

UNIVERSITE DE NANTES

UNITE DE FORMATION ET DE RECHERCHE
D'ODONTOLOGIE

Année 2005

Thèse n°: 32

Mise au point sur les facteurs de croissance
et leurs utilisations en Odontologie

THÈSE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE
DOCTEUR EN CHIRURGIE DENTAIRE

*Présentée
et soutenue publiquement par :*

Madame TREHARD-BREFFEIL Mireille
Née le 25/10/1976

Le 07/10/2005, devant le jury ci-dessous :

Président : Monsieur le Professeur A. DANIEL
Assesseur : Madame le Professeur C. FRAYSSÉ
Assesseur : Madame le Docteur B. ALLIOT LICHT

Directeur de thèse : Monsieur le Docteur P. LEMAITRE

SOMMAIRE

1. Première partie : généralités et rappels.....	5
1.1 Le parodonte.....	5
1.1.1 Le parodonte sain	5
1.1.1.1 Définitions (8).....	5
1.1.1.2 Développement embryonnaire.....	6
1.1.1.2.1 Cémentogenèse et gaine épithéliale de Hertwig (GEH) (9, 10, 68).....	6
1.1.1.2.2 Formation de l'os alvéolaire (68, 7).....	9
1.1.1.2.3 Formation du ligament parodontal (68).....	10
1.1.1.2.4 Formation de la jonction gingivo-dentaire (68).....	11
1.1.1.3 Parodonte de la dent adulte.....	11
1.1.1.3.1 Cément (9, 10, 67).....	11
1.1.1.3.2 Le ligament parodontal (5, 67).....	13
1.1.1.3.3 Os alvéolaire (42, 54, 67).....	13
1.1.1.3.3.1 Histologie osseuse (54).....	15
1.1.1.3.3.1.1 La matrice extracellulaire (MEC).....	15
1.1.1.3.3.1.2 Les cellules osseuses (54).....	15
1.1.1.3.3.1.3 Os tissé ou woven bone (54).....	18
1.1.1.3.3.1.4 Os lamellaire (54).....	18
1.1.1.3.3.1.5 Moelle osseuse (54).....	19
1.1.1.3.3.2 Le turn-over osseux (42, 54).....	20
1.2 Destruction du parodonte (70).....	23
1.3 Cicatrisation parodontale.....	23
1.3.1 L'hémostase (19, 34).....	23
1.3.1.1 Définition	23
1.3.1.2 L'hémostase primaire :	24
1.3.1.3 La coagulation plasmatique.....	26
1.3.1.4 La fibrinolyse	30
1.3.2 Cicatrisation parodontale.....	30
1.3.2.1 Réparation et régénération parodontale (63).....	30
1.3.2.2 Compétition cellulaire (32, 53).....	31
1.3.2.3 Evaluation des thérapeutique parodontales.....	31
1.4 Facteur de croissance et régénération : définitions (Marx et al., 1998).....	32
1.4.1 Régénération osseuse (49).....	32
1.4.2 Ostéogénécité, ostéo-induction, ostéoconduction et ostéotransduction (20).....	32
1.4.3 Les facteurs de croissance (20).....	33
1.4.4 Régénération osseuse et facteurs de croissance plaquettaires (50, 49).....	35
1.4.4.1 Situation initiale.....	35
1.4.4.2 J0 à J3 : rôle des plaquettes.....	35
1.4.4.3 J3 à J5 : prolifération du tissu de granulation.....	36
1.4.4.4 Formation du cal osseux cicatriciel.....	36
1.4.4.5 Maturation osseuse.....	37
2. Deuxième partie : les différents facteurs de croissance.....	38
2.1 Origine naturelle.....	38
2.1.1 Platelet-derived Growth Factor (PDGF) (11, 39, 50, 59, 60, 63).....	38
2.1.1.1 Généralités.....	38
2.1.1.2 Effets du PDGF.....	38
2.1.2 TGF (Transforming Growth Factor) (11, 20, 50, 59, 60, 63).....	39
2.1.2.1 TGF- α	39
2.1.2.2 TGF- β	39
2.1.2.3 Les BMP (Bone Morphogenetic Proteins) (20, 59, 60, 63).....	40
2.1.2.3.1 Origine des BMP.....	40
2.1.2.3.2 Effets des BMP	40
2.1.3 Les IGF (Insulin-like Growth Factors) (11, 60, 63, 50, 59).....	42
2.1.4 EGF (Epidermal Growth Factor) (11, 20, 63).....	42
2.1.5 FGF (Fibroblast Growth Factors) (60, 11, 63, 20, 44, 59).....	43

2.1.6 Autres facteurs (39, 72).....	43
2.1.7 Association de facteurs (20, 31).....	44
2.1.7.1 Résultats des études in vitro.....	45
2.1.7.2 Résultats des études in vivo (39).....	46
2.2 Eléments modulant l'action des facteurs de croissance (20).....	48
2.2.1 Mode de synthèse (Reddi, 1992).....	48
2.2.2 Pléiotropisme du TGF- β 1 (Roberts et al., 1985).....	48
2.2.3 Modulation interfactorielle (Takehara et al., 1987).....	48
2.2.4 Vasculatisation (Yoshida et al., 1998).....	48
2.2.5 Age du sujet	48
2.2.6 Type d'os à régénérer.....	49
2.2.7 Facteurs intervenant à des moments différents.....	49
2.2.8 Dose délivrée.....	50
2.2.9 Type de matrice.....	50
3. Troisième partie : les culots plaquettaires.....	51
3.1 définitions : (50).....	51
3.1.1 Concentré plaquettaire, gel plaquettaire, Plasma Rich Growth Factors (PRGF) et Platelet-Rich Plasma (PRP).....	51
3.1.2 Le PRP ou Platelet Rich Plasma défini par Robert E Marx (51).....	52
3.1.3 Le PRF : Platelet Rich Fibrin (Choukroun et al., 2001) (14, 16, 25).....	53
3.2 Production des concentrés plaquettaires.....	54
3.2.1 Technique en laboratoire ou plasmaphérese continue (24).....	54
3.2.2 Techniques de production au bloc opératoire (24).....	54
3.2.2.1 Technique Curasan® (18).....	57
3.2.2.2 SmartPREP®2 APC+™ (37, 38).....	59
3.2.2.5 Technique 3I (71).....	62
3.2.2.6 PRF (Choukroun et al., 2001) (14).....	62
3.2.3 Comparatif des procédés.....	65
3.2.3.1 Comparatif des protocoles PRP et PRF.....	65
3.2.3.2 Analyses des différents PRP (23).....	67
4. Quatrième partie : les matériaux de comblement et les produits utilisés en association avec les facteurs de croissance.....	75
4.1 Matériaux de comblement (60, 80).....	75
4.1.1 L'os autogène.....	75
4.1.2 Les matériaux dérivés de l'os humain.....	76
4.1.2.1 Généralités à propos des allogreffes.....	76
4.1.2.2 Allogreffes d'os humain lyophilisé non déminéralisé (FDBA).....	77
4.1.2.3 Allogreffes d'os humain lyophilisé déminéralisé (DFDBA).....	78
4.1.3 Les xéno-greffes.....	78
4.1.3.1 Matériaux dérivés de l'os bovin.....	79
4.1.3.2 Matériaux dérivés des algues.....	79
4.1.3.3 Matériaux dérivés du corail naturel.....	79
4.1.3.4 Matériaux dérivés du collagène.....	80
4.1.4 Les matrices alloplastiques.....	80
4.1.4.1 Les phosphates de calcium.....	81
4.1.4.2 Phosphate tricalcique en phase B.....	82
4.1.4.3 Hydroxyapatite.....	82
4.1.4.4 Phosphate de calcium biphasique.....	82
4.1.4.5 Les bioverres.....	82
4.1.4.6 Les polymères.....	83
4.1.4.7 Support idéal et bio-ingénierie de la régénération osseuse (56).....	83
4.2 Surface implantaire (46).....	84
4.3 Les anticoagulants utilisés (51).....	85
4.4 Chlorure de calcium.....	85
4.5 La thrombine.....	85
4.5.1 Thrombine bovine (62).....	85
4.5.2 Thrombine autologue.....	86
4.5.3 Nouvelle alternative (44).....	86

5. Cinquième partie: les protocoles opératoires en clinique.....	87
5.1 Indications et contre-indications du PRP et du PRF (14, 50).....	87
5.1.1 Contre indications générales.....	87
5.1.2 Indications en odontologie (51, 30).....	88
5.2 Recommandations pour la préparation des concentrés plaquettaires (51).....	90
5.3 Innocuité et législation.....	91
5.3.1 Législation (45).....	91
5.3.1.1 Concernant les concentrés autologues.....	93
5.3.1.2 Concernant les facteurs de croissance	94
5.3.2 Innocuité des facteurs de croissance (48, 51, 72).....	94
6. Sixième partie: les résultats.....	96
6.1 Etudes in vitro	96
6.1.1 Etude de Slater et al. (1995) (4, 66).....	96
6.1.2 Etude de Gruber et al. (2002) (33).....	97
6.1.3 Etude de Choi et al. (2005) (13).....	98
6.2 Etudes in vivo chez l'animal.....	98
6.2.1 Etude de Fennis et al. (2002) (26).....	99
6.2.2 Etude de Aghaloo et al. (2002) (1).....	99
6.2.3 Etude de Zechner et al. (2003) (4, 78).....	100
6.2.4 Etude de Weibrich et al. (2004) (72).....	100
6.2.5 Etude de Fennis et al. (2005) (27).....	101
6.2.6 Etude de Aghaloo et al. (2005) (2).....	103
6.3 Etudes cliniques chez l'homme.....	103
6.3.1 Concernant le PRP.....	103
6.3.1.1 Etude de Marx et al. (1998) (49).....	103
6.3.1.2 Etude de Anitua (1999) (3).....	105
6.3.1.3 Etude de Kassolis et al. (2000) (40).....	106
6.3.1.4 Etude de Shanaman et al. (2001) (64).....	107
6.3.1.5 Etude de Froum et al. (2002) (29).....	108
6.3.1.6 Etude de Wiltfang et al. (2003) (77)	109
6.3.1.7 Etude de Oyama et al. (2004) (55).....	109
6.3.1.8 Etude de Kassolis et Reynolds (2005) (41).....	110
6.3.1.9 Etude de Sammartino (2005) (61).....	110
6.3.2 Concernant le PRF.....	111
Etude de Choukroun et col. (2004) (15).....	111
6.4 Les résultats.....	113
6.4.1 Les résultats cliniques.....	115
6.4.1.1 Au niveau des tissus mous (3, 30, 41, 49, 55, 64).....	115
6.4.1.2 Au niveau des tissus durs (49, 52, 62, 77).....	115
6.4.2 Les résultats radiologiques (40, 49, 55).....	116
6.4.3 Les résultats histologiques (3, 29, 40, 49).....	117

Les facteurs de croissance sont des médiateurs biologiques qui régulent les événements clés de la cicatrisation tels que le chimiotactisme, la différenciation, la prolifération et la synthèse matricielle des cellules.

La découverte récente du rôle de ces facteurs dans les processus moléculaires de la cicatrisation représente une avancée prometteuse pour la régénération tissulaire dans plusieurs domaines : la chirurgie plastique, la chirurgie ophtalmique, la chirurgie orthopédique, la chirurgie maxillo-faciale, la chirurgie cardio-vasculaire...

En Odontologie, le champ d'application des facteurs de croissance est celui de la régénération osseuse et parodontale, permettant dès lors d'augmenter le champ d'indications en Implantologie. En effet, aux thérapeutiques « traditionnelles » de régénération comprenant : la ROG (Régénération Osseuse Guidée),

l'ostéogénèse par distraction et l'utilisation de matériaux de greffe, semblent s'ajouter des techniques basées sur l'apport de facteurs de croissance appropriés dans les sites à reconstruire.

Ces techniques regroupent :

- L'utilisation de protéines morphogénétiques osseuses (ou Bone Morphogenetic Protein : BMP) principalement produites par génie génétique.

Les BMP sont les seules protéines ayant des propriétés ostéoinductrices connues actuellement. L'ostéoinduction (définie par Urist et Strates, 1971) est l'aptitude d'un matériau à conduire à la différenciation des cellules mésenchymateuses de l'hôte, situées à proximité de la greffe, en cellules ostéoprogénitrices. Cette propriété est recherchée dans le cadre de la régénération osseuse.

- L'utilisation des concentrés plaquettaires autologues.

Les travaux fondamentaux ont montré que les plaquettes sanguines, en plus de leur rôle dans le processus de la coagulation, représentaient une réserve importante en facteurs de croissance pour le remaniement cicatriciel du tissu lésé.

Parallèlement, naissent les concentrés plaquettaires autologues : lorsque Tayapongsak décrit son autologous fibrin adhesive (AFA) en 1994 qu'il utilise uniquement pour ses propriétés adhésives et son caractère autologue, il ignore que sa « colle de fibrine » est aussi et surtout un plasma que l'on décrira plus tard comme riche en plaquettes. Le développement des protocoles simplifiés a rapidement fait évoluer la situation. C'est l'avènement des PRP (Platelet Rich Plasma) : le PRP est un petit volume de plasma autologue contenant une concentration de plaquettes humaines plus élevée que la normale.

En 1998, Marx marque une étape importante dans l'utilisation de ces concentrés plaquettaires en publiant une étude clinique sur l'utilisation du PRP dans la régénération osseuse. Les résultats semblent désigner le PRP comme une réponse aux problèmes de délais et d'échecs dans le domaine de la régénération osseuse.

Cette étude sera le point de départ d'un véritable engouement pour les concentrés plaquettaires autologues. Plusieurs protocoles d'utilisation clinique seront testés (utilisation de différents matériaux de comblement, combinaison avec d'autres techniques de régénération osseuse...). Ils ont abouti à une simplification des techniques de production et à l'apparition de nouveaux concentrés plaquettaires dont le PRF® ou « Platelet Rich Fibrin » (Choukroun et col., 2001).

L'objectif de ce travail est d'exposer le rôle des facteurs de croissance dans la régénération osseuse. Les différentes méthodes de production et techniques d'utilisation clinique seront décrites et discutées ainsi que leur apport respectif dans la chirurgie de régénération osseuse.

1. Première partie : généralités et rappels

1.1 Le parodonte

1.1.1 Le parodonte sain

1.1.1.1 Définitions (8)

Le parodonte est constitué par l'ensemble des tissus minéralisés ou non qui entourent et soutiennent la dent : la gencive, l'os alvéolaire, le ligament alvéolo-dentaire ou desmodonte et le ciment. (Figure 1)

La gencive comprend :

- la gencive libre ou marginale
- le sillon marginal
- la gencive attachée
- la muqueuse alvéolaire
- la papille gingivale.

L'os alvéolaire :

L'alvéole osseuse est une spécialisation de l'os maxillaire. Dans cette alvéole, la dent est ancrée par le ligament alvéolo-dentaire. L'alvéole osseuse n'existe que par la présence des dents qu'elle entoure.

L'os alvéolaire est en perpétuel remaniement sous l'influence de l'éruption, de l'occlusion et des traitements d'orthopédie dento-faciale éventuels.

Le ligament alvéolo-dentaire :

Il est aussi appelé desmodonte et relie le ciment à l'alvéole osseuse.

Le ciment :

C'est un tissu conjonctif calcifié qui recouvre la dentine radriculaire.

Il ressemble à l'os mais il n'est ni vascularisé, ni innervé.

L'os alvéolaire, le ligament alvéolo-dentaire et le ciment ont une même origine embryologique : les cellules conjonctives du follicule dentaire.

Le parodonte a un potentiel de réparation partiel du fait du renouvellement permanent de certains de ses divers constituants.

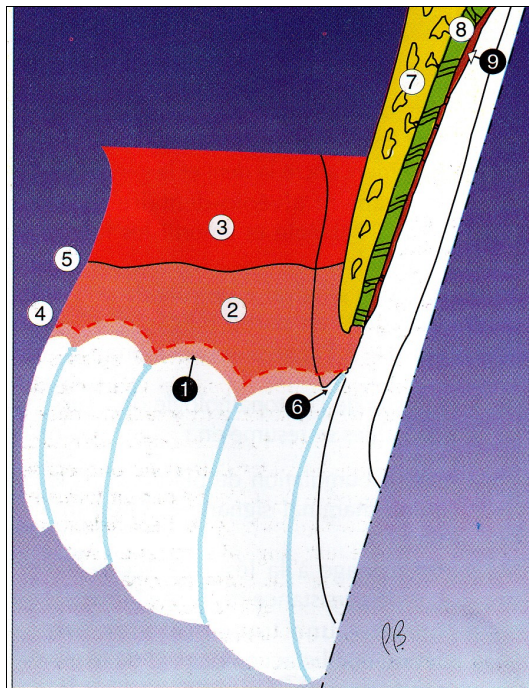


Figure 1: Le parodonte normal

- 1 : Gencive libre
- 2 : Gencive attachée
- 3 : Muqueuse alvéolaire
- 4 : Sillon de la gencive libre (inconstant)
- 5 : Jonction muco-gingivale
- 6 : Sillon gingivo-dentaire
- 7 : Os alvéolaire
- 8 : Ligament alvéolo-dentaire
- 9 : Cément

D'après P. Bercy (8).

1.1.1.2 Développement embryonnaire

1.1.1.2.1 Cémentogenèse et gaine épithéliale de Hertwig (GEH) (9, 10, 68)

Place dans l'odontogenèse (7) :

L'organe dentaire épithélial a formé l'émail tandis que la papille mésenchymateuse, par l'intermédiaire des odontoblastes, a produit la dentine coronaire. La position de la future jonction émail/cément est dès lors déterminée.

Formation de la gaine épithéliale de Hertwig :

L'organe dentaire, à la jonction entre les couches améloblastiques internes et externes, forme un manchon épithélial (sans interposition, ni de réticulum stellaire, ni de stratum intermédiaire), présentant une prolifération cellulaire importante. Ainsi naît la gaine épithéliale de Hertwig, qui plonge dans l'ectomésenchyme, le divisant en deux parties : en dedans, c'est la papille, future pulpe dentaire ; en dehors, c'est le follicule dentaire.

Très vite, la GEH présente une angulation vers l'axe médian du germe dentaire créant ainsi le diaphragme épithélial qui délimite le foramen provisoire de la racine (Figure 2).

La GEH est donc composée de deux parties : la gaine épithéliale proprement dite dans la portion cervicale et le diaphragme épithélial dans la portion apicale. La GEH présente aussi bien du côté folliculaire que du côté pulpaire une membrane basale.



Figure 2 : Gaine épithéliale proprement dite et diaphragme épithélial. Prêt du département de Sciences Biologiques, Dr B. Alliot Licht.

Dentinogenèse radiculaire :

La dentinogenèse radiculaire va débiter grâce à des interactions épithélio-ectomésenchymateuses entre les cellules indifférenciées pulpaire et le diaphragme.

Dès la formation d'une première couche de dentine, la GEH proprement dite subit une fragmentation créant un contact entre la dentine radiculaire et les cellules ectomésenchymateuses du follicule, ce qui permet :

- la différenciation de ces cellules en cémentoblastes
- le recrutement et l'activation de fibroblastes
- la minéralisation des fibres intrinsèques et extrinsèques du ciment.

La gaine épithéliale de Hertwig proprement dite sécrète la couche hyaline de Hoppewel Smith, qui sera l'interface liant la dentine et le ciment.

Après l'initiation de dépôt de dentine radiculaire, la membrane basale est dégradée et la gaine de Hertwig involue (Figure 3). Des amas persistants de cellules épithéliales constituent les résidus épithéliaux de Malassez. Les mécanismes de contrôle de ces phénomènes restent controversés. Suivant la

fenestration de la gaine de Hertwig, des précémentoblastes migrent vers la surface de dentine et deviennent fonctionnels. Classiquement, l'origine des cémentoblastes serait le mésenchyme du follicule dentaire, mais la possible origine épithéliale après transformation épithéliomésenchymateuse est débattue. Le contrôle de la différenciation terminale des cémentoblastes pourrait impliquer des molécules matricielles telles que la sialoprotéine et/ou l'ostéopontine, voire des protéines de l'émail sécrétées par la gaine de Hertwig proprement dite avant son involution (couche hyaline de Hopewell Smith).



Figure 3 : Devenir de la Gaine Epithéliale de Hertwig. Prêt du département de Sciences Biologiques, Dr B. Alliot Licht.

La cémentogenèse :

Formation du ciment primaire

Après fragmentation de la gaine épithéliale de Hertwig, les fibroblastes du follicule atteignent la surface de la racine. Ils s'orientent perpendiculairement à la surface externe de la dentine radiculaire et sécrètent des fibres de collagène perpendiculaires à la surface radiculaire. Elles s'éloignent alors de la couche hyaline (ou couche de Hopewell Smith), mais continuent leur sécrétion de fibres de collagène, ce qui permet l'allongement et l'épaississement des trousseaux fibreux du ciment acellulaire. Parallèlement, d'autres cellules du follicule se différencient en cémentoblastes et sécrètent des protéines non collagéniques analogues à celle du tissu osseux (sialoprotéines, ostéocalcine).

Ce premier ciment est appelé ciment acellulaire, car les cellules qui l'ont sécrété restent disposées à sa périphérie (Figure 4).

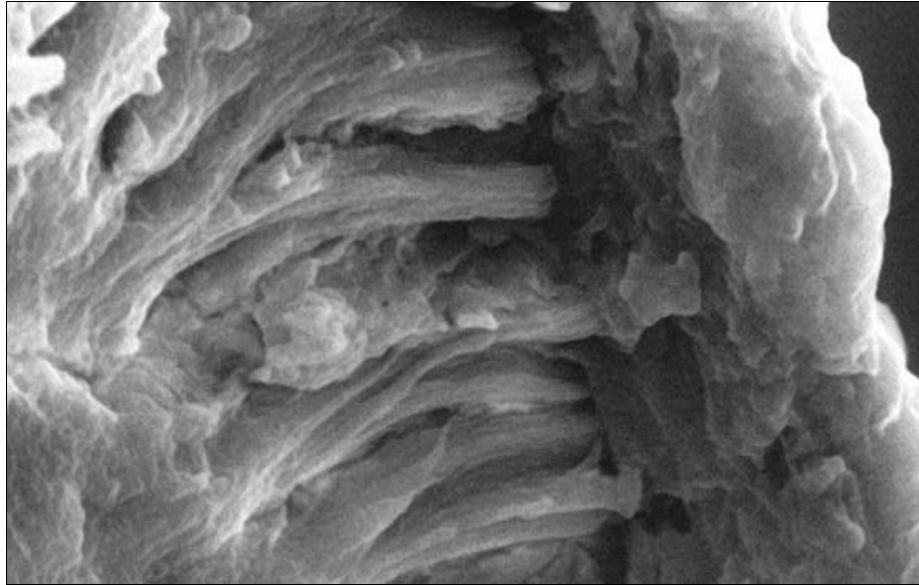


Figure 4 : Ciment acellulaire à fibres extrinsèques et manteau dentine. Prêt du département de Sciences Biologiques, Dr B. Alliot Licht.

Formation du ciment secondaire

Le ciment secondaire apparaît tardivement, au moment où la dent devient fonctionnelle et subit dès lors des pressions occlusales.

Moins minéralisé et plus rapidement formé que le ciment acellulaire, il se dépose sur le tiers apical de la racine et recouvre le ciment primaire dans le tiers moyen de la racine.

Les cémentoblastes sont d'abord étalés sur la matrice organique formée de protéines non collagéniques et de fibrilles de collagène alignées parallèlement à la surface de la racine. Puis ils sécrètent des vésicules matricielles qui vont permettre la minéralisation ; en même temps que les premiers cristaux d'apatite apparaissent dans les vésicules, les cellules sont peu à peu emprisonnées dans des lacunes au sein de leur sécrétion. Puis leur activité fonctionnelle décroît et elles se transforment en cémentocytes.

Au fur et à mesure que s'organise le ligament parodontal, le ciment cellulaire continue à se déposer autour des fibres de Sharpey qu'il englobe et minéralise partiellement.

1.1.1.2 Formation de l'os alvéolaire (68, 7)

À la fin du deuxième mois de la vie intra-utérine, les germes dentaires sont situés dans une gouttière au sein des os maxillaire et mandibulaire appelée crypte osseuse. Parallèlement à la formation du ciment primaire de la racine et de l'éruption dentaire, de l'os alvéolaire vient se déposer contre la paroi de la crypte osseuse et réduit progressivement l'espace entre os et dent, ne laissant subsister que la place du ligament parodontal. Cet os nouveau de type « os fasciculé » est édifié par les ostéoblastes, cellules conjonctives dérivées des fibroblastes du follicule dentaire.

Le développement de l'os alvéolaire est dépendant de la présence des dents.

Les éléments du parodonte profond : le ciment, la paroi ligamentaire de l'alvéole et le ligament alvéolo-dentaire ont une origine commune ectomésenchymateuse : le follicule dentaire.

1.1.1.2.3 Formation du ligament parodontal (68)

Le ligament parodontal dérive des fibroblastes du follicule dentaire, mais les modalités exactes de sa différenciation varient selon les espèces et selon le type de dent (temporaire ou permanente).

Au début, l'espace entre ciment et os est occupé par un tissu conjonctif peuplé de faisceaux courts de fibres de collagène.

La formation du ligament parodontal débute dans la région cervicale de la racine par la formation des fibres dento-gingivales, puis elle progresse vers la région apicale en même temps qu'ont lieu l'éruption dentaire et la formation radiculaire. Les fibres situées de part et d'autres du futur ligament (sur la surface cémentaire et sur la surface osseuse fasciculée alvéolaire) présente un aspect en « poils de brosse » et seront unies par « tissage » dans le sens corono-apical.

En effet, lors des mouvements engendrés par l'éruption dentaire puis par l'entrée en fonction de la dent, cette attache se modifie.

Avant l'éruption, la crête de l'os alvéolaire est plus haute que la jonction émail-cément et les fibres du ligament s'orientent obliquement. Lors de l'éruption, la crête alvéolaire est au même niveau que la jonction émail-cément. Les fibres coronaires du ligament sont alors horizontales, au-dessous des fibres libres de la gencive. Quand la dent entre en fonction, la crête alvéolaire est plus basse que la jonction émail-cément. Les fibres redeviennent obliques ; les fibres préexistantes s'épaississent (Figure 5).

Dans les conditions physiologiques, la vitesse de synthèse de fibres de collagène est équivalente à celle de leur dégradation. Lorsque se produit un déséquilibre entre ces deux phénomènes, l'architecture et la fonction du ligament se modifient.

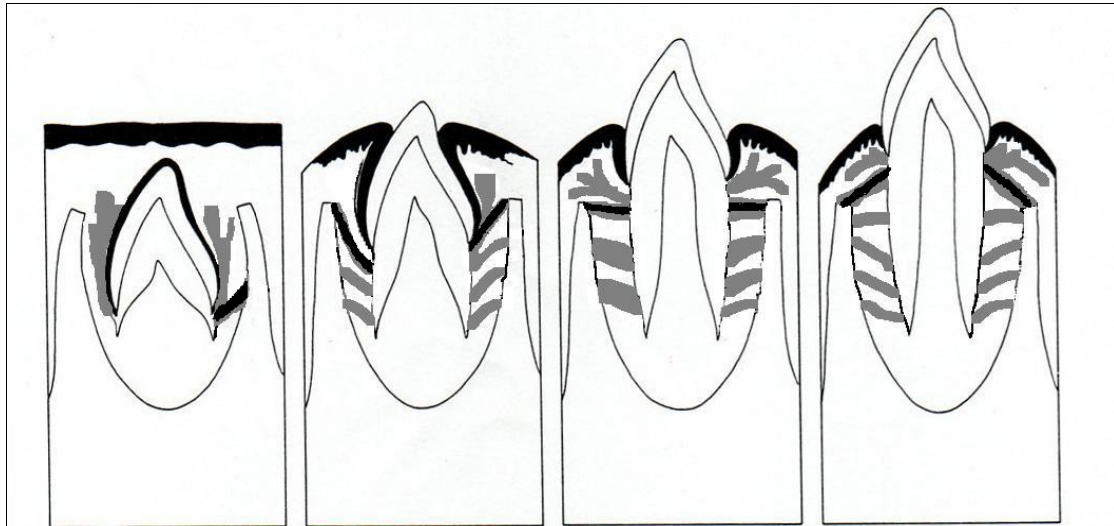


Figure 5 : Changement de l'orientation des fibres du ligament au cours de son développement et de l'éruption dentaire.
D'après Ten Cate 2003 (68).

1.1.1.2.4 Formation de la jonction gingivo-dentaire (68)

La jonction gingivo-dentaire est adhérente à la dent. Elle témoigne d'une adaptation de la muqueuse buccale à l'éruption de la couronne dentaire dans la bouche.

- Avant l'éruption dentaire :

La surface de la couronne est alors revêtue par une double assise de cellules épithéliales. La couche profonde, en contact avec l'émail, est faite d'améloblastes, qui après avoir sécrété l'émail, édifient une membrane basale sur laquelle ils s'implantent solidement par des héli-desmosomes. La couche superficielle est formée de cellules aplaties, représentant les restes des autres cellules épithéliales de l'organe dentaire. L'ensemble de ces deux couches porte le nom d'épithélium réduit de l'émail.

A la fin du trajet intra-muqueux, l'épithélium réduit de l'émail entre en contact avec l'épithélium buccal.

- Au moment de l'éruption dentaire :

Il se produit alors une perte des membranes basales, la formation d'un noeud épithélial puis d'un canal épithélial à travers lequel la dent perce sans aucun saignement. Quand le sommet de la dent émerge, le sulcus et la jonction dento-gingivale se forment par mouvement des cellules épithéliales issues de l'épithélium oral et de l'épithélium réduit de l'émail.

1.1.1.3 Parodonte de la dent adulte

1.1.1.3.1 Cément (9, 10, 67)

En raison de sa position intermédiaire entre la dentine radulaire et le ligament parodontal, le cément constitue un composant de la dent elle-même mais appartient fonctionnellement à l'appareil d'ancrage dentaire c'est-à-dire le parodonte.

C'est un tissu conjonctif calcifié, avasculaire, qui tapisse la racine dentaire ; il contient 65 % de sels minéraux, essentiellement sous forme d'hydroxyapatite, 23 % de substances organiques (essentiellement du collagène) et 12 % d'eau.

Dans des dents complètement formées et fonctionnelles, il peut y avoir jusqu'à cinq types différents de cément présents sur une seule dent. La distribution de ces types de cément à la surface d'une dent est d'abord déterminée par la formation de la racine puis sujette à des changements plus ou moins prévisibles au cours de l'existence. On distingue selon la localisation, la structure, la fonction, la vitesse de formation, la composition chimique proportionnelle et le degré de minéralisation:

- Le cément acellulaire afibrillaire (CAA) : il est présent uniquement au collet sous la forme de plages isolées, recouvrant de petites zones d'émail.
- Le cément acellulaire à fibres extrinsèques (CAFE) : il prédomine sur les portions cervicale et moyenne des racines mais peut s'étendre en direction plus apicale sur les dents antérieures.
- Le cément cellulaire à fibres intrinsèques (CCFI) : présent au niveau apical et des furcations, il est initialement déposé sur des zones de surface radulaire où aucun CAFE n'a été déposé sur la dentine. C'est le type de cément prédominant ; il a pour fonction la réparation des pertes de substances radulaires (adaptation).
- Le cément acellulaire à fibres intrinsèques (CAFI) est considéré comme une forme spécialisée de CCFI mais sans inclusions de cémentocytes.
- Le CAFE peut recouvrir des couches de CCFI/CAFI et vice versa. Le cément mixte ainsi formé est appelé cément cellulaire stratifié mixte (CCSM).

Le cément ne présente qu'un potentiel d'apposition.

Structure du cément

- Fibres de Sharpey = fibres extrinsèques
Il s'agit de faisceaux en structure radiale qui pénètrent dans le cément. Ces faisceaux de fibres sont produits par les fibroblastes du ligament. Leur incorporation dans la masse calcifiée du cément participe à l'ancrage de la dent. Les fibres de Sharpey représentent la partie calcifiée des fibres ligamentaires.

- **Fibres matricielles**
Ces fibres présentent un axe parallèle à la surface radiculaire. Elles sont produites par des cémentoblastes et fixent les fibres de Sharpey. Ainsi, se crée un réseau de fibres calcifiées entrecroisées qui lient les fibres de Sharpey au ciment.
- **Ligne de croissance**
La croissance du ciment est irrégulière. Dès lors apparaissent des lignes de croissance qui donnent au ciment un aspect en vague.
- **Certains cémentoblastes sont piégés dans la matrice cémentaire nouvellement synthétisée** : ces cellules incluses prennent le nom de cémentocytes et occupent des lacunes appelées cémentoplastes interconnectées par des canalicules.

Rôles du ciment

- Une des plus importantes fonctions du ciment est d'ancrer les fibres gingivales mais aussi celle du tissu conjonctif du ligament parodontal à la racine de la dent. Les fibres parodontales relient la racine et l'os alvéolaire et fournissent ainsi une attache d'une certaine flexibilité (rôle d'amortisseur) entre les dents et leurs alvéoles osseuses.
- Le ciment participe au maintien des relations occlusales, à la réparation des pertes de substances radiculaires et à la protection des racines. L'apposition cémentaire permet aussi le maintien de la dimension verticale compensant l'attrition des surfaces occlusales.

1.1.1.3.2 Le ligament parodontal (5, 67)

Le ligament alvéolo-dentaire, aussi appelé desmodonte, est une lame de tissu conjonctif fibreux et vasculaire qui entoure la racine et qui, par l'intermédiaire des fibres de Sharpey, attache la dent à l'alvéole osseuse.

Parmi les éléments fibrillaires, on compte surtout du collagène (90 %). Les fibres du tissu conjonctif du ligament sont organisées en faisceaux. Ceux-ci sont horizontaux dans la partie coronaire, obliques dans la partie moyenne et verticaux dans la partie apicale et dans les espaces interradiculaires.

Les éléments cellulaires les plus nombreux sont les fibroblastes qui ont pour fonction principale la synthèse du collagène, mais il existe aussi une phagocytose du collagène par les fibroblastes, ce qui permet un remaniement perpétuel du collagène du desmodonte. Dans le ligament, du côté osseux, des ostéoblastes et des ostéoclastes participent au remaniement de l'os. Du côté cémentaire, apparaissent des cémentoblastes et des cémentoclastes. Les cellules épithéliales sont incluses dans le ligament ; il s'agit des débris épithéliaux de Malassez.

La technique de régénération tissulaire se base sur le potentiel cellulaire du desmodonte : il contient les cellules indifférenciées qui peuvent se transformer en ostéoblastes et en cémentoblastes.

1.1.1.3.3 Os alvéolaire (42, 54, 67)

L'os alvéolaire constitue le support des dents temporaires, puis des dents permanentes. Après la chute des dents temporaires, les dents successives se développent dans leurs propres alvéoles qui s'édifient au fur et à mesure de la croissance radiculaire ; l'os alvéolaire est en relation avec le cément radiculaire par l'entremise des fibres ligamentaires arrimant la racine dentaire à la paroi de l'alvéole. Il est en continuité avec le corps mandibulaire ou maxillaire. L'os alvéolaire n'existe que par la présence des dents qu'il entoure, c'est un os labile.

Les procès alvéolaires sont composés :

- de deux corticales (os compact), externe (ou vestibulaire) et interne (linguale ou palatine) en continuité avec les corticales de l'os basal maxillaire et mandibulaire
- des alvéoles : elles contiennent les racines dentaires. La paroi alvéolaire, autrement appelée paroi ligamentaire de l'alvéole, os alvéolaire proprement dit, lamina dura, ou lame criblée, est constituée d'un tissu osseux fasciculé.
- des septa interdentaires et inter-radiculaires
- de la crête alvéolaire.

1.1.1.3.3.1 Histologie osseuse (54)

1.1.1.3.3.1.1 La matrice extracellulaire (MEC)

- Fraction organique

Elle représente environ 35 % du poids de l'os sec et comprend :

- du collagène de type I (80 %), du collagène de type III (5 à 15%) et du collagène de type VI et VII (5%)

- des composants non collagéniques (10 %) : de l'ostéocalcine, de l'ostéonectine, des Bone sialoprotein (BSP), de l'albumine et des facteurs de croissance. Ces facteurs de croissance ont des origines multiples (cellules osseuses ou origines systémiques, véhiculés par le sang circulant). En effet, la MEC contient un stock non négligeable de facteurs solubles en tout genre, ce qui constitue une réserve. Lors du remaniement osseux, tous ces facteurs sont libérés et viennent participer au contrôle du remodelage, ce qui explique le couplage apposition/résorption. (voir paragraphe 1.1.1.3.3.2)

- des glycosaminoglycanes (GAG), de l'acide hyaluronique et des protéoglycanes.

- Fraction minérale

Elle représente environ 65 % du poids de l'os sec.

C'est une réserve très importante de calcium, phosphore, magnésium, et sodium. Constituée de cristaux d'apatite, elle donne à l'os sa rigidité.

1.1.1.3.3.1.2 Les cellules osseuses (54)

Les cellules ostéoprogénitrices (63)

Elles sont divisées en deux catégories (Friedenstein 1973) :

- DOCP (Determined Osteogenic Precursor Cell)

Ce sont des cellules situées à proximité des vaisseaux sanguins bordant la surface osseuse mais aussi au niveau de la couche profonde du périoste et de l'endoste. Elles sont capables de se diviser et de se différencier en préostéoblastes. Ces derniers acquièrent les potentialités des ostéoblastes et forment de l'os sous l'influence d'agent inducteur.

- IOCP (Inductible Osteogenic Precursor Cell)

Disséminées dans tout le corps, ces cellules sont capables de former de l'os après stimulation. Cet os formé persiste grâce à l'influence continue des facteurs de différenciation.

Les ostéoblastes (54)

Ce sont des cellules dont l'activité est fortement centrée sur les processus de formation, qu'elles interviennent durant la période d'édification des structures tissulaires ou lors des phénomènes de remaniement. Issus des DOCP, ils constituent la couche ostéogénique du périoste et recouvre les surfaces des trabécules de l'os spongieux en développement ; ce sont des cellules très différenciées ne présentant que très rarement des images de divisions.

Les ostéoblastes sont situés à la périphérie du tissu osseux en formation, séparés de la matrice minéralisée par une fine couche de tissu ostéoïde non minéralisé. Lorsque ces cellules sont actives, elles ont une forme cuboïde ou rectangulaire. Les ostéoblastes ont un noyau unique d'un diamètre de 9 à 11 micromètres avec un nucléole bien évident, un cytoplasme basophile, riche en réticulum endoplasmique granuleux, un appareil de Golgi très développé, des mitochondries contenant des inclusions calciques et des vacuoles de sécrétion. Ils sont à l'origine de la plupart des constituants de la matrice osseuse. Ils expriment la phosphatase alcaline, à l'origine des processus de minéralisation de la substance ostéoïde.

Ils interviennent aussi dans le processus de lyse osseuse en stimulant les ostéoclastes.

Les ostéoblastes ainsi que leurs précurseurs, sécrètent des facteurs de croissance : des BMP (Bone Morphogenetic Protein) : BMP 2 et BMP 7, du TGF- β (Transforming Growth Factor beta), des Insulin Like Growth Factors (IGF-I et IGF-II), du Platelet Derived Growth Factor et du Fibroblastic Growth Factor beta (FGF- β).

Les caractéristiques et les propriétés de ces différents facteurs de croissance sont décrites dans la deuxième partie de ce travail.

La prolifération et la différenciation des ostéoblastes peuvent être stimulées par des facteurs systémiques et locaux tels que la PTH (ou hormone parathyroïdienne), des prostaglandines, diverses cytokines et facteurs de croissance comme le PDGF, les protéines morphogénétiques osseuses (BMP), le TGF- β , des IGF et des FGF. La matrice osseuse est une source importante de ces facteurs de croissance.

Les ostéocytes (54)

Tandis que les ostéoblastes sécrètent la matrice osseuse, certains s'intègrent dans cette matrice au niveau d'une logette appelée ostéoplaste, et prennent alors le nom d'ostéocytes. Le nombre d'ostéoblastes qui deviennent des ostéocytes dépend de la rapidité de la formation osseuse : plus la formation est rapide, plus le nombre d'ostéocytes présents par unité de volume est important. Dans le phénomène de réparation osseuse, le nombre d'ostéocytes est important.

L'aspect ultra structural des ostéocytes varie également selon leur activité. Dans l'os lamellaire jeune, les ostéocytes sont petits, ils occupent une lacune au bord irrégulier, incomplètement minéralisée ; dans l'os plus âgé, les ostéocytes sont plus volumineux dans une lacune plus vaste dont les bords sont à distance du corps cellulaire

L'ostéocyte possède de nombreux prolongements cytoplasmiques disposés dans de fins canalicules radiaires, anastomotiques. L'ensemble de ces prolongements réalise un réseau cellulaire très étendu qui représente une surface d'échange considérable.

Le complexe ostéoblaste-ostéocyte jouerait un rôle important dans la prévention de l'hyperminéralisation de l'os grâce à leur capacité à relarguer dans le courant sanguin les ions calcium.

Les ostéoclastes (54)

Ils se distinguent d'emblée des autres cellules osseuses par leur important volume cellulaire. Ils sont associés à la résorption du tissu osseux et se caractérisent en particulier par la présence d'une bordure plissée et de plusieurs noyaux. On les rencontre au contact de l'os dans les lacunes de Howship, résultat de leur activité, mais aussi à distance de la surface osseuse à des stades fonctionnels différents.

Les ostéoclastes se fixe grâce à des prolongements qui délimitent un espace compris entre la surface osseuse et le corps cellulaire de l'ostéoclaste : la chambre de résorption. À ce niveau, la membrane cytoplasmique possède de nombreuses microvillosités augmentant ainsi la surface d'échange, et prend le nom de bordure en brosse. Le cytoplasme contient un volumineux appareil de Golgi, des mitochondries chargées d'inclusions d'ions calcium et d'abondants lysosomes qui déversent leur contenu dans la chambre de résorption ; il se crée un environnement acide grâce à l'action de pompe à protons, ce qui permet la déminéralisation de l'os et expose la matrice organique qui est ensuite dégradée par l'action de la phosphatase acide.

De très nombreux facteurs sont connus pour réguler l'activité des ostéoclastes : la calcitonine (induit une diminution du nombre et de l'activité des ostéoclastes *in vivo* et *in vitro*), l'hormone parathyroïdienne qui à forte dose active la résorption osseuse par action indirecte sur les ostéoblastes, la 1,25-dihydroxovitamine D3 (elle augmente le nombre et l'activité des ostéoclastes *in vivo* et *in vitro*), le M-CFS (Macrophage Colony-Stimulating Factor est un facteur de survie des précurseurs ostéoclastiques, des préostéoclastes et des ostéoclastes matures, synthétisé par les ostéoblastes)...

1.1.1.3.3.1.3 Os tissé ou woven bone (54)

Cet os immature est un tissu mal organisé.

Il correspond au premier type d'os formé au cours du développement squelettique mais également au tissu osseux résultant de la réparation d'une fracture ou d'un défaut osseux. On le retrouve aussi dans des pathologies comme la maladie de Paget.

Son collagène est organisé de façon non orientée et les fibres sont plus grossières que celle de l'os lamellaire. Sa MEC est peu calcifiée. Les travées osseuses sont irrégulières. Il disparaît peu à peu pour être remplacé par de l'os lamellaire.

1.1.1.3.3.1.4 Os lamellaire (54)

Le tissu osseux lamellaire est constitué de couches successives et peut revêtir deux formes :

- l'os compact, structure solide et dense
- l'os spongieux.

L'os est recouvert par un tissu conjonctif externe, le périoste, et un tissu conjonctif interne, l'endoste. Ces deux tissus sont ostéogènes.

L'os mature ou adulte, qu'il soit compact ou spongieux, est constitué d'une succession de couches lamellaires microscopiques. Trois types de couches lamellaires sont décrites : circonférentielles, concentriques et interstitielles.

Les lamelles circonférentielles forment le périmètre externe de l'os.

Les lamelles concentriques forment le volume de l'os compact et constituent l'unité métabolique de base de l'os: l'ostéone.

L'ostéone est un cylindre d'os généralement orienté selon le grand axe de l'os. Au centre de chaque ostéone, le canal de Havers est bordé par des cellules osseuses: préostéoblastes et ostéoblastes; chaque canal de Havers est habité par un capillaire. Des canaux de Havers adjacents communiquent par l'intermédiaire des canaux de Volkmann qui contiennent aussi une vascularisation.

Les lamelles interstitielles remplissent les espaces situés entre les lamelles concentriques.

Le périoste

Le périoste est constitué de deux assises cellulaires.

La couche la plus proche du tissu minéralisé est la couche cellulaire ostéogénique, formée de cellules précurseurs ostéoprogénitrices, susceptibles de se différencier en ostéoblastes capables de synthétiser les éléments de la matrice ostéoïde et en quelques endroits des ostéoclastes issus d'autres cellules précurseurs.

La deuxième couche cellulaire, plus externe, est une couche riche en fibroblastes et en éléments fibrillaires.

Cet ensemble cellulo-fibrillaire constitue le périoste ; il est attaché à la couche externe périostée en général constituée d'os lamellaire compact par un ancrage fibrillaire type fibres de Sharpey.

L'endoste

L'interface interne de l'os est constituée d'une enveloppe cellulaire endostée. Selon qu'elle s'établit au contact du tissu compact haversien ou du tissu spongieux trabéculaire, on la nomme haversienne ou endostée proprement dite. Elle est formée de cellules ostéoprogénitrices susceptibles de se différencier soit en ostéoblastes soit en ostéoclastes reposant sur un tissu conjonctif peu abondant.

La surface haversienne

Elle se situe au sein de l'ostéone, entre le canal de Havers et la première lamelle concentrique.

1.1.1.3.3.1.5 Moelle osseuse (54)

Les espaces trabéculaires de la plupart des os sont remplis de moelle osseuse qui contient les cellules souches dont dérivent les éléments cellulaires du sang. Une moelle active est remplie de cellules souches en division. En vieillissant, la moelle devient moins active et prend un aspect jaune (adipocytes).

1.1.1.3.3.2 Le turn-over osseux (42, 54)

L'os alvéolaire, au même titre que les divers éléments du squelette est continuellement remanié. Deux processus, le modelage et le remodelage concourent à la réalisation des remaniements osseux.

Le modelage est l'ensemble des mécanismes qui permettent d'adapter les os aux charges mécaniques auxquelles ils sont soumis durant la croissance, en modifiant leur forme, déplaçant les surfaces osseuses par rapport à un axe ou une fonction qui se précise. C'est l'acquisition durant toute la période embryonnaire et le maintien au cours de la croissance de la morphologie et de l'architecture osseuse telle qu'elle est programmée génétiquement et adaptée par l'influence d'un environnement. L'activité de modelage prédomine sur les surfaces périostées. À partir de l'âge adulte, et ensuite au cours de l'existence, elle persiste mais de façon très réduite, et assure une adaptation des structures anatomiques grâce à une activité de formation.

Le remodelage est un cycle continu d'événements qui permettent tout au long de la vie le remplacement de l'os ancien par de l'os nouveau ; cette activité assure d'abord la substitution de l'os primaire par de l'os mature puis persiste et devient prépondérante. L'activité de remodelage constitue l'essentiel des phénomènes de remaniements chez l'adulte.

Depuis Frost (1964), le concept d'une activité séquentielle est unanimement admis. L'os est constitué d'unités de remodelage (« Bone Remodeling Unit » BRU) indépendantes et activées de façon asynchrone. Lorsqu'une unité est activée, par un stimulus local ou un signal hormonal, des cellules sont recrutées, puis se différencient et des ostéoclastes résorbent la fraction osseuse correspondant à l'unité de remodelage activée. Puis au site même de la résorption, des cellules sont recrutées et se différencient ensuite en ostéoblastes fonctionnels synthétisant la nouvelle matrice ostéoïde qui, une fois minéralisée, permet le remplacement plus ou moins complet de l'os. Le remodelage est donc une succession d'événements définis : activation résorption, inversion et formation. Le cycle de remodelage est symbolisé par la séquence : A-R-I-F.

Quand la minéralisation est terminée, le foyer de remodelage est identique à ce qu'il était avant l'activation, c'est-à-dire au repos. Mais un nouveau cycle ne peut être initié avant un long délai. Un jeu complexe de facteurs d'inhibition ou d'activation va déterminer la durée de cette phase de repos.

La balance, c'est-à-dire l'équilibre entre destruction et formation au cours du remodelage, dépend, au cours du cycle, de la compétence et du nombre des cellules différenciées. Peu après la fin de la croissance, un léger déficit en masse osseuse apparaît, et celui-ci s'accroît avec l'âge. L'ajustement de la balance osseuse constitue la garantie du maintien de l'intégrité tissulaire.

Le contrôle de remodelage physiologique est sous la dépendance essentielle de contrôles locaux. Les interactions cellules/cellules et cellules/matrice

déterminent les manifestations locales du remodelage osseux. Si celles-ci sont influencées par des facteurs systémiques, les effets de ces hormones sont aussi déterminés par les conditions locales.

Les principaux facteurs intervenants dans le remodelage osseux sont :

Les facteurs hormonaux :

- L'hormone parathyroïdienne, régulateur essentiel de l'homéostasie minérale, qui selon la concentration a des effets cataboliques (concentration élevée) ou anaboliques (faible concentration).
- La 1,25-dihydroxovitamine D3 joue un rôle important dans la régulation de l'homéostasie calcique.
- La calcitonine est un inhibiteur de la résorption.
- Les hormones thyroïdiennes
- Les hormones sexuelles
- L'insuline, impliquée dans la synthèse rénale de la vitamine D
- Les locaux corticoïdes

Les minéraux :

- Le calcium, le phosphate, le magnésium, le cuivre ...

Les facteurs locaux :

- Les facteurs cellulaires : les prostaglandines (en particulier PGE 2), des interleukines (IL-1 et IL-6)...
- Les facteurs de croissance : ils sont à la fois synthétisés par les cellules impliquées dans le remaniement osseux et libérés par la matrice osseuse lors de sa dégradation. Il s'agit du FGF, de l'IGF, de l'EGF, du PDGF, des TGF (principalement les BMP).

Les facteurs mécaniques :

Appliquée à l'os, une pression engendre une augmentation de la résorption alors qu'une tension provoque une apposition osseuse.

Dans le cadre de l'utilisation des facteurs de croissance en vue d'une régénération osseuse, on cherchera à stimuler l'activité ostéoblastique et à inhiber l'ostéoclasie.

Remaniement de la paroi alvéolaire :

La dérive mésiale physiologique de la dent ainsi que tout déplacement orthodontique de la dent dans son alvéole, permet de définir deux zones de remaniements : une zone en apposition et une zone en résorption (côté vers lequel la dent se déplace).

Du côté « face en apposition », la surface osseuse présente une activité très comparable à celle du périoste, le modelage. L'activité de formation est continue. La bordure osseuse est régulière, recouverte d'ostéoïde et de nombreuses cellules. Les ostéoblastes et leurs précurseurs sont situés entre les faisceaux de fibres de Sharpey. La minéralisation débute à distance du tissu déjà calcifié et des ostéoblastes marquant le décalage entre la synthèse matricielle et la minéralisation. Afin de compenser cet épaissement, du côté endosté, le remodelage remplace l'os fasciculé par de l'os lamellaire trabéculaire ou haversien, et la balance osseuse est négative. De cette façon, l'os fasciculé reste d'épaisseur constante tout en se déplaçant dans l'espace accompagné par les travées osseuses alvéolaires.

Du côté « face en résorption », la surface est en remodelage. Elle est caractérisée par un aspect très hétérogène. Elle est le siège d'une activité cellulaire intense et complexe sensiblement comparable au remodelage endosté. Quatre types de foyers sont à distinguer en fonction de leur activité cellulaire :

- Les foyers en résorption active occupés par les ostéoclastes, entourés de nombreuses cellules mononucléées. L'ancrage ligamentaire est détruit.
- Les foyers en inversion où les ostéoclastes ne sont plus présents au contact de l'os. La lacune de Howship est occupée par les cellules mononucléées, dont certaines tapissent la surface osseuse. Plus à distance, ce sont des cellules d'aspect divers, de type fibroblastique, avec un ergastoplasme plus développé. L'ancrage fibrillaire n'est pas reconstitué.
- Les foyers d'apposition où les ostéoblastes actifs synthétisent le nouvel ostéoïde. Les faisceaux de fibres de Sharpey nouvellement réorganisés sont progressivement inclus dans l'os fasciculé. L'ancrage est reconstitué.
- Les foyers au repos.

En réponse au remodelage de cette paroi alvéolaire, les espaces médullaires réagissent par l'apposition endostée de nouvelles lamelles. Cette apposition de compensation n'équilibre cependant pas le remodelage sur le plan quantitatif. La paroi de l'alvéole tend à être toujours plus fine du côté en résorption que du côté en apposition.

Le remaniement de l'os alvéolaire est continuellement influencé par le niveau et la distribution des contraintes appliquées à l'os. Il permet d'assurer un contrôle positif de la masse osseuse en maintenant l'os dans sa fonction de support ; si le stimulus est trop important la réponse adaptative ne sera pas suffisante et une altération pathologique s'établira.

1.2 Destruction du parodonte (70)

La pathologie parodontale correspond à une rupture d'équilibre entre les défenses de l'hôte et les micro-organismes qui colonisent les surfaces dentaires. Ainsi, la pathogénie des maladies parodontales se présente sous un double aspect :

- Immunologique : destruction tissulaire due à la réponse négative (c'est-à-dire tournée contre l'hôte) des mécanismes de l'inflammation aiguë non spécifique et de la mise en route de l'immunité humorale et cellulaire spécifique.
- Microbiologique : destruction tissulaire due aux bactéries donc d'origine exogène.

Trois facteurs influencent la rupture d'équilibre hôte/parasite :

- L'augmentation quantitative des bactéries (plutôt liée à la gingivite)
- L'augmentation qualitative en nombre absolu de certaines espèces ou combinaisons d'espèces bactériennes (plutôt liée à la parodontite).
- La carence du système de défense à assurer la protection tissulaire. Elle peut être :
 - soit d'origine systémique (par exemples : déficit des neutrophiles, ou déficit de l'immunité : sida)
 - soit d'origine locale : aspect négatif de la défense inflammatoire non spécifique ou aspect négatif de la défense immunitaire spécifique.

1.3 Cicatrisation parodontale

1.3.1 L'hémostase (19, 34)

1.3.1.1 Définition

L'hémostase est l'ensemble des phénomènes physiologiques qui assurent la prévention des saignements spontanés, l'arrêt des hémorragies en cas de rupture de la continuité de la paroi du vaisseau et la réparation de la brèche vasculaire.

Ce processus physiologique comprend trois étapes :

- l'hémostase primaire
- la coagulation plasmatique
- la fibrinolyse.

L'hémostase primaire et la coagulation plasmatique conduisent à la formation du caillot alors que la fibrinolyse est une phase de destruction du caillot et de rétablissement de la continuité de la paroi vasculaire lésée.

1.3.1.2 L'hémostase primaire :

Il s'agit de l'ensemble des mécanismes physiologiques conduisant à l'obturation initiale de la brèche vasculaire et aux premières étapes de sa réparation. Le clou plaquettaire est le produit final de l'hémostase primaire qui est secondairement consolidé par la mise en oeuvre des processus de la coagulation.

L'hémostase primaire fait intervenir quatre acteurs principaux : la paroi vasculaire, les plaquettes, le facteur von Willebrand et le fibrinogène.

La paroi vasculaire :

Elle est composée de trois tuniques : l'intima, la média et l'adventice.

L'intima est formée d'une monocouche de cellules endothéliales directement en contact avec le courant sanguin et le sous-endothélium. La média est constituée essentiellement de cellules musculaires lisses et de fibres élastiques. L'adventice est constituée de tissu conjonctif et de vaisseaux nourriciers, les vasa-vasorum.

La propriété fondamentale de la paroi vasculaire, qui sous-tend l'équilibre physiologique des mécanismes de l'hémostase, est l'hémocompatibilité de la cellule endothéliale au repos qui est ainsi thromborésistante en prévenant l'activation du système de la coagulation. En revanche, les structures sous-endothéliales sont hautement thrombogènes.

Toute rupture de l'intégrité de la couche endothéliale met à nu les structures sous-endothéliales qui, en contact direct avec le sang circulant, induisent les phénomènes de l'hémostase primaire et de la coagulation à l'origine d'un thrombus.

Les plaquettes :

Ce sont des fragments cytoplasmiques issus des mégacaryocytes par un processus différent d'une mitose. Chaque mégacaryocyte donne naissance à environ 1000 à 8000 plaquettes. Il s'agit de cellules anucléées de 2 à 3 μm de diamètre ; leur taux normal est de 150 à 400 $\times 10^9/\text{L}$.

Les cellules plaquettaires, ou thrombocytes, présentent une structure très particulière en accord avec leurs fonctions primaires d'adhésion à l'endothélium et d'autoagrégation :

- membrane cytoplasmique riche en glycoprotéines fonctionnelles
- système membranaire complexe intracytoplasmique
- système microtubulaire et microfibrillaire
- système de granulations intracytoplasmiques.

Les granules sont de trois types :

- Les granules denses qui contiennent du calcium, de l'adénosine diphosphate (ADP), de l'adénosine triphosphate (ATP), de la sérotonine.
- Les granules alpha contiennent plusieurs protéines : des facteurs de la coagulation dont le facteur de von Willebrand, du fibrinogène, le facteur V, la protéine S, la β -thromboglobuline et des facteurs de croissance comme le Platelet Derived Growth Factor (PDGF), le Transforming Growth Factor β (TGF- β) et l'Epidermal Growth Factor (EGF).
- Les granules lysosomiaux et microperoxisomes :

Les granules lysosomiaux possèdent des enzymes et sont présents au stade très précoce des mégacaryoblastes avant même la formation des granules α . Les microperoxisomes correspondent aux organelles de stockage de la catalase.

Le facteur de von Willebrand (VWF)

Il s'agit d'une protéine synthétisée à la fois par les cellules endothéliales et par les mégacaryocytes. Il permet l'adhésion des plaquettes aux cellules endothéliales activées, ou au sous-endothélium, via son récepteur plaquettaire.

Le fibrinogène et la fibrine

Le fibrinogène est une protéine soluble synthétisée par le foie, dont le taux plasmatique est d'environ 2 à 4 g/l ; c'est le substrat final de la coagulation qui est transformé en fibrine insoluble par la thrombine.

Le fibrinogène exerce en outre un rôle important au niveau de l'hémostase primaire en assurant les ponts moléculaires interplaquettaires à l'origine des agrégats plaquettaires.

C'est un polypeptide formé de six chaînes identiques deux à deux, reliées par des ponts disulfures. Cette molécule mesure 46 nm de long et sa masse moléculaire est de 340 kDa.

L'effet hydrolytique de la thrombine transforme le fibrinogène en monomères de fibrine, qui s'associent entre eux grâce à des liaisons hydrogène de faible affinité pour former un gel de fibrine. Le facteur XIII, ou facteur de stabilisation de la fibrine, activé par la thrombine, renforce la cohésion des molécules de fibrine par la création de liaisons covalentes intermoléculaires, rendant le réseau de fibrine plus stable et plus solide.

Le réseau tridimensionnel de fibrine est alors insoluble et emprisonne les globules rouges : le thrombus rouge définitif est ainsi formé.

La matrice de fibrine permet d'obturer la brèche vasculaire et constitue un guide essentiel pour orchestrer la cicatrisation.

Les séquences de l'hémostase primaire

Plusieurs étapes permettent la formation du clou plaquettaire :

- la vasoconstriction
- l'adhésion des plaquettes au sous-endothélium
- l'activation et la sécrétion plaquettaire
- l'agrégation des plaquettes entre elles aboutissant au clou plaquettaire.

Temps vasculaire

C'est l'étape initiale ; il en résulte une vasoconstriction réduisant le calibre vasculaire qui ralentit le débit sanguin, permettant ainsi une réduction des pertes et une certaine stase circulatoire qui favorise la mise en oeuvre des différentes étapes de l'hémostase.

Temps plaquettaire

L'adhésion plaquettaire est permise par la fixation du VWF au collagène des structures sous endothéliales mises à nu. Différentes glycoprotéines plaquettaires participent également à cette adhésion.

L'activation des plaquettes est caractérisée par deux phénomènes principaux, leurs changements de forme et leur activation métabolique. Le phénomène de sécrétion plaquettaire libère de nombreuses substances proagrégantes, procoagulantes, ou vasomotrices.

L'agrégation plaquettaire est permise par le fibrinogène qui crée de véritables ponts adhésifs.

1.3.1.3 La coagulation plasmatique

Le processus central de la coagulation est la génération de la molécule de thrombine, enzyme clé de la coagulation, permettant la transformation du fibrinogène en fibrine : le thrombus plaquettaire est ainsi très rapidement consolidé par un réseau de fibrine insoluble.

À l'exception de la stabilisation de la fibrine par le facteur XIII activé, toutes les réactions enzymatiques de la coagulation sont des réactions protéolytiques dans lesquelles une enzyme appartenant à la famille des sérine protéases active son substrat par protéolyse limitée. Ces réactions ont pour caractéristique essentielle de se dérouler à la surface de membranes cellulaires, ce qui fait de la coagulation sanguine un phénomène qui est, *in vivo*, strictement localisé au site même de la brèche vasculaire. La rapidité de la réponse à la lésion du vaisseau est par ailleurs assurée par des phénomènes d'activation rétro-active qui permettent à la cascade de réactions de s'auto-amplifier, donnant toute sa puissance au système de défense. *A contrario*, la coagulation est strictement limitée par un faisceau d'inhibiteurs plasmatiques et cellulaires, qui lui permettent de rester localisée au site de lésion pour ne pas entraîner d'obstruction du lit vasculaire. Cet équilibre entre les forces qui tendent à faire coaguler le sang et les mécanismes qui limitent la coagulation est fondamental.

La coagulation fait intervenir des protéines plasmatiques (facteurs de la coagulation et inhibiteurs de la coagulation), une protéine tissulaire (facteur tissulaire), les plaquettes et les ions calcium.

Les facteurs de la coagulation (figure 6)

Douze protéines plasmatiques nécessaires à la coagulation du sang *in vitro* ont été identifiées. Dix d'entre elles sont désignées par un chiffre romain, attribué en 1954 par un comité de Nomenclature Internationale; le facteur activé est désigné par son numéro suivi du suffixe «a».

	Masse moléculaire (kDa)	Concentration plasmatique (mg/L)	Demi-vie <i>in vivo</i> (h)	Fonction
A- Facteurs de coagulation				
I (Fibrinogène)	340	2-4 x 10 ³	100-150	Coagulation
II (Prothrombine)*	72	100-150	50-120	Zymogène d'une sérine protéase
V (Proaccélélerine)	330	5-10	12-36	Cofacteur
VII (Proconvertine)*	50	0,35-0,60	4-6	Zymogène d'une sérine protéase
VIII (F antihémophilique A)	330	0,10-0,20	10-16	Zymogène d'une sérine protéase
IX (F antihémophilique B)*	57	3-5	24	Zymogène d'une sérine protéase
X (F Stuart)*	59	7-17	3-48	Zymogène d'une sérine protéase
XI (Plasma thromboplastin antécédent)	160	3-6	40-80	Zymogène d'une sérine protéase
XII (F Hageman)	80	30-40	50-70	Zymogène d'une sérine protéase
XIII (F stabilisant de la fibrine)	320	20-30	150-300	Zymogène d'une sérine protéase
Prékallikréine (F Flechter)	85	25-50	35	Zymogène d'une sérine protéase
Kininogène de haut poids moléculaire (F Fitzgerald, Flaujeac ou Williams)	100	60-90	150	Cofacteur
B- Inhibiteurs de la coagulation				
Antithrombine III (AT III)	65	180-300	50-70	Serpine
Second cofacteur de l'héparine (HCII)	65	60-110	60	Serpine
Protéine C*	62	2,7-6	6-8	Zymogène d'une sérine protéase
Protéine S*	70	25	ND1	Cofacteur
Inhibiteur de la voie tissulaire (TFPI)	42	0,10	ND1	Inhibiteur de type Kunitz

ND = non déterminée ;

* Les facteurs de coagulation marquée d'un astérisque nécessitent la présence de vitamine K pour leur synthèse hépatique, à la différence des autres

Figure 6 : Principales caractéristiques des protéines plasmatiques de la coagulation. D'après Guillin et Bezeaud (1995).

Les facteurs de coagulation sont tous des glycoprotéines plasmatiques, synthétisées dans l'hépatocyte. Ils appartiennent sur le plan structural et fonctionnel à différents groupes.

Les différentes étapes de la coagulation

La coagulation du sang est l'aboutissement d'une cascade de réactions protéolytiques qui ont lieu sur des surfaces membranaires. *In vitro*, la coagulation peut être initiée de deux façons différentes. La première, connue sur le nom de « voie exogène » de la coagulation, est l'exposition du sang au contact du facteur tissulaire. La seconde, connue sous le nom de « voie endogène » est l'exposition du sang au contact d'une surface chargée négativement. *In vivo*, il semble très vraisemblable que le facteur tissulaire démasqué par la rupture de la continuité endothéliale soit l'élément primordial responsable de l'initiation de la coagulation, la voie endogène venant secondairement renforcer la croissance du caillot de fibrine. *In vivo*, cette distinction n'a guère de signification dans la mesure où les intrications sont multiples.

- *Facteur tissulaire et activation du facteur VII*

Le facteur tissulaire est une glycoprotéine membranaire monocaténaire de 42 kDa. Il est présent dans les fibroblastes de la paroi externe des vaisseaux, formant une enveloppe à distance du sang circulant, mais à proximité immédiate en cas de blessure vasculaire.

Le facteur tissulaire est étroitement associé aux phospholipides des membranes cellulaires ce qui permet l'expression de son activité fonctionnelle. Lors d'une lésion vasculaire, le complexe facteur tissulaire-phospholipides vient au contact du sang et se comporte comme un cofacteur de l'activation du facteur VII. Les deux protéines forment un complexe équimoléculaire en présence d'ions calcium. Cette association permet la conversion du facteur VII en sérine protéase (VIIa) par protéolyse.

- *Activation du facteur X par le complexe facteurVIIa-facteur tissulaire*

Le complexe facteurVIIa-facteur tissulaire a pour substrats le facteur IX et le facteur X, son affinité pour l'un ou l'autre étant fonction de la concentration en facteur tissulaire. Lorsque cette dernière est importante, le complexe facteurVIIa-facteur tissulaire active directement le facteur X par la scission d'une seule liaison peptidique. Si la concentration de facteur tissulaire est limitée, le facteur IX devient un meilleur substrat et subit l'hydrolyse de deux liaisons peptidiques.

Le facteur IXa ainsi formé s'associe en un complexe équimoléculaire avec le facteur VIIIa en présence de phospholipides chargés négativement et d'ions calcium. Ce complexe active à son tour le facteur X. Cette étape nécessite donc l'activation préalable du facteur VIII, activation réalisée par le facteur Xa ou la thrombine, ce qui implique que l'activation du facteur X par le complexe IXa-phospholipides-VIIIa ne sera efficace que secondairement, après que les

premières traces de facteur Xa ou de thrombine ont été formées, réalisant le phénomène d'activation rétroactive déjà signalé.

- *Activation de la prothrombine*

Le facteur Xa forme un complexe équimoléculaire avec le facteur Va en présence d'ions calcium et des phospholipides anioniques exposés à la surface des plaquettes activées. Ce complexe, appelé «prothrombinase », active la prothrombine et donne naissance à la thrombine.

Là encore, le facteur V doit être activé préalablement soit par le facteur Xa ou par la thrombine. Ainsi, la thrombine formée est capable d'activer le facteur V, auto-amplifiant sa propre production.

La voie endogène de la coagulation

L'initiation de la coagulation peut se faire par fixation sur une surface électronégative du facteur XII et du kininogène de haut poids moléculaire, et par l'intermédiaire de ce dernier du facteur XI et de la prékallikréine. La protéolyse du facteur XII suit sa fixation sur la surface. Le facteur XIIa transforme ensuite par protéolyse le facteur XI en XIa et la prékallikréine en kallikréine. Là encore, il y a auto amplification du processus : la kallikréine active le facteur XII, ce qui augmente considérablement la production de facteur XIIa.

La fibrinoformation

La thrombine scinde des liaisons peptidiques sur chacune des deux chaînes du fibrinogène transformant ainsi ce dernier en monomères de fibrine. Ces monomères se lient entre eux entraînant une polymérisation de la fibrine.

Puis, ce polymère de fibrine est stabilisé par le facteur XIIIa, l'activation du facteur XIII étant réalisée par la thrombine et accélérée par la fibrine.

1.3.1.4 La fibrinolyse

La fibrinolyse est un processus physiologique permettant la dissolution du caillot de fibrine. La fibrinolyse comprend des molécules à activité protéolytique, qui agissent sur un substrat, contrôlées par un système d'activateurs et d'inhibiteurs permettant une régulation physiologique précise.

L'enzyme centrale de la fibrinolyse est la plasmine qui dérive d'un précurseur plasmatique inactif, le plasminogène, glycoprotéine d'origine hépatique.

Le plasminogène possède une grande affinité pour la fibrine, et s'y fixe par un récepteur spécifique aux côtés de son activateur, permettant ainsi la génération locale de plasmine via le démasquage des sites protéolytiques.

La plasmine protéolyse le fibrinogène et la fibrine en divers fragments de taille variable, identifiés comme les Produits de Dégradation de la Fibrine ou PDF, qui sont quantifiables dans le plasma.

1.3.2 Cicatrisation parodontale

L'une des conséquences de la maladie parodontale est une destruction plus ou moins importante du parodonte profond. Le but des thérapeutiques parodontales est non seulement d'obtenir un assainissement tissulaire mais aussi une réparation, voire mieux : une régénération des tissus lésés.

1.3.2.1 Réparation et régénération parodontale (63)

On peut définir la réparation comme l'ensemble des processus physiologiques qui rétablissent la continuité d'un tissu, sans restituer l'architecture et la fonction initiales (Melcher, 1976).

La régénération est définie comme la restauration de l'architecture et de la fonction des tissus lésés. Cela implique la restitution complète du système d'attache de la dent avec formation d'un néo-cément, reformation de l'os détruit où sont insérées de nouvelles fibres de collagène. Cet objectif ambitieux est cependant rarement atteint.

L'expression « nouvelle attache » est définie comme étant la jonction du tissu conjonctif ou de l'épithélium à une surface radiculaire qui a été privée de son système d'attache initial. Une nouvelle attache conjonctive se rapporte à la formation d'un nouveau ligament parodontal inséré directement dans la surface cémentaire ou dans un cément néo formé.

La réattache correspond à la réunion de l'épithélium et/ou du tissu conjonctif avec la surface radiculaire qui peut survenir après une incision chirurgicale ou un traumatisme. Dans le cas d'une ré attache, la surface radiculaire a conservé son système d'attache initial.

1.3.2.2 Compétition cellulaire (32, 53)

En 1976, Melcher a étudié les potentiels de cicatrisation des quatre tissus parodontaux : la gencive, l'os alvéolaire, le ligament parodontal, et le ciment, ainsi que les interactions cellulaires entre ces différents tissus. De ces observations, il émet plusieurs hypothèses de cicatrisation en fonction du type cellulaire prédominant (ankylose, formation d'un long épithélium de jonction, régénération parodontale).

Ainsi, posant les bases de la régénération tissulaire, il propose pour obtenir une régénération parodontale d'exclure de la cicatrisation le tissu gingival.

Les travaux de Karring *et al.* (1993), Gottlow *et al.* (1986), Nyman, Cortellini *et al.* (1993) ont établi la technique de la régénération tissulaire guidée : la régénération des tissus de soutien de la dent est obtenue par l'interposition d'une membrane entre la gencive et la surface radiculaire assainie. La recolonisation sélective du caillot, puis de la surface radiculaire, permet la régénération d'une nouvelle attache, limitant la migration apicale de l'épithélium.

1.3.2.3 Evaluation des thérapeutique parodontales

Les critères d'évaluation de la régénération parodontale comprennent le sondage parodontal, la radiographie et une sélection de cas de ré-entrée. Le gain d'attache clinique est aujourd'hui largement reconnu comme étant l'un des principaux objectifs des tentatives de régénération des tissus parodontaux. Ce gain d'attache après traitement peut représenter la régénération, mais peut aussi indiquer la suppression de l'inflammation et la néoformation du tissu conjonctif, le comblement osseux et la formation d'un long épithélium de jonction sur la surface radiculaire.

L'unique élément de la régénération parodontale qui peut être évalué cliniquement avec précision est le comblement osseux.

Le niveau osseux peut être évalué par une ré-entrée, mais aussi par l'analyse de clichés radiographiques pré et post-chirurgicaux.

L'histologie reste la seule méthode pour mesurer la nature et l'étendue de la régénération parodontale.

1.4 Facteur de croissance et régénération : définitions (Marx et al., 1998)

1.4.1 Régénération osseuse (49)

La chirurgie de régénération vise à recréer les tissus originels perdus au cours d'un processus pathologique ou de son traitement, tissus qui, une fois matures, sont identiques dans leur structure et leur fonction à ceux qui avaient été perdus. Appliquée au tissu osseux, cette thérapeutique permet de régénérer l'os perdu. Il s'est avéré que dans le cas de défauts de volume réduit, la cicatrisation naturelle tend vers une régénération.

Par contre, lorsque la perte de substance à gérer est trop importante (c'est-à-dire que son volume est supérieur à 1 cm³)(Schmitz et Hollinger, 1996) et, surtout si elle n'est plus entourée de murs osseux, il se produit une réparation aboutissant en partie à un tissu cicatriciel fibreux qui n'est pas pathologique, mais qui ne possède pas les propriétés biologiques, physiques et mécaniques du tissu osseux originel.

La régénération osseuse guidée (ROG) est une technique chirurgicale visant à augmenter la quantité et la qualité de l'os au niveau de défauts de la crête alvéolaire (Hammerle et Karring, 1998). La néoformation osseuse est un processus complexe et hautement régulé. L'ostéo-activité peut prendre différentes formes et inclue l'ostéogénicité, l'ostéo-induction, l'ostéo-conduction et l'ostéotransduction.

1.4.2 Ostéogénicité, ostéo-induction, ostéoconduction et ostéotransduction (20)

L'ostéogénicité est la capacité d'un greffon à se transformer en os à partir de ses propres cellules ostéogéniques (cellules souches osseuses et ostéoblastes).

L'ostéoinduction (définie par Urist et Strates, 1971) est l'aptitude d'un matériau à conduire à la différenciation des cellules mésenchymateuses de l'hôte, situées à proximité de la greffe, en cellules ostéoprogénitrices. Cette propriété est recherchée dans le cadre de la régénération.

L'ostéoconduction est la propriété qui favorise la vascularisation et la colonisation des cellules ostéoprogénitrices du lit receveur. Le matériau greffé a un rôle d'échafaudage.

Le but à atteindre étant une régénération tissulaire, celle-ci n'est obtenue qu'une fois la matrice totalement résorbée et remplacée par de l'os néoformé : c'est l'ostéotransduction.

1.4.3 Les facteurs de croissance (20)

Les facteurs de croissance sont des peptides naturels de poids moléculaire peu élevé (de 6 à 30 kDa). Ils ont un rôle primordial au cours de l'embryogenèse, mais aussi lors des processus de cicatrisation.

Ils représentent une classe importante de molécules de signalisation qui a été conservée au cours de l'évolution.

Ce sont des substances qui interviennent dans les interactions de proximité cellulaire. Ils sont captés par des récepteurs spécifiques, situés sur des cellules cibles, qui reçoivent le message biochimique à travers la membrane plasmique par transduction transmembranaire du signal. Ils peuvent avoir une action endocrine (mais ne sont pas sous forme libre dans le sang), paracrine ou autocrine.

Dans le cadre de la régénération parodontale, les facteurs de croissance regroupent l'ensemble des molécules solubles, injectées seules ou délivrées par un biomatériau, ayant pour but de :

- Stimuler la division cellulaire des cellules voisines, afin qu'elles comblent le défaut osseux.
On distingue :
 - les **facteurs de compétence** rendant les cellules compétentes pour la division (passage de la phase de quiescence G0 à la phase G1)
 - les **facteurs de progression** nécessaires pour induire la mitose.
- Encourager la différenciation de cellules souches de manière spécifique : ce sont les **facteurs de différenciation** ;
- Stimuler l'**angiogenèse** ;
- Servir de **facteurs chimiotactiques** pour certaines cellules spécifiques (**facteurs de migration**).

Le rôle des facteurs de croissance dans la cicatrisation est fondamental. Ils sont responsables d'une activation cellulaire indispensable à la régénération d'un site opératoire (Marx *et al.*, 1998). (49)

Il s'agit d'une évolution des organismes tenant compte du principe d'économie d'énergie. Il est impossible pour un organisme, d'un point de vue énergétique, de

maintenir une population importante de cellules utiles uniquement pour la cicatrisation. En effet, la majorité des cellules du corps humain sont des cellules différenciées structurales ou fonctionnelles et l'évolution a abouti au maintien d'un nombre minimal de cellules souches à potentiel de cicatrisation (de 1/100 000 chez un adolescent à 1/1200000 chez un individu de 80 ans) (Caplan, 1991).

Les facteurs de croissance ont donc pour fonction d'augmenter rapidement le nombre de ces cellules, sur un espace limité et durant une période autorisant la cicatrisation complète de la blessure.

Mécanismes d'action des facteurs de croissance :

Ils peuvent agir de trois façons :

- **Action endocrine :**

Ils sont alors synthétisés ailleurs dans l'organisme et véhiculés dans la circulation vers leur cellules cibles. Contrairement aux hormones, les facteurs de croissance ont une activité locale et ne sont pas sous forme libre dans le sang.

- **Action paracrine :**

Ils peuvent être synthétisés dans certaines cellules qui les sécrètent pour agir sur les cellules voisines à travers la matrice extracellulaire. Les cellules qui synthétisent le facteur de croissance considéré ne sont pas affectées par le message car elles ne possèdent pas les récepteurs appropriés.

- **Action autocrine :**

Les facteurs de croissance agissent sur les cellules qui les ont synthétisés et ont alors soit en effet activateur soit en effet inhibiteur sur la sécrétion de ces cellules.

La plupart des facteurs utilisent des récepteurs protéiques d'affinité élevée sur la membrane plasmique des cellules cibles.

La multiplicité des réponses cellulaires aux facteurs de croissance implique des mécanismes intracellulaires complexes. On pense généralement que la spécificité de la réponse est liée à la phosphorylation de protéines intracellulaires. Certains facteurs stimulent la transcription des gènes ribosomiaux à l'intérieur du noyau, suggérant ainsi que des mécanismes nucléaires interviendraient au cours de l'intégration du signal.

Mode de production de facteurs de croissance

On distingue deux sortes de facteur de croissance : les facteurs de croissance natifs et les facteurs recombinés (précédés des initiales rh: recombinant human) produits par génie génétique.

À l'heure actuelle, les gènes de plusieurs des facteurs de croissance ont été identifiés et clonés, et la technologie de l'ADN recombinant permet de les obtenir en quantité importante, ce qui permet de faciliter l'étude de ces différents facteurs.

1.4.4 Régénération osseuse et facteurs de croissance plaquettaires (50, 49)

1.4.4.1 Situation initiale

La chirurgie de régénération aboutit à la formation d'un espace cicatriciel clos, comblé par un caillot sanguin et appelé « espace mort ». Cet espace est hypoxique (pO_2 comprise entre 5 et 10 mm Hg), acide (pH compris entre 4 et 6), et contient des plaquettes, des leucocytes, des hématies et de la fibrine en un réseau complexe autour des cellules transférées : ostéocytes, ostéoblastes d'origine endostée et cellules souches osseuses. Ces dernières ne sont présentes à J0 que dans les cas de comblement utilisant de l'os autogène.

En périphérie du site opératoire, les tissus sont normoxiques (pO_2 comprise entre 45 et 55 mm Hg), le pH est de 7,42 ; ils contiennent des cellules osseuses structurelles, un faible nombre de cellules souches et la section des capillaires provoque la formation d'un caillot et l'exposition de cellules endothéliales.

Cet environnement complexe, simplifié dans ce modèle, est le résultat de millions d'années d'évolution. Il permet d'initier, de maintenir et de conduire à maturité la réparation osseuse suite à une blessure.

Cette cicatrisation peut être accélérée et aboutir à une régénération grâce à l'utilisation de différents facteurs de croissance associés à des matériaux de comblement osseux. Les facteurs de croissance plaquettaires contenus dans le PRP sont énumérés au paragraphe 3.1.2 et leurs propriétés sont développées dans la deuxième partie de ce travail.

1.4.4.2 J0 à J3 : rôle des plaquettes

L'initiation de la régénération osseuse débute avec le relargage de PDGF, de TGF- β 1, et d'IGF par la dégranulation des plaquettes dans le matériau greffé.

Le PDGF stimule la mitogénèse des cellules souches de la moelle osseuse et l'angiogénèse par induction de la mitose des cellules endothéliales. Le TGF- β active les fibroblastes et des pré-ostéoblastes, en augmentant leur nombre et en induisant leur différenciation en cellules matures fonctionnelles.

Une sécrétion continue de TGF- β permet le dépôt de la matrice osseuse par les ostéoblastes et de la matrice collagénique par les fibroblastes, support nécessaire au développement capillaire.

Cette activité débute dès la fermeture du site opératoire. A J3, la pénétration des capillaires est visible dans le matériau greffé.

1.4.4.3 J3 à J5 : prolifération du tissu de granulation

La durée de vie d'une plaquette dans une blessure est inférieure à cinq jours, ce qui limite l'action des facteurs de croissance d'origine plaquettaire.

Deux mécanismes prennent le relais:

- l'augmentation et l'activation des cellules souches de la moelle en ostéoblastes qui sécrètent alors du TGF- β et de l'IGF dans la matrice ostéoïde.
- mais surtout l'arrivée et l'activation des macrophages qui deviennent dès lors la principale source de facteurs de croissance.

Les macrophages sont attirés par chimiotaxie sur le site (action de PDGF) mais aussi par un gradient d'oxygène de plus de 20 mmHg.

Les macrophages, en plus de leur fonction de déterision, possèdent une importante activité de synthèse en facteurs de croissance : MDGF (Macrophage-Derived Growth Factor), et MAGF (Macrophage Angiogenic Growth Factor).

1.4.4.4 Formation du cal osseux cicatriciel

La formation osseuse initiale provient :

- des ostéoblastes de l'os spongieux bordant le défaut. Ces cellules survivent à la transplantation grâce à leur localisation en surface ce qui leur permet d'absorber les nutriments directement là où la revascularisation prend place.
- de la multiplication et de la différenciation dans la lignée ostéoblastique des cellules souches de la moelle osseuse transplantées, grâce à l'action des facteurs de croissance PDGF et TGF- β .

La structure histologique de cette formation osseuse est dépendante des conditions dans lesquelles s'opère la régénération. Si les fragments sont correctement immobilisés et dans le cas de la chirurgie de régénération de l'os alvéolaire, le cal est constitué directement d'os non lamellaire, le schéma de cicatrisation étant alors le mode d'ossification membraneuse.

Cette première formation osseuse est désorganisée, immature et correspond donc à de l'os tissé.

Au bout de quatre semaines, la revascularisation de la greffe élimine le gradient d'oxygène nécessaire à maintenir l'activité des macrophages. Ceux-ci quittent donc le site. L'os immature va alors subir des cycles de résorption et d'apposition qui vont aboutir à la formation d'os mature lamellaire.

1.4.4.5 Maturation osseuse

La substance ostéoïde déposée par les ostéoblastes contient de l'IGF et des BMP. Ces protéines sont relarguées lors de la résorption ostéoclasique et stimulent à leur tour la multiplication, la différenciation et la sécrétion des ostéoblastes, responsables de la synthèse d'os lamellaire.

2. Deuxième partie : les différents facteurs de croissance

Les facteurs de croissance sont considérés comme des agents multifonctionnels. La dénomination de chaque facteur fait appel soit à son activité biologique, soit au site de son isolation. L'activité biologique des facteurs de croissance semble dépendante du type de cellule et de son stade de différenciation.

Les facteurs de croissance connus pour avoir un rôle sur les cellules impliquées dans la cicatrisation osseuse et sur la cicatrisation parodontale sont les suivants :

2.1 Origine naturelle

2.1.1 Platelet-derived Growth Factor (PDGF) (11, 39, 50, 59, 60, 63)

2.1.1.1 Généralités

Le PDGF a été identifié pour la première fois dans des plaquettes.

C'est une glycoprotéine d'une masse moléculaire de 30 KDa, composée de deux chaînes polypeptidiques (A et B) homologues à 58 % mais encodées par des gènes différents. La chaîne A contient 121 acides aminés et le gène codant se trouve sur le chromosome 7. La chaîne B contient 125 acides aminés ; son gène codant se trouve sur le chromosome 22.

La première source décrite pour le PDGF est les granules alpha des plaquettes mais il a aussi été isolé à partir d'une variété de cellules et de tissus comprenant : les monocytes et les macrophages, les fibroblastes, les cellules endothéliales et la matrice osseuse.

Il existe sous la forme d'un hétéro-dimère (PDGF-AB), ou de deux homodimères (PDGF-AA et PDGF-BB). L'homodimère PDGF-AA semble avoir une activité moins importante que les deux autres formes.

2.1.1.2 Effets du PDGF

Les fonctions principales de PDGF sont la stimulation de la réplication cellulaire des pré-ostéoblastes situés à l'intérieur du tissu osseux cicatriciel, des cellules endothéliales (néoangiogénèse) et la migration des cellules périvasculaires (macrophages).

Selon Matsuda *et al.* (1992), le PDGF est connu pour avoir un effet chimiotactique sur des cellules du ligament parodontal et pour promouvoir la synthèse collagénique.

Il a été démontré que le PDGF stimule aussi la cicatrisation des tissus mous (Heldin et Westmark, 1996 ; Lynch *et al.*, 1989).

Il a par ailleurs un rôle important dans la cicatrisation en potentialisant d'autres facteurs de croissance comme IGF-1.

2.1.2 TGF (Transforming Growth Factor) (11, 20, 50, 59, 60, 63)

Les TGF (Transforming Growth Factor) constituent une super famille de plus de 30 facteurs de croissance et de différenciation. Les facteurs les mieux caractérisés sont : TGF- α , TGF- β et les Bone Morphogenetic Protein (BMP).

Ces protéines ont été isolées dans des tissus normaux et néoplasiques.

Plusieurs études semblent montrer que cette famille de facteurs a le plus de pouvoir ostéo inducteur.

2.1.2.1 TGF- α

TGF- α est une protéine constituée d'une chaîne unique de 50 acides aminés. Son poids moléculaire est de 5600 Da. Sa structure est proche de celle d'EGF (Epidermal Growth Factor) puisque elle présente 42 % d'homologie. ; TGF- α rentre donc en compétition avec EGF au niveau des récepteurs de EGF.

Il stimule les cellules épithéliales et endothéliales (Derynck, 1986).

2.1.2.2 TGF- β

TGF- β est un polypeptide dimérique d'un poids moléculaire de 25 000 Da, constitué de deux chaînes d'acides aminés liées entre elles par des ponts dissulfures (Assoian *et al.*, 1983). Plusieurs isoformes de TGF- β ont été identifiées : TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3 (Derynck *et al.*, 1988) et TGF- β 4 (Rosier *et al.*, 1998).

TGF- β 1 et TGF- β 2 existent aussi bien sous la forme d'homodimères que d'hétérodimères (TGF- β 1.2) (Massague *et al.*, 1987).

Un gène localisé sur la branche longue du chromosome 19 est responsable de sa synthèse.

TGF- β est synthétisé par de multiples types cellulaires mais l'os et les plaquettes sont les principaux.

TGF- β apparaît comme étant un régulateur majeur de la réplication et de la différenciation cellulaire, intervenant dans la cicatrisation tissulaire et la régénération osseuse (Roberts et Spron, 1993). Si TGF- β est exprimé lors de la cicatrisation osseuse cela ne signifie pas pour autant qu'il est capable de l'accélérer. TGF- β montre des effets variables sur les cellules osseuses, en

fonction de leur état de différenciation, des conditions de culture et de la concentration de TGF- β (Cochran *et al.*, 1999).

TGF- β exerce des effets cellulaires multiples et variés :

- inhibe la prolifération des cellules épithéliales
- stimule les cellules conjonctives
- stimule le chimiotactisme des fibroblastes et leur prolifération
- induit une production de matrice extracellulaire (Centrella 1986)
- a une activité à la fois stimulante et inhibitrice sur la prolifération osseuse (Noda 1987 et Pfeilschifter 1987).

In vivo, Lynch a montré que les TGF- β induisaient :

- la synthèse de collagène
- l'angiogénèse
- la formation de tissu conjonctif
- une inhibition de la ré-épithélialisation.

De plus, TGF- β peut moduler d'autres facteurs de croissance comme PDGF, EGF, FGF et TGF- α en induisant leur expression ou en modulant leur réponse cellulaire.

2.1.2.3 Les BMP (Bone Morphogenetic Proteins) (20, 59, 60, 63)

2.1.2.3.1 Origine des BMP

D'un point de vue structurel, les BMP appartiennent à la superfamille des TGF, et aussi à la famille des protéines non collagéniques de la matrice osseuse, qui représentent 10 % des protéines totales de l'os.

Les BMP sont abondantes dans la matrice osseuse et sont produites par plusieurs cellules dont les ostéoblastes.

Elles sont aussi trouvées dans des matériaux d'allogreffes osseuses utilisées en odontologie ; toutefois, leurs taux varient considérablement selon les procédés de stérilisation et/ou de sécurisation des banques.

2.1.2.3.2 Effets des BMP

Les BMP sont les seuls facteurs de croissance connus pour avoir des propriétés ostéoinductrices.

Ce sont des facteurs de différenciation intervenant dans l'embryogenèse et dans la cicatrisation osseuse: ils sont capables de stimuler la différenciation et la prolifération de cellules mésenchymateuses en cellules chondro et ostéoprogénitrices (Reddi et Cunningham, 1993).

Diverses études *in vivo* chez l'animal ont montré que les BMP induisent significativement plus de ciment, de ligament parodontal, et de régénération osseuse dans des lésions créées chirurgicalement que dans des lésions contrôles non traitées (Giannobile *et al.*, 1998 ; Ripamonti *et al.*, 1994 ; Ripamonti et Reddi, 1997 ; Sigurdsson *et al.*, 1995).

Les études *in vitro* sur l'efficacité des BMP à promouvoir la régénération osseuse confirment les résultats *in vivo* (Ripamonti *et al.*, 1994).

L'utilisation de BMP-2 humaine recombinante (rhBMP-2), d'ostéogénine (BMP-3) et de protéine ostéogénique-1 (BMP-7), trois BMP différentes, s'est aussi montrée prometteuse dans des études avec implants.

Hanish *et al.* ont trouvé que rhBMP-2 augmentait significativement la formation osseuse par rapport aux contrôles (2,6 mm contre 0,8 mm) et la ré-ostéointégration (29% contre 3,5%) dans des lésions avancées de péri-implantite chez le primate non humain à quatre mois postopératoires (Hanish *et al.*, 1997) (35). Dans une autre étude sur le même modèle animal, Hanisch *et al.* concluent que l'implantation de rhBMP-2 permet un gain osseux vertical conséquent et pourrait représenter une alternative clinique aux greffes d'os autogène dans les chirurgies d'augmentation sinusienne (36).

Cochran *et al.* (1997) ont aussi rapporté un comblement osseux significativement plus important et une plus grande densité autour d'implants endo-osseux traités avec rhBMP-2 par rapport aux sites contrôles dans une étude chez le chien (17).

In vivo et *in vitro*, les études sont nombreuses et concernent surtout la BMP-2 et la BMP-7.

Deux approches de l'utilisation des BMP pour la régénération osseuse semblent prometteuses :

- Les techniques d'ingénierie tissulaire qui cherchent à mettre au point la préfabrication de greffons osseux vascularisés, ensuite implantés.

Terheyden *et al.* (2001) ont eux aussi implanté une matrice chargée en BMP-7 dans le muscle de mini-porcs. Cette première étape repose sur le fait que les facteurs de différenciation ont la faculté d'induire la formation de tissu osseux à partir d'un tissu mésenchymateux non minéralisé, par stimulation des cellules souches. Puis le tissu osseux ainsi obtenu est greffé au niveau de défauts mandibulaires. Les résultats sont meilleurs que la mise en place directe, au niveau des mêmes défauts, d'une matrice chargée en BMP-7 (69).

- Par thérapie génique, un adénovirus porteur du gène d'une BMP vient modifier le capital génétique des cellules de l'hôte (dont les ostéoblastes) et peut ainsi promouvoir la synthèse de cette BMP par les cellules transfectées (Franceschi *et al.*, 2000).

2.1.3 Les IGF (Insulin-like Growth Factors) (11, 60, 63, 50, 59)

C'est une famille de protéines sériques à chaîne unique ayant une homologie de séquences de 49 % avec la pro-insuline. On décrit IGF-1 et IGF-2 qui ont 62 % d'homologie entre elles. IGF-1 est une chaîne de 70 acides aminés, d'un poids moléculaire de 7649 Da et IGF-2 possède 67 acides aminés pour un poids moléculaire de 7471 Da. Ces facteurs sont synthétisés par le foie, les muscles lisses, le placenta et sont transportés dans le sang par une protéine spécifique.

Les IGF ont un rôle dans la formation osseuse ; ils induisent une synthèse d'ostéoblastes et stimulent la formation d'une matrice osseuse (Canalis *et al.*, 1988)

Lynch (1989 et 1991) suggère que les IGF pourraient agir en synergie avec d'autres facteurs de prolifération comme les PDGF. Cette association entraîne une régénération parodontale et une formation osseuse autour d'implants.

2.1.4 EGF (Epidermal Growth Factor) (11, 20, 63)

EGF est une protéine d'un poids moléculaire de 5400 Da, constituée d'une chaîne unique de 53 acides aminés. EGF et TGF- α sont structurellement très proches et possèdent des caractéristiques semblables (Derynck, 1986).

In vitro , EGF stimule la synthèse d'ADN et la croissance des cellules épithéliales, endothéliales et mésenchymateuses (Gill *et al.*, 1987); d'autre part, EGF stimule aussi la production de prostaglandines et induit une résorption osseuse sur des modèles de culture de calvaria de souris (Tashjian et Levine, 1978).

2.1.5 FGF (Fibroblast Growth Factors) (60, 11, 63, 20, 44, 59)

Les FGF tiennent leur nom de par leur faculté à promouvoir la croissance des fibroblastes. Ils représentent une famille de protéines d'au moins 9 gènes proches (Cochran et Wozney, 1999), dont le site actif est situé au niveau de l'extrémité carboxy-terminale (Kuroda *et al.*, 1999). Les deux facteurs de cette famille les plus étudiés sont :

FGF-1 ou aFGF (acidic Fibroblast Growth Factor) d'un poids moléculaire de 15KDa,

FGF-2 ou bFGF (basic Fibroblast Growth Factor) d'un poids moléculaire compris entre 16 et 18 KDa.

Ces deux formes montrent près de 55 % d'homologie dans leur séquence d'acides aminés (Esch *et al.*, 1985).

La forme basique présente, *in vitro*, une activité 30 à 100 fois plus importante que la forme acide.

Le FGF est un facteur de compétence (Caffesse et Quinones, 1993), c'est-à-dire qu'il stimule les cellules quiescentes (phase G0) pour qu'elles entrent dans le cycle cellulaire (phase G1). Il faut alors le concours de facteurs de progression pour stimuler leur passage en face de synthèse (phase S) et, ainsi, optimiser la synthèse d'ADN et la croissance cellulaire.

Les FGF sont mitogènes et chimiotactiques pour les fibroblastes, les chondrocytes, les ostéoblastes, les cellules du ligament parodontal et les cellules endothéliales *in vitro* (Lynch, 1994 ; Takayama *et al.*, 1995).

Les FGFs sont de puissants facteurs angiogéniques, stimulant la formation de vaisseaux sanguins, essentiels dans la cicatrisation de la plaie et la formation du tissu de granulation (Denisson *et al.*, 1994).

2.1.6 Autres facteurs (39, 72)

- L'HGF (Hepatocyte Growth Factor) accélère la croissance d'ostéoblastes humains *in vitro* (Zambonin *et al.*, 2000). *In vivo*, des études ont montré que plusieurs facteurs stimulent la régénération osseuse ; il s'agit de la prostaglandine E1 (Marks et Miller, 1998 ; Miller et Marks, 1993), de l'interleukine 4 (Kabashima et Nagata, 2001) et de l'HGF (Raschke *et al.*, 2000 ; Stenport *et al.*, 2001).
- L'Endothelial Cell Growth Factor (ECGF) intervient dans la réparation osseuse.

- Cementum-derived Growth Factor (CGF) semble être uniquement présent dans le ciment (Narayanan et Yonemura, 1993). Il exerce un effet mitogène sur les cellules du ligament parodontal et serait impliqué dans la différenciation des cémentoblastes (Yonemura *et al.*, 1992, 1993).

		PDGF	TGF-b	BMP	IGF	FGF	EGF
In vitro							
CS	Mitose	+	+		0		
	Différenciation		+	+			
Ob	Mitose	+	+	+	+	+	+
	Sécrétion de MEC	-	+		+	+/-	
	Minéralisation de la matrice	+					
	Chimiotactisme	+				+	
Oc	Mitose	+					
	Résorption						+
In vivo							
Ostéo-inducteur		-	+/0	+		+/0	
Ostéotransducteur de la matrice			+				
Formation osseuse		+	+	+		+	
Angiogenèse		+		+		+	
Localisation							
Plaquettes sanguines		X	X				X
Matrice osseuse		X	X	X	X	X	
Ostéoblastes			X		X	X	
Fibroblastes		X	X		X	X	
Cellules endothéliales		X			X	X	
Macrophages			X			X	X
Monocytes		X					
Autres			X		X	X	

Figure 7 : La régénération osseuse: effets *in vitro* et *in vivo* des facteurs de croissance et leur localisation.

(+: rôle favorable; -: rôle défavorable; 0 : absence de rôle démontré ; CS : cellules souches ; Oc : ostéoclastes)

D'après Diss et col. (2003) (20).

2.1.7 Association de facteurs (20, 31)

Différentes observations permettent d'envisager l'utilisation simultanée de plusieurs facteurs de croissance pour en potentialiser les effets : plusieurs

facteurs de croissance sont présents dans la matrice osseuse à des niveaux de concentration élevés; les cellules osseuses libèrent différents facteurs de croissance ; enfin durant la réparation osseuse, il existe une expression temporaire de multiple gènes codant pour des facteurs de croissance ainsi que l'expression de la synthèse protéique associée.

2.1.7.1 Résultats des études *in vitro*

Les résultats des études *in vitro* (Figure 8) portant sur l'association de plusieurs facteurs de croissance sont hétérogènes et difficiles d'interprétation.

Etude	Association	Types de cellules	Résultats
Strayhorn <i>et al.</i> (1999)	BMP-2, 3, 4, 6, 7, 12, et 13 avec PDGF et/ou IGF	Cellules ostéoprogénitrices de souris	<p>Sur le nombre de cellules :</p> <ul style="list-style-type: none"> - le PDGF l'augmente - l'IGF n'a aucun effet - les BMP le diminue <p>Le PDGF bloque l'expression génétique de l'ostéopontine et de l'ostéocalcine</p> <p>Les BMP et l'IGF favorisent l'expression de la BSP (bone sialoprotein) et de l'ostéopontine</p> <p>L'association des BMP et de l'IGF augmente l'expression de l'ostéopontine de manière plus importante</p> <p>Le PDGF semble capable de bloquer les effets de l'IGF mais pas ceux des BMP</p>
Giannobile <i>et al.</i> (1997)	IGF, TGF- β 1, PDGF-BB et FGF-2	Ostéoblastes de bovins	Leur association accroît la synthèse de protéines collagéniques

Figure 8 : Effets de l'association de différents facteurs de croissance sur la régénération osseuse *in vitro*. D'après Diss et col. (2003). (20)

Résultats des études *in vivo* (39)

Les résultats des études *in vivo* sur l'association de différents facteurs dans la régénération osseuse (Figure 9) semblent montrer une potentialisation des effets obtenus.

L'étude de Lynch *et al.* portant sur l'application de l'association PDGF/IGF-1 sur la surface d'implants mis en place dans des sites d'extraction cicatrisés chez huit chiens, met en évidence une augmentation de la régénération osseuse péri-implantaire (47). Cette étude présente un intérêt particulier en ce sens que les deux facteurs de croissance utilisés sont abondamment présents dans les concentrés plaquettaires.

Etude	Modèle	Association	Matrice	Temps	Conclusion
Vonau <i>et al.</i> (2001)	Chambre osseuse de croissance Métaphyse de tibia de lapin	BMP-2 + FGF-2	Eponge de collagène	2 semaines	L'association entre BMP-2 et FGF-2 entraîne une inhibition de la croissance osseuse
Nociti <i>et al.</i> (2000)	Défauts péri-implantaires chez le chien	PDGF + IGF	Gel de méthylcellulose	8 semaines	La combinaison entre PDGF et IGF augmente le contact entre les implants et l'os
Meraw <i>et al.</i> (2000)	Défauts péri-implantaires chez le chien	BMP-2 + TGF- β + PDGF + FGF-2	Ciment résorbable de phosphate de calcium	3 mois	L'association des facteurs de croissance augmente la surface de contact entre les implants et l'os
Heckman <i>et al.</i> (1999)	Défaut segmentaire de la diaphyse du radius chez le chien	BMP + rhTGF- β 1	Copolymère d'acide polylactique et d'acide polyglycolique	12 semaines	La BMP seule permet une formation osseuse mais pas une régénération complète du défaut Le TGF- β 1 seul ne permet pas d'obtenir des degrés similaires de formation osseuse TGF- β 1 potentialise l'action de la BMP
Si <i>et al.</i> (1998)	Implantation dans le muscle chez la souris	rhBMP-2 + TGF- β	Matrice osseuse d'origine bovine	21 jours	La quantité d'os formée est nulle avec le TGF- β La quantité d'os formée est supérieure dans le cas de l'association TGF- β + rhBMP-2 que dans le cas BMP-2 seule Le TGF- β en combinaison avec BMP-2 peut augmenter la formation ectopique d'os
Takita <i>et al.</i> (1997)	Implantation sous-cutanée chez le rat	rhBMP-2 + FGF-2	FGM (fibrous glass membrane)	2 semaines	Le FGF-2 induit une invasion plus rapide et plus forte de FGM ce qui provoque une accélération du processus d'ossification
Marden <i>et al.</i> (1993)	Défaut de taille critique Craniotomie de 8 mm de diamètre chez le rat	PDGF + OG (bovine oestrogenin)	Matrice de collagène osseux	11 et 28 jours	Le PDGF-BB inhibe la régénération osseuse induite par l'OG Il stimule le comblement des défauts osseux par des tissus mous.
Becker <i>et al.</i> (1992)	Défauts péri-implantaires chez le chien	PDGF-BB + IGF-1	DFB (demineralised freeze-dried bone) + ePTFE	18 semaines	Les sites traités avec le mélange PDGF/IGF-1 montrent la plus grande densité osseuse
Lynch <i>et al.</i> (1991)	Implants chargés en facteurs de croissance chez le chien	PDGF-BB + IGF-1	Gel de méthylcellulose	7 et 21 jours	Pas de différence au niveau du contact os/implant Augmentation de la quantité d'os régénéré autour des implants

Figure 9 : Effets de l'association de facteurs de croissance sur la régénération osseuse : études *in vivo*. D'après Diss et col. (2003). (20)

2.2 Eléments modulant l'action des facteurs de croissance (20)

2.2.1 Mode de synthèse (Reddi, 1992)

Toutes les molécules de la famille des TGF- β sont synthétisées sous forme de précurseurs qui comprennent trois domaines : la région amino-terminale permettant leur sécrétion, une longue chaîne polypeptidique centrale et un domaine mature C-terminal, responsable de leur activité.

Cette extrémité carboxy-terminale subit, dans le cas des BMP, un clivage, une déminéralisation par des ponts cystéine-disulfure et une glycosylation. Cette déminéralisation peut produire des homodimères ou des hétérodimères. De plus, la glycosylation est très variable. Tout cela constitue des facteurs influençant les propriétés et les effets des BMP. Il n'est donc pas étonnant que ces molécules paraissent avoir de multiples effets.

2.2.2 Pléiotropisme du TGF- β 1 (Roberts *et al.*, 1985)

Le TGF- β est pléiotropique c'est-à-dire qu'il peut stimuler ou inhiber la croissance cellulaire, suivant sa concentration et son temps d'application.

2.2.3 Modulation interfactorielle (Takehara *et al.*, 1987)

Le TGF- β peut moduler d'autres facteurs de croissance comme le PDGF, le TGF- β , l'EGF et le FGF, vraisemblablement en altérant leur réponse cellulaire ou en induisant l'expression de leurs gènes.

2.2.4 Vascularisation (Yoshida *et al.*, 1998)

L'apport de cellules de la moelle osseuse augmente les performances des BMP (Lane *et al.*, 1999 ; Seto *et al.*, 2001).

2.2.5 Age du sujet

Le vieillissement physiologique entraîne des troubles de la vascularisation et une diminution du pool cellulaire. La stimulation sur la prolifération des cellules osseuses de PDGF semble être dépendante de l'âge des animaux dont sont issues les cellules (Tanaka et Liang, 1995). Mais, deux études (Matsumoto *et al.*, 2001 et Boyne, 2001) montrent que l'effet ostéoinducteur est identique pour des animaux jeunes ou âgés.

2.2.6 Type d'os à régénérer

TGF- β semble plus efficace sur les os du crâne que sur les os longs.

2.2.7 Facteurs intervenant à des moments différents

Goodman *et al.* (1999) se sont intéressés aux effets du TGF- β sur la croissance osseuse chez des lapins adultes. Pour eux, les résultats suggèrent qu'il existe une « fenêtre » (entre deux et six semaines), pendant laquelle le TGF- β 1 favorise la croissance osseuse. Une autre étude (Rosier *et al.*, 1998), utilisant comme modèle le poulet montre que les isoformes TGF- β 2 et TGF- β 3 sont retrouvées au niveau du cal cicatriciel de manière précoce, alors que le TGF- β 1 est exprimé de manière plus tardive. Mais le TGF- β 4 n'est pas exprimé de manière significative. Pour Gosain *et al.* (2001), l'expression du TGF- β par les ostéoblastes est localisée au niveau du front d'ossification des défauts et elle diminue avec le temps pour disparaître lorsque les défauts sont totalement cicatrisés. Cette expression temporelle des facteurs peut s'expliquer :

- par le rôle de réservoir de la matrice (Hauschka *et al.*, 1986 ; Marx, 1994). Les facteurs de croissance (par exemple l'IGF) seraient déposés dans la matrice osseuse lors de sa synthèse. Lorsque cette matrice est résorbée, ces facteurs de croissance semblent libérés pour associer une néoformation osseuse à cette résorption osseuse.
- par la diversité des cellules capables d'exprimer ces facteurs qui arrivent sur le lieu de régénération à des moments différents. Zhang *et al.* (1999) se sont intéressés à l'expression de la BMP-2, du TGF- β et du FGF-2 au cours de la réparation de défauts osseux chez le lapin en fonction du temps. Ils ont montré qu'au bout de trois jours, le FGF-2 est exprimé dans l'hématome par les cellules inflammatoires, et le TGF- β par les cellules du périoste et les cellules médullaires. Les ostéocytes et les ostéoblastes expriment le BMP-2 et le TGF- β à partir de 1 semaine de cicatrisation.

2.2.8 Dose délivrée

Summer *et al.* (2001) montrent que le TGF- β 2 délivré par des implants poreux de phosphate de calcium chez le chien mâle adulte accélère la cicatrisation osseuse au bout de 4 semaines proportionnellement à la dose délivrée.

Dans une étude de Goodman *et al.* (2000), le TGF- β est cette fois injecté seul, sans support, en utilisant le modèle DTC (drug test chamber) sur le lapin. Cela n'améliore pas la croissance osseuse de manière significative, mais il semble qu'une application unique de TGF- β 1 (3,5 μ g) soit plus favorable à la régénération osseuse que des apports répétés dans la chambre durant une semaine. Une étude de Hsieh et Graves (1998) semble montrer que des applications répétées de faibles doses de PDGF dans une culture d'ostéoblastes favorisent la formation osseuse, alors qu'une application prolongée et continue l'inhibe. La régénération des fractures intéressant la calvaria des rats adultes est accélérée pour une dose de 1 ng de FGF-2 mais supprimée pour une dose de 100 ng (Kimoto *et al.*, 1998).

2.2.9 Type de matrice

La matrice doit, en plus de son rôle ostéoconducteur, distribuer la juste quantité de facteurs au bon moment. Elle ne doit pas non plus interférer avec le ou les facteurs délivrés. Ainsi, une étude *in vivo* (Mackenzie *et al.*, 2001) suggère, par la comparaison des résultats obtenus en fonction du type de support de diffusion, que la fibrine inhibe l'action d'une matrice osseuse déminéralisée de lapin (qui relarguerait des BMP) mais potentialise l'action du FGF-1 sur la régénération osseuse.

3. Troisième partie : les culots plaquettaires

3.1 définitions : (50)

3.1.1 Concentré plaquettaire, gel plaquettaire, Plasma Rich Growth Factors (PRGF) et Platelet-Rich Plasma (PRP)

Historique

A l'origine, les concentrés plaquettaires pouvaient être définis comme des produits sanguins faisant fonction de médicaments dans certaines pathologies graves (thrombopénies inférieures à 20×10^9 plaquettes/L, d'origine centrale: aplasie médullaire, leucémie aiguë). Leur usage était donc très limité.

D'un point de vue strictement hématologique, le concentré plaquettaire standard est défini comme le surnageant enrichi en plaquettes, obtenu après centrifugation de sang total prélevé sous anticoagulant.

On parle de plasma riche en plaquettes ou platelet-rich plasma (PRP).

Il faut alors six à huit unités en moyenne pour traiter un patient, ce qui signifie que ce dernier reçoit un mélange d'unités provenant de six à huit donneurs. Dans de telles circonstances, le risque de transmission de pathologies infectieuses est donc sérieusement accru.

Il existe deux autres protocoles pour améliorer les concentrations de plaquettes à visée transfusionnelle. Ces deux protocoles ont fait l'objet de toutes les attentions lorsque ces technologies ont trouvé des applications hors transfusion :

Le concentré unitaire de plaquettes est obtenu à partir d'un seul donneur dont les plaquettes sont concentrées à l'aide d'appareils « séparateurs de cellules », opérant par soustraction des plaquettes par centrifugation différentielle et réinjection continue des hématies et du plasma durant 1 heure 30 à 3 heures. Le concentré unitaire contient entre 2 et 6×10^{11} plaquettes viables, soit 4 à 12 unités standard. Il permet ainsi de limiter le risque infectieux d'une transfusion plaquettaire.

Le concentré plaquettaire par plasmaphérèse est également obtenu à partir d'un seul donneur à l'aide d'un séparateur de cellules. La grande différence réside dans le fait que le patient n'est pas branché sur la machine : on lui prélève du sang sous anticoagulant, puis ce sang est traité de telle sorte que l'on récupère du plasma acellulaire d'une part, un concentré plaquettaire et un culot d'hématies

d'autre part. Les hématies et le plasma peuvent être réinjectés. L'inconvénient de cette méthode, c'est qu'elle ne permet pas d'extraire autant de plaquettes que la précédente, puisque le patient ne reste pas branché sur la machine. Le concentré obtenu ne contient que l'équivalent de quatre à six concentrés plaquettaires standard. Cependant, ce protocole a l'avantage d'être moins contraignant pour le donneur.

Naissance des concentrés plaquettaires autologues

Lorsque Tayapongsak décrit son « autologous fibrin adhesive » (AFA) en 1994, colle de fibrine autologue lui servant à maintenir les fragments des greffes osseuses dans une masse cohérente (afin d'éviter les séquestres osseux postopératoires), il utilise un sang prélevé 1 à 3 semaines avant l'intervention et nécessitant 2 jours de manipulation avant d'être prêt à l'emploi. Il obtenait alors un plasma que l'on décrira plus tard comme riche en plaquettes.

Le développement des protocoles simplifiés a rapidement fait évoluer la situation. C'est l'avènement des PRP, les mal nommés. En effet, ce qu'on désigne sous le nom de PRP, ce sont des concentrés plaquettaires standard de l'hématologie transfusionnelle. Or, les protocoles décrits utilisent en général une double centrifugation, afin de concentrer davantage les plaquettes. Si bien des noms ont été proposés : concentrated PRP (cPRP), plasma rich growth factors (PRGF), il semble cependant que le terme de cPRP soit le plus simple et le plus adéquat.

3.1.2 Le PRP ou Platelet Rich Plasma défini par Robert E Marx (51)

Le PRP est un petit volume de plasma autologue contenant une concentration de plaquettes humaines plus élevée que la normale. En effet, la concentration habituelle va de 150000 plaquettes / μ L à 350000 plaquettes / μ L de sang (moyenne : 200000 / μ L).

Or, la définition actuelle (2004) du PRP impose une concentration plaquettaire de 1 000 000 / μ l dans un volume utile de 6 ml de plasma ; il contient 7 facteurs de croissance fondamentaux dans l'initiation des processus de cicatrisation :

- les trois isomères de PDGF : PDGF $\alpha\alpha$, PDGF $\alpha\beta$ et PDGF $\beta\beta$
- TGF β 1 et TGF β 2
- VEGF
- EGF

Le PRP a pour cibles les cellules osteoprogénitrices et les cellules souches contenues dans l'os autogène greffé et dans le site receveur.

Le PRP contient aussi de la fibrine, de la fibronectine et de la vitronectine.

Sur le plan terminologique strict, le PRP n'est pas seulement un concentré plaquettaire car il contient du plasma qui permet sa coagulation ; il ne s'agit pas non plus d'un « gel plaquettaire » mais d'un caillot de sang humain autologue à forte concentration de plaquettes.

3.1.3 Le PRF : Platelet Rich Fibrin (Choukroun *et al.*, 2001) (14, 16, 25)

Le concept du PRF appartient à une nouvelle génération de concentrés plaquettaires recherchant des modes de production simplifiés et sans manipulation biochimique du sang (héparine, thrombine bovine, chlorure de calcium...).

Le PRF se définit comme un concentré plaquettaire et immunitaire permettant de rassembler en une seule membrane l'ensemble des constituants favorables à la cicatrisation et à l'immunité présents dans un prélèvement sanguin (Choukroun *J et al.*, 2004): une matrice de fibrine polymérisée en une architecture trimoléculaire ou équilatérale (élément clef du PRF), l'incorporation intrinsèque des cytokines plaquettaires et leucocytaires dans les mailles de fibrine, des plaquettes, des leucocytes et également quelques cellules souches circulantes.

Les principales caractéristiques du PRF sont les suivantes :

- réseau de fibrine : (22)

La polymérisation « physiologique » de la fibrine confère à la membrane une souplesse et une solidité caractéristiques du PRF ; par ailleurs, elle réalise, de par son architecture, l'échafaudage nécessaire à la colonisation cellulaire pour la cicatrisation.

- aspect immunitaire : (21)

Au cours de la production du PRF par centrifugation, les leucocytes vont également sécréter des cytokines en réaction aux phénomènes hémostatiques et inflammatoires provoqués artificiellement dans le tube.

Dohan *et al.*(2004) qualifie le PRF de « concentré immunitaire » capable de stimuler les mécanismes de défense de l'hôte au niveau d'un site lésé, tant par le pouvoir chimiotactique des cytokines que par leur capacité à promouvoir la néovascularisation.

Dohan *et al.*(23) étudient, par dosage Elisa, le profil de sécrétion de trois isoformes de ces cytokines : PDGF-BB, TGF β -1 et IGF-1 au sein des différentes strates du PRF, et comparent les valeurs obtenues à des valeurs empruntées à la

littérature pour différents protocoles de cPRP (voir paragraphe 3.2.3). Selon eux, le mode de polymérisation brutal des cPRP nuit à l'incorporation intime des cytokines ; au contraire, la polymérisation lente du PRF implique une incorporation accrue des cytokines qui ne seront libérées qu'au moment du remodelage de la matrice cicatricielle initiale (effets à plus long terme).

3.2 Production des concentrés plaquettaires

3.2.1 Technique en laboratoire ou plasmaphérèse continue (24)

Le but de cette technique est de filtrer le sang du patient pour en extraire les plaquettes et ainsi les concentrer, comme lors d'un don de plaquettes dans les centres de transfusion sanguine.

C'est une technique de séparation discontinue, caractérisée par un flux intermittent de sang du patient, auquel est ajouté un anticoagulant pour permettre sa circulation à l'intérieur d'une centrifugeuse. Les composants cellulaires sont séparés par une procédure de sédimentation à deux niveaux.

On obtient trois sortes de produits :

- les composés rouges (contenant les érythrocytes),
- le manteau jaune ou « buffy coat » (contenant les plaquettes et quelques leucocytes)
- et le plasma (qui ne contient que quelques cellules).

Lorsque la centrifugeuse est remplie, ces trois fractions sont stockées dans trois sacs distincts. Le sang peut circuler dans la centrifugeuse plus longtemps pour augmenter la séparation plaquettaire. Après la retransfusion des érythrocytes et du plasma au patient, la procédure peut être répétée cinq à six fois jusqu'à l'obtention du volume de PRP désiré.

Cette technique nécessite un prélèvement de 400 ml de sang pour produire 40 ml de PRP (10 % du volume sanguin prélevé), 160 ml de cellules rouges (40 %) et 200 ml de PPP (50 %) qui sont réinjectés au patient.

Pour obtenir le gel plaquettaire, on charge dans une seringue de 10 ml, 7 ml de PRP activés par 0,25 ml d'activateur (mélange de 5 ml d'une solution de 10 % de chlorure de calcium et 5000 unités de thrombine d'origine bovine).

En six secondes le gel est formé et doit être utilisé immédiatement.

3.2.2 Techniques de production au bloc opératoire (24)

Concept général :

1. Le sang veineux est prélevé sous anticoagulant (de 45 à 110 ml de sang autologue dans un système clos stérile): CPDA (citrate phosphate dextrose adénosine) ou ACD-A (citrate-dextrose-adénosine acide). L'utilisation d' EDTA (ethylen diamine tetra acetic acid) est à éviter car cet anticoagulant fragmente les plaquettes. Le prélèvement sous anticoagulant permet d'éviter l'activation et la dégranulation plaquettaires.

2. Une première centrifugation (« soft spin ») permet la séparation du sang en trois strates distinctes : (Figure 10)

- au fond du tube, un culot d'hématies et de leucocytes, qui occupe 55 % du volume total

- en surface, un plasma acellulaire, principalement constitué de molécules plasmatiques circulantes (en particulier le fibrinogène) et pauvre en plaquettes, dénommé PPP (platelet-poor plasma ou plasma pauvre en plaquettes). Il occupe 40 % du volume total ;

- entre les deux, une strate où les concentrations en plaquettes (et en fibrinogène) sont largement accrues. Elle ne fait que 5% du volume total et son aspect blanchâtre caractéristique lui vaut le nom de « buffy coat » (manteau blanchâtre). C'est elle qui compose la majeure partie du futur cPRP, mais à ce stade, elle est encore difficilement séparable de façon scientifique des autres strates.

3. Cette étape intermédiaire a pour but la séparation du PRP et du PPP d' un côté, et des hématies de l'autre. Il existe deux catégories de technique :

- un prélèvement de sang dans plusieurs monovettes qui subissent différentes centrifugations puis des aspirations dans d'autres monovettes, d'où l'augmentation du temps de la procédure et du risque de contamination à la fois du prélèvement et du manipulateur.

- utilisation de deux réservoirs : l'un pour le prélèvement sanguin et le deuxième pour recevoir le PRP, ces deux réservoirs communiquant dans un système clos. On peut noter que la séparation d'avec les hématies ne peut être totale.

4. Ce second tube (ou second réservoir) subit à son tour une centrifugation, plus longue et plus rapide que la précédente (« hard spin »). On obtient (Figure 11) :

- quelques hématies résiduelles piégées au fond du tube ;

- une masse de plasma acellulaire (PPP) occupant 80 % du volume total ;

- entre les deux, une couche blanchâtre : le cPRP

A ce stade, on recueille le cPRP : avec une seringue, on aspire la majeure partie du PPP, de manière à n'en laisser que le strict nécessaire à la remise en suspension des plaquettes concentrées. Puis on agite l'ensemble et l'on obtient un cPRP en suspension prêt à l'emploi. À noter que les hématies piégées au fond du tube sont, elles aussi, remises en suspension par cette dernière manoeuvre, ce qui explique l'aspect rosé du cPRP final.

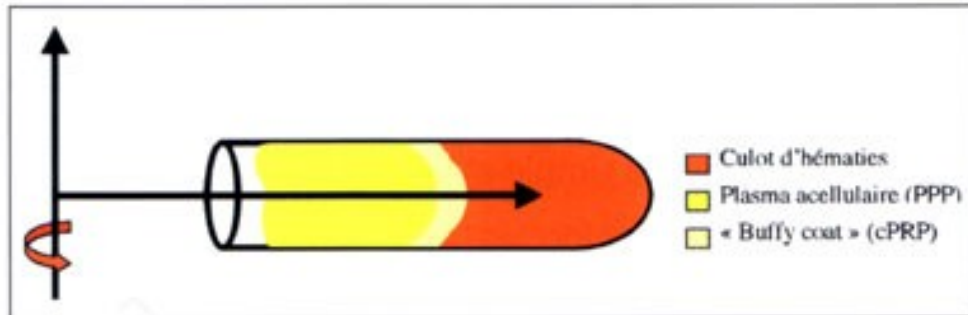


Figure 10 : Une première centrifugation permet la séparation du sang en 3 strates distinctes. D'après Dohan et col. (2003) (24).

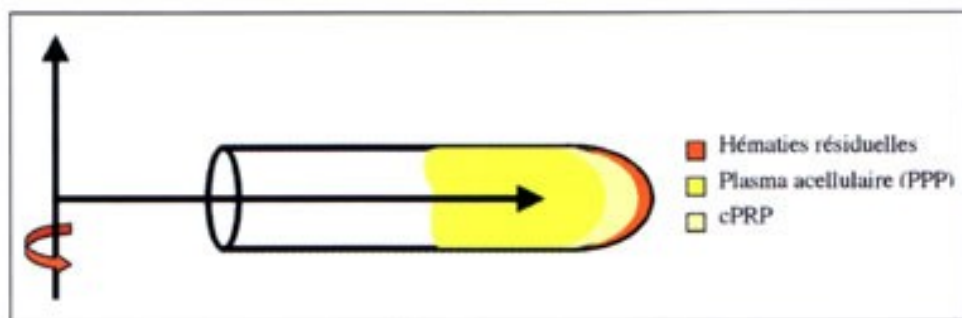


Figure 11 : Une deuxième centrifugation permet la formation du cPRP. D'après Dohan et col. (2003) (24).

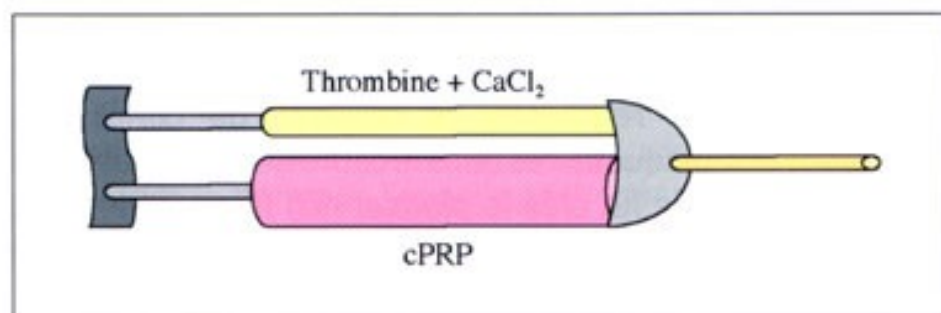


Figure 12 : Seringue d'automélange permettant l'activation du PRP. D'après Dohan et col. (2003) (24).

Il ne reste plus qu'à mélanger le cPRP avec de la thrombine bovine et du chlorure de calcium au moment de l'application grâce à une seringue

d'automélange. Cette dernière étape permet la gélification du concentré plaquettaire par la polymérisation du fibrinogène.

De plus, l'application du cPRP peut se faire en gel ou en spray (selon l'embout choisi pour la seringue).

Ces techniques permettent d'obtenir 6 à 12 ml de PRP et le reste du prélèvement est détruit et non réinjecté au patient.

Ces procédés sont simples et l'on obtient des concentrations variables et supérieures à celles du sang périphérique.

3.2.2.1 Technique Curasan® (18)

Le matériel :

- une centrifugeuse Labofuge 300 (Heraeus®)
- le matériel nécessaire à la réalisation du prélèvement sanguin
- un agitateur Vortex
- trois monovettes marquées d'une couleur (codant pour chaque étape) et une seringue permettant la récupération du PRP.

Première étape :

- prélèvement sanguin veineux (avec toutes les précautions et les règles usuelles) avec l'utilisation d'une canule « butterfly » qui permet de prélever du sang dans plusieurs monovettes.
- après la prise de sang, faire basculer (sans agiter) plusieurs fois la monovette contenant l'anticoagulant (1,5 ml de CPDA) et le sang.

Les monovettes sont placées en nombre pair et de façon strictement opposée dans la centrifugeuse.

Deuxième étape :

Première centrifugation pendant 10 minutes à une vitesse de 2400 tours/minute. On obtient la séparation des érythrocytes et des leucocytes du plasma contenant des plaquettes.

Troisième étape :

Récupération de la fraction du plasma contenant les thrombocytes par aspiration dans une monovette marquée en jaune

Quatrième étape :

Deuxième centrifugation pendant 15 minutes à une vitesse de 3600 tours/minute.

On obtient la formation d'un « globule de thrombocytes » et du Plasma Pauvre en Plaquettes (PPP).

Cinquième étape :

Élimination du PPP jusqu'à n'en laisser que 0,3 ml.

Sixième étape :

La monovette est secouée pendant environ 15 secondes à l'aide de l'agitateur Vortex. Le PRP ainsi obtenu est prélevé à l'aide de la seringue de prélèvement.

Septième étape :

Dans un récipient en verre stérile, le PRP est mélangé avec un matériau de comblement à base de phosphate tricalcique et à quelques gouttes de sang du patient provenant du défaut.

3.2.2.2 SmartPReP[®]2 APC⁺™ (37, 38)

Ce système utilise une centrifugeuse présentant deux conteneurs particuliers (Figure 14) : un réservoir de collection sanguine et un second réservoir appelé «chambre à plasma» qui ont la particularité de communiquer entre eux au niveau de leur partie haute (Figure 15). Une autre particularité réside dans le fait que le dispositif peut subir une rotation passant de la position verticale à la position horizontale.

Le prélèvement sanguin d'environ 50 ml est anticoagulé avec 2 ml d'acide citrate dextrose et placé dans le réservoir de collection sanguine. La centrifugation comprend trois phases successives à des vitesses différentes pour extraire le PRP à partir du premier réservoir dans le second. Tout le procédé est automatisé et dure environ 14 minutes.

Les différentes étapes de ce procédé sont décrites ci-dessous (figure 13). (37)

Première étape

Le dispositif avec le réservoir sanguin rempli est placé dans la centrifugeuse en position verticale. Un contre équilibre ajusté en fonction de la quantité du prélèvement est placé à l'autre extrémité.



Deuxième étape

Après la fermeture du couvercle et enclenchement du bouton, la centrifugeuse commence à accélérer permettant la rotation du dispositif jusqu'à la position horizontale. Cette étape aboutit à la séparation du sang en en deux fractions: une fraction érythrocytaire et une fraction plasmatique.



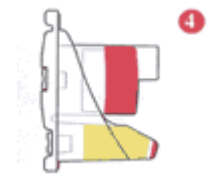
Troisième étape

La centrifugeuse ralentit, permettant une décantation automatique du plasma vers le second réservoir (la chambre à plasma).



Quatrième étape

Quand la décantation du plasma est complète, la centrifugeuse accélère à nouveau pour former un globule plaquettaire au fond de la chambre à plasma.



Cinquième étape

La centrifugeuse stoppe et le dispositif retourne dans une position verticale. Le réservoir de collection sanguine contient les érythrocytes. Le réservoir à plasma contient le concentré plaquettaire et le PPP. Les deux tiers du PPP sont retirés et peuvent alors servir pour une application hémostatique. Le concentré plaquettaire est remis en suspension dans le PPP restant, permettant la création du PRP définitif.



Figure 13 : Les cinq étapes du processus d'obtention du PRP par le procédé SmartPreP®2 APC⁺. D'après www.harvesttech.com (37)



Figure 14 : Centrifugeuse SmartPREP®2 APC⁺
D'après www.harvesttech.com (29)

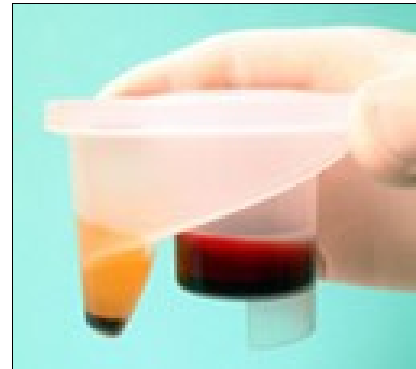


Figure 15 : Double réservoir communicant.
D'après www.harvesttech.com (38)

L'utilisation du PRP obtenu peut se faire sous forme de spray (Figure 16) ou de gel (Figure 17).

3.2.2.3

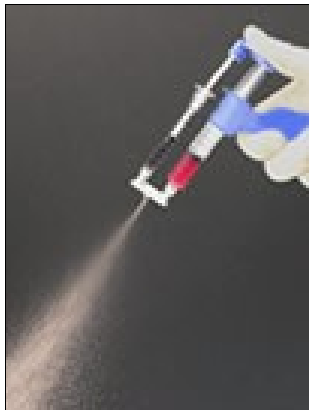


Figure 16 : Utilisation en spray.
D'après www.harvesttech.com (37)



Figure 17 : Utilisation en gel.
D'après www.harvesttech.com (37)

3.2.2.4

3.2.2.5 Technique 3I (71)

"Platelet Concentrate Collection System" de 3I représente la première génération de protocole pour l'obtention d'un concentré plaquettaire.

Le procédé actuel est le PCCS® II System (Figure 18).

Il se veut plus simple et innovateur par la présence d'une « bouée » à l'intérieur du tube ; il s'agit d'un mécanisme breveté, finement réglé qui à l'intérieur du tube va venir se placer le plus précisément possible à l'interface entre le « buffy coat » et les érythrocytes, permettant d'obtenir le taux de plaquettes le plus élevé, quelle que soit la valeur de l'hématocrite du patient.

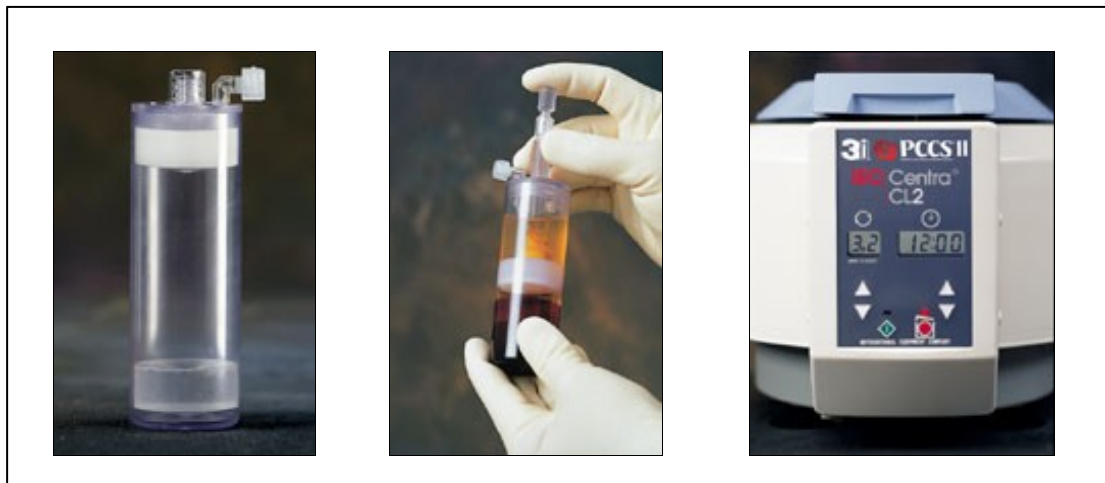


Figure 18 : Système innovateur avec une « bouée » et centrifugeuse PCCS® II System.
D'après www.3i-online.com. (71)

3.2.2.6 PRF (Choukroun *et al.*, 2001) (14)

Un prélèvement de sang total est réalisé par une infirmière dans des tubes stériles secs (en verre ou en plastique recouvert de silice) d'une contenance de 10 ml et en nombre pair, puis est mis en centrifugation à 3000 tours/minute(400 g) pendant 10 minutes une seule fois. Les tubes laissent alors apparaître trois fractions :

- dans la partie basse, se trouvent les globules rouges
- dans la partie haute, le PPP (plasma pauvre en plaquettes)
- entre ces deux fractions, se trouve le caillot riche en plaquettes (P.R.F.)

L'absence d'anticoagulant induit l'activation, en quelques minutes, d'une grande partie des plaquettes contenues dans le prélèvement au contact des parois du tube (tubes en verre ou en plastique recouvert de poudre de silice), et le déclenchement des cascades de réactions que constitue la coagulation. Le fibrinogène est dans un premier temps concentré dans la partie haute du tube, avant que la thrombine circulante ne fasse son effet et ne le transforme en fibrine. On obtient ainsi un caillot de fibrine en plein cœur de la masse de plasma acellulaire (Figure 20) et s'étendant jusque dans les premières strates du culot d'hématies qui sera prélevé à l'aide d'une pince droite et coupé à l'aide de ciseaux (Figure 21). Il sera déposé sur une compresse stérile (Figure 22).

Le protocole PRF permet donc de recueillir un caillot de fibrine chargé de sérum plasmatique et enrichi en plaquettes ; en chassant les fluides piégés dans cette trame, on obtient une membrane résistante et souple.

Cette technique ne nécessite ni anticoagulant, ni thrombine bovine (ou tout autre agent gélifiant). Il ne s'agit que de sang centrifugé, sans aucun ajout, ce qui lui permet d'esquiver toutes les restrictions des lois françaises liées à la réimplantation de ce qui pourrait être considéré comme un dérivé de produits sanguins.

La réussite de cette technique repose entièrement sur la rapidité du prélèvement et du transfert vers la centrifugeuse : en effet, sans anticoagulant, le sang prélevé commence à coaguler dès qu'il entre en contact avec le verre du tube. Or, il faut au moins quelques minutes de centrifugation pour concentrer le fibrinogène dans la zone médiane et supérieure du tube, seule solution pour obtenir un caillot de fibrine chargé de sérum et de plaquettes utilisable cliniquement. Si le temps mis pour prélever le sang et lancer la centrifugation est trop important, c'est l'échec, et la fibrine polymérise de façon diffuse dans le tube.

J. CHOUKROUN et P. SCHLEICHER recommandent l'utilisation de la centrifugeuse Process EBA 20 (Figure 19) car elle ne présente aucune vibration, critère indispensable pour l'obtention de PRF sous forme de membrane.

Le PRF peut être exprimé entre deux compresses et l'on obtient alors une membrane dense et solide (Figure 23).



Figure 19 : Centrifugeuse EBA 20.
D'après www.prf-process.com (14)

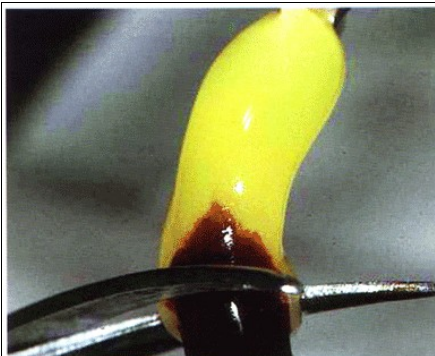


Figure 21 : Séparation au niveau de la partie basse du caillot.
D'après www.prf-process.com (14)



Figure 20 : Formation du PRF.
D'après www.prf-process.com (12)



Figure 22 : Les « boudins » de PRF.
D'après www.prf-process.com (79)



Figure 23 : Membrane de PRF.
D'après www.prf-process.com (14)

3.2.3

3.2.4 Comparatif des procédés

3.2.4.1 Comparatif des protocoles PRP et PRF

Plusieurs protocoles de préparation de concentré plaquettaire existent ; leurs caractéristiques diffèrent de façon importante : matériels différents (appareillage de plasmaphérèse, ou centrifugeuse), volume de sang prélevé, manipulation des produits sanguins (ajout d'anticoagulant, ajout de thrombine...), temps total de réalisation...

Le procédé PRF est par contre unique et défini par Choukroun et col.

Le tableau suivant (Figure 24) met en évidence l'inhomogénéité de ces protocoles en comparant quatre techniques différentes :

- le PRP défini par Marx en 1998 (50)
- le PRP selon la méthode Curasan® (18)
- le PRP selon la méthode SmartPREP®2 APC⁺™ (37)
- le PRF défini par Choukroun en 2001 (22).

	PRP (51) défini par Marx 1998	Protocole PRP Curasau 2002	PRF (21) défini par Choukroun 2001	PRP Smart PReP®
Matériel	Electromedics 500 Appareillage de plasmaphérèse	Labofuge 300 Centrifugeuse	(EBA 20) Centrifugeuse	Smart PReP® 2APC+ Harvest® Centrifugeuse
Volume de sang prélevé	400 à 450 mL	14 à 120 mL	40 à 80 mL	20 à 120 mL
Anticoagulant	CPD	CPD-A	0 (tube sec)	ACD-A
Vitesse de la première centrifugation	5600 rpm	2400 tr/min	3000 tr/min	3 vitesses différentes de centrifugation : - rapide - lente (60 rpm) - rapide en une seule étape.
Durée de la première centrifugation	7-9 min	10 min	10 min	
Résultat de la première centrifugation	PPP = 200mL GR = 180 mL PRP = 70 mL	Plasma+Thrombocytes Erythrocytes + Leucocytes + Thrombocytes	PRF	
Vitesse de la deuxième centrifugation	2400 rpm	3600	X	
Durée du C2	non communiqué	15	X	
Temps total	20 à 30 min	25 min	10 min	14 min
Méthode de coagulation du concentré plaquettaire	Thrombine bovine + Ca(Cl)2	Sang autologue + β-TCP	inutile	activation (sans précision)

Figure 24 : Comparatif de 4 procédés d'obtention de concentrés plaquettaires.

Ces différences de protocoles ont de nombreuses conséquences :

Les procédés de préparation plaquettaire utilisant une centrifugeuse et effectués en per-opératoire évitent le transport du produit, un prélèvement sanguin important par rapport au volume total de sang de l'organisme (5 l), des manipulations sanguines supplémentaires. Ils diminuent le temps et le coût de l'acte chirurgical. En revanche, les méthodes de préparation préopératoire par plasmaphérese nécessitent de prélever un volume élevé de sang, beaucoup de temps, plusieurs manipulations sanguines. Leur coût est élevé. Enfin, elles présentent le risque d'une perte d'activité des thrombocytes qui diminuent rapidement après le prélèvement.

Par ailleurs, l'ajout d'anticoagulant dans un premier temps puis de produits nécessaires à la coagulation du PRP (thrombine, chlorure de calcium *etc.*) pose problème quant aux risques d'utilisation évoqués ultérieurement mais aussi en raison de la législation française (voir paragraphe 5.2).

3.2.4.2 Analyses des différents PRP (23)

L'utilisation clinique du PRP en chirurgie Maxillo-Faciale et en Odontologie connaît un véritable engouement ; une multitude de procédés de préparation sont disponibles actuellement sur le marché. Les variations de protocoles ont pour conséquence des différences de composition importante (concentration plaquettaire, concentrations en facteur de croissance...), qui peuvent influencer la biologie du «PRP » obtenu.

Par ailleurs, Weibrich *et al.* (2001) (73) dans une étude comparant la technique de laboratoire classique dite méthode de séparation du plasma par flot discontinu et une technique réalisée directement au bloc (PRP-Kit de Curasan®) mettent en évidence que :

- La numération plaquettaire diffère de manière significative en fonction du sexe du donneur (sang total : médiane chez l'homme 237 500 / μ L, et chez la femme 272 000 / μ L) ; le PRP obtenu a une concentration plaquettaire moyenne de 1 302000/ μ L chez l'homme et de 1548500 / μ L chez la femme pour la technique de préparation au bloc opératoire, et de 944000/ μ L chez l'homme et de 1026000 / μ L chez la femme pour la méthode PRP-Kit de Curasan®.
- Il existe une corrélation entre la concentration plaquettaire du PRP obtenu au laboratoire et la numération plaquettaire du donneur.
- Aucune influence de l'âge n'est mise en évidence.

Enfin, des différences importantes observées dans des études concernant un même protocole (surtout entre l'étude de Weibrich *et al.* et celle de Thorsten *et al.*) mettent en évidence qu'un protocole utilisé pour l'obtention du PRP est opératoire et technique dépendant.

Devant la disparité des différents dispositifs mis à disposition, devant l'utilisation à tort de l'appellation « PRP » (par exemple, certaines études portant sur des modèles animaux dont le volume sanguin est trop faible pour permettre la production de PRP utilisent du sang provenant de donneurs, donc d'origine homologue), devant l'inhomogénéité des résultats cliniques de l'utilisation du PRP, Marx en 2004 fait une mise au point (52) :

- Le PRP est un concentré plaquettaire d'origine autologue remis en suspension dans un faible volume de plasma ;
- Il provient d'un prélèvement sanguin anticoagulé et subit une dernière étape : la gélification du caillot ; il doit être utilisé dans les 10 minutes après cette ultime étape.
- La concentration plaquettaire du PRP est de 1 million/ μ L pour un volume standard de 6 mL.
- Seuls, deux procédés de fabrication du PRP sont alors reconnus par la FDA (Food and Drug Administration) : Smart PreP (Harvest Technologies) et Platelet Concentration Collection System (3i Implant Innovation Inc).

L'analyse comparative de la composition de PRP obtenus par différents procédés est l'objet de plusieurs études : Weibrich *et al.* en 2002 (75, 76) et en 2003 (74), Apple *et al.* 2002 (6). Ces données comparatives mettent en évidence une disparité de résultats, disparité qui sera aussi évaluée par Marx (Figure 25) en 2004 (52) et qui explique, selon lui, le manque de cohésion concernant des effets cliniques observés dans différentes études sur le PRP.

	AG Curasan	3i PCCS	Harvest Technologies "SmartPreP"
PDGF - $\alpha\beta$ (ng / mL)	39 \pm 11.4	103 \pm 27	133 \pm 29.2
TGF - β (ng / mL)	39 \pm 16.4	144 \pm 31.1	170 \pm 42.3
Volume moyen de PRP (mL)	7.6 \pm 1.5	7.0 \pm 1.5	7.4 \pm 0.5
Concentration plaquettaire moyenne ($\times 10^3$)	344 \pm 192	939 \pm 284	1 086 \pm 227
Efficacité de collection plaquettaire (%)	29 \pm 14.1	61 \pm 8.9	62 \pm 4.4
% d'augmentation par rapport au sang initial	139	324	404

Figure 25 : Tableau comparatif des analyses de PRP issus de trois procédés différents. D'après Marx (2004) (50).

Etude de Weibrich *et al.* (2002) (76)

Cette étude compare la concentration plaquettaire, la concentration en leucocytes et la concentration en PDGF-AB, TGF- β 1 et IGF de PRP obtenus à aide de deux méthodes : le kit PRP (Curasan®) et le système PCCS (3i®). L'échantillon testé est de 46 donneurs sains (17 hommes et 29 femmes).

Les résultats, résumés dans le tableau suivant (Figure 26), indiquent :

- La concentration plaquettaire moyenne du sang prélevé est de 269 000/ μ L et la concentration leucocytaire moyenne est de 6420/ μ L.
- La concentration plaquettaire moyenne du PRP obtenu avec le système PCCS est de 2 232 500/ μ L ; celle obtenue avec le kit PRP est égale à 1 140 500/ μ L.
- Le TGF- β 1 est le facteur de croissance le plus important dans le PRP préparé avec la méthode PCCS (467,1 ng/mL). Sa concentration est significativement plus élevée que pour le kit PRP (79,7ng/mL).
- Concernant le PDGF-AB, les résultats montrent que celui-ci prédomine dans la préparation kit PRP (314,1 ng/mL) ; cette concentration est significativement plus élevée qu'avec la méthode PCCS (258,1 ng/mL).
- Les résultats sont moins significatifs en ce qui concerne la concentration en IGF-1 (PCCS : 91,0 ng/mL ; Kit PRP : 69,5 ng/mL).
- La corrélation entre la concentration en TGF- β 1 et la concentration plaquettaire du PRP fabriqué par le système PCCS est forte ; la corrélation entre la concentration en PDGF-AB et la concentration plaquettaire est faible pour les deux systèmes de PRP testés.

	Curasan® (PRP - Kit)	PCCS (3i®)	Différence statistiquement significative
Concentration plaquettaire moyenne / μ L	1140 500	2 232 500	oui
TGF - β 1 (ng / mL)	79,7	467,1	oui
PDGF - AB (ng / mL)	314,1	258,1	oui
IGF - I (ng / mL)	91	69,5	oui

Figure 26 : Analyse des différences de composition de PRP produits par deux procédés différents : Curasan® et PCCS (3i®).
D'après : Weibrich *et al.* 2002. (76)

Les auteurs concluent que les trois facteurs de croissance étudiés sont fortement concentrés pour les deux procédés d'obtention de PRP testés. La différence de proportion en facteur de croissance pour les deux systèmes étudiés paraît être liée à la différence de concentration de populations cellulaires plaquettaire et leucocytaire.

Etude de Weibrich et Kleis (2002) (75)

Cette étude porte sur l'efficacité de collection et la concentration plaquettaire de PRP obtenus à l'aide de deux méthodes : le kit PRP (Curasan®) et le système PCCS (3i®).

Les prélèvements sanguins sont réalisés sur 46 donneurs sains (17 hommes et 29 femmes) âgés de 20 à 59 ans.

Les résultats montrent que :

- la concentration plaquettaire diffère de manière significative entre le sang du donneur (moyenne de $290\ 000 \pm 86\ 000/\mu\text{L}$), le PRP obtenu par le système PCCS (moyenne de $2\ 209\ 000 \pm 901\ 000 / \mu\text{L}$) et le Kit PRP (moyenne de $1\ 075\ 000 \pm 636\ 000 / \mu\text{L}$).
- La corrélation entre la numération plaquettaire du sang total et la concentration plaquettaire du PRP est plus importante pour le système PCCS que pour le Kit PRP.
- L'efficacité de collection est nettement plus importante pour le système PCCS (68,5 %) que pour le Kit PRP (17,6 %).

Les auteurs concluent que le système PCCS est préférable au Kit PRP tant au niveau de l'efficacité de collection qu'au niveau de la concentration plaquettaire. Par ailleurs, les auteurs attribuent au système PCCS des avantages certains en matière de méthode de réalisation, de facilité de manipulation et en temps de réalisation.

Etude de Appel *et al.* (2002) (6)

Cette étude porte sur la comparaison de trois techniques de production de PRP : une technique de production au laboratoire par plasmaphérèse discontinue, le kit PRP (Curasan®) et le système PCCS (3i®). La concentration plaquettaire, leucocytaire et en facteur de croissance PDGF et TGF- β est analysée pour ces trois procédés.

Des PRP sont préparés pour chacun de ces systèmes à partir de sang veineux de 12 hommes sains, âgés de 22 à 40 ans.

Les résultats sont les suivants :

- L'efficacité de collection plaquettaire est de $19 \pm 16,6\%$ pour la plasmaphérèse discontinue, de $41,9 \pm 9,7\%$ pour le kit PRP et de $49,6 \pm 21\%$ pour le système PCCS.
- Le rapport : concentration plaquettaire /volume de PRP produit est multiplié par 1,4 en ce qui concerne la plasmaphérèse discontinue, par 5 pour le système PCCS et par 11,7 fois pour le Kit PRP par comparaison avec la concentration plaquettaire initiale du sang veineux.
- La concentration leucocytaire est de $14\ 800/\mu\text{L}$ pour le Kit PRP, $5500/\mu\text{L}$ pour le système PCCS et $100/\mu\text{L}$ pour la plasmaphérèse discontinue ; celle du sang veineux prélevé est de $4800/\mu\text{L}$.

- Concernant la concentration en facteur de croissance, le Kit PRP affiche les meilleurs résultats : PDGF-AB : 295,2 ng/mL et TGF-β1 : 499,8 ng/mL ; pour le système PCCS, les valeurs obtenues sont les suivantes : PDGF-AB : 157,2 ng/mL, TGF-β1 : 144,7 ng/mL ; enfin, les valeurs les plus faibles sont obtenues par le système de production au laboratoire : PDGF-AB : 142,5 ng/mL et TGF-β1 : 136,1 ng/mL.
- Le taux en facteurs de croissance du PRP est fortement corrélé à sa concentration plaquettaire.

Les auteurs concluent que le gain absolu en plaquette est obtenu avec le système PCCS mais la concentration maximale en plaquette est donnée par le système Curasan®.

Etude de Weibrich *et al.* 2003 (74)

Cette étude, dans la continuité des précédentes, a pour objet d'analyser les différences de concentration plaquettaire, leucocytaire, et la teneur en PDGF-AB, TGF-β1 et IGF de PRP issus de deux méthodes : la plasmaphérèse discontinue réalisée dans une banque de sang, et le système Curasan®.

Les prélèvements sanguins sont réalisés chez 115 donneurs sains répartis en 73 hommes et 42 femmes.

Les résultats observés sont les suivants :

- La concentration plaquettaire du PRP obtenu avec la plasmaphérèse discontinue est de 1 434 400 /μL ; celle obtenue avec le système Curasan® est inférieure : 908 500/ μL.
- La concentration leucocytaire moyenne est de 160/ μL pour la plasmaphérèse discontinue et de 30 130/ μL pour le système Curasan®.
- Les concentrations moyennes en TGF-β1 sont de 268,65 ng/mL pour la plasmaphérèse discontinue et de 95,02 ng/mL pour la méthode Curasan®.
- Les concentrations en PDGF-AB du PRP ont pour valeurs : 133,59 ng/mL pour la plasmaphérèse discontinue et 233,7 ng/mL pour la technique Curasan®.
- Les concentrations moyennes en IGF-1 sont de : 85,37 ng/mL pour la plasmaphérèse discontinue et 101,72 ng/mL pour la technique Curasan®.
- La plus forte concentration plaquettaire de PRP produit par la technique de plasmaphérèse discontinue semble se traduire par une plus grande concentration en TGF-β1.
- De même, la plus grande concentration leucocytaire du PRP produit par la technique Curasan® semble se traduire par une plus grande concentration en PDGF-AB.

Les différentes valeurs de concentration sont résumées dans le tableau suivant (Figure 27), ainsi que l'interprétation statistique qui en est faite.

Les auteurs concluent que les facteurs de croissance étudiés sont fortement concentrés pour l'un ou l'autre des systèmes de production de PRP utilisés. Cette concentration ne peut être prédite à partir de la concentration plaquettaire du sang prélevé ni de celle du PRP produit. Les facteurs de croissance contenus dans le PRP ont au minimum trois sources : les plaquettes, les leucocytes et le plasma.

	Plasmaphérese par séparation discontinue	Curasan®	Difference statistiquement significative
Concentration plaquettaire moyenne	1 434 300 ± 351 960 / µl	908 500 ± 492 300 / µl	oui
Concentration leucocytaire moyenne	160	30 130	oui
TGF - β1 (ng / mL)	268,65 ± 70,77	95,02 ± 60,67	oui
PDGF - AB (ng / mL)	133,59 ± 46,26	233,7 ± 111,86	oui
IGF - I (ng / mL)	85,37 ± 25,58	101,72 ± 47,7	non

Figure 27 : Analyse des différences de composition de PRP produits par deux procédés différents : Curasan® et Plasmaphérese discontinue.
D'après : Weibrich *et al.* 2003. (74)

Etude de Dohan et col. (2004) (23)

Dans cette étude, les auteurs entreprennent le dosage des concentrations en cytokines au sein des différentes composantes du PRF et la comparaison des valeurs obtenues avec celles de différents protocoles PRP.

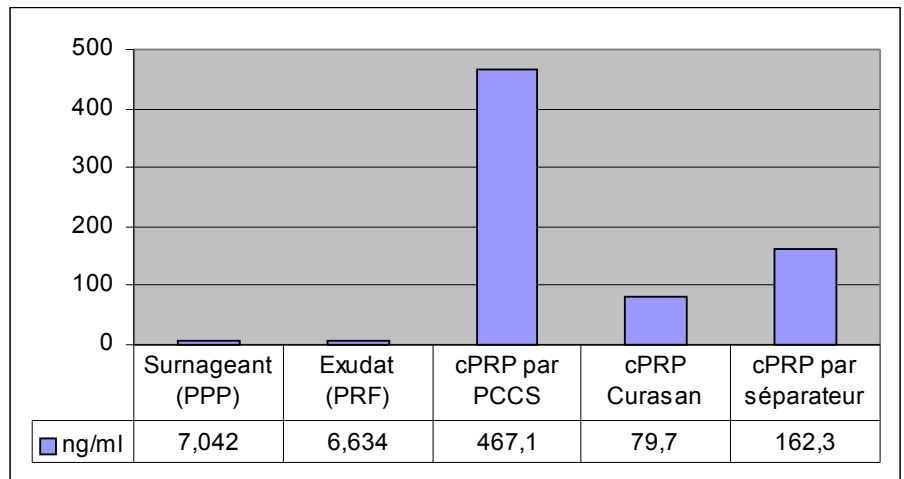
La problématique est aussi de savoir où ces molécules s'accumulent : dans le surnageant acellulaire, au sein même des polymères de fibrine, ou en solution dans le caillot PRF.

Le profil de sécrétion de trois isoformes de ces cytokines (PDGF-BB, TGF-β1 et IGF-1) est étudié par dosage Elisa au sein des différentes strates du PRF ; les valeurs obtenues sont comparées à celles décrites dans la littérature pour les différents protocoles PRP : études de Weibrich *et al.*(2002 et 2003) , étude de Zimmerman *et al.* (2001).

Les résultats observés sont résumés dans les graphiques suivants (Figure 28):

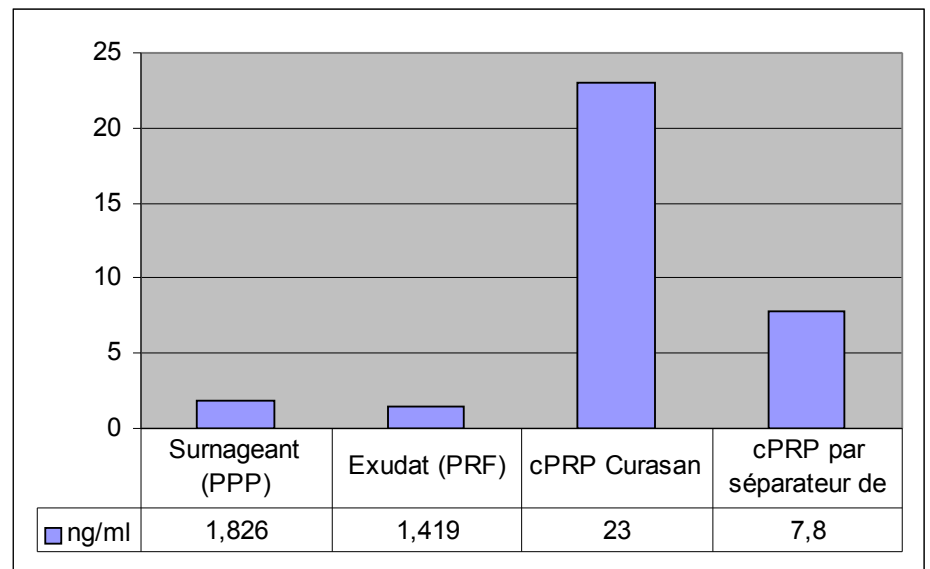
**Figure 28 : :
Comparatif du dosage
de TGF- β 1 contenu
dans le PRF avec les
valeurs obtenues de
différents procédés de
PRP.**

D'après Dohan et col.
(2004)



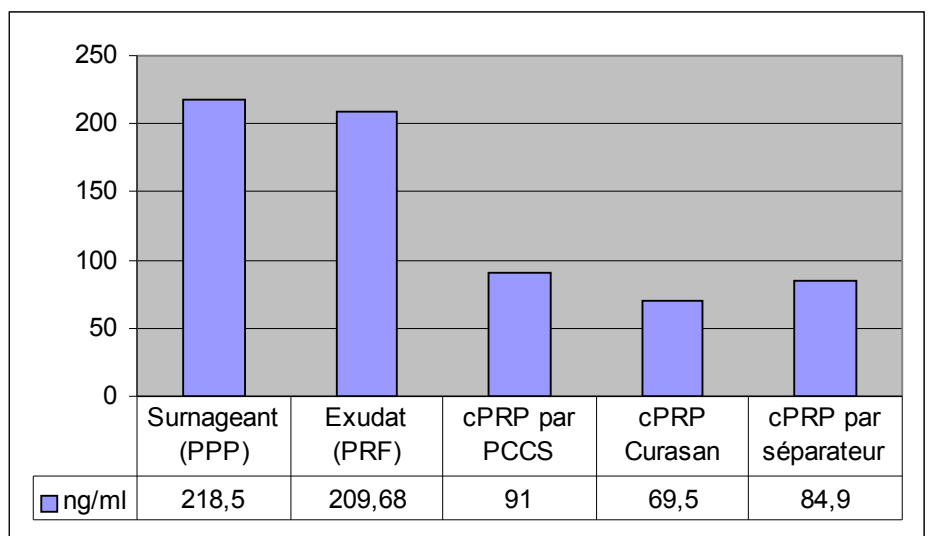
**Figure 29 :
Comparatif du dosage
de PDGF-BB contenu
dans le PRF avec les
valeurs obtenues de
différents procédés de
PRP.**

D'après Dohan et col.
(2004)



**Figure 29 : Comparatif
du dosage de IGF-1
contenu dans le PRF
avec les valeurs
obtenues de différents
procédés de PRP.**

D'après Dohan et col.
(2004)



- L'absence de différence significative entre les concentrations en cytokines mesurées dans le surnageant PPP et celles au sein du caillot PRF proprement dit.
- Les quantités de PDGF-BB et de TGF- β 1 présentes dans les surnageants et les exsudats de caillot PRF sont toutes très significativement inférieures à celles obtenues au sein des différents PRP quel que soit le protocole utilisé pour leur production.
- Pour l'IGF-1, en revanche, les valeurs mesurées dans les surnageants et les exsudats sont très significativement supérieures à celles des différents PRP.

Pour les auteurs, l'absence de la majorité de ces cytokines dans le surnageant et dans l'exsudat est la preuve qu'elles sont incorporées intimement au sein même des polymères de fibrine dans le PRF.

En ce qui concerne l'IGF-1, l'importance des concentrations mesurées s'explique par le fait que cette molécule est principalement circulante ; mais, l'IGF-1 issue de la dégranulation des plaquettes est très certainement incorporée dans la fibrine de la même manière que le sont PDGF-BB et TGF- β 1.

Le mode de polymérisation progressif permet une meilleure incorporation des cytokines au sein des mailles du réseau de fibrine et implique une durée de vie accrue pour ces cytokines, puisqu'elles ne seront libérées et utilisées qu'au moment du remodelage de la matrice cicatricielle initiale, lors de la dénudation du brin de fibrine.

Il est clairement établi que les concentrés plaquettaires autogènes produits par les différents systèmes décrits ci-dessus contiennent une concentration en plaquettes et en facteurs de croissance plaquettaires supérieurs au sang veineux. Chaque technique présente des avantages et des inconvénients ; les concentrés obtenus présentent des variations de composition. Mais, selon les données acquises de la science, nous ne savons pas encore si des modifications de la composition des concentrés plaquettaires s'accompagnent de modifications des effets biologiques.

4. Quatrième partie : les matériaux de comblement et les produits utilisés en association avec les facteurs de croissance

4.1 Matériaux de comblement (60, 80)

Le matériau de comblement doit répondre à un cahier des charges :

- **Biocompatibilité** : cela signifie qu'il ne doit pas induire de rejet ou de réaction inflammatoire. La biocompatibilité est validée histologiquement par l'absence de cellules de défense autour de la matrice dont le but serait d'isoler le greffon du reste de l'organisme. Les cellules ostéocompétentes doivent être en contact intime avec le matériau choisi et ce dernier doit être résorbé par les cellules ostéoclastiques.
- **Bioactivité** : le matériau doit posséder des propriétés ostéoconductrices, c'est à dire constituer un échafaudage pour la migration, la prolifération cellulaire et le dépôt de la matrice osseuse. Mais la propriété idéalement recherchée est l'ostéoinduction : la capacité à interagir avec le métabolisme cellulaire du tissu osseux.
- **Résorbable** : en totalité et dans un temps permettant une néoformation osseuse suffisante.
- **Propriétés mécaniques et physicochimiques** :
 - * **Rôle de barrière** pour favoriser la formation osseuse lors de la compétition cellulaire d'un site de cicatrisation parodontale (concept de régénération osseuse guidée (Dahlin et Lindhe, 1998)).
 - * **Résister aux forces de compression**
 - * **Radio-opacité**

4.1.1 L'os autogène

L'os autogène est le matériau de choix. La transplantation d'une greffe autogène permet à l'os de conserver son pouvoir ostéogène et de promouvoir l'ostéoinduction par les cellules maintenues vivantes. Les cellules ostéoprogénitrices préservées et les protéines morphogéniques osseuses sont supposées permettre l'induction des cellules mésenchymateuses du lit receveur vers la voie de formation osseuse (Reddi *et al.*, 1977). Il est important de distinguer l'os donneur d'origine endochondrale de l'os d'origine intramembranaire dans les phénomènes de revascularisation et de résorption du tissu osseux greffé.

L'os d'origine endochondrale provenant de la crête iliaque ou des côtes montre, dans le site receveur, une néovascularisation moins rapide. L'os du crâne, des tubérosités, du menton ou de la région rétromolaire est d'origine

intramembranaire et montre une résorption moindre autorisant la mise en place d'implants à quatre mois (Williamson,1996). Le prélèvement iliaque ou pariétal nécessite une anesthésie générale, une hospitalisation et entraîne des douleurs postopératoires, une immobilité temporaire et des complications.

Le prélèvement buccal réduit certains de ces inconvénients mais le volume osseux au niveau des sites donneurs est parfois insuffisant. L'emploi d'un matériau de substitution osseuse doit alors être envisagé, seul ou mélangé à des particules d'os autogène.

4.1.2 Les matériaux dérivés de l'os humain

4.1.2.1 Généralités à propos des allogreffes

Une allogreffe consiste à transférer un tissu d'un donneur vers un receveur appartenant à la même espèce mais n'ayant pas le même code génétique.

Il existe actuellement trois types d'allogreffes osseuses : cryoconservées, traitées, déminéralisées.

Les allogreffes d'os frais congelé ne sont pas utilisées en Odontologie.

Les matériaux de substitution d'origine osseuse sont utilisés en chirurgie orthopédique depuis 1950 et ont été introduits en parodontologie au milieu des années 70. Ces allogreffes regroupent l'os humain lyophilisé déminéralisé (DFDB, Demineralized Freeze Dried Bone) ou non déminéralisé (FDB, Freeze Dried Bone). Ces matériaux sont biocompatibles et résorbables (Becker *et al.*, 1996). Ils sont disponibles en quantité suffisante via les banques d'os.

La transmission possible de maladies infectieuses par la transplantation de tissus allogènes contaminés est une préoccupation dominante pour nombre de praticiens et de patients.

La multiplication des critères d'exclusion concernant un donneur potentiel a permis d'arriver à un réel degré de sécurité en matière de transplantation de greffons d'os sain de tous types. Les critères de sélection sont les suivants :

- élimination des donneurs de groupe à haut risque par dépistage médical et social. À moins d'informations sérieuses à propos d'hospitalisation antérieure, de transfusion sanguine, de maladies graves ou d'un mode de vie « malsain » pouvant être dûment constatés, le donneur doit être considéré comme pouvant être accepté ;
- anticorps VIH recherchés par un test enzymatique de type ELISA et test antigène; un autre test qui est maintenant utilisé pour le dépistage du sida est fondé sur la technique de la réaction en chaîne de la polymérase (PCR) ; c'est le moyen de dépistage le plus sûr possible.
- autopsie ou biopsie pour exclure une affection occulte, tel un carcinome ;

- étude spécifique des nodosités lymphatiques allant au-delà de ce qui est classiquement fait à l'autopsie. De telles études sont réalisées pour déceler des changements caractéristiques d'une infection à VIH précoce et fournissent une autre occasion d'exclure des individus présentant des modifications morphologiques nodales typiques d'infections non spécifiques (par exemple bactérienne, générale, parasitaire, fongique), chroniques ou d'abus de drogue.
- culture sanguine pour la contamination bactérienne ;
- test sérologique pour la syphilis et tous types d'hépatite ;
- étude suivie de greffes provenant d'un même donneur. Un tiers des donneurs de tissu osseux donne également des organes vitaux tel le coeur, les reins, le foie.

Si un organe vivant greffé est identifié comme porteur d'une maladie, l'os de ce donneur ne sera pas utilisé.

Les donneurs de moins de 50 ans sont préférés aux plus âgés, l'âge faisant une différence quant à la qualité de l'allogreffe.

Etapes de traitement de l'os allogénique :

- Prélèvement dans des conditions stériles d'os cortical des os longs (matériaux de choix pour les allogreffes en dentisterie).
- La totalité des tissus mous est retirée de l'os. Celui-ci est réduit en particules de 500 µm à 5 mm. Elles sont soumises à des lavages répétés de façon à éliminer la moelle osseuse.
- Le greffon est ensuite immergé dans de l'éthanol pur pendant une heure pour éliminer toute la graisse.
 - L'os est réfrigéré dans de l'azote liquide à -70 °C pendant une à deux semaines, de façon à interrompre le processus de dégradation. Pendant cette période, les différents tests visant à déceler toute pathologie infectieuse sont réalisés.
 - Le matériau de greffe est alors congelé puis déshydraté par un procédé de lyophilisation.
 - Si l'allogreffe doit être décalcifiée, elle est immergée dans de l'acide chlorhydrique.
 - L'os est lavé dans une solution tampon de phosphate de sodium pour éliminer l'acide résiduel.
 - Le stockage hermétique sous vide dans des récipients en verre protège de la contamination et de la dégradation tout en permettant la conservation à température ambiante.

4.1.2.2 Allogreffes d'os humain lyophilisé non déminéralisé (FDBA)

Le FDBA est ostéoconducteur car il fournit la structure sur laquelle l'os se formera. Ses propriétés comme matériau de comblement sont controversées ; en

1991, Mellonig a observé un comblement osseux supérieur à 50 % dans 60 défauts traités avec ce matériau. Toutefois, dans une étude contrôlée en double aveugle, comparant entre eux les résultats cliniques obtenus avec du FDBA et une chirurgie de débridement seule, le taux de formation osseuse est identique pour les deux techniques (Altiere *et al.*, 1979).

Néanmoins l'adjonction d'os autogène améliore la formation osseuse lors d'une greffe avec du FDBA (Sanders *et al.*, 1983).

Son utilisation clinique semble trouver un regain d'intérêt en le mélangeant avec du PRF® (Schoeffler, 2003).

4.1.2.3 Allogreffes d'os humain lyophilisé déminéralisé (DFDBA)

En 1965, Urist a postulé la présence, au sein de la matrice osseuse, d'une substance capable d'induire la différenciation des cellules mésenchymateuses en cellules ostéoprogénitrices. On pensait alors que la phase minérale de l'os bloquait l'effet de « l'agent inducteur »; la déminéralisation du tissu était donc nécessaire (Urist *et al.*, 1970).

En ROG, une controverse existe concernant le pouvoir ostéo inducteur du DFDBA. Certaines préparations commerciales de DFDBA implantées dans des sites ectopiques, chez la souris athymique, ont montré l'absence ou le peu de formation osseuse (Becker *et al.*, 1995 ; Garraway *et al.*, 1998).

Les modifications de préparation du DFDBA par les banques d'os peuvent éventuellement expliquer ces différences. Les traitements plus poussés afin de réduire toujours plus les risques de contamination (maladie de Creutzfeldt-Jacob transmise par les prions), entraîneraient une diminution et une dénaturation des protéines ostéoinductrices telles que les BMP.

Dans le cadre de la régénération parodontale, l'association de la RTG et du DFDBA présente un intérêt démontré histologiquement (Stahl et Froum, 1991 ; Harris, 2000).

De même, dans le traitement des atteintes de furcation molaire, Andereg *et al.* (1991) ont constaté la supériorité de l'amélioration clinique (diminution de la profondeur de poche et gain d'attache) lors d'un traitement combinant une barrière physique et du DFDBA par rapport à la barrière seule. Une étude histologique (Harris, 1999) confirme ces résultats.

4.1.3 Les xénogreffes

Les matériaux xénogènes doivent être totalement débarrassés de leurs protéines en raison de leur origine. Ils sont utilisés comme matrices inorganiques au pouvoir ostéo conducteur.

4.1.3.1 Matériaux dérivés de l'os bovin

Ces matériaux présentent une alternative intéressante aux allogreffes. Les matériaux dérivés d'os d'origine bovine sont traités ou non par frittage. Les matériaux non traités par frittage sont préparés de façon à extraire les composants organiques et à conserver la porosité de l'os d'origine (Daculsi *et al.*, 1997).

De l'os bovin comme le Bio-Oss® a été étudié en raison de son architecture poreuse similaire à celle de l'os humain. Le Bio-Oss® est déprotéiné par chauffage à 300°C pendant plus de 15 heures afin d'éliminer tout matériau organique potentiellement antigénique, mais sa structure cristalline est conservée intacte. Après un traitement alcalin, le matériau composé d'hydroxylapatite et de carbonate est stérilisé à 160°C. Le Bio-Oss® est commercialisé sous forme de blocs d'os médullaire, de granules d'os médullaire ou cortical, de granules d'os médullaire mélangé à du collagène d'origine porcine.

L'Osteograph/N est de l'os bovin traité par frittage à 1100°C. À cette haute température, une hydroxylapatite à larges cristaux se développe, la surface des particules fond et perd sa porosité.

Malgré les différents traitements infligés à cet os, des risques théoriques de transmission des maladies à prions ne peuvent être exclus chez l'homme. Une étude de Wenz *et al.* analyse les risques de transmission de l'Encéphalite Spongiforme Bovine (EBV) par les xéno-greffes d'origine bovine et confirme la sécurité du matériau.

Des études cliniques et histologiques chez l'homme (Camelo *et al.*, 1998 ; Mellonig, 2000 ; Nevins *et al.*, 2003 ; Sculean *et al.*, 2003) ont montré qu'une régénération parodontale était possible en utilisant des xéno-greffes d'origine bovine.

4.1.3.2 Matériaux dérivés des algues

L'Algipore® est un carbonate d'origine phycogène qui se dissout lorsqu'il est placé dans un défaut osseux.

4.1.3.3 Matériaux dérivés du corail naturel

Le corail naturel appartient à la famille des porites et est constitué de carbonate de calcium sous forme d'aragonite. Biocompatible et résorbable (Guillemin *et al.*, 1997), il est bien toléré par les ostéoblastes et offre une surface pour la colonisation, l'attache et la différenciation cellulaire (Sautier *et al.*, 1990).

Chez l'homme, dans les défauts parodontaux, la résorption totale du corail et la néoformation osseuse semblent apparaître au bout de 8 à 10 mois.

L'Interpore® est un carbonate non résorbable d'hydroxylapatite constituée de larges cristaux. Son architecture est très similaire à celle de l'os spongieux avec des pores de 100 à 200 µm de diamètre.

Dans le cadre de l'élaboration de nouveaux biomatériaux hybrides, le corail serait un bon vecteur de cellules ostéoprogénitrices.

4.1.3.4 Matériaux dérivés du collagène

L'utilisation du collagène est limitée par son manque de résistance mécanique et son potentiel antigénique.

Dans le cadre de l'ingénierie tissulaire, il est étudié comme vecteur de facteur de croissance (entre autres, la BMP-7).

4.1.4 Les matrices alloplastiques

Ces matrices représentent une grande variété de matériau ; ce sont des structures poreuses qui permettent la fabrication de tissus *in vitro* ou facilitent leur régénération *in vivo*.

Les avantages des matériaux alloplastiques résident dans l'absence de réaction immunologique ou de risque de transmission de maladie, dans leur biocompatibilité et dans la possibilité de vérifier la composition du matériau greffé.

On les classe selon qu'ils sont résorbables ou non. Les matériaux de comblement comprennent :

- plâtre de Paris
- polymères
- carbonate de calcium
- céramiques résorbables :
 - tricalcium de phosphate
 - hydroxyapatite résorbable

- céramiques non résorbables :
 - hydroxyapatite dense
 - hydroxyapatite poreuse
 - bioverres

Parmi l'ensemble de ces matériaux, les biocéramiques présentent un intérêt majeur en raison de leur ressemblance structurelle avec la phase minérale de l'os. Le principal avantage des biomatériaux bioactifs contenant un taux variable de calcium, tels que l'hydroxyapatite, les bioverres, les verres céramisés et le corail, est leur aptitude à se lier directement avec l'os de l'hôte, par opposition aux matériaux bio-inertes ou biotolérants qui forment une interface fibreuse. Les phosphates de calcium ainsi que les bioverres sont les plus communément utilisés.

4.1.4.1 Les phosphates de calcium

De nombreuses stoechiométries de céramiques de phosphate de calcium ont été utilisées dans le cadre de la régénération osseuse. Les plus communément étudiées ont été le phosphate tricalcique en phase β , l'hydroxyapatite synthétique ainsi que les céramiques de phosphate de calcium biphasiques. La composition de ces matériaux peut être modulée au travers du rapport calcium /phosphate, de l'incorporation d'ions, de modifications de la cristallinité ou de la porosité. L'utilisation de ces matériaux dans la régénération osseuse est basée sur le principe qu'un relargage localisé d'ions phosphate et calcium stimulerait la formation osseuse au niveau du site greffé.

Ils ont des propriétés bioactives intéressantes mais leurs propriétés mécaniques ne sont pas compatibles avec une utilisation dans des zones soumises à de fortes charges.

Ils existent sous différentes formes (poreuse ou dense, particules ou blocs).

4.1.4.2 Phosphate tricalcique en phase B

C'est un matériau poreux produit en chauffant, à plus de mille degrés et sous pression, un mélange de poudre de phosphate de calcium et de naphthalène qui après sublimation laisse une structure poreuse à l'origine des propriétés ostéoconductrices du matériau.

4.1.4.3 Hydroxyapatite

Il existe deux formes d'hydroxyapatite : dense et poreuse.

L'hydroxyapatite dense est non résorbable.

L'hydroxyapatite poreuse est obtenue par un processus d'échanges hydrothermiques dans lequel le carbonate de calcium du corail naturel est converti en phosphate de calcium ; elle se présente sous forme de blocs ou de particules.

4.1.4.4 Phosphate de calcium biphasique

Ce sont des formes injectables de phosphates de calcium.

Les résultats d'études cliniques (Brown *et al.*, 1999) et histologiques (Gauthier *et al.*, 1999) ne mettent pas en évidence de bénéfice pour l'utilisation de ce matériau.

Cependant, les nouvelles voies de recherche se concentrent sur des formes de biomatériaux résorbables et injectables dont la fabrication ne nécessite pas de hautes températures et ainsi permettrait l'incorporation de molécules ostéo-inductrices et/ou de facteurs de croissance.

4.1.4.5 Les bioverres

Ce sont des matériaux de type silicate.

Ils ne sont pas résorbables sous forme de bloc et lentement résorbables sous forme de particules. Ils peuvent subir des translocations ioniques et donc échanger des ions ou des groupes moléculaires avec les fluides biologiques (Hench, 1991). Ils adhèrent chimiquement à l'os grâce à la formation en surface d'une couche d'apatite carbonatée (Rehman *et al.*, 1998).

4.1.4.6 Les polymères

Ces matériaux, comme notamment le PMMA (polyméthylméthacrylate), présentent une excellente biocompatibilité démontrée par Kamen (1989) qui a mis en évidence, *in vitro*, la liaison qui pouvait intervenir entre les fibroblastes et le polymère. Selon des études cliniques contrôlées (Yukna 1990, 1994) le PMMA a permis d'obtenir un gain osseux significatif dans le traitement de défauts intra-osseux parodontaux ou dans des lésions interradiculaires de classe II. Toutefois, selon des analyses histologiques, ce matériel ne peut provoquer la formation d'une nouvelle attache au niveau des défauts osseux parodontaux (Plotzke *et al.* 1993 ; Stahlat *et al.* 1990). D'autres pensent que la nature non résorbable du PMMA pourrait même nuire à la cicatrisation.

4.1.4.7 Support idéal et bio-ingénierie de la régénération osseuse (56)

La recherche actuelle dans le domaine des substituts osseux est axée sur des biomatériaux composites cumulant des propriétés ostéoconductrices et ostéoinductrices (substituts osseux vecteurs de gènes, vecteurs de molécules bioactives, ou vecteurs de cellules ostéoprogénitrices).

Le support idéal pour la libération de facteurs de croissance dans le cadre de la régénération osseuse doit prendre en compte non seulement les différentes caractéristiques de ces protéines mais aussi les critères liés à l'objectif d'une régénération osseuse. On obtient alors un cahier des charges précis : le vecteur doit éviter une clairance trop rapide du facteur de croissance et permettre sa libération de manière continue et prédictible à des doses thérapeutiques, et cela pendant un temps suffisant.

Or, la demi-vie de ces molécules est de l'ordre de la minute ou de l'heure, alors que la cicatrisation osseuse prend plusieurs semaines.

De plus, le vecteur joue aussi le rôle de support pour la formation osseuse ; il doit donc permettre la migration, la prolifération et la différenciation des ostéoblastes à son contact et l'envahissement de sa porosité par le réseau vasculaire.

Enfin, on préférera utiliser un matériau résorbable dont la résorption est concomitante de l'ostéogénèse.

4.2 Surface implantaire (46)

En implantologie, la surface implantaire pourrait représenter un support intéressant pour les facteurs de croissance impliqués dans la cicatrisation osseuse. Les implants dentaires biomimétiques pourraient donc être la prochaine percée dans ce domaine.

À titre d'exemple, l'enrobage des implants avec des BMP pourrait accélérer la cicatrisation initiale durant l'intégration de l'implant dentaire et, de ce fait, réduire le temps de traitement global et améliorer le taux de succès des implants.

Liu *et al.* (2004) ont montré que la BMP-2 humaine recombinante (rhBMP-2), connue pour son fort potentiel ostéoinducteur, gardait son activité biologique lorsqu'elle était incorporée dans le revêtement d'une surface implantaire. Cette propriété revêt une grande importance, car un mode lent de relargage de cette protéine permet de potentialiser l'effet ostéoinducteur.

D'autres travaux de recherche portent sur l'étude de l'adhésion et de la différenciation de cellules humaines ostéoprogénitrices sur des alliages de titane revêtus d'hydroxyapatite et de collagène de type I.

Les travaux de recherche et de développement dans ce domaine devraient porter sur 3 principaux aspects: le choix de la texture de surface appropriée, la mise au point de supports efficaces ou d'agents de pré-enrobage pour la rétention initiale des substances biomimétiques puis leur libération contrôlée, ainsi que la détermination des agents biomimétiques indiqués pour obtenir le résultat voulu dans un scénario clinique donné (par exemple : nécessité de potentialiser la vascularisation, ou d'augmenter la densité osseuse).

4.3 Les anticoagulants utilisés (51)

Le protocole d'obtention du PRP nécessite l'emploi d'anticoagulant dès le prélèvement ; les tubes sont citratés et contiennent donc soit de l'Anticoagulant Citrate Dextrose A (ACD-A), soit du Citrate Phosphate Dextrose (CPD). L'ACD-A permettrait une meilleure viabilité plaquettaire (Marx, 2001).

4.4 Chlorure de calcium

Il est utilisé pour neutraliser l'effet des citrates et s'ajoute lors de la dernière étape du protocole d'obtention du PRP.

4.5 La thrombine

Le protocole d'obtention du PRP comporte une ultime étape: l'activation du gel par ajout de thrombine. Cette thrombine peut être soit d'origine bovine, soit d'origine autologue.

4.5.1 Thrombine bovine (62)

La thrombine bovine constitue un facteur de contamination: c'est un produit non allogénique.

Dans la littérature, elle est évoquée comme étant à l'origine de coagulopathies mortelles (Landesberg *et al.*, 1998), par développement d'anticorps contre les facteurs V, XI et contre la thrombine (43).

Marx utilise de la thrombine bovine depuis 1996 et n'a jamais observé l'émergence de coagulopathie. En revanche, Kassolis *et al.* (40) utilisent de la thrombine autologue pour activer le PRP.

La législation française est stricte en ce qui concerne l'utilisation des produits d'origine bovine en raison du risque de transmission à l'homme de l'ESB (l'Encéphalopathie Spongiforme Bovine).

L'usage de thrombine bovine mélangée à des produits sanguins autologues est interdite dans le domaine de la chirurgie dentaire.

En raison de ces données, d'autres méthodes sont à considérer : utilisation de thrombine recombinante humaine, de thrombine autologue ou encore de thrombine extra purifiée.

4.5.2 Thrombine autologue

Son utilisation est autorisée en France mais les modalités d'obtention sont complexes et coûteuses et nécessitent le recours à l'Organisme Français de Fractionnement du Sang.

4.5.3 Nouvelle alternative (44)

Très récemment (2005), R. Landesberg a cherché une alternative plus sécurisée et moins coûteuse à l'ajout de thrombine bovine pour l'obtention du caillot de PRP. Dans une étude *in vitro*, elle utilise un peptide de six acides aminés agoniste au récepteur de la thrombine (TRAP) d'origine synthétique en comparaison avec la thrombine bovine. Le temps de formation du caillot et sa rétraction sont évalués ; il apparaît que les résultats sont plus favorables avec TRAP : temps de travail augmenté et rétraction diminuée, ce qui va de pair, selon les auteurs , avec un relargage plus lent des facteurs de croissance, nécessaire pour un objectif de régénération osseuse.

5. Cinquième partie: les protocoles opératoires en clinique

5.1 Indications et contre-indications du PRP et du PRF (14, 50)

5.1.1 Contre indications générales

Les techniques de reconstruction osseuse utilisant des culots plaquettaires (PRP/PRF) sont contre-indiquées de façon générale pour toutes les pathologies de la coagulation interdisant un geste chirurgical et plus particulièrement chez les patients souffrants de thrombocytopénies congénitales ou acquises.

- les thrombocytopénies congénitales :
 - syndrome de Wiskott-Aldrich : cette maladie rare est aussi appelée maladie de Werrlhof. C'est un purpura thrombocytopénique de cause inconnue.

- les thrombocytopénies acquises :
 - infectieuses :
 - . virales (hépatites, HIV)
 - . bactériennes (tuberculose, fièvre typhoïde, syphilis, diphtérie, tularémie...)
 - . protozoaires (paludisme)
 - allergies et intoxications médicamenteuses : antalgiques (acide acétylsalicylique, phénylbutazone), antibiotiques (rifampicine, streptomycine), composés métalliques (or, arsenic, mercure), les médicaments cardio-vasculaires (antiarythmique : digitalique comme le Digoxine®), les dérivés de sulfonamides, les sédatifs (barbituriques, diphénylhydantoïne), et d'autres substances (insecticides).
 - alcoolisme chronique.

5.1.2 Indications en odontologie (51, 30)

L'indication de l'utilisation d'un culot plaquettaire est la reconstruction d'un volume osseux déficient avec l'objectif d'obtenir une cicatrisation des tissus durs mais aussi des tissus mous de bonne qualité et dans un délai le plus court possible.

Le PRF étant plus simple à mettre en oeuvre et de coût quasi insignifiant, ses indications peuvent être beaucoup plus nombreuses ou tout du moins, moins restrictives.

- De **manière générale**, le PRP /PRF peut s'utiliser en odontologie pour :
 - la préparation des sites implantaires (gestion des tissus durs et des tissus mous)
 - la correction de défauts péri implantaires, en rapport avec une technique d'implantation immédiate ou résultants d'une infection péri implantaire
 - la chirurgie parodontale
 - les comblements sinusiens
 - les comblements alvéolaires
 - favoriser l'ostéointégration principalement :
 - . au niveau de l'os maxillaire
 - . chez les personnes âgées, les diabétiques, les personnes ayant subi une radiothérapie
 - . dans de l'os de type IV
 - . dans de l'os ostéoporotique
 - . au niveau de sites d'échec antérieur.
- Variations d'indications selon **la forme et la nature** du concentré plaquettaire considéré.

Le PRF (14)

Le caillot fibrinoplaquettaire est retiré du tube et séparé de la fraction basse à l'aide de ciseaux ; il peut être utilisé :

- en l'état pour le maintien du volume osseux dans les sites post-extractionnels et dans les comblements de lésions interradiculaires ou de poches profondes ;
- broyé ou coupé pour être mélangé à des greffons autogènes ou exogènes ;
- comprimés entre deux compresses pour obtenir une membrane permettant de recouvrir le site chirurgical ou les perforations de la muqueuse sinusienne.

De façon anecdotique, il est aussi utilisé comme matériau de comblement en chirurgie endodontique.

PRP mélangé à des greffes :

L'intérêt du PRP, mélangé à l'état liquide avec la greffe, réside dans la facilité de manipulation du matériau obtenu.

Membranes de PRP :

Le gel activé de PRP peut être transformé en membrane résorbable en cinq à sept minutes et peut sous cette forme être utilisé :

- pour obturer les perforations de la muqueuse sinusienne dans le cas de sinus lift ;
- pour recouvrir un comblement osseux, synthétique d'exclusion cellulaire ;
- au niveau de sutures de plaies muqueuses

5.2 Recommandations pour la préparation des concentrés plaquettaires (51)

- Le prélèvement de sang veineux doit être effectué juste avant la phase chirurgicale afin d'éviter :
 - une dilution des plaquettes consécutive au saignement du site opératoire.
 - une perte de plaquettes par mort cellulaire.
- Une fois activé, le PRP doit être rapidement utilisé car le relargage des facteurs de croissance est très rapide. En 2001, Marx a montré qu'après 10 minutes d'activation, 70 % du PDGF-BB est relargué (figure 31).

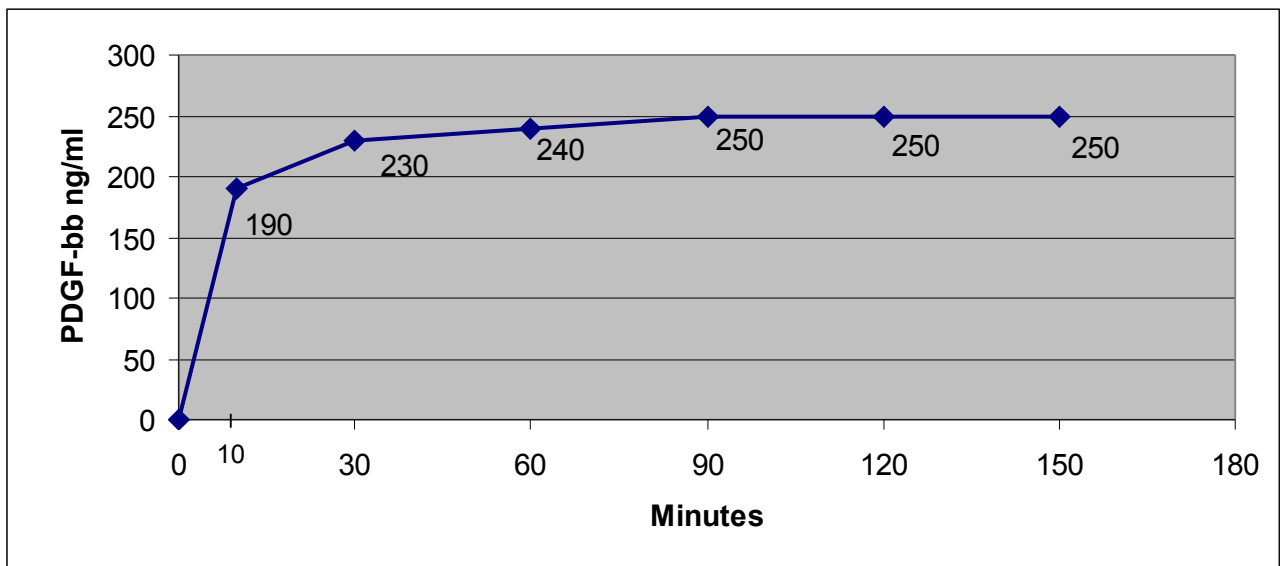


Figure 31: Relargage de PDGF-BB par les plaquettes sanguines activées en fonction du temps. D'après Marx (51).

5.3 Innocuité et législation

5.3.1 Législation (45)

CODE DE LA SANTE PUBLIQUE (Nouvelle partie Législative)

Chapitre II : Autorisation des établissements effectuant des prélèvements

Article L1242-1

(Loi n° 2004-800 du 6 août 2004 art. 12 a Journal Officiel du 7 août 2004)

Les tissus du corps humain ne peuvent être prélevés en vue de don à des fins thérapeutiques que dans des établissements de santé autorisés à cet effet par l'autorité administrative après avis de l'Agence de la biomédecine.

Les cellules à fins d'administration autologue ou allogénique ne peuvent être prélevées que dans des établissements de santé autorisés à cet effet par l'autorité administrative après avis de l'Agence de la biomédecine. Ces mêmes établissements et les établissements de transfusion sanguine peuvent prélever des cellules du sang lorsque celles-ci sont destinées à la préparation des produits cellulaires à finalité thérapeutique mentionnés au 5° de l'article L. 1221-8.

Par dérogation à l'alinéa précédent, peuvent être prélevées à fins d'administration autologue dans tous les établissements de santé et par les médecins et les chirurgiens-dentistes exerçant en dehors des établissements de santé les catégories de cellules figurant sur une liste arrêtée par le ministre chargé de la santé, sur proposition de l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé et après avis de l'Agence de la biomédecine, à condition que les prélèvements soient faits dans le respect des règles de bonnes pratiques arrêtées selon les mêmes modalités.

Les autorisations prévues aux premier et deuxième alinéas sont délivrées pour une durée de cinq ans. Elles sont renouvelables.

Article L1242-3

(Loi n° 2004-800 du 6 août 2004 art. 12 a Journal Officiel du 7 août 2004)

Les modalités d'application du présent chapitre sont déterminées par décret en Conseil d'Etat, et notamment les conditions techniques, sanitaires et médicales et les conditions propres à garantir un fonctionnement conforme aux principes généraux énoncés au titre Ier du présent livre, que doivent remplir les établissements de santé pour pouvoir être autorisés à effectuer des prélèvements

de tissus ou de cellules mentionnés aux deux premiers alinéas de l'article L. 1242-1.

L1221-8 Article

(Ordonnance n° 2001-198 du 1 mars 2001 art. 12 Journal Officiel du 3 mars 2001 en vigueur le 8 décembre 2003)

(Loi n° 2004-800 du 6 août 2004 art. 8 Journal Officiel du 7 août 2004)

Peuvent être préparés à partir du sang ou de ses composants :

1° Des produits sanguins labiles, comprenant notamment le sang total, le plasma et les cellules sanguines d'origine humaine, dont la liste et les caractéristiques sont fixées par le ministre chargé de la santé, sur proposition de l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé, après avis de l'Etablissement français du sang, et publiées au Journal officiel de la République française ;

2° Des pâtes plasmatiques ;

3° Des produits stables préparés industriellement, qui constituent des médicaments dérivés du sang et qui sont régis par les dispositions du livre Ier de la partie V ;

4° Des réactifs de laboratoire dont les conditions de mise sur le marché sont fixées par le titre II du livre II de la cinquième partie ;

5° Des produits cellulaires à finalité thérapeutique mentionnés à l'article L. 1243-1 ;

6° Des produits thérapeutiques annexes tels que définis à l'article L. 1261-1 ;

7° Des excipients à usage pharmaceutique et des substances utilisées lors de la fabrication d'un médicament mais n'entrant pas dans sa composition.

Le sang et ses composants, qu'ils aient ou non été prélevés dans des établissements de transfusion sanguine, peuvent également être utilisés pour effectuer les contrôles de qualité des analyses de biologie médicale ainsi que pour la réalisation et le contrôle des dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro*, ou pour effectuer sur les produits préparés à partir du sang ou de ses composants les expertises et les contrôles techniques réalisés par l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé en application du 1° de l'article L. 5311-2. Les principes mentionnés aux articles L. 1221-3, L. 1221-4 et L. 1221-6 sont également applicables dans ce cas.

Article L5121-3

Les produits stables préparés à partir du sang et de ses composants constituent des médicaments dérivés du sang et sont soumis aux dispositions du présent titre, sous réserve des dispositions spécifiques qui leur sont applicables.

5.3.1.1 Concernant les concentrés autologues

- Le PRP (Platelet Rich Plasma)

En France, depuis l'arrêté du 3 mai 1996 (portant autorisation d'importation, de mise sur le marché, de mise en service ou d'utilisation dans le cadre d'investigations cliniques de dispositifs médicaux dans la fabrication desquels sont utilisés des produits d'origine bovine), l'AFSSAPS (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé) édite la liste des dispositifs médicaux dans la fabrication desquels sont utilisés des produits d'origine bovine, ovine, ou caprine, ayant reçu un avis favorable quant à la sécurité virale et présents sur le marché français.

Or cette liste, mise à jour le 17 juin 2004, n'autorise dans notre discipline intitulée « la chirurgie dentaire » que l'usage des substituts osseux.

Le PRP, dans la composition duquel entre la thrombine d'origine bovine, est donc interdit en France.

- Le PRF (Platelet Rich Fibrin)

Les différentes étapes de la préparation du PRF et ses applications cliniques doivent répondre à des règles précises :

- Consentement éclairé :

Comme tout acte chirurgical, un consentement éclairé doit précéder l'intervention et informer le patient des risques encourus par rapport au bénéfice retiré pour ce genre d'acte.

- Prélèvement sanguin et manipulation

Il doit être réalisé par un personnel autorisé ou habilité. Les chirurgiens-dentistes ne sont pas habilités à effectuer ce type d'acte.

Une fois le prélèvement réalisé, le sang doit être manipulé dans des conditions d'asepsie rigoureuse. Cela nécessite un personnel formé et dédié à la préparation du concentré plaquettaire qui intervient dans le même temps que l'équipe chirurgicale. De plus, cette préparation doit être réalisée dans la salle d'intervention.

L'élimination des déchets contaminés dans des conteneurs spécialisés en vue de leur incinération est obligatoire.

-Matériel

Le matériel de centrifugation doit être agréé CE et être utilisé exclusivement en salle d'intervention.

Tous les produits et matériels utilisés doivent être référencés.

5.3.1.2 Concernant les facteurs de croissance

Les premiers FDC recombinants produits par génie génétique ont obtenu l'AMM (Autorisation de Mise sur le Marché) et la prise en charge par les caisses d'assurance maladie en France ; INDUCTOS® 12 mg, kit pour implant produit par les laboratoires WYETH LEDERLE, est un médicament réservé à l'usage hospitalier. La molécule active est la rh BMP-2. Sa prescription est réservée aux spécialistes en chirurgie orthopédique (traumatologie) dans le traitement des fractures du tibia chez l'adulte. L'AMM date du 09 09 2002.

5.3.2 Innocuité des facteurs de croissance (48, 51, 72)

Le PRP a été introduit dans le domaine de la chirurgie orale par Whitman *et al.* en 1997 puis les travaux de Marx *et al.* (1998) sur l'utilisation du PRP combiné à de l'os autogène ont été à l'origine d'un engouement particulier pour ces adjuvants autologues de la régénération osseuse. En plus des propriétés ostéoinductrices de la fibrine, cette technique offrait l'avantage d'être une source de facteurs de croissance pour favoriser la cicatrisation osseuse.

Hormis l'émergence de coagulopathies liées à la thrombine bovine nécessaire à la dernière étape (gélification) pour l'obtention du PRP, il n'y a aucune publication d'éventuels risques d'infection, d'effets indésirables ou secondaires associés à l'utilisation du PRP, ni même de publication relatant la concentration idéale de chaque facteur de croissance ou le dosage optimal pour chaque situation clinique.

Partant de plusieurs observations scientifiques (certains facteurs de croissance plaquettaires sont sur-exprimés dans les tissus tumoraux ; une cellule « saine » ne peut se diviser qu'un certain nombre de fois (limite de Hayflick) et l'acquisition de la capacité à se diviser indéfiniment est considérée comme une étape importante dans le processus de transformation maligne), JM Martínez-González et col. (2002) émettent plusieurs hypothèses sur les risques d'utilisation de ces facteurs et sur les éventuelles précautions à prendre.

Selon eux, les concentrés plaquettaires agiraient plus en tant que facteurs favorisant que déclenchant dans la carcinogenèse; il faut éviter l'utilisation du PRP :

- pour les patients présentant des lésions précancéreuses ou des dysplasies épithéliales orales
- pour les patients exposés ou ayant été exposés à des carcinogènes (alcool et tabac).

Marx (2004) nie toute éventualité d'un risque : « Les facteurs de croissance du PRP ne pénètrent jamais à l'intérieur de la cellule ou de son noyau, ils ne sont pas mutagènes et agissent sur la stimulation d'un processus cicatriciel normal, juste en l'accélération. »

Anitua *et al.* (2004) évoquent comme facteur limitant l'indication d'un PRP une hémocrite élevée et une numération plaquettaire faible. (5)

Selon Weibrich *et al.*(2004), actuellement, l'utilisation clinique des différentes techniques de PRP ne peut être recommandée en raison de multiples paramètres influençant les résultats et des connaissances limitées sur les conditions d'utilisation nécessaires pour son emploi. (72)

Il demeure que chaque thérapeutique doit être envisagée dans le respect le plus strict du principe de précaution : « primum non nocere » après consultation des données scientifiques acquises.

6. Sixième partie: les résultats

Les études portant sur les propriétés d'un facteur de croissance considéré dans un milieu de culture sont nécessaires mais elles simplifient à l'extrême une situation clinique dans laquelle de nombreux facteurs de croissance sont présents (et d'ailleurs, il en est qui n'ont pas encore été identifiés) et interagissent avec un nombre important de types cellulaires variés dans un environnement « dynamique ».

Quant aux études portant sur les animaux, elles présenteraient des résultats très différents selon le modèle animal choisi. Par ailleurs, certaines espèces animales sembleraient très bien cicatriser sans le recours de plaquettes additionnelles, ce qui crée un biais dans l'étude du bénéfice réel des culots plaquettaires.

Enfin, signalons que les techniques utilisées dans les diverses études pour isoler les plaquettes et obtenir un PRP peuvent influencer les résultats.

(voir paragraphe 3.2.3)

6.1 Etudes *in vitro*

6.1.1 Etude de Slater *et al.* (1995) (4, 66)

Les auteurs étudient les effets à court et à long terme d'un concentré plaquettaire humain sur une culture d'ostéoblastes humains d'origine foétale.

Trois concentrations différentes de PRP sont ajoutées au milieu de culture : 0,5%, 1 % et 1,5 % du volume total du milieu de culture.

La prolifération cellulaire est observée grâce à un marquage à la thymidine tritiée (3H Thymidine) et l'immunomarquage à l'or colloïdal combiné à la microscopie électronique permet de détecter l'incorporation des facteurs de croissance IGF-1, TGF- β 1 et FGFb à l'intérieur de la matrice.

Les résultats sont les suivants :

- A court terme (6 jours), les milieux tests présentent une incorporation de la thymidine tritiée quatre fois supérieure au milieu témoin. Cette augmentation de concentration est dose dépendante.
- A moyen et long terme (10 à 50 jours), les cellules s'organisent en plusieurs couches, séparées par une matrice collagénique : pour les milieux tests à 1 % et 1,5 % de PRP, l'épaisseur de la couche cellulaire est deux fois plus importantes à 10 jours et trois fois plus importantes à 30 et 50 jours par rapport au milieu témoin.
Par ailleurs, aucune différence significative n'est observée entre le milieu enrichi à 0,5 % et le milieu témoin.
- L'incorporation en TGF- β 1 dans les milieux tests est significativement inférieure à 20 jours et significativement supérieure à 40 jours, par rapport

au milieu témoin. Dans le milieu test, l'incorporation en IGF-1 et en FGFb est significativement inférieure par rapport au milieu témoin.

Les auteurs concluent qu'un concentré plaquettaire humain stimule l'activité fonctionnelle et la prolifération d'ostéoblastes humains d'origine fœtale à la fois au cours et au long terme. Néanmoins, l'absence d'augmentation du marquage d'IGF-1 et de FGFb et l'apparition tardive de l'augmentation de l'incorporation de TGF-β1 dans la matrice suggèrent que la seule présence d'une concentration élevée de facteurs de croissance n'est pas suffisante pour permettre leur incorporation dans la matrice osseuse. La concentration élevée de TGF-β1 ainsi que la supplémentation en PDGF (via le concentré plaquettaire) est susceptible de supprimer la production endogène d'IGF-1 et de FGFb ; l'augmentation significative de TGF-β1 pourrait, quant à elle s'expliquer par la capacité du PDGF à stimuler la production de TGF-β1 par les ostéoblastes.

Les plaquettes représentent une source autogène de multiples facteurs de croissance et pourraient donc favoriser la cicatrisation osseuse *in vivo*.

6.1.2 Etude de Gruber *et al.* (2002) (33)

L'objectif de cette étude *in vitro* est l'analyse de la réponse mitogénique des ostéoblastes humains dérivés d'os trabéculaire de personnes adultes mis en culture et soumis à des milieux contenant soit des plaquettes, soit le surnageant libéré par des plaquettes stimulées, soit des fragments de membrane plaquettaire ou des microparticules. Par ailleurs, les auteurs cherchent à évaluer le rôle de PDGF dans la réponse mitogénique.

La prolifération cellulaire des ostéoblastes est mesurée au moyen de l'incorporation de thymidine tritiée.

La nécessité d'un contact cellule osseuse/plaquette est évaluée par l'utilisation d'un filtre membranaire.

L'importance du rôle de PDGF est testée par différentes méthodes : l'utilisation d'anticorps dirigés contre PDGF, analyse par chromatographie d'exclusion du surnageant.

Les résultats sont les suivants :

- lorsque les plaquettes sont additionnées au milieu de culture, l'incorporation de thymidine tritiée augmente de façon proportionnelle. Par exemple, une concentration de $2 \cdot 10^8$ plaquettes/mL augmente l'activité mitogénique des ostéoblastes de 46 ± 15 fois par rapport aux milieux contrôles.
- Les mêmes résultats sont observés lorsqu'une membrane est interposée entre les cellules osseuses et les plaquettes ; l'effet mitogénique observé aurait donc pour origine principale les facteurs solubles libérés par les plaquettes.

- La fraction lipidique des plaquettes n'a aucun effet mitogène sur les ostéoblastes.
- Le surnageant plaquettaire augmente la prolifération des ostéoblastes de façon dose dépendante ; à titre d'exemple, le surnageant plaquettaire correspondant à une concentration de 2.10^8 plaquettes/mL augmente l'activité mitogénique des ostéoblastes de 20 ± 2 fois par rapport aux milieux contrôles.
- La neutralisation du surnageant plaquettaire au moyen d'anticorps dirigés contre PDGF supprime partiellement le potentiel mitogénique sur les cellules osseuses.
- L'analyse par chromatographie d'exclusion complète ces données : la quantité la plus importante de PDGF est détectée dans les fractions correspondant un poids moléculaire de 28 à 37 kD. De plus, le surnageant plaquettaire contient une fraction ayant des propriétés mitogéniques pour les ostéoblastes et dont le poids moléculaire est supérieur à 68 kD.
- L'activité mitogénique n'est pas limitée aux facteurs de croissance solubles puisque des microparticules et des fragments de membrane plaquettaire augmentent aussi la prolifération ostéoblastique.

6.1.3 Etude de Choi *et al.* (2005) (13)

Cette étude porte sur l'influence de la concentration plaquettaire du PRP sur la viabilité et la prolifération des cellules osseuses alvéolaires *in vitro*.

Des cultures de cellules osseuses sont préparées à partir de prélèvements d'os alvéolaire réalisés sur 10 chiens bâtards. Par ailleurs, pour chacun de ces chiens, sont préparés du PPP, du PRP et un concentré plaquettaire (nécessitant une centrifugation supplémentaire de PRP) à partir d'un prélèvement de sang autologue. Chaque PRP est dilué dans un milieu de culture (DMEM : Dulbecco's modified Eagle medium) afin d'obtenir des concentrations variées : 1 % (11 000 plaquettes/ μ L), 5 % (55 000 plaquettes/ μ L), 10 % (110 000 plaquettes/ μ L), 20 % (220 000 plaquettes/ μ L), 30 % (330 000 plaquettes / μ L), 50 % (550 000 plaquettes/ μ L) et 100 % (1 100 000 plaquettes/ μ L).

Après une culture de sept jours, la viabilité et la prolifération des cellules osseuses alvéolaires sont évaluées.

Les résultats indiquent que la viabilité et la prolifération cellulaire sont fortement inhibées par des concentrations élevées de PRP et, au contraire, stimulées par de faibles concentrations de PRP (1 à 5%).

Les auteurs concluent qu'un niveau de concentration plaquettaire du PRP adapté à la prolifération cellulaire doit être déterminé pour son utilisation lors des greffes osseuses pour promouvoir la régénération osseuse à l'intérieur du mélange matériau de comblement/ PRP.

6.2 Etudes in vivo chez l'animal

6.2.1 Etude de Fennis et al. (2002) (26)

Cette étude cherche à évaluer une technique de reconstruction de l'angle mandibulaire chez la chèvre utilisant l'association PRP/os autogène.

28 chèvres subissent une résection complète de l'angle mandibulaire.

Les animaux sont divisés en deux groupes :

- pour 14 chèvres, l'angle réséqué est débarrassé de sa moelle osseuse, rempli de fragments d'os cortico-spongieux prélevés dans la crête iliaque antérieure, puis la corticale est perforée pour favoriser la revascularisation.
- pour les 14 autres chèvres, les étapes sont identiques, mais les fragments d'os sont mélangés à du PRP.

L'angle est remplacé dans sa position initiale et fixé au moyen de 2 plaques d'ostéosynthèse.

Une radiographie est prise en post-opératoire.

Les animaux sont sacrifiés à 3, 6 et 12 semaines pour analyse radiographique et histologique. Des critères tels que la formation d'un cal, l'apparition de résorption, oblitération des sites d'ostéotomie sont associés à des scores et évalués par deux examinateurs indépendants.

Les résultats mettent en évidence une cicatrisation osseuse significativement plus importante à 6 semaines au niveau des sites d'ostéotomie pour les animaux ayant reçu du PRP.

Les auteurs concluent que le PRP semble favoriser considérablement la cicatrisation osseuse.

6.2.2 Etude de Aghaloo et al. (2002) (1)

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'effet du PRP dans la régénération osseuse de défauts crâniens chez le lapin.

15 lapins sont inclus dans cette étude prospective, randomisée et réalisée en double aveugle.

Quatre défauts osseux crâniens de 8 mm de diamètre sont créés chirurgicalement sur chaque lapin puis comblés soit avec de l'os autogène seul, soit avec du PRP seul, soit avec un mélange d'os autogène et de PRP, soit sans aucun traitement (défaut contrôle).

Les lapins sont sacrifiés à 1,2 et 4 mois à raison de cinq lapins pour chaque groupe. La cicatrisation des défauts est évaluée par radiographie digitalisée, par histologie et histomorphométrie pour chacun de ces groupes.

Aucune amélioration significative n'est observée aussi bien à l'analyse radiographique qu'à l'analyse histomorphométrique lorsque le PRP est ajouté à

une greffe d'os autogène. Cependant, les traitements « os seul » et « os associé à du PRP » montrent à l'analyse histomorphométrique une tendance à l'augmentation de la formation osseuse par rapport au traitement « PRP seul » et aux sites contrôles.

Les auteurs formulent cependant une autocritique : l'échantillon réduit peut représenter un biais pour l'analyse statistique et les conclusions concernant le comparatif des traitements « os seul » et « os associé à du PRP » ; de plus la taille du défaut osseux créé reste en dessous des dimensions d'un défaut de taille critique chez le lapin : 15 mm (Vikjaer, 1997) ; mais il est impossible de réaliser sur le crâne d'un lapin quatre défauts osseux de taille critique.

6.2.3 Etude de Zechner *et al.* (2003) (4, 78)

Dans cette étude, les auteurs analysent au niveau histologique et histomorphométrique la cicatrisation osseuse après application de PRP lors de la chirurgie de mise en place d'implants dentaires chez des mini porcs.

Les prémolaires mandibulaires de 12 miniporcs adultes sont extraites et 72 sites sont préparés pour le placement d'implants endo-osseux. Par ailleurs, deux états de surface implantaire sont testés.

Avant la mise en place des implants, la moitié des sites implantaires reçoit du PRP (sites situés à gauche de la mandibule). Les sites restants servent de groupe contrôle.

Les animaux sont sacrifiés à 3, 6 et 12 semaines et des coupes non décalcifiées sont réalisées.

L'analyse histomorphométrique montre :

- à trois semaines, il n'existe pas de différence statistiquement significative en ce qui concerne le contact os/implant entre les deux groupes.
- à six semaines, le contact os/implant est significativement supérieur pour le groupe PRP (groupe PRP : 44,21 % par rapport au groupe contrôle : 22,4 %)
- à 12 semaines, la formation osseuse est comparable pour les deux groupes.
- par ailleurs, les résultats montrent que l'effet du PRP sur la formation osseuse diminue lorsque la distance par rapport aux sites d'application augmente.

L'analyse statistique démontre que l'état de surface implantaire n'influe pas sur l'action du PRP.

L'application topique de PRP semble augmenter significativement la régénération osseuse au niveau du site implantaire pendant les premières étapes de la cicatrisation (environ six semaines). Par ailleurs, le PRP a une action site et temps dépendante.

6.2.4 Etude de Weibrich *et al.* (2004) (72)

Cette étude a pour but d'analyser les effets du PRP sur la régénération osseuse péri-implantaire, ainsi que l'influence possible de la concentration plaquettaire du PRP.

Vingt lapins sont inclus dans l'étude. Le procédé d'obtention du PRP utilisé est le PCCS (Platelet Concentrate Collection System, 3I®) ; ce procédé est adapté à la moindre quantité de sang prélevé.

Pour chaque lapin, un implant auto taraudant en titane est inséré dans chacun des deux fémurs, avec (site contrôle) ou sans (site témoin) adjonction de PRP. Au niveau du site contrôle, 0,5 ml de PRP est injecté lentement à faible pression dans le site de forage, en utilisant une seringue à insuline. De plus, la surface de l'implant est badigeonnée de PRP. Pour assurer une couverture antibiotique et une mise en évidence des étapes de la régénération osseuse, les animaux reçoivent une injection de doxycycline en postopératoire puis l'administration de doxycycline à 2 %, d'Orangé de Xylénol à 6%, et de calcéine verte à 1% respectivement à J7, J14 et J21. Les animaux sont sacrifiés à J28. Des prélèvements osseux sont effectués et photographiés numériquement en vue d'une étude histomorphométrique grâce à un système d'analyse d'images.

Les animaux sont divisés en trois groupes en fonction de la concentration plaquettaire du PRP :

- faible concentration plaquettaire (164 000 à 373 000 plaquettes / μ L de PRP)
- concentration plaquettaire intermédiaire (503 000 à 1 729 000 plaquettes / μ L de PRP)
- concentration plaquettaire élevée (1 845 000 à 3 200 000 plaquettes / μ L de PRP).

Les résultats mettent en évidence une forte augmentation de la régénération osseuse uniquement pour le groupe des concentrations plaquettaires intermédiaires. Il apparaît qu'avec les concentrations plaquettaires les plus élevées, le taux de régénération osseuse décroît. Quant à l'analyse du taux de contact os implant, aucune différence n'apparaît entre les trois groupes de concentrations plaquettaires.

Les auteurs concluent que la concentration plaquettaire optimale du PRP est approximativement 1000000/ μ L PRP rejoignant ainsi les résultats des études de Zechner *et al.*(78), et Marx *et al.* (49). Au-dessous de cette valeur moyenne, les effets du PRP ne sont pas concluants ; au-dessus, il semble avoir des effets inhibiteurs.

6.2.5 Etude de Fennis *et al.* (2005) (27)

Dans cette étude, les auteurs cherchent à valider l'hypothèse suivante : la cicatrisation osseuse d'un défaut segmentaire de la mandibule chez la chèvre reconstruit par l'utilisation de la corticale osseuse irradiée et remplie d'un mélange de particules d'os autogène et de PRP doit être similaire à celle obtenue

lorsque la corticale osseuse n'a pas été irradiée. Cette étude est donc à mettre en relation avec celle décrite au paragraphe 6.2.1 ; les matériels et méthodes sont identiques, excepté que l'étude porte cette fois sur 12 chèvres, que l'angle mandibulaire segmenté est irradié en une seule dose à 50 kGy, puis rempli d'un mélange os autogène et PRP.

L'étude décrite précédemment (Fennis *et al.* (2002)) permet d'obtenir deux groupes afin de comparer les résultats :

- le groupe contrôle (groupe I) est constitué de 12 animaux répartis en deux sous-groupes de six animaux chacun sacrifiés à trois et six semaines. Pour ce groupe, la corticale osseuse n'a subi aucune irradiation, et a été remplie de particules d'os autogène.

- le deuxième groupe (groupe II) ne diffère du premier que par l'adjonction de PRP aux particules d'os autogène.

Le troisième groupe (groupe III) est donc constitué des 12 chèvres dont le traitement comprend l'étape supplémentaire de l'irradiation.

L'évaluation radiographique du troisième groupe ne montre que peu de différence entre la radiographie postopératoire immédiate et celle à trois semaines ; à six semaines d'intervalle apparaissent quelques signes de formation osseuse.

L'analyse histologique de ce même groupe révèle peu de signes de formation osseuse à trois semaines ; la plupart des animaux présentent au niveau de l'espace de segmentation une couche fibreuse.

À six semaines, l'os greffé présente des plages de nécrose, aussi bien au niveau de la corticale (ce qui était à attendre) qu'au niveau des particules d'os iliaque greffées. La néoangiogenèse semble progresser, quelques signes de néoformation osseuse sont visibles.

Comparaison avec les données de l'étude précédente :

- Comparaison des analyses radiographiques

La différence radiographique d'oblitération osseuse au niveau du site d'ostéotomie est statistiquement supérieure pour les groupes II et III par rapport au groupe I.

Dans le groupe III, à trois semaines, l'observation d'une formation d'un cal osseux est significativement moins importante que dans les deux autres groupes.

À six semaines, une résorption angulaire dans le groupe III est significativement plus importante que dans le groupe II.

- Comparaison des analyses histomorphométriques

A trois et six semaines, la différence de formation du cal osseux dans le groupe II est statistiquement significative en faveur de ce groupe par rapport aux groupes I et III ; par contre, cette différence n'est pas significative entre les groupes I et III.

A six semaines, les mêmes résultats sont observés concernant le taux de remplissage osseux.

L'addition de PRP aux matériaux de greffe semble avoir en partie compensé les conséquences néfastes de l'irradiation puisque pour la plupart des paramètres, il n'existe pas de différence statistiquement significative entre les groupes III et I. Les auteurs concluent que, contrairement à ce qu'ils attendaient, chez l'animal, la cicatrisation osseuse d'un os irradié combiné à des greffes de particules d'os autogène et à du PRP est moindre que dans les traitements où l'os n'a pas subi d'irradiation.

6.2.6 Etude de Aghaloo *et al.* (2005) (2)

Cette étude, qui reprend le modèle exposé au paragraphe 6.2.2, s'attache cette fois-ci à observer la régénération de défauts osseux par comblement avec de l'os allogénique déminéralisé ou non en association avec du PRP.

Les matériels et méthodes sont les mêmes que dans la précédente étude d'Aghaloo *et al.* (2002) ; la seule différence concerne le matériau de substitution osseuse : de l'os sec congelé allogénique déminéralisé (freeze-dried demineralized bone : FDDDB) ou non (freeze-dried mineralized bone : FMB).

Pour chaque lapin, les 4 défauts osseux sont donc comblés avec du FDDDB seul, avec du FDDDB en association avec du PRP, avec du FMB seul et enfin avec du FMB en association avec du PRP.

À 1, 2 et quatre mois, 5 lapins sont sacrifiés en vue d'une étude radiographique et histomorphométrique.

Radiographiquement, FMB+PRP et FDDDB+PRP montrent une densité osseuse plus importante que FMB seul ou FDDDB seul, mais les différences ne sont pas statistiquement significatives. A l'analyse histomorphométrique, les résultats sont similaires : l'association de chacun de ces matériaux de substitution osseuse avec du PRP semble augmenter l'aire osseuse, par comparaison avec l'utilisation de chacun de ces matériaux employé seul ; mais là aussi, la différence observée n'est pas statistiquement significative.

Cette étude n'apporte donc pas la preuve que l'utilisation du PRP favorise la régénération osseuse lorsqu'il est utilisé en association avec de l'os sec congelé allogénique dans des défauts osseux de taille non critique chez le lapin.

6.3 Etudes cliniques chez l'homme

6.3.1 Concernant le PRP

6.3.1.1 Etude de Marx *et al.* (1998) (49)

Marx *et al.* ont réalisé la première étude sur l'utilisation du PRP en association avec de l'os autogène ; celle-ci reste la référence incontournable dans ce domaine.

Ils ont cherché à évaluer l'effet du PRP sur les reconstructions par greffe osseuse de défauts de continuité mandibulaire d'au moins 5 cm résultant de l'ablation de tumeurs bénignes ou malignes de 88 patients sans recours pour leur traitement à la radiothérapie. La mise en place d'au moins un implant ostéointégré est prévu pour chaque site greffé dans un délai de 6 mois.

Un premier groupe bénéficie d'une greffe d'os spongieux sans ajout de PRP ; le second groupe reçoit une greffe osseuse avec du PRP.

Le PRP est produit en per-opératoire par plasmaphérèse discontinue à partir d'un prélèvement sanguin de 400 à 450 ml.

Des échantillons de PRP et de sang veineux sont utilisés pour comptage des plaquettes. De plus, deux études par anticorps monoclonaux sont réalisées :

- la première vise à mettre en évidence la présence des facteurs de croissance PDGF et TGF- β dans le PRP
- La seconde veut identifier les récepteurs au PDGF et les récepteurs à TGF- β dans le matériau de greffe autogène.

Le temps observé pour la cicatrisation osseuse est de 6 mois et des radiographies panoramiques sont réalisées à 2, 4 et 6 mois ; elles sont interprétées par deux opérateurs qui évaluent l'« âge » de la greffe à chaque intervalle. Les critères d'évaluation ne sont pas précisés.

Le ratio maturité estimée (radiographiquement)/ maturité actuelle de la greffe (temps de cicatrisation écoulé) donnent un indice de maturité de la greffe.

A 6 mois, lors de la mise en place des implants, un prélèvement osseux de 2,9 mm de diamètre est réalisé pour étude histomorphométrique et immunohistochimique par comparaison à dix prélèvements opérés en zone hors greffe dans le corps de la mandibule.

Les résultats sont les suivants :

- La concentration plaquettaire moyenne du PRP est de 785000/ μ L ce qui représente une augmentation de 338% par rapport à la concentration plaquettaire du sang.
- Les études immunohistochimiques confirment la présence à l'intérieur du PRP de PDGF et de TGF- β , ainsi que la présence de récepteurs à ces facteurs de croissance dans le matériau de greffe autogène.
- L'indice de maturité de greffe pour l'association os autogène/PRP est de 2,16 à 2 mois, 1,88 à 4 mois et 1,62 à 6 mois ; donc, selon ces auteurs, la cicatrisation osseuse du mélange PRP/os autogène est presque 2 fois plus rapide jusqu'à 4 mois qu'avec de l'os autogène seul.
- L'étude immunohistochimique à 6 mois montre une production continue de TGF- β par les cellules souches de la moelle et par les ostéoblastes endostés, mais pas du PDGF.
- Les résultats de l'étude histomorphométrique sont les suivants :
La densité de trabéculatation osseuse est de $38,9 \pm 6\%$ pour l'os originel, de $55,1 \pm 8\%$ pour l'os greffé et de $74,0 \pm 11\%$ pour l'os greffé avec du PRP.

Les auteurs concluent que l'utilisation du PRP augmente et accélère la formation osseuse lorsqu'il est associé à une greffe autogène.

Ces propriétés peuvent être attribuées aux facteurs de croissance d'origine plaquettaire (TGF- β et PDGF essentiellement) séquestrés et concentrés dans le PRP et à leurs actions sur les cellules souches osseuses présentes dans l'os de greffe autogène mais aussi sur les préostéoblastes situés dans les espaces périostés.

Sanchez *et al.* (2003) reprochent à cette étude l'absence d'explication sur la procédure de randomisation des deux groupes ainsi que sur la détermination des critères de l'index de maturité de la greffe, même s'ils citent cette étude comme étant la première et la plus convaincante sur l'utilisation du PRP en association avec une greffe osseuse. (62)

6.3.1.2 Etude de Anitua (1999) (3)

Cette étude concerne 20 patients devant subir des extractions dentaires (en raison de pathologie parodontale sévère ou de fracture radiculaire verticale) puis une réhabilitation prothétique implanto portée du site édenté.

Le PRP est utilisé seul ou en association avec de l'os autogène.

Cinq patients sont traités avec du PRP seul, cinq autres avec de l'os autogène mélangé à du PRP.

Les dix patients restants servent de contrôle.

A cette étude s'ajoutent 3 patients devant subir des extractions multiples, pour lesquels du PRP est placé d'un côté de la cavité buccale, l'autre servant de site contrôle.

Lors de la chirurgie implantaire (entre 10 et 16 semaines post extraction), des prélèvements osseux et leur biopsie sont réalisés.

Les résultats décrits sont les suivants :

- Anitua observe une régénération totale du volume osseux pour 8 des 10 patients ayant reçu du PRP. Ces résultats sont basés sur le sondage parodontal et l'observation clinique. Les biopsies de ces 8 sites montrent un os compact mature.
- Pour deux sites ayant reçu du PRP, la biopsie révèle un os partiellement régénéré.
- Pour les dix patients du groupe contrôle, la cicatrisation se résume principalement en la présence de tissu conjonctif, sans trace d'os mature.
- Pour les trois patients ayant subi des extractions multiples, les sites ayant reçu du PRP montrent une plus grande maturité osseuse et une plus grande quantité d'os régénéré.

Selon cet auteur, les sites traités avec du PRP présentent trois avantages importants : une réépithélialisation rapide du site opératoire, une quantité plus importante d'os régénéré ainsi qu'une augmentation de sa maturité.

6.3.1.3 Etude de Kassolis *et al.* (2000) (40)

Cette étude porte sur 15 patients pour lesquels l'indication d'une chirurgie d'élévation du sinus maxillaire ou d'augmentation de la crête alvéolaire est posée, avant traitement implantaire. Le matériau de greffe utilisé pour tous les sites (14 sites au niveau du sinus, 3 au niveau de la crête maxillaire) est un mélange de DFDBA et de PRP (0,5 g / 2 cc PRP).

Au cours de cette chirurgie de régénération osseuse, 29 implants (sur un total de 36) sont posés lorsque la hauteur résiduelle d'os permet la stabilité initiale de l'implant (supérieure ou égale à 5 mm). Après comblement avec le matériau de greffe, le site est recouvert d'une membrane de PRP.

Après un délai de cicatrisation de 4 à 5 mois, des prélèvements en vue de biopsie sont réalisés lors de la mise en place de trois nouveaux implants. Au cours de cette deuxième chirurgie, quatre implants défailants sont retirés et remplacés, les sites implantaires des 25 autres sont observés cliniquement.

Les résultats indiquent que 32 des implants (89 %) présentent un succès clinique (toute la surface de l'implant est recouverte d'os ; absence de mobilité) et radiologique (aucune perte osseuse ou radio clarté péri-implantaire).

L'évaluation histologique des biopsies de matériau de greffe révèle de nombreuses aires de formation osseuse autour des particules de DFDBA, sans mise en évidence d'infiltrat cellulaire inflammatoire.

Les auteurs concluent que l'association FDBA /PRP représente une alternative thérapeutique intéressante pour la préparation des sites implantaires.

Sánchez *et al.* (2003) (62) déplorent l'absence d'un groupe contrôle et un protocole d'étude adéquat.

6.3.1.4 Etude de Shanaman *et al.* (2001) (64)

Cette étude porte sur trois patients désireux d'un traitement prothétique implantoporté nécessitant, au préalable une augmentation verticale et horizontale de la crête alvéolaire. Pour chacun de ces patients, les auteurs utilisent l'association PRP et un matériau de greffe osseuse allogène (DFDBA).

Le PRP est collecté dans une banque de sang le jour de l'intervention, est conservé dans un récipient étanche et apporté par le patient au cabinet dentaire. Lors de l'intervention, le PRP et le DFDBA sont mélangés, puis du chlorure de calcium et de la thrombine bovine sont ajoutés pour initier la coagulation.

Une fois le greffon mis en place, une membrane de ROG est appliquée et le lambeau muco-périosté est suturé.

Lors de la chirurgie implantaire (entre 5 et 6 mois après la chirurgie de régénération osseuse), un prélèvement osseux est réalisé avec un trépan de 2 mm de diamètre, la hauteur des carottes d'os varie entre 6 et 10 mm selon la longueur de l'implant choisi. La biopsie est prélevée dans le volume osseux augmenté.

Voici le détail pour chaque patient des techniques de ROG utilisées :

1^{er} patient : un mélange de DFDBA (70%) et d'os autogène (30%) est associé à du PRP et placé jusqu'à remplir le défaut. Puis une membrane en PTFE-e renforcée au titane est placée et vissée pour recouvrir tout le secteur greffé.

2^{ème} patient : l'os cortical est perforé avec une fraise boule ; un mélange de Bio Gran (3I/Orthovita) (20%), de DFDBA (60%) et d'os autogène (20%) est associé au PRP et mis en place sur la crête puis recouvert par une membrane en PTFE-e fixée.

3^{ème} patient : l'os cortical est perforé, un support en titane est fixé, puis le mélange PRP (20%) et DFDBA (80%) est mis en place. Le tout est recouvert par une membrane Bio-Gide (Geistlich).

Les résultats évoqués sont les suivants :

- L'association PRP/ DFDBA permet d'obtenir un matériau facile à manipuler et restant bien en place au niveau du site opératoire.
- Cliniquement, les techniques d'augmentation de volume de crête avec du PRP, divers matériaux de comblement et des membranes aboutissent à la régénération de l'os alvéolaire dans le sens vertical et horizontal, facilitant ainsi la mise en place ultérieure d'implants.
- Les résultats sont comparables à d'autres études de ROG classique.
- Le PRP n'a pas de propriétés ostéoconductrices vu la nécessité de réaliser une deuxième technique de régénération après le délai observé pour le premier et le dernier patient.
- L'évaluation du réel effet du PRP sur la cicatrisation osseuse est compliquée par d'autres variables que sont l'ajout d'os autogène au mélange, la diversité des substituts osseux et membranes utilisés, l'utilisation de thrombine bovine « sur ajoutée » sur le matériau de comblement et les perforations de la corticale osseuse.

Sánchez *et al.* (2003) parlent de « conclusions nulles » en raison d'un modèle expérimental inapproprié. (62)

RE Marx (2004) reproche l'effectif de l'échantillon, la confusion dans la discussion des résultats, l'absence de site contrôle. (50)

6.3.1.5 Etude de Froum *et al.* (2002) (29)

Ces auteurs présentent un rapport de trois cas cliniques de sinus lift bilatéraux utilisant soit de l'os bovin inorganique seul soit additionné à du PRP.

Le jour de la chirurgie pour le patient 3, deux implants tests miniatures (2 mm de diamètre sur 10 mm de long) sont insérés à travers l'os cortical dans le sinus greffé. La mise en place d'implants permanents est réalisée à sept mois, sept mois et demi, et 11 mois respectivement pour les patients 1,2, et 3 et permet le prélèvement osseux au moyen d'un trépan de 3 mm de diamètre. Les implants tests sont retirés de la même façon pour une étude histomorphométrique.

L'analyse histomorphométrique révèle les mêmes pourcentages d'os vital entre le groupe expérimental et le groupe contrôle ; les deux implants tests placés du côté expérimental montrent un pourcentage du contact os implants légèrement plus élevé (37,6 % et 38,8 %) que les deux implants tests placés dans le sinus contrôle (33,8 %).

Les auteurs concluent que le PRP n'entraîne pas de différence significative dans la quantité d'os néoformé et dans le contact os implants. Selon eux, ce manque de résultats pourrait être lié à l'absence de cellules ostéogéniques à l'intérieur des

greffes ; il leur semble donc préférable d'utiliser de l'os autogène pour obtenir de meilleurs résultats avec le PRP.

Sanchez *et al.* (2003) reprochent à cette étude ses conclusions hâtives liées à son peu de rigueur dans la méthode employée. (62)

Marx appuie cette critique en soulignant l'introduction de différentes variables : l'utilisation de membrane de ROG pour un patient, l'adjonction d'os autogène pour un autre...sur un échantillon de seulement 3 patients ; de plus, l'étude ne fournit pas de données sur la concentration plaquettaires des PRP obtenus. (50)

6.3.1.6 Etude de Wiltfang *et al.* (2003) (77)

Cette étude vise à mettre en évidence les propriétés du PRP lorsqu'il est associé à du β -TCP (Cerasorb®) dans une chirurgie d'élévation du plancher sinusal.

45 élévations de sinus sont réalisées chez 39 patients en préalable à un traitement implantaire.

Pour 22 sites, du PRP (kit-PRP de Curasan®) est mélangé au β -TCP ; les 23 sites restants servent de groupe contrôle et n'utilise donc que les propriétés du β -TCP.

La chirurgie implantaire est programmée après 6 mois de cicatrisation et permet la réalisation de prélèvements osseux en vue d'une étude histologique et histomorphométrique.

Les résultats donnés par cette étude prospective indiquent que la formation osseuse est supérieure dans le groupe avec PRP (38 %) par rapport au groupe contrôle (29 %). Le contact os/particules de β -TCP est de 15 % dans le groupe contrôle et 13,8 % dans le groupe PRP. Les auteurs signalent la présence de cellules géantes de défense dans le groupe PRP en nombre plus important que dans le groupe contrôle. Aucune différence dans la dégradation du matériau de comblement n'est observée entre les deux groupes.

6.3.1.7 Etude de Oyama *et al.* (2004) (55)

Dans cette étude, les auteurs procèdent à l'évaluation de l'efficacité du PRP lorsqu'il est incorporé à de l'os autologue d'origine iliaque dans le cadre d'une reconstruction de l'os alvéolaire.

Sept patients (âge moyen : 16,1 ans) présentant des fentes plus ou moins étendues mais toutes associées à l'absence de l'incisive latérale et de l'os alvéolaire correspondant à cette topographie, bénéficient d'une reconstruction par greffe d'os iliaque mélangé à du PRP. Cinq autres patients (âge moyen : 16,4 ans), servant de cas témoins pour cette étude, sont traités par greffe autologue sans adjonction de PRP.

L'évaluation de la quantité d'os régénéré est faite par étude comparative de mesures issues de tomodographies tridimensionnelles numérisées ; ces scanners sont réalisés en préopératoire puis entre 5 et 6 mois post-opératoires. Ces clichés répondent à des critères de reproductibilité précis (voltage, plan occlusal choisi comme référence...).

Les résultats sont les suivants :

- Les suites post opératoires sont bien tolérées.
- Le gain osseux moyen régénéré est de 80,19% pour la technique utilisant le PRP et de 63,67% pour la greffe autogène seule.

Le PRP permet donc d'augmenter la régénération osseuse.

6.3.1.8 Etude de Kassolis et Reynolds (2005) (41)

Cette étude randomisée, réalisée en simple aveugle, compare les propriétés de l'association PRP/ FDBA et celle du FDBA /membrane de ROG lors d'une chirurgie de comblement du sinus maxillaire, étape préalable à la mise en place d'implants.

Dix patients participent à cette étude ; l'augmentation bilatérale des sinus permet de définir plusieurs sites recevant soit du PRP/FDBA soit l'association FDBA/membrane. Lors de la chirurgie implantaire (entre 4,5 et 6 mois après la greffe), des prélèvements osseux sont réalisés en vue d'une analyse histomorphométrique.

Les résultats évoquent un pourcentage significativement plus élevé de tissu vital avec un traitement associant FDBA et PRP (78,8 %) qu'avec la combinaison membrane et FDBA (63 %). Le pourcentage de formation osseuse dans la technique utilisant le PRP n'est pas significativement plus élevé que dans la technique membrane/FDBA. Par contre, en comparant le ratio os vital/particules résiduelles de greffe, une différence significative est observée : le ratio est de 0,98 pour la technique membrane/FDBA et de 1,82 pour la technique FDBA/PRP.

Ces résultats suggèrent que la combinaison FDBA/PRP favorise le taux de formation osseuse par rapport à celle utilisant l'association membrane/FDBA lors d'une chirurgie de comblement sinusien.

6.3.1.9 Etude de Sammartino (2005) (61)

Cette étude récente a pour sujet l'utilisation du PRP dans le cadre de la prévention et de la réparation des complications parodontales en distal des deuxièmes molaires consécutives à l'extraction de dents de sagesse mandibulaires enclavées.

18 patients âgés de 21 à 26 ans sont inclus dans l'étude ; les critères d'inclusion sont la présence des deux dents de sagesse mandibulaires enclavées avec pour

chacune une poche en distal de la seconde molaire présentant au sondage une profondeur supérieure ou égale à 7,5 mm et une perte d'attache supérieure ou égale à 6 mm. De plus, le défaut post extractionnel doit présenter une corticale vestibulaire et linguale intacte.

18 sites sont remplis de PRP (sites témoins), 18 autres sont laissés vides (sites contrôles).

Un orthopantomogramme et des clichés radiologiques intra-oraux sont pris à 12 et à 18 semaines post-opératoires. De plus, des prélèvements osseux sont réalisés à 12 semaines sur les sites témoins en vue d'une biopsie.

Les résultats indiquent une diminution significative de la profondeur de poche (passant de $8,89 \pm 1,01$ mm à $4,13 \pm 1,34$ mm), une amélioration du niveau d'attache et une néoformation osseuse pour les sites traités avec le PRP à 12 semaines post-opératoires.

Selon les auteurs, le PRP est efficace pour induire et accélérer la régénération osseuse pour le traitement des défauts parodontaux au niveau des racines distales des secondes molaires mandibulaires consécutifs à l'extraction de dents de sagesse enclavées.

6.3.2 Concernant le PRF

Etude de Choukroun et col. (2004) (15)

Face à l'absence totale de travaux sur le PRF, et pour appuyer les propriétés décrites dans les précédents articles (voir paragraphe 3.1.3), les auteurs entreprennent une étude histologique de prélèvements osseux issus d'une série de comblements de sinus réalisés avec de l'os allogénique Phoenix de TBF®, avec ou sans PRF. L'échantillon testé comprend neuf patients. L'association avec du

PRF a été effectuée dans six sinus. Les caillots de PRF récupérés sont utilisés de deux façons :

- certains sont placés dans une cupule stérile et découpés en fragments de quelques mm³ afin de pouvoir les mélanger aux prélèvements osseux et constituer ainsi une masse de matériau de greffe homogène ;
- d'autres sont placés sur des compresses stériles et comprimés afin d'obtenir des membranes de fibrine qui seront plaquées au fond du sinus contre la membrane sinusienne afin de prévenir toute déchirure, par-dessus le matériau de comblement avant fermeture du site et enfin juste sous le trait d'incision pour accélérer la cicatrisation muco-gingivale.

Le temps de cicatrisation observé est de quatre mois avant la pose des implants et la récupération de carottes osseuses en vue d'une analyse histologique.

Pour les trois patients traités sans PRF, la pose des implants et le prélèvement osseux ne sont réalisés qu'au bout de huit mois en raison d'un aspect radiologique défavorable.

Les fragments osseux collectés sont préparés selon deux protocoles de coloration différents, puis les lames sont analysées de façon manuelle et informatisée. A partir des images numériques, les différentes composantes osseuses sont séparées et mesurées en nombre de pixels à l'aide d'un logiciel d'analyse d'images. Les mesures de chaque composante sont ensuite exprimées en pourcentage de la surface totale de chaque biopsie.

L'évaluation des quantités d'os néoformé est réalisée par observation minutieuse de la vitalité osseuse signée par la présence dans les ostéoplastes d'un corps cellulaire bien distinct. Cette évaluation soumise au jugement de l'opérateur est réalisée par trois laboratoires différents afin de neutraliser au mieux ce biais technique.

Les résultats sont les suivants :

- Les analyses préliminaires permettent de mettre en évidence des travées osseuses riches en ostéocytes avec des bordures ostéoïdes importantes, en rapport avec des fronts cellulaires denses d'ostéoblastes. Au niveau des parties les plus apicales des prélèvements, sont observées des travées moins massives, plus espacées et parfois entourées de tissu adipeux, signant l'impossibilité chirurgicale d'un placement parfaitement homogène du greffon dans l'ensemble de la cavité sinusienne.
- Au niveau de l'analyse de la vitalité osseuse, on observe environ un 1/3 d'os inerte greffé pour 2/3 d'os vivant néoformé.
- Le remaniement osseux concerne l'ensemble du prélèvement qu'il s'agisse de greffons avec PRF à quatre mois ou sans à huit mois.

L'adjonction de PRF au matériau de comblement osseux permet d'augmenter le volume du greffon sans nuire à la qualité de sa maturation. Cette constatation permet d'envisager de limiter le volume de certains prélèvements osseux au cours des chirurgies de greffe.

Les auteurs concluent que l'adjonction de PRF semble raccourcir le temps de maturation d'une greffe avant implantation.

6.4 Les résultats

Les tableaux suivants (Figures 32 et 33) permettent de faire la synthèse des différentes études décrites au paragraphe 6.3 concernant le rôle du PRP dans la régénération osseuse.

	Etude	Matériau de comblement	Modèle	Echantillon étudié (nombre de cas)	Résultat	Type d'étude
I N V I T R O	Slater <i>et al.</i> 1995	-	ostéoblastes fœtaux humains		+	Histologique biochimique
	Gruber <i>et al.</i> 2002	-	ostéoblastes humains d'adultes	-	+	Histologique biochimique
	Choi <i>et al.</i> 2005	-	ostéoblastes d'os alvéolaire de chiens	-	+ à faible concentration - à forte concentration	Histologique
I N V I V O	Fennis <i>et al.</i> 2002	os autogène	défaut interrupteur de la mandibule chez la chèvre	28	+	Radiologique
	Aghaloo <i>et al.</i> 2002	os autogène	défaut osseux du crâne chez le lapin	15	0	Radiologique et histomorphométrique
	Zechner <i>et al.</i> 2003	-	défaut péri-implantaire chez le mini porc adulte	12	+	Histomorphométrique
	Weibrich <i>et al.</i> 2004	-	défaut péri-implantaire dans les fémurs de lapin	20	+ quand la concentration plaquettaire est intermédiaire	Histomorphométrique
	Fennis <i>et al.</i> 2005	os autogène irradié	défaut interrupteur de la mandibule chez la chèvre	12	+/-	Radiologique et histomorphométrique
	Aghaloo <i>et al.</i> 2005	os sec allogénique congelé déminéralisé ou non	défaut osseux du crâne chez le lapin	15	+ mais non significatif	Radiologique et histomorphométrique

Figure 32 : Tableau comparatif des différentes études menées *in vitro* et *in vivo* sur l'utilisation du PRP dans un objectif de régénération osseuse.

	Etude	Matériau de comblement	Modèle	Echantillon étudié (nombre de cas)	Résultat	Type d'étude
ÉTUDES CLINIQUES	Marx <i>et al.</i> 1998	os autogène	défaut interrupteur de la mandibule	44	+	Radiologique et histomorphométrique
	Anitua 1999	os autogène	alvéole d'extraction	20 + 3	+	Histologique et clinique
	Kassolis <i>et al.</i> 2000	DFDBA	élévation du sinus ou chirurgie d'augmentation de crête	15	+	Histologique, clinique et radiologique
	Shanaman <i>et al.</i> 2001	DFDBA os autogène biogran (+ membrane de ROG)	comblement de sinus	3	difficile d'interprétation (+)	Histologique et clinique
	Froum <i>et al.</i> 2002	os bovin inorganique	comblement de sinus et deux implants tests	3	0	Histomorphométrique
	Wiltfang <i>et al.</i> 2003	TCP	comblement de sinus	39	+	Histomorphométrique
	Oyama <i>et al.</i> 2004	os autologue	greffe osseuse alvéolaire	12	+	Radiologique
	Kassolis et Reynolds 2005	FDBA (membrane de ROG)	comblement sinus	10	+	Histomorphométrique
	Sammartino 2005	-	défaut consécutif à l'extraction d'une dent de sagesse incluse mandibulaire	18	+	Radiologique, histologique et clinique

Figure 33 : Tableau comparatif des différentes études cliniques concernant l'utilisation du PRP dans un objectif de régénération osseuse.

6.4.1 Les résultats cliniques

6.4.1.1 Au niveau des tissus mous (3, 30, 41, 49, 55, 64)

La plupart des auteurs signalent dans leurs travaux des suites post opératoires excellentes (moins de douleurs postopératoires, moins de complications infectieuses ou mécaniques (décollement)) et une rapidité de cicatrisation des tissus superficiels autorisant le retrait des fils de suture dans un délai très court (de l'ordre de 48h).

La cicatrisation muco-gingivale étant fondée sur une colonisation rapide du site et un remodelage linéaire, elle est logiquement stimulée par les synergies de signaux biologiques issus du gel de plaquettes (dont les propriétés adhésives sont importantes) : fibrine et cytokines très actives sur les lignées fibroblastiques et endothéliales.

6.4.1.2 Au niveau des tissus durs (49, 52, 62, 77)

Dans une publication de 2003 (62), Sanchez *et al.* essaient de déterminer si le PRP est réellement efficace sur la régénération osseuse au travers des différentes études publiées sur le sujet. Les critiques formulées (concernant les échantillons de taille souvent très réduites, le manque de clarté dans la randomisation, l'absence fréquente de groupes contrôle) sont précisées dans les études décrites au paragraphe 6.3.

Seule, l'étude de Marx *et al.* en 1998 fait preuve de rigueur scientifique et met clairement en évidence l'intérêt de l'utilisation du PRP lorsqu'il est mélangé à de l'os autogène pour la régénération osseuse.

L'étude de Wiltschko *et al.* 2003 (77) montre une augmentation de 9% d'os néoformé lors de l'association PRP/PTC.

Les autres études cliniques ne sont que des rapports de cas ; même si la plupart mettent en évidence un intérêt dans l'utilisation du PRP pour la régénération osseuse, aucun résultat scientifique ne peut être établi.

Marx en 2004 (52) regrette la confusion concernant l'interprétation des résultats de telles études, et redéfinit les critères d'obtention et de manipulation du PRP.

6.4.2 Les résultats radiologiques (40, 49, 55)

Plusieurs études utilisent des données radiologiques de façon à quantifier la maturation osseuse des sites étudiés.

Marx *et al.* (49) utilisent un indice de maturité (voir paragraphe 6.3.1.1) pour évaluer la régénération osseuse des greffons osseux traités ou non avec du PRP à des intervalles de temps différents : 2, 4 et 6 mois. Les résultats, indiqués dans le tableau suivant, démontrent l'intérêt de l'utilisation du PRP.

Date	Greffon osseux	Greffon osseux +PRP
2 mois	0,92	2,16
4 mois	0,88	1,88
6 mois	1,06	1,62

Figure 34 : Indice de maturité de la greffe.
D'après Marx *et al.* (1998).

Kassolis *et al.* (voir paragraphe 6.3.1.3) n'observent radiologiquement aucune perte osseuse ou radio clarté péri-implantaire pour les 32 implants traités avec du PRP et présentant un succès clinique.

Mais, selon Sanchez *et al.*, l'absence de groupe contrôle empêche toute conclusion valable.

Oyama *et al.* (2004) étudient radiologiquement l'efficacité du PRP lorsqu'il est incorporé à de l'os autologue d'origine iliaque dans le cadre d'une reconstruction de l'os alvéolaire (voir paragraphe 6.3.1.7). L'évaluation de la quantité d'os régénéré est faite par étude comparative de mesures (distances entre des repères anatomiques précis servant au calcul du volume osseux obtenu) issues de tomodographies tridimensionnelles numérisées ; ces scanners sont réalisés en préopératoire puis entre 5 et 6 mois post-opératoires. Les résultats mettent en évidence un gain osseux moyen de 80,19% pour la technique utilisant le PRP et de 63,67% pour la greffe autogène seule, montrant l'intérêt de l'utilisation du PRP pour l'augmentation de la régénération osseuse.

6.4.3 Les résultats histologiques (3, 29, 40, 49)

Dans l'étude de Marx (1998) (voir paragraphe 6.3.1.1), l'analyse histomorphométrique des différents prélèvements osseux (os natif mandibulaire, greffe autogène avec PRP et greffe autogène sans PRP) met en évidence :

- Une densité en trabécules osseuses supérieure pour l'os traité avec le PRP (74%) que pour la greffe autogène seule (55,1%). L'os natif atteint un score de 38,9%.
- Le PRP est riche en PDGF et TGF- β .
- Les cellules du greffon présentent des récepteurs à PDGF et TGF- β ; cette observation fait de l'os autogène le « gold standard » pour le choix du matériau de comblement.
- Le TGF- β est encore présent sur les sites greffés à 6 mois, contrairement au PDGF.

Rejoignant Marx, Anitua (1999) déduit de ses résultats que le matériau idéal de comblement osseux associé au PRP est l'os autogène ; cette observation sera aussi celle de Kassolis *et al.* (2000) et de Froum *et al.* en 2002.

En 2004, Marx (52) précise : puisque le PRP stimule les cellules ostéoprogénitrices du site osseux receveur et celles de l'os autogène de greffe, en fonction du volume osseux à régénérer, l'os autogène peut être utilisé seul en tant que matériau de comblement, ou peut être utilisé en association avec d'autres substituts osseux (20% minimum d'os autogène).

L'utilisation des concentrés plaquettaires est encore récente. Les techniques de production sont au nombre de trois : la plasmaphérèse discontinue, les techniques de production au bloc opératoire et le PRF®.

Les travaux de Marx *et al.* en 1998 utilisent la technique de production par plasmaphérèse discontinue aboutissant à des volumes de plasma avec une concentration plaquettaire de l'ordre de 785 000/mL. Ce type de PRP a fait preuve de son efficacité.

Les techniques de production au fauteuil permettent d'obtenir des PRP avec des concentrations plaquettaires plus élevées ; on note aussi la présence de leucocytes. Ces techniques ont pour caractéristique d'être procédé et opérateur dépendantes. Les PRP produits ont alors trois sources de facteurs de croissance : le plasma, les plaquettes et les leucocytes (Weibrich *et al.*, 2003) (74). Les concentrations plaquettaires ainsi que celles en facteurs de croissance varient selon le procédé utilisé (voir les tableaux des figures 25 et 26).

Le PRF®, comme les PRP produits au fauteuil, contient des plaquettes en nombre élevé, mais aussi des leucocytes et des facteurs de croissance. Dohan et col. (2004) (23) (voir paragraphe 3.2.3.2) évoquent un mode de polymérisation progressif du PRF® qui permet une meilleure incorporation des cytokines au sein des mailles du réseau de fibrine et implique une durée de vie accrue pour ces cytokines, puisqu'elles ne seront libérées et utilisées qu'au moment du remodelage de la matrice cicatricielle initiale, lors de la dénudation du brin de fibrine. Toujours selon eux, le PRF® possède une concentration plus élevée en PDGF-BB et TGF- β 1 que les PRP produits au fauteuil.

Le praticien a donc à sa disposition différents procédés d'obtention de concentré plaquettaire ; le choix entre PRP et PRF® se fera après évaluation de différents critères :

- La facilité de mise en oeuvre et le temps total de réalisation : l'avantage est au PRF® (voir le tableau comparatif en figure 24). Le PRF® ne nécessite aucune manipulation chimique du sang.
- Les données scientifiques publiées : le PRP a fait l'objet de plusieurs publications internationales. Le PRF® (encore récent) n'a à son actif que très peu de publications scientifiques.
- La facilité de manipulation avec des matériaux de substitution osseuse : l'avantage est au PRP puisque dans le cas du PRF®, le caillot est déjà formé lorsqu'il est associé à un matériau de comblement ; la masse obtenue est donc moins homogène qu'avec utilisation du PRP.
- Le PRF® peut s'utiliser sous forme de « membrane ».
- D'autres critères restent encore en suspens : la concentration optimale en plaquettes et en facteurs de croissance, l'importance de la configuration du réseau de fibrine.

L'étude de Choi *et al.* (2005) (13) semble montrer qu'une concentration plaquettaire trop élevée inhibe la vitalité et la prolifération cellulaire d'ostéoblastes alvéolaires *in vitro* (voir paragraphe 6.1.3).

L'étude de Slater *et al.* (1995) indique que la stimulation des ostéoblastes par le concentré plaquettaire est dose dépendante (voir paragraphe 6.1.1) et concluent qu'une concentration en facteurs de croissance maximale doit être recherchée. Rappelons cependant que l'action des concentrés plaquettaires est aussi dépendante du nombre de cellules ostéocompétentes présentes sur le site (cellules du site receveur et cellules de particules d'os autogène éventuellement greffées).

Concernant la configuration du réseau de fibrine, Choukroun J et col., (2004) décrivent pour le PRF® une matrice de fibrine polymérisée en une architecture trimoléculaire ou équilatérale permettant l'incorporation intrinsèque dans ses mailles des cytokines plaquettaires et leucocytaires, des plaquettes, des leucocytes et également quelques cellules souches circulantes.

PRP ou PRF®, ces deux concentrés plaquettaires autologues riches en facteurs de croissance suscitent beaucoup d'intérêt et laissent entrevoir des résultats cliniques plus prédictifs et un élargissement des indications de la ROG aux patients diabétiques, fumeurs...

La plupart des auteurs admettent que des études supplémentaires sont nécessaires pour prouver le rôle de ces concentrés plaquettaires sur la régénération osseuse. L'absence d'influence des différences de concentration et de proportion en facteurs de croissance sur l'activité biologique reste à confirmer. Par ailleurs, la concentration minimale efficace pour chaque facteur de croissance est à définir ; de même que le support ou le matériau de comblement utilisé en association avec ces facteurs.

L'évaluation des risques corrélés à l'usage de ces concentrés plaquettaires doit aussi être établie.

Outre les facteurs de croissance plaquettaires, les BMP représentent un intérêt clinique particulier dans le cadre de la régénération osseuse de par leurs propriétés ostéo inductrices. La littérature rapporte deux études *in vivo* réalisées par Roldan *et al.* en 2004 ayant pour objectif de comparer l'utilisation du PRP et de la protéine osseuse morphogénétique recombinante humaine 7 (rhBMP-7 : recombinant human bone morphogenetic protein-7). La première étude (57) porte sur la néoformation osseuse obtenue lors d'une chirurgie d'augmentation mandibulaire chez 28 rats ; quatre sites sont étudiés pour chaque animal : pour chaque côté, les deux sites mandibulaires sont comblés l'un par de l'os autogène, l'autre par de l'os d'origine bovine ; sur le côté-test, les deux sites sont traités par l'ajout de rhBMP-7 ou de PRP. Les animaux sont sacrifiés 50 jours après la chirurgie. Les analyses histomorphométriques semblent montrer que la stimulation osseuse maximale est obtenue par l'association os d'origine bovine/ rhBMP-7 .

La seconde étude (58) a pour but d'évaluer le schéma de formation osseuse lors de l'utilisation du PRP par comparaison avec utilisation de rhBMP-7 chez cinq mini porcs devant subir une augmentation sinusienne bilatérale avec mise en place d'un implant dentaire. Les analyses micro radiographiques et histomorphométriques tendent à démontrer des résultats supérieurs en termes de gain en hauteur osseuse et en surface d'ostéo intégration lors de l'utilisation de rhBMP-7 par rapport à celle du PRP.

Ces deux études sont à ce jour les seules rapportées par la littérature comparant l'utilisation des protéines morphogénétiques osseuses et celle du PRP. Les échantillons testés sont en nombre réduit et l'on peut aussi reprocher le protocole d'obtention du PRP modifié en raison du faible poids des animaux testés.

Partant de ces faits, d'autres études sont donc fortement souhaitées.

La recherche dans le domaine de la bio-ingénierie de la régénération osseuse a pour base l'étude du comportement biologique des autogreffes montrant que le développement vasculaire et l'induction de la formation osseuse revêtent une importance fondamentale dans l'intégration des greffons osseux. Puisqu'il est établi que les BMP ont des propriétés ostéo-inductrices et que les concentrés plaquettaires autogènes comprennent, entre autres, du PDGF favorisant la néoangiogenèse, l'association PRP ou PRF® avec des rhBMP pourrait représenter une perspective intéressante pour une régénération osseuse totale.

La libération de facteurs de croissance à partir d'un support est sujette à de nombreuses études, le vecteur idéal n'ayant pas encore été trouvé (voir paragraphe 4.1.4.7), mais déjà, l'avenir dans le domaine de la bio-ingénierie osseuse est à la thérapie génique *ex vivo*, à la transgénèse *in situ* et aux matrices plasmidiques.

Références Bibliographiques

1. **AGHALOO TL, MOY PK et FREYMILLER EG.**

Investigation of platelet-rich plasma in rabbit cranial defects: A pilot study.
J Oral Maxillofac Surg 2002 ;**60**(10):1176-1181.

2. **AGHALOO TL, MOY PK et FREYMILLER EG.**

§Evaluation of platelet-rich plasma in combination with freeze-dried bone in the rabbit cranium. A pilot study.
Clin Oral Implants Res 2005;**16**(2):250-257.

3. **ANITUA E.**

Plasma Rich in growth factors : Preliminary results of use in the preparation of future sites for implants.
Int J Oral Maxillofac Implants 1999;**14**:529-535.

4. **ANITUA E, ANDIA I, ARDANZA B et coll.**

§Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration.
Thromb Haemost 2004;**91**(1):4-15.

5. **ALLIOT LICHT B et CLERGEAU GUERITHAULT S.**

Les fibroblastes du ligament alvéolo-dentaire.
J Parodontol 1997;**4**:341-353.

6. **APPEL TR, POTZSCH B, MULLER J et coll.**

Comparison of three different preparations of platelet concentrates for growth factor enrichment.
Clin Oral Implants Res 2002 ;**13**(5):522-528.

7. **AURIOL MM, LE CHARPENTIER Y et LE NAOUR G.**

Histologie du parodonte.
Encycl Méd Chir (Paris), Stomatologie/Odonologie, 22-007-C-10, 2000, **23p**.

8. **BERCY P.**

Chapitre 1 : Le parodonte sain et ses modifications histopathologiques.
In : BERCY, TENNENBAUM., eds Parodontologie. Du diagnostic à la pratique.
Bruxelles : De Boeck Université, 1996:13-23.

9. **BOSSHARDT D et SELVIG KA.**

§Dental cementum: the dynamic tissue covering of the root.
Periodontol 2000 1997;**13**:41-75.

10.BOSSHARDT D.

Chapitre 5 : Structure des dents : Ciments.
In : PIETTE, GOLDBERG, eds . La dent normale et pathologique.
Bruxelles : De Boeck Université, 2001:73-83.

11. **CAFFESSE RG et QUINONES CR.**

§Polypeptide growth factors and attachment proteins in periodontal wound healing and regeneration.
Periodontol 2000 1993;**1**:69-79.

12. **CHAVRIER C.**

Facteurs de croissance plaquettaires et cicatrisation.
Implantodontie 2001;**43**:7-12.
<http://www.prf-process.com/publications.html>

13. **CHOI BH, ZHU SJ, KIM BY et coll.**

§Effect of platelet-rich plasma (PRP) concentration on the viability and proliferation of alveolar bone cells: an in vitro study.
Int J Oral Maxillofac Surg 2005;**34**(4):420-424.

14. **CHOUKROUN J, ADDA F, SCHOEFFLER C et VERVELLE A.**

Une opportunité en paro-implantologie: le PRF (Platelet Rich Fibrin).
Implantodontie 2001;**42**:55-62.
<http://www.prf-process.com/publications.html>

15. **CHOUKROUN J, SIMONPIERI A, GIRARD MO et coll.**

Concentrés plaquettaires: technologies, biologie associée, applications cliniques, analyses histologiques. 4^{ème} partie: analyses histologiques.
Implantodontie 2004;**13**:167-172.

16. **CHOUKROUN J, SIMONPIERI A, GIRARD MO et coll.**

Platelet Rich Fibrin (PRF): un nouveau biomatériau de cicatrisation.
Biotechnologies et fibrine, plaquettes et cytokines, aspects immunitaires, implications thérapeutiques. 4^{ème} partie : implications thérapeutiques.
Implantodontie 2004;**13**:229-235.

17. **COCHRAN DL, NUMMIKOSKI PV, JONES AA et coll.**
§Radiographic analysis of regenerated bone around endosseous implants in the canine using recombinant human bone morphogenetic protein-2.
Int J Oral Maxillofac Implants 1997;**12**(6):739-748.
18. **CURASAN PD GU** (Laboratoire)
Comment produit-on le PRP ?
Sarreguemines : Curasan PDGU, 2001.
19. **DE REVEL T et DOGHMI K.**
Physiologie de l'hémostase.
Encycl Méd Chir (Paris), Stomatologie, 22-009-D-20, 2004, **8p**.
20. **DISS A, HITZIG C, CHARBIT Y et SALSOU B.**
Le point sur les facteurs de croissance dans la régénération osseuse: revue de littérature.
J Parodontol Implantol Orale 2003;**22**:5-19.
21. **DOHAN S, CHOUKROUN J, DOHAN A et coll.**
Platelet Rich Fibrin (PRF): un nouveau biomatériau de cicatrisation.
Biotechnologies et fibrine, plaquettes et cytokines, aspects immunitaires, implications thérapeutiques.3ème partie: aspects immunitaires.
Implantodontie 2004;**13**:109-115.
22. **DOHAN S, CHOUKROUN J, DOHAN A et coll.**
Platelet Rich Fibrin (PRF): un nouveau biomatériau de cicatrisation.
Biotechnologies et fibrine, plaquettes et cytokines, aspects immunitaires, implications thérapeutiques.1ère partie: biotechnologies et fibrine.
Implantodontie 2004;**13**(2):87-97.
23. **DOHAN S, CHOUKROUN J, DOHAN A et coll.**
Platelet Rich Fibrin (PRF): un nouveau biomatériau de cicatrisation.
Biotechnologies et fibrine, plaquettes et cytokines, aspects immunitaires, implications thérapeutiques. 2^{ème} partie : plaquettes et cytokines.
Implantodontie 2004;**13**(2)::99-108.
24. **DOHAN D, DONSIMONI JM, NAVARRO G et GAULTIER F.**
Concentrés plaquettaires : technologies, biologie associée, applications cliniques, analyses histologiques. Première partie: technologies.
Implantodontie 2003;**50**:5-16.

25. DOHAN D, DONSIMONI JM, NAVARRO G et GAULTIER F.
Concentrés plaquettaires : technologies, biologie associée, applications cliniques, analyses histologiques. Deuxième partie : biologie associée.
Implantodontie 2003;**50**:17-25.

26. **FENNIS JP, STOELINGA PJ et JANSEN JA.**

§Mandibular reconstruction: a clinical and radiographic animal study on the use of autogenous scaffolds and platelet-rich plasma.
Int J Oral Maxillofac Surg 2002;**31**(3):281-286.

27. **FENNIS JP, STOELINGA PJ et JANSEN JA.**

§Reconstruction of the mandible with an autogenous irradiated cortical scaffold, autogenous corticocancellous bone-graft and autogenous platelet-rich-plasma: an animal experiment.
Int J Oral Maxillofac Surg 2005;**34**(2):158-166.

28. **FREYMILLER EG et AGHALOO TL.**

§Platelet-rich plasma: ready or not?
J Oral Maxillofac Surg 2004;**62**(4):484-488.

29. **FROUM SJ, WALLACE SS, TARNOW DP et CHO SC.**

§Effect of platelet-rich plasma on bone growth and osseointegration in human maxillary sinus grafts: three bilateral case reports.
Int J Periodont Rest Dent 2002;**22**(1):45-53.

30. **GAULTIER F, NAVARRO G, DONSIMONI JM et DOHAN D.**
Concentrés plaquettaires : technologies, biologie associée, applications cliniques, analyses histologiques. 3e partie : applications cliniques.
Implantodontie 2004;**13**(1):3-11.

31. GIANNOBILE W.

Periodontal Tissue Regeneration by Polypeptide Growth Factors and Gene Transfer.
In: LYNCH, GENCO, MARX., eds. Tissue Engineering: applications in maxillofacial surgery and periodontics.
Chicago: Quintessence Book 1999:231-239.

32. **GOTTLOW J, NYMAN S, KARRING T et LINDHE J.**

§New attachment formation as the result of controlled tissue regeneration.
J Clin Periodontol 1984 ;**11**(8):494-503.

33. **GRUBER R, VARGA F, FISCHER MB et WATZEK G.**

§Platelets stimulate proliferation of bone cells: involvement of platelet-derived growth factor, microparticles and membranes.
Clin Oral Implants Res 2002;**13**(5):529-535.

34. **GUILLIN MC et BEZEAUD A.**

Physiologie de la Coagulation.

In : SAMPOL J, ARNOUX D, BOUTIERE B, ed. Manuel d'Hémostase.
Paris : Elsevier, 1995:37-55.

35. **HANISCH O, TATAKIS DN, BOSKOVIC MM et coll.**

§Bone formation and reosseointegration in peri-implantitis defects following surgical implantation of rhBMP-2.

Int J Oral Maxillofac Implants 1997;**12**(5):604-610.

36. **HANISCH O, TATAKIS DN, ROHRER MD et coll.**

§Bone formation and osseointegration stimulated by rhBMP-2 following subantral augmentation procedures in nonhuman primates.

Int J Oral Maxillofac Implants 1997;**12**(6):785-792.

37. **HARVEST**

Developing technologies for accelerating healing, naturally® Instructions : Quick Setup Protocol – Office

<http://www.harvesttech.com/instructions/office.htm>

38. **HARVEST**

Developing technologies for accelerating healing, naturally®

Biomaterials : SmartPReP®2 APC⁺™

http://www.harvesttech.com/Biomaterials/apc_Plus.htm

39. **JEPSEN S et TERHEYDEN H.**

L'apport des facteurs de croissance et des protéines morphogénétiques à la régénération parodontale et à l'ostéo-intégration.

J Parodontol Implantol Orale 2000;**20**:289-314.

40. **KASSOLIS JD, ROSEN PS et REYNOLDS MA.**

Alveolar ridge and sinus augmentation utilizing platelet-rich plasma in combination with freeze-dried bone allograft: case series.

J Periodontol 2000;**71**:1654-1661.

41. **KASSOLIS JD et REYNOLDS MA.**

§Evaluation of the adjunctive benefits of platelet-rich plasma in subantral sinus augmentation.

J Craniofac Surg 2005 ;**16**(2):280-287.

42. **KLAPISZ-WOLIKOW M.**

Os alvéolaire.

In : GOLDBERG M, ed. Manuel d'Histologie et de Biologie Buccale. La dent et ses tissus de soutien.

Paris : Masson, 1989:109-138.

43. **LANDESBERG R, MOSES M et KARPATKIN M.**

§Risks of using platelet rich plasma gel.

J Oral Maxillofac Surg 1998;**56**(9):1116-1117.

44. **LANDESBERG R, BURKE A, PINSKY D et coll.**

§Activation of platelet-rich plasma using thrombin receptor agonist peptide.

J Oral Maxillofac Surg. 2005 ;**63**(4):529-535.

45. **LEGIFRANCE**

Le service public de l'accès au droit

www.legifrance.gouv.fr

46. **LIU Y, HUNZIKER EB, LAYROLLE P et coll.**

§Bone morphogenetic protein 2 incorporated into biomimetic coatings retains its biological activity.

Tissue Eng 2004 ;**10**(1-2):101-108.

47. **LYNCH SE, BUSER D, HERNANDEZ RA et coll.**

§Effects of the platelet-derived growth factor/insulin-like growth factor-I combination on bone regeneration around titanium dental implants. Results of a pilot study in beagle dogs.

J Periodontol 1991 ;**62**(11):710-716.

48. **MARTINEZ-GONZALEZ JM, CANO-SANCHEZ J, GONZALO-LAFUENTE JC et coll.**

§Do ambulatory-use Platelet-Rich Plasma (PRP) concentrates present risks?

Med Oral 2002;**7**(5):375-390.

49. **MARX RE, CARLSON ER, EICHSTAEDT RM et coll.**

Platelet-rich plasma:Growth factor enhancement for bone grafts.

Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1998;**85**:638-646.

50. **MARX RE.**

Platelet-Rich Plasma: a source of multiple autologous growth factors for bone graft.

In: LYNCH, GENCO, MARX., eds. Tissue Engineering: applications in maxillofacial surgery and periodontics.

Chicago: Quintessence Book, 1999:71-82.

51. **MARX RE.**

Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP?

Implant Dent 2001;**10**(4):225-228.

52.MARX RE.

Platelet-Rich Plasma : Evidence to Support Its Use.

J Oral Maxillofac Surg 2004;**62**:489-496

53. **MELCHER AH.**

On the repair potential of periodontal tissues.

J Periodontol 1976;**47**(5):256-260.

54. **NANCI A, WHITSON SW et BIANCO P.**

Chapter 6 : Bone.

In : A. NANCI, eds. Ten Cate's Oral Histology. Development, Structure, and Function. 6th ed

Saint Louis :Mosby, 2003:111-144.

55. **OYAMA T, NISHIMOTO S, TSUGAWA T et SHIMIZU F.**

Efficacy of platelet-rich plasma in alveolar bone grafting.

J Oral Maxillofac Surg 2004;**62**(5):555-558.

56.PETITE H.

La bio-ingénierie de la régénération osseuse.

Med Sci 2002;**18**:995-1002.

57. **ROLDAN JC, JEPSEN S, MILLER J et coll.**

Bone formation in the presence of platelet-rich plasma vs. Bone morphogenetic protein-7.

Bone 2004;**34**(1):80-90.

58. **ROLDAN JC, JEPSEN S, SCHMIDT C et coll.**

§Sinus floor augmentation with simultaneous placement of dental implants in the presence of platelet-rich plasma or recombinant human bone morphogenetic protein-7.

Clin Oral Implants Res 2004;**15**(6):716-723.

59.ROSENBERG E.

Utilisation des facteurs de croissance pour la régénération osseuse.
J Parodontol Implantol Orale 1999;**18**:301-311.

60. **ROSE LF et ROSENBERG E.**

§Bone grafts and growth and differentiation factors for regenerative therapy: a review.

Pract Proced Aesthet Dent 2001;**13**(9):725-734.

61. **SAMMARTINO G, TIA M, MARENZI G et coll.**

§Use of autologous platelet-rich plasma (PRP) in periodontal defect treatment after extraction of impacted mandibular third molars.

J Oral Maxillofac Surg 2005;**63**(6):766-770.

62. **SANCHEZ AR, SHERIDAN PJ et KUPP LI.**

Is Platelet-rich Plasma the perfect enhancement factor? A current review.

Int J Oral Maxillofac Implants 2003;**18**:93-103.

63. **SAUTIER JM, MORA F et BERNHEIM H.**

Facteurs biologiques intervenant dans la régénération de l'os alvéolaire.

J Parodontol 1993;**12**:237-245.

64. **SHANAMAN R, FILSTEIN MR et DANESH-MEYER MJ.**

Localized ridge augmentation using GBR and platelet rich plasma : case reports.

Int J Periodont Rest Dent 2001;**21**:345-355.

65. **SIMONPIERI A, CHOUKROUN J, GIRARD MO et coll.**

Implantation immédiate post-extractionnelle (IPE): l'intérêt du PRF.

Implantodontie 2004;**13**:177-189.

66. **SLATER M, PATAVA J, KINGHAM K et MASON RS.**

§Involvement of platelets in stimulating osteogenic activity.

J Orthop Res 1995;**13**(5):655-663.

67. **SOMERMAN MJ et NANJI A.**

Chapter 9 : The Periodontium.

In : A. NANJI, ed. Ten Cate's Oral Histology. Development, Structure, and Function. 6th ed.

Saint Louis :Mosby, 2003:241-274.

68. **TEN CATE AR , SHARPE PT, ROY S et NANJI A.**

Chapter 5 : Development of the Tooth and Its Supporting Tissues.

In : A. NANCI. Ten Cate's Oral Histology. Development, Structure, and Function. 6th ed.

Saint Louis :Mosby, 2003:79-110.

69. **TERHEYDEN H, WARNKE P, DUNSCHE A et coll.**

§Mandibular reconstruction with prefabricated vascularized bone grafts using recombinant human osteogenic protein-1: an experimental study in miniature pigs. Part II: transplantation.

Int J Oral Maxillofac Surg 2001;**30**(6):469-478.

70. **TESSIER JF et BAEHNI PC.**

Chapitre 2 : Epidémiologie et étiologie des maladies parodontales.

In : BERCY, TENNENBAUM., eds Parodontologie. Du diagnostic à la pratique.

Bruxelles : De Boeck Université, 1996:25-36.

71. **3I IMPLANT INNOVATION** (Laboratoire).

Platelet Concentrate Collection System

<http://www.3i-online.com/English/products/Regenerative/Platelet-Concentrate-Technology.cfm>

72. **WEIBRICH G, HANSEN T, KLEIS W et coll.**

§Effect of platelet concentration in platelet-rich plasma on peri-implant bone regeneration.

Bone 2004;**34**(4):665-71.

73. **WEIBRICH G, KLEIS WK, KUNZ-KOSTOMANOLAKIS M et coll.**

Correlation of platelet concentration in platelet-rich plasma to the extraction method, age, sex, and platelet count of the donor.

Int J Oral Maxillofac Implants 2001;**16**(5):693-699.

74. **WEIBRICH G, KLEIS WK, HAFNER G et coll.**

§Comparison of platelet, leukocyte, and growth factor levels in point-of-care platelet-enriched plasma, prepared using a modified Curasan kit, with preparations received from a local blood bank.

Clin Oral Implants Res 2003 Jun;**14**(3):357-362.

75. **WEIBRICH G et KLEIS WK.**

§Curasan PRP kit vs. PCCS PRP system. Collection efficiency and platelet counts of two different methods for the preparation of platelet-rich plasma. Clin Oral Implants Res 2002;**13**(4):437-443.

76. **WEIBRICH G, KLEIS WK et HAFNER G.**

§Growth factor levels in the platelet-rich plasma produced by 2 different methods: curasan-type PRP kit versus PCCS PRP system. Int J Oral Maxillofac Implants 2002 Mar-Apr;**17**(2):184-190.

77. **WILTFANG J, SCHLEGEL KA, SCHULTZE-MOSGAU S et coll.**

§Sinus floor augmentation with beta-tricalciumphosphate (beta-TCP): does platelet-rich plasma promote its osseous integration and degradation? Clin Oral Implants Res 2003;**14**(2):213-218.

78. **ZECHNER W, TANGL S, TEPPER G et coll.**

§Influence of platelet-rich plasma on osseous healing of dental implants: a histologic and histomorphometric study in minipigs. Int J Oral Maxillofac Implants. 2003;**18**(1):15-22.

79. **ZERAH FA.**

Apport des PRF® dans les greffes osseuses: à propos de cas de greffes pariétales. Implantologie 2004;1:5-20.
<http://www.prf-process.com/publications.html>

80.ZITZMANN NU et MARINELLO CP.

Les substituts osseux dans la technique de la régénération osseuse guidée. J Parodontol Implantol Orale 1999;**18**:105-126.

	N°
<p>BREFFEIL (Mireille TREHARD). – Mise au point sur les facteurs de croissance et leurs utilisations en Odontologie. - 143 f., ill., 30 cm. – (Thèse : Chir. Dent. ; Nantes ; 2005)</p>	
<p>L'étude des processus de cicatrisation à l'échelle moléculaire met en évidence l'importance des facteurs de croissance. Utilisés dans de nombreuses études in vitro et in vivo, ces facteurs représentent une véritable promesse dans le domaine de la régénération osseuse. En Odontologie, leur mise en œuvre se fait soit par l'utilisation seule ou en association de facteurs principalement produits par génie génétique (les Bone Morphogenetic Protein ont l'avantage d'avoir des propriétés ostéoinductrices), soit par l'utilisation de concentrés plaquettaires autologues : le plasma enrichi en plaquettes (PRP) et la fibrine enrichie en plaquettes (PRF®). Ces derniers connaissent un véritable engouement, mais plusieurs points restent à éclaircir : leur composition, leur action biologique, leur efficacité, les risques, le matériau de comblement idéal d'association.</p>	
<u>Rubrique de classement :</u>	IMPLANTOLOGIE
<u>Mots clés :</u>	<p>Facteur croissance plaquettes (Platelet-Derived Growth Factor) Régénération osseuse (Bone regeneration)</p>
<u>JURY :</u>	<p>Président : Monsieur le Professeur A. DANIEL Asseseurs : Madame le Professeur C. FRAYSSÉ Madame le Docteur B. ALLIOT-LICHT Directeur : <u>Monsieur le Docteur P. LEMAITRE</u></p>
<u>Adresse de l'auteur :</u>	<p>BREFFEIL Mireille 4, rue Lefèvre Utile 44000 NANTES</p>