

Effet de la radiofréquence 27 MHz sur les follicules pileux : une évaluation histologique de la peau traitée ex vivo

Dong Hyun Kim, MD,*†‡ Amélie Lavoie, MSc,*† Gilles Ratté, MSc,^x Clément Beaumont,^x Lucie Germain, PhD,*† et Danielle Larouche, PhD*†

CONTEXTE Une multitude de méthodes et de traitements existent pour l'épilation à des fins esthétiques. L'électroépilation est une méthode d'épilation couramment employée et qui est soi-disant "permanente"; cependant, une rareté d'études histologiques des effets de la radiofréquence (RF) sur les follicules pileux subsiste.

OBJECTIF Cette étude visait à observer la destruction des follicules pileux et des tissus environnants après le traitement avec une RF de 27,12 MHz, avec plus d'attention sur la destruction thermique du bulge et du bulbe/papille dermique.

MÉTHODES Des spécimens de cuir chevelu humains obtenus lors d'opérations de lifting ont été traités avec une radiofréquence de 27,12 MHz. L'extrémité du filament a été insérée dans le follicule pileux, un courant de RF a été appliqué, et les spécimens traités ont subi une analyse histologique.

RÉSULTATS D'importantes lésions ont été observées sur les follicules pileux traités. La lésion thermique était en forme de lance et étendue sur plusieurs centaines de micromètres (100-400 µm). L'emplacement des zones de destruction variait en fonction du point d'insertion du filament. L'épiderme est demeuré intact.

CONCLUSION Cette étude montre que le mécanisme général de la thermolyse est de générer des lésions aux cellules et tissus entourant le point d'insertion du filament. Les résultats suggèrent que si le point d'insertion se trouve à proximité de la région du bulge, il y a un risque de détruire des cellules souches épithéliales de follicules pileux.

G. Ratté et C. Beaumont sont des employés de Dectro International. L. Germain est titulaire d'une chaire de recherche canadienne sur les cellules souches et le génie tissulaire du Canadian Institute of Health Research. Les autres auteurs n'ont indiqué aucun intérêt significatif avec les soutiens commerciaux.

La présence de poils indésirables sur le visage et le corps est un problème commun qui cause un intérêt particulier pour le développement de traitements de pointe. Un large éventail de méthodes esthétiques d'élimination ou de réduction des poils est disponible. Parmi celles-ci, 2 méthodes fonctionnent par la destruction du follicule ou l'inhibition du cycle de croissance; l'électroépilation et la photoépilation (LHR).¹

Depuis 1996, lorsque Grossman et ses collègues² ont été les premiers à signaler la destruction photo-thermique de follicules pileux pigmentés par un laser rubis, de nombreuses avancées ont été accomplies en photoépilation (LHR). Sur la base de la théorie de la photo-thermolyse sélective,³ l'efficacité et la sécurité

de la photoépilation (LHR) dépend largement du type de poils et de la couleur de peau. Les gens avec les poils foncés et la peau claire sont les candidats parfaits pour la photoépilation (LHR), tandis que la peau plus foncée a tendance à subir des lésions épidermiques conduisant à des brûlures et une dépigmentation. À ce jour, la plupart des appareils de photoépilation (LHR) produisent une réduction partielle de la croissance des poils ainsi qu'une perte temporaire de poils. La repousse des poils sur les zones traitées est fréquemment rencontrée, ce qui indique l'arrêt du cycle et la réémergence du poil anagène.⁴ Dans ce cas, il peut être utile d'enlever les poils restants par électroépilation.

*Centre de recherche en organogénèse expérimentale de l'Université Laval/LOEX, Centre de recherche du Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de Québec, Axe médecine régénératrice, Québec, Canada;[†] Département de Chirurgie, Faculté de Médecine, Université Laval, Québec, Canada;[‡] Department of Dermatology, CHA Bundang Medical Center, CHA University, Seongnam, Korea;^x Dectro International, Québec, Canada

Soutenu par Dectro International, qui a fabriqué les appareils de thermolyse utilisés dans l'étude.

© 2015 by the American Society for Dermatologic Surgery, Inc. Published by Wolters Kluwer Health, Inc. All rights reserved.
ISSN: 1076-0512 • Dermatol Surg 2015;41:466-472 • DOI: 10.1097/DSS.0000000000000324

L'électroépilation comprend l'électrolyse (courant continu), la thermolyse (radiofréquence [RF]), et une combinaison des deux. Différente de l'énergie optique, l'électroépilation est dépendante des propriétés électriques des tissus plutôt que de la concentration de chromophores dans la peau pour la destruction thermique des follicules pileux.⁵ La méthode de l'électrolyse implique l'insertion d'une aiguille ou d'un filament dans le follicule pileux via lequel un courant électrique est délivré. Dans la thermolyse, l'énergie de radiofréquence (RF) émane de la pointe du filament sur le tissu et chauffe les follicules pileux à plus de 60°C (140°F), mais ceci est à peine perceptible à la surface de la peau.⁶ La gamme de fréquences utilisées pour la thermolyse a augmenté depuis 1925 de 0,5, 1,7, 3,35 et 4 MHz, puis en 1985, la *Federal Communications Commission* a introduit des règles pour les applications industrielles, scientifiques et médicales (ISM) avec des fréquences de 6,78 MHz et 13,56 MHz à 27,12 MHz. La sensation thermique perçue par le patient est généralement moins douloureuse avec l'augmentation de la fréquence. Bien que l'électroépilation soit une procédure couramment employée dans la pratique, il y a une pénurie d'études histologiques sur les effets de la RF sur les follicules pileux, en particulier les effets de la RF de 27.12 MHz.

Cette étude visait à observer le changement histomorphologique des follicules pileux et du tissu environnant après le traitement par une RF de 27,12 MHz sur les échantillons de cuir chevelu humain ex vivo. Les observations au microscope optique présentées ici permettent de mieux comprendre l'effet de la RF sur les follicules pileux et d'ajouter des preuves scientifiques fournissant des explications possibles de la réponse clinique dans la pratique.

Matériel et Méthodes

Échantillonnage de peau humaine

L'étude a été approuvée par le "comité d'éthique de la recherche du Centre hospitalier universitaire (CHU) de Québec" pour la protection des sujets humains. Tous les échantillons de peau ont été obtenus après qu'un consentement éclairé ait été donné. Les expériences ont été menées sur des échantillons de cuir chevelu adultes de patients avec des types de peau Fitzpatrick II prélevés lors d'opérations de lifting du visage. Chaque expérience avec différents paramètres a été testée sur la peau d'au moins 2 donateurs différents. Après le prélèvement, les échantillons de peau ont été conservés pendant une nuit à 4°C dans une solution d'Eagle medium de Dulbecco avec du F12 Ham dans une proportion de 3:1, additionnée de 24.3 mg/L d'adénine, de 100 IU/ml de pénicilline G, 25 µg/ml de gentamicine et 0.5 µg/ml d'amphotéricine B. Après un lavage

avec une solution saline tamponnée au phosphate et un retour à la température ambiante de la pièce, des bandes de cuir chevelu d'environ 1 cm de largeur sur 2,0 cm de long ont été découpées. Ces bandes spécimens ont été déposées sur une plaque conductrice de sorte qu'un courant RF puisse circuler dans l'échantillon. Tous les échantillons ont été traités dans les 24 heures après le prélèvement.

La thermolyse

La thermolyse a été réalisée à l'aide de l'appareil Apilus Platinum (Dectro International, Québec, Canada), qui émet une RF de 27.12 MHz RF. Le filament flexible isolé jusqu'à la moitié a été inséré dans le follicule pileux jusqu'à ce que la pointe du filament ait touché le fond du follicule pileux, puis a été un peu retiré pour tenter de déplacer l'extrémité du filament entre le bulge et le bulbe. Un seul pulse de courant RF a été appliqué à autant de follicules pileux que possible, puis les spécimens traités ont été envoyés pour de plus amples analyses histologiques. Pour chaque donneur, un échantillon de peau non traitée a été mis de côté pour une biopsie. Selon les recommandations pratiques de l'Apilus Platinum, différents paramètres ont été utilisés pendant l'expérience, y compris le mode de fonctionnement (mode PicoFlash : impulsions en millième de seconde et mode Multiplex : chauffage lent suivi du mode PicoFlash), le filament (F11TH : 3 mm, F31TH : 5 mm, et F51TH : 7 mm de longueur), la durée totale d'impulsions dans le mode Multiplex, le pourcentage d'intensité de chauffage, le nombre d'insertions, la durée de chaque impulsion, et le pourcentage d'intensité de chacune des impulsions. La température maximale dans la peau au moment du traitement RF se rapproche de 75°C (167°F) (données du fabricant). Chaque bande de peau a été coupée en 4 à 6 pièces plus petites et fixées avec le fixatif Histochoice MB (Amresco, Solon, OH) et placée dans de la paraffine pour de plus amples analyses histologiques.

Les Analyses Histologiques

Pour analyser la destruction des follicules pileux après thermolyse, les biopsies ont été fixées à l'Histochoice MB

(Amresco) et placées dans de la paraffine. Des sections de 10 mm ont été colorées avec de l'hématoxyline-phloxine-safran ou du trichrome Masson en utilisant l'hématoxyline - fuchsine ponceau de Weigert, et de l'aniline bleue. Les planches ont été examinées sous un AxioImager M2 équipé d'une caméra numérique AxioCam CPI1 (Zeiss, Toronto, ON, Canada) pour les photos couleur.

Résultats

Un total de 48 sessions de traitements avec une RF de 27,12 MHz ont été réalisées ex vivo sur des spécimens de cuir chevelu à l'aide de divers paramètres et intensités (tableau 1). Quatorze sections montrant des follicules pileux entiers ont été sélectionnées pour l'analyse histologique de la destruction des follicules pileux et des tissus environnants (tableau 1).

Par comparaison avec les follicules pileux de référence (Figure 1A), la plupart des follicules pileux traités ont montré une zone endommagée

claire et définie, avec absence de tiges de poils ou des tiges de poils déchirées dans la coloration à l'hématoxyline-phloxine-safran (Figure 1B-E). Souvent, les lésions folliculaires ont été observées dans le tiers supérieur (infundibulum) et médian (isthme) des follicules pileux (Figure 1C-E). Sur le follicule pileux présenté sur la figure 1C, les lésions s'étendent sur un rayon de plusieurs centaines de microns (jusqu'à 250 µm) (Figure 1C, entre les traits) et comprennent d'importantes modifications des cellules épithéliales et des lésions causées aux tissus dermiques environnants (Figure 1C, flèche noire). Cependant, le bulbe et la papille dermique n'étaient pas endommagés (Figure 1C, flèche blanche), malgré les destructions importantes de la partie supérieure. Parfois, on a observé des altérations folliculaires d'un côté du follicule pileux (Figure 1E, astérisque blanc) et pas de l'autre côté. Des signes de destruction ont également été observés dans le bulbe/papille dermique (Figure 1B, triangle). Dans toutes les conditions testées, l'épiderme semblait intact.

TABLE 1. Rating of Observed Effects for Each Tested Parameter

No	Mode	Type of Filament	T Total (sec)	H (%)	N	T Imp (sec)	Int. Imp (%)	Rating			Thermal Damage Radius (µm)	Figures
								1/3 sup	Bulge	Papilla		
1			No treatment									Figure 1A
2	P	F1ITH	0.0	0	1	0.08	70	++	-	-		
3	P	F3ITH	0.0	0	1	0.08	55	+++	-	-		Figure 1E
4	P	F3ITH	0.0	0	1	0.08	55	+++	+++	-		
5	P	F3ITH	0.0	0	2	0.08	70	+++	+++	-	307.9	Figure 1B,C
6	P	F3ITH	0.0	0	1	0.10	70	+++	+++	-		Figure 1D
7	P	F3ITH	0.0	0	1	0.08	70	++	++	-		
8	P	F5ITH	0.0	0	1	0.08	70	+++	-	-		
9	M	F3ITH	0.5	10	1	0.08	70	++	++	-	116.3	Figure 3A
10	M	F3ITH	1.0	10	1	0.08	70	+++	-	-	359.3	
11	M	F3ITH	1.0	15	1	0.08	70	++	++	-	249.1	Figure 2
12	M	F3ITH	1.0	15	1	0.08	70	++	++	-		
13	M	F3ITH	1.0	15	1	0.08	70	++	++	+	387.7	Figure 3B
14	M	F3ITH	2.0	10	1	0.08	70	++	++	+	246.2	
											277.8 ± 97.5	

H, percent of intensity of heating; Int imp, percent of intensity of each impulse; M, MultiPlex mode; N, number of insertion; P, PicoFlash mode; rating, rating of observed effects (- = no effects, + = low, ++ = moderate, +++ = high); T total, total duration of impulses in MultiPlex mode; T imp, duration of each impulse; 1/3 sup, the superior third of the hair follicle (F1ITH: 3 mm, F3ITH: 5 mm, and F5ITH: 7 mm in length).

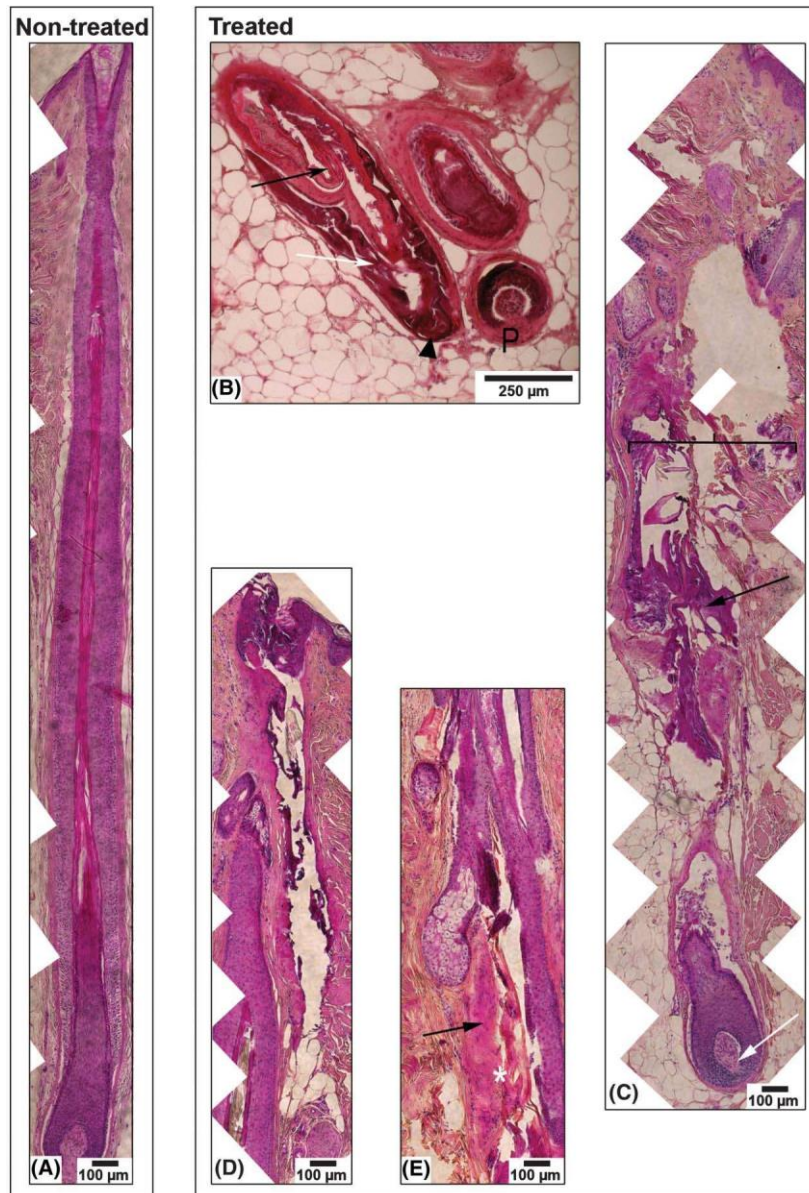


Figure 1. Évaluation histologique de destruction folliculaire après traitement avec une RF de 27-MHz à l'aide de l'appareil Apilus Platinum (hématoxyline-phloxine- safran). Follicule de poils d'une femme de 62 ans (A-C) et d'une femme de 66 ans (E) non traités (A) ou traités (B-E) avec un filament d'électrolyse F31TH en utilisant le mode PicoFlash. Reportez-vous au tableau 1 pour plus de détails sur les paramètres utilisés. Notez les lésions cellulaires importantes à la tige des poils (flèche noire) et aux cellules épithéliales (flèche blanche) dans un follicule de poils traité (B) et que la papille dermique, qui semble normale sur le follicule droit (P), semble complètement détruite sur le follicule gauche (triangle). Notez les lésions thermiques situées principalement dans le tiers supérieur des follicules de poils vus en (C-E). Notez des lésions s'étendant sur un rayon de plusieurs centaines de microns (jusqu'à 250 μm sur photo C, entre les traits). Remarquez la destruction de toutes les cellules épithéliales folliculaires sur un côté du follicule gauche de E (flèche). Remarquez la destruction de la tige de poils et de l'intérieur de la gaine racinaire sur un côté du follicule de poils sur E (astérisque). Échelle : barre = 100 μm. P, papille dermique.

Pour mieux évaluer les lésions du tissu dermique, une coloration au trichrome de Masson a été effectuée, car le collagène dénaturé par la chaleur apparaît rouge au lieu de bleu avec cette coloration.^{7,8} Comme prévu, des taches rouges (Figure 2, triangles blancs) ont été observées dans le tissu dermique environnant les follicules pileux présentant des cassures cellulaires (Figure 2, flèche blanche), indiquant l'étendue de la diffusion de chaleur. Un dommage thermique collatéral

a été parfois observé sur les glandes sébacées (Figure 2, flèches rouges) où les glandes sébacées semblaient être rétrécies et nécrotiques. Dans l'ensemble, la zone de lésions thermiques était en forme de lance (Figure 3, zone en pointillé) et étendue sur un rayon moyen de

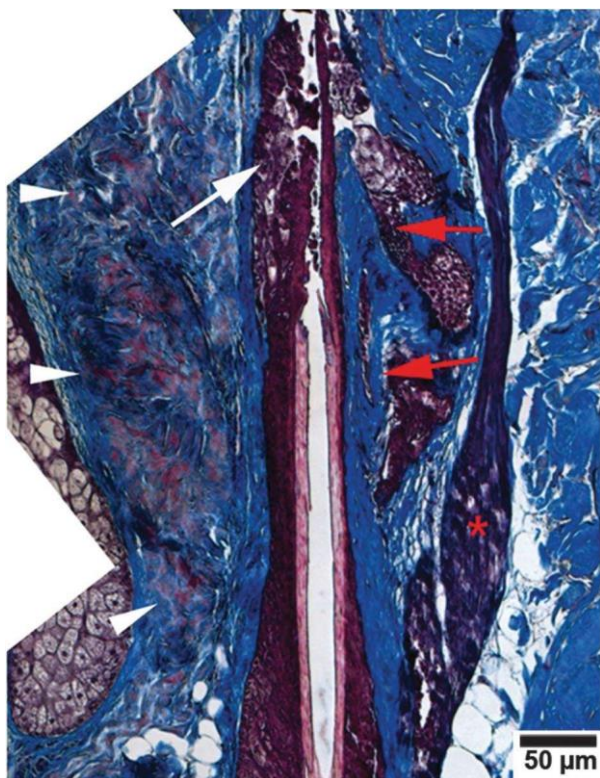


Figure 2. Évaluation des lésions thermiques collatérales dans une coloration trichrome de Masson. Notez que certains des tissus conjonctifs apparaissent rouges plutôt que bleus dans la coloration au trichrome de Masson (triangles blancs), suggérant la dénaturation thermique. Notez des signes de destruction sur les cellules épithéliales de follicules pileux (flèche blanche), glande sébacée (flèches rouges) et du muscle arrecteur du poil (astérisque rouge).

$277.8 \pm 97.5 \mu\text{m}$ à partir du centre de l'embout d'insertion (tableau 1).

Discussion

Dans cette étude, une RF de 27,12 MHz a été appliquée à des spécimens avec divers paramètres, et des analyses histologiques ont été effectuées. Les observations qui en sont issues nous ont permis de comprendre les effets histologiques immédiats de la thermolyse en utilisant une RF de 27,12 MHz.

La thermolyse est considérée comme une méthode d'épilation permanente, qui détruit de façon irréversible les follicules pileux.⁹ Grâce à l'interaction avec les cellules souches épithéliales, qui résident dans la région du bulge,¹⁰ les cellules de la papille dermique orchestrent la régénération cyclique des follicules pileux et sont responsables de la régénération constante de poils.^{11,12}

Ainsi, si la papille dermique est efficacement détruite, il peut ne pas être nécessaire de détruire la zone du bulge qui abrite un réservoir de cellules souches épithéliales qui sont également primordiales pour le renouvellement de l'épiderme et sa réparation après des blessures.^{13,14} Dans cette étude, les auteurs ont observé que les zones présentant des signes de diffusion de chaleur étaient plutôt limitées à la proximité du filament et principalement situées dans la partie supérieure et médiane des follicules pileux. Les papilles dermiques sont souvent restées intactes après le traitement. Au cours de la procédure, le filament a été inséré dans le follicule pileux jusqu'à ce que la pointe du filament ait touché le fond du follicule pileux, puis a été un peu retirée pour tenter de déplacer l'extrémité du filament entre le bulge et le bulbe. Compte tenu de la considérable longueur de follicules pileux et l'inhabituelle tension des tissus dans les échantillons de peau, le filament était probablement rétracté trop loin du bulbe pour détruire la papille dermique dans de nombreux cas. Par conséquent, il est probable que les lésions étaient limitées à la partie supérieure de certains follicules pileux sous nos conditions expérimentales *in vitro*. Cependant, la répartition par taille de la zone de diffusion de chaleur observée nous permet d'extrapoler qu'un filament d'électrolyse correctement inséré au bas du follicule pileux conduit à la destruction de la papille dermique.

Dans cette étude, les auteurs ont adopté l'histomorphologie pour vérifier l'intégrité de l'architecture tissulaire *ex vivo* après le traitement *ex vivo* par thermolyse des spécimens de peaux. La principale limitation associée à l'étude *ex vivo*, c'est que la viabilité cellulaire n'imité pas la situation *in vivo*. Cependant, il a été bien documenté que la peau prélevée sur des personnes vivantes reste viable pendant plusieurs heures. Dans le groupe non traité, avec le même temps écoulé entre l'échantillonnage des tissus de peau et la fixation comme le groupe traité par thermolyse, les analyses histologiques ont montré une bonne conservation de l'architecture tissulaire sans aucun signe de lésions cellulaires, y compris la vacuolisation épidermique et la dégénérescence. Ainsi, on peut supposer que notre protocole d'étude a permis un nombre minimal de lésions de la viabilité cellulaire. Cependant, les lésions observées dans le groupe traité par thermolyse ne sont pas nécessairement associées à la mortalité des cellules. Subsidièrement, même si le bulbe est détruit, la chaleur peut se diffuser au bulge et tuer des cellules, même si cela n'apparaît pas sur une coloration utilisée. Une plus grande précision de mesure de la viabilité cellulaire serait nécessaire pour aborder cette question.

La radiofréquence est connue pour produire un effet thermique très efficace sur les follicules pileux.^{5,15} Un effet négatif lié est la douleur accompagnant la procédure

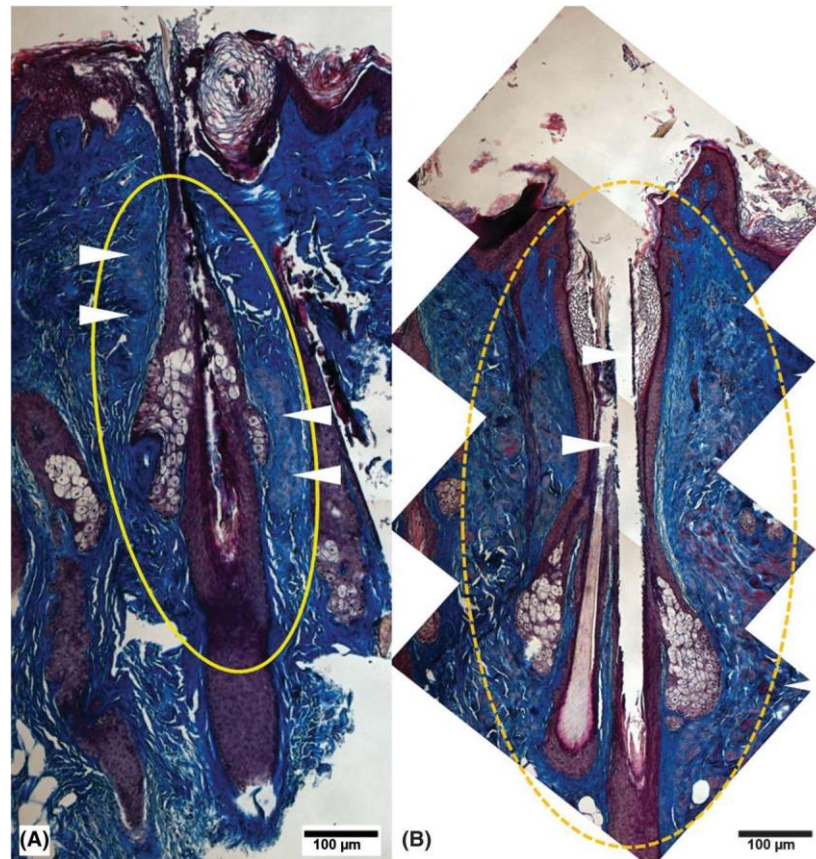


Figure 3. Lésions thermiques collatérales dans un follicule pileux traité par thermolyse (coloration trichrome de Masson). Dans l'ensemble, la zone des lésions thermiques, où le tissu conjonctif rougeâtre a été observé (triangles blancs), était en forme de lance (A, B, zone délimitée par la couleur jaune) et s'étendait sur plusieurs centaines de micromètres de rayon à partir du centre de l'embout d'insertion.

et le risque de cicatrice qui peut se produire lorsque le derme est endommagé.¹⁶ De nouveaux appareils de thermolyse ont une minuterie automatique précise et un filament isolé qui réduisent les risques de cicatrices. Ces appareils génèrent différentes RF, la plus commune étant 13.56 MHz. Dans cette étude, les auteurs ont utilisé un appareil générant une RF de 27.12 MHz, qui a plusieurs avantages par rapport à la RF classique de 13.56 MHz. Étant donné que la sensation perçue par le patient semble être moins intense lorsque la fréquence augmente, la fréquence de 27.12 MHz sera meilleure pour contrôler la douleur. En outre, la fréquence de 27.12 MHz a une absorption d'énergie plus efficace par les molécules d'eau, ce qui signifie que moins de puissance est nécessaire pour épiler un poil. En outre, la rapidité des changements de polarité de positive à négative, à 27 millions de cycles par seconde, permet une électrocoagulation plus précise et rapide. Dans cette étude, la coloration au trichrome de Masson a révélé que les lésions thermiques, après le traitement de thermolyse, ont la forme d'une lance et que la diffusion thermique peut s'étendre sur environ 300 µm ($277.8 \pm 97.5 \mu\text{m}$, $n = 6$) autour du follicule pileux, atteignant ainsi le derme.

Comme l'énergie RF émane de l'extrémité du filament, cette observation confirme que la thermolyse est une procédure de haute qualification, qui dépend d'une insertion précise du filament, couplée avec le dosage correct du courant pour épiler de façon permanente en évitant le risque de lésion cutanée.

En résumé, les observations cliniques montrent que la thermolyse est une méthode efficace pour détruire de façon permanente les follicules pileux et a l'avantage d'agir indépendamment de la couleur des poils ou de la peau. Cette étude montre que le mécanisme général de la thermolyse est de détruire les cellules et les tissus entourant le point d'insertion du filament et souligne le fait que les compétences du thérapeute sont d'une grande importance parce que seule une insertion correcte du filament à la base du follicule pileux peut atteindre les cellules de la papille dermique, responsables de la repousse des poils.

Remerciements : Nous sommes reconnaissants envers Raymonde Piquette de Dectro International, qui a effectué

les traitements d'épilation, et les membres du personnel technique du laboratoire LOEX: Israël Martel, Claudia Fugère, Véronique Racine, Cindy Perron, Sarah- Anne Têtu, ainsi que Carolyne Simard-Bisson et Ulysse Pereira.

Références

1. Blume-Peytavi U. An overview of unwanted female hair. *Br J Dermatol* 2011;165(Suppl 3):19–23.
2. Grossman MC, Dierickx C, Farinelli W, Flotte T, et al. Damage to hair follicles by normal-mode ruby laser pulses. *J Am Acad Dermatol* 1996;35:889–94.
3. Anderson RR, Parrish JA. Selective photothermolysis: precise microsurgery by selective absorption of pulsed radiation. *Science* 1983; 220:524–7.
4. Roosen GF, Westgate GE, Philpott M, Berretty PJ, et al. Temporary hair removal by low fluence photoepilation: histological study on biopsies and cultured human hair follicles. *Lasers Surg Med* 2008;40: 520–8.
5. Sadick NS, Makino Y. Selective electro-thermolysis in aesthetic medicine: a review. *Lasers Surg Med* 2004;34:91–7.
6. Wagner RF Jr, Tomich JM, Grande DJ. Electrolysis and thermolysis for permanent hair removal. *J Am Acad Dermatol* 1985;12:441–9.
7. Flint M, Lyons M. The effect of heating and denaturation on the staining of collagen by the Masson trichrome procedure. *Histochem J* 1975;7:547–55.
8. Chvapil M, Speer DP, Owen JA, Chvapil TA, et al. Identification of the depth of burn injury by collagen stainability. *Plast Reconstr Surg* 1984; 73:438–41.
9. Wanitphakdeedecha R, Alster TS. Physical means of treating unwanted hair. *Dermatol Ther* 2008;21:392–401.
10. Tumber T, Guasch G, Greco V, Blanpain C, et al. Defining the epithelial stem cell niche in skin. *Science* 2004;303:359–63.
11. Hardy MH. The secret of life of the hair follicle. *Trends Genet* 1992;8: 55–61.
12. Yang CC, Cotsarelis G. Review of hair follicle dermal cells. *J Dermatol Sci* 2010;57:2–11.
13. Ito M, Liu Y, Yang ZX, Nguyen J, et al. Stem cells in the hair follicle bulge contribute to wound repair but not to homeostasis of the epidermis. *Nat Med* 2005;11:1351–4.
14. Huh CH, Oh JK, Kim BJ, Kim MH, et al. Photoepilation: a potential threat to wound healing in a mouse. *J Cosmet Dermatol* 2006;5:115–20.
15. Sadick NS, Shaoul J. Hair removal using a combination of conducted radiofrequency and optical energies—an 18-month follow-up. *J Cosmet Laser Ther* 2004;6:21–6.
16. AlNomair N, Nazarian R, Marmur E. Complications in lasers, lights, and radiofrequency devices. *Facial Plast Surg* 2012;28:340–6.

Adressez la correspondance et les demandes d'impression à : Danielle Larouche, PhD, CMDGT/LOEX Aile-R, CHU de Québec, 1401, 18e rue, Québec, Québec, Canada, G1J 1Z4, ou e-mail: danielle.larouche.2@ulaval.ca