsen S, Labour K et al. Analysis of the effects of deep mechanical massage in the porcine model. Plast Reconstr Surg 2001 ; 108 : 233-40.
- 39 - Collis N, Elliot LA, Sharp et al. Cellulite treatment : a myth or reality : a prospective randomized, controlled trial of two therapies, endermologie and aminophylline cream. Plast Reconstr Surg 1999 ; 104 : 1110-4.
- 40 - Toledo LS. Syringe liposculpture : two-year experience. Aesthetic Plast Surg 1991 ; 15 : 321-6.
- 41 - Blanchemaison P. Œdème vasculaire. Actualités. Paris : Éditions médicales Phase 5, 2004.

La mesure de la circulation de la lymphé de la peau par la clairance isotope - la fiabilité, la reproductibilité, la dynamique d'injection, et l'effet de massage.

Mortimer PS , Simmonds R , Rezvani M , M Robbins , Hopewell JW , Ryan TJ .

Source

Département de dermatologie, Hôpital Slade, Oxford, Royaume-Uni

Résumé

La mesure de la circulation de la lymphé de la peau a été étudiée en utilisant une technique de dégagement isotope (TIC). Déterminations multiples de flux lymphatiques ont été menées dans la peau de anesthésiés porcs Large White pour tester la reproductibilité, vérifier le traceur le plus approprié, d'étudier l'influence de la dynamique d'injection, et observer l'effet du massage comme un stimulant pour la circulation lymphatique. Garde au Sang du traceur a également été étudiée. Les résultats ont démontré que la clairance lymphatique est une fonction monoexponentielle avec une bonne reproductibilité des conditions de laboratoire contrôlées. ^{99m}Tc -colloïde (TCK17 Cis) se compare favorablement avec ^{131}I -albumine sérique humaine comme traceur et à la fois une meilleure performance que l'or colloïdal (^{198}Au). circulation de la lymphé était significativement plus rapide chez un porc que dans l'autre. Aucune différence existait entre les côtés gauche et droite ou entre les sites caudale et rostrale sur chaque flanc, mais la clairance est significativement plus lent dans la cuisse de la peau du flanc. Injections sous-épidermiques effacés plus rapidement et plus régulièrement que ce soit en profondeur ou sous-cutanées. Ni le volume d'injection ni voies reflux de l'aiguille des traceurs résultats influencés, mais massage considérablement améliorée domiciliation. Échapper de ^{99m}Tc -colloïde par le sang était négligeable. Ces résultats indiquent que le flux lymphatique de la peau peut être mesurée de façon fiable lorsque les conditions sont contrôlées. Les facteurs extrinsèques tels que massage influencent fortement la circulation lymphatique. Une plus grande sensibilité dans la détection des degrés d'insuffisance lymphatique peut être atteint que si un stimulus standardisé de circulation de la lymphé est administré pendant la mesure de la clairance isotope.

Un nouveau dispositif pour étirer plusieurs échantillons de tissus avec des motifs variables: Application de la réglementation de l'ARNm dans les constructions du génie tissulaire

Jasmin Imsirovic¹, Kelsey Derricks², Jo Ann Buczek-Thomas², Celeste B. Rich², Matthew A. Nugent^{1,2} et Béla

Suki

¹

Résumé

Un large éventail de cellules sont soumises à temps irréguliers variant stimuli mécaniques dans le corps, en particulier dans les systèmes respiratoire et circulatoire. Stretch mécanique est un facteur important dans la détermination de la fonction des cellules, mais les effets d'étirement variables demeurent inexplorées. Afin d'étudier les effets de l'étirement variables, nous avons conçu, construit et testé un dispositif d'étirage uniaxial qui peut s'étirer constructions de tissu en trois dimensions en faisant varier l'amplitude de la déformation de cycle en cycle. L'appareil est le premier à appliquer des signaux d'étirement variables de cellules dans les tissus ou trois constructions de tissu dimensions. Après validation de l'appareil, nous avons appliqué 20% de déformation uniaxiale à GelFoam échantillons ensemencés avec des fibroblastes pulmonaires de rats nouveau-nés avec différents niveaux de variabilité (0%, 25%, 50% et 75%). RT-PCR a ensuite été effectuée pour mesurer les effets d'étirement variable sur des molécules clés impliquées dans les interactions cellule-matrice, y compris: le collagène 1 α , lysyl oxydase, α -actine, β 1 intégrines, β 3 de l'intégrine, syndécan-4, et vascular endothelial growth factor-A. Ajout de la variabilité du signal d'étirement upregulated, réprimés ou n'a eu aucun effet sur la production d'ARNm en fonction de la molécule et le montant de la variabilité. En particulier, syndécan-4 montre un pic statistiquement significative à 25% de variabilité, ce qui suggère une variabilité optimale de la souche peut exister pour la production de cette molécule. Nous concluons que la variabilité du cycle par cycle dans la souche influe sur l'expression des molécules liées à des interactions cellule-matrice et peut donc être utilisé pour régler sélectivement la composition des constructions de tissu.

Mots-clés: mechanotransduction, stretch, matrice extracellulaire, signalisation

Présentation

De nombreux types de cellules sont sensibles à leur environnement mécanique. Par conséquent, les fonctions cellulaires essentielles sont influencées par les niveaux physiologiques de forces mécaniques cellules expérience dans le corps.¹ Les principaux exemples de stimuli mécaniques sur les cellules se trouvent dans les systèmes respiratoire et circulatoire, où les pressions dues à la respiration de marée et le débit cardiaque, respectivement, donnent étendues sur des cellules adhérentes. La plupart des études relatives à la façon dont les cellules répondent à des forces mécaniques, mécano, ont examiné des cellules dans l'isolement et axée sur les modes d'étirement sinusoïdales statiques et simple.²⁻⁶ Toutefois, les cellules du corps sont soumis aux irréguliers et variables stimuli mécaniques. Dans le système respiratoire, en particulier, la respiration des marées varie considérablement en fréquence et en amplitude,⁷ résultante de la cellule s'étend que de simples ondes sinusoïdales d'amplitude et de fréquence constante ne se reproduisent pas.

Récemment, il ya eu un intérêt dans les effets de la variation irrégulière stimuli mécaniques sur la fonction cellulaire. En particulier, il a été montré en II cellules épithéliales alvéolaires de type de culture que l'ajout de la variabilité au stimulus d'étirement peut entraîner une augmentation de la sécrétion de surfactant.⁸ Le

modèle d'étirement appliquée aux cellules épithéliales ont varié au hasard d'un cycle à la fois en fréquence et amplitude, mais a la même fréquence et d'amplitude moyenne en tant que configuration sinusoïdale constante. Différents niveaux de variabilité, définie comme l'intervalle autour de la moyenne à partir de laquelle amplitudes aléatoires ont été choisis, ont montré des niveaux distincts de la sécrétion de surfactant. Toutefois, une limitation de cette étude était que ces expériences ont été réalisées en deux dimensions culture cellulaire plutôt que par un tissu tridimensionnel ou construisent. Alors que divers dispositifs d'étirage ont été conçus,^{9,10}, à notre connaissance, les appareils qui peuvent accueillir les tissus n'ont pas été en mesure de fournir des modèles extensibles variables tels que ceux trouvés dans le corps. Afin d'explorer davantage les effets d'étirement variable sur la fonction d'un large éventail de cellules qu'il est nécessaire de développer les outils nécessaires pour appliquer ce type de tronçon à trois dimensions des tissus et des constructions du génie tissulaire.

L'objectif principal de cette étude était de concevoir, construire et tester un dispositif d'étirage uniaxial capable de fournir tronçon variables cyclique des tissus et des constructions dans un environnement contrôlé. En outre, nous avons cherché à développer une civière de tissu multi-puits pour être en mesure d'étirer simultanément plusieurs échantillons qui permettraient à des essais expérimentaux rapide de nouvelles hypothèses relatives à mechanotransduction. À cette fin, nous avons développé un tel système et l'a utilisé pour les essais préliminaires des effets d'étirement variable sur l'expression des ARNm de plusieurs matrice intracellulaire et extracellulaire (MEC) liés à des molécules dans une construction à base de collagène (Gelfoam) ensemencé avec pulmonaires néonatales de rat fibroblastes.

Aller à:

Résultats

caractérisation de l'appareil

La figure 1A montre la relation entre l'entrée et la sortie pour les distances de portions cycliques effectuées à 0,5 Hz. L'ajustement linéaire a une pente de 0,977 et un R² de 0,999 montrant ainsi que la distance de la sortie était conforme et en relation linéaire avec la distance d'entrée sur toute la plage de la course de l'actionneur. Figure 1B montre la dépendance de la distance de sortie à la fréquence, allant de 0,1 à 2 Hz. La distance de la sortie reste à moins de 2% de la distance souhaitée (5 mm) pour toutes les fréquences testées. La répétabilité de l'étirage est représentée sur la figure 1C , où la ligne en trait plein représente la forme d'onde d'étirement, au début d'un tronçon de trois heures tandis que les étoiles indiquent la forme d'onde à la fin de l'étirement. Le tronçon cyclique désiré a une fréquence de 0,1 Hz et une amplitude de 5 mm. Les deux courbes sont presque identiques, montrant que le mouvement de l'actionneur était reproductible sur toute la longueur de l'expérience.

Figure 1. La distance parcourue par le guidage linéaire est représentée en fonction de la distance prescrite et s'adapte avec une relation linéaire (**A**). La dépendance de la fréquence des déplacements est montrée pour la distance maximale de déplacement du guide linéaire (**B**)

L'expression des ARNm

Mécanotransduction implique la définition de forces de l'espace extracellulaire dans la cellule conduisant à la réponse cellulaire. Pour déterminer le tronçon variable peut moduler la fonction des cellules, nous avons évalué l'expression relative des composantes importantes ECM (collagène de type 1 et de la lysyl oxydase (LOX)), de la surface des récepteurs ECM cellulaires (intégrines et syndécane 4), une composante du cytosquelette critique (α -lisse actine musculaire) et croissance de l'endothélium vasculaire facteur-A (VEGF) impliqués dans le maintien de la viabilité cellulaire et la réparation des tissus stimulant. Le niveau d'expression de chaque ARNm a été évaluée à 0, 25, 50, et 75% de variabilité. Le sinusoïdale (0% de

variabilité) était monotone eu un échantillon de 9, tandis que toutes les autres conditions ont eu un échantillon de 3. [Figure 2](#) montre les expressions d'ARNm relatives de collagène 1 α et LOX d'accroître les niveaux de variabilité. Les deux collagène 1 α et les niveaux d'ARNm de LOX ont été élevés avec une variabilité accrue et cela a été statistiquement significative entre les groupes avec $p = 0,033$ pour le collagène 1 α et $p = 0,034$ pour LOX.

Figure 2. D'expression de l'ARNm relatif de collagène et lysyl oxydase 1 α à 25%, 50% et 75% de la variabilité, normalisée à la condition de la variabilité de 0%. Les deux collagène 1 α et lysyl oxydase montrer une différence statistiquement significative entre les ...

L'expression relative des ARNm de l' α -actine et le VEGF sont présentés dans [la figure 3](#). Les deux molécules ont montré une tendance à la baisse dans l'expression à 25% de variabilité dans la souche. La dépendance de l' α -actine sur la variabilité était statistiquement significative entre le groupe ($p = 0,039$), tandis que le VEGF a presque atteint la signification statistique ($p = 0,066$).

La figure 3. D'expression de l'ARNm par rapport à α -actine et le VEGF à 25%, 50% et 75% de la variabilité, normalisée à la condition de la variabilité de 0%. α -actine montre une différence statistiquement significative entre les groupes de traitement ($p = 0,039$), tandis que ...

L'expression de surface cellulaire ECM récepteurs syndécan-4, β 1 et β 3 intégrines est montré dans [la figure 4](#). Bien que β 1 et β 3 intégrines n'ont pas montré de différence statistiquement significative entre les groupes ($p = 0,075$ et 0,260 respectivement), syndécan-4 affiché une forte différence entre les groupes ($p = <0,001$). En outre, le niveau d'ARNm à 25% de variabilité était différent du 0%, 50% et les conditions de variabilité de 75% et la condition de la variabilité de 0% a également été statistiquement différente de la 50% et groupes de variabilité de 75%.

La figure 4. D'expression de l'ARNm par rapport à syndécan-4 intégrine β 1 et β 3 de l'intégrine à 25%, 50% et 75% de la variabilité, normalisée par rapport à la condition de la variabilité de 0%. Les niveaux d'ARNm syndécan-4 sont statistiquement significatifs ($p <0,001$), ...

Aller à:

Discussion

Cellules de l'organisme reçoivent des stimuli mécaniques causés par le stress et les tensions de la locomotion, la respiration, et en raison de diverses autres activités physiologiques tels que le sang de pompage du cœur. Les déformations que les cellules sont exposées à sont toujours irrégulières. Par exemple, à la fois le volume courant de la respiration ⁷ et le volume d'éjection du cœur varient d'un cycle à l'autre. ¹¹ Par conséquent, les stimuli mécaniques que les cellules sont exposées à l'intérieur du ECM du poumon et des vaisseaux sanguins varient également d'un cycle à l'. Ainsi, il est probable que les cellules sont accordés à reconnaître et à répondre à ces entrées mécaniques variables. Afin de déterminer comment une telle variabilité dans la souche pourrait affecter l'expression d'ECM clé et molécules apparentées cellulaires, nous avons conçu, construit et testé un dispositif d'étirage uniaxial qui peut stimuler mécaniquement jusqu'à six morceaux de tissu ou de constructions à la fois, offrant un cycle à la variabilité. Bien civières uniaxiaux similaires existent dans la littérature, ^{9,10} cette étude est la première à appliquer la variabilité du cycle par cycle dans la souche et la fréquence. Dans cette étude, nous avons développé un dispositif qui est robuste et peut fournir des souches fiables pour de longues durées dans l'environnement contrôlé d'un incubateur cellule. En outre, notre exploration préliminaire avec l'appareil

suggère que les modèles extensibles variables peuvent influencer l'expression des ARNm de plusieurs molécules clés connus pour jouer un rôle important dans les interactions cellule-ECM.

Caractéristiques des appareils

Bien que plusieurs civières uniaxiales ont été introduites dont certains sont également disponibles dans le commerce, c'est le premier appareil pour permettre à l'utilisateur d'appliquer la variabilité de la souche sur une base cycle par cycle. Notre civière est conçu comme un système à haut débit qui peut s'étirer jusqu'à six échantillons dans les mêmes conditions mécaniques tout en permettant des différentes conditions biochimiques dans des puits différents. Notre système est idéal pour les analyses biochimiques des cellules et des ECM dans les tissus et les constructions stimulées mécaniquement. Systèmes disponibles dans le commerce tels que LigaGen par le tissu Technologies de croissance ou ElectroForce Instruments de test biodynamique par Bose ne peuvent pas accueillir autant d'échantillons nécessitant simultanément et donc de multiples expériences pour atteindre le même nombre d'échantillons. Ces expériences répétées peuvent augmenter la variabilité inter-échantillon des données qui pourraient nécessiter une nouvelle augmentation du nombre d'échantillons. La civière développée par Kluge et al. dispose de plusieurs puits, mais aussi de plusieurs bras de livrer la souche.¹⁰ Un inconvénient du système actuel est l'absence de capteurs de force, ce qui nous empêche d'acquérir le stress et les données de rigidité. Le but de ce dispositif, cependant, était d'être capable de mesurer la réponse biochimique de plusieurs échantillons à la stimulation mécanique. En outre, l'ajout de capteurs de force à chaque puits est encore possible si nécessaire. Néanmoins, il n'est pas prévu que le dépôt significatif des principales molécules structurelles telles que les collagènes se produirait au cours de notre étirement à court terme et donc la rigidité des échantillons n'est pas susceptible d'augmenter d'ici la fin du protocole utilisé dans cette étude.

Notre système comporte les considérations de conception importants ci-après: (1) la taille de la civière et la composition du matériau lui permettent d'être placé à l'intérieur de l'environnement contrôlable d'un incubateur, (2) le système peut être facilement stérilisé à l'aide d'éthanol ou de lumière UV, (3) ayant six puits augmente le nombre d'échantillons par rapport aux systèmes actuels et permet également de stimulation mécanique simultanée dans différentes conditions de traitement biochimiques, (4) le système est flexible et peut également être mis en place de telle sorte que tous les échantillons reçoivent entièrement statique ou pas, tout le reste les échantillons subissent entièrement cyclique; (5) l'actionneur peut s'étirer jusqu'à 2 cm permettant une large gamme de souches, (6) le mécanisme de fixation des échantillons permet un montage facile et fiable des tissus et des constructions, et (7) la taille bien est réduit au minimum afin de concentrer les protéines libérées par les cellules ainsi que pour réduire la quantité de réactifs utilisés dans certaines conditions.

expression de l'ARNm

Les molécules retenues pour l'analyse de l'ARNm font partie intégrante de contrôle de l'environnement mécanique de cellules dans l'ECM, ainsi que des propriétés mécaniques propres des cellules. Par exemple, les cellules peuvent réguler la rigidité de leur environnement par dépôt collagène de type I, une protéine structurale importante de la MEC.^{12,13} LOX catalyse la réticulation du collagène et donc peut aussi régler la rigidité de la MEC.¹⁴ Syndecan-4, $\beta 1$ des intégrines et $\beta 3$ de l'intégrine sont des récepteurs liés à la membrane qui fonctionnent comme des récepteurs ECM transduction des signaux à partir de l'ECM dans la cellule^{15,16} tandis que les α -actine est une protéine qui est nécessaire pour la génération de la force contractile et contribue également à la rigidité de la cellule.¹⁷ Enfin, le VEGF est une protéine de signalisation que les cellules produisent à améliorer la viabilité des cellules locales et de promouvoir la vasculogenèse et l'angiogenèse.¹⁸ Étirement mécanique livré sous forme de courbe monotone cyclique a été trouvé pour influencer de nombreuses molécules.¹⁹ Par exemple, l'expression de l'ARNm de $\alpha 1$ procollagen s'est avérée être régulée positivement par tronçon sur les membranes revêtues d'élastine et la laminine, mais pas sur la fibronectine.³ Contraintes mécaniques ont été présentées à réguler dynamiquement syndécan-4 expression et la délocalisation sur la surface de la cellule.²⁰ En outre, 4 h de uniaxial étirement

cyclique a été trouvé à réguler positivement l' expression de l'intégrine β 3 dans les cellules endothéliales ombilicales humaines, qui peuvent améliorer leur capacité à adhérer à la paroi du vaisseau.²¹

Nos données obtenues en utilisant le dispositif de cette enquête préliminaire, cependant, suggèrent que l'expression de l'ARNm de la plupart des molécules étudiées est également sensible à l'introduction de la variabilité de certaines molécules étant régulés à la hausse tandis que d'autres réprimée. En particulier, dans les fibroblastes ensemencés dans des constructions de gelfoam à base de collagène, la production d'ARNm actine a diminué à 25% de variabilité, mais récupéré à des niveaux plus élevés de la variabilité tandis que syndécan-4 a montré expression pic à 25% de variabilité. L'expression de l'ARNm du collagène et de LOX a augmenté au-dessus des niveaux de contrôle pour les plus grands niveaux de variabilité. L'ARNm du VEGF et β 1 intégrines presque atteint une signification à la variabilité qui peut être réalisé avec un échantillon plus large. La seule molécule dont l'expression ARNm n'a pas montré des signes de sensibilité à la variabilité était β 3 de l'intégrine. Ainsi, il semble y avoir des mécanismes multiples et sophistiqués en place pour les cellules de détecter et de répondre à une stimulation mécanique étirement induit variable.

Le résultat le plus intéressant a été observé avec syndécan-4 ARNm, qui a également montré les plus fortes différences statistiquement significatives entre les différents niveaux de variabilité. Syndecan-4 ARNm affiché un pic distinct dans la production à 25% de variabilité, qui a ensuite diminué à des niveaux croissants de variabilité. Dans leur article sur la sécrétion de surfactant, Arold et al. a également montré un pic de sécrétion de surfactant à un niveau optimal de variabilité.⁸ Nous notons que l'actine a également exposé un comportement similaire à celle qu'il y avait un certain niveau de variabilité ou de bruit à laquelle sa production d'ARNm a été réduit au maximum. Une telle variabilité ou bruit amélioré la signalisation est semblable au phénomène connu sous le nom résonance stochastique qui se produit dans des systèmes non linéaires où l'ajout de bruit au signal d'entrée peut conduire à l'amplification de la sortie.^{22, 23} résonance stochastique a été impliqué dans diverses phénomènes biologiques.^{8, 24-27} Nous pensons que les niveaux physiologiques de la variabilité doivent être optimales dans un certain sens pour le fonctionnement de la cellule ou de ses composants dans son environnement mécanique et biochimique natale. Puisque l'environnement biochimique comprend la composition de l'ECM alors que l'environnement mécanique est fonction de l'organisation de l'ECM, nos résultats sont susceptibles spécifique au type cellulaire et construisent composition utilisée.

En ce qui concerne les mécanismes possibles de la façon dont la variabilité autour d'un niveau moyen d'étirement peut influencer la signalisation, nous notons ce qui suit. Même si cette enquête préliminaire n'a pas permis de révéler le mécanisme de signalisation détaillé par lequel la variabilité en stretch régule la production d'ARNm des protéines testées ici, il est certainement vrai que les voies de transduction du signal sont invariablement non linéaire due à des évaluations dans les réseaux de réaction et de Michaelis-Menten.²⁸ Comme les cellules adhèrent à l'ECM via des récepteurs de surface cellulaire telles que les intégrines, l'étirement des fibres ECM génère vigueur dans les intégrines qui est transmis par diverses protéines d'adhésion focale au cytosquelette d'actine.²⁹ En raison de la structure complexe de l'adhésion focale et l'organisation du réseau de l'actine, cette voie de transmission mécanique est non linéaire. Bien que l'on ne sait pas exactement comment et où ces signaux mécaniques sont transduction en signaux chimiques, la régulation positive ou la régulation négative de l'ARNm nécessite un certain stimulus seuil principalement en raison de rétroaction de la sortie de certains composants de la voie elle-même peut-être par la voie NFkB.³⁰ tel phénomènes de seuil sont intrinsèquement non linéaire. En fonction des non-linéarités de la voie spécifique pour une molécule donnée, la occasionnelle plus grande que les amplitudes moyennes d'étirement peut surmonter les seuils associés à cette voie, et si tel est le cas d'un nombre suffisant de fois, la transduction du signal de référence généré par l'étirement sera modifié sinusoïdale monotone. Ainsi, les réponses concrètes que nous voyons dans les différentes voies de transduction de signaux doivent dépendre des non-linéarités spécifiques dans ces voies, le niveau moyen et la variabilité d'étirement ainsi que le temps total d'étirement.

Il est également possible qu'en raison de la nature viscoélastique à la fois la cellule et l'ECM, différentes vitesses de déformation pourraient générer différentes forces de traction sur les adhésions focales qui pourrait à son tour affecter l'expression de l'ARNm de finale par les non-linéarités de la voie. Dans notre cas, la période de temps d'une sinusoïdale donnée était proportionnelle à l'amplitude et donc la vitesse de déformation est constante pour les différents cycles et dans toutes les variabilités. La vitesse de déformation est maintenue constante afin d'éviter les effets possibles de l'augmentation du taux de déformation sur l'expression de l'ARNm, que nous n'avons pas étudié spécifiquement.

Considérant qu'un large éventail de types de cellules expérimentent des stimuli mécaniques en situation irrégulière, il est important d'étudier les effets de la variabilité sur les différentes fonctions cellulaires. Nos résultats démontrent que l'ajout de la variabilité peut amener les cellules à modifier leur production d'ARNm de molécules clés en comparaison avec étirement cyclique régulier. En outre, les effets spécifiques de variabilité semblent différer entre les différentes molécules étudiées. Selon la façon dont ces effets sont durables, il est ainsi possible de contrôler de façon différentielle la fonction des cellules en ajoutant simplement la variabilité au stimulus d'étirement. Ce résultat peut avoir des implications pour de futures études dans mechanotransduction ainsi que l'ingénierie tissulaire. Si, par exemple, les cellules peuvent être incitées à produire plus de collagène et LOX à différentes variabilités il peut être possible de contrôler la rigidité des constructions de l'ingénierie tissulaire tandis que d'autres voies de transduction des signaux ne sont pas influencés. De même, les niveaux physiologiques de la variabilité peuvent influencer de nombreuses autres fonctions cellulaires qui garantit à explorer dans de futures expériences liées à mechanotransduction.

Aller à:

Méthodes

Tissu dispositif d'étirage

Un dispositif d'étirement uniaxial a été conçu et construit pour fournir des stimuli mécaniques de tissu natif ou de construire des échantillons (Fig. 5A). L'appareil, qui mesure 20 × 24 × 14 cm, est compact et peut être placé dans un incubateur de cellules afin de fournir les conditions environnementales appropriées telles que la température, l'humidité et CO₂. Le dispositif se compose de six trous, chacune d'elles pouvant accueillir un échantillon. La mesure trous 5 × 2 × 1 cm, et peut accueillir jusqu'à 9 ml de milieu en fonction de la taille de l'échantillon. Les six échantillons peuvent être étirés en fournissant simultanément tronçon identique à chaque échantillon ou plusieurs échantillons peuvent être tenue à une souche fixe et servir de témoins. Les échantillons de tissu sont fixées à l'intérieur des trous des deux côtés par des colliers en acier inoxydable (figure. 5B). Les pinces sont constituées de deux parties: la partie supérieure s'enclenche rapidement sur les tiges tandis que la partie inférieure est reliée à la partie supérieure par une vis en acier inoxydable, la sécurisation du tissu entre les deux parties. Un côté des pinces reste fixe, tandis que l'autre peut se déplacer sur un guide de mouvement linéaire. La course des pinces, et donc l'étendue de l'échantillon de tissu, est commandé par un actionneur linéaire (Taille 14 actionneur linéaire, Haydon Kerk Solutions de mouvement) propulsé par un moteur pas à pas qui a une taille de pas moins de 25,4 um. La course de l'actionneur est de 2,54 cm, qui est l'étirement maximal qui peut être appliqué à n'importe quel échantillon.

Figure 5. Vue d'en haut (A) de la conception du brancard dans un programme de CAO. Le dispositif est constitué d'un actionneur linéaire fixé à un guide linéaire et un plateau contenant six trous. L'échantillon de tissu est serré des deux côtés à l'aide de pinces en acier inoxydable et ...

L'actionneur linéaire est contrôlé par le logiciel Labview construit sur mesure qui délivre des impulsions de pas et de direction à l'actionneur via un DAQ Labview (Labview DAQ 6221, National

Instruments). L'amplitude et la fréquence d'étirement sont commandés par l'entrée de l'étape correspondante et des signaux de direction envoyé par l'acquisition de données. Le dispositif peut offrir statique aussi bien que cyclique étirement de l'échantillon de tissu. Par ailleurs, en délivrer des signaux d'étirement appropriés, le dispositif peut s'étirer échantillons avec le cycle par la variabilité du cycle.

Étalonnage de l'appareil

L'appareil a été étalonné en veillant à ce que l'actionneur linéaire a parcouru la distance spécifiée, et donc appliquer la tension correcte de l'échantillon de tissu. La distance entre un point fixe sur l'appareil et le guide de mouvement linéaire a été acquise lors stretch (DSC-T70, Sony) et la distance a été mesurée via le logiciel MATLAB développé dans le laboratoire. Le dispositif a été imagé sous différentes amplitudes et de fréquences pour vérifier la capacité de l'actionneur pour délivrer les distances de déplacement correct. De même, la capacité de l'actionneur d'être cohérents dans le temps a été mesurée en comparant les cycles initial et final d'un long bout de trois heures.

culture cellulaire et l'ensemencement de Gelfoam

Le protocole a été approuvé par l'Université de Boston IACUC. Fibroblastes pulmonaires de rats nouveau-nés (NNRLF) ont été isolés de 2-3 jours de vieux rats Sprague-Dawley et ont été cultivées dans du milieu de Eagle modifié par Dulbecco (DMEM) avec 5% de sérum de veau fœtal (FBS), 1% de pénicilline / streptomycine cocktail d'antibiotiques, 1% du pyruvate de sodium et de 1% d'acides aminés non essentiels. Les cellules ont été cultivées dans des flacons pendant une semaine avant d'être ensemencée sur des constructions Gelfoam.

Constructions gelfoam (Pharmacia et Upjohn) ont été coupés en 4 cm x 1 cm x 0,3 cm pièces le jour avant le semis et ont été équilibrées en milieu NNRLF nuit avant le semis. Les constructions ont été ensemencées en place de pipetage 250.000 cellules sur la totalité des 4 cm x 1 cm surface. Les échantillons ont ensuite été placés dans un incubateur pendant 2-3 heures, puis dans des tubes à centrifuger contenant le milieu NNRLF. Le milieu a été changé 24 h après l'ensemencement et à des intervalles de 3 j par la suite. Les constructions ont été cultivées pendant 8 jours avant l'étirement.

Stretching protocole

Gelfoam constructions ont été étirés sur le 8ème jour ensemencement suivant sans changer le milieu. Les échantillons ont été attachés à l'appareil en utilisant les pinces spéciales et l'étirement a été réalisée sur six échantillons simultanément. Deux constructions non étirés ont été maintenus en tant que témoins pour chaque jour. Les deux types de stimuli livrés étaient cyclique monotone et variable étirement cyclique. Étirage variable délivre une séquence de sinusoïdes, dans lequel chaque cycle a une amplitude de déformation différente (ϵ) et de la fréquence (f). Ici, nous avons défini la variabilité du signal d'étirement pour avoir un intervalle décrit par le pourcentage de la tension moyenne, ainsi, un signal avec une tension moyenne de 20% et une variabilité imposée de 25% offrirait souches de pointe dans chaque cycle dans la gamme de 15 à 25% avec une probabilité égale. La souche et de la fréquence correspondant ont été fixés par l'équation $\epsilon f = C$, de telle sorte qu'une déformation de pic plus grande aurait une fréquence plus faible entraînant un rate. All de déformation constante étiré conditions reçus une amplitude de tension moyenne de 20% à une fréquence moyenne de 0,2 Hz. Au total, il y avait quatre conditions: (1) extensibles monotone, ce qui correspond à 0% de variabilité, et se compose d'un seul tenant sinusoïdale répétée à une déformation de 20% (2) 25% de la variabilité, (3) 50% de variabilité et (4) 75% de variabilité. Tous les étirements ont été appliquées pendant trois heures. Après l'étirement, les échantillons ont été retirés du puits et découpés dans les pinces. Seule la partie de l'échantillon qui s'étendent expérimenté a été prélevé pour analyse.

expression de l'ARNm

Tous les échantillons ont été prélevés pour Gelfoam ARN total purification immédiatement après l'étirement. Les échantillons ont été lavés avec du PBS, puis coupés en petits morceaux avec des ciseaux. Deux échantillons de la même condition ont été combinés en un seul afin d'obtenir suffisamment d'ARN pour l'analyse. Un protocole décrit précédemment a été utilisé pour extraire l'ARN total à partir des morceaux coupés.³¹

Pour supprimer l'ADN génomique, les échantillons d'ARN ont été incubées avec RNase DNase I (New England BioLabs, M0303S) en conjonction avec l'utilisation d'un inhibiteur de RNase (Life Technologies, N808-0119). L'ADNc a été préparé par un recuit de l'ARN avec hexamère aléatoire et amorces oligo dT et permettant la synthèse du premier brin d'être réalisée avec MuLV reverse transcriptase (Life Technologies, N808-0234). Pas de transcriptase inverse a été utilisée dans les contrôles négatifs. Un système de PCR en temps réel Applied Biosystems 7300 a été utilisé pour effectuer une analyse PCR en temps réel. ABI TaqMan tests d'expression génique pour le collagène de rat 1 α (Rn00801649-gl), l'élastine (Rn01499782-M1), lysyl oxydase (Rn00566984-M1), l'actine musculaire α -lisse (Mn01546133-M1), le VEGF (Rn01511605-M1), syndécan- 4 (Rn00561900-M1), β 1 intégrines (Mn01253227-M1) et β 3 de l'intégrine (Rn00596601-M1) ont été utilisés comme sondes cibles. Eucaryote 18 S rRNA (4308329) a été utilisé comme un contrôle endogène. Paramètres de cycle standard de 50 ° C pendant 10 min, 95 ° C pendant 2 min, et 40 cycles de 95 ° C pendant 15 s et 60 ° C pendant 1 mn ont été réalisés. Les données ont été analysées par la méthode $\Delta\Delta C_t$ avec 18 S rRNA que le contrôle endogène.

L'analyse statistique

Les données sont présentées sous forme de moyenne \pm écart-type pour chaque groupe. Les données ont été analysées à l'aide Anova à sens unique et les différences entre les groupes ont été considérées comme statistiquement différent pour p <0,05.

Aller à:

Divulgation des conflits d'intérêts potentiels

Pas de conflits d'intérêts potentiels ont été divulgués.

Aller à:

Remerciements

Ce travail a été soutenu par des subventions du NIH HL-098 976 et HL-088572.

Aller à:

Notes

Précédemment publié en ligne: www.landesbioscience.com/journals/biomatter/article/24650

Aller à:

Références

1. Ingber DE. Mécanotransduction cellulaire: mettre tous les morceaux ensemble à nouveau FASEB J. 2006; 20 :811-27.. doi:. 10.1096/fj.05-5424rev [PubMed] [Renvoi]
... 2 Arold SP, Wong JY, Suki B. Conception d'un nouvel appareil d'étirement et les effets de déformation cyclique et substrat sur la souris des cellules épithéliales pulmonaires-12 Ann Biomed Eng 2007; 35:1156-64. doi:. 10.1007/s10439-007-9262-5 [PubMed] [Renvoi]
3. Breen CE. Les contraintes mécaniques augmentent l'expression du collagène de type I dans les fibroblastes pulmonaires in vitro J Appl Physiol 2000;... 88 :203-9 [PubMed]

4. Cavanaugh KJ, Jr., Margulies SS. . Mesure de la perte induite par étirement de l'intégrité de la barrière épithéliale alvéolaire avec une nouvelle méthode *in vitro* Am J Physiol Cell Physiol 2002; 283:.. C1801-8[. [PubMed](#)]
5. DiPaolo BC, Lenormand G, Fredberg JJ, Margulies SS. . grandeur extensible et dépendant de la fréquence remodelage du cytosquelette d'actine dans l'épithélium alvéolaire Am J Physiol Cell Physiol 2010; 299:.. C345-53. doi:. 10.1152/ajpcell.00379.2009 [Article PMC gratuit] [PubMed] [Renvoi]
6. Wirtz RH, Dobbs LG. La mobilisation du calcium et l'exocytose après un étirement mécanique des cellules épithéliales pulmonaires science 1990;.. 250 :1266-9. doi:. 10.1126/science.2173861 [PubMed] [Renvoi]
7. Tobin MJ, Mador MJ, Guenther SM, Lodato RF, Sackner MA. La variabilité de la fonction respiratoire au repos et le moment chez des sujets sains J Appl Physiol 1988;.. 65 :309-17 [. [PubMed](#)]
8. Arold SP, Bartolák-Suki E, Suki B. modèle extensible variable augmente la sécrétion de surfactant dans les cellules alvéolaires de type II dans la culture Am J Physiol poumon Mol Physiol 2009; 296:..L574-81. doi:. 10.1152/ajplung.90454.2008 [Article PMC gratuit] [PubMed] [Renvoi]
9. Humphrey JD, Wells PB, Baek S, Hu JJ, McLeroy K, Yeh AT. Un système théoriquement motivée par deux axes de culture de tissus par microscopie intravitaire Biomech modèle Mechanobiol 2008; 7. :323-34. doi:. 10.1007/s10237-007-0099-5 [PubMed] [Renvoi]
10. JA Kluge, Leisk GG, Cardwell RD, Fernandes AP, Maison M, Ward A, et al. système de bioréacteur en utilisant l'imagerie non invasive et stretch mécanique pour le dépistage biomatériau Ann Biomed Eng 2011;.. 39 :1390-402. doi:. 10.1007/s10439-010-0243-8 [Article PMC gratuit] [PubMed] [Renvoi]
11. HJ Berger, Davies RA, Batsford WP, Hoffer PB, Gottschalk A, Zaret BL. . Beat-to-beat performance ventriculaire gauche évaluée à partir de l'équilibre réservoir sanguin cardiaque à l'aide d'une sonde nucléaire informatisé Circulation 1981; 63. :133-42. doi:. 10.1161/01.CIR.63.1.133 [PubMed] [Renvoi]
12. Dunsmore SE, Rannels DE. . Biologie de la matrice extracellulaire dans le poumon Am J Physiol 1996; 270:.. L3-27 [. [PubMed](#)]
13. Suki B, Ito S, Stamenović D, Lutchen KR, Ingenito EP. Biomécanique du parenchyme pulmonaire: les rôles cruciaux des forces de collagène et mécanique J Appl Physiol 2005; 98 :1892-9... doi:. 10.1152/japplphysiol.01087.2004 [PubMed] [Renvoi]
14. Lucero HA, Kagan HM. . Lysyl oxydase: une enzyme oxydatif et effecteur de la fonction cellulaire Mol Life Sci 2006; 63 :2304-16.. doi:. 10.1007/s00018-006-6149-9 [PubMed] [Renvoi]
15. Barczyk M, Carracedo S, Gullberg D. Les intégrines tissus Cell Res 2010;.. 339 :269-80. doi:. 10.1007/s00441-009-0834-6 [Article PMC gratuit] [PubMed] [Renvoi]
16. Basse MD, MJ Humphries. Interactions cytoplasmique de syndécane-4 récepteur d'adhésion d'orchestrer et la signalisation du récepteur du facteur de croissance J. Biochem 2002;.. 368 :1-15. doi:. 10.1042/BJ20021228 [Article PMC gratuit] [PubMed] [Renvoi]
17. Schmidt A, Hall MN. Signalisation au cytosquelette d'actine Annu Rev Dev Biol cellulaire 1998.. 14:305-38. doi:. 10.1146/annurev.cellbio.14.1.305 [PubMed] [Renvoi]
18. Dvorak HF. Facteur / vasculaire du facteur de croissance endothéliale vasculaire perméabilité: une cytokine critique dans l'angiogenèse tumorale et une cible potentielle pour le diagnostic et la thérapie.Journal of Clinical Oncology:.. Journal officiel de l'American Society of Clinical Oncology 2002; 20:4368-80 [PubMed]

19. Chiquet M, Renedo AS, Huber F, Flück M. Comment les fibroblastes traduire les signaux mécaniques par des changements dans la production de matrice extracellulaire Matrice Biol 2003;?. 22 :73-80. doi:. 10.1016/S0945-053X (03) 00004-0 [PubMed] [Renvoi]
20. Li L, EL Chaikof. Le stress mécanique régule l'expression syndécan-4 et de la redistribution dans les cellules musculaires lisses vasculaires Arterioscler Thromb Vasc Biol 2002;.. 22 :61-8. doi:. 10.1161/hq0102.100314 [PubMed] [Renvoi]
21. Suzuki M, Naruse K, Asano Y, T Okamoto, Nishikimi N, Sakurai T, et al. . Régulation à la hausse de la bêta expression de l'intégrine 3 par l'éirement cyclique dans les cellules endothéliales ombilicales humaines Biochem Biophys Res Commun 1997;. 239 :372-6. doi:. 10.1006/bbrc.1997.7364 [PubMed] [Renvoi]
22. Dykman MI, Luchinsky DG, McClintock PV, Stein ND, Stocks NG. Résonance stochastique pour l'intensité du bruit modulé périodiquement. Phys Rev A. 1992; 46 : R1713-6. doi:. 10.1103/PhysRevA.46.R1713 [PubMed] [Renvoi]
23. Moss F, LM Ward, Sannita WG. résonance stochastique et traitement de l'information sensorielle: un tutoriel et l'examen de la demande. Clin Neurophysiol. 2004; 115 :267-81. doi:. 10.1016/j.clinph.2003.09.014 [PubMed] [Renvoi]
- . 24 Bezrukov SM, Vodyanoy I. due au bruit amélioration de la transduction du signal à travers les canaux ioniques voltage-dépendants. Nature. 1995; 378 :362-4. doi:. 10.1038/378362a0 [PubMed][Renvoi]
- . 25 . Bezrukov SM, Vodyanoy I. résonance stochastique dans les réactions thermiquement activés: Application de canaux ioniques biologiques Chaos. 1998; 8 :557-66. doi:. 10.1063/1.166337 [PubMed] [Renvoi]
- . 26 . Collins JJ, TT Imhoff, Grigg P. améliorée bruit de transmission de l'information chez le rat SA1 mécanorécepteurs cutanés par résonance stochastique apériodique J Neurophysiol. 1996; 76 . : 642-5[PubMed]
27. PRIPLATA A, Niemi J, M Salen, Harry J, Lipsitz LA, Collins JJ. . Bruit amélioré le contrôle de l'équilibre humain Phys Rev Lett. 2002; 89 : 238101. doi:. 10.1103/PhysRevLett.89.238101 [PubMed][Renvoi]
28. Klipp E, Liebermeister W. La modélisation mathématique des voies de signalisation intracellulaires.BMC Neuroscience. 2006; 7 (Suppl 1): S10. doi:. 10.1186/1471-2202-7-S1-S10 [Article PMC gratuit] [PubMed] [Renvoi]
29. Gao H, J Qian, Chen B. Sondage principes mécaniques des contacts focaux d'adhérence cellule-matrice avec un cadre de modélisation stochastique-élastique couplé. JR Soc Interface. 2011; 8 :1217-32.doi:. 10.1098/rsif.2011.0157 [Article PMC gratuit] [PubMed] [Renvoi]
- . 30 Nam J, Aguda BD, Rath B, Agarwal S. seuils biomécaniques régulent l'inflammation par la voie NF-kappa B: expériences et la modélisation. PLoS One. 2009; 4 : e5262. doi:. 10.1371/journal.pone.0005262 [Article PMC gratuit] [PubMed] [Renvoi]
31. Chirgwin JM, Przybyla AE, MacDonald RJ, Rutter WJ. L'isolement de l'acide ribonucléique biologiquement active à partir de sources enrichies en ribonucléase. biochimie. 1979; 18 :5294-9. doi:. 10.1021/bi00591a005 [PubMed] [Renvoi]

ANNEXE 4

Lymphology sept 2007, 40 (3) :102-13.

Mécanotransduction dans les cellules endothéliales lymphatiques.

Rossi A , Weber E , G Sacchi , Maestrini D , Di Cintio F , R Gerli .

Source: Département des neurosciences, de la section de médecine moléculaire de l'Université de Sienne, Italie.

Résumé

Les vaisseaux des cellules endothéliales lymphatiques initiaux sont reliées à des fibres élastiques entourant par fibrilline filaments d'ancre qui ont été hypothétiques pour favoriser le drainage de liquide interstitiel dans l'œdème écartant jonctions interendothéliales. Nous émettons l'hypothèse d'un mécanisme biochimique impliquant la mécanotransduction. Cette étude visait à vérifier si une relation existe entre les molécules d'adhésion focale et de filaments d'ancre et si elles peuvent transduire forces extracellulaires vers le noyau. Nous avons d'abord effectué une étude immunohistochimique sur coupes de peau humaine afin d'évaluer si fibrillin et alphaV-beta3 intégrines, FAK et fibrillin ou alphaV-beta3 intégrines et FAK co-localisent dans l'endothélium lymphatique. Nous avons observé que les intégrines et FAK co-localisent et que les sites de fixation de filaments fibrilline aux cellules endothéliales se confondent avec ces molécules. Ces données peuvent suggérer que les filaments d'ancre fibrilline sont connectés à des cellules endothéliales par les adhésions focales. La mécanotransduction a été étudiée en application d'étirements statiques de segments de canal thoracique et de cellules endothéliales lymphatiques cultivées sur membranes élastiques et l'évaluation par immunohistochimie de l'expression de ERK1 / 2. Dans des conditions d'étirement, de ERK1 / 2 étiquettes du noyau. Western blot sur des cellules en culture ont confirmé la présence de ERK1 / 2 dans les cellules étirées. Sur la base de nos données, nous pensons que l'ancre des filaments peut déclencher une cascade focal adhésion médiée par la mécanotransduction vers le noyau de la modulation génétique et ainsi contribuer à l'adaptation endothéliale aux exigences interstitielles.

PMID:

18062611

[PubMed - classé pour MEDLINE]

Mechanoinduction des ganglions lymphatiques réservoir expansion

Lara Planas-Paz , Boris Strilić, [...], et Eckhard Lammert

Résumé

Dans les embryons de mammifères, quelques signaux mécaniques ont été identifiés à influence développement des organes et la fonction. Ici, nous faisons rapport qu'une augmentation du volume des interstitiel ou liquide extracellulaire mécaniquement induit la croissance d'un organe du système, c'est-à-dire les vaisseaux lymphatiques. Nous avons d'abord démontrer que vaisseau lymphatique d'expansion dans les pays en développement embryon de souris est en corrélation avec un pic en liquide interstitiel pression lymphatique et cellules endothéliales (LEC) l'allongement. En 'perte de fluide" expériences, ensuite, nous montrons que l'aspiration du liquide interstitiel réduit la longueur des LECs, diminue la tyrosine phosphorylation de facteur de croissance endothérial vasculaire receptor-3 (VEGFR3), et inhibe LEC prolifération. Inversement, en 'gain-de-fluide" expériences, l'augmentation de la quantité de liquide interstitiel allonge les LECs et augmente à la fois VEGFR3 phosphorylation et LEC prolifération. Enfin, nous avons des preuves génétiques que $\beta 1$ intégrins sont requis pour la réponse proliférante de LECs à la fois accumulation de liquide et cellule stretching et, par conséquent, sont nécessaires pour vaisseau lymphatique d'expansion et le liquide de drainage. Ainsi, nous proposons une nouvelle et physiologiquement mode pertinent de VEGFR3 activation, qui est basé sur mechanotransduction et est essentielle au développement normal et homéostasie liquide dans un embryon de mammifère.

Mots-clés : $\beta 1$ intégrin, homéostasie fluide lymphatique, navire, souris embryon, VEGFR3 signalisation

Introduction

Interconnecter deux systèmes d'organe, les vaisseaux sanguins et lymphatiques vaisseaux, sont d'un intérêt particulier à la fois biologiques et un point de vue médical, puisqu'ils sont abondants et exercer fonctions vitales dans les vertébrés les tissus au cours du développement, de la santé et de la maladie (revue par [Affolter et al, 2009](#); ; [Tammela and Alitalo, 2010](#) [Wang and Oliver, 2010](#) et [Schulte-Merker et al, 2011](#)). Alors que les vaisseaux sanguins offre cellules de sang et de plasma liquide à pratiquement tous les tissus, les vaisseaux lymphatiques supprime liquide interstitiel, qui s'accumule dans les tissus en raison de transvascular passage du liquide (revue par [Földi and Strössenreuther, 2005](#) et) [Rutkowski and Swartz, 2007](#). À quelques exceptions près, le plasma s'écoule via le flux sanguin artériel de toute donnée de tissus. Une partie du plasma liquide fuit par des vaisseaux sanguins, et le liquide qui n'est pas re-saisir les capillaires s'écoule à travers l'interstice des vaisseaux lymphatiques (examinés par [Rutkowski and Swartz, 2007](#)). Ce dernier absorber le liquide interstitiel et le ramener à la vascularisation artérielle, fermant ainsi le

cycle de liquide dans l'organisme vivant. Chez des adultes sains les humains, vaisseaux lymphatiques retirer jusqu'à 2 L de liquide chaque jour de tous les tissus (revue par Földi and Strössenreuther, 2005).

Vaisseaux lymphatiques sont formées par lymphatique cellules endothéliales (LEC), qui diffèrent de sang vasculaire cellules endothéliales (valorisées) par l'expression d'un certain nombre de marqueurs moléculaires, y compris Lyve-1, Prox1 et facteur de croissance endothelial vasculaire receptor-3 (VEGFR3) (revue par Wang and Oliver, 2010 et Schulte-Merker et al, 2011). En outre, des ganglions lymphatiques navires sont jointes à l'entourant matrice extracellulaire (ECM) via filaments d'ancre et intégrins qui jouent un rôle dans le drainage du liquide interstitiel des tissus environnants (revue par Mäkinen et al, 2007 et Garmy-Susini and Varner, 2008). Lorsque le liquide interstitiel monte en pression, LECs sont étirés en raison de changements dans les environs L'ECM qu'ils adhèrent, et de leurs jonctions intercellulaires sont ouvert à absorber liquide interstitiel (revue par Mäkinen et al, 2007; ; Tammela and Alitalo, 2010Schulte-Merker et al, 2011). Ainsi, selon le modèle actuel, l'étirement des LECs en réponse à une augmentation du liquide interstitiel pression est la clé de la dépose du liquide extracellulaire vertébrés de tissus.

À ce jour, développement lymphatique a été mieux étudié dans le développement embryonnaire de la souris. De même à d'autres vertébrés étudiés jusqu'à présent, chez la souris LECs démarre afin de la distinguer des composantes valorisées du cardinal veines (;Ny et al, 2005 Küchler et al, 2006; ; Yaniv et al, 2006 Srinivasan et al, 2007;) Hogan et al, 2009. Ultérieurement, le LECs dorsolaterally migrer dans les environs mesenchyme afin de forme forme irrégulière lymphatique primaire zsc. Les premiers ganglions lymphatiques zsc à la forme de l'embryon de souris sont les 'lymphatiques jugulaire zsc' (jls), qui se développent à côté du cardinal antérieur veines (ACV) à environ E11.0-E11.5 de souris développement (;Figure 1 revue par Mäkinen et al, 2007;)Schulte-Merker et al, 2011. Une fois le jls ont formé, qu'elles se développent en taille de E11.5 à partir, commencer à germer à E13.5, et enfin élaborer dans une maturité des vaisseaux lymphatiques à plus tard stades embryonnaires (revue par Mäkinen et al, 2007; ; Tammela and Alitalo, 2010Schulte-Merker et al, 2011).

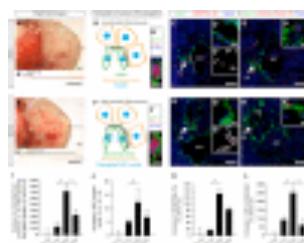


Figure 1

Liquide interstitiel pression lymphatique et cellules endothéliales allongement corrélent avec ganglions lymphatiques navire d'expansion dans les pays en développement embryon de souris. (A , E) Représentant champ lumineux images de (A)E11.5 et (E) E12.0 wild-type embryons de souris. Un verre micro-capillaire ...

Plus de 20 gènes ont été identifiés pour être impliqués dans les différentes étapes de lymphatique embryonnaires développement, y compris les gènes pour Prox1, Sox18, Coup-TFII, VEGFR3, VEGF-C, NRP2, Ccbe1, RAC1 et Clp24, Tbx1, Ptpn14, Liprin-beta1, Adm, Ramp2, Calcr1, Vezf, Tie1, Meis1, Slp76, Plcg2, Pdpn, C1galt1, Clec-2, Syk, e1/Spred2, Akt1, Angpt2, Pi3kca, Pik3r1, Itga9, Fn1, Emilin1, Aspp1, Efnb2, Foxc2, NFATc1, Elk3 et PU.1 (revue par Schulte-Merker

et al, 2011). La majorité de ces gènes code des protéines impliquées dans la croissance facteur-ou ligand-signalisation induite par les événements. Par contraste, aucun signal mécanique n'a pas encore été signalé à réglementer développement lymphatique dans les embryons. Dans la souris adulte, toutefois, débit interstitiel a montré une augmentation l'expression et la distribution du VEGF-C et métalloprotéinases matricielles (MPM), et de déclencher la migration LEC pendant régénération tissulaire (revue par Rutkowski and Swartz, 2007et) Goldman et al, 2007, montrant que les signaux mécaniques peuvent influencer développement lymphatique dans l'adulte.

D'une façon générale, seul un nombre limité de rapports existent sur mécaniquement induite processus de développement de l'embryon de mammifère (examinés par le Noble et al, 2008; ; Mammoto and Ingber, 2010et) Schwartz, 2010, qui pourrait refléter un manque d'outils expérimentaux nécessaires à l'étude du rôle de ces signaux *in vivo*. Ici, nous avons conçu des expériences pour identifier une corrélation entre la quantité de liquide interstitiel, l'étiement des LECs et la mesure des ganglions lymphatiques navire expansion dans les pays en développement embryon de souris. En utilisant les deux 'perte de fluide' et 'gain de fluide' des expériences, nous montrent que le volume de fluide au sein de l'interstice embryonnaires contrôles LEC l'élongation, VEGFR3 signalisation et LEC prolifération dans une valeur de β 1 intégrin-dépendantes. Par conséquent, nous proposons la création d'un nouveau mécanisme de signalisation, qui est basé sur mechanotransduction et est essentiel pour la croissance lymphatique fluide et homéostasie de l'embryon de mammifère.

Résultats

Corrélation entre pression de fluide et LEC allongement dans le développement des embryons de souris

Le système vasculaire lymphatique supprime le liquide extracellulaire d'espaces. Ici, l'hypothèse selon laquelle une augmentation de liquide interstitiel volume induite par la croissance des pays en développement des vaisseaux lymphatiques a fait l'objet d'une enquête. Nous avons isolé embryons de souris à différents stades de développement et mesuré le liquide interstitiel pression au sein de la région jugulaire ()Figure 1A and E. La jugulaire région des embryons a été choisi parce qu'il représente une région où formation et la croissance de la première primaire ganglions lymphatiques zsc, appelé jls lieu (revue par Srinivasan et al, 2007 et Schulte-Merker et al, 2011). Un capillaire en verre a été inséré dans la région jugulaire des embryons à différents stades de développement, et les volumes de liquide qui est entré dans le capillaire ont été utilisés comme une mesure de liquide interstitiel pression (;Supplementary Movie S1 Figure 1A, A', E, and E'). À la règle de la perforation d'un vaisseau sanguin, le volume de fluide est uniquement inclus dans les mesures quand le sang cellules étaient absents dans le liquide qui s'écoule dans le capillaire.

La pression du liquide dans la jugulaire interstice a augmenté de façon significative, passant de E11.5 à E12.0 (comparer avec Figure 1A and A' Figure 1E and E'; voir la et la) Figure 1I Supplementary Movie S1. En revanche, à partir de E12.0 à E12.5 la pression du liquide ont sensiblement diminué ()Figure 1I. Depuis une haute liquide interstitiel pression entraîne un gonflement de l'interstice, conduisant à un étiement de l'ECM et de l'adhérant LECs (revue par Tammela and Alitalo, 2010 et Schulte-Merker et al, 2011), nous avons déterminé les longueurs de la LEC noyaux comme une mesure de cellule stretching (comparer avecFigure 1B and B' Figure 1F and F'). Noyaux cellulaires sont intégrés au sein du cytosquelette et donc repassés à cellule stretching (revue par Friedl et al, 2011). Ainsi que le liquide interstitiel, pression nucléaire la longueur de la lec également augmenté de manière significative de E11.5 à E12.0 ()Figure 1Jet

diminué de E12.0 à E12.5 ($P=0.12$). Ensemble, ces données suggèrent qu'une augmentation de liquide interstitiel volume entraîne un étirement des LECs dans le développement des embryons de souris.

Corrélation entre pression du liquide, VEGFR3 signalisation et LEC prolifération

VEGF-C est requise pour navire lymphatiques formation ()Karkkainen et al, 2004. Il induit une formation de VEGFR3 homodimères et VEGFR3/2 heterodimères dans lec, qui cause à son tour la tyrosine phosphorylation de leurs domaines intracellulaires (;Nilsson et al, 2010 Wang et al, 2010). La phosphocréatine tyrosines lancer transduction du signal cascades qui déclenchent réponses cellulaires, y compris la prolifération des cellules (revue par Bahram and Claesson-Welsh, 2010). Proximité ligature (dosages plas ; Söderberg et al, 2006 Jarvius et al, 2007) ont été utilisées pour déterminer les niveaux de VEGFR3 tyrosine phosphorylation de LECs, qui étaient tachés de vaisseau lymphatique hyaluronan receptor-1 (Lyve-1) ()Figure 1C and G. Signaux PLA de VEGFR3 phospho-tyrosines a été détecté sur la lec ()Figure 1C' and G'. Et surtout, les PLA coloration a augmenté de façon significative, passant de E11.5 à E12.0 (comparer avec Figure 1C' and C'' Figure 1G' and G''; voir Figure 1K), alors que la coloration a diminué, passant de E12.0 à E12.5 ($P=0.06$) ()Figure 1K. Pour confirmer que la PLA est un indicateur fiable de VEGFR3 tyrosine phosphorylation, nous avons injecté un activateur spécifique de VEGFR3, VEGF-C (C156S), dans la région jugulaire de type sauvage embryons ()Supplementary Figure S1. Comme prévu, le PLA de signaux LECs augmenté en nombre lorsque VEGF-C a été injecté en comparaison avec le contrôle injections (comparer avecSupplementary Figure S1A and B Supplementary Figure S1C and D et voir Supplementary Figure S1E).

Nous avons également observé que LEC prolifération, comme déterminé par le pourcentage de phospho-histone H3-positive LEC noyaux, augmenté entre E11.5 et E12.0 et diminué entre E12.0 et E12.5 (comparer avec Figure 1D and D' Figure 1H and H', et reportez-vous à la section) Figure 1L. En outre, le jls profondément a augmenté la taille de E11.5 à E12.0 (comparer taille de "jls" avec Figure 1C and D Figure 1G and H). Ainsi, notre point de données pour le scénario suivant : liquide s'accumule au sein de la jugulaire interstice de E11.5 de E12.0, étire le LECs et induit LEC prolifération et croissance de la vascularisation lymphatique via VEGFR3 signalisation. Ensuite, l'élargissement des vaisseaux lymphatiques draine le liquide et le liquide interstitiel volume diminue de E12.0 de E12.5. Ceci réduit la LEC stretching et atténue VEGFR3 signalisation et prolifération, ralentissant ainsi la croissance du lymphatique primaire des vaisseaux.

Réduction de VEGFR3 phosphorylation et LEC prolifération dans "perte de fluide" des expériences

Nous avons ensuite posé la question de savoir si une diminution du liquide interstitiel volume réduit LEC prolifération. À cette fin, nous avons conçu 'perte de fluide" des expériences avec l'objectif de suppression liquide extracellulaire de la jugulaire interstice ()Figure 2. Plus précisément, nous avons supprimé volumes définis de liquide interstitiel de la jugulaire région de E11.5 embryons de souris ()Figure 2A, A', B, and B'. Le liquide aspiré a ensuite vérifié la présence de cellules d'exclure la possibilité qu'une cellule a été retiré du tissus embryonnaires ()Supplementary Figure S2.

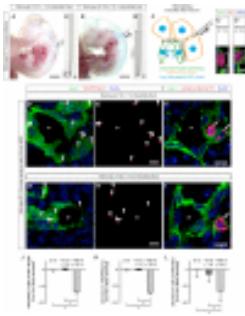


Figure 2

'Perte de fluide" expériences : Abaissement du liquide interstitiel volume réduit LEC l'elongation, et diminue VEGFR3 la tyrosine phosphorylation et LEC prolifération. (A , B) Représentant lumineux images de champ de type sauvage E11.5 embryons de souris, dans lequel ...

La diminution du volume de liquide au sein de la jugulaire interstice par 100 nl réduit de façon significative les longueurs de LEC noyaux ()Figure 2C, C', C'', and J, ce qui suggère que les cellules étaient moins étiré lors de la dépose du liquide interstitiel. En outre, le manipulé les embryons ont été cultivées pendant 30 min dans son ensemble la culture d'embryons (CME) comme décrit précédemment ()Strilić et al, 2009, et par la suite analysé de VEGFR3 tyrosine phosphorylation par PLA et de LEC prolifération par phospho-histone H3 des quantités décelables par immunocoloration. Aspiration de liquide interstitiel a été trouvé à réduire sensiblement VEGFR3 phosphorylation, comme indiqué par le nombre réduit de PLA signaux (comparer avec Figure 2D and E Figure 2G and H, et reportez-vous à la section) Figure 2K. En outre, LEC prolifération a également été réduit (comparer avec Figure 2F Figure 2I, et reportez-vous à la section) Figure 2L. Les résultats de ces "perte de fluide" expériences montrent que l'abaissement du liquide interstitiel volume réduit LEC l'elongation, VEGFR3 la tyrosine phosphorylation et LEC prolifération dans les vaisseaux lymphatiques du développement embryonnaire de la souris.

Enhanced VEGFR3 phosphorylation et LEC prolifération dans 'gain de fluide" expériences

Nous avons ensuite demandé si l'augmentation du liquide interstitiel volume améliore VEGFR3 phosphorylation et LEC prolifération. À cette fin, nous avons injecté des différents volumes de couleur PBS dans la jugulaire de région en développement E11.5 embryons de souris ()Figure 3A and B. Et surtout, LEC noyaux ont été trouvés à être sensiblement plus allongés sur l'injection de 34 nl PBS, comparé avec LEC noyaux non traitées des embryons de souris ou embryons de souris injectées avec seulement 4,2 nl PBS ()Figure 3C, C', C'', and J. En outre, l'injection d'un grand volume de liquide a augmenté la tyrosine phosphorylation de VEGFR3 comme indiqué par l'augmentation du nombre de signaux PLA (comparer avec Figure 3D and E Figure 3G and H, et reportez-vous à la section) Figure 3K, et une augmentation concomitante LEC prolifération (comparer Figure 3F and I, et voir la section) Figure 3L. Pour exclure la possibilité que l'injection de PBS induite LEC prolifération en raison de clairance osmolaire changements, nous avons supprimé jugular liquide interstitiel provenant d'embryons et injecté dans d'autres du même âge ()Supplementary Figure S3. Les données ont montré que l'injection d'un grand volume de liquide interstitiel également augmenté LEC prolifération (comparer avec Supplementary Figure S3A and B Supplementary Figure S3C and D, reportez-vous à la section) Supplementary Figure S3E.

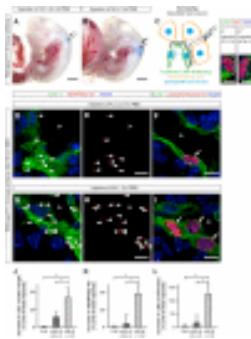


Figure 3

'Gain de fluide' des expériences : l'augmentation du liquide interstitiel volume amincissent LECs et améliore VEGFR3 la tyrosine phosphorylation et LEC prolifération. (A ,B) Représentant lumineux images de champ de type sauvage E11.5 embryons de souris dans lequel (A)4.2 ...

Depuis VEGFR3 homodimères et VEGFR3/2 heterodimères sont présentes dans les cellules endothéliales ()Nilsson et al, 2010, nous avons ensuite examiné l'expression du VEGF récepteurs des LECs et les composantes valorisées de la jugulaire à zone E12.0 ()Supplementary Figure S4. VEGFR3 est principalement exprimé dans lec du jls (comparerSupplementary Figure S4I–K avec), Supplementary Figure S4L–Nalors que l'expression de VEGFR2 se trouve à la fois dans lec ()Supplementary Figure S4C–Eet dans les composantes valorisées ()Supplementary Figure S4F–H. Depuis VEGFR2, comme VEGFR3, est exprimée en LECs du jls, nous avons analysé VEGFR2 phosphorylation dans lec à injection liquide ()Supplementary Figure S5. Et surtout, d'injection de liquide n'a pas entraîné d'augmentation la tyrosine phosphorylation de VEGFR2 (comparer avec Supplementary Figure S5A and B Supplementary Figure S5C and D, et voir)Supplementary Figure S5E, suggérant que accumulation de liquide activé de façon sélective VEGFR3 de signalisation LECs (comparer avecSupplementary Figure S5E Figure 3K).

Nous avons aussi analysé la prolifération des composantes valorisées dans des embryons de souris injectées avec PBS ()Supplementary Figure S6. À la différence de LECs, la prolifération des composantes valorisées ne changent pas de manière significative en réponse à une augmentation du liquide interstitiel volume (comparer avecSupplementary Figure S6A and A' Supplementary Figure S6B and B', et reportez-vous à la section) Supplementary Figure S6C. Les résultats de ces "gain de fluide" expériences montrent qu'une augmentation du liquide interstitiel volume augmente LEC l'élongation et spécifiquement améliore VEGFR3 la tyrosine phosphorylation et de prolifération cellulaire dans lec.

"Perte" et un "gain de fluide" expériences diminuer et augmenter le nombre des LECs, respectivement

Enquêter pour savoir si le liquide dépose réduit le nombre des LECs, nous avons cultivé aspiré embryons à 5 h dans le CME et ensuite de quantifier leurs LEC nombre ()Figure 4. Dans ces expériences, diminuant le volume de fluide a été trouvé pour réduire le nombre de LECs (comparer avec Figure 4A Figure 4B et reportez-vous à la section) Figure 4C. Inversement, nous avons montré qu'une augmentation de la quantité de liquide interstitiel a entraîné une augmentation du nombre des LECs après 5 h le CME (comparer avec Figure 4D Figure 4E et voir Figure 4F). Par conséquent, la quantité de liquide interstitiel influence directement le nombre de LECs.

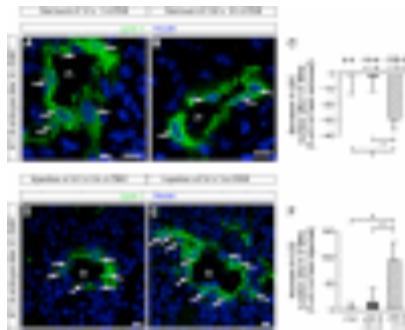


Figure 4

"Perte" et un "gain de fluide" expériences : Abaissement du liquide interstitiel volume réduit le nombre de LECs, tandis que l'augmentation du liquide interstitiel volume améliore leur nombre. (A , B) les sections transversales à travers les ganglions lymphatiques jugulaire sac (jls) ...

Augmenté $\beta 1$ integrin activation dans 'gain de fluide" des expériences et de mécanique s'étendant de LECs

Pour comprendre le mécanisme moléculaire impliqué dans nos observations antérieures, nous avons tourné à intégrins, qui sont connus pour agir comme mechanoreceptors (revue par [Ingber, 2006](#) et [Schwartz, 2010](#)). $\beta 1$ intégrins ont été trouvés à être exprimée dans la lec du jls ([Supplementary Figure S4](#), et représente la plus grande sous-famille des intégrins. En outre, certains $\beta 1$ intégrins, tels que $\alpha 5\beta 1$ intégrin, ont été indiquées pour être impliqué dans mechanotransduction (revue par [Ingber, 2006](#); [Schwartz, 2010](#)). $\beta 1$ Integrins lien l'ECM avec le cytosquelette actine, reliant ainsi l'environnement extracellulaire avec réseaux intracellulaires (examinés par [Ingber, 2006](#); ; [Friedland et al, 2009](#)[Schwartz, 2010](#)). Ils ont été précédemment présentées à être impliqués de ganglions lymphatiques soupape formation in vivo ([Bazigou et al, 2009](#), et en lymphangiogenesis durant diverses pathologies, comme l'inflammation, la croissance d'une tumeur et la cicatrisation des plaies (;[Hong et al, 2004](#) [Kajiya et al, 2005](#); ; [Chen et al, 2007](#) [Dietrich et al, 2007](#); ;[Okazaki et al, 2009](#) [Garmy-Susini et al, 2010](#)). De plus, $\alpha 5\beta 1$ intégrin a été montré à associer à VEGFR3 et de déclencher son activation via c-Src (;[Zhang et al, 2005](#) [Galvagni et al, 2010](#)). En outre, une liaison directe du VEGF-C de $\alpha 9\beta 1$ intégrin était signalé ([Vlahakis et al, 2005](#)).

Pour tester si $\beta 1$ intégrins jouent un rôle dans mechanotransduction de VEGFR3 et la signalisation LEC prolifération, nous avons d'abord cherché à savoir si l'état d'activation de $\beta 1$ intégrins modifié en réponse à une augmentation de liquide interstitiel volume. $\beta 1$ Integrins se sont révélés sensiblement activée dans lec à injection d'un grand volume de liquide (34 nl) si on les compare avec aucune injection (0 nl) ou l'injection d'une petite quantité de liquide (4.2 nl) (comparer avec [Supplementary Figure S7A-C](#) [Supplementary Figure S7E-G](#), et reportez-vous à la section [Supplementary Figure S7M](#)). De même, l'étirement mécanique de LECs augmenté $\beta 1$ intégrin activation ([Supplementary Figure S8A-C](#)). En outre, $\beta 1$ intégrins partiellement colocalized avec VEGFR3 en réponse à la fois de l'augmentation liquide interstitiel volume (comparer avec [Supplementary Figure S7D](#) [Supplementary Figure S7H](#), et voir) [Supplementary Figure S7Net](#) cellules mécaniques stretching ([Supplementary Figure S8D-G](#). PLAs également indiqué une interaction accrue de VEGFR3 avec $\beta 1$ suivantes intégrins accumulation de liquide (comparer avec [Supplementary Figure S7I and J](#) [Figure S7K and L](#), et voir) [Supplementary Figure S7Oet](#) cellules mécaniques stretching ([Supplementary Figure S8H-K](#). En outre, la cellule stretching conduit à une accumulation de $\beta 1$ intégrins et F-actine a focale sites du plasma

membrane ()Supplementary Figure S8L-O. Nos données donc point à une activation mechanoinduced de $\beta 1$ integrins et interaction de $\beta 1$ integrins avec VEGFR3.

Étirement mécanique de LECs améliore VEGFR3 la tyrosine phosphorylation et LEC prolifération dans un $\beta 1$ integrin-dépendantes

Depuis VEGFR3 signalisation et LEC prolifération corrélent avec LEC élongation in vivo, nous avons ensuite demandé si l'étirement mécanique accrue VEGFR3 tyrosine phosphorylation et LEC prolifération in vitro. Comme illustré par live-imagerie cellulaire de étirés et non étiré LECs, l'étirement entraîné un allongement de la cellule et le noyau de la lec ()Supplementary Figure S9A-D. Et surtout, mécanique et de stretching VEGF-C seule stimulation sensiblement augmenté, tant VEGFR3 tyrosine phosphorylation ()Supplementary Figures S9E and S10et LEC prolifération ()Supplementary Figure S11. En outre, la combinaison de mécanique et de stretching VEGF-C stimulation conduit à une augmentation synergique dans LEC prolifération ()Supplementary Figure S11E. Pour montrer que VEGFR3 signalisation peut également être mechanoinduced utilisant un expérimentaux différents set-up ()Tse and Engler, 2010, LECs étaient cultivées sur substrats avec une rigidité croissante ()Supplementary Figure S9F. Compatible avec la notion de mechanoinduced VEGFR3 de signalisation, un accroissement de la dureté également amélioré VEGFR3 tyrosine phosphorylation ()Supplementary Figure S9F. Enfin, l'étirement LECs n'a pas augmenté l'ARNM expression du VEGF-C ()Supplementary Figure S12, suggérant que VEGFR3 peut être mechanoinduced indépendant des changements de VEGF-C expression. Ensemble, ces résultats montrent que VEGFR3 signalisation et LEC prolifération sont soumis aux mechanotransduction.

Nous avons ensuite examiné si $\beta 1$ integrins étaient requis pour la traduction mécanique s'étendant de VEGFR3 phosphorylation et LEC prolifération ()Supplementary Figures S9 and S11. Utilisation de live-imagerie cellulaire, LECs et leurs noyaux ont été trouvés à l'effet amincissant de mécanique s'étendant même lorsque $\beta 1$ integrins ont été neutralisées par 70- 80% l'aide de deux ensembles de molécules conjugués siRNA (comparerSupplementary Figure S9B avec , voir Supplementary Figure S9CSupplementary Figure S9Det les données non illustré). Toutefois, VEGFR3 tyrosine phosphorylation et LEC prolifération seulement a augmenté de façon significative lorsque $\beta 1$ integrins étaient présents dans lec ()Supplementary Figures S9E and S11. Enfin, nous avons montré que VEGFR3 signalisation était requis pour LEC prolifération en réponse à l'accumulation de liquide in vivo et cellule stretching in vitro en utilisant VEGFR3-Fc et VEGFR3 arnsi, respectivement (;Figure 5Supplementary Figure S11). Ces données démontrent que $\beta 1$ integrins sont strictement requis pour augmenter VEGFR3 tyrosine phosphorylation et pour renforcer LEC prolifération via VEGFR3 en réponse à l'étirement mécanique.

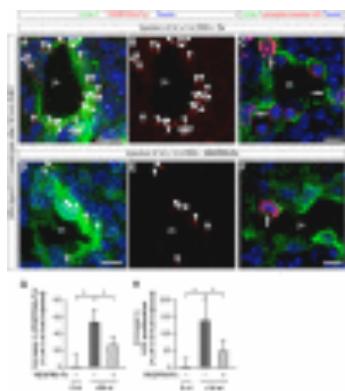


Figure 5

'Gain de fluide" expériences : VEGFR3-Fc réduit VEGFR3 la tyrosine phosphorylation et LEC prolifération en réponse à une augmentation du liquide interstitiel volume. (A , B, D , E) Représentant LSM images de proximité dosages ligature (PLA) sur les sections transversales...

$\beta 1$ integrins sont requis de VEGFR3 tyrosine phosphorylation, LEC prolifération et ganglions lymphatiques navire expansion in vivo

Dans des études précédentes, $\beta 1$ integrin a été supprimé dans les vaisseaux sanguins à différents moments du développement embryonnaire. Les conséquences du gène suppression dépend du choix du promoteur utilisé pour exprimer la Cre recombinase de cellules endothéliales (;Carlson et al, 2008Lei et al, 2008; ; Tanjore et al, 2008 Zovein et al, 2010). Ici, nous avons choisi un fragment du facteur de croissance endothérial vasculaire receptor-2 (VEGFR2/Flk1) promoteur de conduire Cre recombinase de cellules endothéliales depuis le moment de son expression était optimal pour la suppression du $\beta 1$ integrin en LECs (;Supplementary Figure S13A–DLicht et al, 2004). 2006L'utilisation de ce promoteur, nous avons été en mesure d'éliminer efficacement les $\beta 1$ integrin en protéines de LECs du jls de E11.5 à partir, mais pas plus tôt (Supplementary Figure S13E–J et les données non illustré). En accord avec les données immunohistochimie, LECs triées de E12.0 à E12.5 $\beta 1$ integrin-déficient embryons a présenté une réduction dans le $\beta 1$ integrin gene expression d'environ 75% par rapport à la lec hétérozygotes de contrôles ()Supplementary Figure S13K and L. Par conséquent, le coefficient $\beta 1$ integrin était épuisé dans une grande mesure, LECs au moment de la jls a commencé à augmenter en taille (comparer avecSupplementary Figure S13E–G Supplementary Figure S13H–J). En utilisant cette Vegfr2/Flk1-Cre souris, nous avons observé des hémorragies et létalité embryonnaire (;Figure 6ESupplementary Figure S14A), un phénotype similaire à celle qui a déjà été observé lorsque $\beta 1$ integrin a été supprimé en utilisant différentes cellules endothéliales des Cre souris (;Carlson et al, 2008 Lei et al, 2008; ; Tanjore et al, 2008 Zovein et al, 2010). En outre, nous avons observé les surfaces dorsolatérale oedème (comparer avec Figure 6A Figure 6E), qui a été rapporté par une seule étude précédente qui a utilisé un retard cellules endothéliales promoteur spécifique ()Zovein et al, 2010.

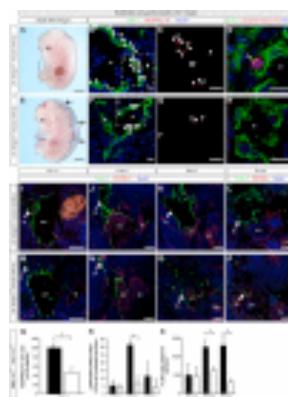


Figure 6

$\beta 1$ integrin est requis pour liquide interstitiel homéostasie et ganglions lymphatiques navire expansion. (A , E) Représentant lumineux images de champ de la suite embryons de souris : (A) $\beta 1$ integrin $^{\Delta/\text{commande} +}$ E13.5 embryon, contenant un hétérozygote ...

À ce jour, les ganglions lymphatiques défectueux qui n'ont pas encore été étudiées en embryons de souris déficientes pour $\beta 1$ integrins de cellules endothéliales. Depuis grand oedème sur le dos

de la majorité des embryons de souris a souligné lymphatique défauts (;Figure 6E Supplementary Figure S14A), nous avons analysé les numéros LEC, VEGFR3 la tyrosine phosphorylation et LEC prolifération dans le jls de E12.0, peu après la β 1 integrin en protéines a été perdu en lec.

Compatible avec la distribution de β 1 integrin suppression, β 1 integrin-déficient LECs étaient en mesure de forme jls, mais les sacs étaient significativement plus petite en comparaison avec les commandes (comparer avec Figure 6I–L Figure 6M–P). En l'absence de β 1 integrin, VEGFR3 la tyrosine phosphorylation (comparer avec Figure 6B and C Figure 6F and G et reportez-vous à la section) Figure 6Q, LEC prolifération (comparer avec Figure 6D Figure 6H et reportez-vous à la section) Figure 6R, ainsi que les numéros des LECs ()Figure 6Sont été considérablement réduits. En revanche, le taux d'apoptose dans LECs, comme déterminé par caspase-3 des quantités décelables par immunocoloration, différait ni à E11.5 ni à E12.5 ()Supplementary Figure S15. En outre, β 1 integrin-déficient les souris affiche une absence totale d'absorption cutanée et lymphatiques mésentériques vascularisation à E15.5 du développement embryonnaire (comparer avec Supplementary Figure S14B–D Supplementary Figure S14E–G). Ces données génétiques fournir preuve que β 1 integrins sont strictement nécessaires aux ganglions lymphatiques navire expansion in vivo.

Réduite LEC numéros localisées sur l'inhibition de β 1 integrin en activité E11.5 embryons de souris

Depuis Vegfr2/Flik1-Cre souris supprimer β 1 integrin en LECs ainsi que de composantes valorisées de l'écosystème, nous tient à écarter la possibilité que les défauts lymphatique secondaire étaient de sang défauts vasculaires. Ainsi, nous avons injecté β 1 integrin function-anticorps bloquants dans la jugulaire région de E11.5 embryons de souris et cultivées pour 12 h en CME (;Figure 7A and B Supplementary Movie S2). Cela nous a permis de bloquer β 1 integrins dans la jugulaire région précisément à l'apparition de vaisseaux lymphatiques d'extension.

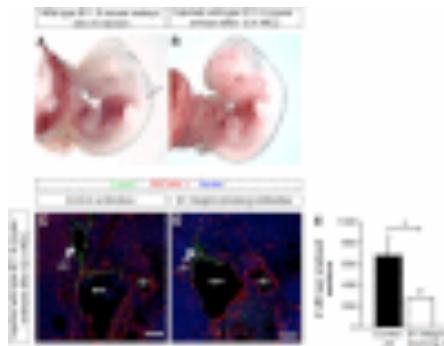


Figure 7

β 1 integrin est requis de ganglions lymphatiques navire d'expansion comme révélé par l'injection de β 1 integrin-anticorps bloquants. (A , B) lumineux images de champ de type sauvage embryons isolé à E11.5 (A)avant l'injection d'anticorps et (B) après l'injection ...

Grâce à cette approche, nous avons observé que la jls étaient nettement plus d'embryons injectés avec anticorps bloquants en comparaison avec des embryons injectés avec isotypes lettré anticorps contrôle (comparer avec Figure 7C Figure 7D). En outre, le nombre des LECs a été considérablement réduite lorsque β 1 integrin function-anticorps bloquants ont été injectées ()Figure 7E. Nos données montrent que β 1 integrins sont requis dans lec de VEGFR3 phosphorylation, la prolifération et la croissance des vaisseaux lymphatiques.

$\beta 1$ integrins sont requis de VEGFR3 la tyrosine phosphorylation et LEC prolifération en réponse à une augmentation du liquide interstitiel volume

À E12.0 la souris de développement, une augmentation de VEGFR3 signalisation et LEC prolifération a coïncidé avec une augmentation de liquide interstitiel pression (comparer avec [Figure 11](#) [Figure 1K and L](#)). Toutefois, cette augmentation n'a pas été observé en l'absence de $\beta 1$ integrins ([Figure 6Q and R](#), suggérant que $\beta 1$ integrins traduit une augmentation de liquide interstitiel volume améliorée VEGFR3 signalisation et LEC prolifération. Cette notion était compatible avec notre constatation que mécanique s'étendant de LECs seulement augmenté VEGFR3 signalisation et LEC prolifération lorsque $\beta 1$ integrin était exprimé ([Supplementary Figures S9 and S11](#)).

Directement à enquêter si $\beta 1$ integrin était requise pour volume de liquide-induite VEGFR3 phosphorylation et LEC prolifération, " gain-de-fluide" des expériences ont été appliquées aux embryons de souris dans laquelle $\beta 1$ integrins étaient et irrévocables dans lec ([Figure 8](#)). Nous avons observé que l'injection de PBS dans la jugulaire région de $\beta 1$ integrin-déficients E11.5 embryons de souris augmenté ni VEGFR3 tyrosine phosphorylation (comparer avec [Figure 8A and B](#) [Figure 8D and E](#), et voir) [Figure 8Hni](#) LEC prolifération (comparer avec [Figure 8C](#) [Figure 8F](#), et reportez-vous à la section) [Figure 8I](#). En revanche, la lec a été allongée sur PBS injection ([Figure 8G](#).

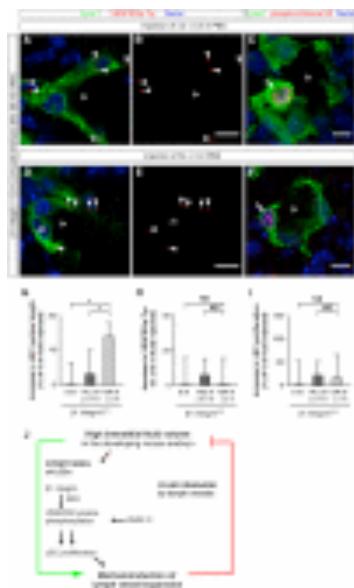


Figure 8

"Gain de fluide" expériences : $\beta 1$ integrin est requis pour VEGFR3 la tyrosine phosphorylation et LEC prolifération en réponse à une augmentation du liquide interstitiel volume. (A , B, D , E) Représentant LSM images de proximité dosages ligature (PLA) ...

En fonction de ces expériences, nous proposons que les ESL sont mécaniquement étiré lorsque le liquide interstitiel volume augmente, et que $\beta 1$ integrins sont nécessaires pour traduire ce signal mécanique améliorée VEGFR3 signalisation et LEC prolifération ([Figure 8J](#)).

"Gain de fluide" expériences renforcent LEC prolifération dans la germination et ganglions lymphatiques adulte navires

Enquêter pour savoir si $\beta 1$ intégrins étaient nécessaires pour inciter LEC prolifération de germination navires lymphatiques en réponse à l'accumulation de liquide, nous avons appliqué "gain de fluide" des expériences pour la la peau dorsale de E15.5 embryons de souris avec soit $\beta 1$ intégrin-bloquant ou anticorps contrôle ()Figure 9A-D. Injection de 100 nl PBS avec isotypes lettré contrôle anticorps induit LEC prolifération dermique de germination navires lymphatiques (comparer avec Figure 9A Figure 9B et voir Figure 9D, premier support). En revanche, le blocage $\beta 1$ intégrins inhibé cette enhanced LEC prolifération (comparer avec Figure 9B Figure 9C et voir Figure 9D, second support).

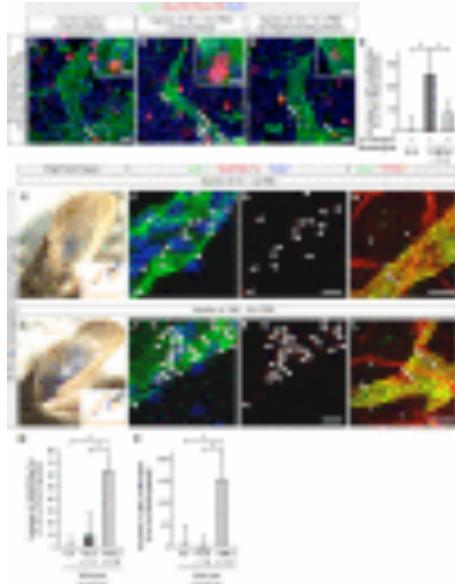


Figure 9

'Gain de fluide" des expériences : l'augmentation du liquide interstitiel volume améliore LEC prolifération de germination navires lymphatiques dans une valeur de $\beta 1$ intégrin-dépendantes, et améliore VEGFR3 la tyrosine phosphorylation et LEC prolifération en adulte ...

Enfin, l'injection de PBS dans les oreilles de la souris adulte (comparer avec Figure 9E Figure 9I) également augmenté VEGFR3 la phosphorylation de LECs (comparer avec Figure 9F and G Figure 9J and K, et reportez-vous à la section) et Figure 9M amélioré leur prolifération (comparer avec Figure 9H Figure 9L, et reportez-vous à la section) Figure 9N. En résumé, nos données suggèrent que liquide interstitiel accumulation déclenche LEC prolifération à des stades différents de développement lymphatique fluide et homéostasie.

Discussion

Ici, nous avons montré que prolifération cellulaire dans le développement des vaisseaux lymphatiques est corrélée avec la quantité de liquide dans l'interstice. Une augmentation de la pression du fluide entre E11.5 et E12.0 de souris développement embryonnaire est associé à une augmentation de la prolifération des taux LECs. Inversement, lorsque la pression du liquide diminue entre E12.0 et E12.5, probablement en raison d'un fluide drainage via l'élargissement des vaisseaux lymphatiques, la prolifération des taux LECs baisse. Depuis LECs repassés lorsque la pression du liquide augmente, nos données suggèrent qu'une augmentation de la quantité de liquide interstitiel s'étire la lec, et que cet étirement est un signal mécanique qui contribue au navire lymphatiques expansion ()Figure 8J. L'application d'un roman de "perte de fluide" et "gain-de-fluide" des expériences pour les embryons de souris, nous a montré en outre que LEC

l'élongation, la prolifération, et le numéro de la cellule modifiée en réponse à la quantité de liquide présente dans l'interstice. Nous avons également montré que l'étirement mécanique de LECs sensiblement accru leur prolifération.

Plusieurs embryons de souris déficientes pour ce qui est des gènes impliqués de ganglions lymphatiques navire formation ont été montré à développer un oedème lymphatique dès E12.5 du développement embryonnaire (Karkkainen et al, 2004; Fritz-Six et al, 2008 D'Amico et al, 2010), montrant dysfonctionnel liquide drainage à E12.5 lorsque le début des vaisseaux lymphatiques est défectueux. Par conséquent, notre hypothèse, l'expansion des vaisseaux lymphatiques commence à s'écouler le liquide et diminue par conséquent le liquide interstitiel de pression E12.5 à partir est pleinement compatible avec la distribution de ganglions lymphatiques formation d'oedème dans ces gènes déficients embryons de souris.

Après avoir montré que la quantité de liquide interstitiel influences LEC prolifération et des ganglions lymphatiques navire la croissance, nous avons commencé à enquêter sur le sous-jacent mécanisme moléculaire. Contrainte mécanique a été signalée à fausser l'ECM interconnectés les échafaudages, qui à leur tour produire cytoskeletal nucléaire et les changements de cellules endothéliales (revue par Ingber, 2006). Et surtout, intégrins ce lien l'ECM à l'actine cytosquelette fournissent un moyen de distribuer forces locales de la cellule-ECM adhésions de sites distants dans le cytosol et le noyau (revue par Geiger et al, 2009). Forces mécaniques peut donc affecter la totalité de la cellule via intégrin-mediated signalisation (revue par Ingber, 2006; ; Papusheva and Heisenberg, 2010Schwartz, 2010). Le sous-groupe le plus important de heterodimeric intégrins est celui contenant le coefficient β 1 intégrin, et plusieurs β 1 intégrins ont été signalés à participer au développement lymphatique dans l'adulte ou tard embryonnaires de souris (;Hong et al, 2004 Kajiyama et al, 2005; ; Chen et al, 2007 Dietrich et al, 2007; ; Bazigou et al, 2009Okazaki et al, 2009;) Garmy-Susini et al, 2010. De plus, α 5 β 1 intégrins ont été montré à exister dans un complexe avec VEGFR3 ()Zhang et al, 2005et Tie2 ()Cascone et al, 2005, donc de réguler cellules endothéliales réponses à l'ECM et les facteurs de croissance.

Un rôle de β 1 intégrins dans LEC prolifération et croissance de l'embryonnaire des vaisseaux lymphatiques, toutefois, n'a pas encore été signalé. En utilisant deux indépendants approches expérimentales, nous avons clairement démontré que β 1 intégrins étaient strictement nécessaires aux ganglions lymphatiques embryonnaires navire expansion. En outre, nous avons fourni génétiques et pharmacologiques preuve que β 1 intégrins et VEGFR3 étaient nécessaires pour la réponse proliférante de LECs à la fois de l'augmentation liquide interstitiel volume in vivo et étirement mécanique in vitro. En outre, β 1 intégrins étaient nécessaires, à la fois in vitro et in vivo pour le mechanoinduction de VEGFR3 signalisation. En revanche, β 1 intégrins étaient requis ni pour la capacité des LECs être étirées par étirement ou accumulation de liquide ni de survie cellulaire pendant le début développement lymphatique.

Notre conclusion que LECs utiliser β 1 intégrins de répondre à une augmentation de la quantité de liquide dans l'interstice environnantes in vivosensiblement les avances précédentes expériences sur la culture des cellules montrant que l'ECM accroître protéines VEGFR3 tyrosine phosphorylation et de prolifération cellulaire via β 1 intégrins in vitro (;Zhang et al, 2005Galvagni et al, 2010). Par ailleurs, il a été démontré que β 1 intégrins activer la famille Src kinases (SFKs; Klinghoffer et al, 1999), qui à son tour phosphorylate VEGFR3 à résidus tyrosine qui sont différents des résidus phosphorylée par VEGF-C contraignant à VEGFR3 ()Galvagni et al, 2010. Ainsi, SFKs sont susceptibles d'être impliqués dans la tyrosine phosphorylation de VEGFR3 qui survient en réponse à l'accumulation de liquide et cellule stretching ()Figure 8J. À cet égard, il

est intéressant de noter que mécanique locales de stimulation intégrins peut déclencher longue portée propagation de c-Src activation (), indiquant Wang et al, 2005 que l'étirement de LECs pourrait inciter la tyrosine phosphorylation du VEGF récepteurs qui ne sont pas à proximité de l'activation mécanique β 1 intégrins. Alors que différents aspects de VEGFR3 signalisation ont été récemment signalés (; Siekmann and Lawson, 2007 Tammela et al, 2008; ; Machnik et al, 2009 Nilsson et al, 2010; ; Saharinen et al, 2010 Wang et al, 2010;) Calvo et al, 2011, nos résultats fournissent le premier exemple d'un entraîné mécaniquement et physiologiquement pertinents l'activation de VEGFR3.

En combinant nos conclusions aux données publiées, nous proposons un modèle de la façon dont la taille de la vascularisation lymphatique est réglementé dans les pays en développement embryon de souris (): Figure 8 June augmentation de la quantité de liquide interstitiel modifie l'ECM échafaudages adjacent à LECs, de sorte que ces être étirés. Cet étirement active β 1 intégrins sur LECs, qui activer ultérieurement SFKs qui se propagent dans les cellules et la tyrosine phosphorylate VEGFR3. L'action combinée du VEGF-C et mécanique s'étendant en synergie active VEGFR3 signalisation et LEC prolifération. Depuis l'élargissement des vaisseaux lymphatiques a une amélioration de la capacité de vidange du liquide, la pression du liquide dans les tissus environnants diminue. Cette rétroaction négative réduit tout autre navire lymphatique la croissance et pourrait garantir que les vaisseaux lymphatiques est correctement dimensionné pour répondre à la demande tissulaire de drainage du liquide. Depuis d'injection de liquide dans le embryonnaires de souris et la peau adulte oreille de souris également augmenté VEGFR3 la tyrosine phosphorylation plus LEC prolifération () Figure 9, le mécanisme proposé pourrait largement s'appliquent aux navires lymphatiques en général.

Matériaux et méthodes

Souches de souris

C57Bl/ 6J les souris ont été utilisés pour wild-type des études. Flk1-Cre mice, β 1 intégrin-loxP souris et Rosa26R LacZ souris ont été décrites précédemment (; Soriano, 1999 Potocnik et al, 2000;) Licht et al, 2004. Littermates ou embryons de souris d'un même fond génétique, ont été utilisés comme contrôles. Les grossesses ont été datés par la présence d'un bouchon vaginal (jour embryonnaire (E) 0,5). Expériences sur les animaux ont été effectuées et approuvées selon le allemand Législation relative à la protection des animaux.

Souris embryon isolation, injections, et CME

Embryons de souris ont été isolés à différents stades embryonnaires. Une fois l'isolement ou le CME, embryons étaient fixés à 4% paraformaldéhyde (PFA) ou de 5% acide trichloracétique (TCA), et traitées pour l'immunohistochimie et d'imagerie. Pour le CME, liquide interstitiel a été déposé à l'aide d'une micro-injecteur cellule Tramway Vario (Eppendorf), ou de substances ont été injectées dans du PBS contenant Vert rapide dye (Sigma) à l'aide d'un pneumatique PicoPump (Monde Instruments de précision). 100 Mg/ml isotypes lettré anticorps contrôle (BD Biosciences), 100 μ g/ml β 1 intégrin-anticorps bloquant (BD Biosciences), 10 μ g/ml VEGFR3-Fc chimères (Sigma), 10 μ g/ml protéine Fc contrôle (Sigma), 500 ng/ml VEGF-C C156S (systèmes de R-D) ou différents volumes de PBS a été injecté à côté du jls des embryons de souris. Après injection de fluide liquide ou dépose, les embryons ont été cultivés rouleau (CME) pour les heures indiquées. Enlever le liquide interstitiel a été analysé pour la présence de cellules brièvement par incubation avec Hoechst 3342 (Thermo Scientific).

Liquide interstitiel évaluation pression

Un verre micro-capillaire (Harvard appareil) a été inséré dans wild-type embryons de souris à différents stades embryonnaires, et la quantité de liquide interstitiel qui est entré dans la micro-capillaire a été mesurée.

Des quantités décelables par immunocoloration et imagerie

Pour numérisation laser microscopie (LSM), fixe les embryons ont été cryopréservé dans 30% de saccharose (Sigma), intégré dans O. C. T. embedding media (Fisher scientifique), et 12 µm cryo-sections ont été faites. Les anticorps suivants ont été utilisés : chèvre anti-souris Lyve-1 (systèmes de R-D AF2125), rat anti-souris PECAM-1 (BD Biosciences 553370), lapin anti-phospho-histone H3 (Millipore 06-570), lapin anti-β-galactosidase (Sigma C8487), la chèvre anti-Prox-1 (systèmes de R-D AF2727), rat anti-souris β1 integrin clone MO1.2 (Millipore MAB1997), lapin anti-activé Caspase-3 (Sigma C8487), rat anti-activé souris β1 integrin clone 9EG7 (BD Biosciences 553715), la chèvre anti-souris VEGFR3 (Systèmes de R-D AF743), lapin anti-souris VEGFR2 clone 55B11 (signalisation cellulaire 2479), et la souris anti-BrdU (BD Biosciences 555627). DAPI (Sigma) a été utilisé pour tache noyaux cellulaires. Anticorps secondaire conjugué avec AF488 ou AF555 (sondes moléculaires), Cy3 ou Cy5 (Jackson ImmunoResearch) ont été utilisés. LEL images ont été acquises à l'aide d'un 510 Zeiss LSM ou un Zeiss 710 du LEL. Toutes les images ont été analysées en utilisant les Fidji/ImageJ logiciel d'analyse d'image (<http://pacific.mpi-cbg.de>). Champ lumineux images ont été capturées à l'aide d'un Nikon SMZ1500 microscope et une vue numérique DS-Fi1 appareil photo. Colocalization analyses ont été effectuées en utilisant le colocalization plug-ins à Fidji/ImageJ. L'analyse de activé β1 integrin en LECs a été effectuée automatiquement en utilisant cette Fidji/ImageJ logiciel d'analyse d'image. Un masque de seuil de la coloration de VEGFR3 a été faite et superposé à l'activé β1 integrin canal. L'intensité de coloration dans la région spécifiée a par la suite été quantifiés. Pour peroxydase DAB coloration, HRP-conjugué anticorps secondaires (Invitrogen) et substrat DAB kit (vecteur Lab) ont été utilisés.

Proximité dosages ligature

PLAs étaient effectuées sur embryonnaires ou oreille de souris sections et sur l'homme LECs conformément au protocole du fabricant en utilisant le Duolink II Kit de détection (Olier Bioscience). Les anticorps suivants ont été utilisés : chèvre anti-souris VEGFR3 (R&D Systèmes AF743), la chèvre anti-humaine VEGFR3 (R&D Systèmes AF349), souris anti-phospho-tyrosine 4G10 Platinum Millipore (05-1050), rat anti-souris β1 integrin clone MO1.2 (Millipore MAB1997), souris anti-humaines β1 integrin clone P4C10 (Millipore MAB1987), et de lapin anti-souris VEGFR2 clone 55B11 (signalisation cellulaire 2479). Un co-coloration a été effectuée en utilisant lapin anti-souris Lyve-1 (Abcam ab14917) et de chèvre anti-souris Lyve-1 (systèmes de R-D AF2125). DAPI (Sigma) a été utilisé pour tache noyaux cellulaires. LEL images ont été acquises à l'aide d'un Zeiss 710 du LEL. VEGFR3/p-Tyr, VEGFR2/p-Tyr et VEGFR3/β1 integrin plas ont été quantifiés comme le nombre de coloration positive (nombre total de points rouges) divisé par le nombre total de Lyve-1-positif LECs.

Des études in vitro

L'homme microvasculaire cutanée LECs (Lonza) ont été cultivées en EGM-2MV moyen (Lonza) et utilisé au niveau des passages <P6 dans toutes les études in vitro. Les cellules ont été cultivées sur STREX stretch chambers (BioCat) enduit de 2,5 µg/cm² de fibronectine (BD Biosciences). Les

cellules ont été transfectées avec 3 µg de contrôle esiRNA molécules contre Renilla reniformis test à la luciférase (RLuc), esiRNA molécules dirigées contre β 1 intégrins, EGFP- β 1 intégrin vecteur pour β 1 intégrin sauvetage expériences, esiRNA molécules dirigées contre VEGFR3, ou VEGFR3 vecteur de VEGFR3 de sauvetage des expériences, et ont été cultivés pendant 48 h. Ensuite, les cellules mortes, stimulé avec 100 ng/ml VEGF-C (systèmes de R-D) et/ou façon unidirectionnelle étirée avec une mécanique STREX cellule souche manuel brancard (BioCat). À l'immunocytochimie, cellules étaient fixés à 4% PFA et immunostained avec souris anti-humaines β 1 intégrin clone P4C10 (Millipore MAB1987), la chèvre anti-humaine VEGFR3 (R&D Systèmes AF349), et Phalloïdin-Rhodamin (Invitrogen R415) anticorps. Pour l'analyse de la prolifération cellulaire, les cellules ont été incubées avec 10 µm BrdU (5-bromo-2' -désoxyuridine, Sigma), immédiatement lavé, fixé dans l'éthanol comme fixateur, et conservés dans du PBS à 4°C jusqu'à coloration a été effectuée. Pour mesurer VEGFR3 la tyrosine phosphorylation, les cellules étaient lyse de froid et de glace tampon de lyse (50 mM Hepes pH 7,0 , 150 mM NaCl, 10 % de glycérol, 1% de Triton X-100, 1 mM Na₃VO₄, uncocktail complet des inhibiteurs de la protéase (Roche)), centrifugé et les surnageants ont été analysées à l'aide de l'IC DuoSet humaines phospho-VEGFR3 ELISA (systèmes de R-D). Contraste d'interférence différentielle (DIC) les images de la vie non étiré et étirée LECs ont été capturées à l'aide d'un Zeiss 710 LEL, aveugle et quantification de longueur de cellule a été effectuée.

Préparation des gels de polyacrylamide

Gels de polyacrylamide étaient préparés avec raideur variable comme décrit précédemment ([Tse and Engler, 2010](#), et ultérieurement functionalized avec 0,2 mg/ml sulfo-SANPAH (sulfosuccinimidyl-6- (4' -azido-2' -nitrophenylamino) -hexanoate; Thermo Fisher Scientific) et conjugué à 10 µg /ml de fibronectine (BD Biosciences).

Real-time RT-PCR et RT-PCR analyses

Pour l'évaluation du vegf-c et β 1 intégrin ARNM expression, les cellules ont été homogénéisées avec peqGold TriFast (Peqlab). 1-2 µg ARN total a été utilisé pour chaque RT-PCR expérience. Pour RT-PCR en temps réel, chaque échantillon a été exécutée en triple exemplaire, et des données ont été analysées selon le cycle seuil méthode (Stratagene). Pour RT-PCR expériences, gels d'agarose ont été exécutées avec des produits PCR. β -actine et β 2-microglobuline étaient utilisés comme contrôles internes. Les apprêts suivants ont été utilisés : l'homme Vegf-c avant 5' - ggaaagaagttccaccatca-3', l'homme Vegf-c marche arrière 5' -atgtggccttccaatacg-3', l'homme β -actine avant 5' -acccagatcatgttgagac-3', l'homme β -actine marche arrière 5' - gtcaggatttcatgaggtat-3', souris β 1 intégrin avant 5' -aatgccaagtggcacacgg-3', souris β 1 intégrin marche arrière 5' -tgactaagatgctgctgtgagc-3', souris β 2-microglobuline avant 5' - gagcccaagaccgtctactg-3', souris β 2-microglobuline marche arrière 5' -gctatttcttcgcgtgcat-3".

Magnétique-activé cellule tri (MAC)

Embryons de souris ont été isolés et directement dissociée utilisant le gentleMACS dissociator (Milteny Biotec). Les suspensions cellulaires étaient étiquetés avec rat anti-souris PECAM-1-FITC clone 390 (Millipore CBL1337F) et de lapin anti-souris Lyve-1 (Abcam ab14917) anticorps. LECs étaient triés de manière progressive en utilisant le premier anti-FITC MultiSort microbilles (Milteny Biotec) et, deuxièmement, la chèvre anti-lapin IgG microbilles (Milteny Biotec).

Analyse statistique

Signification statistique a été déterminée à l'aide d'images non appariées deux queues t de Student -test. Les différences ont été considérées comme significatives avec un P-valeur <0,05 . Données quantifiées sont présentés comme valeurs moyennes \pm s.d. ou \pm s.e.m. (Voir la figure les légendes).

Matériel supplémentaire

Données supplémentaires :

[Click here to view.](#)(4.2M, pdf)

Animation supplémentaire S1:

[Click here to view.](#)(1.5M, mov)

Animation supplémentaire S2:

[Click here to view.](#)(1.8M, mov)

Processus d'examen fichier :

[Click here to view.](#)(243K, pdf)

Remerciements

Nous remercions tous nos collègues à Düsseldorf pour suggestions utiles. La Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG LA1216/5 -1) pris en charge cette étude.

Auteur contributions :LPP et EL conçue et mise au point du projet. BS a initié le projet, tandis que LPP effectué la plupart des expériences. LPP et EL a écrit le manuscrit avec entrée de BS, AG, GO et RF. GO et RF fourni souris lignes.

Les Notes

Les auteurs déclarent qu'ils n'ont aucun conflit d'intérêts.

Informations relatives à l'article

EMBO J. 2012 février 15; 31 (4): 788-804.

Publiée en ligne 2011 décembre 13. doi: [10.1038/emboj.2011.456](https://doi.org/10.1038/emboj.2011.456)

PMCID: PMC3280555

Lara Planas-Paz,^{1,2} Boris Strilić,^{1,*} Axel Goedecke,^{3 , 4} Georg Breier Reinhard Fässler⁵ et Eckhard Lammert^{a,1}

¹Institut de physiologie métabolique Heinrich Heine, Université, Düsseldorf, Allemagne

²Max Planck Institute of Molecular Cell la biologie et la génétique, Dresden, Allemagne

³Institut de physiologie cardio Heinrich Heine, Université, Düsseldorf, Allemagne

⁴Institut de pathologie, Faculté de médecine, DFG Research Centre et Cluster d'Excellence de thérapies régénératrices, de l'Université de technologie, Dresden, Allemagne

⁵Département de médecine moléculaire, Institut Max Planck de biochimie, Martinsried, Allemagne

^aInstitut de physiologie métabolique Heinrich Heine, Université, 40225 Düsseldorf, Allemagne.

Tél. : +49 2118114990; Fax : +49 2118113897; E-mail: lammert/at/uni-duesseldorf.de

*Adresse actuelle : Département de pharmacologie, Institut Max Planck pour le coeur et les poumons Recherche, W. G. Kerckhoff-Institute , 61231 Bad Nauheim, Allemagne

Reçu 11 juillet 2011; accepté 14 novembre 2011.

Cet article a été cited by autres articles dans PMC.

Articles de l'EMBO Journal sont fournies ici avec l'aimable autorisation de l'Organisation européenne de biologie moléculaire

Références

- Affolter, a débuté ses activités M, Zeller R, Caussinus E (2009) remodelage tissulaire par branches morphogenèse. *Nat Rev Mol Cell Biol* 10: 831-842. [][PubMed](#)
- Bahram F, Claesson-Welsh L (2010) VEGF-mediated signal transduction lymphatique en cellules endothéliales. *Pathophysiology* 17 : 253-261. [][PubMed](#)
- Bazigou E, Xie S, Chen C, Weston A, Miura N, Sorokin L, Adams R, Muro AF, Sheppard D, Makinen T (2009) Integrin-alpha9 est requis pour matrice de fibronectine assemblée pendant lymphatique morphogenèse soupape. *Dev cellule* 17 : 175-186. [] [][PMC free article](#)[PubMed](#)
- Calvo CF, Fontaine RH, Soueid J, Tammela T, Makinen T, Alfaro-Cervello C, Bonnau F, Miguez, Benhaim L, Xu Y, Barallobre MJ, Moutkine I, Lyytikkä J, Tatlisumak T, Pytowski B, Zalc B, Richardson W, Kessaris N, Garcia-Verdugo JM, Alitalo K et al. (2011), facteur de croissance endothérial vasculaire récepteur 3 régit directement of murine. gènes Dev25 : 831-844. [] [][PMC free article](#)[PubMed](#)
- Carlson TR, Hu H, Braren R, Kim YH, Wang RA (2008) cellule-autonome exigence de beta1 integrin en cellules endothéliales adhérence, la migration et la survie durant l'angiogenèse chez la souris. *Développement* 135: 2193-2202. [] [][PMC free article](#)[PubMed](#)
- Cascone I, Napione L, Maniero F, G Serini Bussolini, F (2005) interaction stable entre $\alpha 5\beta 1$ integrin et Tie2 tyrosine kinase receptor réglemente cellules endothéliales réponse à Ang-1. *J Cell Biol* 170 : 993-1004. [] [][PMC free article](#)[PubMed](#)
- Chen L, Hug S, Gardner H, de Fougerolles AR, BARABINO , ainsi que par Me S, Dana M. (2007) Très tard antigène 1 blocus nettement favorise la survie des allogreffes cornéenne. *Arch Ophthalmol* 125 : 783-788. [] [][PMC free article](#)[PubMed](#)
- D'Amico G, Korhonen EA, Waltari M, Saharinen P, P Laakkonen Alitalo, K (2010) perte de cellules endothéliales Tie1 récepteur porte atteinte lymphatique navire développement-bref rapport. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 30: 207-209. [][PubMed](#)
- Dietrich T, Onderka J, Bock F, Kruse FE, Vossmeyer D, and Strategies for R, Zahn G, Cursiefen C (2007) l'inhibition des incendiaires lymphangiogenesis par integrin alpha5 blocus. *Am J Pathol* 171 : 361-372. [] [][PMC free article](#)[PubMed](#)
- Földi M, Strössenreuther R (2005) Fondements de Manuel Drainage lymphatique, 2004, 3e éd, New York, USA : Elsevier.
- Friedl P, Wolf K, Lammerding J (2011) mécanique nucléaire pendant la migration cellulaire. *Curr répan Cell Biol* 23: 55-64. [] [][PMC free article](#)[PubMed](#)
- Friedland JC, Lee MH, Boettiger D (2009) activé mécaniquement integrin interrupteur contrôle alpha5bêta1 fonction. *Science* 323 : 642-644. [][PubMed](#)

- Fritz-Six KL, Dunworth WP, Li M, Caron KM (2008) Adrenomedullin signalisation est nécessaire pour lymphatique murins développement vasculaire. *J Clin Invest* 118 : 40-50. []PMC free articlePubMed
- Galvagni F, S da Pennacchini, Salameh A, Rocchigiani M, Neri F, Orlandini M, Petraglia F, Gotta S, Sardone GL, Matteucci G, Terstappen GC, Oliviero S (2010) cellules endothéliales adhérence à la matrice extracellulaire induit c-Src dépendants VEGFR-3 phosphorylation sans l'activation du récepteur kinase intrinsèque activité. *Circ Res* 106 : 1839-1848. []PubMed
- Garmy-Susini B, Avraamides CJ, Schmid MC, Foubert P, Ellies LG, Barnes L, Feral C, Papayannopoulou T, Lowy A, Blair SL, Cheresh D, Ginsberg M, Varner JA (2010) Integrin alpha4beta1 signalisation est requis pour lymphangiogenesis et tumeur métastase. *Cancer Res* 70: 3042-3051 alkylaluminiums. [] []PMC free articlePubMed
- Garmy-Susini B, Varner JA (2008) Rôles des intégrins dans l'angiogenèse tumorale et lymphangiogenesis. *Lymphat Res Biol* 6 : 155-163. [] []PMC free articlePubMed
- Geiger B, Spatz JP, Dalexander Bershadsky à l'institut AD (2009) télédétection environnementale focal par adhésions. *Nat Rev Mol Cell Biol* 10: 21-33. []PubMed
- Goldman J, Conley KA, Raehl A Bondy, DM, Pytowski B, Swartz MA, Rutkowski JM, Jaroch DB Ongstad, EL (2007) Règlement du capillaire lymphatique régénération interstitielle par débit de peau. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 292 : H2176-H2183. []PubMed
- Hogan BM, Bos FL, Bussmann J, Witte M, Chi NF, Duckers HJ, Schulte-Merker S (2009) Ccbe1 est requis pour lymphangiogenesis embryonnaires veineuse et la germination. *Nat Genet* 41: 396-398. []PubMed
- Hong YK, Lange-Asschenfeldt B, Velasco P, Hirakawa S, Kunstfeld R, Brown LF, Bohlen P, Senger, DR, Detmar M (2004) VEGF-favorise une réparation tissulaire associée navire lymphatique formation via VEGFR-2 et l'alpha1beta1 et alpha2beta1 intégrins. *FASEB J* 18 : 1111-1113. []PubMed
- Ingber DE (2006) Cellular mechanotransduction : mettre tous les morceaux ensemble à nouveau. *FASEB J* 20: 811-827. []PubMed
- Jarvius M, Paulsson J, Weibreht I, Leuchowius KJ, Andersson, CA Wählby C, Gullberg M, Botling J, Mme Hia Sjöblom T, Markova B, Ostman A, Landegren U, Söderberg O (2007) in situ de détection phosphorylés-derived growth factor receptor beta en utilisant une proximité généralisées ligature méthode. *Mol Cell Proteomics* 6 : 1500-1509. []PubMed
- Karkkainen MJ, Haiko P, Sainio K, Partanen J, Taipale J, Petrova TV, Jeltsch M, Jackson, DG Talikka M, Rauvala H, Betsholtz C, Alitalo K (2004) facteur de croissance endothérial vasculaire C est nécessaire pour la germination des premiers vaisseaux lymphatiques de veines embryonnaires. *Nat Immunol* 5 : 74-80. []PubMed
- Kajiyama K, Hirakawa S, Ma B, Drinnenberg JE, Detmar M (2005) hépatocytes facteur de croissance favorise vaisseau lymphatique formation et fonction. *EMBO J* 24 : 2885-2995. [PMC free article][]PubMed
- Klinghoffer RA, Sachsenmaier C, Cooper JA, Soriano P (1999) la famille Src kinases sont requis pour intégrin mais pas PDGFR transduction du signal. *EMBO J* 18 : 2459-2471. []PMC free articlePubMed

- Kühler SUIS, chambrée E, Peterson-Maduro J, Cancilla B, Wolburg H, Schulte-Merker S (2006) Le développement du danio système lymphatique nécessite VEGFC signalisation. Curr Biol 16: 1244-1248. []PubMed
- Lei L, Liu D, Huang Y, Jovin JE, Shai SY, Kyriakides T, Ross RS, Giordano FJ (2008) expression endothéliale de beta1 integrin est requis pour vasculaire embryonnaire motif récurrent et postnatale remodelage vasculaire. Mol Cell Biol 28 : 794-802. [] []PMC free articlePubMed
- Le Noble F, Klein C, Tintu A, tente un, Buschmann I (2008) orientations Neural molécules, cellules tip, et forces mécaniques de développement vasculaire. Cardiovasc Res 78: 232-241. []PubMed
- Licht AH, Müller-Holtkamp F, Flamme JE, Breier G (2006) L'Inhibition d'hypoxie-inductibles activité facteur de cellules endothéliales perturbe embryonnaire développement cardiovasculaire. Blood107 : 584-590. []PubMed
- Licht AH, Raab S, Hofmann U, Breier G (2004) endothélium-spécifiques Cre recombinase activité de flk-1-Cre souris transgéniques.Dev Dyn 229: 312-318. []PubMed
- Machnik A, Neuhofer W, Jantsch J, Dahlmann A, Tammela T, Machura K, parc JK, Beck FX, Müller DN, W Derer, Goss J, Ziomber A, Dietsch P, Wagner H, van Rooijen a fondé la société N, Kurtz A, Hilgers KF, Alitalo K, Eckhardt, qui fut plus tard consul KU, Luft FC et al. (2009)Les macrophages réglementer sel-dépendante du volume et de la pression artérielle par un facteur de croissance endothérial vasculaire-C-dépendants mécanisme tampon. Nat Med 15: 545-552. []PubMed
- Autres T, Norrmén C, Petrova TV (2007) mécanismes moléculaires de lymphatique développement vasculaire. cellule Mol vie Sci 64: 1915-1929. []PubMed
- Mammoto T, Ingber DE (2010) de contrôle mécanique des tissus et des organes développement 137: 1407-1420. [] []PMC free articlePubMed
- Nilsson I, Bahram F, Li X, Gualandi L, Koch S, M Jarvius, Söderberg O, Anisimov A, Kholová I, Pytowski B, Baldwin M, Ylä-Hertuala S, K Alitalo, Kreuger J, Claesson-Welsh L (2010)VEGF récepteur 2/3 heterodimers détecté in situ par la proximité de ligature angiogéniques germes. EMBO J 29: 1377-1388. [] []PMC free articlePubMed
- Ny A, Koch M, Schneider M, Neven E, Tong RT, Maity S, Fischer C, Plaisance S, Lambrechts D, Héligon C, Terclavers S, Ciesiolka M, Kälin R, Man WY, Senn JE, Wyns S, Lupu F, Brändli A, animé par Gérard Vleminckx K, Collen D et al. (2005) UNE Xenopus génétique les conditions tadpole modèle d'étude lymphangiogenesis. Nat Med 11: 998-1004. []PubMed
- Okazaki T, ni un Ayeni, OA, Baluk P, Yao LC, Vossmeyer D, Zischinsky G, Zahn G, Knolle J, Christner C, DM McDonald (2009) alpha5bêta1 integrin blocus inhibe lymphangiogenesis dans l'inflammation des voies respiratoires. Am J Pathol 174: 2378-2387. [] []PMC free articlePubMed
- Papusheva E, Heisenberg CP (2010) organisation spatiale de l'adhérence : force-dépendants règlement et fonction de morphogenèse tissulaire. EMBO J 29 : 2753-2768. [PMC free article][]PubMed
- Potocnik AJ, Brakebusch C, Fässler R (2000) et fœtal hématopoïétiques adultes cellules souches exigent beta1 integrin function pour coloniser foie foetal, la rate et la moelle osseuse. Immunité 12: 653-663. []PubMed

- M. Rutkowski JM, Swartz MA (2007) une force motrice pour le changement : débit interstitiel comme morphoregulator. *Tendances Cell Biol* 17: 44-50. [][PubMed](#)
- Saharinen P, Helotera H, Miettinen J, Norrmen C, D'Amico G, M Jeltsch Langenberg, T, W Vandevelde, Ny A, Dewerchin M, Carmeliet P Alitalo, K (2010) Claudin-comme protéines 24 interagit avec le VEGFR-2 et VEGFR-3 pathways et réglemente vaisseau lymphatique développement. *gènes Dev* 24 : 875-880. [][PMC free article](#)[PubMed](#)
- Schulte-Merker S, Sabine A, Petrova TV (2011) vasculaire lymphatique morphogenèse dans le développement, la physiologie, et de la maladie. *J Cell Biol* 193: 607-618. [][PMC free article](#)[PubMed](#)
- Schwartz MA (2010) Integrins et matrice extracellulaire dans mechanotransduction. *Cold Spring Harb juge pas suffisament Biol* 2 : a005066. [][PMC free article](#)[PubMed](#)
- Siekmann Fittings AF, Lawson ND (2007) signalisation Notch limites angiogéniques comportement cellulaire dans les pays en développement: danio artères. *Nature* 445: 781-784. [][PubMed](#)
- Söderberg O, Gullberg M, M Jarvius, Riddersträle K, Leuchowius KJ, Jarvius J, Wester K, Hydbring P, Bahram F, Larsson LG, Landegren U (2006) observation directe des protéines endogènes complexes *in situ* par proximité ligature. *Nat* 3 Méthodes : 995-1000. [][PubMed](#)
- Soriano P (1999) généralisées lacZ expression avec la ROSA26 Cre journaliste strain. *Nat Genet* 21: 70-71. [][PubMed](#)
- Srinivasan RS, Dillard MOI, Lagutin VO, Lin FJ, Tsai S, Tsai MJ, Samokhvalov IM, Oliver G (2007) lignage traçage démontre l'origine veineuse des mammifères des vaisseaux lymphatiques. *gènes Dev* 21: 2422-2432. [[PMC free article](#)][PubMed](#)
- Strilić B, Kucera T, Eglinger J, M. Hughes, McNagny KM, Tsukita S, Dejana E, Ferrara N, Lammert E (2009) La base moléculaire du lumen vasculaire formation dans le développement des souris aorte. *Dev cellule* 17: 505-515. [][PubMed](#)
- Tammela T Alitalo, K (2010) Lymphangiogenesis : mécanismes moléculaires et promesse d'avenir. *cellule* 140 : 460-476. [][PubMed](#)
- Tammela T, Zarkada G, Wallgard E, Murtomäki A, Suchting S, Wirzenius a analysé les réseaux de M, Waltari M, Hellström M, Schomber T, Peltonen R, Freitas C, Duarte A, Isoniemi H, Laakkonen P, Bartolomeo Cristofori G, Ylä-Hertuala S, Shibuya M, Pytowski B, Eichmann A, Betsholtz C et al. (2008) de blocage VEGFR-3 inhibe la germination angiogéniques vasculaire et réseau formation. *Nature* 454: 656-660. [][PubMed](#)
- Tanjore H, Zeisberg EM, Gerami-Naini B Kalluri, R (2008) bêta1 integrin expression sur des cellules endothéliales est requis pour l'angiogenèse mais pas pour vasculogenesis. *Dev Dyn* 237: 75-82. [][PubMed](#)
- Tse JR, Engler AJ (2010) Préparation des substrats hydrogel réglables avec propriétés mécaniques. *Curr nandou Cell Biol* 10 : 16 .1. [][PubMed](#)
- Vlahakis NE, jeunes BA, Atakilit A, Sheppard D (2005) Le lymphangiogenic endothelial vasculaire facteurs de croissance VEGF-C et -D sont ligands pour la integrin alpha9beta1. *J Biol Chem* 280 : la NT 4544A -4552. [][PMC free article](#)[PubMed](#)
- Wang Y, Botvinick EL, Zhao Y, Berns MW, Usami S, Tsien RY, Chien S (2005) Visualiser l'activation mécanique de src. *Nature* 434: 1040-1045. [][PubMed](#)

- Wang Y, Nakayama, M ME Pitulescu, Schmidt TS, Bochenek ML, très remarquée A, Adams S, Davy A, Deutsch U, Lüthi U, Barberis A, Benjamin LE, autres T, Nobes CD, Adams RH (2010) Ephrin-B2 contrôle VEGF induite par l'angiogenèse et lymphangiogenesis. *Nature* 465: 483-486. [][PubMed](#)
- Wang Y, Oliver G (2010) vues actuelles sur la fonction des vaisseaux lymphatiques dans la santé et la maladie. *Les gènes Dev* 24: 2115-2126. [][\[PMC free article\]](#)[PubMed](#)
- Yaniv K, Isogai S, Castranova D, colorant L, Hitomi J, Weinstein BM (2006) d'imagerie en temps réel de développement lymphatique dans le danio. *Nat Med* 12: 711-716. [][PubMed](#)
- Zhang X, AEROTHERMES Groopman, Wang JF (2005) matrice extracellulaire réglemente fonctions endothéliales grâce à l'interaction de VEGFR-3 et integrin alpha5beta1. *J Cell Physiol* 202 : 205-214.[\[\]\[PubMed\]\(#\)](#)
- Zovein AC, Luque, Turlo KA, Hofmann JJ, Yee KM, Becker MS, Rich Fassler R, Mellman JE, Lane TF, Iruela-Arispe ML (2010) Beta1 integrin établit cellules endothéliales et polarité artériolaire lumen formation via un pair3-mécanisme dépendant. *Dev Cell*18 : 39-51. [][\[PMC free article\]](#)[PubMed](#)

ANNEXE 6

J Plast Surg esthé. 2013 août 20. PII: S1748-6815 (13) 00466-X. doi: 10.1016/j.bjps.2013.08.002. [Epub ahead of print]

Les effets biologiques d'étirement cellulaire sur les fibroblastes dermiques humains.

Huang C , K Miyazaki , Akaishi S , Watanabe A , Hyakusoku H , R Ogawa .

Source

Département de Chirurgie Plastique, Reconstructrice et Esthétique, école Nippon médicaux, Tokyo, Japon, le ministère de la chirurgie plastique, Meitan General Hospital, Beijing, Chine.

Résumé

Les cicatrices pathologiques sont des troubles cutanés fibroprolifératives qui sont caractérisées par l'accumulation de fibroblastes et les collagènes. Il est de plus entendu que leur développement et leur progression peuvent être liés à la mécanique de la peau locales, telles que le stretching. La présente étude a évalué les effets morphologiques et fonctionnelles du tronçon cellulaire sur les fibroblastes dermiques humains normaux et exploré les mécanismes de mécanotransduction qui peuvent être impliqués. Lorsque les fibroblastes ont été soumis à 24 h axial cyclique étirement (10 cycles min⁻¹), ils ont migré plus rapidement et pour une plus longue distance que les cellules non étirées. La migration accrue des cellules a entraîné la réorientation mêmes perpendiculaires à la direction d'étirage. Ceci a été associé à l'apoptose cellulaire réduite et la prolifération inchangé. Stretching ne pas augmenter la synthèse de collagène, mais n'a éléver la dégradation du collagène. Ces effets biologiques semblent être médiée par l'intégrine et les voies de mécanotransduction Wnt, qui a transmis le stimulus mécanique via les interactions cellule-substrat, jonctions cellule-cellule et les communications indirectes de cellule à cellule. Une meilleure compréhension de ces mechanoresponses de fibroblastes in vitro permettra le développement de nouvelles interventions susceptibles de prévenir, réduire ou même inverser formation pathologique de la cicatrice et / ou la progression in vivo.

Copyright © 2013 Association britannique des chirurgiens plastique, reconstructive et esthétique. Publié par Elsevier Inc. Tous droits réservés.

L'Adipogenèse est inhibée par la brève exposition quotidienne aux hautes fréquences, aux signaux mécaniques extrêmement faible ampleur

(Adipogenesis is inhibited by brief, daily exposure to high-frequency, extremely low-magnitude mechanical signals)

CT Rubin, E. Capilla ,YK Luu ,B. Busa ,H. Crawford, DJ Nolan, V. Mittal, CJ Rosen, JE Pessin, et S. Judex.

RÉSUMÉ

L'obésité, une pandémie mondiale qui affaiblit millions de personnes et les charges de la société avec des dizaines de milliards de dollars en coûts de soins de santé, est dissuadé par l'exercice. Même si on suppose que le laborieux un défi plus physique, plus il sera efficace dans la suppression de l'adiposité, ici il est montré que 15 semaines de mémoire, l'exposition quotidienne aux signaux mécaniques à haute fréquence, induit une magnitude bien inférieure à celle qui surviendrait pendant la marche, a inhibé l'adipogenèse de 27% chez les souris C57BL/6J. Le signal mécanique a également réduit principaux facteurs de risque dans l'apparition du diabète de type II, acides gras libres non estérifiés et la teneur en triglycérides dans le foie, par 43% et 39%, respectivement. Plus de 9 semaines, ces mêmes signaux supprimées production de matières grasses de 22% dans la souche de souris congéniques C3H.B6-6T qui présente des changements accélérés liées à l'âge dans la composition corporelle. Dans un effort pour comprendre les moyens par lesquels la production de graisse a été inhibée, souris irradiées recevant des greffes de moelle osseuse à partir de GFP⁺ souris hétérozygotes ont révélé que 6 semaines de ces signaux de faible amplitude mécaniques réduit l'engagement de la différenciation des cellules souches mésenchymateuses en adipocytes de 19%, indiquant que la formation du tissu adipeux dans ces modèles a été dissuadé par une réduction marquée de l'adipogenèse des cellules souches. Traduit de l'être humain, ce qui peut représenter la base de la prévention non pharmacologique de l'obésité et de ses séquelles, réalisé par des voies de développement, plutôt que métaboliques.

Mots-clés: cellules souches mésenchymateuses, l'obésité, la thérapeutique, le diabète, les vibrations

Soixante pour cent des adultes américains sont en surpoids et l'obésité et le diabète menace près de 30% de la population (1). Chaque année, ces maladies consomment plus de 150 milliards de dollars en coûts de soins de santé, mais les interventions pharmacologiques efficaces à n'importe quelle échelle ont prouvé insaisissable (2). Même le contrôle de l'obésité et du diabète s'est avéré difficile, avec un principal facteur étiologique étant un «mode de vie sédentaire» et une intervention thérapeutique courante étant l'exercice (3). Bien que le mécanisme exact reste inconnu, les voies par lesquelles exercice pour opprimer l'adipogenèse sont certains d'impliquer à la fois métabolique (4) et mécaniques (5 facteurs), et une compréhension plus complète aideront à définir les voies physiques et physiologiques qui peuvent, à un moment donné, aider contrôler la pathogenèse de ces maladies (6).

Il est largement admis que l'exercice supprime l'obésité et l'apparition du diabète de type II en métabolisant les calories accumulées par l'alimentation (7) et de l'insuline régulation, les acides gras libres (AGL) et de triglycérides (TG), la production grâce à un contrôle physiologique de sucre dans le circulation sanguine (8). Ainsi, l'inhibition de l'obésité et du diabète par l'exercice est réalisé en métabolisant l'apport calorique par l'augmentation des dépenses de travail (9) et une réduction proportionnelle de l'hyperglycémie (10). Cela implique que la plus intense et prolongée de l'exercice, plus le bénéfice dans le métabolisme des graisses (11 , 12). Dans certains Contrairement à ce «plus c'est mieux» point de vue, il a été récemment montré que de courtes durées quotidiennes de haute fréquence, des signaux mécaniques extrêmement bas niveau, trois ordres de grandeur inférieur à celui induit par l'exercice (13), peuvent influencer positivement les autres systèmes physiologiques, y compris l'os (14) et le muscle (15), que l'on croyait réagissant uniquement aux défis physiques intenses.

Considérant que les adipocytes, ostéoblastes, et les myocytes dérivent toutes d'un ancêtre commun, dérivées de la moelle cellules souches mésenchymateuses (CSM) (16), il a été émis l'hypothèse que ces bas de magnitude signaux mécaniques (LMMS), qui sont anabolisant pour le système musculo-squelettique, serait, en parallèle, de supprimer l'adiposité. Cet objectif serait atteint pas en métabolisant le tissu adipeux existant, mais plutôt par la suppression de la différenciation de cellules souches en adipocytes. Ainsi, l'adipogenèse serait freinée par une voie de développement, et à une entrée physique bien inférieur à celui actuellement jugé nécessaire de supprimer l'adiposité par exercice (17). Enfin, comme une preuve que cette intervention pourrait influencer efficacement un modèle génétiquement prédisposés à l'adiposité, la capacité de ces signaux mécaniques pour supprimer la production de graisse a été examiné dans un modèle congénique qui récapitule les changements liés à l'âge dans la composition corporelle (18).

Aller à:

RÉSULTATS

LMMS Suppression de l'adiposité dans normales souris B6.

Au départ, le poids corporel des LMMS ($21,2 \pm 1,5$ g) et de contrôle (CTR) ($21,1 \pm 1,7$ g) les souris étaient similaires ($P = 0,9$). Pendant toute la durée du protocole, la masse corporelle des deux groupes a augmenté à des taux similaires (Fig. 1).modèles d'activité au cours des 15 min de traitement LMMS et imposture n'étaient pas sensiblement différente de leur comportement dans leurs cages ou de l'autre. Il n'y avait pas de différences notables dans le comportement alimentaire entre les groupes, et les apports alimentaires hebdomadaires entre LMMS ($26,4 \pm 2,1$ g · semaine $^{-1}$) et CTR ($27,0 \pm 2,1$ g · semaine $^{-1}$) chez la souris était essentiellement identique (Fig. 1). À 12 semaines, lorsque le in vivo CT scans ont été réalisés, la masse corporelle des animaux LMMS n'était pas significativement différente de CTR (4,0% inférieur à LMMS, $p = 0,2$) (tableau 1).

Fig. 1.

Au cours de la période expérimentale, aucune différence significative n'a été mesurée entre la masse corporelle moyenne de la B6 CTR (■) par rapport à LMMS souris B6 (●). Ration alimentaire hebdomadaire au cours de cette période était également similaire entre les groupes ($n \geq ...$

Tableau 1.

Corps habitus paramètres de CTR et LMMS souris B6 à 12 semaines

Tel que mesuré à 12 semaines par in vivo CT, le volume de graisse dans le torse de LMMS souris B6 était de 27,4% inférieure à celle mesurée chez les souris CTR ($P = 0,008$) (Fig. 2). Les différences dans la masse ou la prise alimentaire ont échoué pour tenir compte du tissu adipeux supprimée mesuré chez les souris LMMS. Les corrélations entre l'apport alimentaire et la masse corporelle totale ($r^2 = 0,15$, $p = 0,7$) ou le volume de graisse ($r^2 = 0,008$, $p = 0,6$) étaient faibles et indiquent que l'adiposité plus faible chez les animaux LMMS ne pouvait pas s'expliquer par des différences dans les aliments consommation entre les groupes. Tandis que les variations de la masse corporelle des souris CTR forte corrélation entre le volume de graisse ($r^2 = 0,70$, $p = 0,0001$), aucune corrélation n'a été observée dans LMMS ($r^2 = 0,18$, $p = 0,1$), indiquant que la masse grasse a contribué à poids gagner en CTR, mais n'a pas tenu compte de l'augmentation de la masse corporelle chez les animaux stimulés mécaniquement [renseignements à l'appui (SI) Fig. 5]. La masse corporelle comme covariable a augmenté la valeur de P à 0,013 alors que l'apport alimentaire en tant que covariable ne modifie pas la valeur de P pour la différence entre CTR et souris LMMS.

Fig. 2.

Une reconstruction longitudinal (Upper) et transversale (Basse, au niveau de la ligne en pointillé) sous-cutanée et en matières grasses épидidyme à travers le torse d'un CTR (à gauche) et LMMS (à droite) B6 souris, réalisée in vivo à 12 semaines en utilisant le signal CT paramètres en particulier ...

Contrairement à gros volume, le volume maigre total du torse (volume total moins de graisse et des os) était similaire entre LMMS et CTR ($P = 0,7$) (tableau 1), alors que le volume maigre comme un rapport de masse corporelle était de 5,0% supérieur à LMMS ($P = 0,01$). Le volume de l'os du squelette, à partir de la base du crâne à la région distale du tibia, comme un rapport de la masse de corps est de 4,6% plus grande que dans LMMS CTR ($P = 0,03$). Fat volumes normalisés à la masse corporelle était de 23,5% inférieur à la LMMS ($P = 0,004$), et le rapport du volume de graisse pour la masse maigre était de 27,6% inférieur à LMMS que dans CTR ($P = 0,005$). Pas de différences dans la longueur du tibia ($P = 0,6$) ou le torse ($P = 0,6$) ou du poids du cœur ($P = 0,7$) ou le foie ($P = 0,6$) ont été identifiés entre les groupes.

Données sur le volume de graisse provenant de in vivo CT à 12 semaines ont été soutenus par les poids des coussinets adipeux disséqués récoltés à 15 semaines, en cas LMMS avaient 26,2% de moins épидidyme ($P = 0,01$) et 20,8% de moins sous-cutanée ($P = 0,02$) de gras que CTR (tableau 2). Normalisée à la masse, il y avait 22,5% de moins épидidyme et 19,5% moins de gras sous-cutané dans LMMS de CTR ($P = 0,007$).

Tableau 2.

habitus du corps et les paramètres biochimiques du CTR et LMMS souris B6

Pour tenir compte de la différence de masse corporelle de 1,2 g entre LMMS et souris CTR mesurées à 12 semaines, à CT mesures de volume de graisse in vivo ont été convertis en

équivalents de masse. En utilisant une densité de $0,9196 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$ à convertir le volume de graisse à la masse (19) a indiqué que $3,54 \pm 0,9$ g de la masse moyenne de la souris LMMS provenait de graisses (13% de la masse totale), tandis que $4,87 \pm 1,5$ g de la masse de la souris moyenne CTR provenait de graisses (17% de la masse totale). Ainsi, le manque de graisse chez les animaux LMMS était, en substance, capable de rendre compte de la «masse manquante» entre les groupes ($P = 0,01$).

Parallèlement à la suppression de l'adiposité, TG dans le tissu adipeux de souris LMMS étaient 21,1% ($P = 0,3$) inférieur CTR et 39,1% de moins dans le foie ($P = 0,02$) (Fig. 3). Total des FFA non estérifiés (AGNE) dans le tissu adipeux étaient 37,2% de moins dans LMMS ($P = 0,01$), alors que AGNE dans le foie des souris LMMS était de 42,6% plus faible ($P = 0,02$) que les CTR. Bien qu'il y ait eu une légère diminution de la glycémie à jeun et le taux d'insuline dans le groupe LMMS ($P = 0,07$), ce n'était pas significativement différente, suggérant que ces signaux mécaniques n'ont eu aucun effet significatif sur la fonction hépatique ou des cellules β (tableau 2). De même, il n'y avait pas de changement significatif de la tolérance au glucose, la signalisation de l'insuline, ou l'oxydation des acides gras dans le muscle, le foie ou le tissu adipeux (données non présentées). Les taux circulants de leptine étaient 38,3% plus faible dans les LMMS par rapport à CTR ($P = 0,07$), alors que l'adiponectine (en baisse de 16,3%, $p = 0,16$) et la résistine (en baisse de 13%, $p = 0,17$) n'étaient pas aussi nettement supprimée (Tableau 2).

Fig. 3.

Un résumé des différences phénotypiques et biochimiques entre LMMS et le CTR B6 souris indique que LMMS réduit les facteurs de risque associés au diabète. Moyennes et écarts de volume de graisse dans le torse de CTR et LMMS souris B6, tel que mesuré par tomodensitométrie (En haut à gauche), comme ...

LMMS inhibe la différenciation des cellules de moelle GFP en adipocytes.

Il a été récemment rapporté que les précurseurs adipogéniques chez la souris sont dérivées de cellules souches de la moelle osseuse (16), un site anatomique soumis à ces signaux mécaniques (20). Souris receveuses Ainsi, GFP-marqués ont été utilisés pour déterminer si LMMS supprimées adiposité en redirigeant les cellules souches adipogéniques dérivées de moelle osseuse. Cela a été réalisé par l'examen de la production d'adipocytes après GFP-étiquetée greffe de moelle osseuse. Lorsque les bénéficiaires $^{de+}$ GFP ont été euthanasiés après 6 semaines de chargement (âge de l'animal 15 semaines), la masse de LMMS n'était pas significativement différente de CTR (baisse de 3,6%, $p = 0,19$). La cytométrie en flux a démontré le rapport de la GFP + adipocytes dans le coussinet adipeux épидidymaire à la GFP + moelle basée CSM soit inférieur de 19% ($P = 0,018$) dans LMMS relatives à CTR (SI Fig. 6). Ces données indiquent engagement réduit à adipocytes ont été pris en charge par le poids du coussinet adipeux épидidymaire après 6 semaines de LMMS, qui était de 12,2% inférieur à CTR ($P = 0,029$).

LMMS Supprime changements liés à l'âge Fat Composition.

6T souris ont été soumises à LMMS pour déterminer si ces signaux mécaniques pourraient réprimer la prédisposition de cet animal à la détérioration liée à l'âge de la composition corporelle (18). À 9 semaines (16 semaines d'âge), 6T souris soumises à LMMS étaient 3,9% plus léger ($P = 0,19$) (tableau 3), et a eu 21,6% en volume moins de matières grasses ($P = 0,02$) (Fig. 4) que CTR. AGNE dans le tissu adipeux étaient 48,0% de moins dans LMMS ($P = 0,02$), alors que TG étaient 25,0% plus faible ($P = 0,27$). Alors que AGNE dans le foie n'a pas été influencée par

LMMS (4,8% inférieur; $P = 0,69$), TG a réalisé une réduction de 15,3% par le signal mécanique ($P = 0,002$).

Tableau 3.

CTR et LMMS 6T habitus du corps et les paramètres biochimiques dans le plasma et les tissus

Fig. 4.

Transversal CT reconstruction réalisée in vivo à 9 semaines, avec une sensibilité de signal pour le tissu adipeux, montrant teneur en matières grasses dans la région abdominale du torse d'un CTR (à gauche) et LMMS (à droite) 6T souris femelle. Aucune différence significative de la masse corporelle ...

Aller à:

DISCUSSION

Les enfants obèses sont plus susceptibles de développer le diabète de type II (21) et d'augmenter leur risque à vie de maladies cardiovasculaires (22). Adultes en surpoids, même pas encore obèses, sont plus sensibles aux maladies chroniques débilitantes, et un risque accru de décès (23). Bien que l'exercice reste le moyen de réduire le gain de poids et l'apparition du diabète de type II plus facilement disponibles et généralement acceptée, la conformité est pauvre, et les moyens par lesquels ces signaux métaboliques et mécaniques conspirent pour supprimer l'adiposité et du diabète ne sont pas pleinement compris. Contrairement à la perception que les signaux physiques doivent être grands et enduré pendant de longues périodes de temps pour compenser les apports caloriques et la production d'insuline de contrôle, les résultats présentés ici indiquent que la population cellulaire (s) et le processus physiologique (s) chargée d'établir la masse grasse et, peut-être indirectement, FFA et la production TG sont facilement influencés par une brève exposition à des signaux mécaniques à peine assez grandes pour être perçu.

Du point de vue métabolique, la tendance à l'amélioration de la tolérance au glucose mesurée ici indique que le mécanisme métabolique de l'organisme a été élevé, et reste peut-être plus élevé, même après LMMS a diminué, suggérant qu'un élément mécano au sein de la population cellulaire a été déclenché sans que les signaux étant large (24). Et plutôt que d'exiger une accumulation de renseignements mécanique sur un agrégat de temps pour élever l'activité métabolique, peut-être de ces populations cellulaires sont dotés d'une mémoire, ou période réfractaire, dans laquelle leur machinerie métabolique, une fois déclenché, reste actif même après le stimulus a disparu (25).

Quelque peu contraire à une perspective «métabolique», la faible intensité de la routine quotidienne indique que l'inhibition de l'adipogenèse est atteint par d'autres voies que l'augmentation induite par l'exercice de l'activité métabolique. En effet, la GFP⁺ souris receveuses indiquent que l'adiposité réduite résultant de LMMS est réalisé en partie en influant sur la différenciation des précurseurs de graisse, de dissuader de commettre des cellules souches mésenchymateuses à une lignée adipocytaire. Même la souris 6T prédisposés à des modifications liées à l'âge dans la composition corporelle a répondu à LMMS par adiposité supprimé. Considérée dans le contexte de la preuve précédente que LMMS est anabolique sur

l'os (26) et les tissus musculaires (15), nos données suggèrent que LMMS peut conduire MSC pour renforcer le système musculo-squelettique, en encourageant les précurseurs des cellules souches noncommitted pour le lignage du tissu conjonctif. Le patrimoine commun de ces systèmes cellulaires suggèrent que les conditions d'une accumulation de graisse ou de la perte osseuse pourraient être contrôlés en ciblant les précurseurs des adipocytes et les ostéoblastes.

Des études antérieures ont montré que les concentrations plasmatiques de leptine corrèlent avec le degré d'adiposité, alors que l'adiponectine et la résistine adipokines sont corrélés plus étroitement avec les changements dans l'état métabolique (27). La réduction des taux circulants de leptine dans les souris B6 LMMS par rapport à CTR est compatible avec une diminution de la masse du tissu adipeux, alors que l'absence d'un changement important dans les deux adiponectine ou niveaux de résistine étaye la conclusion que l'adiposité réduite a été réalisée sans altérer l' état métabolique des animaux.

Parmi les limites de ces expériences est la gamme de périodes examinées, ce qui rend difficile de comparer directement les uns contre les autres (SI Fig. 7). Bien que chaque protocole a été conçu pour répondre à une autre question, LMMS supprimé adiposité à travers tous les protocoles, tels que mesurés par deux la masse grasse et le volume de graisse. Protocoles longs (par exemple, 1 an) seront nécessaires pour déterminer si la suppression de la masse grasse, TG, et les niveaux d'AGNE persistent, et les protocoles à court terme (par exemple, 1 semaine) doivent être mis au point pour identifier les régulateurs moléculaires de la réponse. Enfin, les protocoles plus vastes doivent être utilisés pour évaluer si l'adipogenèse altération est corrélée à des changements dans la quantité et la qualité du système musculo-squelettique.

Il est récente en évidence in vitro que des niveaux élevés d'étirement mécanique peuvent diriger MSC vers une lignée osteoblastogenic, de préférence à des adipocytes (28). Ici, dans un système in vivo, nous avons pu démontrer que les signaux physiques n'ont pas besoin d'être grand pour influencer les voies de différenciation et peuvent être livrés de manière non invasive pour influencer le phénotype de l'animal entier. Plutôt que d'exiger des niveaux élevés de distorsion mécanique ou dommage afin de déterminer leur destin, peut-être de ces populations de cellules souches sont sensibles aux stimuli spécifiques fréquence, similaires à d'autres systèmes physiologiques visant à surveiller "signaux exogènes", tels que la vision (couleur), auditives (ton), et une perception tactile (pression), et que ces signaux physiques sont traitées dans les fenêtres spécifiques de sensibilité et peut commencer à se fermer lorsque le signal devient trop claire, trop forte ou trop lourdes. Certes, lorsqu'on les considère dans le contexte des souches extrêmement petits de tissus qui se posent à partir des signaux mécaniques utilisés ici, peut-être l'élément essentiel de mechanotransduction doit être considérée comme l'accélération, plutôt que de distorsion, comme un moyen efficace d'informer une population de cellules de défis physiques (29).

En tout cas, l'inhibition de l'adipogenèse par LMMS, considéré en parallèle avec leur potentiel anabolique dans l'os et le muscle (15), soutient la présence d'un avantage systèmes interdépendants de l'exercice et les conséquences systémiques de la sédentarité. Avec le recul, peut-être cela ne devrait pas être si surprenant, car les os et les muscles sont bien connus à répondre positivement aux défis mécaniques, tandis que la graisse se développe à l'inactivité. Sans doute, ces données indiquent que les précurseurs mésenchymateuses perçoivent et réagissent aux «exigences» mécaniques comme stimuli de faire la différence sur un sentier musculo-squelettique plutôt que «défaillant» pour les tissus adipeux et peuvent, dans une certaine mesure, étiologiquement interconnecter des augmentations liées à l'âge en matière d'obésité, l'ostéopénie et la sarcopénie.

La pertinence physiologique de LMMS devient évident lors de l'examen des spectres contractile du muscle. Type IIa fibres musculaires feu dans la gamme de 20-50 Hz (30), et, quoique faible amplitude par rapport aux signaux de pics générés par des activités pénibles comme la course, ces signaux à haute fréquence sont, au fil du temps, un élément prédominant de l'énergie mécanique dans le système musculo-squelettique (31). Des conditions telles que le vieillissement de réduire ces signaux dans le domaine à haute fréquence (32) et suggèrent que l'atrophie osseuse liée à l'âge et l'augmentation de l'adiposité peuvent se produire non seulement des capacités de pointe de charge diminuée, mais la dissolution des signaux de faible niveau causées par la sarcopénie qui est parallèle à ces conditions (33).

En parallèle avec l'adiposité plus faible réalisé par LMMS, TG et AGNE dans les tissus adipeux et le foie, les facteurs biochimiques clés liés au diabète de type II, ont été supprimées à la fois dans la B6 et de la souris 6T. De nombreuses études ont démontré que la dyslipidémie peut avoir un impact négatif important sur le métabolisme, la croissance et le développement. En particulier, les lipides intra-tissulaire accumulation (stéatose hépatique) et intramyocellulaires lipides ont été étroitement liées à la résistance à l'insuline et sont considérés comme le meilleur prédicteur pour le développement futur de la résistance à l'insuline (34). Bien que les résultats de l'obésité dans les Etats de la dyslipidémie, lipodystrophie (l'absence de dépôts de tissu adipeux) peut avoir la même conséquence négative en raison de limité périphérique FFA et la capacité de stockage TG (35). Ainsi, un équilibre physiologique entre le stockage des lipides et la libération des lipides doit être maintenue pour le métabolisme optimal. La capacité de supprimer l'expansion des tissus adipeux par des signaux mécaniques, ainsi que la limite d'AGNE et la production TG, peut fournir une approche simple et non pharmacologiques pour limiter l'obésité d'une manière suffisante pour éviter les conséquences de la dyslipidémie.

LMMS ont été livrés à la souris via les vibrations du corps entier. Lorsque l'on considère la traduction de ce à la clinique, il est important de noter que les associations persistent entre les vibrations et les conditions néfastes sur la santé, y compris la lombalgie, l'érosion du cartilage, des troubles circulatoires, et le dysfonctionnement neurovestibulaire (36), entraînant internationales mises en garde de l'Organisation de sécurité pour limiter l'exposition humaine à ces signaux mécaniques (37). A la fréquence (90 Hz) et l'amplitude (0,2 g crête) utilisée dans ces études, l'exposition serait considéré comme sûr pour > 4 h chaque jour.

En résumé, nos résultats indiquent que brève exposition à LMMS haute fréquence nettement supprimer l'adipogenèse et la production TG et AGNE et pourrait conduire à une intervention non pharmacologique unique pour le contrôle de l'obésité et de ses séquelles, telles que le diabète de type II. Le fait que les signaux sont si bas, et si brève, mais avec une telle réponse frappante dans le phénotype de l'animal à la fois croissante et un modèle de vieillissement accéléré, suggère un moyen de réprimer l'adipogenèse indépendant d'une voie métabolique. C'est un signal mécanique anabolisant à l'os peut inhiber simultanément la production de graisse serait coupler la prévention de l'obésité pour la prévention de l'ostéoporose, réalisé en contrôlant la différenciation des cellules souches mésenchymateuses plutôt que les cellules résidentes dans le tissu adipeux ou le tissu squelettique.

Aller à:

MÉTHODES

Toutes les procédures ont été examinés et approuvés par le Brook University soins aux animaux Stony et le comité de l'emploi. Le dispositif expérimental était en tout de trois protocoles

distincts, chacun étant conçu autour d'une échelle de temps à analyser les éléments spécifiques de l'hypothèse générale ([SI Fig. 7](#)). Le premier protocole, afin de déterminer si LMMS peut supprimer l'adiposité chez les souris mâles normales par rapport à CTR, a commencé avec les jeunes souris adultes 7 semaines d'âge et a exigé un protocole de 15 semaines pour s'assurer que les différences dans la production de graisse entre les groupes pourraient être testés. Le deuxième protocole, afin d'examiner l'influence de LMMS sur la différenciation des cellules souches mésenchymateuses, était plus courte (6 semaines de chargement), ce qui permet une évaluation antérieure de l'engagement des cellules souches en adipocytes. Dosage d'irradiation précis, en fonction de la masse des animaux, a exigé que chaque souris soit au moins 8 semaines d'âge, et les considérations pour la santé animale nécessaire que cela soit suivi d'une semaine de récupération avant de le manipuler. Ainsi, les animaux ont commencé le protocole LMMS à 9 semaines d'âge et ont été euthanasiés à l'âge de 15 semaines. Le troisième protocole, d'examiner si LMMS pourraient supprimer l'adipogenèse dans un modèle de souris congéniques sujettes à l'adiposité, a commencé lorsque les animaux étaient âgés de 7 semaines (comme dans la première expérience). Pour faciliter la comparaison des données de l'habitus du corps à ceux rapportés dans la littérature ([18](#)), ce groupe a été euthanasié à 16 semaines d'âge après 9 semaines de LMMS.

Influence mécanique sur l'adiposité chez la souris normale.

Quarante C57BL/6J (B6) des souris mâles, âgés de 7 semaines et donné libre accès à une alimentation normale chow, ont été séparés au hasard en deux groupes: ceux soumis à de brèves périodes de LMMS ($n = 20$) ou leur âge comparable imposture CTR ($n = 20$). Les poids des animaux, ainsi que leur consommation alimentaire individuelle, ont été mesurés chaque semaine. Pendant 15 semaines, 5 jours par semaine, les souris LMMS ont été soumis à 15 min de 90 Hz, 0,2 g, accélération maximale (1,0 g = champ gravitationnel de la Terre, soit $9,8 \text{ m} \cdot \text{s}^{-2}$), induite par la verticale du corps entier vibration via une boucle fermée plate-forme contrôlée, oscillant (modifié par Juvent Medical, Inc., Somerset, NJ) ([38](#)). Une vibration sinusoïdale à cette amplitude et la fréquence provoque un déplacement de $\approx 12 \text{ pm}$ et est à peine perceptible au toucher humain. CTR animaux ont été placés sur une plate-forme inactive chaque jour.

À 12 semaines dans le protocole (19 semaines), *in vivo* microtomographie (VivaCT 40; Scanco, Bassersdorf, Suisse) a été utilisé pour quantifier le volume gras et le maigre du torse ($n = 15$ dans chaque groupe) ([39](#)). Le torse de chaque souris a été scanné CT à une taille de voxel isotrope de 76 μm (45 kV, 133 pA, le temps d'intégration de 300 ms). la longueur du torse est défini par deux points de repère anatomiques, à partir de la partie distale du tibia à la base du crâne. La segmentation d'images a été calibré en utilisant la plage de densité d'un tampon frais graisse d'une souris B6 sans rapport avec cette étude. Filtrage gaussien a été appliquée ($\sigma = 1,5$; support = 3,0) pour réduire le bruit d'image avant scans ont été évalués pour le volume.

A 15 semaines après le protocole (de 22 semaines) chez la souris ont jeûné pendant la nuit, et la collecte de sang a été réalisée par ponction cardiaque à l'animal sous anesthésie et plasma récolté par centrifugation (14000 rpm, 15 min, 4 ° C). Les souris ont été euthanasiées par dislocation cervicale, et les différents tissus (c.-à-épididyme coussinet adipeux et graisse sous-cutanée pads du torse, foie et cœur) ont été excisés, pesés, congelés dans l'azote liquide et conservés à -80 ° C.

Glycérol, TG, FFA, l'insuline et trois adipokines (leptine, l'adiponectine, la résistine et) ont été mesurées dans le plasma ($n \geq 14$ par groupe). TG et AGNE ont été mesurées sur des extraits de lipides du tissu adipeux ($n = 8$ par groupe) et le foie ($n = 12$ par groupe). Les niveaux et les

adipokines plasmatiques d'insuline ont été mesurées en utilisant des kits ELISA (Mercodia, Winston-Salem, Caroline du Nord, et Linco recherche et Millipore, Chicago, IL, respectivement). TG et FFA / AGNE du plasma et les tissus ont été mesurés à l'aide de kits colorimétriques enzymatiques (Serum kit de détermination de triglycérides chez Sigma, Saint Louis, MO, et NEFA C de Wako Chemicals, Richmond, VA). Les lipides totaux du tissu adipeux blanc (épididyme coussinet adipeux) et le foie ont été extraits et purifiés selon la méthode chloroforme-méthanol avec quelques modifications (40).

GFP-étiquetée cellules souches.

Pour déterminer si LMMS influencé la voie de différenciation des précurseurs des adipocytes, nous avons utilisé un modèle de greffe de moelle osseuse en utilisant hétérozygote C57BL/6J (B6) GFP⁺ souris comme donneurs de moelle osseuse. L'expression de la GFP dans les souris transgéniques est sous le contrôle d'un promoteur constitutif de l'actine, par conséquent, toutes les cellules de l'animal doivent produire la protéine GFP. Une fois implantés dans une souris normale qui ne endogène expriment la GFP, le destin des cellules souches de moelle osseuse peut être contrôlé par la production de GFP. Ciblée en tant que bénéficiaires, 16 C57BL/6J (B6) chez les souris mâles de type sauvage, 8 semaines d'âge, ont été irradiées dans un irradiateur de cellules γ avec une source Cs137 à une dose totale de 15 Gy (dose de 1,07 Gy / min). Cette exposition du corps entier avait été précédemment déterminé à être mortelle pour les animaux de cet âge s'ils ne recevaient pas, dans les 24 h, une greffe de moelle osseuse provenant d'un donneur sain. Le lendemain, des souris irradiées ont été injectés dans la veine de la queue avec 1×10^7 cellules (injection total de 100 pi) récoltées à partir de la moelle osseuse de la GFP⁺ souris donneurs (41).

Après 1 semaine de récupération, la moitié de la GFP⁺ souris receveuses (n = 8) ont été soumis à LMMS (comme ci-dessus), et l'autre moitié a été appariés selon l'âge fictive chargée CTR (n = 8). Les animaux ont été euthanasiés à 6 semaines du protocole, et le coussinet adipeux épididymaire et osseuse du tibia ont été récoltés pour examen. Les adipocytes et des cellules de moelle osseuse isolées à partir de la GFP⁺ souris greffées ont été analysées en utilisant le signal de fluorescence de la GFP.

Analyse par FACS a été réalisée sur des suspensions monocellulaires de l'isolement direct de la moelle osseuse et les tissus adipeux. Les adipocytes ont été isolés du coussinet adipeux épididymaire par digestion mécanique et de la collagénase dans un tampon KRH, centrifugés pour éliminer le compartiment stromal vasculaire, puis remises en suspension dans PBS. La population de cellules dans la moelle a été recueilli par clipsage des deux extrémités du tibia et de rinçage hors de la moelle osseuse avec du PBS (0,5% BSA). Les globules rouges ont été éliminés par incubation avec un tampon de lyse, et le culot de globules blancs a été remis en suspension dans du PBS. Les échantillons ont été fixés dans du PBS à une concentration finale de 1,5% de formol, abri de la lumière, et conservés à 4 °C pendant 1 semaine avant l'analyse.

données de cytométrie de flux ont été recueillies à l'aide d'un cytomètre de flux FACScan (Becton Dickinson, San Jose, CA). Pour les échantillons d'adipocytes, les pourcentages ont été calculés sur la base 2500 événements dépendants, et le pourcentage de cellules colorées positivement a été déterminée. Pour chaque échantillon de moelle osseuse, 10.000 événements dépendants ont été recueillies. Pour aider à identifier les cellules souches mésenchymateuses dans la population cellulaire globale de la moelle, les cellules ont été exposées à endiguer antigène de cellule-1 (Sca-1), un antigène associé précédemment avec des cellules hématopoïétiques, mais par la suite démontré exposer adipogénique, chondrogénique et ostéogénique potentiel (42). Rat

Phycoerythrin conjugué anti-souris Sca-1 anticorps et isotype CTR (BD Biosciences, San Jose, CA) ont été utilisés à une dilution de 1:100 dans PBS avec 0,01% d'azoture de sodium.

Modèle de souris qui récapitule changements liés au vieillissement de la composition corporelle.

Pour déterminer si LMMS peuvent influer sur un modèle animal avec une prédisposition génétique conduit à l'adiposité, 18 femmes C3H.B6-6T (6T) chez la souris, 7 semaines d'âge, ont été tirées du Jackson Laboratory (Bar Harbor, ME). Le 6T est une souche congénique dérivé en transférant une petite région du chromosome génomique de la souris à partir de 6 C3H/HeJ sur un (B6) fond C57BL/6J depuis 10 générations. Les souris ont été initialement produites pour cartographier une grande locus quantitatif pour faire circuler l'IGF1 et de comprendre les changements de composition et physiologiques du corps associés au vieillissement accéléré ([18](#)). Les caractéristiques phénotypiques des 16 semaines chez la souris femelle 6T comprennent la réduction de circulation et hépatique IGF1 et augmenté adiposité dépit du poids corporel par rapport à la même parental B6 souris ([43](#)). 6T souris ont été soumises à une charge de 9 semaines et analyse similaire à celle décrite pour la vitamine B6 expériences à long terme, sauf que CT, réalisée juste avant l'euthanasie, a été limitée dans l'espace pour mesurer seulement le volume de la région abdominale.

Aller à:

MATÉRIEL SUPPLÉMENTAIRE

Chiffres à l'appui:

[Cliquez ici pour voir.](#)

Aller à:

REMERCIEMENTS

Nous remercions B. Lee, C. Bastie, S. Lublinsky et E. Ozcivici de l'aide de l'imagerie animale et de traitement des tissus. Ce travail a été financé par les National Institutes of Health des subventions AR 43498, AR 45433, et DK33823; National Aeronautics and Space Administration Grant NAG 9-1499; La Fondation Goldman, et une bourse de recherche translationnelle WH Coulter.

Aller à:

ABRÉVIATIONS

LMMS

signal mécanique de faible ampleur

CTR

contrôle

FFA

acides gras libres

AGNE

non estérifiés FFA

TG

triglycérides

MSC

les cellules souches mésenchymateuses.

Aller à:

NOTES

Conflit d'intérêt: CTR est le fondateur et consultant pour Juvent Medical, Inc. CTR, SJ, et JEP ont soumis une demande de brevet provisoire à l'US Patent and Trademark Office en ce qui concerne la méthode et l'application de la technologie.

Cet article contient des informations à l'appui en ligne à www.pnas.org/cgi/content/full/0708467104/DC1.

Aller à:

RÉFÉRENCES

- 1 Carmona R. La crise de l'obésité en Amérique, US Surgeon General témoignage devant le Sous-comité sur la réforme de l'éducation sur l'éducation et la main-d'œuvre Washington, DC: Ministère de la Santé et des Services sociaux, 2003... Jul 16,
- .. 2 Lazar MA Sciences 2005; 307 :373-375 [[PubMed](#)]
- . 3 . Nassis GP, Papantakou K, K Skenderi, Triandafilopoulou M, Kavouras SA, Yannakoulia M, Chrousos GP, Sidossis LS métabolisme. 2005; 54 :1472-1479. [[PubMed](#)]
- . 4 . Atlantis E, Barnes EH, Singh CRG Int J Obes. 2006; 30 . :1027-1040 [[PubMed](#)]
5. Tanabe Y, Koga M, M Saito, Matsunaga Y, K. Nakayama J Cell Sci. 2004; 117 . : 3605-3614[[PubMed](#)]
6. Baynard T, Franklin RM, Goulopoulou S, R Carhart, Jr, le juge Kanaley. métabolisme. 2005; 54 : 989-994. [[PubMed](#)]
7. Dehghan M, Akhtar-Danesh N, commerçant à. J. Nutr 2005; 4 : 24. [[Article PMC gratuit](#)] [[PubMed](#)]
8. Stumvoll M, Goldstein BJ, van Haeften TW. Lancet. 2005; 365 . :1333-1346 [[PubMed](#)]
9. Frank LL, Sorensen BE, Yasui Y, Tworoger SS, RS Schwartz, Ulrich CM, Irwin ML, Rudolph RE, Rajan KB, Stanczyk F, et al. Obes Res. 2005; 13 . :615-625 [[PubMed](#)]
- . 10 Colombo M, Gregersen S, M Kruhoeffer, Agger A, Xiao J, Jeppesen PB, Orntoft T, T Ploug, Galbo H, Hermansen K. métabolisme. 2005; 54 . :1571-1581 [[PubMed](#)]
- . 11 . Slentz CA, Aiken LB, le juge Houmard, Bales CW, Johnson JL, CJ Tanner, Duscha BD, Kraus WEJ Appl Physiol. 2005; 99 . :1613-1618 [[PubMed](#)]
12. Centers for Disease Control and Prevention. Morbid Mortal Wkly Rep 2005; 54 :1208-1212. [[PubMed](#)]
13. Xie L, Jacobson JM, Choi ES, Busa B, Donahue LR, LM Miller, Rubin CT, Judex S. os. 2006; 39:1059-1066. [[PubMed](#)]
14. Rubin C, Turner, Bain S, Mallinckrodt C, K. McLeod Nature. 2001; 412 . :603-604 [[PubMed](#)]
15. Gilsanz V, Wren TA, Sanchez M, F Dorey, Judex S, Rubin C. J Bone Miner Res. 2006; 21 . : 1464-1474 [[PubMed](#)]
- . 16 . Crossno JT, Jr, Majka SM, Grazia T, Gill RG, Klemm DJ J Clin Invest. 2006; 116 . : 3220-3228[[Article PMC gratuit](#)] [[PubMed](#)]

17. Lakka TA, Bouchard C. Handb Exp Pharmacol. 2005;137-163. [[PubMed](#)]
18. CJ Rosen, Ackert-Bicknell CL, Adamo ML, Shultz KL, Rubin J, Donahue LR, Horton LG, Delahunty KM, Beamer WG, Sipos J, et al. os. 2004; 35 . :1046-1058 [[PubMed](#)]
- . 19 Watts GF, Chan DC, Barrett PH. métabolisme. 2002; 51 :1206-1210. [[PubMed](#)]
20. Qin YX, Kaplan T, Saldanha A, Rubin C. J Biomech. 2003; 36 . :1427-1437 [[PubMed](#)]
21. Cara JF, Chaiken RL. Curr diabète Rep 2006; 6 . :241-250 [[PubMed](#)]
22. Freedman DS, Mei Z, SR Srinivasan, Berenson GS, Dietz WH. J Pediatr. 2007; 150 :12-17. [[PubMed](#)]
23. Adams KF, Schatzkin A, Harris TB, Kipnis V, Mouw T, Ballard-Barbash R, Hollenbeck A, Leitzmann MF. N Engl J Med. 2006; 355 . :763-778 [[PubMed](#)]
24. Rubin J, Rubin C, CR Jacobs. Gene. 2006; 367 . :1-16 [[article PMC gratuit](#)] [[PubMed](#)]
25. Skerry TM, Bitensky L, Chayen J, Lanyon LE. J Orthop Res. 1988; 6 . :547-551 [[PubMed](#)]
26. Judex S, Zhong N, Squire ME, Ye K, Donahue LR, Hadjiaargyrou M, Rubin CT. J Cell Biochem. 2005; 94 . :982-994 [[PubMed](#)]
27. Silha JV, Weiler HA, Murphy LJ. obésité (Silver Spring) 2006; 14 . :1320-1329 [[PubMed](#)]
28. David V, Martin A, Lafage-Proust MH, Malaval L, S Peyroche, Jones DB, Vico L, Guignandon A.endocrinologie. 2007; 148 . :2553-2562 [[PubMed](#)]
29. Garman R, G Gaudette, Donahue LR, Rubin C, Judex S. J Orthop Res. 2007; 25 . : 732-740[[PubMed](#)]
30. Personne RS, Kudina LP. Electroencephalogr Clin Neurophysiol. 1972; 32 . : 471-483 [[PubMed](#)]
31. Fritton SP, McLeod KJ, Rubin CT. J Biomech. 2000; 33 . :317-325 [[PubMed](#)]
32. Huang RP, Rubin CT, McLeod KJ. J Gerontol A Biol Sci Med Sci. 1999; 54 . : B352-B357 [[PubMed](#)]
- . 33 . Rosenberg IH J Nutr. 1997; 127 . : 990S-991S [[PubMed](#)]
- . 34 . Unger RH endocrinologie. 2003; 144 . :5159-5165 [[PubMed](#)]
- . 35 . Petersen KF, Shulman GI Am J Med. 2006; 119 . : S10-S16 [[Article PMC gratuit](#)] [[PubMed](#)]
36. Magnusson ML, le pape MH, Wilder DG, Areskoug B. Spine. 1996; 21 . :710-717 [[PubMed](#)]
37. Organisation internationale de normalisation. d'évaluation de l'exposition humaine aux vibrations au corps entier, ISO 2631/1. Genève, Suisse: Organisation internationale de normalisation, 1985.
- . 38 . Fritton JC, Rubin CT, Qin YX, McLeod KJ Ann Biomed Eng. 1997; 25 . :831-839 [[PubMed](#)]
- . 39 . Bastie CC, Zong H, Xu J, Busa B, Judex S, Kurland IJ, Pessin JE Metab cellulaire. 2007; 5 : 371-381. [[PubMed](#)]
40. Folch J, M Lees, Sloane GH. J Biol Chem. 1957 226 . :497-509 [[PubMed](#)]

41. Biankin SA, Collector MI, Biankin AV, Brown LJ, Kleeberger W, Devereux WL, Zahnow CA, Baylin SB, Watkins DN, Sharkis SJ, et al. Pathology. 2007; 39 :247-251 [[PubMed](#)]
 42. Hachisuka H, Mochizuki Y, Y Yasunaga, Natsu K, Sharman P, R Shinomiya, Ochi M. J Orthop Sci.2007; 12 :161-169 [[PubMed](#)]
 43. CJ Rosen, Ackert-Bicknell C, Beamer WG, T Nelson, Adamo M, Cohen P, Bouxsein ML, MC Horowitz. Pediatr Nephrol. 2005; 20 :255-260. [[PubMed](#)]
-

Articles de Actes de l'Académie nationale des sciences des États-Unis d'Amérique sont fournis à titre gracieux par la National Academy of Sciences

ANNEXE 8

Amélioration des bras et post-partum abdominale et le flanc graisse sous-cutanée dépôts et relâchement de la peau en utilisant une radiofréquence bipolaire, infrarouge, vide et dispositif mécanique de massage.

Brightman L , E Weiss , Chapas AM , Karen J , Hale E , L Bernstein , Geronemus RG .

Source:

Publication du «Laser & Skin Surgery Center of New York», New York, USA. - Décembre 2009 - référence 41(10):791-8. doi 10.1002/lsm.20872. (Laser & Skin Surgery Center de New York, New York, New York 10016, USA.)

Résumé

CONTEXTE ET OBJECTIFS:

Le relâchement de la peau du corps est une préoccupation esthétique en pleine croissance. Laxisme peut résulter d'chronologique ou photovieillissement et les changements de dimensions du corps pendant la grossesse ou la perte de poids. Le résultat final est lâche, affaissement de la peau, et les dépôts graisseux localisés. La liposuction et abdominoplastie ou brachioplasty sont établis approches de ces questions. Désir des patients d'alternatives à la correction chirurgicale a engendré le développement de dispositifs de contour du corps non invasif. La combinaison de la lumière infrarouge (IR), bipolaire radiofréquence (RF), le vide et le massage mécanique (Velashape, Syneron Medical Ltd, Israël) a démontré son efficacité dans l'amélioration de l'apparence de la peau et la circonférence des cuisses [Goldberg et al, Derm Surg 2008.; 34:204-209; Fisher et al, Derm Surg 2005; 31:1237-1241; Arnoczky et Aksan, J Am Acad Orthop Surg 2000; 8:305-313; Alster et Tanzi, J Cosmetic Laser Therapy 2005; 7.: 81-85; Wanitphakdeedech et Manuskiatti, J Cosmet Dermatol 2006; 5:284-288; Nootheti et al, Lasers Surg Med 2006; 38.: 908-912], mais que des preuves anecdotiques a soutenu son utilisation sur d'autres sites anatomiques. Cette étude a été conçue pour évaluer l'efficacité et l'innocuité de Velashape sur les sites de corps supplémentaires et d'examiner plus rigoureusement l'impact de la technologie sur la partie supérieure du bras ainsi que la circonférence abdominale et le flanc.

PLAN DE L'ÉTUDE ET MÉTHODES:

Les sujets étaient des 28-70 ans, les types de peau IV. Dix-neuf sujets ont subi 5 traitements hebdomadaires des bras supérieurs et 10 sujets ont subi 4 traitements hebdomadaires de l'abdomen et les flancs. Les traitements ont été effectués à l'aide Velashape. mesures de la circonférence, des photographies, et des poids en

question ont été réalisés avant le traitement et à 1 - et 3 mois de suivi. Les sujets ont été invités à enregistrer leur niveau de satisfaction du traitement.

RÉSULTATS:

Changement dans la circonférence du bras, lors de la 5e traitement a été statistiquement significative avec une perte moyenne de 0,625 cm. A 1 - et 3 mois suivis, la perte moyenne est de 0,71 et 0,597 cm respectivement. Réduction de la circonférence abdominale au 3ème traitement a été statistiquement significative avec un 1,25 cm signifiant perte. A 1 - et 3 mois suivis, la perte moyenne est de 1,43 et 1,82 cm respectivement.

CONCLUSIONS:

Cette étude démontre de façon statistiquement significative, réduction durable de la circonférence et l'amélioration de l'apparence des bras et l'abdomen suite à un traitement avec Velashape.

Copyright 2009 Wiley-Liss, Inc.

ANNEXE 9

Plast Reconstr Surg. 2001 Jul;108(1):233-40.

Analysis of the effects of deep mechanical massage in the porcine model.

Adcock D, Paulsen S, Jabour K, Davis S, Nanney LB, Shack RB

Abstract

Deep mechanical massage has been advocated as an alternative or adjunctive therapy for the contouring of subcutaneous fat and as a treatment for cellulite. We evaluated the effects of deep mechanical massage using two pig models. Yucatan pigs were divided into three groups ($n = 4$). One side of each body received 4, 10, or 20 treatments and the other side served as a control. Full-thickness tissue sections, including the underlying muscle, were harvested from identical treated and untreated regions. Examination of these regionally matched samples revealed an accumulation of dense, longitudinal collagen bands in the middle dermal and deep subdermal regions, which progressively increased with the number of treatments. Distortion and disruption of adipocytes was noted. In Yorkshire pigs, force-transducing balloon catheters were surgically placed between the deep subcutaneous tissue and muscle fascia. Catheters were inserted into two regions with different skin and subcutaneous tissue characteristics, the midflank and the hip. Standardized maneuvers were performed at suction settings 3, 5, 7, and 9 to record baseline tissue forces. Each maneuver carried a unique force signature. The measurement of tissue forces was repeated on the opposite side after 10 standardized treatment sessions. Analysis showed a significant reduction of measured forces at the midflank after the treatments. The actual force measured with each particular maneuver varied between different operators but not with different suction settings, suggesting that the technique of administering the treatments is the primary factor in creating the force within the tissue. This leads to the conclusion that deep mechanical massage is highly dependent on the individual operator of the device.

PMID:

11420530

[PubMed - indexed for MEDLINE]

ANNEXE 10

J Eur Acad Dermatol Venereol. 2008 Dec;22(12):1465-70. doi: 10.1111/j.1468-3083.2008.02918.x. Epub 2008 Aug 28.

Use of the microdialysis technique to assess lipolytic responsiveness of femoral adipose tissue after 12 sessions of mechanical massage technique.

Monteux C, Lafontan M.

Source

LPG Systems Scientific Research, Sophia Antipolis, France.

ABSTRACT

BACKGROUND:

Adipocytes in femoral areas are known to be metabolically 'silent'. Changes related to fat cell hypertrophy may be involved in the formation of cellulite. A mechanical massage technique, with circulatory and dermotrophic properties, has been shown to have an impact on clinical evaluations (i.e. changes in morphometric measurements) in cellulite areas. Whether this technique affected lipolytic responsiveness in subcutaneous adipose tissue of cellulite areas was not known.

OBJECTIVE:

Using a microdialysis technique in subcutaneous adipose tissue, a study was carried out to test the *in situ* incidence of a mechanical massage technique in terms of adipose tissue responsiveness to a lipolytic challenge.

MATERIALS AND METHODS:

Nine healthy women volunteers with cellulite (grade > or = 2) were included and treated with 12 sessions of mechanical massage technique (Endermologie). Microdialysis has been carried out in the femoral adipose tissue in order to assess lipolytic responsiveness via glycerol determination following perfusion of a lipolytic agent (0.1, 1 and 10 microm isoproterenol). Clinical evaluations (measurements of waist, thighs and skin fold) were carried out in parallel. All evaluations were performed before and after treatment.

RESULTS:

The studied intervention lowered resting dialysate glycerol levels in femoral adipose tissue. The lipid-mobilizing effect of isoproterenol was enhanced after 1 month of treatment. In addition, a clear decrease of morphometric measurements (mean decrease on thighs perimeter: 3.1 to 3.3 cm, $P < 0.01$) was observed.

CONCLUSION:

These results suggest an increase in the lipolytic responsiveness of femoral adipose tissue in women with cellulite having undergone 12 sessions of mechanical massage

PMID: 18761545 [PubMed - indexed for MEDLINE]