

UNIVERSITE DE NANTES

UNITE DE FORMATION ET DE RECHERCHE D'ODONTOLOGIE

---

Année 2009

Thèse n° 13

**DE L'INTERET DE L'UTILISATION DU PRF EN  
CHIRURGIE OSSEUSE PRE-IMPLANTAIRE**

---

THESE POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN CHIRURGIE  
DENTAIRE

Présentée et soutenue publiquement par

***Pierre ALLARD***

Né le 30/06/1981

Le 16/04/09 devant le jury ci-dessous

Président : Monsieur le Professeur Wolf. BOHNE

Assesseur : Monsieur le Docteur Saïd. KIMAKHE (directeur)

Assesseur : Monsieur le Docteur Afchine. SAFFARZADEH (co-directeur)

Assesseur : Monsieur le Docteur Alexis. GAUDIN (co-directeur)

# **TABLE DES MATIERES**

<b>Introduction.....</b>	<b>3</b>
<b>1. Le PRF : Définitions et généralités .....</b>	<b>4</b>
1.1. <i>historique.....</i>	4
1.2. <i>législation et controverses .....</i>	5
1.3. <i>Mode de production.....</i>	11
1.4. <i>Effets biologiques et constituants du PRF.....</i>	13
1.4.1. <i>facteurs de croissance .....</i>	14
1.4.2. <i>La fibrine .....</i>	16
1.4.3. <i>fibrine et hémostase.....</i>	18
1.4.4. <i>fibrine et cicatrisation.....</i>	18
1.4.5. <i>fibrine et angiogénèse.....</i>	19
1.4.6. <i>fibrine et cellules épithéliomésenchymateuses.....</i>	19
1.4.7. <i>fibrine et cellules osseuses.....</i>	20
1.5. <i>Indications et formes d'utilisation pré-implantaires .....</i>	20
<b>2. Sélection et résultats des cas et études les plus pertinents .....</b>	<b>23</b>
<b>3. Analyses .....</b>	<b>30</b>
<b>Conclusions .....</b>	<b>35</b>
<b>Références Bibliographiques .....</b>	<b>38</b>
<b>Table des illustrations .....</b>	<b>50</b>

## Introduction

Parmi les grands défis de la recherche clinique figure en bonne place le développement d'additifs bioactifs capables de réguler l'inflammation, l'hémostase et de favoriser la cicatrisation. Toutes les disciplines chirurgicales, en faisant appel aux capacités d'autoréparation des tissus doivent être capables d'appréhender et de gérer les différents phénomènes de remodelage tissulaire. L'utilisation à cet effet de colles de fibrine est bien documentée depuis 30 ans. L'avènement des concentrés plaquettaire en tant que colles biologiques a ouvert une nouvelle voie prometteuse en permettant de simplifier et d'optimiser le mode de production de ces colles de fibrine. Les concentrés plaquettaires ont été utilisés d'abord dans des disciplines comme l'ophtalmologie en application locale en tant qu'adjuvant au traitement chirurgical des déchirures de la macula **(33)**.

La première application clinique en dentisterie a été réalisée par Lynch et Coll en 1987 **(14)**. La recherche sur les colles autologues de fibrine a abouti à la création entre autres du PRF ou « Platelet Enriched Fibrin » ou encore « Platelet Rich Fibrin ». Cet adjuvant est très prometteur et devrait trouver sa place parmi l'arsenal thérapeutique du chirurgien dentiste, mais, est t'il un gel aux effets biochimiques induits par les cytokines plaquettaires et leucocytaires ou une simple colle biologique à base de fibrine comme tant d'autres avant lui ?

La chirurgie osseuse pré-implantaire s'est développée conjointement à l'implantologie. Les inconvénients de ces chirurgies osseuses parfois lourdes sont des suites opératoires délicates et des délais de cicatrisation souvent longs. Le PRF semble pouvoir minimiser ces difficultés.

Cet exposé s'efforcera de présenter les différentes études disponibles à ce sujet et d'en évaluer la pertinence scientifique pour dégager les intérêts cliniques espérés, supposés et avérés.

# 1. Le PRF : Définitions et généralités

## 1.1. *historique*

**Les colles de fibrine** furent décrites pour la première fois en 1970 (46). Elles font partie au même titre que les éponges de collagène ou les colles cyanocrilates synthétiques des nombreux agents hémostatiques développés comme autant de pistes de recherche. Elles sont préparées alors par l'industrie pharmaceutique à partir de plasma collecté par les banques du sang d'où des risques faibles mais réels de transmission de pathologies infectieuses principalement virales. (48). Leur mode de fonctionnement séduisant reproduit les dernières étapes des cascades enzymatiques de la coagulation : le fibrinogène est converti en fibrine en présence de thrombine, d'ions calcium, de facteur XIII et de fibronectine (36) Le mélange des différents constituants étant réalisé juste avant l'application.

Cependant, en 1978 les colles de fibrine commercialisées aux Etats-Unis sont interdites à la vente face à ce risque infectieux. Fut alors mis en avant l'avantage de la création de **colles de fibrine autologues** : celles-ci permettant de garder les avantages des précédentes en annihilant les risques de transmission inter-individus. La complexité de production de ces colles (coût, temps : prélèvements sanguins préopératoires...) (56) les rend cependant peu attractives pour le praticien. Elles sont alors surtout utilisées en chirurgie cardiothoracique et vasculaire, par exemple en chirurgie cardiaque pour le scellement des foyers de saignements microvasculaires diffus. Ces colles font aussi leur entrée en chirurgie orale et maxillofaciale principalement pour réduire le risque d'hématome post-opératoire. (47) Les promesses entrevues sont testées finalement dans bon nombre de disciplines avec des résultats assez hétérogènes et même controversés comme en orthopédie ou en neurochirurgie où le scellement de dure-mère reste peu documenté. (27)

L'exemple de Tayapongsak (63) lorsqu'il décrit en 1994 son *autologous fibrin adhesive* est intéressant car essayant alors de créer un plasma riche en fibrine là aussi dans le but de créer une colle hémostatique mécaniquement fiable (pour maintenir les fragments de

greffe osseuse au sein d'une masse cohérente) il obtint le premier un plasma plus tard décrit comme riche en plaquettes.

L'engouement récent des cliniciens pour la thérapie cellulaire (injection ou apposition de cellules dans le but d'obtenir un effet biologique) par facteurs de croissance a relancé la recherche sur les colles de fibrine autologues. Les technologies ainsi développées ont inspiré de nombreux travaux sur la capacité réelle ou prétendue des cytokines (petites molécules servant de messagères inter et intra-cellulaires) plaquettaires à promouvoir une cicatrisation plus rapide et mieux coordonnée tant au niveau cutané-muqueux qu'au sein des tissus osseux. Ainsi, en 1998, De Moraes et coll. expliquent que l'utilisation de colles de fibrine permet de diminuer le temps de l'intervention en favorisant l'hémostase **(20)**.

Ce regain d'intérêt concerne aussi les **concentrés plaquettaires**. Sur le plan strictement hématologique, « le concentré plaquettaire standard est défini comme le surnageant enrichi en plaquettes, obtenu après centrifugation de sang total prélevé sous anticoagulant », **(27)** c'est le PRP (ou Platelet Rich Plasma ou plus exactement cPRP pour concentrated PRP). Jusqu'en 1997, ils restent cependant confinés aux domaines d'investigation de l'hématologie, surtout dans le but d'améliorer les transfusions sanguines dans certaines situations chirurgicales extrêmes telles les greffes cardiaques. En 1999 **(40)** furent développés les premiers systèmes commerciaux permettant la production de concentrés plaquettaires en cabinet privé.

Man et coll. montrent en 2001 que l'utilisation des concentrés plaquettaires permet une cicatrisation plus rapide dans le domaine de la chirurgie plastique **(44)**.

Ils permettraient aussi d'après Croveti et coll. (2004) de favoriser la réparation tissulaire lors du traitement des ulcères cutanés **(19)**.

## **1.2.      *législation et controverses***

Les chirurgiens dentistes américains et européens ont la possibilité de manipuler et de modifier biochimiquement des produits sanguins. Ils utilisent entre autres le PRP qui rentre dans cette catégorie des produits sanguins modifiés. Ce type de protocole n'est pas autorisé en France **(27)**. Les manipulations sanguines nécessaires à la production de PRP sont en effet interdites en dehors des banques du sang et instituts de transfusion sanguine car celui-ci est considéré comme un produit sanguin labile. De plus, la loi française interdit la réimplantation de ce qu'elle considère comme un produit dérivé du sang **(16)**.

La situation est différente lorsqu'il s'agit de *prélèvement autologues extemporanés* La loi de bioéthique du 8 juin 2004 et l'accord conclu entre le ministère et le Syndicat National des Paro-Implantologistes (SNPI) prévoient ainsi une dérogation quant au prélèvement de cellules et de tissus autologues en cabinet dentaire libéral.

Habituellement, « Les dispositifs médicaux ne peuvent être fabriqués à partir d'un produit d'origine humaine ni en contenir ». Mais « les directives 2000/70/CE et 2001/104/CE du parlement européen et du conseil prévoient néanmoins la possibilité d'incorporer dans des dispositifs médicaux des dérivés stables du sang ou du plasma humain. Dans ce cas, le risque lié à l'origine humaine de ces matières premières est pris en compte lors du marquage CE. »

Ces *prélèvements autologues extemporanés, non conservés* ne rentrent pas dans le cadre de la Directive Européenne 2004/23/CE du 31 mars 2004 sur les normes européennes de qualité et de sécurité relatives au nom et à l'utilisation de tissus et de cellules humaines **(49)**.

La centrifugeuse utilisée pour ces produits doit tout de même être agréée CE et n'être utilisée qu'en salle d'intervention. Il est aussi obligatoire de référencer les produits et matériels utilisés pour la traçabilité de ceux-ci, tout comme il est bien évidemment nécessaire de respecter les conditions d'asepsie requises pour tout type de chirurgie.

L'AFSSAPS précise le cadre médico-légal de ces adjuvants et considère que ces protocoles « conduisent à l'obtention de produits autologues définis, revendiquant des propriétés thérapeutiques bien identifiées », donc « il convient de les considérer comme des produits de santé ». Leur utilisation doit ainsi être soumise à « des garanties de qualité, sécurité et efficacité ». Ces produits autologues « contiennent des cellules humaines vivantes (plaquettes et peut-être quelques autres cellules et des dérivés de ces mêmes cellules) et l'activité thérapeutique revendiquée repose sur les propriétés physiologiques et pharmacologiques de ces cellules ou de leurs dérivés qui se trouvent présents dans la préparation finale à des concentrations que seule une préparation spécifique permet d'atteindre »

L'AFSSAPS estime qu'« après analyse du principe de ces procédés, il apparaît que [leur] mise en œuvre dans un cabinet médical présente des spécificités par rapport au régime commun de la thérapie cellulaire ». Elle précise à ce titre que le projet de loi relatif à la bioéthique prévoit « des dispositions dérogatoires qui pourraient permettre le prélèvement de cellules et l'utilisation de préparations de thérapie cellulaire dans ce cadre » Aucun de ces procédés pratiqués en cabinet ne fait pour l'heure l'objet d'une autorisation ni d'une

interdiction formelles. Donc en attendant la révision de la loi de bioéthique La plus grande prudence quant à leur utilisation doit s'imposer (58).

Le protocole du PRF profite de ce flou juridique, et en rentrant dans cette catégorie de *prélèvements autologues extemporanés, non conservés*, il permet aux praticiens Français de suivre leurs collègues européens.

Le ministère de la santé a demandé l'édition d'un guide de bonnes pratiques professionnelles quant aux prélèvements en cabinet libéral au Syndicat national de parodontologie (SNPI). Ce guide permet de préciser l'environnement et le protocole d'utilisation des PRF. Trois fiches sont ainsi nécessaires pour recueillir l'identification du praticien utilisant du PRF (annexe 1), la traçabilité du PRF (annexe 2) et le consentement du patient (annexe 3).

Il était important de définir et préciser les conditions d'utilisation de ce biomatériau. Le ministère joue ici son rôle d'institut de veille sanitaire en réglementant l'usage d'un produit dont on ne connaît cependant pas la composition exacte. C'est un minimum pour un produit à l'usage principalement empirique.

Le PRF n'échappe cependant pas à la *loi Huriet de 1988* : le praticien doit recueillir le consentement éclairé du patient avant l'intervention, celui-ci doit également être informé des risques encourus par rapport aux bénéfices escomptés.

La conclusion émane de la Direction Générale de la Santé (DGS) qui publie en 2006 ce qui constitue la position réglementaire la plus récente sur le sujet.

Elle conclut le paragraphe sur les **produits d'origine humaine à visée thérapeutique** ainsi :  
« Parmi les produits d'origine humaine à visée thérapeutique utilisés en chirurgie dentaire, certains protocoles thérapeutiques font appel à des concentrés plaquettaires autologues (fibrine riche en plaquettes ou « PRF »). En l'état actuel des connaissances scientifiques, ces protocoles restent encore à évaluer et des études complémentaires sont donc nécessaires. »  
On sait tout de même que « la réglementation s'appliquant à ces produits est appelée à évoluer et le ministère en charge de la santé a entrepris de redéfinir l'encadrement juridique de l'utilisation péri-opératoire de tissus et cellules autologues, dont le « PRF » »(49).

« En attendant que ces deux questions (cadre juridique, évaluation scientifique) soient résolues, les praticiens médecins ou chirurgiens-dentistes qui utilisent ces concentrés plaquettaires doivent rigoureusement se conformer aux obligations déontologiques : être

formés au prélèvement sanguin, à la préparation extemporanée et à l'utilisation du « PRF » ainsi obtenu ; ils doivent en outre respecter les règles de bonnes pratiques de soins, en particulier pour assurer la sécurité des patients vis à vis de risque infectieux » (49).

On peut relever aussi du côté médico-légal une controverse soulevée par un lecteur sous forme de lettre ouverte après publication d'un article sur le PRF. La réponse ne s'est pas fait attendre, voici résumées les opinions des deux parties: le **réquisitoire du lecteur (54)** s'articule en quatre points :

-Les tubes de prélèvement utilisés ne répondent pas au standard ISO 10993, celui-ci est habituellement utilisé pour la biocompatibilité des récipients pouvant recevoir du sang en vue d'une utilisation clinique, il inclut des tests de cytotoxicité, de mutagénicité, d'irritation cutanée, d'hémolyse... Le conteneur utilisé ici est un in vitro diagnostic product (IVDP) et non habilité à l'utilisation clinique sous ce standard.

-La notice du fabricant (Becton Dickinson; disponible à l'adresse suivante: <http://catalog.bd.com/ecat/msds/d01/vs60324-10.pdf>) précise bien que le contenu de ses tubes est irritant et qu'ils ne devraient pas rentrer en contact avec des tissus humains.

-Les particules de silice; assez denses pour sédimenter avec les globules rouges, sont cependant suffisamment fines pour qu'au moins certaines d'entre elles s'intègrent aux différents produits obtenus après la centrifugation et les contaminent.

-L'utilisation du produit comme décrite dans la littérature est ouverte à l'environnement et il faut plusieurs manipulations manuelles pour l'obtenir. Ce système ouvert ajoute au risque de contamination microbienne et chimique.

**La réponse** est assez intéressante puisqu'elle a donné lieu à une étude plus approfondie sur la cytotoxicité du PRF (23).

Deux types de tubes de prélèvement sont utilisables: « dry glass tubes » (qui répondent évidemment à tous les standards concernés) ou « glass-coated plastic tubes », intéressants pour les dentistes français; ceux-ci n'étant pas initialement formés pour des manipulations sanguines, on diminue ainsi les risques de casse et donc de contamination. On ne pourrait pas cependant utiliser des tubes uniquement en plastique, en effet la polymérisation du caillot est initiée par la silice qui joue un rôle d'activateur. Celle-ci est présente dans le verre sur les parois des tubes. Les tubes commercialisés sont habituellement utilisés seulement, pour le

diagnostic. La question est donc de savoir si nous pouvons les utiliser dans notre protocole de production du PRF.

-Le standard décrit précédemment ne s'applique pas au PRF qui est classé comme *biomatériau autologue*. Le protocole PRF n'est en effet pas considéré dans la législation française comme une technique de transfusion pour des produits dérivés du sang. Il suffirait finalement d'utiliser les tubes en verre pour régler ces problèmes de standard et de classification.

-La fiche technique des tubes de la firme Becton Dickinson rappelle que la poussière de silice est un agent toxique reconnu mais seulement inhalée et, à de très hautes concentrations. (effets observés sur des mineurs de fond entres autres) **(12)**.

De plus on utilise en dentisterie beaucoup de matériaux à base de silice car ils sont parmi ceux qui ont la meilleure biotolérance. Il faut aussi rappeler que la plupart des biomatériaux dentaires sont auto-allergisants et toxiques **(34,35)**.

Il est vrai qu'en théorie, les patients traités avec le PRF peuvent être mis en contact avec des particules de silice, mais il faut bien admettre que cette possible contamination par quelques microparticules de poudre de silice ne donne lieu à aucun véritable danger sanitaire. En chirurgie dentaire, de nombreux produits contenant de la silice sont mis en contact avec des tissus humains : toutes les céramiques, les CVI, les implants en vitroceramique... Certains matériaux de greffe osseuse (tels les bioverres) sont dans ce cas, et malgré tout approuvés par la vigilante Food and Drug Administration (FDA). Le fait qu'un tube en plastique sec ne permette pas la production d'un caillot de fibrine mais que ceci soit réalisable dans des tubes en verre nous amène à la conclusion que les tubes en verre relarguent de la silice. On peut en déduire en poussant le raisonnement plus loin que tous les tubes en verre utilisés dans les dispositifs médicaux relarguent un minimum de silice. Ce relargage est assimilable au dépôt qui recouvre les tubes en plastique mentionnés plus haut, ce constat justifie le fait que la plupart des fabricants aient remplacé leurs tubes en verre par des tubes en plastique recouvert de verre, ceux-ci leur étant équivalents d'un point de vue biochimique.

Peut-on alors considérer que tous les produits stockés dans des tubes de verre sont cancérigènes ou toxiques?

Mr O'Connell ; le lecteur, critique aussi le fait que les tubes soient ouverts pendant la collecte du PRF, provoquant ainsi un risque de contamination important. Ce risque existe mais il n'est pas plus important que dans n'importe quelle procédure chirurgicale d'autogreffe. Doit-on alors considérer par exemple une greffe de menton sous l'angle de cette notion de système ouvert à risques importants de contamination?

Non.

Les auteurs ont procédé à une étude de cytotoxicité dont voici le compte rendu:

Les membranes de PRF, produites dans les fameux tubes plastiques cités précédemment ont été mises en contact avec 4 types de cellules prélevées chez des volontaires sains masculins de 25 à 60 ans. Pour des raisons immunologiques évidentes, les préadipocytes, fibroblastes gingivaux, kératinocytes et ostéoblastes furent mis en contact avec les membranes de PRF des donneurs correspondants. Toutes les cultures cellulaires furent traitées de manière conventionnelle.

Pour chaque type de cellule, 8 milieux de culture furent réalisés, la moitié servit de groupe contrôle et l'autre moitié reçut une membrane de PRF. Un milieu de chaque groupe fut récupéré à 12h, 24h, 3 jours, et 7 jours. Fut ensuite utilisé le test « MTT ASSAY » qui se base sur la capacité d'une enzyme mitochondriale à transformer un soluté donné en un produit bien connu ( ndlr: des cristaux de formazan bleu). On peut considérer qu'il évalue la respiration mitochondriale.

Les résultats sont lus par un spectrophotomètre, avec pour référence la densité optique du groupe contrôle définie comme correspondant à une viabilité de 100% pour la cellule.

Les résultats confirment l'absence de cytotoxicité du PRF, on peut même considérer que les kératinocytes et les préadipocytes ont une respiration mitochondriale améliorée.

Pour conclure, on peut dire que le PRF produit dans les tubes plastiques ne présente pas de risque de cytotoxicité.

Il a été calculé que le PRF avait été utilisé dans au moins 100000 protocoles chirurgicaux ces 6 dernières années; à ce jour, aucun accident concernant la cytotoxicité du produit n'a été rapporté au ministère de la santé.

La seule contre-indication à l'usage du PRF connue et acceptée aujourd'hui est plus d'ordre biologique que sanitaire. On proscriera évidemment cette technique en cas de thrombocytopenie qu'elle soit acquise ou congénitale. En effet, cette maladie provoque une

diminution notable du nombre de plaquettes dans le sang, or le concept du PRF repose .entre autres sur les propriétés biologiques de ces plaquettes.

Se pose aussi la question de la neutralité du PRF dans l'évolution des processus tumoraux : l'ajout ponctuel d'une colle de fibrine, surtout si elle est enrichie en cytokines plaquettaires peut-il déclencher ou raviver la conversion tumorale d'une cellule ?

La **fibrine** peut être considérée, en tant que promotrice du développement cellulaire comme un milieu potentiel de prolifération initiale de cellules immortalisées par un processus tumoral. Le nombre de sécurités antitumorales rend le phénomène peu probable. Le système immunitaire humain est, il est vrai capable d'une forme de veille sanitaire anticancéreuse. Le délai nécessaire à la reconstitution du réseau vasculaire convoyant son lot de cellules antitumorales (tels les lymphocytes, les macrophages et les polynucléaires) peut malgré tout être suffisant pour permettre à un reste de cellules cancéreuses de proliférer avec une virulence amplifiée par la qualité de la matrice fournie. **(29)**

Les **cytokines**, en quantité importante, ont une durée de vie faible au sein d'un tissu en plein remaniement : elles seront absorbées et détruites avant même la remise en place complète du système de drainage vasculaire. Toutefois, malgré un temps d'action limité, on peut considérer que ces facteurs de croissance sont capables de raviver violemment la prolifération tumorale : on sait effectivement que les cellules immortalisées sont plus sensibles que les autres aux signaux de croissance cellulaire. **(9, 65)**

Pour ces différentes raisons associées au principe de précaution ; il paraît préférable dans l'état actuel de nos connaissances de limiter les techniques du PRF à des sites sains.

### **1.3. Mode de production**

La première méthode développée pour obtenir des concentrés plaquettaires fut la plasmaphérèse. Mais, que le patient reste connecté à la machine qui filtre son sang pour en isoler les plaquettes ou que celles-ci soient obtenues à partir d'une poche de sang de 500 ml prélevé sous anticoagulant ; cette technique reste lourde et laborieuse, c'est pourquoi elle est rarement utilisée cliniquement.

Le **mode de production** du PRF est beaucoup moins élaboré. Ce procédé relativement récent n'a été développé qu'en France (de cette façon tout du moins), de surcroît par une seule société ; le modus operandi très simple est donc unique :

Après la **prise de sang** par un personnel autorisé, une **simple centrifugation** (3000 tours/minute pendant 10 minutes) est pratiquée. Cette technique développée par Choukroun et al (14) ne nécessite aucun ajout (ce pourquoi elle est permise en France) que ce soit de la thrombine bovine ou des anticoagulants. Les échantillons sont alors centrifugés immédiatement après prélèvement dans des tubes de 10 ml à 3000 tours/min.

Le sang est composé de plasma, constituant la phase aqueuse et des éléments dits figurés : les globules rouges ou hématies, les globules blancs ou leucocytes et les plaquettes ou thrombocytes. Le principe de la centrifugation repose sur la décantation de particules contenues dans une solution liquide. Celles-ci, de taille et de masse différentes vont se déposer à des distances différentes du fond du tube. On obtient alors une sorte de caillot dont on peut séparer la portion qui nous intéresse avec des ciseaux. Ce coagulum peut être utilisé tel quel ou modifié pour obtenir la forme idoine à la procédure clinique en cours.

Contrairement au mode de prélèvement utilisé pour la production du PRP, on n'utilise pas ici d'anticoagulants, ce qui induit en quelques minutes l'activation de la plupart des plaquettes et donc le relargage de leur contenu dont le fibrinogène. « Cette molécule soluble fibrillaire est massivement présente à la fois dans le plasma et dans les granules alpha des plaquettes, car elle joue un rôle déterminant dans l'agrégation des plaquettes entre elles au cours de l'hémostase » (27).

Le fibrinogène, d'abord concentré dans la partie haute du tube, se transforme en fibrine sous l'effet de la thrombine circulante. Un caillot de fibrine se forme alors au milieu du tube, entre le plasma acellulaire au dessus et la fraction rouge en dessous. C'est en chassant les fluides de cette trame de fibrine (habituellement en la pressant entre deux compresses stériles) qu'on obtient la forme membranaire à base de fibrine pontée. La concentration du fibrinogène dans la partie haute et médiane du tube ; préalable nécessaire à la constitution d'un caillot de fibrine chargé de plaquettes et utilisable cliniquement n'est possible qu'avec une période de transfert réduite entre le prélèvement et la centrifugation. Si ce laps de temps est trop important, la fibrine polymérisera de façon diffuse (on n'obtiendrait alors qu'un amas flasque et sans consistance de sang centrifugé) ; ceci car il faut quelques minutes pour concentrer le fibrinogène et que ; sans l'ajout d'anti-coagulant, la coagulation débute dès le contact sang - verre.

Le PRF n'est utilisé presque qu'exclusivement en France car la plupart des autres nations autorisent l'utilisation des cPRP. Leur usage est interdit dans l'hexagone où les praticiens ont du s'adapter à cette législation spécifique et développer un produit utilisable tel quel, à savoir sans modification ni manipulation sanguine. Le principe de la centrifugation pour augmenter la concentration en plaquettes d'un composé vient de la technologie utilisée pour obtenir le cPRP. Ou les cPRP ; car il existe de nombreux protocoles de production différents. Le plus abouti et automatisé est développé avec une machine, *la Harvest smartPrep ou machine* à faire du cPRP, centrifugeuse si élaborée qu'elle ne sert qu'à cela (27). Le concept biologique reste globalement le même selon les différents protocoles : du sang veineux est prélevé sous anticoagulant pour éviter l'activation et donc la dégranulation des plaquettes. Une première centrifugation est opérée, on aspire à l'aide d'une seringue la strate désirée qu'on soumet alors à une seconde centrifugation plus rapide que la précédente. Le cPRP devient alors aisé à prélever, il sera mélangé en per-opératoire peu avant son application à un agent coagulant comme par exemple de la thrombine bovine et du chlorure de calcium. Grâce à l'activation des plaquettes et aux réactions provoquées, on obtient un gel utilisable cliniquement. Le type d'élaboration des cPRP justifie le fait que ceux-ci ne soient pas utilisables par les praticiens français, en effet: la manipulation et la modification biochimique de produits sanguins ne leur est pas permise.

#### **1.4. Effets biologiques et constituants du PRF**

Dès que l'existence d'un défaut tissulaire, quel qu'il soit (chirurgical, post - extractionnel, traumatique...) est détecté, le processus complexe de la cicatrisation se déclenche. Le préalable à toute reconstruction est la colonisation du site par le caillot sanguin. Suite à cette phase vasculaire, toutes les autres phases se mettent en place et réalisent un processus complexe comprenant la régénération des cellules épithélio-conjonctives et osseuses, la migration des fibroblastes, l'angiogénèse, la synthèse des composants de la matrice extra-cellulaire et le remodelage du tissu cicatriciel. Cette cascade de réactions est sous la dépendance de nombreux médiateurs qui communiquent entre eux par l'intermédiaire de facteurs de croissance (14)

### **1.4.1. facteurs de croissance**

Les facteurs de croissance sont des polypeptides de poids moléculaire peu élevé (6-30kDa) qui régulent la croissance et les fonctions des cellules, grâce à une fixation sur des récepteurs spécifiques cellulaires de grande affinité. Nombre d'entre eux sont des cytokines. Ces petites molécules protéiques ont pour fonction primordiale la communication inter-cellulaire. Leur mode d'action est donc principalement autocrine (agissant sur le type cellulaire même qui les sécrète) ou paracrine (i.e. qu'elles agissent sur des types cellulaires différents mais situés à proximité). Elles constituent « les mots et les syllabes du langage biochimique inter et intra cellulaire ». 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 (47). Il est tentant de penser que la majorité des cytokines sont piégées au sein des mailles du réseau de fibrine (25,26)

Cette théorie n'a pas été réfutée mais pas non plus étayée par un nombre suffisant d'études par dosage comparatif, pour l'avancer comme un argument recevable scientifiquement. On sait cependant que le gel de fibrine est imbibé de glycoaminoglycanes circulants et plaquettaires (acide hyaluronique, héparine...). En effet, leur aspect en histologie au bleu alcyan suit l'architecture fibrillaire de la fibrine, ce qui laisse présager que ces chaînons glycaniques sont incorporés au sein même des polymères de fibrine (8,32). Or, les glycoaminoglycanes ont une forte affinité pour les petits peptides circulants (tels que les cytokines plaquettaires...) et présentent une grande capacité à guider les migrations cellulaires et l'ensemble des phénomènes de cicatrisation. (27)

Une étude sur la mandibule de 88 patients a démontré une densité osseuse accrue et une maturation plus rapide des greffes osseuses lorsque des concentrés plaquettaires étaient combinés à l'os (45).

Rosenberg en 1999 arrive à la conclusion que ces facteurs de croissance permettent une régénération plus rapide du tissu osseux mais qu'en plus on obtient une amélioration notable de sa qualité (59).

Une autre étude, intéressante car comparative arrive à la conclusion que des sites d'extraction traités avec des concentrés plaquettaires cicatrisent plus vite que ceux qui n'ont pas bénéficié de ce traitement **(2)**.

Selon Koskievic et all. :« Le PRF semblerait contenir des facteurs de croissance et des cytokines ayant une activité ostéogène et anti-inflammatoire »**(39)**

Le fait de receler en son sein de nombreuses cytokines est important dans l'optique pro-cicatricielle du PRF. Cette notion reste cependant à moduler car chaque réaction tissulaire dépend d'un grand nombre de facteurs. De nombreuses combinaisons de facteurs de croissance ont été essayées aussi bien in vitro qu'in vivo **(63)**.

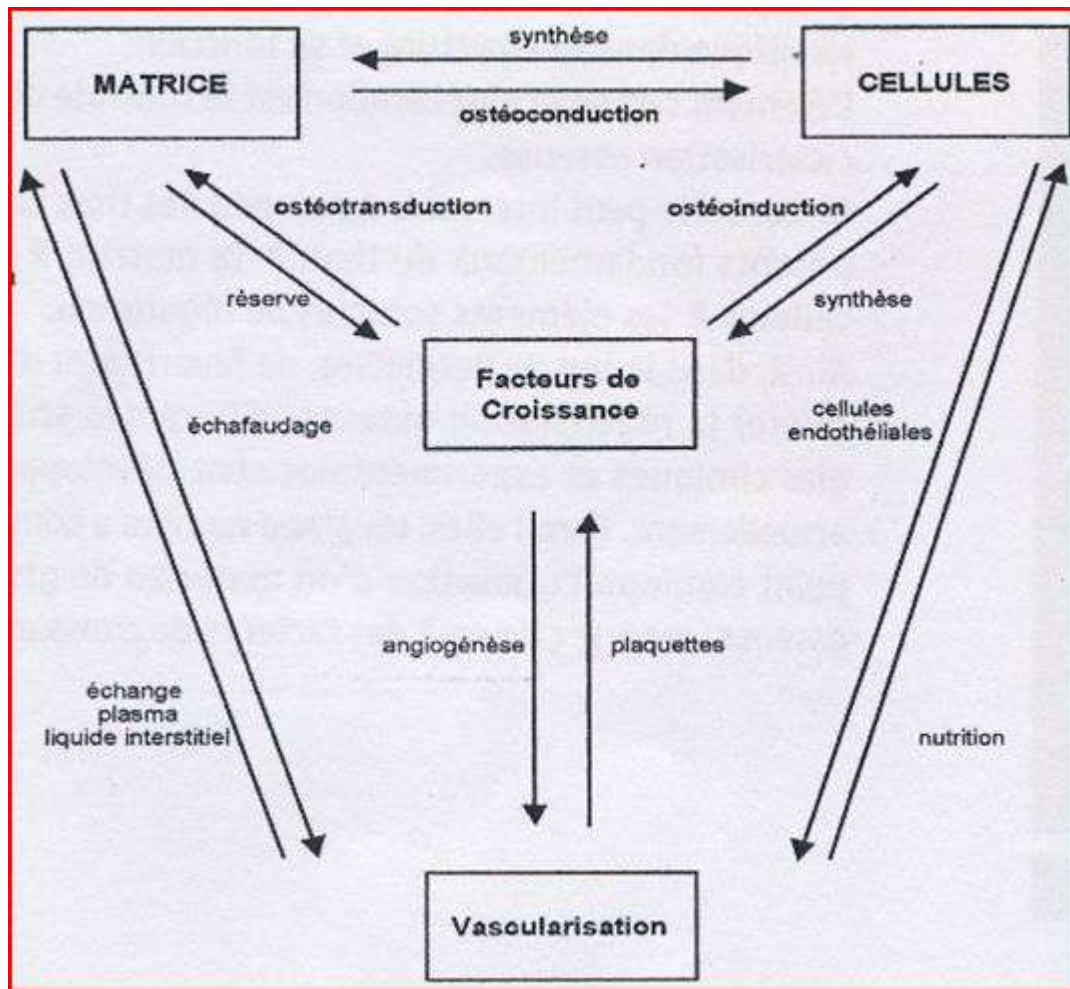
Les résultats sont cependant variables selon les facteurs de croissance associés et la matrice utilisée **(52)**. La cellule doit en effet faire la synthèse des différentes informations qu'elle reçoit selon son degré de différenciation, son état ainsi que son environnement matriciel et cellulaire. Ainsi, un apport brutal et massif de cytokines ne peut engendrer qu'un repli des cellules cibles sur une information plus stable tel que leur environnement matriciel. Une cytokine peut alors au sein de milieux différents aussi bien orienter une cellule vers la mitose que vers l'apoptose. Ceci est d'autant plus vrai pour des cellules différenciées, qui, étudiées in vitro engendrent des réactions cellulaires qui pourraient paraître contradictoires. **(57)**

Cependant, quand il s'agit de cellules indifférenciées mises en contact avec des cytokines extraites de concentrés plaquettaires, elles prolifèrent. Toutefois, seul un support à base de gel de fibrine permet leur différenciation en un phénotype ostéoblastique puissant. **(37, 55)**

Cet aspect des concentrés plaquettaires reste donc à préciser selon le milieu dans lequel ils sont utilisés. Il semblerait finalement, dans le cadre de ces études que si les cytokines sont suffisantes pour obtenir des effets locaux temporaires sur des types cellulaires primitifs, elles ne pourraient cependant pas avoir d'effet notable à long terme à l'échelle d'un remodelage tissulaire. **(29)**

Il faut aussi préciser que finalement, la quantité de cytokines est peu importante, car in vivo, sur un site en cours de cicatrisation, le pool de facteurs de croissance est utilisé et détruit très rapidement. Le paramètre le plus important reste la synergie entre les cytokines et leur support: ici la matrice de fibrine **(18)**.

Le schéma suivant illustre bien la complexité de ce langage biochimique et la multiplicité des messages échangés entre les différents acteurs du processus de régénération osseuse.

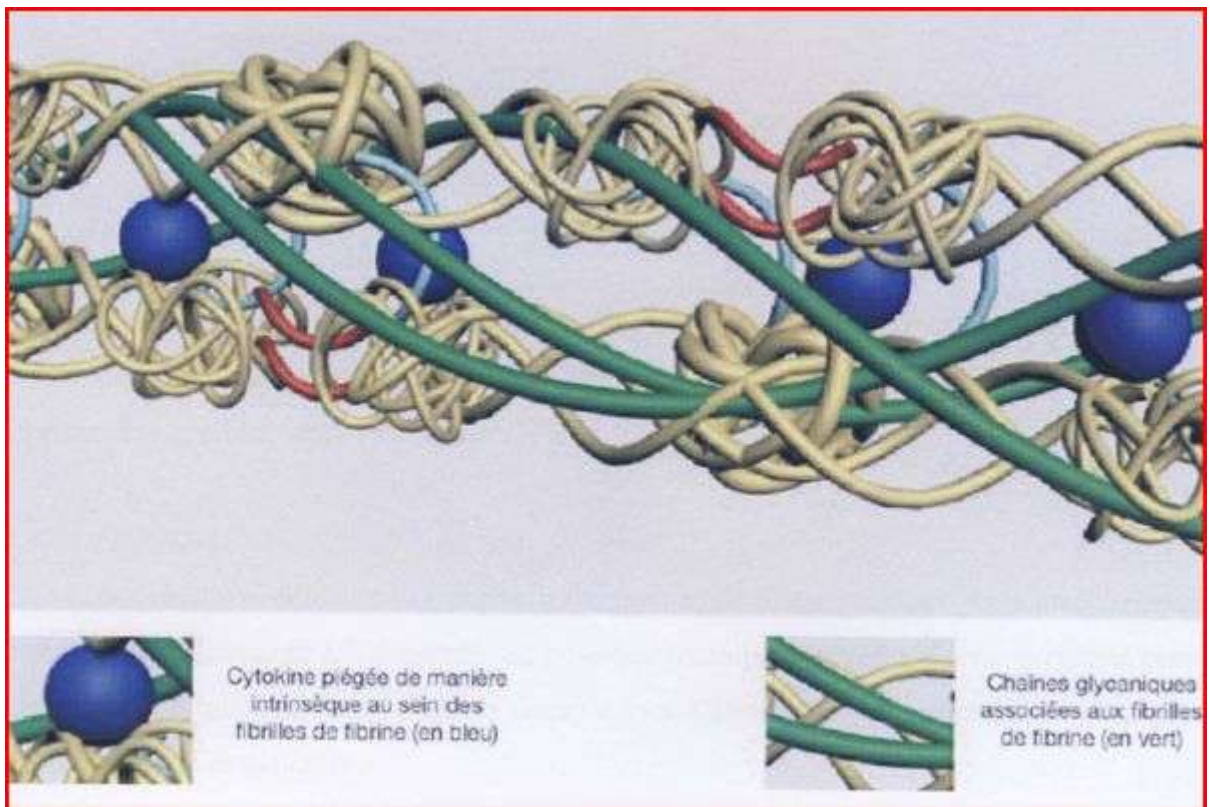


**Figure 1: Les relations entre les facteurs de la régénération osseuse selon Diss A et coll. (21)**

### 1.4.2. La fibrine

La fibrine est la forme activée d'une molécule plasmatique : le fibrinogène, présent à la fois dans le plasma mais aussi dans les granules alpha des plaquettes. Il joue un rôle déterminant dans l'agrégation plaquettaire durant l'hémostase, il se transformera en une véritable colle capable de consolider l'amas plaquettaire en premier lieu, puis de constituer une protection le long d'une brèche vasculaire pendant la coagulation. Il est transformé en fibrine insoluble par la thrombine circulante. Le gel ainsi formé constitue la première matrice cicatricielle du site lésé.

Le réseau obtenu est déjà très intéressant, en effet, sa constitution se fait de façon presque physiologique. Contrairement à nombre d'autres adjuvants de la cicatrisation, tel le PRP auquel on ajoute un anticoagulant lors du prélèvement puis un agent coagulant lors de l'application, la constitution du maillage de fibrine du PRF se fait naturellement, provoquant une agrégation beaucoup moins rapide et brutale du réseau. Il en résulterait une réticulation plus harmonieuse proche de la fibrine obtenue naturellement. Ce mode de polymérisation lent permettrait l'incorporation de glycoaminoglycanes et de cytokines au sein même du polymère de fibrine, ce qui rapproche la structure de notre gel PRF des thrombi de fibrine naturelle. (24)



**Figure 2: Modélisation théorique en image de synthèse d'une fibrille constituée selon une technique platelet rich fibrin selon Dohan S et coll. (24)**

On sait que le mode de polymérisation influence les propriétés biologiques et mécaniques du réseau final (51).

La fibrine est considérée comme un support de culture supérieur en termes d'attachement et de colonisation cellulaire. (37, 55, 57)

La fibrine possède aussi l'avantage d'avoir la capacité à se charger d'importantes quantités de cytokines (29)

Mais on s'est aussi aperçu qu'elle diffusait 90 % de son contenu au cours des trois premiers jours de culture (60). Le caillot de fibrine ne semble pas alors en mesure d'assurer un rôle de diffuseur à long terme.

### **1.4.3. fibrine et hémostase**

L'hémostase ou littéralement « arrêt du saignement » se résume finalement au colmatage d'une brèche vasculaire, qui s'opère grâce à la constitution d'un lit de fibrine in situ.

La coagulation se divise en 2 voies: extrinsèque et intrinsèque, elles se rejoignent au niveau de l'activation du facteur X. Ce facteur s'intègre ensuite à un complexe qui permettra la formation de thrombine et ainsi indirectement la polymérisation de gel de fibrine (27).

### **1.4.4. fibrine et cicatrisation**

Le caillot de fibrine va être colonisé par des cellules inflammatoires, des fibroblastes et des cellules endothéliales qui vont le remodeler en tissu de granulation puis en tissu conjonctif mature. (18) La matrice de fibrine permet en effet le recrutement, la migration, l'adhésion et d'orienter la différenciation des cellules nécessaires à la reconstruction tissulaire (monocytes, fibroblastes,...). (8,42) Elle permet aussi d'un point de vue immunitaire, la protection du site (neutrophiles, monocytes). (32)

On sait également que la colonisation de la plaie par les macrophages est contrôlée par la fibronectine, les propriétés physicochimiques de la matrice tridimensionnelle de fibrine et par les agents chémo-attractants qu'elle enserme en ses mailles. (42) L'étude réalisée en 2004 par DOHAN et coll. (26) tend à montrer que les plaquettes ne sont pas les seuls éléments figurés du sang à être activés lors de la centrifugation. Le test compare les concentrations respectives (à l'instar de l'étude sur les cytokines plaquettaires) de 5 cytokines sécrétées par les leucocytes et adjuvantes de l'inflammation et de la cicatrisation au sein du PRF et du sang total, activé ou non. Les résultats montrent une concentration accrue de ces cytokines dans les

échantillons PRF. Cette constatation semble intéressante du point de vue immunitaire et inflammatoire mais il faudrait objectiver la biodisponibilité de ces cytokines. On sait de plus que le milieu joue un rôle au moins aussi important que celles-ci dans les voies complexes de la réparation tissulaire.

#### **1.4.5. fibrine et angiogénèse**

La néoformation vasculaire est une étape fondamentale pour tout phénomène de cicatrisation. Le fait qu'une matrice de fibrine mène directement à l'angiogénèse est aujourd'hui accepté et clairement démontré (30).

On s'aperçoit in vitro que la structure spatiale de la fibrine est un élément déterminant de la progression de l'angiogénèse (53); en effet, elle détermine la sensibilité du caillot à la protéolyse mais elle permet aussi de moduler la croissance des cellules endothéliales.

#### **1.4.6. fibrine et cellules épithéliomésenchymateuses**

La trame de fibrine permet une colonisation plus rapide par les fibroblastes et les cellules endothéliales guidés par les grands axes du réseau de fibrine du site lésé (43).

Le lit de fibrine a ainsi été reconnu comme le récipiendaire optimal pour les transplants de cellules mésenchymateuses in vitro, en vue de régénération de défauts osseux (3, 6, 65)

Ces cellules ; après cette première étape d'expansion passent au remodelage de leur matrice extracellulaire et remplacer la fibrine par des éléments matriciels plus classiques (collagène I, glycoaminoglycanes, protéoglycanes, glycoprotéines de structure). (42)

La reconstitution du réseau endothélial s'opère parallèlement, permettant un apport suffisant de plasmine pour dégrader ce qui reste du caillot de fibrine. Ceci explique l'accélération des phénomènes de cicatrisation observée sur des tissus mous couplés à différentes colles de fibrine.

Une étude a exploré in vitro le mode d'action du PRF ajouté à de l'os allogène minéralisé lyophilisé (TBF), il semblerait que la fibrine puisse orienter la conversion des cellules souches mésenchymateuses en cellules ostéogéniques. (38)

#### **1.4.7. fibrine et cellules osseuses**

Les phénomènes bio-cellulaires diffèrent au niveau des sites intra-osseux : le réseau de fibrine permet la colonisation du site par les ostéoblastes du greffon et les cellules endothéliales des rameaux vasculaires adjacents mais il permet aussi d'obtenir une réponse ostéogénique très cohérente (Gurevich (37)). Gurevich a effectivement montré in vitro mais aussi in vivo que des cellules mésenchymateuses mises préalablement en contact avec des lattis de fibrine et ayant ainsi obtenu un phénotype ostéogénique marqué sont capables de produire et d'organiser spontanément des structures osseuses. Cela dans un site de greffe aussi isolé qu'une capsule rénale. Les cellules souches mésenchymateuses peuvent s'intégrer dans des tissus très variés, grâce à leur capacité d'adaptation phénotypique en fonction du site.

Les rares occasions d'un contact prolongé de ces cellules avec de la fibrine ne se présentent qu'en cas de fracture osseuse, avec brèche vasculaire. Car dans tous les autres cas, nécessitant la formation d'un caillot de fibrine, la plasmine véhiculée jusqu'au site lésé par le flux vasculaire se charge de dégrader le caillot. Or, en cas de lésion osseuse importante, une partie du réseau de fibrine constitué se trouve plus ou moins pris au piège au sein des éclats osseux avec un accès très limité au flux vasculaire. La durée de vie du caillot de fibrine et du contact qu'il entretient avec les cellules ostéogéniques est dans ce cas précis augmentée.

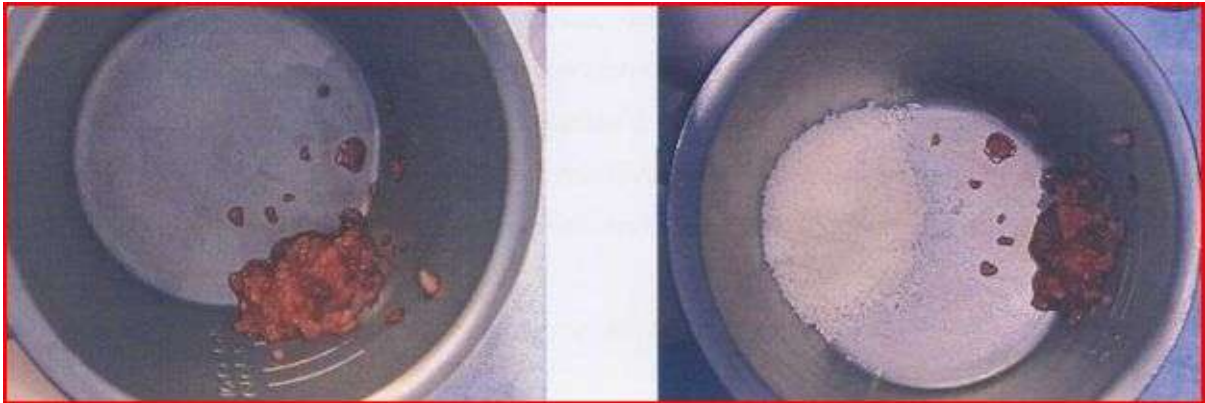
On peut conclure de façon positive sur le pouvoir ostéogénique de la fibrine, même si il reste à approfondir. (29)

### ***1.5. Indications et formes d'utilisation pré-implantaires***

En théorie le PRF est très séduisant, il associe en effet une matrice de fibrine dont l'intérêt n'est plus à prouver à des facteurs de croissance (dont la présence reste à préciser) régulateurs de l'inflammation donc de la cicatrisation.

Le réseau de fibrine constitutif du PRF est prélevé dans le tube de centrifugation à l'aide d'une pince plate puis séparé de la fraction basse avec des ciseaux. Ce caillot fibrino-plaquettaire peut être utilisé tel quel ou modifié pour lui donner la forme idoine au protocole chirurgical en cours de réalisation. On peut effectivement l'utiliser sous sa **forme de caillot**

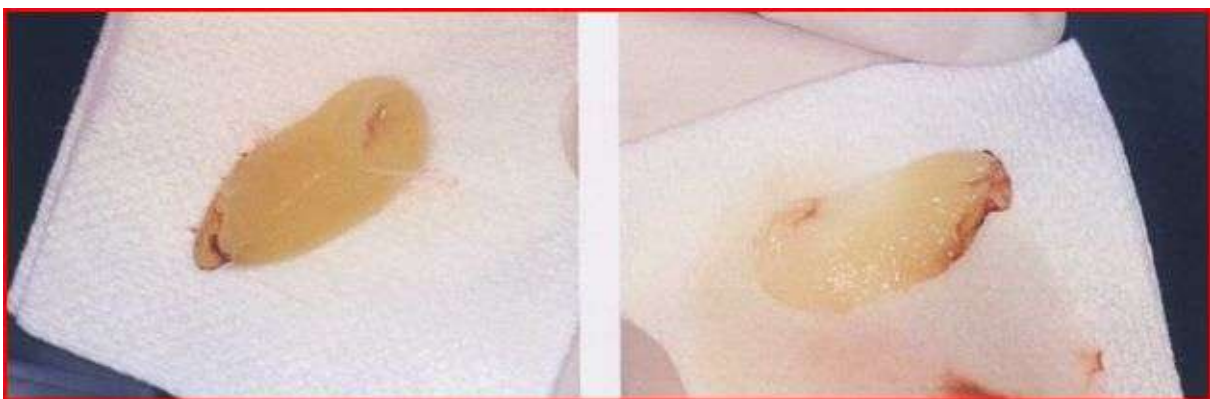
par exemple pour le maintien de volume osseux post-extractionnel, et **broyé ou coupé** pour être mélangé à des greffons autogènes ou exogènes.



**Figure 3: copeaux de PRF seuls (sur l'image de gauche) et avant mélange avec de la poudre d'os allogène (à droite) selon Zerah (67)**

Sous sa forme de **gel**, on peut le considérer comme un support de culture tissulaire in vivo ; comme tel, il doit être utilisé sur des sites sujets à des remaniements importants où sa matrice de fibrine pourra orienter le développement tissulaire et faciliter le remodelage du site. Le problème majeur de la -biotechnologie du PRF découle de son inconvénient clinique principal : en raison de sa consistance massive de caillot, il ne possède pas les avantages mécaniques admis et démontrés des colles biologiques.

Il est aussi possible de le comprimer entre 2 compresses de façon à obtenir une **membrane** qui permet une première protection du site en cours de cicatrisation.

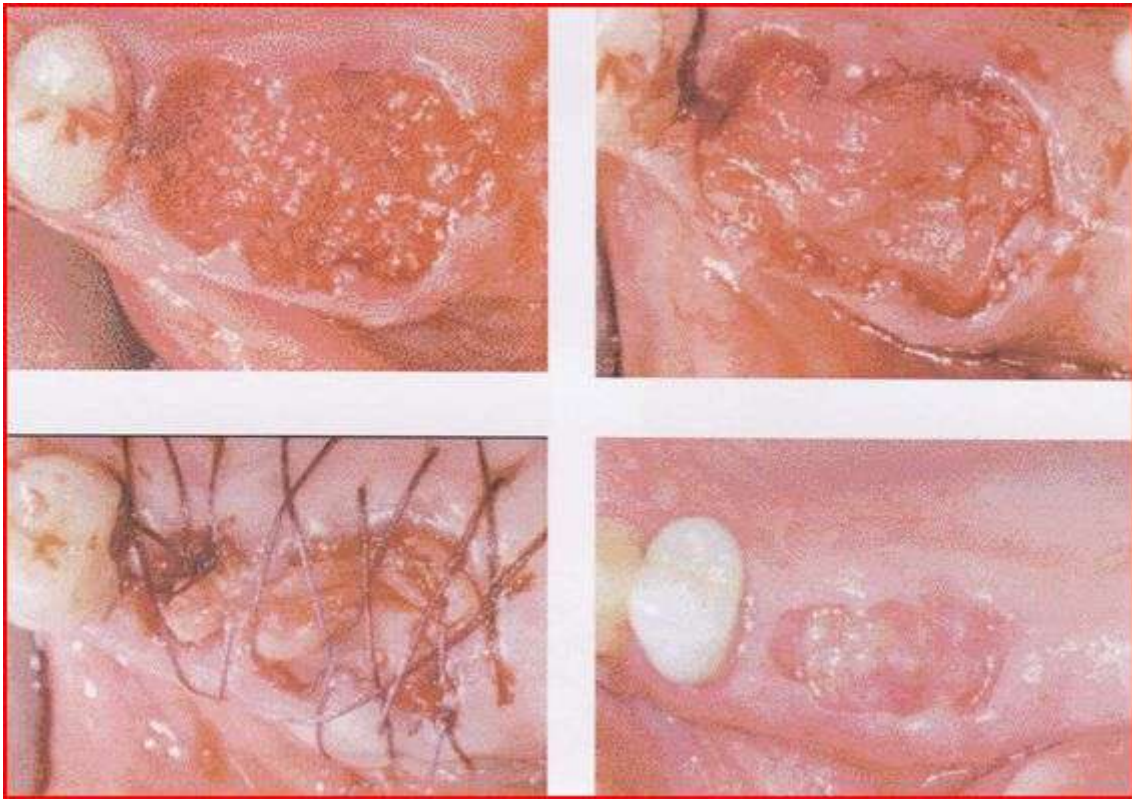


**Figure 4: Caillot de PRF avant et après écrasement entre 2 compresses afin d'obtenir la forme membranaire d'après Chavrier (11).**

On peut ainsi protéger les sites opératoires et favoriser la cicatrisation en plans superposés donc principalement la cicatrisation des tissus mous. Cette forme membranaire est

aussi utilisée dans un rôle de rustine pour traiter les perforations accidentelles de la muqueuse sinusienne lors de comblements de sinus.

Ci-contre un cas d'utilisation mixte : broyé puis recouvert de membranes.



**Figure 5: Cas proposé par Choukroun et coll. (15)**

## 2. Sélection et résultats des cas et études les plus pertinents

La recherche bibliographique effectuée a donné beaucoup de résultats, du moins en ce qui concerne le domaine de la biologie. Les références se rapportant au PRF lui-même sont au contraire plutôt rares; ceci s'explique par le fait que ce protocole clinique est peu voire non utilisé par les praticiens non français. La littérature internationale sur le sujet est donc presque inexistante.

La première distinction a été réalisée entre les cas cliniques et les études.

Toutes les études rentrant dans le cadre de ce travail ont été retenues vu leur faible nombre. Par contre, plusieurs études présentant des protocoles d'extraction-implantation immédiate ont été laissées de côté). Les travaux choisis seront analysés et jugés selon les critères actuellement reconnus par la communauté scientifique internationale quant à la façon de conduire une étude (randomisée, contrôlée, prospective, en double aveugle). Ceux –ci sont précisés par l' Afssaps (1) dans le tableau ci-joint :

Niveau de preuve scientifique des études	Force des recommandations (grade)
<b>Niveau 1 :</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Essais comparatifs randomisés de forte puissance</li> <li>- Méta-analyse d'essais comparatifs randomisés</li> <li>- Analyse de décision basée sur des études bien menées</li> </ul>	<b>A</b> Preuve scientifique établie
<b>Niveau 2 :</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Essais comparatifs randomisés de faible puissance</li> <li>- Etudes comparatives non randomisées bien menées</li> <li>- Etudes de cohorte</li> </ul>	<b>B</b> Présomption scientifique
<b>Niveau 3 :</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Etudes cas-témoin</li> </ul>	<b>C</b> Faible niveau de preuve scientifique
<b>Niveau 4 :</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Etudes comparatives comportant des biais importants</li> <li>- Etudes rétrospectives</li> <li>- Séries de cas</li> <li>- Etudes épidémiologiques descriptives (transversale, longitudinale)</li> </ul>	

**Figure 6: tableau récapitulatif des niveaux de preuve scientifique des études selon l' Afssaps (1)**

L'idéal étant évidemment d'avoir aussi un grand nombre de sujets avec des critères d'inclusion et d'exclusion bien définis. Le recul clinique est aussi un élément à prendre en compte.

On a tout de même retenu quelques cas cliniques malgré la faible valeur scientifique qu'ils ont de par leur statut. Ceux sélectionnés l'ont été selon la rigueur de leur protocole

Marx en 1998 (45) évalue l'action des facteurs de croissance sur la reconstruction osseuse mandibulaire après exérèse de tumeurs malignes sans radiothérapie.

METHODE: 88 patients sont répartis en 2 groupes, des greffes osseuses autologues sont effectuées sur les défauts mandibulaires. On ajoute du PRP aux greffons dans un groupe, l'autre groupe ne reçoit que l'os autogène. On analyse la vitesse de formation osseuse mais aussi la densité (ou qualité) du tissu obtenu. La méthode d'analyse est triple; histomorphométrique, radiologique et histologique par l'utilisation d'anticorps monoclonaux. Deux analystes indépendants sont sollicités pour étudier le matériel fourni et permettre aux opérateurs de conclure.

RESULTATS: L'étude valide la présence de nombreuses plaquettes au sein du PRP mais aussi de facteurs de croissance; ici PdGF et TGF en les objectivant au microscope à l'aide d'anticorps monoclonaux. La qualité et la quantité d'os formé semblent améliorées par la présence des facteurs de croissance contenus au sein du PRP.

**Dohan et coll.** en 2004 (25) réalisent une étude in vitro qui a pour but d'évaluer la distribution de trois cytokines (PDGF-BB, TGF- $\beta$ 1 et IGF-1) au sein des trois différentes couches observées suite à la centrifugation réalisée en vue d'obtenir du PRF: le plasma pauvre en plaquettes ou plasma acellulaire (PPP), le caillot de PRF lui-même et la fraction rouge contenant les hématies.

METHODE : Ils évaluent par dosage Elisa la quantité de cytokines au sein du PPP et au sein de l'exsudat obtenu à partir d'un caillot de PRF reposant 10 minutes dans une cupule métallique stérile. Ces mesures sont effectuées sur des prélèvements sanguins issus d'une quinzaine de patients. Les valeurs sont ensuite comparées aux valeurs obtenues avec différents protocoles de PRP (données acquises dans la littérature) ainsi qu'aux valeurs mesurées respectivement au sein de plasma de sang non activé et sur le sérum d'un sang activé (c'est-à-dire après coagulation donc dégranulation plaquettaire).

RESULTATS : On ne trouve pas de différence statistiquement significative entre les concentrations respectives au sein du PPP et de l'exsudat du PRF.

Les quantités de PDGF-BB et de TGF- $\beta$ 1 sont supérieures dans les différentes préparations de PRP, alors que l'IGF-1 est lui retrouvé en quantité supérieure dans les 2 prélèvements issus de la méthode PRF.

Se basant sur la faible concentration en facteurs de croissance retrouvée au sein du PPP et de l'exsudat ; les auteurs concluent que les cytokines plaquettaires sont probablement restées piégées au sein des mailles de fibrine, ce qui permettrait ensuite une libération lente et progressive avec toutes les promesses que cela implique. **(25)**

La même équipe a publié une étude in vitro **(26)** à la méthodologie similaire mais en visant cette fois des cytokines inflammatoires et cicatricielles à savoir : IL-1 $\beta$ , IL6, TNF- $\alpha$ , (cytokines inflammatoires) ainsi que IL-4 et Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) qui sont plutôt elles adjuvantes de la cicatrisation.

**METHODE** : Sont calculées à l'aide d'un test Elisa, les concentrations de ces cytokines, là aussi au sein du PPP et de l'exsudat de PRF à partir des prélèvements sanguins de 15 volontaires. Elles sont comparées entre elles puis aux moyennes calculées respectivement à partir du sérum (reflétant le sang complet activé) et du plasma ( pour du sang non activé).

**RESULTATS** : Les auteurs n'obtiennent pas de différence significative entre les valeurs PPP et exsudat PRF. L'autre comparaison donne des concentrations plus élevées de cytokines au sein de l'exsudat que les moyennes obtenues. Seul le VEGF fait exception avec des concentrations sérologiques particulièrement élevées (plus élevées que celles des couches de PRF). Comparaison est faite avec les cytokines plaquettaires testées précédemment, pour supposer que leurs homologues leucocytaires puissent être elles aussi piégées au sein du caillot de fibrine puis relarguées lentement. La conclusion de l'étude est la suivante: « Avec une telle teneur en cytokines clés de l'immunité (pro ou anti-inflammatoires) et de l'angiogenèse, le caillot de fibrine PRF peut tenir lieu de noeud immunitaire. »**(26)**

La première étude **clinique** ; publiée en 2004 par Choukroun et coll. **(17)** expose un cas de comblement de cavité kystique après exérèse. La première partie de l'article explique que la matrice de fibrine demeure sans conteste l'élément déterminant à prendre en compte pour tenter d'évaluer le potentiel thérapeutique réel du PRF. Pour ceci, les auteurs dégagent 4 étapes principales de la cicatrisation : l'angiogenèse, le contrôle immunitaire, la captation des cellules souches circulantes et l'épithélialisation de couverture de la plaie. Etapes dans lesquelles la fibrine donc le PRF joue un rôle important. Dans la seconde partie, clinique, les

opérateurs concluent que l'ajout de PRF au caillot formé naturellement dans toute cavité osseuse en cours de cicatrisation, permet un gain de temps de 8 à 10 mois.

Choukroun et coll. (16) proposent ensuite d'évaluer l'efficacité du PRF lors d'une prise en charge pré-implantaire de 9 patients devant recevoir une greffe osseuse dite de comblement sinusien. Il a ainsi été procédé à l'analyse histologique des prélèvements osseux issus des comblements sinusiens réalisés avec de l'os allogénique Phoenix de TBF ; avec ou sans PRF. L'apposition endosinusienne sous-muqueuse a été choisie pour plusieurs raisons :

- on a un vrai phénomène de remodelage et de cicatrisation osseux simple à observer,
- le site est fermé donc protégé des contraintes extérieures mécaniques ou biochimiques,
- enfin, le prélèvement d'un fragment analysable ne pose aucun problème éthique ou technique car celui-ci est inclus dans le second temps chirurgical existant de toute façon.

**Le but de l'étude est d'évaluer la quantité d'os néoformé au sein du greffon sous l'action du PRF.**

MATERIEL ET METHODE : L'os (allogène) de banque humain choisi ici prend alors toute son importance ; les greffes autogènes n'autorisent en effet pas la différenciation entre l'os néo-formé et l'os greffé. Les xéngreffes (tel le Bio-Oss® par exemple) sont elles aussi proscrites car on ne connaît pas le degré d'interférence exacte d'un collagène bovin au sein d'un processus humain de cicatrisation osseuse. Six des neufs patients greffés le furent avec du PRF, ceux-ci furent prélevés et implantés 4 mois plus tard. Les 3 restants, à la maturation osseuse jugée alors radiologiquement insuffisante le furent à 8 mois. L'os allogénique possède nécessairement une structure collagénique proche de celle de l'os néo-formé, on ne peut donc différencier les 2 que sur des critères de vitalité. A savoir, les logettes ostéocytaires sont elles vides (donc au sein d'un os inerte) ou pleines (donc dans un os vivant) ? Cette évaluation fondée sur des critères qualitatifs est forcément opérateur-dépendante ; ces travaux d'analyse histomorphométrique ont été réalisés par trois laboratoires différents pour neutraliser au mieux ce biais technique.

Un deuxième élément est comparé entre les fragments PRF à 4 mois et les fragments sans PRF à 8 mois : la composition du tissu osseux ; c'est-à-dire les pourcentages respectifs

d'espaces médullaires, de travées osseuses et de bordures ostéoides. Ces différents constituants sont objectivés selon deux protocoles de coloration histologique différents

**RESULTATS** : Ces biopsies ont en commun une certaine richesse en tissu ostéoïde, ce qui témoigne d'un remaniement dont l'importance est évaluée par le ratio os vivant/os inerte au sein des travées osseuses: on observe environ 1/3 d'os inerte greffé pour 2/3 d'os vivant néoformé. L'os obtenu à 8 mois est histomorphométriquement (donc ici en termes de pourcentage de ses différents constituants et selon le ratio os inerte-os vivant) très proche de celui à 4 mois avec le PRF. Les résultats sont interprétés comme satisfaisants, au vu de la réduction du délai nécessaire à l'obtention d'un os implantable avec le PRF,

Bettach présente ses conclusions **(4)** quant à l'utilisation du PRF utilisé en greffe de comblement associé à de l'os autogène prélevé et à de l'os allogène minéralisé lyophilisé (TBF), le tout étant recouvert d'une membrane résorbable de collagène. Il explique qu'il a choisi cette technique car l'os de greffe autogène est l'os de référence pour tous **(7)**.

Et que l'allogreffe d'os minéralisé lyophilisé associé à une membrane en gore-tex (donc non résorbable) a prouvé son intérêt comme dans l'étude de Feuille en 2003 dans l'augmentation du volume crestal osseux en pré-implantaire. **(32)**

Bettach explique utiliser un protocole éprouvé, fiable et reproductible. Il prépare des sites implantaire, en corrigeant les défauts osseux à l'aide de greffes mélangeant de l'os autogène et allogène ; le tout étant recouvert par une membrane de ROG..Un scanner est pratiqué à 3 mois, soit 15 jours avant la mise en place des implants.

**RESULTATS** : L'insertion de PRF au sein de ce protocole éprouvé permettrait la réduction du temps d'attente pré-implantaire. La diminution du temps de cicatrisation obtenue est donc selon lui validée et permise par le PRF.

Morissussef en 2003 publie des cas de compléments de défauts osseux à l'aide du PRF seul: en post extractionnel et en apical après curetage d'une lésion. Le PRF est aussi utilisé associé à du TBF en greffe de comblement après un sinus lift. L'auteur explique pour conclure que tout ceci permet « de prouver cliniquement l'efficacité du PRF, si le résultat s'avère positif, puisque il est le seul matériau mis en œuvre »**(50)**

Zerah présente en 2004 **(67)** plusieurs cas cliniques d'utilisation du PRF avec succès lors de greffes parietales.

MATERIEL ET METHODE : Le site à greffer est systématiquement examiné à l'aide d'une radiographie panoramique dentaire et d'un scanner, en pré-opératoire puis 3 ou 4 mois après la greffe pour évaluer la quantité et la qualité de l'assise osseuse obtenue. Le premier cas rapporte une technique de surélévation sinusienne avec comblement permettant un gain osseux satisfaisant pour une chirurgie implantaire. Le PRF est exploité broyé et mélangé à l'os autogène utilisé mais aussi sous sa forme membranaire en protection du site greffé. Un autre cas témoigne de la réussite d'une reconstruction du massif osseux incisif maxillaire en largeur mais aussi en hauteur. Le PRF est là aussi utilisé sous 2 formes différentes. (67)

RESULTATS : Les cas présentés valident le succès de chirurgies de greffes osseuses pariétales pré-implantaires. Puis dans un second temps de reconstructions prothétiques implantoportées. L'auteur explique de plus obtenir des réductions des délais de cicatrisation de 6 à 3 mois lors de comblements sinusiens incluant de l'os autogène **ainsi que du PRF**.

Diss (22) et son équipe présentent en décembre 2004 une technique de comblement de sinus après soulèvement de la membrane de schneider.

MATERIEL ET METHODE : Ceci à l'aide d'un mélange phosphate tricalcique en phase bêta (cerasorb®) et PRF. Le mélange est utilisé en greffe de comblement et le tout protégé avec des membranes de PRF pour permettre une cicatrisation muqueuse plus rapide. Le gain osseux est objectivé et validé par un scanner à 6 mois. L'implantation est alors réalisée, la mise en charge est elle gérée trois mois plus tard.

RESULTATS : Cette technique permet selon ses opérateurs une réduction des délais de cicatrisation (6 mois au lieu de 9 pour le comblement de sinus et 3 au lieu de 6 pour la mise en charge)

Chavier en 2001 (11) présente les différentes indications du PRF selon la forme d'utilisation choisie : en cylindre, **dans les alvéoles** afin d'en accélérer la cicatrisation ; **en parodontologie**, appliqué après débridement de poches infra-osseuses, associé ou non à un quelconque matériau ; en **implantologie**, placé dans la néo-alvéole osseuse avant la mise en place de la fixture pour favoriser la cicatrisation péri-implantaire, mais aussi sous forme membranaire autour des implants. Le PRF est également utilisé lors de **greffe d'apposition ou de comblement** pré-implantaire sous forme particulière ou membranaire. Ce caillot de fibrine peut aussi être mis directement au contact de la membrane sinusienne après extraction.

L'ajout de PRF permettrait des améliorations dans tous ces cas..

Le reste des études cliniques ne sont que des rapports de cas, ne permettant pas de trancher scientifiquement même si selon Diss et coll. en 2003, **(21)** les concentrés en facteurs de croissance d'origine autogène, tels le PRF ou le PRP sont actuellement dans les données de la littérature, les plus adaptés à une utilisation clinique.

### 3. Analyses

L'étude de Dohan et coll. (23) sur la cytotoxicité du PRF remplit-elle les critères définis par l'Afssaps ? Le nombre de participants aux tests est inconnu, elle n'est de plus ni randomisée, ni en double aveugle. Des tests complémentaires lèveraient un certain nombre d'incertitudes.

L'étude avait pour but de tester la cytotoxicité du PRF lui-même ou de la quantité de silice statistiquement relarguée par les tubes. Malheureusement, seule la forme « membrane » du PRF a été testée et sa cytotoxicité n'a pas été prouvée. Les résultats sont minimisés par le fait que les effets secondaires des produits dentaires peuvent mettre plusieurs années avant de se manifester (34). Il paraît donc utile d'évaluer le ratio bénéfices/risques pour chaque patient ;

Le fait qu'aucun incident n'ait été rapporté malgré une utilisation à grande échelle ne prouve rien non plus; l'histoire abonde d'exemples dans ce sens et pas seulement dans le domaine médical.

La méthodologie de l'étude de Marx (45) citée plus haut ne remplit pas tous les critères de l'Afssaps mais le nombre de cas commence à être satisfaisant et l'étude est prospective et menée en double aveugle par 2 analystes indépendants. De plus le fait que cet article s'ajoute à une longue liste sur le sujet incite à prendre en compte les conclusions qu'il apporte: la régénération et l'assimilation osseuses suite à une greffe post exérèse tumorale seraient améliorées en vitesse et en qualité par l'ajout de cytokines plaquettaires (ici apportées par le PRP).

**L'étude de Dohan et coll. en 2004 (25)** portant sur la répartition de 3 cytokines au sein du PRF a pour but d'objectiver la concentration des facteurs de croissance. Mais il paraît étonnant en premier lieu de choisir d'analyser le surnageant et l'exsudat plutôt que le caillot lui-même (ou au moins le surnageant du caillot dès la fin de la centrifugation). On ne peut de plus, au vu de l'étude présentée que conclure sur la concentration inférieure du PRF en cytokines plaquettaires par rapport au PRP. Le processus de libération lente espéré ; aussi

attractif soit il, doit être confirmé par des tests in vitro évaluant le contenu précis du caillot et ses capacités réelles de relargage.

Dans la publication suivante, (26) les mêmes auteurs concluent à une sécrétion accrue de cytokines leucocytaires lors du protocole de production du PRF et ; comme précédemment à leur piègeage puis relargage progressif. Ces conclusions sont basées sur l'hypothèse et l'extrapolation. De plus, les quantités importantes de cytokines retrouvées au sein de l'exsudat suggèrent une réduction conséquente de leur concentration dans un caillot débarrassé de sa phase liquide comme par exemple au sein d'une membrane de PRF. En effet ; celle-ci est obtenue après expression entre 2 compresses donc perte de l'exsudat. La capacité immunitaire est supposée. Le raisonnement par analogie à d'autres procédés qui permet cette supposition n'est pas suffisant.

Choukroun et son équipe rappellent en plusieurs points les intérêts indéniables de la fibrine pour le processus de cicatrisation. L'auteur fait ensuite une analogie entre les capacités biologiques de la fibrine et celles du PRF. Un cas clinique de comblement osseux post exérèse kystique est ensuite présenté, le délai de cicatrisation observé se révèle plus court que ce qui est observé habituellement (c'est-à-dire sans PRF). Cette comparaison pour être valable scientifiquement, c'est-à-dire selon les critères définis entre autres par l'Afssaps devrait être faite de façon prospective, en double aveugle et randomisée. Il faudrait alors idéalement un nombre de cas plus important et 2 groupes bien distincts un sans PRF et un avec. (17)

L'étude venant ensuite est menée selon un protocole plus à même de permettre de dégager l'action réelle du caillot de fibrine car elle permet l'étude d'un groupe PRF et d'un groupe sans. Cependant, et malgré le choix délibéré d'utiliser de l'os de banque humain afin d'identifier la néoformation osseuse ; les auteurs précisent bien qu'il n'existe pas de protocole fiable permettant de déterminer la quantité d'os néoformé. Particulièrement s'il s'agit d'un greffon allogénique. Il aurait été logique de faire une comparaison inter-groupes à 4 et 8 mois. Le seul élément d'évaluation est basé sur une analyse histomorphométrique qui en l'absence de techniques histologiques standardisées et parfaitement reproductibles ne permet pas de conclure de façon formelle.

Les similitudes structurelles osseuses observées entre les 2 protocoles peuvent permettre d'espérer un raccourcissement des délais avec le PRF pour l'obtention d'un os aux qualités histologiques comparables. Le nombre réduit d'échantillons et le manque de critères biens

définis d'évaluation n'autorise cependant pas à considérer ces résultats comme statistiquement satisfaisants. **(16)**

Dans l'article publié par Bettach, **(4)** le fait de se baser sur un protocole déjà éprouvé permet de minimiser le risque de fautes opératoires donc de biais mais trop de raccourcis sont faits entre les différentes études citées pour arriver au protocole final. L'ajout de PRF réduirait les temps de cicatrisation ? L'évaluation est réalisée au scanner par un seul opérateur ; en l'absence de critères d'évaluation bien définis Il n'y a pas de comparaison avec des cas témoins.

Bref ; si les résultats obtenus semblent cliniquement satisfaisants, les conclusions retenues restent critiquables.

Les cas cliniques proposés par Morioussef et coll. **(50)** présentent le succès acquis grâce à des protocoles bien maîtrisés. L'auteur précise tout de même en conclusion que ce sont des « résultats qui reposent sur peu de cas et sur peu de praticiens » et qu'on attend toujours « des preuves scientifiques qui doivent être apportées dans ce domaine des facteurs de croissance ». Il faudrait effectivement pour conclure sur l'efficacité réelle du PRF, comparer ces cas à des comblements de défauts semblables mais sans PRF, soit ni plus ni moins que des cas témoins.

Le PRF est aussi utilisé sous 2 formes différentes pour la même chirurgie **(22)** ; en association à des greffes d'os pariétal. Les délais de 6 mois utilisés pour la comparaison sont pris dans la littérature. Alors qu'une étude comparative, prospective et en double aveugle avec des critères d'exclusion, d'inclusion et plus important encore d'évaluation paraît aisée à réaliser dans ce cas au moins.

Ces résultats restent donc à valider par d'autres études, se basant sur des faits établis et sur une véritable confrontation de 2 groupes pour trouver une différence significative (ou pas) avec et sans PRF.

Les conclusions de l'article de Chavier **(11)** : « les facteurs de croissance plaquettaires contenus dans le PRF activent considérablement la cicatrisation et améliorent les suites opératoires » ne sont basés que sur quelques cas cliniques. Il s'appuie sur des références mais souvent de façon erronée. Par exemple en citant l'étude de Giannobile et coll. en 1996 pour affirmer que « le PRF associé ou non à un quelconque matériau, favorise la cicatrisation des

tissus mous et minéralisés ». Or cette étude ne s'intéresse pas au PRF mais à certains facteurs de croissance dont la présence au sein de celui-ci n'a jamais été prouvée formellement. Cet « avis d'expert » illustre bien les diverses utilisations cliniques du PRF mais n'apporte aucune preuve scientifiquement tangible de ce qu'il présente.

Finalement la même question se pose une fois de plus : les résultats auraient-ils été semblables en l'absence de PRF.

On peut aussi reprocher au PRF, son manque de quantification globale, même si cet acronyme représente finalement plus un protocole opératoire qu'un produit fini. On s'aperçoit en effet à l'analyse de la littérature qu'aucune étude n'a pour but de définir les quantités exactes respectives des différents constituants du PRF. Les raisons en sont cependant logiques ; la composition précise en termes de constituants n'est pas véritablement connue et reconnue au sein de la communauté scientifique internationale. De plus on sait que les proportions des produits constitutifs du caillot obtenu après centrifugation présentent des variations importantes, inter-individuelles, intra-individuelles et aussi selon le protocole opératoire. (d'où l'intérêt de le définir précisément et de le standardiser). La centrifugation n'est de toute façon pas une méthode de séparation précise et fiable ; elle agit selon un gradient de sédimentation des différents éléments figurés du sang. Ainsi et pour prendre l'exemple des plaquettes, leur concentration sera simplement statistiquement plus élevée dans la zone tampon entre la masse des hématies (éléments les plus lourds et volumineux) et le plasma acellulaire (chargé de molécules plasmatiques, donc plus petites et plus légères). Le nombre de plaquettes dans un sang humain total sain varie de 150000 à 450000 par mL. Les variations sont probablement aussi importantes pour les cytokines. La solution pour augmenter cette concentration statistique, serait d'affiner la séparation des différents éléments. Il faudrait alors augmenter la force de centrifugation (comme par exemple les séparateurs de cellule utilisés en hématologie et qui centrifugent en moyenne à 3000G), cet impératif technique se heurte cependant à la réalité biologique du PRF et à la fragilité de certains de ses constituants **(28)**.

Quelle que soit finalement la concentration voulue et obtenue dans le produit final, il est actuellement impossible de corréler une concentration d'un composant du PRF quel qu'il soit avec le ou les effets biologiques espérés.

Il n'existe pour l'instant aucune étude fiable scientifiquement sur les intérêts cliniques réels du PRF ; c'est-à-dire contrôlée, randomisée, prospective et en double aveugle.

## Conclusions

Le but de l'utilisation du PRF est finalement d'obtenir un « super » caillot sanguin constitué de fibrine, de leucocytes, de plaquettes et des facteurs de croissance des 2 derniers éléments. Le premier rôle de cet adjuvant à la cicatrisation est d'agir sur la première phase de la régénération osseuse soit la dégranulation plaquettaire et la formation de l'hématome ; suppléant ainsi le processus habituel de reconstruction physiologique (21)

Tout l'engouement pour le PRF repose sur sa composition supposée : fibrine active dans le processus de cicatrisation, facteurs de croissance plaquettaires actifs dans la régénération osseuse, et cytokines leucocytaires actives sur le phénomène inflammatoire).

Selon Choukroun, (13) « l'intégralité des cytokines [...] et 100% des plaquettes et des leucocytes sont présents dans une membrane de PRF. ». De telles affirmations restent à prouver. Le rôle réel des cytokines dans l'action du PRF doit être précisé car si chacune paraît intéressante à l'énumération de ses qualités connues ; la cellule cible peut élaborer des réponses opposées selon les éléments qu'elle détient et en accord avec la logique biologique propre codée dans son ADN. Ainsi, les répercussions d'un ajout massif de cytokines plaquettaires au sein de systèmes de régulation aussi sensibles semblent assez difficiles à prévoir.

D'autres questions demeurent: **l'aptitude réelle du PRF à libérer ces facteurs de croissance** ainsi que leur **véritable capacité à stimuler les cellules souches mésenchymateuses**. Et quelle est leur véritable **action sur les cellules ostéoprogénitrices** ?

On ne peut pas en tous cas enlever à cet adjuvant ses qualités, mêmes faibles, de colle biologique qui sont en effet utiles pour solidariser les fragments composant les greffes (47,63) et comme l'a démontré Bonucci E en 1997, (5) l'apport de fibrine dans des défauts osseux maxillo-faciaux est déjà connue pour stimuler la colonisation osseuse du site.

Le champ d'utilisation de ce concentré plaquettaire s'élargit déjà : Charrier et coll. (10) en 2005 présentent une étude où le PRF est utilisé sur 4 patients comme matériau de comblement après parotidectomie subtotale pour l'exérèse d'un adénome pleiomorphe. Selon

les auteurs, « les résultats préliminaires sont encourageants ». Il semble quand même judicieux de justifier et d'objectiver les avantages réels du PRF en odontologie avant de songer à en élargir les indications.

L'Afssaps produit en 2003 (1) ce document permettant d'évaluer la pertinence des publications scientifiques :

Niveau de preuve scientifique des études	Force des recommandations (grade)
<b>Niveau 1 :</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Essais comparatifs randomisés de forte puissance</li> <li>- Méta-analyse d'essais comparatifs randomisés</li> <li>- Analyse de décision basée sur des études bien menées</li> </ul>	<b>A</b> Preuve scientifique établie
<b>Niveau 2 :</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Essais comparatifs randomisés de faible puissance</li> <li>- Etudes comparatives non randomisées bien menées</li> <li>- Etudes de cohorte</li> </ul>	<b>B</b> Présomption scientifique
<b>Niveau 3 :</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Etudes cas-témoin</li> </ul>	<b>C</b> Faible niveau de preuve scientifique
<b>Niveau 4 :</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Etudes comparatives comportant des biais importants</li> <li>- Etudes rétrospectives</li> <li>- Séries de cas</li> <li>- Etudes épidémiologiques descriptives (transversale, longitudinale)</li> </ul>	

On confirme à la lumière de ce tableau qu'aucune publication sur l'intérêt du PRF en chirurgie osseuse pré-implantaire ne répond à ces critères. Il n'y a donc pas à ce jour de preuve scientifique établie de son utilité.

Selon Koskievic et coll. (39), le PRF paraît plus intéressant sur les tissus mous que durs et il faudrait préciser le volume nécessaire de concentrés plaquettaires permettant de libérer des facteurs de croissance en quantité suffisante.

Le cas des tissus mous semble en effet mieux documenté, le PRF faciliterait la cicatrisation à court terme en facilitant le rapprochement des berges de la plaie. Il améliorerait alors la cicatrisation osseuse ou du moins l'intégration des greffons en optimisant leur étanchéité.

On trouve trace dans la littérature d'un autre adjuvant de cicatrisation appelé PRF, Vivostat (62) du nom de la firme qui le développe. Celui-ci ne serait cependant pas utilisable dans les cabinets dentaires français car son protocole de production plus complexe le classe de facto dans la catégorie des produits sanguins manipulés.

Le PRF ne fait pour l'instant pas l'unanimité ; ni son efficacité, ni son intérêt clinique. n'ont été prouvés Ainsi, et pour citer la Société Française de Parodontologie et d'Implantologie Orale (sfpio ) **(61)**: « L'absence totale de publications cliniques objectives et donc de preuves scientifiques avérées, conjuguée à la faiblesse méthodologique des rares études fondamentales suggère que de nouvelles études parfaitement structurées sont absolument nécessaires pour pouvoir justifier l'utilisation pratique d'un tel protocole » ou du moins pour en prouver l'efficacité et pouvoir définir alors des indications cliniques précises et un cadre d'utilisation légal.

## Références Bibliographiques

### **1-AFSSAPS**

Transfusion de plaquettes: produits, indications, juin 2003.

<http://afssaps.sante.fr/pdf/5/rbp/plaqarg.pdf>

### **2-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**(4):529-535.

### **3-BENSAID W, TRIFFITT JT, BLANCHAT C et coll.**

A biodegradable fibrin scaffold for mesenchymal stem cell transplantation.

Biomaterials 2003;**24**:2497-2502.

### **4-BETTACH R.**

Greffes autogènes et allogènes : L'intérêt du PRF (Platelet Rich Fibrin).

Implantologie 2003 nov;**(1)**:13-18.

### **5-BONUCCI E, MARINI E, VALDINUCCI F et coll.**

Osteogenic response to hydroxyapatite-fibrin implants in maxillofacial bone defects.

Eur J Oral Sci 1997;**10**(6):557-561.

**6-BOO JS, YAMADA Y, OKAZAKI Y et coll.**

Tissue engineered bone using mesenchymal stem cells and a biodegradable scaffold.  
J Craniofac Surg 2002;**13**:231-239; discussion 240-243.

**7-BREINE U et BRÄNMARK PL.**

Reconstruction of alveolar jaw bone.  
Scand J Plast Surg 1980;**14**:23-48.

**8-BROWN LF, LANIR N, MCDONAGH J et coll.**

fibroblast migration in fibrin matrices.  
Am J Pathol 1993;**142**:273-283.

**9-BUTT AJ, FIRTH SM et BAXTER RC.**

The IGF axis and programmed cell death.  
Immunol Cell Biol 1999;**7**(3):256-262.

**10-CHARRIER JB, DOHAN DM, STEVE M et coll.**

Utilisation du PRF (platelet rich fibrin) comme matériau de comblement, de cicatrisation et d'interposition après parotidectomie pour exérèse de tumeur bénigne : une nouvelle technique.  
Rev Stomatol Chir Maxillofac 2005;**106**(4):19-20.

**11-CHAVRIER C.**

Facteurs de croissance plaquettaires et cicatrisation.  
Implantodontie 2001;**22**:7-12.

**12-CHEN W, HNIZDO E, CHEN JQ et coll.**

Risk of silicosis in cohorts of chinese tin and tungsten miners, and pottery workers (I): an epidemiological study.

AM J Ind Med 2005;**48**:1-9.

**13-CHOUKROUN J.**

Platelet-rich fibrin (PRF) : l'étude fondamentale.

Implant2004 ;**10**(1):274-277.

**14-CHOUKROUN J, ADDA F, SCHOEFLER C et coll.**

Une opportunité en paro-implantologie: le PRF.

Implantodontie 2001;**41**:55-62.

**15-CHOUKROUN J, DISS A, SIMONPIERI A et coll.**

Platelet Rich Fibrin (PRF) : a second generation platelet concentrate. Part 4: clinical effects on tissue healing.

Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2006;**101**(3):e56-60.

**16-CHOUKROUN J, SIMONPIERI A, GIRARD MO et coll.**

Concentrés plaquettaires: technologies, biologie associée, applications cliniques, analyses histologiques. 4<sup>e</sup> partie : analyses histologiques.

Implantodontie 2004;**13**:167-172.

**17-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. 4<sup>ème</sup> partie : implications thérapeutiques. Implantodontie 2004;**13**:229-235.

**18-CLARK RA.**

Fibrin and wound healing.  
Ann N Y Acad Sci 2001;**936**:355-367.

**19-CROVETTI G, MARTINELLI G, ISSI M et coll.**

Platelet gel for healing cutaneous chronic wounds.  
Transfus Apheresis Sci 2004;**30**:145-151.

**20-DE MORAES AM, ANNICHINO-BIZZACHI JM et ROSSI AB .**

Use of autologous fibrin glue in dermatologic: application of skin graft and second attention healing.  
Rev Paul Med 1998;**116**:1747-1752.

**21-DISS A, HITZIG C, CHARBIT Y et coll.**

Le point sur les facteurs de croissance dans la régénération osseuse, revue de littérature.  
J Parodontol Implantol Orale 2003;**22**:5-19.

**22-DISS A, HITZIG C, CHARBIT Y et coll.**

Les concentrés plaquettaires autogènes dans la régénération osseuse, mises au point et perspectives.  
Inf Dent 2004;**86**(43):3041-3051.

**23-DOHAN DM, DEL CORSO M et CHARRIER JB.**

Citotoxicity analyses of Choukroun's platelet rich fibrin (PRF) on a wide range of humancells:  
The answer to a commercial controversy.

Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral radiol Endod 2007;**103**(3) 587-593.

**24-DOHAN S, CHOUKROUN J, DOHAN A et coll.**

Platelet rich fibrin PRF: a new healing biomaterial. Part 1: biotechnologies and fibrin.  
Implantodontie 2004a;**13**:87-97.

**25-DOHAN S, CHOUKROUN J, DOHAN A et coll.**

Platelet rich fibrin PRF: a new healing biomaterial. Part 2: Platelets and cytokines.  
Implantodontie 2004b;**13**:99-108.

**26-DOHAN S, CHOUKROUN J, DOHAN A et coll.**

Platelet rich fibrin PRF: a new healing biomaterial. Part 3: immune features.  
Implantodontie 2004c;**13**:109-115.

**27-DOHAN S, DOHAN A, CHOUKROUN J et coll.**

De l'usage des concentrés plaquettaires autologues en application topique.  
Encycl Med Chir (Paris), Odontologie,23-330-A-30,2005,**30**.

**28-DOHAN D, DONSIMONI JM, NAVARRO G et coll.**

Concentrés plaquettaires : technologies, biologie associée, applications cliniques, analyses  
histologiques. Première partie : technologies  
Implantodontie 2003a;**50**:5-16.

**29-DOHAN D, DONSIMONI JM, NAVARRO G et coll.**

Concentrés plaquettaires : technologies, biologie associée, applications cliniques, analyses histologiques. Deuxième partie: biologie associée.

Implantodontie 2003b;**50**:17-25.

**30-DVORAK HF, HARVEY VS, ESTRELLA P et coll.**

Fibrin containing gels induce angiogenesis. Implications for tumor stroma generation and wound healing.

Lab Invest 1987;**57**:673-686.

**31-FENG X, CLARK RA, GALANAKIS D et coll.**

Fibrin and collagen differentially regulate human dermal microvascular endothelial cell integrins: stabilisation of  $\alpha v \beta 3$  mRNA by fibrin 1.

J Invest Dermatol 1999;**113**:913-919.

**32-FEUILLE F, KNAPP CL, BRUNSVOLD MA et coll.**

Evaluations cliniques et histologiques des greffes osseuses de comblement pour le comblement des défauts crestaux localisés. Première partie :allogreffe d'os minéralisé lyophilisé.

Parodontol Dent Rest 2003;**23**:29-35.

**33-GEHRING S, HOERAUF H, LAGUA H et coll.**

Preparation of autologous platelets for the ophthalmologic treatment of macular holes.

Transfusion 1999;**3**(2):144-148.

**34-GEURTSSEN W.**

Toxicology of dental materials and « clinical experience ».  
J Dent Res 2003;**82**:500.

**35-GEURTSSEN W, SPAHL W, MULLER K et coll.**

Aqueous extracts from dentin adhesives contain cytotoxic chemicals.  
J Biomed Mater Res 1999;**48**:772-777.

**36-GIBBLE JW et NESS PM.**

Fibrin glue: the perfect operative sceallant?  
Transfusion 1990;**30**:741-747.

**37-GRUBER R, VARGA F, FISCHER MB et coll.**

Platelets stimulate proliferation of bone cells: involvement of platelet-derived growth factor, microparticles and membranes.  
Clin Oral Implants Res 2002;**1**(5):529-535.

**38-GUREVICH O, VEXLER A, MARX G et coll.**

Fibrin microbeads for isolating and growing bone marrow-derived progenitor cells capable of forming bone tissue.  
Tissue Eng 2008;**8**:661-672.

**39-KOSKIEVIC J, GAREL JM et ROUAH Y.**

Facteurs de croissance en implantologie orale : mythe ou réalités ? 2<sup>e</sup> partie : étude comparative et applications cliniques.  
Implant 2004;**10**(1):37-52.

**40-LACOSTE E et LAGNON G.**

Concentrés plaquettaires: applications cliniques et état des connaissances actuelles.  
J Dent Que 2004 mars;**41**:109-116.

**41-LANIR N, CIANO PS, VAN DE WATER L et coll.**

Macrophage migration in fibrin gell matrices. II. Effects of clotting facture XIII, fibronectin and glycoaminoglycan content on cell migration.  
J Immunol 1988;**140**(7):2340-2349.

**42-LORIMER S, BOUTHORS S, DROULLE C et coll.**

The rate of fibrinolyse is increased by free retraction of human gingival fibroblasts populated fibrin lattices.  
Int J Biochem Cell Biol 1997;**2**:18-19.

**43-LORIMER S, HORNEBECK W, GODEAU G et coll.**

Morphometric studies of collagen and fibrin lattices contracted by human gingival fibroblasts; comparison with dermal fibroblasts.  
J Dent Res 1998;**77**:1717-1729.

**44-MAN D, PLOSKER H et WINLAND-BROWN JE.**

The use of autologous platelet-rich plasma (platelet gel) and autologous platelet-poor plasma (fibrin glue) in cosmetic surgery.  
Plast Reconstr Surg 2001;**107**:229-237.

**45-MARX RE, CARLSON ER, EICHSTAEDT RM et coll.**

Platelet-rich plasma : Growth factor enhancement for bone grafts.

Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 1998;**85**(6):638-646.

**46-MATRAS H.**

Effects of various fibrin preparations on reimplantations in the rat skin.

Osterr Z Stomatol 1970;**67**:338-359.

**47-MATRAS H.**

Fibrin sealant in maxillofacial surgery. Development and indications. A review of the past 12 years.

Plast Surg 1985a;**2**(4):297-313.

**48-MATRAS H.**

Fibrin seal: the state of the art.

J Oral Maxillofac Surg 1985b;**43**:605-611.

**49-MINISTERE DE LA SANTE ET DES SOLIDARITES.**

Guide de prévention des infections liées aux soins en chirurgie dentaire et en stomatologie, deuxième édition, juillet 2006.

[http://www.sante.gouv.fr/htm/dossiers/infect\\_chirdentaire/guide.pdf](http://www.sante.gouv.fr/htm/dossiers/infect_chirdentaire/guide.pdf)

**50-MORIOUSSEF G.**

PRF et pratique quotidienne.

Implantologie 2003 nov;**(1)**:95-100.

**51- MOSESSON MW, SIEBENLIST KR, MEH DA et coll**

The structure and biological features of fibrinogen and fibrin.

Ann N Y Acad Sci 2001;**936**:11-30.

**52-MOTT DA, MAILHOT J, CUENIN MF et coll.**

Enhancement of osteoblast proliferation in vitro by selective enrichment of demineralised freeze-dried bone allograft with specific growth factors.

J Oral Implantol 2002; **28**(2):57-66.

**53-NEHLS V et HERRMANN R.**

The configuration of fibrin clots determines capillary morphogenesis and endothelial cell migration.

Microvasc Res 1996;**51**:347-364.

**54-O'CONNELL SEAN M, CHIEF MEDICAL OFFICER, CASCADE MEDICAL ENTERPRISES.**

Safety issues associated with Platelet-Rich Fibrin Method.

Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2007; **103**(5):587.

**55-OPREA WE, KARP JM, HOSSEINI MM et coll.**

Effects of platelet releasate on bone cell migration and recruitment in vitro.

J Craniofac Surg 2003;**1**(3):292-300.

**56-OZ MC, JEEVANANDAM V, SMITH CR, et coll.**

Autologous fibrin glue from intraoperatively collected platelet-rich plasma.

Ann Thorac Surg 1992; **53**:530-531.

**57-PICHE JE et GRAVES DT.**

Study of the growth factor requirements of human bone-derived cells: a comparison with human fibroblasts.

Bone 1989; **1**(2):131-138.

**58-REGARD R.**

Les PRF et les PRP assimilés à des produits de santé.

La lettre 2004 oct;**31**:15.

**59-ROSENBERG E.**

Utilisation des facteurs de croissance pour la régénération osseuse.

J Parodontol Implantol Oral 1999;**18**(3):301-311.

**60-SANTHOSH KUMAR TR et KRISHNAN LK.**

Endothelial cell growth factor (ECGF) enmeshed with fibrin matrix enhances proliferation of EC in vitro.

Biomaterials 2001;**2**(20):2769-2776.

**61-SOCIETE FRANCAISE de PARODONTOLOGIE et D'IMPLANTOLOGIE ORALE**

Position de la SFPIO sur le PRF, 10 avril 2008.

<http://www.sfparo.org/particles.php?id=32>

**62-STEENVOORDE P, VAN DOORN LP, NAVES C et coll.**

Use of autologous platelet-rich fibrin on hard-to-heal wounds.

J Wound Care 2008; **17**(2):60-63.

**63-TAYAPONGSAK P, O'BRIEN DA, MONTEIRO CB et coll.**

Autologous fibrin adhesive in mandibular reconstruction with particulate cancellous bone and marrow.

J Oral Maxillofac Surg 1994;**52**:161-166.

**64-TIAN W, WANG D, QIAO J et coll.**

Effects of two growth factors combinations on the proliferation and differentiation of human osteoblasts-like cells.

Hua Xi Kou Qiang Yi Xue Za Zhi 1999;**17**(1):78-81.

**65-YAMADA Y, BOO JS, OZAWA R et coll.**

Bone regeneration following injection of mesenchymal stem cells and fibrin glue with a biodegradable scaffold.

J Craniomaxillofac Surg 2003;**31**:27-33.

**66-YU J, USTACH C et KIM HR.**

Platelet-derived growth factor signaling and human cancer.

J Biochem Mol Biol 2003;**3**(1):49-59.

**67-ZERAH FA.**

Apport des P.R.F. dans les greffes osseuses : à propos de cas de greffes pariétales.

Implantologie 2004 fev ;**(2)**1:5-20.

## Table des illustrations

Figure 1 : Les relations entre les facteurs de la régénération osseuse selon Diss A et coll. (21)	16
Figure 2 : Modélisation théorique en image de synthèse d'une fibrille constituée selon une technique platelet rich fibrin selon Dohan S et coll. (24)	17
Figure 3 : copeaux de PRF seuls (sur l'image de gauche) et avant mélange avec de la poudre d'os allogène (à droite) selon Zerah (67)	21
Figure 4: Caillot de PRF avant et après écrasement entre 2 compresses afin d'obtenir la forme membranaire d'après Chavrier (11)	21
Figure 5: Cas proposé par Choukroun et coll. (15)	22
Figure 6: tableau récapitulatif des niveaux de preuve scientifique des études selon l'Afssaps (1)	23





## FICHE DE TRAÇABILITE PRF

(à conserver dans la dossier du patient)

Cabinet du Dr :

Procédure en date du :

Heure :

NOM du patient : .....

NOM et qualité du préleveur : .....

Tubes prélevés :  2  4  6  8  Autre : .....

### MATERIEL UTILISE :

Centrifugeuse :  EBA 20  PC 02  Autre :

Tubes (usage unique) :  Vacuette  BD  Veinoject  Autre : Lot N° :

Unité de prélèvement (u. unique) :  Vacuette  BD  Veinoject  Autre: Lot N°

### OBSERVATIONS PENDANT LA PROCEDURE :

PRF utilisé seul en membrane

PRF mélangé à greffe :  autogène  allogreffe  xéno greffe   
synthétique

Pas d'observations particulières

Si oui lesquelles :

### INCIDENTS OU COMPLICATIONS POST-OPERATOIRES :

(à signaler obligatoirement à l'Afssaps et au SNPI)



## FICHE DE CONSENTEMENT

**NOM:**

**Prénom:**

**Date de naissance:**

**Profession:**

**Adresse :**

**Téléph**

Date :

Je soussigné(e) :

Certifie avoir été informé par le Docteur .....

- 1) Qu'il souhaitait procéder pendant l'intervention chirurgicale prévue le :  
à un prélèvement de mon propre sang afin de le centrifuger.  
Cette centrifugation permet de récupérer un concentré de plaquettes sanguines qui sera appliqué au niveau du site chirurgical afin de faciliter la cicatrisation des tissus.  
Il m'a informé qu'il avait subi une formation spécialisée pour cette technique
- 2) J'ai été informé sur la nature de la procédure et notamment :
  - Le matériel de prélèvement est stérile et à usage unique
  - Le prélèvement ne quitte pas la salle opératoire
  - Aucun produit ni substance ne sont rajoutés au prélèvement
  - La centrifugation se déroule dans la salle de chirurgie
- 3) Le prélèvement sera effectué par une personne habilitée :
  - Mon chirurgien-dentiste qui a subi une formation spécialisée
  - Médecin ou Biologiste
  - Infirmière
  - Préleveur de laboratoire

**Signature : précédée de la mention manuscrite « lu et approuvé »**

**ALLARD Pierre. De l'intérêt de l'utilisation du PRF en chirurgie osseuse pré-implantaire. 62f. ; ill. ; tabl. ; 67 ref. ; 30 cm (Thèse : Chir. Dent. ; Nantes ; 2009). N°**

**Résumé de la thèse :**

La chirurgie est une science médicale bien maîtrisée ; elle implique cependant une vigilance particulière quant aux suites opératoires, qu'elles soient hémorragiques, infectieuses ou douloureuses.

De nombreux adjuvants à la cicatrisation ont alors été élaborés. En odontologie, la technologie du PRF ou Platelet Rich Fibrin, a été développée récemment dans le but de réguler l'inflammation, pour favoriser ainsi la cicatrisation et diminuer les suites opératoires.

La législation sur la manipulation des produits dérivés du sang n'autorise pas aux praticiens français les mêmes gestes que leurs homologues étrangers, le PRF est venu combler ce manque.

Les constituants de ce concentré plaquettaire et leurs rôles biologiques seront détaillés et expliqués.

On procédera ensuite à une évaluation de la littérature sur le sujet en présentant les différents cas et études disponibles.

On conclut finalement sur l'absence de publications démontrant l'intérêt de l'utilisation de cet adjuvant en chirurgie osseuse pré-implantaire.

**Rubrique classement : Implantologie**

**Domaine Bibliodent : Implantologie**

**Mots clefs bibliodent : Os, Implantologie, Chirurgie, Cicatrisation, Fibrine, Plaquette**

**MeSH : Cicatrisation/Wound healing, Fibrine/Fibrin, Implant dentaire/Dental Implants, Facteur croissance plaquettes/Platelet-derived growth factor, Inflammation/ Inflammation.**

**Jury : Président : Professeur Wolf BOHNE  
Directeur : Docteur Saïd KIMAKHE  
Assesseurs : Docteur Afchine SAFFARZADEH  
Docteur Alexis GAUDIN**

**Adresse de l'auteur : 11 rue Pasteur  
44500 La Baule  
[Peter187@hotmail.fr](mailto:Peter187@hotmail.fr)**