

UNIVERSITE DE NANTES
UNITÉ DE FORMATION ET DE RECHERCHE D'ODONTOLOGIE

Année : 2014

N° :

**BIOMATERIAUX DE RÉGÉNÉRATION PARODONTALE ET
CELLULES SOUCHES MÉSENCHYMATEUSES :
ETAT DE LA QUESTION**

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

Présentée

Et soutenue publiquement par

MARSDEN Anne-Claire

Née le 23 décembre 1987

Le devant le jury ci-dessous :

Président : Monsieur le Professeur Assem Soueidan

Assesseur : Monsieur le Professeur Pierre Weiss

Assesseur : Monsieur le Docteur Christian Verner

Directeur : Monsieur le Docteur Xavier Struillou

UNIVERSITÉ DE NANTES	
Président	Pr. LABOUX Olivier
FACULTÉ DE CHIRURGIE DENTAIRE	
Doyen	Pr. AMOURIQ Yves
Asseseurs	Dr. RENAUDIN Stéphane Pr. SOUEIDAN Assem Pr. WEISS Pierre
Professeurs des Universités Praticiens hospitaliers des C.S.E.R.D.	
Monsieur AMOURIQ Yves Madame ALLIOT-LICHT Brigitte Monsieur GIUMELLI Bernard	Monsieur LESCLOUS Philippe Madame PEREZ Fabienne Monsieur SOUEIDAN Assem Monsieur WEISS Pierre
Professeurs des Universités	
Monsieur BOHNE Wolf (Professeur Emérite) Monsieur JEAN Alain (Professeur Emérite)	Monsieur BOULER Jean-Michel
Praticiens Hospitaliers	
Madame DUPAS Cécile	Madame LEROUXEL Emmanuelle
Maîtres de Conférences Praticiens hospitaliers des C.S.E.R.D.	Assistants hospitaliers universitaires des C.S.E.R.D.
Monsieur AMADOR DEL VALLE Gilles Madame ARMENGOL Valérie Monsieur BADRAN Zahi Monsieur BODIC François Madame DAJEAN-TRUTAUD Sylvie Monsieur DENIAUD Joël Madame ENKEL Bénédicte Monsieur GAUDIN Alexis Monsieur HOORNAERT Alain Madame HOUCHMAND-CUNY Madline Madame JORDANA Fabienne Monsieur KIMAKHE Saïd Monsieur LAGARDE André Monsieur LE BARS Pierre Monsieur LE GUEHENNEC Laurent Madame LOPEZ-CAZAUX Séréna Monsieur MARION Dominique Monsieur NIVET Marc-Henri Monsieur RENAUDIN Stéphane Madame ROY Elisabeth Monsieur STRUILLLOU Xavier Monsieur UNGER François Monsieur VERNER Christian	Madame BOEDEC Anne Monsieur CLÉE Thibaud Monsieur DAUZAT Antoine Madame DAZEL LABOUR Sophie Monsieur DEUMIER Laurent Monsieur LE BOURHIS Antoine Monsieur KOUADIO Kouakou (assistant associé) Monsieur LANOISELEE Edouard Madame LEGOFFE Claire Madame MAÇON Claire Madame MALTHIERY Eve Madame MELIN Fanny Madame MERAMETDJIAN Laure Monsieur PILON Nicolas Monsieur PRUD'HOMME Tony Monsieur RESTOUX Gauthier Madame RICHARD Catherine Monsieur ROLOT Morgan

Janvier 2014

Par délibération, en date du 6 décembre 1972, le conseil de la Faculté de Chirurgie Dentaire a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'il n'entend leur donner aucune approbation, ni improbation.

REMERCIEMENTS

A Monsieur le Professeur Assem SOUEIDAN,

Professeur des universités

Praticien hospitalier des Centres de soins d'enseignement et de recherche dentaires

Docteur de l'université de Nantes

Habilité à diriger des recherches

Chef du département de Parodontologie

- NANTES

*Pour m'avoir fait l'honneur de présider cette thèse,
Pour votre accessibilité, votre écoute et votre investissement,
Veuillez trouver ici l'expression de ma haute considération et de mon profond respect.*

A Monsieur le Docteur Xavier STRUILLLOU,

Maître de conférences des universités

Praticien hospitalier des Centres de soins d'enseignement et de recherche dentaires

Docteur de l'université de Nantes

Département de Parodontologie

- NANTES

*Pour m'avoir fait l'honneur de m'accorder votre confiance en dirigeant cette thèse,
Pour votre bienveillance, votre soutien et vos conseils avisés,
Veuillez trouver ici l'expression de ma sincère estime et grande reconnaissance.*

A Monsieur le Professeur Pierre WEISS,

Professeur des universités

Praticien hospitalier des Centres de soins d'enseignement et de recherches dentaires

Docteur de l'université de Nantes

Habilité à diriger des recherches

Directeur du Laboratoire d'Ingénierie Ostéo-Articulaire et Dentaire –LIOAD- INSERM
UMRS 791 Université de Nantes

- NANTES

*Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter de siéger dans ce jury de thèse,
Pour vos encouragements et pour l'intérêt qui vous avez porté à ce sujet,
Veuillez trouver ici l'expression de ma profonde considération et mes sincères remerciements.*

A Monsieur le Docteur Christian VERNER,

Maître de Conférences des Universités

Praticien Hospitalier des Centres de soins, d'enseignement et de recherches dentaires

Docteur de l'Université de Nantes

Département de parodontologie

- NANTES

*Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter de siéger dans ce jury de thèse,
Pour votre disponibilité, votre sympathie et vos conseils éclairés,
Veuillez trouver ici l'expression de ma grande reconnaissance et profonde gratitude.*

A Monsieur le Docteur Zahi BADRAN,

Maître de conférences des universités

Praticien hospitalier des Centres de soins d'enseignement et de recherche dentaires

Docteur de l'université de Nantes

Département de Parodontologie

-NANTES

*Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter de siéger dans ce jury de thèse,
Pour vos conseils, votre gentillesse et votre disponibilité,
Veuillez trouver ici l'expression de mon profond respect et mes sincères remerciements.*

A Monsieur le Professeur Jérôme Guicheux,

Directeur de recherche de l'INSERM

Habilité à diriger des recherches

Directeur-Adjoint du Laboratoire d'Ingénierie Ostéo-Articulaire et Dentaire –LIOAD-
INSERM UMRS 791 Université de Nantes

-NANTES

*Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter de siéger dans ce jury de thèse,
Pour l'intérêt que vous avez porté à ce sujet,
Veuillez trouver ici l'expression de mes sincères et respectueux remerciements.*

Je dédie cette thèse à mes parents et à mon frère,
Marylène, Christopher et Pierre-Edward, sans vous je ne serai jamais où j'en suis maintenant.
Cette thèse est pour vous.

A ma grand-mère, pour sa gentillesse et son soutien infailible et à mon grand-père qui a
longtemps imaginé ce moment

A Nana et Grand-Pa, pour avoir toujours pu compter sur eux, même outre-manche.

A Baptiste et Marie-Pauline, vous avez rendu ces dernières années extra-ordinaires...je
n'imagine pas, d'ailleurs, les années futures sans vous.

A Alex et Lise pour les fous rires et ce don de télépathie que nous partageons.

Et à toutes ces rencontres au sein de l'université ou ailleurs, qui ont rendu ces 6 dernières
années inoubliables...

Table des matières

INTRODUCTION :.....	16
<u>PARTIE 1 : LA RÉGÉNÉRATION PARODONTALE</u>	17
I. ODONTOGENESE :.....	17
1. PREMIERS STADES DE DEVELOPPEMENT.....	17
2. LA RHIZAGENESE	17
II. MALADIE PARODONTALE	18
III. DYNAMIQUE D'UNE REGENERATION PARODONTALE	19
1. CICATRISATION PARODONTALE.....	19
2. ELEMENTS NECESSAIRES A LA REGENERATION PARODONTALE.....	20
3. CAS PARTICULIER DE LA MATRICE EXTRACELLULAIRE	21
4. SIGNES CLINIQUES D'UNE REGENERATION PARODONTALE.....	21
IV. HISTORIQUE DES MOYENS THERAPEUTIQUES	22
1. LE DEBRIDEMENT AVEC LAMBEAU D'ACCES	22
2. LES MATERIAUX DE SUBSTITUTION OSSEUSE	23
3. LA REGENERATION TISSULAIRE GUIDEE	23
4. LES FACTEURS DE CROISSANCE	23
V. INGENIERIE TISSULAIRE ET CELLULES SOUCHES	24
1. DEFINITION DE L'INGENIERIE TISSULAIRE :	24
2. PRESENTATION ET DESCRIPTION DES CELLULES SOUCHES :	25
2.1. <i>Propriétés</i>	25
2.2. <i>Marqueurs</i>	27
2.3. <i>Leurs localisations</i>	28
2.4. <i>Identification</i>	28
2.5. <i>Mécanisme d'action</i>	28
3. LES MOYENS DE LIBERATION CELLULAIRE :	29
3.1. <i>A l'aide d'un biomatériau</i>	29
3.2. <i>Sans biomatériau</i>	31
<u>PARTIE 2: A L'AIDE DE BIOMATERIAUX</u>	33
I. LE BIOMATERIAU EN INGENIERIE TISSULAIRE	33
II. DESCRIPTION DU BIOMATERIAU IDEAL	34
1. OBJECTIFS EVOLUANT EN FONCTION DES AVANCEES SCIENTIFIQUES.....	34
2. LA CONCEPTION	35
2.1. <i>Généralités</i>	35
2.2. <i>Prise en compte des variables</i>	35
2.3. <i>Qualités requises</i>	35
III. CLASSIFICATION DES DIFFERENTS BIOMATERIAUX	36
1. MATERIAUX D'ORIGINE NATURELLE	37
1.1. <i>Différents types de greffes osseuses</i>	37
1.1.1. L'autogreffe.....	37
1.1.2. L'allogreffe.....	38

1.1.3. La xéno greffe.....	38
1.2. Les polymères naturels	38
1.2.1. Les matériaux dérivés de la MEC	39
1.2.2. Les dérivés protéiques : la soie.....	39
1.2.3. Les Polysaccharides.....	39
1.2.3.1. Alginate.....	39
1.2.3.2. Chitosan	40
1.3. Les peptides auto-assemblants	40
2. MATERIAUX D'ORIGINE SYNTHETIQUE.....	42
2.1. Les polymères synthétiques.....	42
2.2. Les céramiques phosphocalciques.....	42
2.3. Le bioverre	43
2.4. Le sulfate de calcium.....	44
3. MATERIAU SEMI-SYNTHETIQUE :	44
IV. OPTIMISATION DES CARACTERISTIQUES.....	45
V. PROCEDES DE FABRICATION	46
1. ECHAFAUDAGE INJECTABLE	46
1.1. Analyse comportementale cellulaire.....	46
1.2. Les hydrogels.....	47
2. ECHAFAUDAGES SOLIDES POREUX	48
2.1. Procédés de fabrication habituels.....	49
2.2. Nouvelles technologies de fabrication.....	50
2.2.1. La technique d'électrofilage	50
2.2.2. Le prototypage rapide:.....	50
2.2.3. Le procédé de fluide super-critique	51
PARTIE 3: A L'AIDE DE CELLULES SOUCHES	
MÉSENCHYMATEUSES.....	52
I. LES CELLULES SOUCHES	52
1. CLASSIFICATION	52
1.1. Les cellules souches pluripotentes.....	52
1.2. Les cellules souches multipotentes.....	54
1.2.1. Dérivées de la moelle osseuse.....	54
1.2.2. Dérivées des tissus dentaires/oraux	54
1.2.3. Dérivées de la muqueuse orale.....	57
1.2.4. Dérivées du périoste :	57
1.2.5. Dérivées des glandes salivaires :	57
1.2.6. Dérivées du tissu adipeux ASC :	58
2. LES PROCEDES DE CULTURE IN VITRO	58
2.1. L'isolement.....	58
2.2. La différenciation.....	60
II. INFLUENCE DES FACTEURS DE CROISSANCE EN	
REGENERATION PARODONTALE	62
1. LES CELLULES SOUCHES ET LES FACTEURS DE CROISSANCE.....	62
2. DESCRIPTION DES DIFFERENTS FACTEURS DE CROISSANCE.....	62
2.1. Bone morphogenic protein (BMP).....	63
2.2. Platelet derived growth factor PDGF	63
2.3. Fibroblast growth factor FGF.....	64
2.4. Transforming growth factor β TGF β	65
2.5. Epidermal growth factor EGF.....	65
2.6. Insulin like growth factor IGF.....	66
2.7. Facteurs liés au ciment :	66

2.8. Growth differentiation factor-5 GDF-5	66
2.9. Platelet rich plasma PRP	67
2.10. Enamel matrix derivative EMD.....	67
3. LES DIFFERENTES METHODES D'APPLICATION	67
3.1. Les thérapies géniques.....	67
3.1.1. Les méthodes non virales.....	68
3.1.2. Les méthodes virales.....	68
3.2. Libération des facteurs in situ	71
3.2.1. Les prérequis	71
3.2.2. Immobilisation des facteurs de croissance.....	71
3.2.3. Les différents profils de libération.....	72
4. LES ETUDES DES FACTEURS DE CROISSANCE EN REGENERATION PARODONTALE.....	73
4.1. Revue systématique d'EMD.....	73
4.2. Méta-analyse de PDGF-BB.....	74
4.3. Etude randomisée double aveugle de FGF2.....	74
4.4. Association de deux facteurs.....	74

PARTIE 4: ANALYSE DE LA LITTERATURE

SCIENTIFIQUE..... 75

I. METHODOLOGIE DE LA STRATEGIE DE RECHERCHES

DOCUMENTAIRES 75

1. RECUEIL DES DONNEES.....	75
2. SELECTION DES ARTICLES	75
3. CRITERES D'EVALUATION POUR L'ANALYSE QUALITATIVE	77

II. ANALYSES DES ETUDES SELECTIONNEES 77

1. CLASSEMENT DES ETUDES SELON LE GRADE DE RECOMMANDATIONS.....	77
2. ANALYSE DES RESULTATS.....	78
1.1. Généralités	78
1.2. Analyse récapitulative selon le type de cellules souches mésenchymateuses	81
1.2.1. PDLSC	81
1.2.2. BMSC.....	81
1.2.3. DPSC.....	82
1.2.4. SHED.....	82
1.2.5. GMSC.....	83
1.2.6. SCAP.....	83
1.2.7. DFSC.....	83
1.2.8. Cellules souches périostées.....	83
1.2.9. ASC.....	84
1.3. Analyse comparative des cellules souches mésenchymateuses :.....	84
1.3.1. Selon leur capacité régénératrice.....	84
1.3.2. Selon leurs limites	85

III. LES CHALLENGES EN REGENERATION PARODONTALE: 85

1. CHALLENGE BIOLOGIQUE	85
1.1. La source cellulaire	85
1.2. Différents modèles expérimentaux.....	86
2. CHALLENGE TECHNIQUE.....	86
2.1. Différents types de matrices	86
2.2. Le milieu de culture	87
3. CHALLENGE CLINIQUE.....	87

IV. LES PERSPECTIVES D'AVENIR..... 87

CONCLUSION : 95

BIBLIOGRAPHIE : 96

« Nous marchons à tâtons dans un univers dont nous ne connaissons que les apparences les plus grossières »
A. HUXLEY

Au cours de ces dernières années, la quête d'une jeunesse éternelle a pris une place prépondérante dans notre société et a donc implicitement été intégrée dans la grande thématique de la santé. Ce refus d'accepter les signes de la vieillesse se fait ressentir également au sein de la pratique odontologique.

Toutefois, de par le vieillissement de la population, le praticien se trouve confronté à des pathologies où la perte des tissus de soutien voire des dents elles-mêmes, est inévitable, c'est le cas de la parodontite.

Malgré les progrès importants dans la compréhension de sa pathogénèse ainsi que dans le développement des outils nécessaires à son traitement, nous ne pouvons actuellement que stabiliser la parodontite et permettre ainsi aux patients de conserver leurs dents un peu plus longtemps.

Cependant, à ce jour, cette solution ne donne entière satisfaction, ni aux patients, ni aux praticiens. Ainsi, dans le but d'améliorer le traitement clinique de la parodontite, le nombre de recherches en ingénierie tissulaire, augmente de manière exponentielle ; c'est un domaine multidisciplinaire qui implique la biologie, la médecine et l'ingénierie. Ces études se focalisent en particulier sur les cellules emblématiques de l'éternelle jeunesse à savoir les cellules souches mésenchymateuses. Il s'agirait donc de réussir à allier leurs capacités à celles des biomatériaux, dans l'objectif de régénérer le parodonte lésé.

Après avoir défini en quoi consiste une régénération parodontale, nous allons présenter les différents biomatériaux et cellules souches disponibles, dans le but d'obtenir un retour tissulaire ad integrum. Enfin, un état de la question sur les études scientifiques en régénération parodontale par l'intermédiaire de cellules souches et de biomatériaux, permettra de faire le point sur les différentes études parues à ce jour.

PARTIE 1 : LA REGENERATION PARODONTALE

I. ODONTOGENESE :

1. Premiers stades de développement (1,2)

L'objectif d'une médecine régénératrice est de recréer, étape par étape, in vitro, tous les mécanismes et les processus utilisés par la nature lors de la morphogénèse d'un organe. Ainsi, dans le cadre de la régénération parodontale, il faut, en premier lieu, comprendre les processus de genèse du parodonte.

L'odontogénèse débute lors du développement cranio-facial, avec une migration des cellules des crêtes neurales céphaliques vers le premier arc branchial d'origine mésodermique ; celles-ci forment alors une bande de tissu d'ectomésenchyme sous l'épithélium du stomodéum.

Vers le 2^{ème} mois de vie intra-utérine, on observe un épaississement épithélial de l'ectoderme oral représentant la lame dentaire primaire. Cette dernière va s'enfoncer dans le mésenchyme et se dédoubler en lame vestibulaire et en lame dentaire (à l'origine des arcades dentaires).

C'est à partir de cette lame dentaire que se forment les placodes, futures dents, temporaires et définitives. La placode ou lame dentaire, s'enfonce dans le mésenchyme, qui lui se condense et préfigure la papille dentaire, et l'ensemble de ces éléments forme le bourgeon dentaire.

Histologiquement, la morphologie devient progressivement plus claire au stade de la cupule puis de la cloche.

Composée de 2 couches cellulaires épithéliales interne et externe, la lame dentaire possède apicalement une zone de réflexion, la gaine épithéliale d'Hertwig (GEH), où ces 2 couches sont accolées.

Cette gaine épithéliale s'interpose donc entre 2 zones de cellules mésenchymateuses délimitant ainsi la papille dentaire d'un côté (future pulpe dentaire) et le follicule de l'autre. A son extrémité, un diaphragme circulaire est ménagé : le foramen primaire.

2. La Rhizagénèse

La formation du parodonte se produit simultanément avec la formation radiculaire via une interaction entre l'épithélium et le mésenchyme. (**Fig. 1**)

Le follicule dentaire est à l'origine du parodonte profond et comprend le ciment, l'os alvéolaire ainsi que le desmodonte ou ligament alvéolo-dentaire ; alors que l'épithélium et le chorion gingival sont à l'origine du parodonte superficiel c'est à dire la gencive.

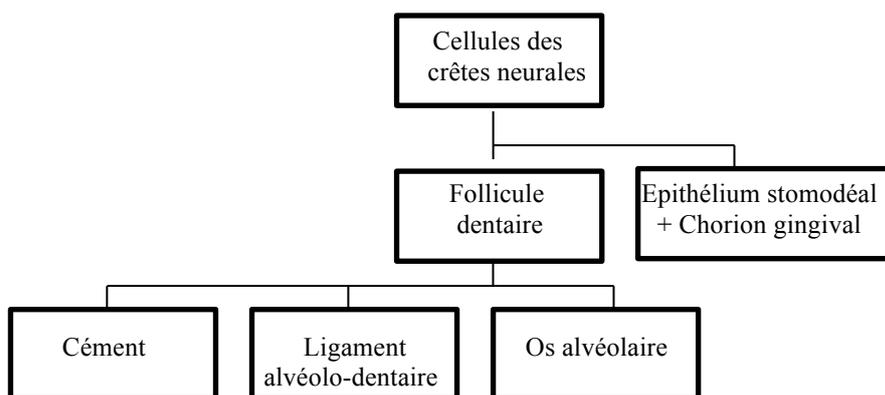


Fig. 1 : *Origine des tissus dentaires*

Le follicule peut être délimité en 2 zones :

-le follicule dentaire qui est formé d'une bande cellulaire bien définie. Il est juxtaposé à la papille dentaire, au contact de la gaine épithéliale d'Hertwig et de la couche externe de la lame dentaire.

-la zone mésenchymateuse périfolliculaire qui est composée de cellules lâchement organisées, situées plus en périphérie du follicule dentaire.

La dentinogénèse radiculaire, produite par les odontoblastes et orientée parallèlement à la membrane basale, peut s'expliquer par une fragmentation des cellules de la gaine épithéliale de Hertwig.

Une fois cette gaine partiellement détruite, le contact entre le follicule et la dentine radulaire déclencherait la cémentogénèse. Bien évidemment, la présence de facteurs de croissance tels que BMP ou follistatine (2) participerait également à cette dernière. Il existe différentes hypothèses quant à l'origine des cémentoblastes : des pré-cémentoblastes seraient issus, soit des cellules du follicule dentaire, soit de la gaine épithéliale de Hertwig.

L'ostéogénèse de l'os alvéolaire débute par une condensation du mésenchyme, les cellules y prolifèrent et se différencient en ostéo-précurseurs puis en ostéoblastes. Ces précurseurs ont pour origine non seulement le follicule dentaire mais également le mésenchyme périfolliculaire. L'élaboration de la matrice ostéoïde, support de la minéralisation, permet la formation d'un tissu osseux primaire.

Le desmodonte également issu du follicule dentaire, est initialement un tissu conjonctif non organisé qui sera à terme remodelé par la matrice extracellulaire. Après la fragmentation de la gaine épithéliale d'Hertwig, certaines cellules mésenchymateuses acquièrent un caractère fibroblastique. De ce fait, elles possèdent une fonction sécrétoire importante en formant une matrice extracellulaire, composée de collagène et de substance fondamentale ligamentaire. Ainsi, au sein du desmodonte, le nombre de cellules différenciées, principalement les cémentoblastes, les ostéoblastes et les ostéoclastes, augmente. Toutefois, les zones périvasculaires semblent posséder un nombre de cellules indifférenciées plus élevé.

Quant à l'orientation des fibres ligamentaires, elle évolue en fonction du degré d'avancement de la racine, du déplacement dans son alvéole et de la mise en fonction de la dent. Le bon déroulement de cette étape est essentiel car le ligament alvéolo-dentaire, unique parmi les ligaments et tendons du corps, unit 2 tissus durs et permet donc la bonne répartition des forces mécaniques appliquées sur une dent (3).

Enfin, l'émail sécrété par les améloblastes, est recouvert coronairement d'un épithélium adamantin réduit ; il représente une protection entre l'émail et le tissu conjonctif. Lors de l'éruption dentaire, les cellules de l'épithélium adamantin réduit se transforment en cellules malpighiennes avec une activité mitotique importante. Ainsi se forme une attache épithéliale, préfigurant le sulcus, car l'épithélium oral est en continuité avec l'épithélium formé par les cellules malpighiennes nouvellement différenciées. Pour certains auteurs, la transformation de l'épithélium adamantin en épithélium fonctionnel n'est complète qu'en fin d'éruption (4).

La dent, en éruption, est confrontée à plus de 1000 espèces de bactéries présentes dans l'environnement buccal. Le sulcus devient alors une porte d'entrée de maladies parodontales potentielles.

En effet, histologiquement une gencive saine n'existe pas, puisqu'un infiltrat inflammatoire est présent en permanence. Néanmoins, un équilibre est obtenu grâce à la conjugaison des anticorps de l'hôte, de la phagocytose par les macrophages et les neutrophiles, de la barrière physiologique épithéliale, de la présence du fluide gingival et de la desquamation des cellules épithéliales.

II. MALADIE PARODONTALE

Une régénération n'est utile que suite à une destruction, la cause d'une destruction parodontale la plus fréquente est la maladie parodontale. Maladie plurifactorielle, la parodontite est due à une contamination opportuniste bactérienne couplée à des facteurs de risques sur un terrain particulier.

Des agrégats de bactéries parodonto-pathogènes sont la cause du phénomène inflammatoire ; ils peuvent être liés à des facteurs de risque, d'origine locale bactérienne (manque d'hygiène bucco-dentaire, caries), d'ordre systémique (VIH, diabète, maladie métabolique, maladie congénitale, état de grossesse) ou encore liés aux conditions de vie (tabagisme, niveau socio-économique).

C'est donc ce processus inflammatoire, déclenché par ce biofilm microbien, qui va détruire progressivement les structures de soutien et d'attache parodontales entraînant une mobilité dentaire et à terme une perte dentaire prématurée.

Il existe différentes parodontites classées selon différents critères (**Fig. 2**)

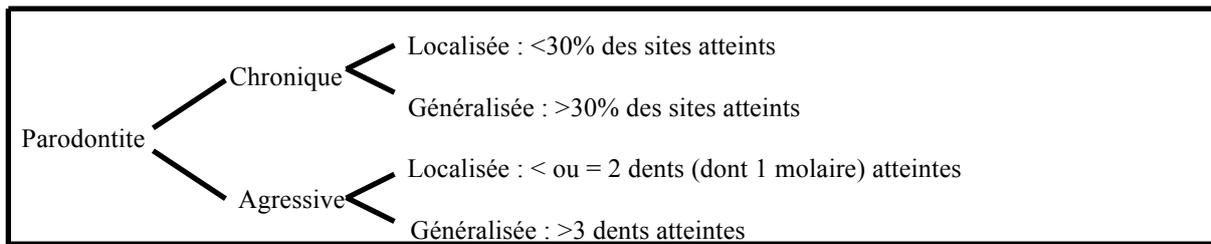


Fig. 2 : Classification des parodontites selon Armitage (4)

Le diagnostic s'effectuera de façon clinique, radiologique et parfois à l'aide d'analyses de laboratoire pour identifier les bactéries responsables. (Fig. 3)

Les critères de diagnostic peuvent être :

- le sondage pour évaluer la perte d'attache clinique, qui correspond à la profondeur de la poche parodontale due à une migration épithéliale, ajoutée à la hauteur de la récession gingivale
- l'évaluation radiologique de la résorption de l'os alvéolaire
- la mobilité dentaire

Cliniquement, la parodontite se caractérise donc, par une lésion inflammatoire en réponse à une agression bactérienne au niveau du sillon gingival, entraînant une destruction irréversible des tissus.

D'un point de vue histologique, l'os alvéolaire subit une lyse irréversible horizontale et/ou verticale liée au processus inflammatoire, les fibres du ligament sont lésées voire désinsérées du cément et le chorion gingival est infiltré par des plasmocytes.

SIGNES CLINIQUES	
GINGIVITE	PARODONTITE
-présence de plaque, tartre -inflammation gingivale avec œdème + saignement spontané → atteinte du parodonte superficiel → préservation du parodonte profond : intégrité de l'os alvéolaire avec aucune perte d'attache <p style="text-align: center;">REVERSIBLE</p>	-présence de plaque, tartre -inflammation gingivale -perte d'attache= poche parodontale (migration de l'attache épithéliale) + récession -suppuration gingivale -mobilité dentaire -radiologiquement : lyse osseuse verticale et/ou horizontale → Destruction du système d'attache et donc atteinte du parodonte profond <p style="text-align: center;">IRREVERSIBLE</p>

Fig. 3 : Signes cliniques de la gingivite et de la parodontite

III. DYNAMIQUE D'UNE REGENERATION PARODONTALE

Pour pouvoir obtenir une régénération du parodonte grâce à des moyens d'ingénierie tissulaire, il faut d'abord tenter de comprendre les mécanismes cellulaires et moléculaires se produisant lors de la cicatrisation. Une fois cette dynamique connue et comprise, nous pourrions tenter de mettre en place des moyens permettant d'imiter ce processus.

1. Cicatrisation parodontale

Prenons l'exemple d'une cicatrisation parodontale d'un point de vue tissulaire suite à un surfaçage sous lambeau (5).

Il faut prendre en compte différents acteurs :

- la surface dentaire non vascularisée,
- l'attache conjonctive et l'épithélium qui eux sont vascularisés,
- les ressources tissulaires de l'os et du ligament.

A l'interface entre les 2 tissus se trouve un caillot de fibrine, on observe dès lors des phénomènes d'inflammation.

D'abord caractérisée par une accumulation de neutrophiles et de monocytes à la surface dentaire, l'inflammation se poursuit par une migration des macrophages jusqu'au site, puis par la formation d'un tissu de granulation. Par la suite, une attache conjonctive se forme, c'est le début du remodelage tissulaire. Cette maturation dépendra du volume du site et des ressources tissulaires propres à l'individu. Quant aux fibres de collagène orientées fonctionnellement, elles ne seront visibles qu'en fin de cicatrisation.

Il est important de noter que la résistance mécanique normale de la gencive n'est obtenue qu'à 2 semaines, démontrant ainsi la fragilité de celle-ci lors de la cicatrisation ; ce qui souligne l'importance d'une stabilité tissulaire.

La cicatrisation parodontale peut générer :

- une réparation : parfois, un faible volume osseux est recréé ainsi qu'une petite surface du ligament, recouvert par un épithélium long de jonction
- une régénération ad integrum : génération d'os alvéolaire, de ligament et de cément, avec une absence d'épithélium long jonctionnel

La régénération parodontale pourra être validée histologiquement dans les études cliniques sur modèles animaux ou cliniquement et radiologiquement lors d'études humaines.

2. Eléments nécessaires à la régénération parodontale

La principale difficulté rencontrée est de régénérer 4 tissus différents : l'os, le ligament, le cément et la gencive. (6)

Pour obtenir une régénération ou même une réparation, d'un point de vue moléculaire, il faut un nombre suffisant de cellules responsables du processus de régénération. Elles doivent être produites à un moment précis et sur un site adapté : on parle donc de dépendance spatio-temporelle.

Ainsi, la présence indispensable de certaines cellules sur le site va de paire avec l'exclusion de certaines autres. Ce processus de sélection cellulaire serait contrôlé par un ensemble de signaux, tels que des médiateurs, des protéines de la matrice extracellulaire et des récepteurs de surface cellulaire, qui participeraient et initieraient des réponses dans l'expression génique à travers des voies intracellulaires précises. (Fig. 4)

Cellules	Epithéliale	Epithélium jonctionnel
	Endothéliale	Angiogénèse
	Fibroblastes	Gingivaux Ligamentaires
	Ostéoblastiques	Cellules de l'os alvéolaire Ostéoblastes
		Cémentoblastes
Molécules	Facteurs de croissance	Fibroblast Growth Factor -1 et -2 (FGF) Insulin Like Growth Factor-I et -II (ILGF) Bone Morphogenic Protein (BMP) Epidermal Growth Factor (EGF) Platelet-derived Growth Factor (PDGF)
	Molécules d'adhésion	Fibronectine, Laminine, Ostéopontine, Sialoprotéine, Cémentum Attachement Protein
	Protéines structurelles	Collagène type I, III, V, XII, XIV Protéoglycane Hyaluronine Ostéocalcine, Ostéonectine Ténascine Protéines de la matrice de l'émail et dentine Protéines non collagéniques

Fig. 4 : Les différents acteurs participant à la régénération parodontale (3)

Des médiateurs solubles (Fig. 5) se lient aux récepteurs de surface cellulaire et activent des molécules de signalisation intracellulaire qui sont responsables de mécanismes tels que la migration cellulaire, la transformation morphologique ou encore la synthèse de macromolécules de la Matrice Extra Cellulaire (MEC).

-l'occlusion épithéliale doit être établie de longueur < ou égale 2 mm ①

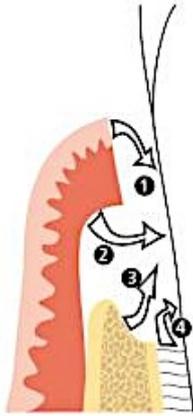


Fig.7 : Participation des différents éléments cellulaires lors d'une régénération parodontale d'après Lindhe et coll. 2008 (1)

Il est évident qu'une coordination entre tissu mou et tissu dur est indispensable.

L'obtention d'une régénération parodontale est donc extraordinairement complexe et nécessite la participation de tous les éléments cellulaires du parodonte. L'implication des différents types cellulaires avec différents médiateurs met en évidence l'importance des interactions Cellule-Cellule, MEC-Cellule ou Molécule-Cellule.

La réussite d'une régénération dépend à la fois, de la disponibilité des cellules cibles et des médiateurs solubles qui les activent, de la matrice extracellulaire en perpétuel développement et évolution ainsi que de l'exclusion de certaines autres cellules (épithéliales par exemple) (6).

Si tant est qu'une régénération tissulaire soit obtenue, les néotissus seront immédiatement exposés à des attaques microbiennes néfastes, à une réponse immunitaire conséquente à la maladie parodontale ; ils seront alors compromis. Il faudra donc inclure ce paramètre au sein des différentes études cliniques.

IV. HISTORIQUE DES MOYENS THERAPEUTIQUES

Ces dernières années, de nombreux moyens thérapeutiques se sont développés dans le cadre du traitement de la parodontite.

1. Le débridement avec lambeau d'accès

Le lambeau d'accès chirurgical avec surfaçage est encore fréquemment utilisé.

A l'aide de cette technique, on obtient un arrêt du processus de destruction tissulaire et l'établissement de conditions favorables, qui facilitent la croissance tissulaire (5).

Malheureusement, le résultat final est incertain, la régénération n'est pratiquement jamais obtenue, à cause de la mise en place d'un épithélium long de jonction.

Malgré son grand pouvoir de prolifération, l'épithélium long jonctionnel ne semble pas promouvoir la formation d'un néo-cément ou d'un ligament, on parle donc plutôt de réparation tissulaire.

En effet, sa prolifération est plus rapide que les autres tissus environnants, il y a donc une compétitivité tissulaire. De plus, certains auteurs ont observé que sa présence pouvait résulter en une résorption radiculaire ou une ankylose (9).

Dans une récente méta-analyse, les résultats cliniques des traitements parodontaux étaient satisfaisants après un surfaçage sous lambeau d'accès des lésions intra-osseuses. En effet, à 12 mois, une nette réduction des poches et un gain d'attache ont été observés. Néanmoins, une variabilité des résultats a été constatée selon le type de lambeau effectué (10).

2. Les matériaux de substitution osseuse

Les matériaux de substitution osseuse sont utilisés fréquemment dans le domaine de la parodontologie et de l'implantologie. Cela consiste à transférer, sur un site, du tissu osseux ou du biomatériau dans le but de restaurer un volume osseux.

La classification des différents types de greffe se fait selon leurs origines ou leurs propriétés biologiques. Il existe 4 types de greffes osseuses de comblement :

- Autogreffe : le matériau de comblement (ou greffe) est prélevé sur le patient
- Allogreffe : la greffe provient d'un individu donneur de la même espèce
- Xéno greffe : greffe provenant d'une autre espèce
- Alloplastique : c'est la mise en place d'un biomatériau d'origine naturelle (la cellulose par exemple) ou synthétique comme la céramique, les polymères ou encore le bioverre.

3. La régénération tissulaire guidée

Dans les années 80, une nouvelle technique s'est développée, la régénération tissulaire guidée. Le principe était de guider la régénération osseuse, cémentaire et ligamentaire dans une lésion parodontale.

Basé sur l'exclusion tissulaire, la mise en place d'une barrière de porosité variable va empêcher les tissus épithéliaux de proliférer et laisser un espace nécessaire à la régénération des autres tissus parodontaux.

Néanmoins, les auteurs diffèrent sur les résultats obtenus, cette technique ne serait prévisible et réussie que dans les cas de défauts intra-osseux étroits et les classes II des furcations mandibulaires selon la classification de Nyman (11). Les résultats seraient donc très variables avec une amélioration clinique faible, due aux problèmes d'infection ou encore d'exposition de la membrane.

Ce procédé implique un recrutement de cellules indifférenciées provenant du ligament sain ; ultérieurement confirmé par une étude dans laquelle la présence de cellules progénitrices dans les tissus parodontaux est détectée (12).

La régénération tissulaire guidée a donc différents buts :

- elle isole les cellules du ligament parodontal, de l'os et de l'épithélium gingival permettant une repopulation cellulaire
- elle prévient la migration épithéliale lors de la régénération
- elle sert de support mécanique aux tissus mous

Enfin, elle peut être, bien évidemment, combinée à une greffe osseuse pour optimiser les résultats.

4. Les facteurs de croissance

De nombreuses études ont démontré que les facteurs de croissance étaient essentiels au développement, à la maturation, à la maintenance et à la réparation des tissus parodontaux. En effet, ils contrôlent la formation de la matrice extracellulaire, l'angiogénèse, et sont propices au transfert d'informations, à la prolifération tissulaire ainsi qu'au chimiotactisme (13).

On estime donc qu'ils ont un rôle dans presque toutes les activités tissulaires impliquées dans la cicatrisation parodontale. C'est pour cette raison, que les chercheurs se sont intéressés à l'utilisation de ces facteurs comme traitement de la maladie parodontale, dans le but de repeupler la racine dentaire.

Réalisée sans échafaudage, des études ont consisté à les appliquer sur la racine dentaire pour activer la cascade de cicatrisation et obtenir une formation cémentaire et ligamentaire.

L'EMDOGAIN® en est un exemple ; utilisé depuis 1997, ce sont des protéines de la matrice de l'émail qui seraient des facteurs d'amplification de la matrice, créant un environnement favorable à une prolifération et une différenciation cellulaire ou encore à la synthèse de la matrice.

Toutefois, récemment, une revue systématique a été publiée sur les effets carcinomateux de l'EMDOGAIN® (14). Ils sont arrivés à la conclusion qu'in vitro l'EMDOGAIN® augmente la prolifération des cytokines liées à la carcinogénèse dans les lignées cellulaires malignes ou bénignes. Les auteurs évoquent donc, une contre-indication plausible de l'EMDOGAIN® chez les patients atteints de carcinome oral ou d'une dysplasie de la muqueuse.

Cependant, la libération de facteurs in situ s'avère complexe de par leur demi-vie très courte et le fait qu'ils sont facilement dilués et souvent métabolisés par des enzymes in vivo.

En conséquence, des recherches sont en cours quant au transfert génique des facteurs de croissance par adénovirus ou rétrovirus comme moyen de libération *in vivo* (15).

Malheureusement, l'utilisation des facteurs de croissance, ne permet pas, à ce jour, d'obtenir une régénération complète et fiable des tissus sur le site lésé par la maladie parodontale.

V. INGENIERIE TISSULAIRE ET CELLULES SOUCHES

1. Définition de l'ingénierie tissulaire :

L'ingénierie tissulaire est définie comme un terrain multidisciplinaire comprenant la biologie et la médecine. Elle pourrait révolutionner la manière d'améliorer la santé et la qualité de vie, en restaurant, en maintenant ou en augmentant la fonction tissulaire ou celle de l'organe (3).

Ce concept est intégré dans la recherche et s'applique à la dentisterie régénératrice, dont la parodontie, l'endodontie et la chirurgie maxillo-faciale. Elle se base sur la capacité du corps à régénérer des tissus fonctionnels à l'aide de ressources externes (cellules, échafaudage et molécules signalétiques).

Le principe est de remplacer ou de régénérer différentes cellules, des tissus voire des organes dans l'objectif de restaurer ou d'établir une fonction normale grâce à 4 éléments clés : des cellules souches, un échafaudage, des facteurs de croissance et une vascularisation adéquate (4) (**Fig. 8**).

En outre, certains auteurs considèrent que la matrice extracellulaire, avec un séquençage approprié de signaux régulateurs, est également un élément indispensable (16,17).

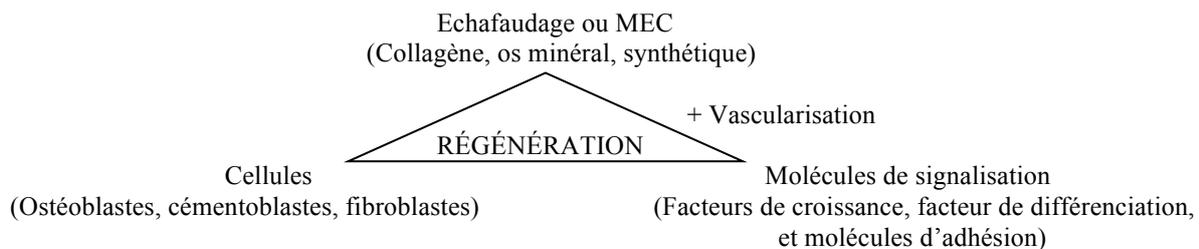


Fig. 8 : Principaux acteurs de l'ingénierie tissulaire

Les cellules (de l'hôte ou du donneur) doivent être fournies avec des signaux appropriés dans le temps et l'espace pour engendrer une prolifération et une différenciation cellulaires ainsi que la synthèse d'une matrice extracellulaire (MEC) fonctionnelle, de volume suffisant (18).

Différente de la régénération tissulaire guidée qui est basée sur un recrutement endogène de cellules repeuplant une matrice vierge, l'ingénierie tissulaire consiste en un apport exogène de cellulesensemencées *in vitro* sur une matrice. Cependant, malgré le rôle important des cellules exogènes libérées dans le défaut parodontal, il est judicieux de recruter également des cellules endogènes parodontales capables de régénération, grâce à des facteurs de croissance. Les chercheurs étudient donc les moyens d'associer, un recrutement endogène à un apport exogène de cellules. Cela permettrait de compenser les difficultés liées à la mise en place de l'apport exogène et de repousser les limites des thérapeutiques actuelles.

Outre l'avenir prometteur de cette technique, il faut que les principes de base de l'ingénierie tissulaire soient respectés, c'est à dire, entre autres, les propriétés biomécaniques de l'échafaudage, les principes de maintenance d'espace ou encore de géométrie architecturale.

L'échafaudage doit avoir une fonction biologique qui permette:

- le recrutement cellulaire,
- la prolifération cellulaire,
- la survie cellulaire *in vitro* et sur le site d'implantation,
- la néovascularisation
- la libération de facteurs morphogéniques, régulateurs et de croissance nécessaires à la différenciation et à la régénération tissulaire.

Ainsi, la découverte récente des cellules souches et les progrès considérables en terme de biomatériaux ont ouvert de nouvelles possibilités dans le cadre du traitement parodontal.

2. Présentation et description des cellules souches :

Suite à la perte des tissus parodontaux, une régénération ligamentaire, cémentaire et osseuse semble se produire spontanément dans quelques rares cas cliniques, suggérant ainsi l'existence de population de cellules souches (19). La réussite d'une régénération parodontale se base donc sur un apport exogène couplé à un recrutement endogène de cellules progénitrices ou souches qui ont la capacité de proliférer et se différencier en cellules spécialisées.

2.1. Propriétés

Parmi les cellules souches, on distingue celles d'origine embryonnaire (ESC) et celles considérées comme de type adulte, également nommées somatique, stromale ou postnatale. Ce sont des cellules indifférenciées qui sont en auto-renouvellement permanent (**Fig. 9**).

CARACTÉRISTIQUES	DÉFINITION
Cellule indifférenciée	Non développée en cellule spécialisée
Auto-renouvellement à long terme	Capacité à survivre à de nombreux passages, indifférenciées
Production de cellules progénitrices	Capacité à se différencier en cellules spécialisées

Fig. 9 : Critères de caractérisation d'une cellule souche (Sedgley C., Botero T., 2012)

La cellule souche embryonnaire provient de la masse interne d'un blastocyste et se différencie en n'importe quel type cellulaire, elle est donc totipotente. Il existe un type de cellule, nommé Embryonic Stem Cell (ESC), qui est une version plus différenciée de la cellule précédente puisqu'elle ne peut se différencier qu'en cellules des 3 couches germinales (ectoderme, endoderme, mésoderme).

Son potentiel en ingénierie tissulaire est important car elle peut être maintenue en culture dans un état indifférencié et ce indéfiniment. Cependant, son utilisation est freinée par les problèmes légaux et éthiques concernant l'utilisation d'embryons comme sources de cellules souches embryonnaires.

En 2006, la découverte de l'Induced Pluripotent Stem Cell (iPSC) a ouvert de nouvelles possibilités à l'ingénierie tissulaire en limitant les problèmes bioéthiques liés aux ESC. Ce sont des cellules somatiques issues de cellules fibroblastiques humaines qui sont reprogrammées à un état primordial similaire aux ESC, et sont capables de se différencier en cellules provenant des 3 couches germinales (20).

Les cellules souches adultes sont des cellules indifférenciées se trouvant au sein de différents tissus, tels que la moelle osseuse, le sang, le tissu adipeux ou encore les tissus dentaires. Elles sont majoritairement multipotentes et en présence d'un milieu de culture adéquat in vitro, peuvent se différencier, en ostéoblastes, neuroblastes, cartilage, endothélium, cellules musculaires ou encore adipocytes (1). Elles permettraient donc un renouvellement tissulaire lors d'une maladie ou d'une lésion.

En 1963, des cellules souches hématopoïétiques ont été identifiées dans la moelle osseuse. Très étudiées, elles sont utilisées, entre autres, comme traitement lors de désordres hématologiques.

Une autre population de cellules souches a été, par la suite, identifiée dans la moelle osseuse. Il y a 48 ans, Friedenstein a découvert un type de population spécifique, différent des cellules souches hématopoïétiques. Ces cellules possédaient les caractéristiques suivantes : une morphologie de fibroblastes, une capacité à adhérer à une surface plastique (les différenciant ainsi in vitro des cellules souches hématopoïétiques), et un pouvoir ostéogénique important. In vitro, elles formaient des « colony-forming unit fibroblast » car elles constituaient un amas semblable à un fibroblaste (21). Comme elles pouvaient proliférer et se différencier en différentes lignées cellulaires, multipotentes, elles furent qualifiées de cellules souches mésenchymateuses (MSC) (19).

Les cellules souches mésenchymateuses sont donc des cellules souches de type adulte non hématopoïétiques, multipotentes. Leur présence au sein des tissus, est liée aux divisions cellulaires lors de l'embryogénèse. Originaires du mésoderme, les cellules mésenchymateuses subissent une division asymétrique, produisant une cellule fille qui se différencie en cellule spécialisée, et une autre cellule qui est la réplique de la cellule mère. Ces cellules filles mésenchymateuses, persistent une fois la morphogénèse achevée et résident ainsi dans différents tissus cranio-faciaux. Après la naissance, ces cellules mésenchymateuses se nomment cellules souches mésenchymateuses (22).

Ainsi, les cellules souches adultes multipotentes, découvertes au sein d'autres tissus et aux phénotypes similaires aux MSC de la moelle osseuse, ont également été caractérisées de cellules souches mésenchymateuses.

Selon l'International Society for Cellular Therapy, les critères définissant une cellule stromale (ou souche) multipotente humaine mésenchymateuse sont les suivants :

- adhérente au plastique dans des conditions de culture standardisées
- expression positive de CD105, CD73, CD90 et négative pour l'expression des marqueurs de surface cellulaires hématopoïétiques (CD34, CD 45, CD11a, CD19 et HLA-DR)
- possibilité de se différencier, via des stimuli particuliers, en ostéocytes, adipocytes et chondrocytes in vitro (4)

Les différentes cellules souches sont classées selon leur origine et leur potentiel de différenciation (**Fig. 10**). Face à un type de cellules souches plus engagées dans une lignée cellulaire, on parle de cellules progénitrices (23).

Cellule souche	Classification	Définition
ESC provenant d'un blastocyste	Totipotent	Peut se différencier en n'importe quelle cellule du corps humain dont les tissus extra-embryonnaires avec une division illimitée
ESC	Pluripotente	Peut se différencier en cellules des 3 couches germinales
MSC	Multipotente	Peut se différencier en plusieurs lignées cellulaires
IPSC	Pluripotente	Est identique à ESC en terme de morphologie, de profil d'expression génique et de capacité de prolifération et de différenciation
Myéloïde SC	Oligopotente	Peut se différencier en peu de types cellulaires
Cellules de la peau	Unipotente	Peut se différencier en un seul type de cellules

Fig. 10 : Les différents types de cellules souches non hématopoïétiques avec leur potentiel de différenciation

Toutes les cellules souches mésenchymateuses possèdent des propriétés différentes selon leur tissu d'origine ; leur classification s'établira en conséquence. (**Fig. 11**)

De nombreuses études ont identifié des cellules souches mésenchymateuses au sein du tissu adipeux (ASC), des muscles squelettiques, de la synovie, de la moelle osseuse (BMSC) ainsi que dans les tissus dentaires : la pulpe dentaire (DPSC), la pulpe des dents temporaires (SHED), la papille dentaire (SCAP), le follicule (DFSC) et le ligament alvéolo-dentaire (PDLSC).

TYPE	PROPRIETES	POTENTIEL DE DIFFERENCIATION IN VITRO	POTENTIEL DE REGENERATION IN VIVO
BMSC	Morphologie fibroblastique avec une haute plasticité	-Ostéogénique -Chondrogénique -Adipogénique -Odontogénique	-Formation de ciment, de ligament et d'os alvéolaire -Capacité à former une structure semblable à celle d'une dent -Mais potentiel odontogénique <DPSC
DPSC (24)	Clonogénique Prolifération>BMSC (+ primitif)	-Odontogénique: ostéoblaste-like dépose d'une matrice dentinaire minéralisée avec des sialophosphoprotéines (25,26) -Adipogénique : vacuole de lipide -Chondrogénique : collagène III -Neurogénique -Myoblastique-like -Ostéoblaste-like	-Rôle dans la régénération dentinaire -Rôle dans l'immunité -Potentiel de régénération pulpo-dentinaire
SHED (25)	Prolifération>DPSC Haute plasticité	-Odontogénique : ostéoblaste-like -Ostéogénique -Adipogénique -Neurogénique (25) -Expression plus importante du gène liée à la prolifération et à la formation de la MEC : TGFB, FGF, Collagène III (1)	-Potentiel de régénération pulpo-dentinaire -Potentiel de formation osseuse : ostéoinduction (1) In vivo : formation os et dentine (2)
ASC (32)	Prolifération >BMSC	-Ostéogénèse -Adipogénèse -Chondrogénèse	-Potentiel à génération de matrice ostéoïde -Régénération d'os

DFSC (29)	Plasticité > aux autres MSC (4)	-Ostéoblaste -Adipocyte -Chondrocyte -Neurogénique (30)	-Potentiel de régénération de cémentaire et ligamentaire (31)
PDLSC (28)	Clonogénique Haute plasticité (23)	-Cémentoblaste-like -Adipocyte-like -Fibroblaste : coll I -Ostéoblaste-like -Précurseur ostéogénique, adipogénique, chondrogénique et neuronique	-Potentiel de régénération cémentaire et ligamentaire
SCAP	Clonogénique prolifération>PDLSC	-Odontogénique : ostéoblaste-like (27) -Ostéogénique -Adipogénique -Neurogénique -Chondrogénique -Expression plus importante de CD24 qui diminue avec la différenciation et augmente avec l'expression de ALP	-Potentiel de régénération pulpo-dentinaire -Différenciation en ostéoblastes et odontoblastes -Associé au PDLSC : formation d'un tissu ligament-like et dentine-like (27)

Fig. 11 : Propriétés des cellules souches mésenchymateuses

La découverte des cellules souches mésenchymateuses au sein de la cavité orale, rend l'utilisation autologue très attrayante dans le cadre des traitements des pathologies buccales, permettant de plus, une élimination des risques de complications liés au rejet immunitaire.

En outre, de nombreuses populations de cellules souches mésenchymateuses originaires de différents tissus, semblent présenter des propriétés immunoprivilégiées avec la capacité d'inhiber les réponses immunitaires de l'hôte par la sécrétion de multiples facteurs. Elles confirment ainsi leur grand potentiel lors d'une transplantation allogénique. Ces sécrétions paracrines, sembleraient, également stimuler la migration et la domiciliation de cellules souches in situ, et donc favoriser un recrutement de cellules endogènes.

Malgré leur aspect attractif dans le cadre de la régénération parodontale, les cellules souches possèderaient un risque de développement carcinomateux. Le tropisme tumoral des cellules souches mésenchymateuses existe en réponse à une sécrétion de facteurs de croissance de cellules malignes. Les cytokines et molécules de la MEC comme PDGF, VEGF, EGF, IL-6 et -8, MMP-1 et SDF-1 en sont un exemple. L'inhibition de ces facteurs entraîne une perte de ce tropisme. Ainsi une hypothèse a été émise sur le fait que certaines populations de cellules souches auraient tendance à promouvoir une croissance tumorale, compte tenu des sécrétions de molécules angiogéniques et pro-inflammatoires (VEGF et IL-6) et d'enzymes dégradant la matrice (MMPs) (8).

Le risque carcinogène associé aux iPSC, provient de la persistance d'une expression génique ectopique, puisque ces cellules sont principalement produites par la transduction de cellules somatiques via un lentivirus codant pour des gènes ectopiques. Cette expression transgénique continue pourrait entraîner un risque de croissance tumorale (33).

2.2. Marqueurs

En réussissant à identifier les marqueurs protéiques caractérisant les cellules souches mésenchymateuses, les chercheurs ont tenté de mieux comprendre leur fonctionnement et les facteurs les influençant. (**Fig. 12**)

STRO1	antigène de surface utilisé pour identifier les précurseurs ostéogéniques, marqueur périvasculaire
CD146	marqueur de péricyte et donc associé à l'endothélium
CD44	marqueur mésenchymal

Fig. 12 : Les principaux marqueurs des cellules souches mésenchymateuses

Bien évidemment d'autres marqueurs protéiques permettent de les identifier : CD90, CD73 et CD105. Récemment, un type de population de cellules souches mésenchymateuses dérivées des DPSC, a été découvert à l'aide de ces marqueurs.

Ce serait une version immature des DPSC, nommée IDPSC, qui posséderait un pouvoir de différenciation pluripotent (34). Cependant, d'autres études sont nécessaires avant de pouvoir réellement confirmer l'existence de IDPSC.

2.3. Leurs localisations

Grâce à la découverte de ces marqueurs, une équipe de chercheurs découvre en 2008, une zone où la concentration de marqueurs STRO-1, CD44 et CD146 est non seulement plus élevée dans les tissus néoformés mais également dans les zones périvasculaires. Ils nommeront cette zone : niche de cellules souches mésenchymateuses (12).

En effet, les MSC sont localisées dans des niches spécifiques où s'effectuent la régulation, la prolifération, la survie, la migration et le vieillissement des cellules souches (4). Leur maintenance dans un état indifférencié ou leur différenciation va dépendre de signaux intrinsèques modulés par des facteurs extrinsèques provenant de la niche.

On distingue 2 types de niches, une, comprenant de cellules épithéliales au niveau de l'anse cervicale (embryon), et une, comprenant des MSC dans les zones périvasculaires (2). Dans ces niches, on retrouve des molécules telles que BMP, activine et follistatine, dont le rôle est connu dans la maintenance et la fonctionnalité tissulaire.

Ainsi, les différences entre les cellules mésenchymateuses pourraient s'expliquer par plusieurs hypothèses:

- une différence liée à l'origine ; par exemple DPSC provient des cellules des crêtes neurales et du mésenchyme alors que BMSC provient du mésoderme.
- leur prédétermination dans une voie de différenciation, définie par leur niche et leur microenvironnement.

Ces hypothèses, validées par la suite, soulignent donc l'importance du microenvironnement dans leurs voies de différenciation.

2.4. Identification

Pour identifier des cellules souches mésenchymateuses, une série de tests in vitro sont utilisés :

- « colony forming assay » pour confirmer une clonogénicité
- « phenotypic assay » pour évaluer la forme, la morphologie et le comportement cellulaire.
- « flow cytometry » qui est une technique de caractérisation individuelle, quantitative et qualitative

de particules en suspension dans un liquide.

Ce dernier permet une détermination des marqueurs cellulaires (tels que STRO-1, CD106 CD146), des protéines associées à l'os, à la dentine, au ciment (BMP, ALP, ostéonectine, ostéopontine et sialoprotéine) et des protéines associées aux fibroblastes (Coll I et II).

2.5. Mécanisme d'action

Les cellules souches sécrètent des combinaisons de facteurs trophiques qui modulent la composition moléculaire de l'environnement et induisent une réponse cellulaire (8).

En 2012, des chercheurs ont tenté de comprendre le mécanisme d'action des cellules souches et leur dynamique de cicatrisation in vivo (35).

Pour cela, sur 12 dents humaines extraites pour raison orthodontiques, des cellules souches provenant du ligament alvéolo-dentaire (h-PDLSC) ont été isolées, caractérisées puis mises en place sur un support d'hydroxyapatite/triphosphocalcique (HA/ β TCP). Elles ont ensuite été implantées in vivo dans 20 souris immunocompromises.

L'analyse histologique a permis de diviser le processus de cicatrisation en 4 étapes:

- Migration des h-PDLSC de manière répartie autour de l'échafaudage HA/ β TCP avec le début d'une formation de matrice amorphe de collagène
- Organisation des fibres de collagène autour de l'échafaudage avec une formation de tissu semblable au ciment. La présence de collagène semble donc être un prérequis pour la formation cémentaire.
- Formation de fibres de collagène matures similaires aux fibres de Sharpey associées à une minéralisation active de tissu semblable au ciment.
- Maturation de ce tissu ciment-like

De nombreux marqueurs ostéogéniques et cémentogéniques sont exprimés de manière orchestrée dans un ordre et un temps précis.

Par ailleurs, la présence de fibres de ciment-like et ligament-like ainsi que des cellules possédant des marqueurs ostéogéniques et cémentogéniques précoces et tardifs étaient fréquemment observées dans des zones isolées concaves de l'échafaudage. Les auteurs les ont nommées les « cell rich zone » ou unités fonctionnelles. Cette découverte rejoint l'étude évoquée précédemment, sur l'existence de niches de cellules souches (12). En revanche, le néocément formé était incomplet, il n'y avait pas de ciment acellulaire. De ce fait, les auteurs ont émis l'hypothèse que ce dernier serait donc créé par la gaine épithéliale d'Hertwig. L'épithélium serait donc nécessaire à la formation complète de ciment ; cette idée paraît valide car l'odontogénèse se caractérise bien par une interaction entre l'épithélium et le mésenchyme.

Si le parodonte possède autant de ressources, pourquoi n'y a-t-il pas plus de régénération clinique spontanée ? C'est justement ce qui a intéressé des chercheurs. Ils sont arrivés à la conclusion qu'un parodonte lésé ou malade n'était pas capable de cicatrisation ou de régénération spontanée à cause de différents facteurs intrinsèques tels que l'hygiène orale, la taille du défaut osseux ou encore la présence d'une infection (6).

3. les moyens de libération cellulaire :

La régénération nécessite donc des cellules souches, des facteurs de croissance, une vascularisation suffisante et un moyen de libération.

Les biomatériaux sont au centre des progrès scientifiques en ingénierie tissulaire. Ils sont développés en tant qu'analogues de la MEC capables de supporter l'attachement cellulaire, et dans certains cas, de fournir des signaux nécessaires au contrôle du développement spatio-temporel (18).

En effet, la découverte de ces médiateurs et des cellules souches fait appel au besoin d'un moyen de libération in situ. Plus démocratisée dans le domaine orthopédique, le domaine de l'odontologie s'en est largement inspiré : il existe 2 moyens de libération cellulaire, soit les cellules sont combinées à un échafaudage ou hydrogel, soit elles sont implantées sans biomatériau.

Le choix du moyen de libération se fera en fonction du tissu et de la maladie à traiter (36). Quelque soit le moyen de libération choisi, le but est d'obtenir une haute rétention cellulaire, suivie d'une bonne capacité d'intégration ainsi qu'un taux de survie cellulaire élevé avec un minimum d'effets secondaires et de stress pour le patient.

3.1. A l'aide d'un biomatériau

Une approche commune est la fabrication d'un échafaudage en 3D (Fig. 9). Il permet non seulement de fournir un support stable pour les tissus néoformés mais aussi de créer d'une niche artificielle. Cette niche favorise la mise en place des processus de renouvellement naturel des cellules souches, de prolifération, de migration et de différenciation, tout en favorisant, l'intégration et l'adhésion cellulaire, la vascularisation et la survie du néo-tissu formé.

Les biomatériaux ou échafaudages, résorbables ou non, peuvent être définis selon 2 types, synthétiques ou naturels (Fig. 13).

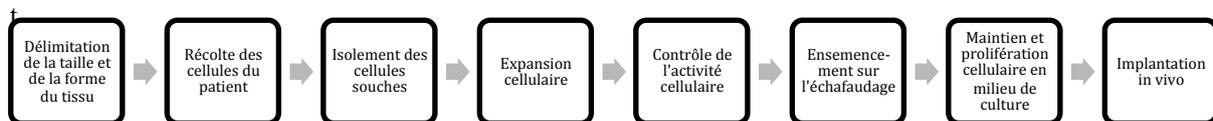


Fig. 13 : Les étapes de création et d'utilisation d'échafaudage (37).

Après leur mise en place sur l'échafaudage, les cellules suivent un schéma précis in vivo (Fig. 14).



Fig. 14 : Comportement schématisé in vivo

Un échafaudage doit faciliter la croissance, l'intégration et la différenciation des cellules souches (Fig. 15). Il doit être biocompatible et posséder des propriétés physiques et mécaniques idéales.

TYPE d'échafaudage	PROPRIETES	AVANTAGES	LIMITES
Hydrogel	Echafaudage gélifié colloïde	Injectable, biocompatible et absorbé par le corps	Faible taux de survie de cellules souches, manque de force mécanique et résultats imprévisibles
Nano-fibres (imitant la MEC)	Peptides auto-assemblants souvent associés à de l'hydrogel		
Collagène	Eponge	Facile à manipuler, efficace cliniquement et absorbé par le corps	Manque de force mécanique pour soutenir les tissus ou mouvements musculaires Biodégradabilité élevée
Polymère			
Phosphate de calcium	Cassant		
Soie	Fibres		
Fibrine	Centrifugation sanguine	Facilement réalisable	
Os	Provient d'un donneur Est séché et gelé pour être mis en poudre	Greffe osseuse cliniquement efficace	Coût élevé, besoin d'un donneur et risque de contamination
Os synthétique-composite	Matériau de comblement osseux	Cliniquement efficace et sécurisé	Pas aussi efficace que l'os naturel

Fig. 15 : Présentation des différents types d'échafaudage en fonction de leurs limites (37)

Le concept de l'échafaudage est basé sur une stratégie de biomimétisme qui permet l'incorporation de molécules ainsi que leur libération, c'est la libération contrôlée.

Pour une meilleure efficacité, les chercheurs ont tenté d'optimiser leurs variables à travers la taille des pores, le taux et la rapidité de la dégradation du biomatériau (38) ; en effet, ces 2 derniers doivent être similaires à la rapidité de croissance des cellules (39).

Les échafaudages les plus utilisés, dans le cadre d'une association avec des cellules souches, sont les polymères synthétiques, le collagène bovin ou encore les phosphates de calcium.

Récemment, une étude préliminaire a été effectuée sur collagène avec des cellules ligamentaires sur une face et des ostéoblastes sur l'autre dans le but de faciliter la régénération des 3 tissus parodontaux (40).

Malheureusement, le recul clinique est trop faible pour conclure sur l'efficacité de ce protocole.

Les échafaudages synthétiques sont principalement inertes, stables et fournissent une rigidité correcte. Cependant, ils ne peuvent se remodeler dans le temps ; tandis que les biomatériaux naturels fournissent une structure 3D transitoire pour régénérer les tissus, ce qui est intéressant en particulier dans le cas des tissus mous. Mais de par cette structure transitoire, ils présentent des problèmes multiples : propriétés mécaniques, fonction tissulaire et régénération inadéquates à long terme (41).

Les échafaudages naturels sont principalement composés de protéines appartenant à la MEC.

collagène	immobilise les facteurs de croissance et régule la prolifération et la différenciation cellulaires
fibronectine	participe à la prolifération et la différenciation des améloblastes
vitronectine	a un rôle structural
laminine	participe à la différenciation odontoblastique et à la migration des DPSC

Fig. 16 : Rôles des principaux composants de la MEC

Toutes ces protéines permettent un ancrage cellulaire et une séquestration des facteurs de croissance impliqués dans les processus de régénération et de cicatrisation tissulaires ; elles participent également à la migration, la différenciation et la prolifération cellulaires, en produisant des signaux qui interagissent avec les voies de signalisation régulées par des récepteurs type Intégrine (**Fig. 16**).

Le but de ces échafaudages est donc d'imiter cette MEC avec ces différentes propriétés physiques : la porosité, la taille des pores (facilite l'apposition cellulaire, la diffusion des cellules et la présence de nutriments dans la trame), le poids, la capacité d'hydratation, la biocompatibilité et la biodégradabilité.

D'ailleurs, grâce à des méthodes physiques, chimiques et enzymatiques, une MEC peut être décellularisée, laissant une structure complexe de protéines structurelles et fonctionnelles, qui dépend entièrement de son tissu d'origine. C'est une élimination du matériel cellulaire et nucléaire sans altérer ni la composition, ni l'activité biologique, ni même l'intégrité mécanique de la MEC. Néanmoins, malgré une combinaison des différentes méthodes, la décellularisation n'est jamais totale.

En plus d'être prélevée in vivo et décellularisée, une MEC peut également être fabriquée in vitro en tant que moyen de libération cellulaire. Peu développée en dentisterie, cette innovation aurait un avenir en régénération parodontale. Une étude récente, a démontré qu'une MEC formée par des ostéoblastes in vitro peut être utilisée comme échafaudage pour une transplantation ostéoblastique. Les chercheurs ont observé une néoformation osseuse dans le défaut parodontal et une activation des cellules mésenchymateuses endogènes. Ces résultats proviennent toutefois d'études de faibles valeurs, et sont donc à considérer avec précaution (42).

En effet, différentes études ont suggéré que la transplantation de ces matrices acellulaires pouvait déclencher une réparation ou régénération, là où les tissus ne pouvaient pas spontanément stimuler l'environnement par des signalements morphogéniques responsables du développement tissulaire. De plus, ces matrices sont moins susceptibles de susciter une réponse inflammatoire lors de leur transplantation in vivo (8,18).

Le domaine de la nanotechnologie est de plus en plus sollicité dans l'étude de la régénération tissulaire. En effet, les biomatériaux à nano-fibres peuvent être construits en utilisant un peptide amphiphile auto-assemblant Ph dépendant. Après une réticulation, les fibres sont capables de donner une direction à la minéralisation d'hydroxyapatite, formant un matériau composite où les axes cristallographiques sont alignés avec les axes des fibrilles de collagène. Le but est donc d'imiter le phénomène naturel entre les fibrilles de collagène et les cristaux d'hydroxyapatite dans l'os (43).

Enfin, la différenciation des cellules souches serait modifiée par les caractéristiques des échafaudages utilisés dans les études in vivo (44). Ainsi le collagène favoriserait plutôt la formation de fibres ligamentaires, alors que le HA/ β TCP serait plus apte à induire une formation de ciment et de fibres du ligament. Cela pourrait venir du fait que la microstructure servirait de site de nucléation pour la précipitation d'apatite biologique (45).

3.2. Sans biomatériau

Récemment des moyens de libération cellulaire ont été élaborés sans support de biomatériau, à savoir la technique de l'injection cellulaire, la technologie des cell-sheet ou encore la technologie microtissulaire. Ces 3 méthodes ont été étudiées dans des études précliniques récentes (16,17,46,47).

L'injection cellulaire peut se faire par voie veineuse ou directement dans le tissu, selon l'accessibilité du tissu ciblé. L'application intra-tissulaire, principalement utilisée pour la régénération des disques intervertébraux, sera préférée dans des tissus non vascularisés (36). Lors de l'injection par voie veineuse, les MSC migreraient selon 2 mécanismes hypothétiques :

- l'arrêt passif : comme les MSC sont de tailles importantes, elles sont emprisonnées dans le capillaire ou alors leur vélocité étant réduite, elles s'extravasent jusqu'au tissu cible.
- l'adhésion active : via P-Selectin, VLA-4 ou VCAM-1 du vaisseau jusqu'au site de l'inflammation grâce à la transmigration.

La technique des cell-sheets consiste en une monocouche de cellules confluentes ayant proliféré dans une boîte de culture, qui est par la suite déposée sur le tissu cible (9,16). Généralement, les cellules cultivées sont détachées de leur substrat grâce à un traitement aux enzymes protéolytiques. Mais, cette technique entraîne une dégradation de la matrice extracellulaire et des jonctions cellule-cellule. En effet, les enzymes hydrolysent certaines protéines de la matrice et détériorent ainsi la fonction cellulaire.

Ainsi, une nouvelle méthode de contrôle de l'adhésion cellulaire a été développée utilisant un changement de température du milieu de culture et une surface de boîte de culture greffée avec un « polymère température dépendant » nommé poly N-isopropylacrylamide (PIPAA). Le principe est simple, à 37°, les cellules cultivées peuvent adhérer et proliférer sur la surface hydrophile dans la boîte de culture température-dépendante. Lorsque que la température est inférieure à 32°, les cellules se détachent spontanément car le PIPAA est devenu hydrophobe et il est donc impossible pour les cellules d'y adhérer et c'est ainsi qu'une cell-sheet se détache (48).

Une autre technique de contrôle d'adhésion cellulaire, développée récemment, consiste à détacher la cell-sheet grâce au magnétisme. La boîte de culture est recouverte d'une surface poly-électrolyte sur laquelle les cellules prolifèrent, et en appliquant un voltage, la polarisation de la surface change et les cellules se détachent (49).

Des études concernant les cell-sheets de cellules ligamentaires, ont été réalisées chez le rat (16,17) et le chien (47). Les auteurs sont arrivés à la même conclusion, une régénération des tissus cémentaires et ligamentaires, à l'aide des cell-sheets, peut être obtenue au sein d'un défaut parodontal. Le résultat est le même que les cell-sheets soit en mono- soit en multi-couches. Néanmoins, il faut garder présent à l'esprit que la valeur de ces études est moyenne, et leurs conclusions sont donc à considérer avec prudence.

Leurs principaux inconvénients sont leur faible taux de survie cellulaire, leur fragilité d'utilisation et la migration des cellules implantées dans des localisations différentes entraînant des zones de minéralisation aberrantes. De plus, sa mise en place nécessite une chirurgie invasive. De ce fait, pour contrecarrer les limites des cell-sheets, son association à un échafaudage pourrait être une solution.

Enfin, la technologie des micro-tissus est une approche hybride comprenant une construction tissulaire qui serait implantée chirurgicalement par injection cellulaire. Le principe de la réagrégation cellulaire est d'empêcher l'adhésion des cellules à la surface de la boîte de culture ce qui force les cellules adhérentes à se reformer en tissu. Ces micro-tissus peuvent être un moyen de libération intéressant car ils ont moins tendance à être dilués vu leur volume, sont plus adhésifs et produisent des facteurs angiogéniques (13). Malgré le potentiel de ses techniques en ingénierie tissulaire, elles présentent un risque de différenciation incontrôlée et un risque carcinogène.

De nombreux moyens de libération sans l'aide de biomatériaux ont été évoqués, néanmoins la plupart des études ne possèdent pas assez de recul clinique et un trop faible niveau de preuves pour une autorisation de mise sur le marché.

PARTIE 2 : A L'AIDE DE BIOMATÉRIAUX

I. LE BIOMATERIAU EN INGÉNIERIE TISSULAIRE

L'homme et les animaux ont des échafaudages naturels qui entourent les cellules et fournissent un support structurel pour la formation et la maintenance des tissus ou des organes.

Ils sont principalement composés de protéines de la MEC dont le collagène, la vitronectine, la fibronectine et la lamine qui possèdent un rôle dans la migration, la différenciation et la prolifération cellulaires (50). De plus, les échafaudages naturels varient chimiquement et physiquement ce qui va contribuer aux fonctions spécifiques du tissu dans lequel ils résident (51).

En ingénierie tissulaire, les échafaudages sont des trames plus ou moins temporaires utilisées comme support cellulaire, qui fournissent un microenvironnement 3D où les cellules peuvent proliférer, se différencier et générer le tissu souhaité (37).

Les avancées récentes dans le domaine de l'ingénierie tissulaire ont permis de développer des biomatériaux bio-fonctionnels qui incorporent et/ou relâchent des signaux régulateurs ou des cellules de manière précise, voire physiologique (libération contrôlée), afin d'obtenir une régénération in situ (51).

Un biomatériau peut avoir plusieurs rôles face à une régénération tissulaire, il peut :

- servir de trame vierge pour l'adhésion, la prolifération et la différenciation des cellules présentes in situ
- êtreensemencé de cellules exogènes et permettre leur intégrations et leur libération in situ
- êtreensemencé de différents facteurs, molécules signalétiques dans l'objectif de recruter des cellules in vivo par une stimulation endogène
- êtreensemencé de facteurs de croissance et de cellules souches permettant ainsi, une stimulation à la fois endogène et exogène (6).

L'apport exogène de cellules souchesensemencées au sein d'un biomatériau, peut réguler des événements cellulaires, par des interactions d'adhésion de surface ou par une sécrétion de facteurs de croissance, dans le but de contrôler l'expression génique.

Par ailleurs, la stimulation endogène de cellules, se fait par la libération de facteurs de croissance ou d'autres molécules signalétiques. A travers la conception de biomatériaux instructifs, ces facteurs stimulent et recrutent des cellules endogènes de l'hôte dont des cellules souches, pour envahir le site lésé et synthétiser une MEC in situ (52). Cette stratégie de régénération est donc basée sur la réparation/régénération endogène.

La libération de ces facteurs de croissance induirait un effet de domiciliation de cellules souches ou de cellules progénitrices (**Fig. 17**). En effet, les informations moléculaires et physiques codées dans le biomatériau, définissent une niche locale biochimique et mécanique. Grâce à une régulation complexe et dynamique interagissant avec les cellules endogènes de l'hôte, cette niche débloquerait les voies de régénération latentes dans le corps en induisant une domiciliation cellulaire et en régulant la prolifération et la différenciation cellulaires (52).

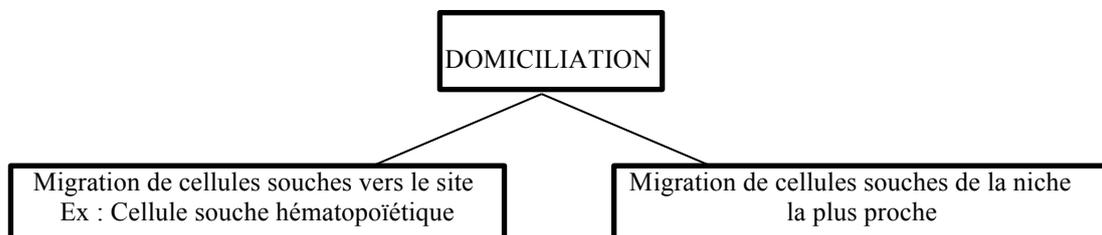


Fig. 17 : *Les différents effets de la domiciliation*

D'après la littérature, c'est seulement avec un biomatériau adapté au site que les facteurs bioactifs appliqués localement peuvent jouer leurs rôles de manière efficace et soutenue dans la régénération tissulaire. Ainsi de nombreux types de matrices ou échafaudages ont été créés pour accommoder les besoins des tissus à régénérer.

Cette méthode présente des avantages par rapport à la libération exogène de cellules in situ (51) :

- elle dépasse les limites de la transplantation
- elle induit la production de facteurs qui participent à la prolifération et à la différenciation cellulaires.
- elle diminue le temps de laboratoire
- elle présente une attirance commerciale grâce à sa facilité d'utilisation.

D'autre part, un ensemencement cellulaire ou de facteurs au sein d'un biomatériau implique également une problématique liée à leur libération. Plus particulièrement, les facteurs de croissance au sein d'un biomatériau, nécessitent une libération contrôlée de par leur demi-vie courte, leur taille relativement grande, leur pénétration tissulaire lente et leur potentiel de toxicité à haut taux systémique (9).

Différents procédés permettent donc de contrôler leurs taux de relâche (13) :

- la dissolution et la diffusion des facteurs,
- l'érosion, la dégradation ou encore l'enflure du polymère suivies de la diffusion des facteurs,
- le phénomène mouillé osmotique.

Cette libération contrôlée présente plusieurs avantages, entre autres, le fait de pouvoir transporter les facteurs jusqu'au site souhaité et les libérer de façon maîtrisée. Une fois sur le site, ils pourront réguler localement de nombreux processus de chimiotactisme, d'attachement, de prolifération, de différenciation et de morphogenèse cellulaires, ainsi que des transferts de signaux cellule-microenvironnement (50).

En l'absence d'un moyen de libération ou d'une libération contrôlée, ils subissent une diffusion rapide et se dénaturent peu de temps après leur libération in vivo. De ce fait, ils n'entraînent pas les effets désirés sur les tissus (51). En conséquence, des microsphères (chitosan, gélatine, ou alginate) adaptées pour une néo-encapsulation de protéines bioactives ou de cellules ont été conçues (52).

L'activité cellulaire est donc régulée à travers la conception de l'échafaudage. Il est alors essentiel que sa conception et sa construction prennent en compte les caractéristiques du microenvironnement local dans le but d'induire une expression génique appropriée (6). De plus, le biomatériau doit fournir une combinaison correcte de facteurs associés aux cellules en fonction du tissu à générer.

II. DESCRIPTION DU BIOMATÉRIAU IDÉAL

1. Objectifs évoluant en fonction des avancées scientifiques

Dès le début de la dentisterie, il y a 5000 ans en Egypte, les dentistes cherchaient à améliorer les procédés de régénération dans le but de remplacer une dent ou un tissu dentaire. Le concept de la RTG, publié par le Dr Melcher en 1976, a démontré l'utilité d'une barrière pour exclure des cellules non désirées du site de cicatrisation.

Les premiers cas cliniques ont été présentés par Nyman en appliquant un millipore de filtre bactérien intra-oral composé d'acétate de cellulose, utilisé comme membrane dans la régénération de tissu parodontal, alternative à l'intervention chirurgicale (6,37,53).

En effet, la maintenance d'espace a joué un rôle primordial ces dernières années, le biomatériau au sein du défaut devait avoir des fonctions de barrière ou d'exclusion cellulaire selon les principes de la RTG.

En plus, d'avoir une forme et une force appropriées pour permettre son placement dans un défaut, la membrane devait également, être facile à manipuler, posséder une rigidité suffisante pour empêcher le collapse des tissus sus-jacents et avoir une structure interne compatible avec l'attache cellulaire (6).

Selon ce principe, la synergie entre un espace suffisant et un environnement approprié à la régénération, semble favoriser l'activation d'une cascade d'évènements cellulaires et moléculaires nécessaires à la régénération.

Les polymères synthétiques sont les plus utilisés en tant que barrière en RTG : ils excluent la croissance épithéliale et permettent la croissance du ligament parodontal et des cellules de l'os alvéolaire.

Au fil du temps, les chercheurs s'aperçoivent que certaines molécules bioactives incorporées aux matériaux matriciels augmenteraient le potentiel de régénération intrinsèque (37).

Ainsi les biomatériaux potentialisent les effets bénéfiques des thérapies cellulaires tout en évitant les inconvénients de la greffe, et en améliorant le contrôle de la libération cellulaire.

2. La Conception

2.1. Généralités

La conception de l'échafaudage idéal n'est pas chose facile mais demeure pourtant primordiale. De par sa forme et sa topologie de surface, il aura des conséquences diverses sur les cellules et leur microenvironnement. En effet, étant donné que les cellules sont très sensibles à la morphologie de surface à l'échelle nanométrique, cette dernière devrait donc ressembler le plus possible à la MEC naturelle. Cela est, en outre, bénéfique pour l'échafaudage parce que les composants de la MEC modulent l'adhésion, la migration, la prolifération et la différenciation ostéogénique (54).

La conception d'un biomatériau tout comme l'élaboration d'un véhicule cellulaire doivent prendre en compte :

- la nature, la composition et les propriétés du biomatériau à utiliser
- la population spécifique de cellules à libérer
- le type et l'architecture du tissu à réparer.

2.2. Prise en compte des variables

Identifier les variables de chaque composant est une tâche complexe, néanmoins, il existe des requis de conception et de fabrication (13).

Il peut être biodégradable et devrait idéalement se résorber une fois que le biomatériau a tenu son rôle de trame pour la régénération tissulaire, sans risque de transmission et inerte immunologiquement (6,13,37,50,52,53,55). A noter que, certains échafaudages sont non résorbables de par leur composition chimique.

Quant à ses propriétés physiques, il doit être capable de subvenir au besoin de l'environnement du tissu cible. Il doit présenter une résistance mécanique capable de supporter un stress *in vivo* et doit être mécaniquement compatible avec les tissus environnants. En outre, les propriétés mécaniques de l'échafaudage ont un impact direct sur la formation tissulaire en affectant la différenciation cellulaire par une mécanotransduction (56).

Enfin, la porosité est d'une importance critique. En effet la quantité et l'extension des pores changent la spécificité de la surface de l'échafaudage en modifiant sa perméabilité et ses propriétés mécaniques ; le comportement cellulaire telles que l'adhésion cellulaire ou l'activation des voies de signalisation intracellulaire, est régulé par la topologie de surface à l'échelle micro ou nano 10-100000 nm (18).

Ainsi, ces propriétés ont un impact majeur sur l'ensemencement cellulaire, sur la diffusion des cellules et des nutriments à travers le biomatériau, sur la prolifération cellulaire et en conséquence sur la croissance tissulaire. Toutefois, un nombre trop important de pores réduit la force mécanique de l'échafaudage (56,57).

2.3. Qualités requises

Le biomatériau idéal doit donc fournir une stabilité chimique et physique de manière coordonnée avec les tissus environnants (**Fig. 18**). La taille et la quantité des pores, leur inter-connectivité ainsi que le poids et la capacité d'hydratation du biomatériau doivent être donc pris en compte et sont essentiels pour la régénération tissulaire *in situ*.

Tout en respectant la biocompatibilité cellulaire, il devrait favoriser l'adhésion et la prolifération cellulaire, permettre une libération contrôlée et posséder une dégradation maîtrisée avec la force mécanique requise.

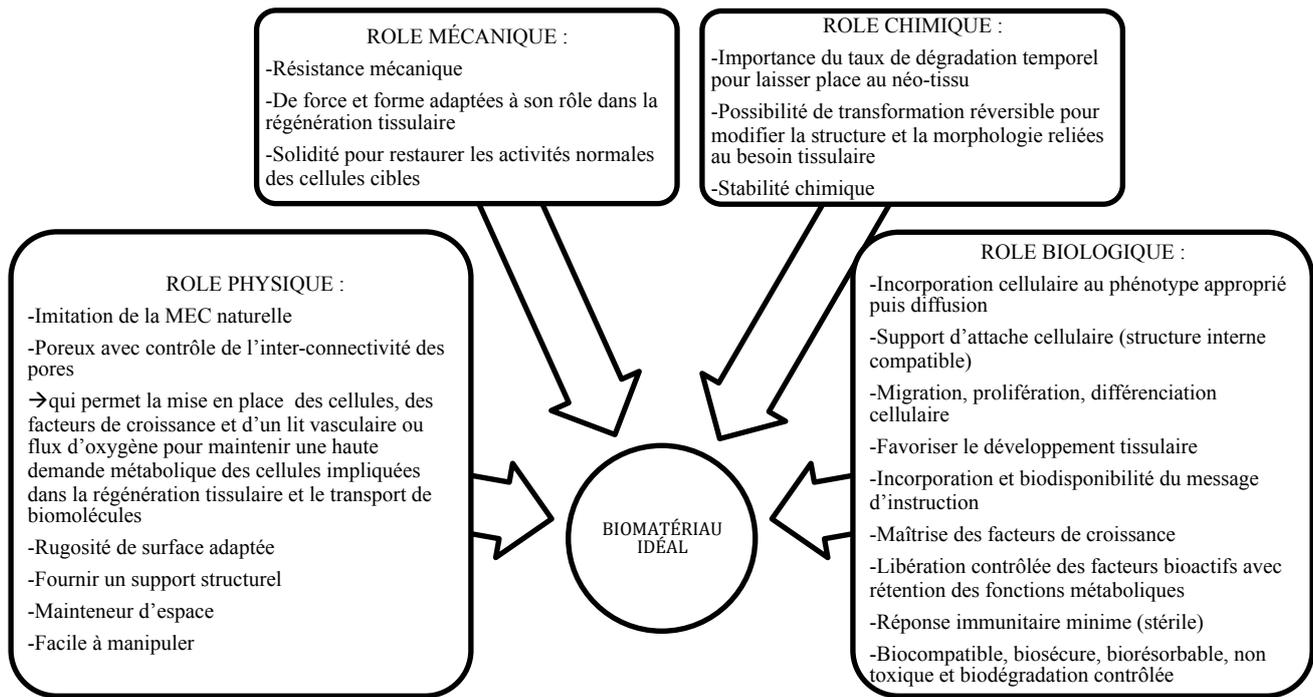


Fig. 18 : *Caractéristiques du biomatériau idéal*

Il est important de noter qu'aucun biomatériau disponible sur le marché ne répond à tous ces critères.

Les biomatériaux présentent, en particulier, les inconvénients suivants :

- des interactions cellule-biomatériau souvent imprévisibles,
- une biodégradation non homogène,
- une réaction immunitaire,
- une faible efficacité d'ensemencement cellulaire (6).

Aucune guideline n'a été éditée concernant la biosécurité des biomatériaux en ingénierie tissulaire.

Ainsi, pour choisir un matériau il faut prendre en considération les MEC naturelles des tissus environnants (54).

Actuellement, les biomatériaux doivent être conçus pour posséder des informations complexes codées dans leurs structures pour imiter le plus possible la MEC naturelle, ce qui permet d'influencer le comportement cellulaire et de contrôler le destin cellulaire *in vivo* (52).

Néanmoins dans l'objectif d'une commercialisation, ils doivent être économiques et simples d'utilisation. On est alors face à une contradiction entre la sophistication de plus en plus importante et la demande croissante de simplicité.

En conclusion, avec l'avancée de la science, le choix du biomatériau est devenu essentiel dans le développement de l'ingénierie tissulaire. Il s'effectue en fonction de la situation clinique et de l'objectif à atteindre.

Le choix du biomatériau dépend effectivement du résultat souhaité, il est donc impératif de prendre en compte :

- les caractères physiques : comportement rhéologique, propriétés mécaniques, rugosité mécanique, géométrie de surface et porosité
- les caractères chimiques : vitesse et dégradation (58)

III. CLASSIFICATION DES DIFFÉRENTS BIOMATÉRIAUX

Les biomatériaux peuvent être classés selon leur composition chimique, leurs caractéristiques d'utilisation ou comme dans le cas ci-dessous selon leur origine (**Fig. 19**).

Les échafaudages créés pour l'ingénierie tissulaire sont dérivés de 3 classes de matériaux : synthétiques comme les polymères, semi-synthétiques et naturels comme le collagène (protéine de la MEC naturelle).

Cependant, indépendamment de sa composition, il est essentiel qu'un biomatériau puisse supporter l'ensemencement cellulaire.

La plupart des biomatériaux absorbent, de manière non spécifique, des protéines à l'aide d'interactions faibles aux interfaces protéine-eau et biomatériau-eau. Pour maîtriser cette absorption, des protéines ou leurs sous-séquences ont été intégrées au cœur du polymère. En effet, la transduction de vecteurs viraux dans des cellules souches mésenchymateuses a permis l'introduction de molécules spécifiques dans le site lésé pour stimuler la régénération. Ainsi, il fut possible de contrôler les processus cellulaires comme la différenciation ou encore de contrôler la dégradation de la matrice (18).

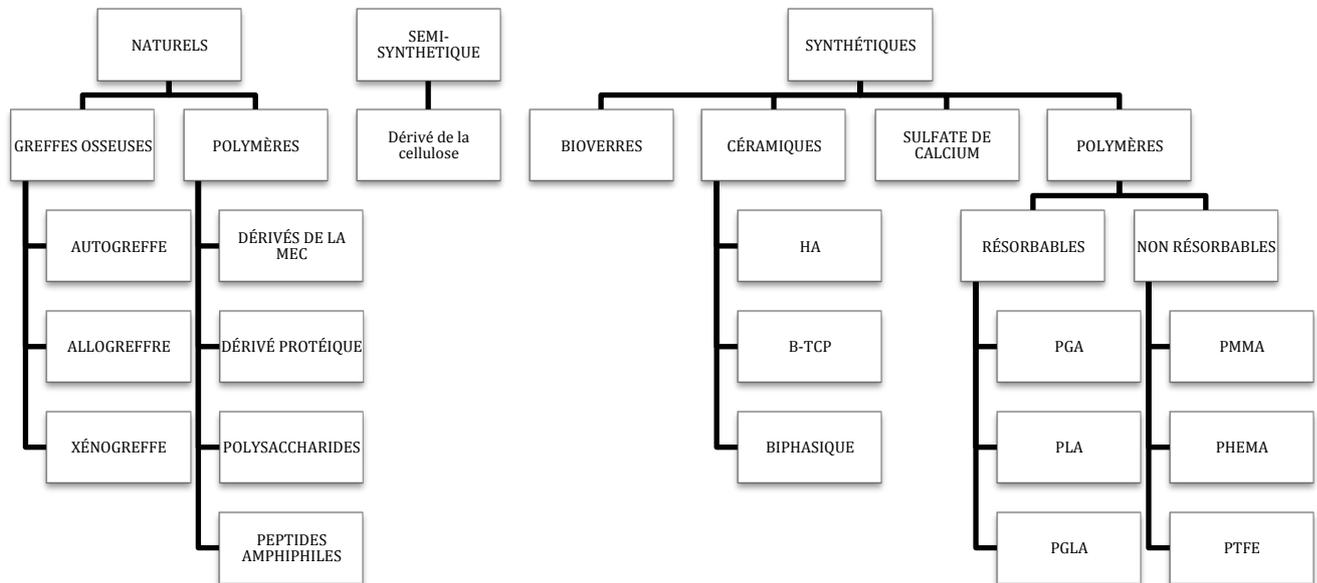


Fig. 19 : Classification des différents types de biomatériaux

1. Matériaux d'origine naturelle

1.1. Différents types de greffes osseuses

Lors de la RTG, en partie pour lutter contre l'effondrement de la membrane, il a été ajouté un biomatériau au sein du défaut. Cette approche requiert donc, l'introduction d'un matériau de comblement dans le défaut parodontal visant l'induction d'une régénération osseuse.

La régénération osseuse par greffe osseuse peut être ostéogénique, ostéoinductrice ou ostéoconductrice. Le matériau ostéogénique contient des cellules de la genèse osseuse, quant aux matériaux ostéoinducteurs, ils contiennent des protéines ou facteurs de croissance entraînant une prolifération ou une différenciation de cellules progénitrices trouvées dans le caillot sanguin ou le tissu de granulation. Enfin les matériaux ostéoconducteurs ne jouent qu'un rôle de trame, puisque les cellules proviennent des vaisseaux voisins.

Leur capacité à engendrer une néoformation osseuse diffère selon le type de greffe, il en existe 4, l'autogreffe, l'allogreffe, la xéno greffe et la greffe alloplastique. Cette dernière qui est un biomatériau synthétique, sera évoquée par la suite (6,37,53,59).

1.1.1. L'autogreffe

Le greffon essentiellement composé de cellules et de tissus, provient du patient et peut être d'origine intra ou extra-orale. Le site de prélèvement peut être cortical, spongieux, provenir de la mandibule ou de la crête iliaque.

Ce type de greffe est considéré comme ostéoinducteur, il induit la cascade biologique aboutissant à la formation osseuse, avec peu de risques de complications immunologiques ou de transmission. Néanmoins, la quantité prélevée reste limitée avec un risque de morbidité au niveau du site de prélèvement.

1.1.2. L'allogreffe

Comme vu précédemment, c'est une greffe de tissus d'un individu à un autre.

Lors d'une allogreffe, les matériaux les plus fréquemment utilisés sont :

-Freeze Dried Bone Allograft : FDBA : os d'origine humaine lyophilisé

-Demineralized Freeze Dried Bone Allograft : os d'origine humaine déminéralisé (acide chlorhydrique) et lyophilisé

Les matériaux sont stérilisés (radiation ionique, congélation, oxyde d'éthylène ou chaleur) pour diminuer les risques de transmission de pathogènes. Certains auteurs ont conclu sur le faible pouvoir ostéoinducteur de ce type de greffe qui peut, en outre, être altérée par un processus de stérilisation.

1.1.3. La xéno greffe

La xéno greffe, quant à elle, est une greffe des tissus d'un individu à un autre mais d'une espèce différente, et a, en parodontologie, des origines principalement bovine ou corallienne.

Les greffons sont traités pour garder leur composant minéral tout en éliminant leur composant organique, limitant ainsi le danger d'un rejet immunitaire mais supprimant son potentiel ostéoinducteur. En effet, dans la plupart des cas, ces matériaux deviennent prisonniers d'un tissu conjonctif dense avec une régénération tissulaire très limitée.

Les xéno greffes bovines, sont poreuses, résorbables et se présentent sous forme granulaire ou compacte. Elles sont classées en catégorie IV (pas d'infection détectable) selon l'organisation mondiale de santé (OMS).

Les greffes dérivées du corail se présentent sous 2 formes soit comme carbonate de calcium (BIOCORAIL) soit comme hydroxyapatite poreux (BIO-OSS).

Ce dernier, de formule $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{OH}_2$, est ostéoconducteur, biocompatible et de structure comparable à celle de l'os humain. Les traitements physiques et chimiques éliminent la substance antigénique et entraînent une modification de structure et de composition de la phase inorganique.

Dans le cadre de l'ingénierie tissulaire, l'allogreffe et la xéno greffe sont plus facilement à même d'êtreensemencées de cellules ou facteurs. En effet, l'autogreffe ne nécessite pas de temps de laboratoire, d'où la difficulté d'effectuer un ensemencement.

1.2. Les polymères naturels

La nature fournit d'excellents échafaudages jusqu'ici inégalés par l'homme (18). Les organismes vivants sont capables de synthétiser une grande variété de polymères se divisant en différentes catégories (**Fig. 20**).

Les polymères naturels offrent une similarité avec les macromolécules biologiques reconnues et gérées métaboliquement par le microenvironnement biologique. Ils permettent également de diminuer le risque d'inflammation chronique ou de réaction immunologique (50).

Ces produits naturels ont des propriétés biologiques favorables permettant l'interaction cellulaire puisqu'ils sont dérivés d'un tissu animal ou humain mais cela étant ils peuvent être la cause de problèmes de biosécurité (13).

Dans le but d'imiter la MEC, les polymères naturels peuvent donc envoyer des signaux pour guider les cellules à travers les étapes variées de leur développement et accélérer la cicatrisation tissulaire. D'ailleurs, ce mimétisme de la MEC est un de leur principal avantage auquel s'ajoutent leurs bonnes caractéristiques biologiques et leurs interactions cellulaires inhérentes.

En conséquence, ils possèdent d'excellentes propriétés biodégradables, biorésorbables et une bonne adaptabilité, le tout facilitant leur rôle dans la libération cellulaire (18).

Ces matériaux sont produits dans des conditions douces et possèdent des propriétés mécaniques et structurelles semblables à la MEC, ils peuvent combler l'espace, libérer des molécules ou servir de trame pour les cellules (6). Structurellement parlant, la réticulation des chaînes de polymères et l'établissement de différentes liaisons chimiques sont utiles pour leur conférer une intégrité.

Excellent pour l'ensemencement cellulaire, ils sont néanmoins variables dans leur composition, avec peu de propriétés mécaniques et un taux de dégradation qui est limité dans le temps et difficile à contrôler. De plus ces limites peuvent également être physicochimiques avec la nécessité de protocoles de purification et de décontamination du potentiel pathogénique (13).

1.2.1. Les matériaux dérivés de la MEC

L'inspiration de la MEC pour la création d'un échafaudage implique la présence de protéines structurelles.

La plus abondante dans le corps, avec plus de 20 formes génétiques, est le collagène. Le type I est, en particulier, le plus étudié. La force mécanique n'est pas le point fort de ces protéines. Afin d'obtenir des matrices avec des propriétés mécaniques adéquates (60), des protocoles de glycation chimique et de traitements à haute température ont donc été mis en place. Souvent utilisé comme véhicule, le collagène peut être ensemencé, mis en culture et introduit dans le défaut parodontal (13,57).

Il en va de même pour l'acide Hyaluronique, qui est un composant transitoire de la MEC puisqu'il est présent dans une matrice temporaire, remplacée ensuite par la MEC. Ce GAG peut supporter la mise en place de fibroblastes, de chondrocytes ou encore de cellules souches mésenchymateuses (6). Pour faciliter la formation de fibres dans un échafaudage 3D à base d'acide Hyaluronique, l'intégration d'un adjuvant tel que le polyéthylène oxyde semble être très prometteur.

La fibrine est aussi un candidat favorable à la libération de cellules souches dans les défauts parodontaux. Ce composant de la MEC se caractérise par un réseau complexe formé par une polymérisation de fibrinogène en présence de l'enzyme thrombine. Utilisé seul ou en combinaison, cet échafaudage biologique non seulement accélère la cicatrisation mais possède également une structure nano-fibreuse très similaire à la MEC. Associé au polyéthylène glycol, ce matériau hybride permet de diminuer la rapidité de dégradation de la fibrine (13).

Le collagène possède une séquence spécifique RGD qui régule d'importants événements cellulaires via une liaison intégrine. Ce tri-peptide RDG (Arginine-Glycine- Acide Aspartique) permet également à la fibronectine de servir de substrat pour l'adhésion cellulaire (50). D'ailleurs, cette séquence a été intégrée à la surface de nombreux biomatériaux pour augmenter la disponibilité des sites d'attaches cellulaires, une des stratégies consistant à déposer des couches de fibronectines orientées.

En associant les biomatériaux, on associe également leurs propriétés comme lors de l'imprégnation de micro-éponges de collagène sur un échafaudage, ou encore d'une trame de collagène renforcée d'un support en HA, dans le but de promouvoir la bioactivité et la différenciation cellulaire (13,55).

1.2.2. Les dérivés protéiques : la soie

La soie est un polymère de protéines produit par une variété d'insectes et d'araignées, en particulier par le ver à soie *Bombyx Mori*. Dans la nature, la soie présente des structures et fonctions différentes en accord avec l'environnement habité par ces animaux.

Dans sa forme naturelle, la soie est formée d'un filament principal de protéines, la fibroïne et d'une couche similaire à de la colle formée de protéines séricines. Composée de blocs hydrophobiques, la fibroïne a tendance à former des cristaux ou couches β grâce à des liaisons hydrogènes et des interactions hydrophobiques ce qui constitue la base de sa force élastique ainsi que son caractère insoluble dans l'eau. Ses blocs hydrophobiques combinés à des blocs faiblement hydrophiliques lui confère une certaine dureté (53).

La soie fournit une excellente combinaison de légèreté ($1,3 \text{ g/cm}^3$), de force mécanique importante (4,8 GPa) de dureté et d'élasticité (jusqu' à 35%). Elle est résistante à la compression et à l'élongation tout en étant extensible et résiliente (53).

En effet, la porosité, la rugosité de surface, et la rigidité sont contrôlables dans le procédé de fabrication de cet échafaudage 3D.

Ces polymères de protéines peuvent également, être rendu fonctionnels par un couplage chimique avec des molécules bioactives ou par une conjugaison covalente de facteurs de croissance ostéogéniques. Toutefois, les études cliniques n'ont pas encore été réalisées sur sujet humain.

1.2.3. Les Polysaccharides

1.2.3.1. Alginate

Ce polysaccharide anionique naturel provenant de l'algue noire est un des plus abondants matériaux bio-synthétisés. Il peut être utilisé comme porteur cellulaire car il permet une incorporation cellulaire.

Comme il est facilement modifiable, des réactions chimiques et physiques permettent d'obtenir des dérivés avec des structures, des propriétés, des fonctions et des applications variées.

Principalement utilisé sous forme de gel, il est possible d'emprisonner des cellules dans des gouttelettes d'alginate, transformées en perles rigides par gélation dans une solution riche en cations divalents.

Les cellules sont donc entourées d'une barrière non dégradable sélectivement perméable qui isole les cellules transplantées de l'hôte (52).

Ces implantations sont considérées comme immuno-protectrices puisqu'elles préviennent la destruction des cellules transplantées par les cellules immunes et par les complexes solubles et qu'elles éliminent ainsi le besoin d'un immunosuppresseur.

Néanmoins comme les cellules sont emprisonnées, il n'y a aucune possibilité d'interaction directe et immédiate avec la matrice, c'est pourquoi cette méthode est plutôt indiquée pour une libération de facteurs bioactifs que pour des cellules (6,15).

Grâce aux combinaisons de biomatériaux avec des ligands spécifiques, il est aujourd'hui possible de modifier ses forces mécaniques, ses propriétés de gélation, son affinité tissulaire ou encore de rendre ce matériau biodégradable.

1.2.3.2. Chitosan

Le chitosan est obtenu soit par désacétylation chimique ou enzymatique de la chitine, qui est un composant exo-squelettique des arthropodes.

Le chitosan est un polymère cationique en milieu acide, qui a la capacité de former des complexes avec des substances inorganiques (HA) ou organiques (protéines de la MEC ou facteurs de croissance), améliorant significativement sa cytocompatibilité et sa biofonctionnalité.

Grâce à différents protocoles, sa transformation permet l'obtention de diverses structures (microsphères, colle, éponge, membranes, ou fibres) (54,61).

Ses propriétés chimiques et cationiques sont modulables et fournissent l'opportunité de contrôler les événements cellulaires à travers la médiation de ses interactions avec des macromolécules ou ligands de surface cellulaire.

En outre, le chitosan possède des propriétés bactériostatiques grâce à sa capacité d'inhiber la croissance des GRAM- et GRAM+. Ce sont ces propriétés antimicrobiennes qui ont permis, lors de sa mise en place chez des patients atteints d'une parodontite chronique, de nettement diminuer les marqueurs de l'inflammation gingivale (62). Ces résultats sont toutefois issus d'une étude à faible valeur.

Considéré comme un moyen de libération in vitro efficace d'ADN et de facteurs de croissance, il supporte bien l'attachement cellulaire, en particulier quand il est conjugué à d'autres molécules, mais il n'est pas très favorable à la prolifération cellulaire.

D'ailleurs, il a été combiné à du calcium carbonaté, de l'HA, du collagène ou encore du β TCP dans le cadre d'études en régénération parodontale (13).

1.3. Les peptides auto-assemblants

La nature utilise des protéines et des peptides pour synthétiser des matériaux dont la hiérarchie et la fonction dépassent n'importe quel biomatériau synthétisé par l'homme.

Les peptides auto-assemblants ou amphiphiles sont des molécules formées de peptides qui utilisent des interactions non covalentes intermoléculaires pour synthétiser des structures d'ordre supérieures via l'auto-assemblage de constituants élémentaires de la matière.

En comprenant comment ces supra-structures s'assemblent dans la nature, on peut exploiter ce procédé dans la synthèse de biomatériaux.

Ils se composent de 3 régions, une queue hydrophobique, une région d'acides aminés formant une couche β , et enfin un peptide épitope qui assure la solubilité.

La combinaison de liaisons hydrogènes entre les couches β et la queue hydrophobique qui collapse, permet la formation des micelles et donc de nano-fibres réversibles (54).

En changeant le pH ou en ajoutant des ions de charge opposée à la surface de ces fibres, un gel se forme. Par conséquent, la présence des contre-ions dans les solutions physiologiques in vivo, confirme la grande utilité des peptides amphiphiles en ingénierie tissulaire (18). Ces molécules manifestent une grande capacité à tolérer des modifications chimiques pour une application biologique.

Les peptides amphiphiles s'assemblent pour former des structures bien définies avec une fonction particulière. Ils peuvent supporter une encapsulation cellulaire, fournir un échafaudage biomimétique capable de nucléation de HA, promouvoir la différenciation neuronale ou encore maintenir les fonctions des chondrocytes différenciés. Récemment deux types de cellules souches dentaires ont été mises en place sur des hydrogels de peptides amphiphiles et celles-ci ont manifesté des résultats prometteurs avec des différences de morphologie, de comportement et de prolifération (63).

TYPE DE BIOMATÉRIAU		CARACTÉRISTIQUES	
BIOMATÉRIAUX D'ORIGINE NATURELS	Matériaux inspirés de la MEC	Collagène	-Grande force mécanique -Bonne biocompatibilité, biodégradable, grande disponibilité -Faible coût -Faible pouvoir antigénique -Prolifération, différenciation et migration cellulaire régulée par des interactions avec la MEC -Réticulation → façonnage des propriétés mécaniques, de différenciation, d'adhésion, d'intégration cellulaire et de rétention d'eau
		Fibronectine	Induit l'attachement cellulaire et leur migration à travers les sites d'attache → intégration de la séquence RGD
		Fibrine	-Rôle important dans l'hémostase et la réparation tissulaire spontanée (13) -Le plasma du patient diminue les risques de transmission pathologique ou réactions immunologiques -Présente dans la matrice temporaire
		Acide Hyaluronique	-Appartient à la famille des glycosaminoglycane (GAG) -Rôle dans organogénèse, la migration cellulaire et le développement en général -Inerte immunologiquement -Biodégradable -Grande capacité d'absorption d'eau → force compressive (enflure osmotique) -Modification par estérification ou réticulation → fournir une rigidité structurelle
	Dérivés de Protéines	Peptide amphiphile	-Biocompatible -Stimule les interactions cellulaires et la régénération tissulaire -Incitation à la production de matrice tissulaire -Stabilité augmentée par une polymérisation -Peut être intégré avec d'autres composants organiques ou inorganiques pour former des nano-composites
		Soie	-Résistance mécanique et élastique -Dureté -Support d'adhésion cellulaire, migration et différenciation in vitro -Biocompatible, biodégradable -Insoluble dans l'eau
	Polysaccharides	Alginate	-Biocompatible et biodégradable -Hydrophile -Non antigénique -Capacité de chélation -Dégradation lente avec une dissolution imprévisible in vivo
		Chitosan	-Bonnes propriétés mécaniques variables avec le degré d'acétylation -Biodégradable, biocompatible -Hydrophile, soluble, grande capacité d'absorption et grande réactivité. -Non antigénique, non toxique -Activité hémostatique (64,65) -Propriétés bactériostatiques

Fig. 20 : Biomatériaux d'origine naturelle

2. Matériaux d'origine synthétique

2.1. Les polymères synthétiques

Les biomatériaux synthétiques doivent être, non seulement, biorésorbables mais également construits avec un matériau qui tolère l'ensemencement :

- de facteurs de croissance ou de différenciation appropriés
- de leurs récepteurs intégrines cellulaires
- de cellules ou d'autres molécules instructives trouvées dans les tissus en régénération.

Un de leurs principaux avantages est leur production à grande échelle avec des critères spécifiques tels que leur inertie, leur biocompatibilité ou encore leur biodégradabilité (**Fig. 21**).

Ils sont connus pour avoir une intégrité et une résistance mécanique supérieures aux biomatériaux biologiques. Néanmoins, ils sont fabriqués dans des conditions rigoureuses, ce qui rend l'incorporation de facteurs, l'attachement cellulaire ou l'emprisonnement cellulaire difficiles (66).

TYPE DE BIOMATÉRIAU		CARACTÉRISTIQUES PROPRES	CARACTÉRISTIQUES COMMUNES	
POLYMÈRES SYNTHÉTIQUES	NON RÉSORBABLES	PMMA	Polyméthylméthacrylate -Biocompatible	Ciments acryliques -Ostéoconducteurs -Hydrophiles associés à Ca(OH) ₂
		PHEMA	Polyhydroéthylméthacrylate	
		PTFE	-Polytetrafluoroéthylène ou TEFLON -Répétitions de sous-unités de carbone et fluorine -Utilisé en GTR -Résistance thermique et chimique -Rôle potentiel de trame pour l'expansion cellulaire ex vivo et libération sur le site	
	RÉSORBABLES	PGA	-Acide polyglycolique -Échafaudage pour des fibroblastes gingivaux	-Polyesters aliphatiques -Appartiennent à la famille des acides α-hydroxylés -Non immunogéniques, biocompatibles, et non toxiques -Facilement manufacturés en préformes selon l'anatomie du site -Hydrophobiques -Fournissent une plateforme pour exposer les propriétés mécaniques du biomatériau
		PLLA	-Acide polylactique -Membrane bioabsorbable -RCT → pas de régénération quand utilisé avec greffe autogène -Plus hydrophobique que PGA	
		PLGA	-Copolymère = PLA/PGA utilisé comme une barrière -Libération de facteurs de croissance	

Fig. 21 : Polymères synthétiques

Concernant les acides alpha-hydroxylés, leurs liaisons esters sont sensibles à l'hydrolyse et donc se dégradent non enzymatiquement. En se dégradant, les déchets formés sont éliminés par les voies respiratoires et n'entraînent généralement pas d'infiltration massive de macrophages ou d'inflammation chronique.

De plus, il existe des moyens de contrôler leur dégradation à court ou long terme selon les besoins cliniques. En effet, le taux d'hydrolyse et par conséquent la dégradation ainsi que le degré d'hydrophobicité peuvent être modulés pour correspondre aux critères de libération cellulaire thérapeutique.

Certains auteurs pensent que pour régénérer une structure complexe comme le parodonte, seuls les échafaudages fibreux alignés peuvent fournir un guidage adéquat aux cellules. En conséquence, un échafaudage PLGA parallèle et croisé de fibres a été créé pour générer le parodonte.

2.2. Les céramiques phosphocalciques

Les céramiques disponibles en ingénierie tissulaire (hydroxyapatite HA, β-TriCalcium Phosphate), proviennent majoritairement du Phosphate de Calcium (CaP).

Ces céramiques bioactives à base de CaP sont utilisées en raison de leurs composants communs avec le minéral osseux.

Effectivement, une surface minérale biomimétique favoriserait l'absorption préférentielle de molécules biologiques qui régulent la fonction cellulaire, dans le but de promouvoir les événements responsables de la biominéralisation cellulaire (**Fig. 22**).

Ne présentant aucun risque pour le patient, elles permettent d'éviter les greffes osseuses; de plus leur disponibilité en grande quantité, de même que le besoin de disposer d'un matériau polyvalent en font un candidat idéal pour l'ingénierie tissulaire. En outre, ces biomatériaux minéraux reflètent un niveau remarquable de contrôle quant à leur composition, leur forme, leur taille et leur organisation.

Pour avoir une efficacité optimale, ils doivent être poreux, biocompatibles et posséder une capacité d'ostéointégration, avec une grande force mécanique tout en étant biodégradables. Néanmoins, aucune céramique, ne possède à ce jour, toutes ses caractéristiques (37,51).

Avec une géométrie 3D appropriée, les phosphates de calcium sont capables :

- d'établir une liaison et de recruter des facteurs de croissance (Bone Morphogenic Protein) endogènes en circulation
- de devenir ostéoinducteurs
- d'être des porteurs efficaces de cellules osseuses en particulier, grâce à l'incorporation de facteurs bioactifs ostéogéniques.

Dans le contexte d'une régénération de tissus minéralisés, HA est un des favoris et est largement étudié dans de nombreuses recherches cliniques. Un matériau très développé également est le TCP avec ses phases alpha et beta très résorbables. Sa résorption est controversée, elle serait due :

- soit à un processus dépendant des fluides interstitiels qui dissoudraient le matériau lié à l'absence d'ostéoclastes avoisinants
- soit à un processus cellulaire, avec des cellules géantes ostéoclastiques observées dans les sites de défauts suggérant leur rôle dans la résorption

A l'inverse l'HA ne possède pas un bon taux de résorption mais possède une grande résistance mécanique. Ainsi leurs avantages et inconvénients se complétant l'idée d'une céramique biphasique HA/TCP est apparue. Ce matériau composite semble être un bon véhicule cellulaire, et est fréquemment étudié en régénération parodontale (13,24). De plus, dans le domaine de l'implantologie, ce matériau a manifesté un haut pouvoir ostéoinducteur avec une augmentation de l'expression génique des cellules osseuses (67).

Le β -TCP peut également être combiné avec d'autres matériaux comme le chitosan ou encore le collagène (13).

TYPE DE BIOMATÉRIAU		CARACTÉRISTIQUES PROPRES	CARACTÉRISTIQUES COMMUNES
CÉRAMIQUE	PHOSPHATE DE CALCIUM	HA	<ul style="list-style-type: none"> -Bioactifs -Biocompatibles -Transporteurs cellulaires ou de facteurs efficaces -Composition similaire à l'os -Capacité de promouvoir la fonction cellulaire → Formation d'une interface solide biomatériau-os
		β -TCP	

Fig. 22 : Céramiques phosphocalciques

2.3. Le bioverre

Les bioverres trouvent actuellement des débouchés dans les domaines orthopédiques, dentaires. Après le traitement thermique d'un type de verre particulier (MgO-CaO-SiO₂-P₂O₅), il se forme un verre « céramique » contenant une apatite cristalline, le β -wollastonite, dans une matrice vitreuse (62). Ce bioverre se lie à l'os avec la formation d'une couche HA carbonée in vivo (25) (**Fig. 23**).

TYPE DE BIOMATÉRIAU	CARACTÉRISTIQUES
Verre Bioactif	<ul style="list-style-type: none"> -Silicate résorbable ou non selon sa composition -Ostéoconducteur, ostéoinducteur (67) -Pouvoir ostéogénèse -Biocompatible, bioactif -Peut jouer le rôle de barrière pour l'épithélium (54) -Résistance mécanique correcte

Fig. 23 : Caractéristiques du bioverre

Récemment, des chercheurs ont démontré que les nanoparticules du bioverre avaient un rôle dans la survie des cémentoblastes, l'activité mitochondriale et la prolifération cellulaire, confirmant son potentiel dans la régénération parodontale (67).

2.4. Le sulfate de calcium

Ce substitut minéral est généralement utilisé en tant que barrière (62) et est depuis peu, plutôt employé comme vecteur cellulaire (**Fig. 24**). Biocompatible, il n'est ni ostéoinducteur ni ostéoconducteur (69).

Le biocomposite, mélange de β TCP et sulfate de calcium, ne nécessite pas de membranes, diminue le temps chirurgical et le coût et enfin présente un potentiel certain dans la régénération.

Récemment, le sulfate de calcium a été associé à PLGA formant un composite avec une taille de pores et macroporosité similaire à l'os trabéculaire. Il peut être utilisé comme biomatériau seul, moyen de libération cellulaire, ou système de libération de molécules en 3 phases.

TYPE DE BIOMATÉRIAU	CARACTÉRISTIQUES
Calcium de Sulfate ou plâtre de Paris	<ul style="list-style-type: none"> -Hémi-hydraté de formule CaSO_4 -Biocompatible, biodégradable -Force compressive très importante mais faible résistance mécanique -Inorganique, non poreux

Fig. 24 : Caractéristiques du calcium de sulfate

3. Matériau semi-synthétique :

La cellulose, principal constituant des plantes, est un polymère de glucose qui forme des fibres naturelles comme le coton ou le lin. Nous allons évoquer un polymère dérivé de la cellulose et considéré comme semi-synthétique : l'hydropropyl méthyl cellulose (HPMC).

Le HPMC est de plus en plus utilisé dans les études d'ingénierie tissulaire (70,71), c'est un méthylcellulose modifié par des groupes ether glycol propylène qui sont attachés à l'anhydroglucose du cellulose (**Fig. 25**).

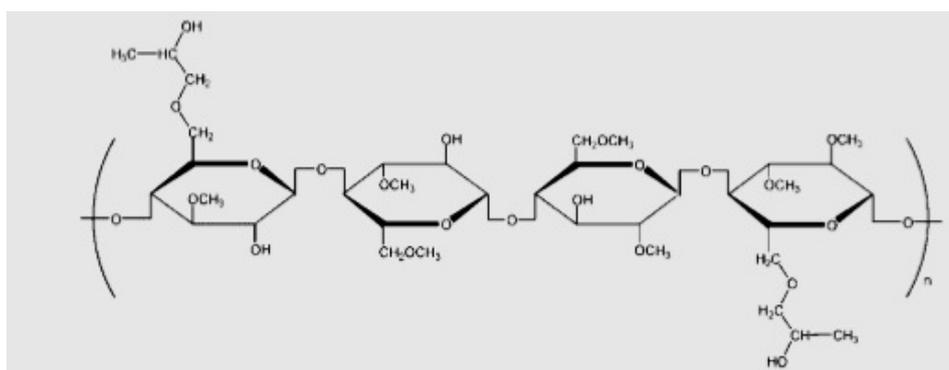


Fig. 25 : Structure idéalisée de l'hydropropyl méthyl cellulose (HPMC) d'après Fatimi A. et coll. 2008

Il présente de bonnes propriétés biologiques, le rendant très favorable aux applications biomédicales.

Il y a 10 ans environ, un hydrogel a été développé par P. Weiss, en associant des groupes silanes à la structure de HPMC: l'hydropropyl méthyl silanisé (Si-HPMC) (168) (**Fig.26**).

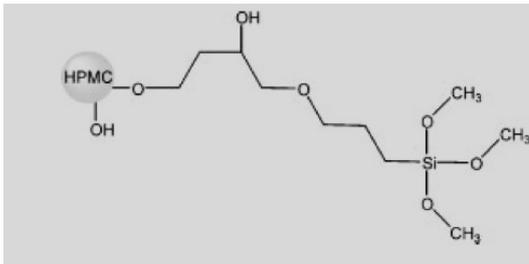


Fig. 26 : Structure chimique du Si-HMPC d'après Fatimi A. et coll. 2008

A un pH physiologique, Si-HMPC génère un état élastique, améliorant ainsi les propriétés biologiques et biomécaniques de HPMC. Le principe d'auto-durcissement de l'hydrogel est basé sur les silanes greffés le long des chaînes de Si-HMPC (168). La dissolution de ce produit a lieu dans un milieu fortement basique (NaOH) et correspond à la ionisation de silane en sialonate de sodium (SiO^-Na^+). La gélification, quant à elle, est basée sur la condensation entre les groupes silanol (SiOH) suite à une baisse du pH (168) (**Fig. 27**).

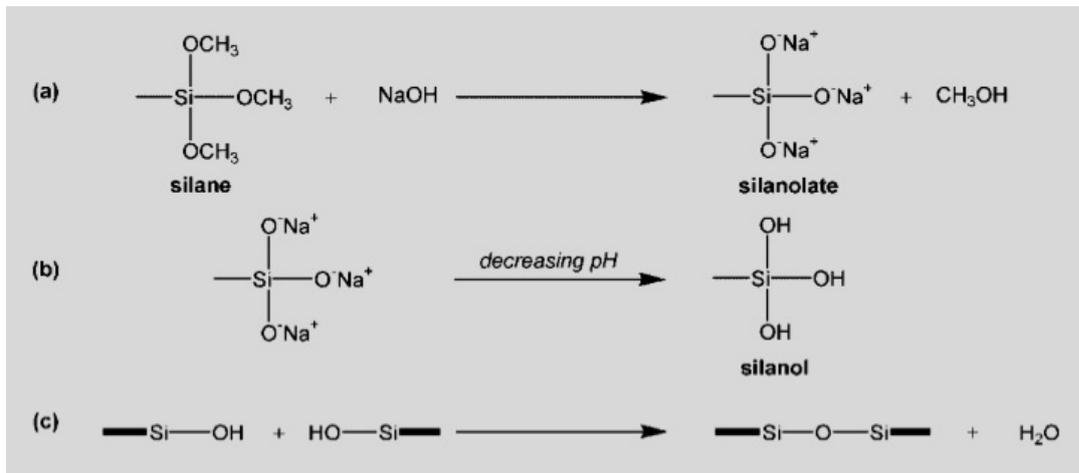


Fig. 27 : Comportement du silane (a) formation du silane, (b) protonation de sialonate et (c) condensation silanol d'après Fatimi A. et coll. 2008

La solution de Si-HMPC est transformée en Si-HMPC hydrogel avec la formation d'un réseau 3D.

TYPE DE BIOMATERIAU		CARACTERISTIQUES
POLYMERE SEMI-SYNTHETIQUE	RESORBABLE	Si-HPMC
		<ul style="list-style-type: none"> -Hydroxypropyl méthyl silanisé -Polymère auto-réticulant -Groupes silanes greffés sur les chaînes de HPMC -Biocompatible -Bonnes propriétés rhéologiques -Temps de gélation correct : temps nécessaire pour manipuler les cellules et injecter le mélange -Injectabilité favorisée par ses bonnes propriétés visqueuses et élastiques

Fig. 28 : Caractéristiques du Si-HPMC

De par ses nombreuses caractéristiques favorables à une utilisation en ingénierie tissulaire (**Fig. 28**), il a fait l'objet de recherches plus approfondies. Il a notamment présenté un potentiel en tant que trame pour une amplification 3D et pour le transfert des chondrocytes en ingénierie tissulaire du cartilage.

IV. OPTIMISATION DES CARACTÉRISTIQUES

Pour optimiser un biomatériau, les chercheurs ont souvent recours à la fabrication d'un matériau composite, comme vu précédemment. La création d'un matériel composite nano-fibreux, provenant d'une association entre constituants de la MEC, polymère naturel ou synthétique, peut à l'échelle physique, avoir une influence sur la fonction biologique avec une composition biochimique similaire à l'environnement MEC, qui interagit avec les cellules in vivo.

En plus des associations de différents types de biomatériaux, des protéines ou des facteurs de croissance ou encore des peptides peuvent être attachés de façon ionique ou covalente à la surface du biomatériau pour augmenter l'adhésion cellulaire et donc la quantité de tissu régénéré. En effet, des propriétés inductives peuvent être données au matériau en utilisant des méthodes d'incorporation de facteurs telles que l'absorption, l'emprisonnement ou encore la réticulation.

Néanmoins, malgré leurs nombreux avantages, les protéines ou les facteurs de croissance sont difficiles à isoler et ont tendance à rapidement se dégrader. L'introduction des peptides a permis de faire face à ces limites. Ils peuvent entraîner les mêmes réponses qu'une protéine tout en étant plus petits, moins coûteux et moins sujets à la dégradation. En outre, ils ont un grand potentiel de contrôle de l'activité biologique puisqu'ils comprennent une séquence spécifique d'acides aminés RGD (66). En effet, la conception de séquences sur les peptides, a permis entre autres, de contrôler leur hydrophobicité et d'imiter les sections de protéines collagènes par exemple (laminine, sialoprotéine, ostéopontine, stathérine, élastine, et ostéonectine) (13).

Contrairement au Sulfate de Calcium, le biomatériau qui semble être le plus prospère concernant la survie de cellules souches en régénération parodontale, est l'échafaudage spongieux particulièrement issu du collagène.

En conclusion, la combinaison des signaux physiques, biochimiques et la topologie de surface à l'échelle nanométrique peuvent augmenter ou potentialiser l'adhésion, la prolifération et la différenciation cellulaires, facilitant ainsi l'intégration tissulaire in vivo.

V. PROCÉDÉS DE FABRICATION

La régénération tissulaire face à une maladie parodontale, impliquait, auparavant une greffe osseuse. Avec les progrès récents en ingénierie tissulaire, différents types de matériaux injectables, de ciments, de céramiques, sont désormais une alternative à la greffe.

Ils peuvent êtreensemencés de cellules souches autogènes, leur fournissant une trame, leur permettant de proliférer et se différencier. De plus, la régénération peut être accélérée avec l'utilisation de protéines de l'émail EMDOGAIN ou de facteurs de croissance comme PDGF, IGF PRP.

Les échafaudages les plus récents ont des propriétés très satisfaisantes : sous forme injectable ou sous forme de fibres nanométriques ils sont fonctionnels avec une biocompatibilité, un taux de résorption élevé et sont non immunogènes.

Sur le plan clinique, permettre aux biomatériaux de réaliser une libération contrôlée en 3D ou 2 D (membrane), est une nécessité. Aucune méthode de fabrication n'est idéale, toutefois, le procédé ne doit en aucun cas modifier la biocompatibilité du matériau.

1. Echafaudage injectable

Le développement de nouveaux systèmes injectables a ouvert de nouvelles possibilités à la médecine et en particulier à l'ingénierie tissulaire. Ils proviennent de dérivés synthétiques ou naturels et ont de nombreuses applications biomédicales.

Ces systèmes possèdent des avantages uniques par rapport aux approches traditionnelles, à savoir, une mise en place sans chirurgie invasive, une facilité d'application, une capacité à localiser et concentrer les cellules au site d'injection améliorant de ce fait, la rétention et la distribution cellulaires et plus important encore, l'activation de la prolifération et de la différenciation cellulaires (66).

1.1. Analyse comportementale cellulaire

Grâce à la création, en micro-ingénierie, de plateformes capables d'activer la stimulation cellulaire, les observations et les analyses ont permis de mieux comprendre le fonctionnement des cellules.

Il est essentiel de connaître leurs comportements sur différentes formes de matériaux. De nombreuses études quantitatives sur les cellules adhérentes aux gels dont l'élasticité est équivalente aux tissus, ont permis la compréhension du fonctionnement des cellules tissulaires en fonction de la dureté de la matrice.

Les cellules tissulaires, généralement pas viables en suspension dans un liquide, sont donc caractérisées d'ancrage-dépendantes. L'ancrage dépend du besoin de la cellule à adhérer à un solide.

Une cellule tissulaire peut, non seulement, appliquer des forces mais également répondre à un stress mécanique provenant de la matrice tissulaire ou d'un matériau synthétique, en modifiant l'expression génique soit par une réorganisation cytosquelettique soit par voie physico-chimique (phosphorylation de tyrosine) (72).

D'ailleurs, il a été prouvé que la prolifération, la différenciation, et la mort cellulaires peuvent être contrôlées par des contraintes sur la zone de répartition cellulaire indiquant que les conséquences de ses perturbations mécaniques jouent un rôle important dans le destin cellulaire.

En effet, les cellules localisées dans des régions de haut stress, par exemple dans un coin ou en dehors de blocs cellulaires 3D, forment plutôt des ostéocytes alors que des adipocytes se trouveront plutôt dans des régions de faible stress. Ainsi les échafaudages linéaires élastiques seront préférés pour une régénération osseuse et les trames non linéaires élastiques ou viscoélastiques seront, quant à elles, préférées pour une régénération des tissu mous. Il sera donc plus facile à l'avenir de contrôler et de réguler les cellules souches (72).

Les échafaudages spongieux, majoritairement formés de collagène ou d'un polymère absorbable, parviennent à obtenir un bon taux de survie cellulaire mais ils manquent de force mécanique structurelle nécessaire au soutien musculaire et tissulaire.

Cependant, si l'injection cellulaire in situ ne permet pas suffisamment de rétention cellulaire ou de contrôle sur la localisation cellulaire, les échafaudages mous comme le gel ou l'éponge peuvent être une alternative ; en effet, leur efficacité en terme de maintien cellulaire a été confirmée par des recherches précliniques en régénération parodontale (13,73).

1.2. Les hydrogels

Les hydrogels ont un réseau de réticulation 3D, composé de polymères hydrophiliques avec une haute teneur en eau. Ces matériaux hydratés subissent un gonflement osmotique, créé de manière entropique par les chaînes polymériques et la réticulation chimique (66).

Il est possible de préparer une solution d'hydrogel à base d'alginate ou d'agarose, de chitosan, de collagène ou encore de cellulose en particulier Si-HPMC, d'y incorporer des cellules et d'initier la gélation en changeant la température, le pH ou la concentration de l'ion hydrogène. De plus, cet état d'enflure facilite le transport des nutriments en dedans et en dehors de l'hydrogel.

Les hydrogels injectables biodégradables ont la capacité de se polymériser in situ, permettant une encapsulation homogène et efficace de cellules ou de facteurs bioactifs dans des fluides injectables qui peuvent être introduits dans le corps avec des moyens faiblement invasifs avant de se solidifier sur le site désiré (51,73).

Par ailleurs, la fibrine est très souvent utilisée de par sa biodégradabilité, le support qu'elle fournit lors d'une infiltration et sa prolifération cellulaire. Sa rapidité de dégradation peut être diminuée grâce au polyéther PEG.

L'alginate, également fréquemment utilisé comme hydrogel, microsphères, microcapsules, éponges, mousses ou encore fibres, présente l'avantage d'être hydrophile et soluble dans l'eau et de s'épaissir dans des conditions neutres, essentielles à la formation d'un gel in situ.

Les hydrogels sont classés en gel covalent ou physique selon leur mécanisme de gélation (**Fig. 32**) : interactions ioniques, gélation thermique, ou polymérisation de radicaux libres entre autres.

En présence de cations divalents, la simple gélation peut se produire quand les cations divalents interagissent avec les blocs de monomères pour former des ponts ioniques

La gélation peut être également obtenue simplement dès lors que la température est supérieure au Lower Critical Solution Temperature (**Fig. 29**).

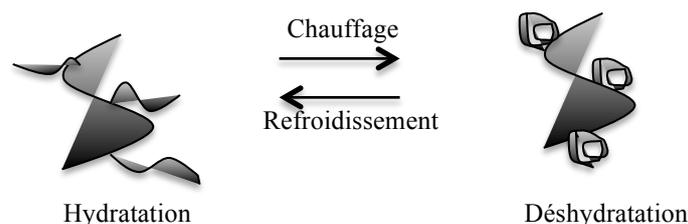


Fig. 29: Schéma d'un polymère « temperature-dependent »

Des interactions ligand-récepteur spécifiques peuvent être aussi employées pour réticuler les hydrogels (Fig. 30). La stratégie est d'introduire des ligands (RDG séquence) dans le matériau pour favoriser l'adhésion cellulaire par liaison chimique. Une fois les cellules ajoutées, elles se dispersent dans la solution et les récepteurs de la surface cellulaire peuvent se lier aux ligands du biomatériau modifié.

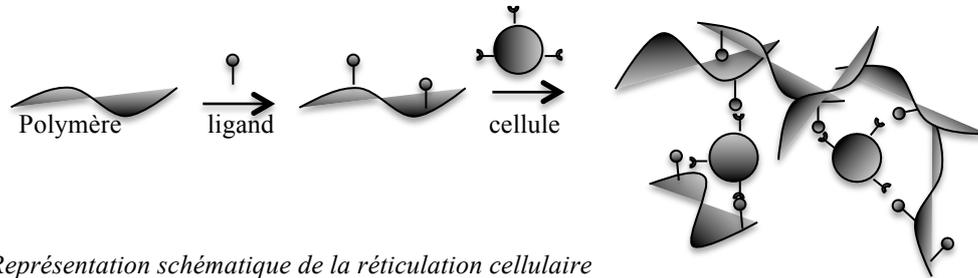


Fig. 30 : Représentation schématique de la réticulation cellulaire

La polymérisation de radicaux libres consiste en un procédé de transformation d'un polymère linéaire en un réseau de 3D polymérique, pouvant en contact direct avec les cellules et avec des initiateurs chimiques appropriés, être amené à un pH et à une température physiologiques (Fig. 31). Cela va permettre un meilleur contrôle temporel et spatial du procédé de gélation. De plus, ce procédé de gélation douce permet aux cellules d'être encapsulées et de rester viables à l'intérieur de l'hydrogel par une polymérisation radicalaire.

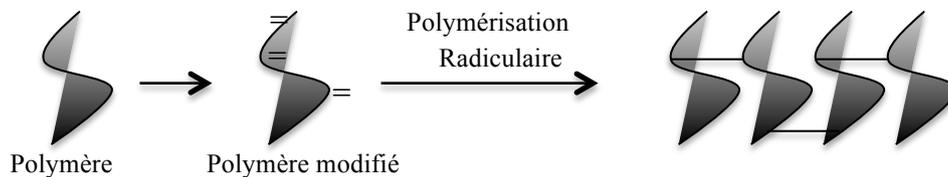


Fig. 31 : Représentation schématique de la polymérisation radicalaire

Malheureusement, la plupart des hydrogels ne parviennent pas à atteindre un taux de survie cellulaire, n'assurent pas de rôle de maintien d'espace, et présentent des propriétés mécaniques limitées liées à la dégradation.

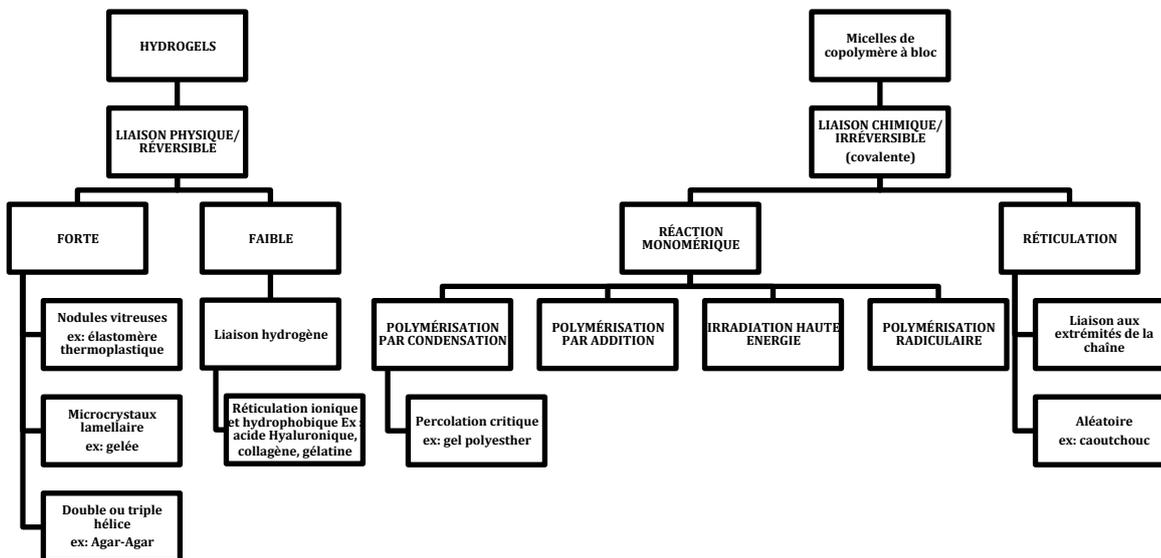


Fig. 32 : Différents procédés de fabrication d'un hydrogel (73)

2. Echafaudages solides poreux

Les échafaudages poreux peuvent être fabriqués à l'aide d'un lessivage au sel ou avec un solvant organique, d'un moussage au gaz ou encore d'une lyophilisation, le but étant de générer des structures aux pores interconnectés dans des matrices 3D. Ces matériaux doivent permettre la protection de la substance biologiquement active ou des cellules de l'environnement biologique.

En fonction du site, ils sont confrontés à des environnements aux pH différents, qui affectent les propriétés d'enflure, mécanique et de dégradation. Ces 2 derniers sont également influencés par le poids moléculaire.

2.1. Procédés de fabrication habituels

MÉTHODE DE FABRICATION	TECHNIQUE	AVANTAGES	INCONVÉNIENTS
FIBER BONDING	Fibres de polymères liées au point d'intersection	-Procédé simple -Haute porosité avec un bon ratio surface-volume	-Faibles propriétés mécaniques -Peu de types de polymères
PROCÉDÉ DE COULÉE/ LEVISSAGE AU SEL	L'échafaudage solidifié contient un matériau porogène qui est éliminé par lessivage	-Contrôle de : -la porosité -la taille des pores -la cristallinité -Haute porosité	-Propriétés mécaniques limitées -Persistance du solvant ou du matériau porogène
LAMINATION MEMBRANAIRE	Des fines couches d'échafaudages poreux liées à la surface pour soutenir des architectures aux structures plus complexes	-Contrôle de : -la macrogéométrie -la taille des pores -porosité	-Propriétés mécaniques limitées -Persistance de solvant résiduel -Interconnectivité poreuse inadéquate
FUSION-MOULAGE	Le polymère et le porogène sont chauffés simultanément puis refroidis dans un moule	Contrôle de : -la macrogéométrie -la taille de pores -la porosité	-Température inadéquate pour l'adjonction de biomolécules
EXTRUSION	Une membrane préfabriquée est extrudée à travers l'embout puis le porogène est lessivé	-Contrôle de : -la taille de pores -la porosité -Macrogéométrie unique (forme tubulaire)	-Propriétés mécaniques limitées -Température inadéquate pour l'adjonction de biomolécules
MOUSSAGE	Le polymère compressé est traité avec un gaz sous haute pression	-Utilise des solvants biocompatibles -Contrôle de la porosité -Possibilité d'incorporer des biomolécules	-Propriétés mécaniques limitées -Interconnectivité poreuse inadéquate
LYOPHILISATION	Le polymère et l'eau sont dissous, puis émulsifiés et séchés par congélation pour éliminer l'eau et le solvant	Bonne porosité et interconnectivité poreuse	Taille de pores limitée
SEPARATION DE PHASES	Le polymère est dissous et fondu dans un solvant organique puis solidifié avec un nitrogène liquide□	-Haute porosité -Capacité d'intégrer des biomolécules	-Taille de pores limitée -Persistance d'un solvant résiduel -Pas de contrôle de la microgéométrie
FABRICATION DE CÉRAMIQUE	Elle peut être formée par un procédé de coulée ou de fusion-moulage	-Bonne propriété mécanique -Contrôle de : -la taille des pores -la porosité	-Persistance d'un solvant résiduel

Fig. 33: Les techniques conventionnelles de fabrication des échafaudages poreux

Ces méthodes présentent leurs avantages et leurs inconvénients (**Fig. 33**), néanmoins la quête du biomatériau idéal implique l'association de l'ingénierie tissulaire aux biotechnologies et permet la création de nouvelles méthodes de fabrication (60).

2.2. Nouvelles technologies de fabrication

Avec les progrès récents en biosciences, les nouveaux procédés de fabrication de plus en plus performants voient le jour. Ils permettent de se rapprocher de la production du biomatériau idéal (54). Néanmoins, ces procédés sont toujours plus complexes et donc coûteux.

De plus ces biomatériaux doivent pouvoir assurer la survie des cellules avec lesquelles ils ont été ensemencés et les procédés de fabrication doivent respecter ce critère (Fig. 36).

2.2.1. La technique d'électrofilage

Le principe de base consiste en un polymère en phase liquide, pompé via une aiguille de diamètre spécifique. Une tension très élevée est appliquée entre l'aiguille et une contre-électrode ou une plaque métallique (Fig. 34). Lorsque la première goutte de polymère sort de l'aiguille, elle est immédiatement déformée par 2 forces électriques :

-la force liée au champ électrostatique

-la force de résistance à la déformation liée à la tension de surface du solide.

Une fois que la force du champ électrostatique est supérieure aux forces de tension de surface de la solution polymérique, un jet de polymère très fin est créé car le fluide s'étire. Attiré par la surface de collection, le jet de polymère devient plus fin encore suite à l'évaporation de solvant due à son impact sur la plaque réceptrice et c'est alors que les fibres se forment.

Cette méthode permet une flexibilité et une facilité de contrôle des caractéristiques de la structure et de la fonctionnalité du biomatériau dans l'application de l'ingénierie tissulaire.

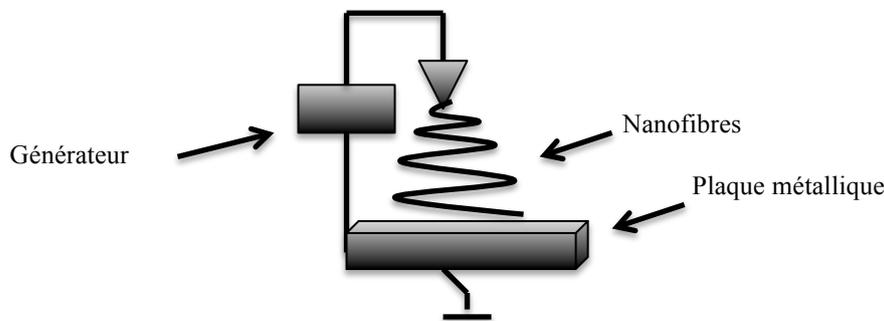


Fig. 34 : Représentation schématique d'un procédé d'électrofilage

2.2.2. Le prototypage rapide:

Technique très utilisée en ingénierie tissulaire, la méthode de fabrication, contrôlée par ordinateur, est réalisée à l'aide d'un modèle 3D.

Le programme va permettre de construire un modèle d'échafaudage 3D précis, couche par couche par la dépose et la distribution cyclique de matériaux. De plus ils peuvent être utilisés comme moules pour manufacturer des modèles physiques de tissu, d'implants personnalisés et d'outils d'aide chirurgicale.

Les technologies de prototypage rapide qui existent sur le marché sont :

-une imprimante 3D (3DP) : combinée à la technique de lessivage au sel pour la fabrication d'un échafaudage polymérique avec une très bonne connexion inter-poreuse

-modélisation par dépôt de fil en fusion (FDM) : utilisation d'un matériel filamentaire thermoplastique poussé entre 2 rouleaux à l'intérieur d'une extrudeuse chauffée électriquement. Le polymère en semi-fusion est déposé via un processus de couche par couche de direction X et Y sur une plateforme qui est abaissée en direction Z, à chaque pose de couches, construisant le modèle 3D requis.

-appareil de stéréolithographie : le polymère liquide est déposé dans un bain et un laser UV est pointé sur le haut du liquide et au moment où la polymérisation débute, le faisceau de laser forme une première couche de plastique solide juste sous la surface du bain (66).

Ce procédé de polymérisation au laser continue à produire des couches successives en calant le faisceau de laser le long de l'extérieur du modèle et en remplissant l'échantillon 2D jusqu'à ce que le modèle 3D soit fini.

La plateforme se surélève en dehors du bain et le surplus de résine disparaît lorsque le modèle est passé au four pour éliminer les irrégularités.

-frittage sélectif au laser : basé sur le fait que l'application d'une source de laser augmente la température de la poudre, le frittage est mis en place juste en dehors de la valeur de température de transition vitreuse. Ce procédé déclenche une fusion des particules et construit une masse solide pour que les couches successives puissent se déposer dessus avec des nouvelles couches de poudre déposées par le rouleau.

La poudre non exploitée dans la structure lui confère une grande porosité tout en maintenant une bonne intégrité mécanique.

2.2.3. Le procédé de fluide super-critique

Un fluide supercritique correspond à n'importe quelle substance portée à une température et une pression supérieure à son point critique thermodynamique (**Fig. 35**).

Tous les matériaux en phase liquide ou gazeuse possèdent une température au delà de laquelle les densités du liquide et de gaz deviennent égales et résultent en une phase unique. Le CO₂ largement utilisé dans cette technique, peut dans cet état traverser les solides comme un gaz et les dissoudre.

Un liquide, peut de cette façon se substituer à de nombreux solvants. Sa viscosité et sa densité, dépendantes de la température et de la pression, peuvent être très précisément contrôlées.

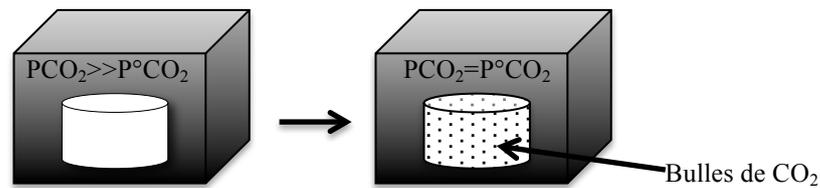


Fig. 35 : Procédé de fluide supercritique schématisé

MÉTHODES DE FABRICATION	TECHNIQUES	AVANTAGES	INCONVÉNIENTS
Electrofilage	Les fibres deviennent élastiques spontanément dans un échafaudage non tissé	Contrôle de : -la taille des pores -porosité -l'épaisseur des fibres -la géométrie interne et externe	-La taille des pores diminue avec l'épaisseur des fibres -Propriétés mécaniques limitées
Prototypage rapide	La fabrication utilise du stéréolithographie, frittage au laser, FDM ou 3DP	Excellent contrôle de la porosité et de la géométrie macro- et micrométrique	-Utilisation limitée de polymères -Coût de l'équipement
Fluide supercritique	Le Co2 permet l'obtention d'un matériau poreux	Contrôle de : -la taille des pores -porosité -substitut du solvant	-Coût -Procédé complexe
Polymérisation in situ	Les polymères sont polymérisés ou réticulés en phase de post implantation	-Injectable -Contrôle des propriétés mécaniques -Capacité d'incorporation du biomatériau	-Porosité limitée -Utilisation de monomères et d'agents de réticulation

Fig. 36 : Caractéristiques des nouveaux procédés de fabrication

PARTIE 3 : A L'AIDE DES CELLULES SOUCHES MESENCHYMATEUSES

I. LES CELLULES SOUCHES

Dans le domaine de la dentisterie, des chercheurs ont constaté que les tissus oraux, en plus d'être une cible thérapeutique majeure, sont une source de cellules souches très accessible (38). Hautement prolifératrices et de grande plasticité, elles continuent de susciter beaucoup d'intérêt clinique dans les thérapies d'ingénierie tissulaire. Elles offrent ainsi, un nouvel espoir aux patients.

Les études sur les cellules souches requièrent la présence de signaux morphogéniques comme les facteurs bioactifs, ainsi qu'un échafaudage comme vu précédemment (28). Principalement réalisées sur modèles animaux, ces études ont pour but de développer le concept de régénération orale et tissulaire dans l'optique d'une application clinique dentaire.

1. Classification

Selon les étapes du développement, les cellules souches principalement étudiées peuvent être divisées en cellules souches pluripotentes ou multipotentes.

Les « induced pluripotent stem cell » (iPSC), introduites récemment en ingénierie tissulaire, peuvent être dérivées, entre autres, de la manipulation génétique d'une cellule somatique.

1.1. Les cellules souches pluripotentes

Les cellules souches fœtales ou cellules germinales embryonnaires, pluripotentes, sont obtenues à partir de fœtus issus d'avortements et comprennent 2 types de cellules : somatiques et germinales. Même si leur génome instable les rend inutilisables cliniquement, elles permettent des recherches fondamentales en ingénierie tissulaire (49).

Quant aux cellules souches embryonnaires, leur différenciation et leur prolifération constituent la base du développement animal. Ce sont des progéniteurs nés de cellules indifférenciées totipotentes, qui se différencient à leur tour en une variété de cellules des 3 couches germinales comme vu précédemment. Cependant ces cellules provenant d'embryons posent des problèmes éthiques, qui ne permettent pas d'application clinique.

Les fibroblastes dermiques humains sont souvent étudiés pour être reprogrammés en cellules pluripotentes, même si les cellules souches adultes peuvent également être de bons candidats (74).

Il existe 4 stratégies de reprogrammation (Fig. 37) :

- le transfert nucléaire aux ovocytes
- la fusion avec des cellules souches embryonnaires (ESC)
- la transduction de 4 facteurs
- à la suite d'une culture à long terme de certains types de cellules

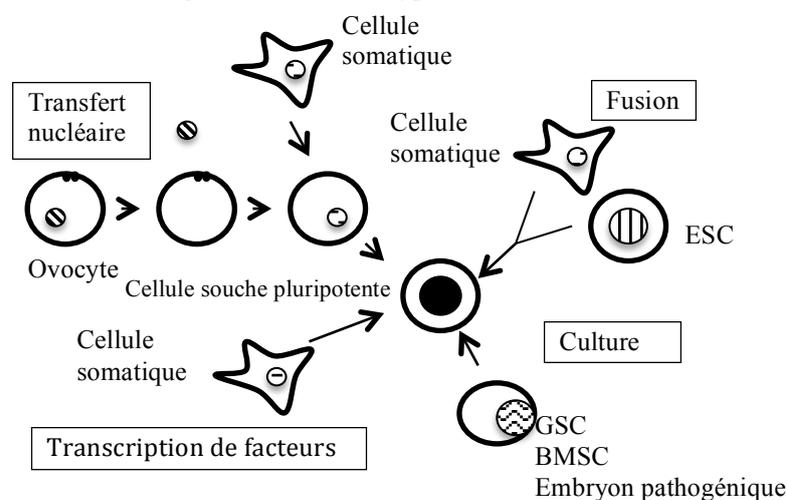


Fig. 37 : Diverses stratégies de reprogrammation en cellules pluripotentes (75)

Récemment, la génération de cellules souches chimériques a pu être constatée grâce à la reprogrammation spontanée d'une culture à long terme de BMSC, d'embryons pathogéniques ou de cellules germinales (GSC). Chaque technique de reprogrammation possède ses avantages et ses limites (**Fig. 38**), il n'existe pas de procédé idéal.

	Nécessite des embryons ovocytes donneurs	Etude clinique sur l'homme	Matériel chromosomique
Transfert nucléaire	Oui	Non	Normal diploïde ; sans transfert génique
Fusion avec ESC	Oui	Oui	Tétraploïde
IPSC	Non	Non	Intégration rétrovirale
GSC	Non	Non	Normal diploïde ; sans transfert génique
ESC pathogénique	Non	Non	Normal diploïde ; sans transfert génique

Fig. 38 : Avantages et inconvénients des méthodes disponibles pour générer des cellules pluripotentes

La génération de cellules souches IP se fait par une transcription de facteurs par l'intermédiaire de vecteurs viraux. Quatre facteurs, Oct-3/4, Sox-2, Klf-4 et c-Myc, sont introduits dans des fibroblastes gingivaux d'une souris adulte. Chaque facteur possède un rôle bien défini, l'idée étant que Klf-4, Oct-3/4 et Sox-2 tentent de limiter les effets entraînés par c-Myc (**Fig. 39**) (59).

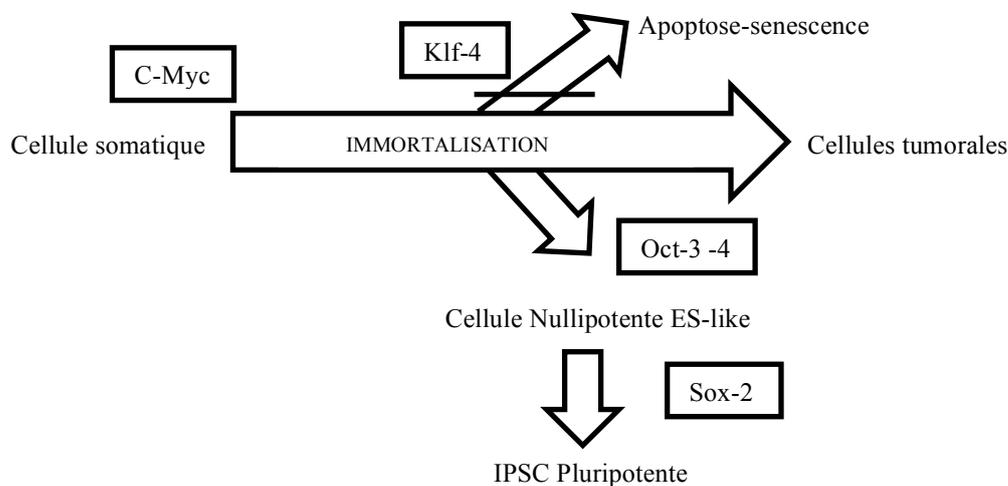


Fig. 39 : Facteurs de transcription nécessaires à la génération IPSC

Les cellules souches pluripotentes sont immortelles et ont une structure chromatine ouverte et active. Il est probable que c-Myc induise une apoptose ou une sénescence mais cela semble être inhibé par Klf-4. Oct3/4 change le devenir de la cellule, en cellule souche embryonnaire-like mais nullipotente. Enfin grâce à Sox2, la cellule devient pluripotente (59).

Malheureusement, moins de 1% des cellules ayant été incorporées avec les 4 gènes sont devenues des IPSC. Cela pourrait s'expliquer par 2 hypothèses (76) :

- les IPSC ne seraient pas dérivées des fibroblastes mais sont en fait issues de cellules souches ou progénitrices qui coexistent parmi les fibroblastes.
- d'autres facteurs de transcription seraient nécessaires à la génération des IPSC et devraient être incorporés en plus des 4 déjà requis.

Toutefois, ces cellules ont la morphologie et les propriétés de croissance des ESC ainsi que leurs marqueurs géniques. De plus, elles maintiennent un bon caryotype avec la possibilité de se différencier en cellules des 3 couches germinales (77).

Néanmoins dans la perspective d'une application clinique, les vecteurs viraux doivent être éliminés une fois la cellule reprogrammée obtenue (78). Récemment, des IPSC ont été générées avec des fibroblastes gingivaux de souris sans transduction de c-Myc ; c'est à dire avec seulement les 3 facteurs sans c-Myc oncogène (79).

Les tissus gingivaux facilement obtenus, peuvent donc être reprogrammés en IPSC, source prometteuse de cellules pluripotentes pour de futures applications cliniques. Mais face aux problèmes de biosécurité, les IPSC sont loin des études cliniques humaines car les méthodes actuelles ne correspondent pas au standard des « bons procédés de fabrication » (20).

1.2. Les cellules souches multipotentes

La différenciation des cellules souches adultes est un prérequis de la régénération et de la réparation des tissus et des organes.

1.2.1. Dérivées de la moelle osseuse

1.2.1.1. BMSC de la crête iliaque :

Ce sont les plus utilisées et les plus documentées en dentisterie. Isolées de la moelle osseuse, la procédure de prélèvement est néanmoins invasive.

Plusieurs études ont constaté une influence du facteur âge sur leur potentiel ostéogénique et donc sur leur efficacité en formation osseuse (80,81).

De plus, la capacité d'expansion *in vitro* semble être limitée étant donné que les cellules ont tendance à subir une sénescence et à perdre leur potentiel de multi-différenciation avec les passages et le temps de culture.

1.2.1.2. BMSC maxillo-faciaux :

Le prélèvement osseux est obtenu lors d'interventions chirurgicales dentaires maxillaire ou mandibulaire, comme l'extraction de dents de sagesse, l'élimination de kystes, ou l'ostéotomie orthodontique. De plus, à l'inverse des cellules provenant de la crête iliaque, l'âge semble avoir moins d'influence sur leur potentiel ostéogénique (82).

Cela implique donc que les cellules souches ont des propriétés de régénération spécifique au site de prélèvement et à la niche présente dans la greffe.

1.2.1.3. Caractéristiques communes :

Parmi les plus étudiées des populations de cellules souches stromales mésenchymateuses, elles sont décrites comme formant des «colony forming unit fibroblasts» *in vitro*. Dans des conditions *in vitro* particulières, elles sont capables de différenciation ostéogénique, adipogénique, chondrogénique, myogénique et neurogénique (81).

Cette capacité à former des amas clonogéniques est caractéristique des cellules souches somatiques comme les cellules hématopoïétiques et définit leur capacité à s'auto-renouveler. Néanmoins, les BMSC sont limitées à un doublement de population de 30 à 50 suivant l'expansion *ex vivo* (23).

Morphologiquement, les cellules dérivées de la moelle osseuse sont une population hétérogène composée de progéniteurs ostéoblastiques, adipocytaires, fibroblastiques et jusqu'à 0,01% de cellules souches (83). Ces cellules multipliées *in vitro* contiennent donc une population mixte de cellules, qui présentent différents stades d'immaturation dans les voies de différenciation (84) ; de plus, seule une petite proportion de la colonie peut permettre une régénération complète *in vivo*. L'hétérogénéité dans la morphologie des colonies, dans la croissance et la fonction cellulaires, confirme une hiérarchie stromale avec une variabilité de potentiels de différenciation et de prolifération, ce qui rend d'autant plus difficile l'obtention d'une empreinte phénotypique exacte.

Les BMMSC relâchent des facteurs qui recrutent les cellules favorisant la cicatrisation (85). En effet, dans un milieu de culture *in vitro*, BMSC augmente, la migration pour les macrophages et pour les kératinocytes et les cellules endothéliales, à la fois la migration et la prolifération.

De plus, les cellules souches mésenchymateuses de la moelle osseuse peuvent réguler les réponses immunitaires via des cellules du système immunitaire inné ou adaptatif :

-en régulant les lymphocytes T, les lymphocytes B, les lymphocytes NK, les cellules dendritiques, les macrophages et l'activité immunitaire neutrophile

-en inhibant : - la prolifération, la maturation et la migration des lymphocytes B dues à la sécrétion de IL-6
- la production d'AC et d'immunoglobulines

Mais les mécanismes exacts n'ont toujours pas été clairement établis (8).

1.2.2. Dérivées des tissus dentaires/oraux

Les limites à l'utilisation des BMSC, soit la morbidité du site de prélèvement, la douleur post-opératoire ou encore le faible nombre de cellules dans les échantillons, ont suscité le besoin de trouver de nouvelles sources de cellules souches.

Les MSC ont été longtemps suspectées d'exister dans les tissus dentaires puisque les tissus parodontaux ou la pulpe dentaire, pouvaient se régénérer ou former un tissu réparateur par un procédé naturel dans des conditions environnementales adaptées (86).

Deux populations ont été identifiées dans les tissus oraux, les cellules souches épithéliales et les cellules souches mésenchymateuses.

Certains aspects des propriétés des cellules souches dentaires ont été comparés aux BMSC.

Ainsi les cellules souches mésenchymateuses d'origine dentaire seraient plus restreintes et donc plus engagées dans leur potentiel de différenciation (8). Ceci pourrait s'expliquer par le fait que les tissus dentaires soient spécialisés et ne subissent pas, à l'inverse de l'os par exemple, de remodelage continu.

Actuellement, les cellules souches dentaires ou leurs cellules progénitrices sont étudiées en ingénierie tissulaire sur de grands animaux pour évaluer leurs potentiels dans des études précliniques. Une meilleure compréhension biologique de ces cellules est essentielle pour tenter de comprendre leur efficacité thérapeutique (85).

1.2.2.1. La pulpe dentaire DPSC

Quand les cellules pulpaires sont ensemencées sur une surface dentinaire implantée chez une souris immuno-comprise, il se forme une couche de dentine réparatrice. On peut donc y supposer la présence de cellules souches (59).

En 2000, des cellules souches ont été identifiées dans la pulpe dentaire (DPSC) de dents de sagesse incluses (26). A l'issue de leur mise en culture *in vitro*, différentes densités cellulaires ont rapidement pu être observées, suggérant que chaque clone cellulaire pourrait avoir un taux de croissance différent comme pour les BMSC.

Elles sont principalement caractérisées par leur potentiel de différenciation odontoblastique.

Les cellules pulpaires chez l'homme peuvent, dans un milieu de culture adapté, se différencier en cellules de phénotype odontoblastique caractérisées par des corps polarisés et une accumulation de nodules minéralisés (87).

En plus de leur potentiel odontogénique, elles possèdent également, *in vitro*, un potentiel de différenciation ostéogénique, adipogénique, chondrogénique, neurogénique et myogénique en exhibant différentes morphologies avec les marqueurs géniques correspondants. En outre, plusieurs études (28,88) montrent qu'elles peuvent garder leurs propriétés après cryopréservation.

La voie biochimique impliquée dans la différenciation des DPSC en cellules odontoblastes-like fonctionnelles serait similaire à la voie de différenciation de BMSC en cellules ostéoblastes-like.

DPSC partagerait donc avec BMSC, un profil similaire d'expression protéique *in vitro* (84).

En effet, il a été trouvé plus de 400 gènes communs entre DPSC et BMSC, excepté quelques gènes comme pour le collagène XVII et l'IGF1 davantage exprimés chez DPSC.

La pulpe dentaire contient donc différents types de progéniteurs cellulaires qui se différencient selon leur taux de prolifération, leur capacité d'auto-renouvellement et leur potentiel de différenciation (26).

1.2.2.2. La pulpe de dents temporaires SHED

Ultérieurement, des cellules souches ont été isolées de la pulpe des dents temporaires exfoliées (SHED) (25). En présence des milieux de culture correspondants, elles possèdent *in vitro*, un potentiel de différenciation ostéogénique, adipogénique, odontogénique et neurologique (59).

Certains auteurs s'accordent à penser qu'elles ont également un potentiel ostéoinducteur *in vivo*, ce que ne posséderait pas DPSC. Même si les SHED ne se différencient pas directement en ostéoblastes, elles induisent une néoformation osseuse en formant une trame pour recruter les cellules ostéogènes de l'hôte. Ainsi le rôle des dents temporaires ne serait pas que de guider l'éruption mais aussi d'induire la formation osseuse lors de l'éruption (89).

Récemment, les SHED ont été qualifiées de DPSC immatures puisqu'elles expriment des marqueurs de ESC tels que Oct3 et Nanog. De plus, leur taux de prolifération est nettement supérieur à celui des DPSC lui-même supérieur aux BMSC (90).

1.2.2.3. La papille apicale SCAP :

La papille apicale est un précurseur de la pulpe radiculaire ; une fois que la papille se transforme en pulpe on se sait pas si SCAP devient DPSC ou si ces dernières sont dérivées de cellules souches différentes, il existe toutefois des différences entre SCAP et DPSC *in vitro*.

SCAP et DPSC sont aussi puissantes en terme de différenciation ostéogénique, adipogénique, neurogénique et chondrogénique (27). Cependant, les cellules dans la papille apicale prolifèrent plus que les DPSC et expriment des taux plus faibles de marqueurs odontogéniques (DSP, MEPE, FGFR3) par rapport à DPSC (91).

1.2.2.4. Le ligament alvéolo-dentaire PDLSC

La présence de multiples types de cellules dans le ligament alvéolo-dentaire (LAD) a longtemps suggéré la présence de différentes cellules souches ou de cellules progénitrices au sein du ligament (28). En effet, ces cellules auraient le potentiel de former des structures parodontales comme le ciment, l'os et le ligament, aideraient à maintenir l'homéostasie et faciliteraient la régénération dans le tissu parodontal. De plus, elles seraient engagées dans une lignée particulière, soit ostéoblastique, soit fibroblastique ou encore cémentaire. (92).

Des cellules souches ligamentaires ont depuis été isolées sur des dents extraites (28,93). Rapidement définies de population multipotente clonogénique, ce sont des cellules souches mésenchymateuses.

Lors de l'embryogénèse, le ligament est formé de cellules résidant dans le follicule mais il est impossible d'affirmer si elles sont similaires au mésenchyme duquel sont dérivées les BMSC. Néanmoins, il est intéressant de noter que le marqueur STRO-1 utilisé pour isoler les BMSC, est également exprimé chez PDLSC et DPSC. De plus, PDLSC partage d'autres marqueurs communs avec BMSC comme le marqueur périvasculaire CD146, l'actine alpha lisse ou encore l'antigène associé aux péricytes. Mais ces 2 types de cellules souches sont loin d'être identiques et se différencient par la présence entre autres de scléroxine chez PDLSC, qui est un facteur de transcription spécifique au tendon, absent chez BMSC (90).

La teinte immunohistochimique et l'analyse du western blot montre que les PDLSC cultivées in vitro, expriment des marqueurs cémentoblastes et ostéoblastes : ICAM1, ITGB1, TERT (28,94). En effet, elles exhibent des caractéristiques in vitro comparables aux BMSC à savoir chondrogénique, adipogénique, neurogénique voire ostéogénique caractérisée par une augmentation de Ca_2 et d'oxyde Nitrique dans le milieu de culture (95).

Le mécanisme exact du fonctionnement de leur pouvoir ostéogénique est encore mal connu. Cependant, des preuves génétiques récentes ont confirmé l'implication de la voie de signalment Wnt dans l'homéostasie osseuse (96).

Historiquement, le système de signalment intracellulaire des Wnt appartient à la famille des glycoprotéines et joue un rôle dans l'embryogénèse et l'homéostasie tissulaire à travers la régulation de la prolifération, la différenciation et l'apoptose cellulaires.

Cette voie de signalment peut être canonicale ou non canonicale/ Ca_2 Wnt. Même si ces 2 voies de signalment partagent des éléments structurels communs, elles divergent dans leur effet biologique.

La voie canonicale permet l'entrée de la β -caténine dans le noyau et débute la transcription ; alors que la voie de signalment non canonicale Wnt fonctionne par l'intermédiaire du Ca_2 et permet entre autres le remodelage squelettique et la migration cellulaire.

La β -caténine est un facteur de transcription, qui une fois phosphorylé, sera conjugué à l'ubiquitine et dégradé par une protéase.

A l'inverse l'absence de phosphorylation de ce facteur, permettra son entrée dans le noyau ainsi qu'une stimulation de l'expression génique ; cette voie de stimulation des protéines Wnt est la voie canonicale ou privilégiée (96).

Des chercheurs ont essayé de déterminer le rôle spécifique de la β -caténine dans la différenciation ostéogénique des PDLSC issues d'un milieu inflammatoire (96).

La β -caténine est exprimée de manière plus importante chez les PDLSC provenant du milieu inflammatoire que chez les PDLSC témoins. De plus, le microenvironnement inflammatoire semble inhiber le potentiel de différenciation ostéogénique mais augmenter la prolifération des MSC.

L'activation de β -caténine inhiberait donc la voie non canonicale entraînant une augmentation de la prolifération mais également une réduction de la différenciation ostéogénique.

A l'inverse une diminution de β -caténine par DKK-1 (dickkopf related protein-1) activerait la voie non canonicale Wnt et entraînerait la différenciation ostéogénique de PDLSC.

La β -caténine affecte donc les 2 voies de signalment et joue un rôle central dans la régulation ostéogénique et dans la différenciation des MSC en présence d'un environnement inflammatoire.

Au vu de l'importance de Wnt dans la différenciation ostéogénique, les agents capables de modifier ces voies seront d'une grande valeur quant à la régénération osseuse en milieu inflammatoire chronique (96).

1.2.2.5. Le follicule dentaire DFSC :

Le follicule est essentiel dans la coordination de l'éruption dentaire, il est fermement attaché à la surface de la couronne par l'épithélium réduit de l'organe de l'émail. L'épaisseur du follicule peut atteindre 5,6 mm et toujours maintenir une structure et une organisation normales (97).

Les cellules souches du follicule dentaire ont été identifiées dans le mésenchyme des dents de sagesse au stade cloche (98). Les cellules du follicule exprimaient les marqueurs Notch-1 et Nestin suggérant la présence de cellules indifférenciées.

Après la mise en culture des cellules folliculaires, seul un faible nombre de cellules possédaient les récepteurs Nestin et Notch-1 et étaient adhérents au plastique formant un amas de morphologie fibroblastique typique (29).

Ce tissu possède donc peu de cellules souches ou progénitrices mais elles ont in vitro une haute capacité de prolifération et de différenciation, ostéoblastique, adipogénique, chondrogénique et neurogénique.

1.2.3. Dérivées de la muqueuse orale

La muqueuse orale est composée :

- d'un épithélium stratifié squameux,
- d'un tissu conjonctif sous-jacent consistant de la lamina propria, zone très vascularisée,
- de la sous-muqueuse qui contient des glandes salivaires mineures, du tissu adipeux, des vaisseaux neuro-vasculaires et des tissus lymphatiques.

Etant donné les différents tissus formant la muqueuse orale, il était logique d'y retrouver différents types de cellules souches (99). Ainsi, l'épithélium gingival possède une population de cellules souches adultes, unipotentes, de type de kératinocytes. Celles-ci possèdent une clonogénicité et une capacité de régénération de muqueuse orale ex vivo (100,101).

Récemment des chercheurs (43) ont constaté qu'une population multipotente de cellules souches originaires de la crête neurale nommées Gingival Mucosa Stem Cell GMSC pouvait être générée à partir de la lamina propria.

Comme les BMSC, ces cellules souches pourraient se différencier en cellules de différentes lignées; elles seraient multipotentes, clonogéniques, et posséderaient une capacité d'auto-renouvellement et de différenciation.

De plus, dans la lamina propria, ces cellules étaient positives aux facteurs de transcription des cellules souches embryonnaires.

En outre, indépendamment de l'âge du donneur, 95% de ces cellules expriment ces marqueurs, et de 40-60% sont positifs pour Oct, Sox et Nanog (18).

GMSC possède in vitro un potentiel ostéogénique, chondrogénique et adipogénique en fonction du microenvironnement correspondant. En outre, GMSC a montré peu de changements liés à l'inflammation en terme de modification de son pouvoir ostéogénique in vitro et de formation osseuse in vivo (59,102).

1.2.4. Dérivées du périoste :

Histologiquement 2 couches distinctes forment le périoste :

- la couche externe : est formée majoritairement de fibroblastes mais également de fibres élastiques
- la couche interne : possède des MSC, des cellules progénitrices ostéogéniques et fibroblastiques ainsi que des micro-vaisseaux et des nerfs sympathiques.

La capacité ostéogénique du périoste avait été constatée en 1932 quand cette membrane formait, dans des conditions appropriées in vitro, une MEC minéralisée.

Les cellules souches du périoste possèdent un pouvoir de différenciation ostéogénique, adipocytaire et chondrocytaire. En effet, lors d'une étude sur les cellules du périoste, les auteurs ont conclu à la présence de cellules ostéogènes à grand potentiel de régénération (103).

1.2.5. Dérivées des glandes salivaires :

Des scientifiques ont isolé des cellules souches mésenchymateuses dans des glandes salivaires. Cependant, il est possible qu'elles aient été extraites d'un tissu mésenchymateux plutôt que d'un tissu glandulaire. Ces cellules expriment les marqueurs des cellules souches mésenchymateuses et possèdent, in vitro, un potentiel de différenciation adipogénique, ostéogénique et chondrogénique (59).

1.2.6. Dérivées du tissu adipeux ASC :

Le tissu adipeux est un réservoir abondant de cellules souches alors que l'incidence des cellules souches dans la moelle osseuse est estimée à 1 par 10^5 cellules³. Non seulement les ASC sont plus abondantes que les BMSC, mais en plus l'acquisition de tissu adipeux est moins coûteuse, moins invasive et disponible en grande quantité (32,104).

ASC se comporte comme BMSC avec des marqueurs de surface similaires mais n'exprime pas le marqueur STRO-1 (24).

Elles possèdent un taux de prolifération plus élevé et sont donc capables de se différencier in vitro en cellules ostéogéniques, en chondrocytes et en adipocytes (104).

2. Les procédés de culture in vitro

Les tissus dentaires sont souvent considérés comme des déchets médicaux, alors que, de par leur disponibilité, ils sont une source précieuse de cellules souches. Néanmoins, ces cellules sont hétérogènes avec des états variés de différenciation puisqu'ils comprennent de vraies cellules souches, des cellules progénitrices et vraisemblablement des fibroblastes. Il est donc nécessaire de les classer et de les purifier pour éviter des résultats cliniques inattendus (Fig. 45) (89).

2.1. L'isolement

Lors de l'isolement des cellules, 3 principales considérations sont à prendre en compte : la pureté, la récupération (nombre de cellules obtenues après séparation de l'échantillon tissulaire) et la viabilité des cellules. Ces 3 critères peuvent être utilisés comme unités de mesures et comptabilisés.

Les méthodes actuelles de séparation offrent un équilibre entre pureté et récupération.

Il existe néanmoins quelques prérequis : le coût et la connaissance détaillée de la biologie des cellules, de ses récepteurs et des enzymes adéquats (105).

Les méthodes d'isolement sont basées sur 3 critères : la densité, l'adhérence et les anticorps (AC) (Fig. 40).

METHODES	PRINCIPES	AVANTAGES	INCONVENIENTS
ADHERENCE	-Prélèvement échantillon + enzymes → filtrage → les populations obtenues sont placées en milieu de culture plastique → les cellules stromales qui adhèrent au plastique sont récupérées	-simple -pas coûteux	-durée du temps de laboratoire -applicable seulement s'il n'y a pas nécessité de : -purification cellulaire -isolement d'une sous-population
DENSITE	-basé sur l'utilisation de la centrifugation -capacité à trier un grand nombre de cellules basée sur leur densité	très utile avec l'utilisation de sang	problème de spécificité
ASSOCIATION DENSITE + AC	-les cellules non voulues sont étiquetées avec les AC → forme des complexes avec les érythrocytes → centrifugation -Après la centrifugation, des rosettes contiennent des cellules non ciblées, laissant les cellules cibles purifiées dans la phase mononucléaire		
AC	FACS : fluorescence activated cell sorting	utilise la conjugaison d'étiquettes fluorescentes aux AC	-gold standard → isolement cellulaire très purifiée -durée du temps de laboratoire -coûteux -ne fonctionne pas si la cellule ne possède pas de marqueurs spécifiques (MSC et HSC) - risque de lésion de la membrane donc de mort cellulaire si le marqueur est intracellulaire
	MACS : magnetic activated cell sorting	utilise la conjugaison d'oxyde de Fer contenant des microbilles	

Fig. 40 : Techniques d'isolement cellulaire

La technique initiale d'isolement était basée sur l'adhérence mais cela générerait beaucoup d'hétérogénéité dans les cellules souches mésenchymateuses. Il a donc été nécessaire de développer d'autres méthodes. Pour isoler les cellules, FACS et MACS utilisent les mêmes propriétés cellulaires à savoir la formation d'anticorps contre des antigènes de surface cellulaire.

La séparation FACS est réalisée par une excitation au laser. Les cellules sont d'abord étiquetées par un fluophore, puis sont canalisées de manière à obtenir un flux continu de cellules individuelles. Ces cellules sont ensuite excitées par l'intermédiaire d'un laser qui détermine la signature de chacune. Elles sont alors classées au moyen d'un déflecteur, en fonction d'une valeur seuil qui permettra de les collecter ou non.

Alors que pour MACS, des cellules sont placées dans un champ magnétique ; les cellules étiquetées sont retenues dans le champ jusqu'à ce qu'elles soient retirées de l'aimant, permettant ainsi une séparation des populations (105).

La technique FACS permet une analyse de chaque cellule ce qui n'est pas le cas pour MACS. Néanmoins FACS est, de ce fait, plus lent.

Récemment, une nouvelle technologie « lab on a chip » a vu le jour. Cela fonctionne à l'échelle micro-fluidique et utilise une multitude de caractéristiques cellulaires pour isoler les différentes populations cellulaires sans étiquetage. Ces techniques sont toujours en état d'expérimentation mais quelques exemples sont basés sur l'utilisation de filtres micrométriques qui séparent les cellules en fonction de leur taille et de la déformabilité de leur membrane.

Cette technologie comprend le FFF : field flow fractionning. Il peut être utilisé pour séparer les cellules en fonction de la largeur d'un canal micro-fluidique par une combinaison de flux parabolique dans le canal et un champ externe comme un champ électrique ou un phénomène de gravité (**Fig. 41**).

Avec FFF, les particules qui sont affectées par le champ externe sont forcées plus près du mur du canal qui bouge plus lentement que le centre du canal qui lui contient des particules plus faiblement affectées.

La séparation cellulaire se produit par l'effet de la force exercée sur les cellules et de la vitesse de l'éluion basée sur la localisation de cellules dans le canal micro-fluidique (105).

ACOUSTOPHORÈSE	-basée sur la déformation ou l'élasticité de la membrane -se produit quand un son de haute pression interagit avec les cellules. → Cette interaction entraîne une déformation de membrane à différents degrés basée sur la densité cellulaire des différentes parties du canal microfluidique rendant la séparation possible
DIELECTROPHORÈSE	-entraîne une séparation par différentes polarisations de particules dans un champ électrique non uniforme → Cet effet dipôle dépend de facteurs comme la taille et la contenance de protéines et entraîne une attraction ou une répulsion de la cellule par rapport à l'électrode.

Fig. 41 : Techniques du Field Flow Fractionning

Le choix de la méthode de séparation est basé sur la source cellulaire, sa pureté et les caractéristiques de la cellule cible. La technique de l'adhérence sera de préférence utilisée si le critère majeur recherché est l'adhérence cellulaire. Quant à la centrifugation, elle est utile en tant que phase préliminaire ou bien si un grand nombre de cellules est nécessaire à l'étude. Les techniques « Lab on chip » restent pour l'instant à l'état d'expérimentation mais semblent très prometteuses.

Il est important de rappeler que les matériaux influencent la biologie des cellules souches souvent de manière non intentionnelle. L'isolement et la croissance des cellules souches différeront en fonction du support sur lesquelles elles se trouvent. Par exemple sur tissu rigide ou sur support de culture plastique, les cellules souches ont tendance à promouvoir la prolifération des cellules riches en fibres stress actine myosine.

Une étude a démontré que des cellules souches mésenchymateuses mises en contact avec une surface rigide par l'intermédiaire de couches adhésives et en présence d'un mélange de facteurs d'induction, formaient :

- une adipogénèse sur un petit îlot qui minimise le contact avec la matrice
- une ostéogénèse sur une large île qui maximise l'ancrage contractile (106).

2.2. La différenciation

Les procédés de différenciation des cellules souches ont été successivement démontrés in vitro en exposant des cellules indifférenciées à une variété de microenvironnements et de conditions de culture tissulaire.

Pour observer une différenciation, on met les cellules en présence d'un milieu inducteur particulier.

La mise au point de ces systèmes de culture et les analyses génétiques chez l'animal et l'homme ont mis en évidence le potentiel de certains facteurs de transcription.

Globalement la différenciation pourrait se résumer en 3 étapes :

- détermination de la voie de différenciation
- prolifération
- arrêt de prolifération et acquisition de potentiel

Les cultures in vitro se composent de facteurs de transcription, de facteurs extrinsèques ainsi que d'inducteurs (Fig. 42).

Différenciation adipocytaire	Différenciation ostéoblastique	Différenciation chondrocytaire
<ul style="list-style-type: none"> • Modification de conditions de culture avec l'introduction d'inducteurs: corticoïdes • Facteurs de transcription: <ul style="list-style-type: none"> • PPAR-γ: peroxisome proliferator activated receptor dont le ligand est PG2 • LPL • C/EBP • Facteurs extrinsèques: <ul style="list-style-type: none"> • Régulateurs +: <ul style="list-style-type: none"> • IGF1 • Glucocorticoïde • Insuline • Inhibiteur: <ul style="list-style-type: none"> • Superfamille de TGF-β 	<ul style="list-style-type: none"> • Modification de conditions de culture avec l'introduction d'inducteurs: <ul style="list-style-type: none"> • Acide ascorbique • Dexaméthasone • Phosphate sous forme de B-glycérophosphate • Facteurs de transcription: <ul style="list-style-type: none"> • Core binding-factor • Ostérix • Facteurs extrinsèques: <ul style="list-style-type: none"> • Régulateurs +: <ul style="list-style-type: none"> • BMP • FGF2 • VEGF • PDGF • Inhibiteur <ul style="list-style-type: none"> • TNF-A 	<ul style="list-style-type: none"> • Modification des conditions de culture: MSC en micromasse sans sérum avec l'introduction d'inducteurs: TGFβ, BMP • Facteurs de transcription: gènes SRY-box (= Sox) • Facteurs extrinsèques <ul style="list-style-type: none"> • FGF, IGF, BMP : induiraient la prolifération des progéniteurs chondrocytaires • Peptide apparenté à la parathormone : agirait sur les cellules différenciées • TGFβ : aurait un rôle stimulateur dans l'embryogénèse et protecteur face à un processus d'inflammation • Wnt (famille de glycoprotéines): <ul style="list-style-type: none"> • Wnt4 bloquerait l'initiation de la différenciation mais accélérerait la différenciation terminale • Wnt 5a et 5b auraient le rôle inverse

Fig. 42 : Milieux de culture inducteurs de différenciations adipocytaire, ostéoblastique et chondrocytaire

La différenciation ostéogénique in vitro est donc induite par l'intermédiaire de différents facteurs :

-Le dexaméthasone est un glucocorticoïde. Associé à des suppléments ostéogéniques, c'est l'inducteur ostéogénique des MSC le plus utilisé (29). Néanmoins son exposition à long terme a des effets délétères sur l'os in vivo et résulte en une ostéoporose DEX-induite.

-La vitamine D3, combinée à des suppléments ostéogéniques, est utilisée pour la différenciation ostéogénique. Le rôle de cette molécule in vivo est connu puisque son absence entraîne une hypocalcification de la dentine et de l'émail et donc une structure dentaire non minéralisée. Alors qu'à l'inverse, sa surexpression cause une hypercémentose, des minéralisations pulpaire et une hypercalcification des tissus dentaires (84).

La différenciation adipogénique s'accompagne à la fois d'un changement morphologique et d'une activation de la transcription de nombreux gènes.

Le gène PPAR (peroxisome proliferator activated receptor) qui s'exprime tôt dans la différenciation adipocytaire et le gène LPL qui encode pour la lipoprotéine lipase, un homodimère aux 2 fonctions, l'une d'hydrolase triglycéride et l'autre de facteur liant essentiel à l'assimilation des lipoprotéines par l'intermédiaire de récepteurs.

En revanche, la différenciation s'effectue dans un sérum fœtal bovin (FBS) ce qui entraîne un risque de transmission. Le FBS est un cocktail de différents facteurs nécessaires à l'attache cellulaire, la croissance et le métabolisme. Ce sera toujours une mixture mal définie de composants avec une variabilité qui dépend du lot.

Les principaux inconvénients du FBS sont, le risque de transmission et la difficulté à maintenir les MSC en culture car il contient des facteurs de croissance qui poussent les cellules à se différencier (107).

Le développement d'anticorps au FBS s'est déjà produit et a entraîné la mort cellulaire après transplantation in vivo. Ainsi, il est essentiel de développer un système de culture xéno-libre. L'utilisation de sérum allogène humain (HS) ou d'une culture sérum free (SF) résoudrait ce problème (Fig. 43) (107).



Fig. 43 : Avantages d'un milieu sérum free

Une fois les cellules placées dans un milieu inducteur, il existe diverses méthodes et techniques pour évaluer les différenciations éventuelles (Fig. 44).

- **Flow cytometrie: permet d'analyser l'expression d'antigène de la surface cellulaire**
 - **Water Soluble Tetrazolium salt-1 est un test colorimétrique qui évalue la viabilité et la prolifération cellulaires :**
 - basé sur le clivage de tétrazolium-sel par le succinate-réductase tétrazolium qui existe dans la chaîne respiratoire mitochondriale
 - l'activité enzymatique entraîne une production de teinte formazan, la quantité est directement proportionnelle au nombre de cellules métaboliquement actives
 - **Coloration Alcaline-Phosphatase évalue la capacité de différenciation ostéogénique (phase précoce d'induction exprimant ALP)**
- Le pouvoir ostéogénique est également évalué en fonction du nombre de cellules et des dépôts de calcium**
- **Coloration au bleu Alcian et Coloration au bleu Toliudine : basiques, ils identifient entre autres les acides polysaccharides → différenciation chondrogénique**
 - **Coloration Oil-O-red : révèle une différenciation adipogénique**
 - **Coloration au bleu Trypan: évalue la viabilité des cellules en colorant les cellules mortes**
 - **Bromodeoxyuridine (BrdU)**
 - Nucléotide analogue à la thymidine → Utilisé pour détecter les cellules qui prolifèrent dans les tissus vivants et par conséquent la viabilité cellulaire

Fig. 44 : Méthodes d'évaluation de différenciation

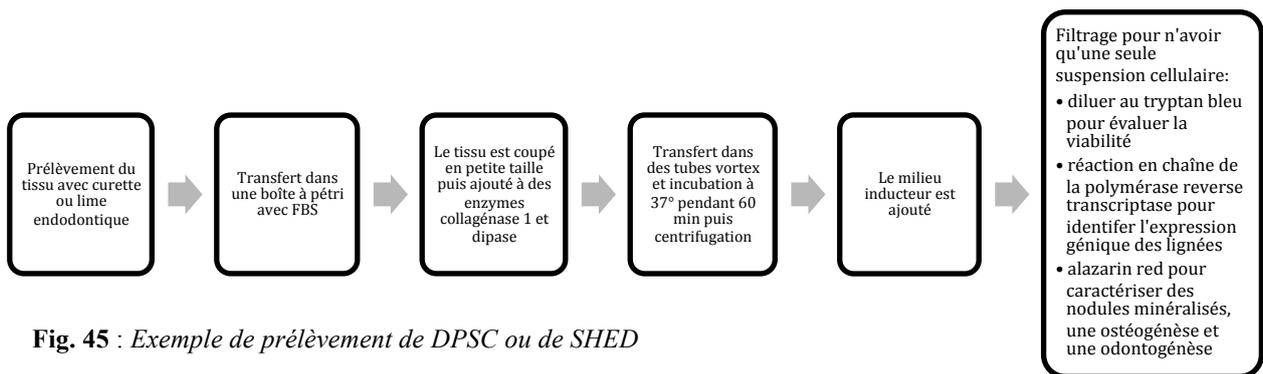


Fig. 45 : Exemple de prélèvement de DPSC ou de SHED

Il est important de préciser que cette première étape (Fig. 45), n'est pas nécessaire si la racine n'a pas terminé de s'édifier ou si il y a une résorption sur la dent temporaire. De plus, les chercheurs considèrent avoir obtenu une colonie seulement si elle est composée de plus 50 cellules.

II. INFLUENCE DES FACTEURS DE CROISSANCE EN REGENERATION PARODONTALE

1. Les cellules souches et les facteurs de croissance

Les cellules souches sont apparues comme l'élément clé des thérapies de médecines régénératrices grâce à leur capacité inhérente à se différencier en une variété de phénotypes cellulaires. Elles seraient donc une source de nombreuses thérapies cellulaires potentielles visant à traiter une gamme de maladies dégénératives et de lésions traumatiques. Un récent changement de paradigme a émergé, suggérant que les effets bénéfiques des cellules souches ne seraient pas restreints à la restauration cellulaire seule, mais également à leurs actions paracrines passagères (85).

Les cellules souches sont capables de sécréter de puissantes combinaisons de facteurs trophiques qui modulent la composition moléculaire de l'environnement entraînant des réponses des cellules résidentes (22). En effet, les cellules souches contribuent activement à leur environnement en sécrétant un large spectre de chémokines, de facteurs de croissance et de molécules de la MEC qui agissent sur elles-mêmes (autocrine) ou sur les cellules environnantes (paracrine).

Le fait de sécréter des molécules de la matrice extracellulaire, permet d'assurer aux cellules un support structurel et un ancrage. La MEC est également connue pour jouer un rôle de colle entre les cellules ainsi que pour réguler le comportement et les fonctions d'une variété de cellules. Elle permet aussi de séquestrer les facteurs de croissance et se comporte comme un réservoir local (92).

Les interactions entre les chémokines et leurs récepteurs servent de médiateurs à la migration des MSC jusqu'au site lésé. Néanmoins peu d'éléments sont disponibles sur le recrutement des MSC par les chémokines. Elles appartiennent à une famille de cytokines chimiotactiques, sécrétées en partie par des cellules souches, qui comprend plus de 50 protéines associées, divisées en 4 sous-familles.

Le SDF1 est un membre de CXC-chémokine et grâce à l'activation d'un récepteur couplé à une G-protéine, il joue un rôle important dans la survie, la croissance et la migration de différents type de cellules.

Il agit comme un chimiotacteur pour les cellules progénitrices, les cellules souches hématopoïétiques et les MSC, il favorise également leur prolifération. SDF1 est donc considéré comme ayant le potentiel de promouvoir la régénération parodontale (108).

Ainsi, la présence de cellules souches d'origine exogène au sein d'un biomatériau pourrait, entre autres, stimuler un recrutement endogène de cellules souches par l'intermédiaire de leurs sécrétions paracrines. Les facteurs de croissance sécrétés par ces dernières et ayant donc un rôle dans la régénération parodontale seront étudiés par la suite.

2. Description des différents facteurs de croissance

La majorité des thérapies de régénération parodontale actuelles comme la greffe osseuse, la GTR, l'EMD et les thérapies liées aux facteurs de croissance dépendent des cellules souches endogènes qui existent dans le tissu ligamentaire parodontal (92).

Néanmoins, avec l'âge, la formation de nodules calcifiés par les cellules ligamentaires augmente, la prolifération est influencée négativement et le nombre total de cellules souches au sein du ligament a tendance à diminuer. Il est donc important d'utiliser des cellules souches isolées, prélevées dans d'autres tissus qui peuvent être transplantées dans le défaut parodontal. De plus, à l'avenir pour pallier les limites des thérapies de cellules souches (**Fig. 46**), il faudra savoir les allier aux thérapies de facteurs de croissance pour espérer une régénération parodontale efficace et optimisée (8).

Inconvénients de MSC
<ul style="list-style-type: none">• Nombre insuffisant de cellules prélevées au site• Risque de morbidité du site de prélèvement• Mort ou migration des cellules• Viabilité faible au long terme• Instabilité chromosomale• Les qualités des MSC comme la prolifération, la différenciation, la domiciliation et la capacité migratoire peuvent diminuer lors de l'expansion cellulaire in vitro.

Fig.46 : Limites à l'utilisation clinique des MSC seules

Les facteurs de croissance sont essentiels au développement, à la maturation, à la maintenance et à la réparation des tissus craniofaciaux, lorsqu'ils établissent un environnement extracellulaire qui est conducteur pour les cellules et la croissance tissulaire (109). Les facteurs de croissance qui ont un rôle important dans la réparation et régénération tissulaire seront décrits ci-dessous.

2.1. Bone morphogenic protein (BMP)

Les BMPs sont un groupe de glycoprotéines régulatrices qui sont membres de la superfamille TGF β étudiée par la suite.

Leur nom leur a été donné en 1965 par URIST, du fait de la présence de composants actifs dans l'os déminéralisé et dans des échantillons d'os, capables d'induire une formation néosseuse dans des sites ectopiques.

Au moins 7 BMPs ont été isolées de sources bovines et humaines, même si le génome humain en dénombre 20. Ce sont des molécules dimériques dont l'activité biologique dépend d'un lien disulfite intermoléculaire (110).

BMP

- Mitogéniques de :
 - MSC, précurseurs ostéoblastiques, précurseurs chondrocytaires
- Induisent l'expression du phénotype :
 - ostéoblastique en augmentant l'activité de la phosphatase alcaline (ALP) dans les cellules osseuses
 - chondrocytaire dans le cadre d'une ossification endochondrale
- Régulent:
 - l'attache cellulaire ancrage-dépendant (fibronectine)
 - la différenciation ostéoblastique
 - l'activité ALP, la synthèse ostéocalcine/ minéralisation
 - l'apoptose cellulaire
- Serait responsable de l'initiation de la cémentogénèse et de la régulation de l'assemblage fonctionnel du LAD
- Rôle dans la morphogénèse dentaire :
 - BMP-2, -7, -4 sont exprimés dans l'épithélium dentaire
 - BMP-3, -7 sont exprimés dans le développement ligamentaire
 - BMP-2 est exprimé lors de la morphogénèse de la racine
 - BMP-3 aurait un rôle dans la lignée cémentoblastique

Fig. 47 : *Caractéristiques de BMP*

A noter que BMP1 n'est pas un membre de la famille BMP mais une enzyme procollagène-C-protéinase.

Dans le domaine parodontal, les études se focalisent principalement sur BMP-2, -3 et -7. Ils sont produits par différents types cellulaires dont les ostéoblastes ; les allogreffes semblent également en contenir un certain nombre. Son mécanisme d'action sera étudié par la suite en comparaison à TGF β (**Fig. 47**).

BMP2 est un homodimère lié par un disulfide et joue un rôle clé dans la migration des cellules souches et la différenciation ostéoblastique. Il stimule la régénération cémentaire mais n'engendre pas de LAD fonctionnel correctement orienté (108,111).

De fréquents effets secondaires tels que la résorption radiculaire ou l'ankylose sont le résultat d'une ostéogénèse trop rapide (110).

BMP7 est un modulateur puissant de la différenciation ostéogénique, favorisant donc l'ostéogénèse. Il stimule l'activité phosphatase alcaline de manière « dose/temps dépendants » (112).

BMP12 posséderait un pouvoir de réparation du LAD in vitro et in vivo (113).

Une étude préliminaire démontre une faible formation d'os et de LAD mais avec un ligament plus orienté et plus fonctionnel qu'avec les autres molécules de cette famille. Cependant ces résultats provenant d'une étude à faible valeur, sont à considérer comme tels.

2.2. Platelet derived growth factor PDGF

PDGF est un des premiers facteurs de croissance à avoir été étudié pour ces effets sur la cicatrisation tissulaire, il présente de grands pouvoirs de mitose et de chimiotactisme sur les cellules mésenchymateuses en culture cellulaire. Il est connu pour stimuler la réplication et favoriser la formation de tissus mous (**Fig. 48**) (110).

C'est une molécule dimérique qui comprend 2 chaînes de peptides, A et B. Jusqu'à maintenant seules 3 isoformes, AA, BB et AB ont été étudiées en régénération parodontale.

PDGF-BB

- Homodimère au grand pouvoir
 - mitogène
 - de chimiotactisme envers les cellules ligamentaires
 - de biosynthèse de la matrice extra-cellulaire
- Stimule:
 - la formation de tissu conjonctif: il agit à un stade précoce de la réparation, en remplissant et en stabilisant la plaie.
 - la synthèse des fibroblastes gingivaux: un prérequis pour la formation de larges agrégats de protéoglycanes qui fournissent la trame nécessaire pour la MEC.
- Promoteur de l'angiogénèse

Fig. 48 : *Caractéristiques de PDGF-BB*

Il est donc un puissant médiateur de la réparation tissulaire parodontale et de la régénération (114). Déjà disponible dans le commerce, PDGF-BB est utilisé pour le traitement de l'ulcère.

2.3. Fibroblast growth factor FGF

FGF a été découvert en 1974 comme protéine qui induit une prolifération fibroblastique dans la glande pituitaire d'une vache. Quelques années, plus tard 2 protéines avec des points isoélectriques acides et basiques différents ont été identifiées : FGFa et FGFb (92).

En tout, 7 sous-familles à la structure similaire ont été identifiées, possédant chacune 2 ou 4 sous-familles.

Les récepteurs FGF sont des protéines de la membrane cellulaire à activité tyrosine-kinase. Quand FGF2 se lie à un récepteur, la dimérisation et l'autophosphorylation du récepteur activent les tyrosine-kinases. Suite à cette activation, des résidus tyrosines sur le récepteur sont phosphorylés et la transmission au site du signal est déclenchée par la liaison de protéines effectrices représentées par les tyrosines phosphorylées (92).

Des études sur une souris FGF2 knockout, ont démontré que celle-ci présentait des troubles cardiovasculaires, des anomalies squelettiques et nerveuses alors que la souris FGF1 knockout ne semblait présenter aucun trouble notable (115–117).

FGF2

- Puissant mitogène des MSC
- Dans les phases précoces de la cicatrisation:
 - il favorise la prolifération, la migration, la différenciation du ligament
 - il diminue la différenciation cémentoblastique et ostéoblastique limitant la formation de tissu dur
- Dans les phases tardives de la cicatrisation :
 - il contribue à la formation de la matrice extracellulaire et l'angiogénèse, facilitant la formation de ligament parodontal
- Rôle dans la morphogénèse embryonnaire

Fig. 49 : *Caractéristiques de FGF2*

Ainsi FGF2 exhibe un fort pouvoir angiogénique et mitogénique sur les MSC indifférenciées dans le ligament (**Fig. 49**) (118).

La mise en culture de cellules ligamentaires parodontales avec FGF2 (92) a permis d'observer:

- une diminution de manière dose-dépendante de l'activité ALPase
- une diminution de la formation de nodules minéralisés.

Cela prouve qu'en inhibant la cytodifférenciation des cellules ligamentaires en cellules osseuses, FGF2 facilite la prolifération des cellules ligamentaires tout en leur permettant de garder leur multipotence. A noter que, ces effets d'inhibition sont réversibles.

Lors d'une étude sur des souris FGF2 knockout, les auteurs avaient observé une diminution du turnover osseux et émis l'hypothèse que les BMSC se seraient différenciées dans une lignée adipocytaire. Les FGF2 possèderaient donc un rôle endogène important dans la différenciation ostéoblastique. Et son altération pourrait également contribuer à une formation osseuse endommagée avec une augmentation de graisse caractéristique du vieillissement osseux (116).

2.4. Transforming growth factor β TGF β

TGF β

- Puissant promoteur de MEC
- Pouvoir mitogène modeste
- Stimule :
 - le collagène type 1
 - la biosynthèse de fibronectine et d'ostéonectine
 - la dépose de matrice osseuse
- Pouvoir de chimiotactisme
- Diminue la destruction de la matrice du tissu conjonctif en régulant à la baisse la synthèse d'activateur de métalloprotéinase et de plasminogène
- Inhibe la formation d'ostéoclastes mais favorise la résorption osseuse par un mécanisme induit par la prostaglandine

Fig. 50 : *Caractéristiques de TGF β*

TGF β 1 est la forme la plus abondante de la famille TGF β , présente majoritairement dans les plaquettes et le tissu osseux. Malheureusement, il ne semble pas avoir de rôle bénéfique en régénération parodontale (112), même si d'autres recherches doivent être faites pour pouvoir réellement juger de ses effets dans ce domaine. De plus, TGF β peut contrôler positivement ou négativement l'expression génique, rendant ainsi son utilisation thérapeutique controversée.

La voie de signalisation de TGF β s'effectue par l'intermédiaire des Smads. Les ligands BMP et TGF β sont apparentés respectivement, aux récepteurs BMP type I et II et aux récepteurs TGF β type I et II, qui fonctionnent comme des protéines kinases. Le récepteur BMP type I de protéine kinase phosphorylent les substances de signallement intracellulaire smads-1, -5 et -8. Les TGF β 1 récepteur kinase phosphorylent smads -2 et -3. Les smads phosphorylés s'associent avec smads -4 pour former des complexes de signallement dans le cytosol qui entrent dans le noyau et initient la transcription de cibles en aval.

Même si les ligands BMP et TGF β ont des récepteurs distincts, ils agiraient en collaboration lors de la morphogénèse dentaire et lors de la formation osseuse (118).

2.5. Epidermal growth factor EGF

EGF

- Semble avoir très peu d'effets sur:
 - la prolifération des cellules ligamentaires
 - leur mitogénèse
 - le chimiotactisme
 - la synthèse de la matrice ligamentaire

Fig. 51 : *Caractéristiques de EGF*

Néanmoins, EGF et ses récepteurs ont été identifiés sur des fibroblastes ligamentaires chez le rat (119). Il a été suggéré que R-EGF jouerait un rôle de stabilisateur du phénotype fibroblastique. Ce qui a été confirmé par d'autres études in vitro, la stimulation de R-EGF participerait à la maintenance des cellules dans un état indifférencié alors que sa diminution serait liée à la différenciation des cellules en ostéoblastes ou en cémentoblastes (**Fig. 51**) (120).

2.6. Insulin like growth factor IGF

IGFI

- Synthétisé par les ostéoblastes, il jouerait un rôle autocrine dans la formation osseuse
- Il stimule :
 - la mitogénèse
 - la biosynthèse des matrices de cartilage, d'os, de tendon et de cellules musculaires
 - la prolifération des cellules ostéoclastiques multinucléées

IGFII

- Le plus abondant facteur de croissance dans la matrice osseuse
- Produit par les ostéoblastes, il stimule la formation osseuse en induisant :
 - la prolifération et la différenciation des cellules osseuses
 - la biosynthèse de collagène type 1

Fig. 52 : *Caractéristiques de IGF* (110)

2.7. Facteurs liés au ciment :

Le ciment aurait le potentiel de promouvoir la régénération parodontale à travers des facteurs de croissance. Leurs effets seraient modulés par des changements de voies de signalisation en aval et dans l'expression génique (**Fig. 53**) (16,110).

Cementum derived growth factor

- Semble être exclusivement retrouvé dans le ciment
- Mitogène envers les fibroblastes ligamentaires et gingivaux
- Il aurait la capacité de:
 - promouvoir la migration et la croissance de cellules progénitrices présentes dans les structures adjacentes à la matrice dentinaire
 - participer à leur différenciation en cémentoblastes.

Cementoblastoma derived protein

- Hautement exprimée chez les cémentoblastes
- Elle pourrait réguler:
 - leur différenciation
 - la minéralisation de la matrice cémentaire
- Elle aurait un rôle dans la régénération de l'os alvéolaire et du ciment à partir de cellules non ostéogéniques

Fig. 53 : *Caractéristiques des facteurs liés au ciment*

2.8. Growth differentiation factor-5 GDF-5

GDF-5

- Protéine morphogénique dérivée du cartilage
- Appartient à la superfamille de TGF β
- Localisée dans le follicule, dans la racine en cours d'édification et dans les tissus parodontaux en formation
- Structurellement similaire à BMP
- Ce facteur de croissance induit donc la formation :
 - d'os
 - de cartilage
 - de tissus ligamentaires

Fig. 54 : *Caractéristiques de GDF-5*

Lors de la formation radiculaire, mRNA-GDF-5 a été associé à la formation des fibres du ligament parodontal ainsi qu'à l'insertion de ses fibres dans l'os alvéolaire et le ciment ; cela souligne son rôle dans la mise en place du ligament alvéolo-dentaire lors du développement de la dent (**Fig. 54**) (118).

2.9. Platelet rich plasma PRP

PRP est utilisé depuis 1970 sur sujet humain pour ses propriétés de cicatrisation attribuées à ses hauts niveaux de facteurs de croissance et de protéines sécrétrices. Le procédé de prélèvement est simple : le sang prélevé chez le patient est passé à la centrifugeuse pour séparer les cellules sanguines des plaquettes. Ces dernières sont un type de cellules sanguines, qui relâchent des facteurs de croissance et qui participent à la cicatrisation (**Fig. 55**). Le praticien n'a plus qu'à injecter la préparation dans la lésion (92).

PRP

- Source de molécules signalantes.
- Contient :
 - une variété de facteurs de croissance: PDGF, TGF, ILG, FGF, EGF, VEGF
 - des fibrinogènes qui sont scindés en fibrine pour accélérer la cicatrisation de la plaie
- Augmente le recrutement, la prolifération et la différenciation des cellules impliquées dans la régénération tissulaire

Fig. 55 : *Caractéristiques de PRP*

2.10. Enamel matrix derivative EMD

EMD

- Extrait de la matrice d'émail porcine
- Elle est composée :
 - d'amélogénine, protéine de la matrice de la GEH, qui joue un rôle dans la cémentogénèse
 - d'autres protéines de la matrice, de facteurs de croissance tels que BMP-2, -4, TGF- β ainsi que de molécules toujours inconnues
- Régule :
 - la prolifération, la migration, l'adhésion, l'expression génique et la production de cytokines, de pré-ostéoblastes, de fibroblastes parodontaux et de fibroblastes gingivaux
- Des études in vitro récentes ont tenté de recenser les activités biologiques de EMD essentielles à la régénération parodontale à savoir:
 - la stimulation du chimiotactisme, de la prolifération et de la différenciation des cémentoblastes, des ostéoblastes et des cellules ligamentaires
 - l'induction de l'angiogénèse

Fig. 56 : *Caractéristiques de EMD*

De plus, EMD semblerait activer les DFSC vers un phénotype cémentaire in vitro car des marqueurs cémentaires comme la protéine d'attache cémentaire ou P23 ont été identifiés (**Fig. 56**) (30).

Néanmoins, les effets de EMD sur les cellules orales malignes sont encore mal compris. EMD semble avoir de larges effets régulateurs sur les cellules malignes et sur d'autres facteurs liés au carcinome. Une étude suggère ne pas traiter les patients avec des lésions muqueuses précancéreuses ou malignes avec EMD (14,92).

3. Les différentes méthodes d'application

3.1. Les thérapies géniques

La thérapie génique se définit comme une insertion de gènes dans une cellule individuelle pour déclencher un effet biologique particulier (6).

En régénération parodontale, la thérapie génique a pour but d'optimiser la libération d'agents dans le défaut pour que les limitations associées à une application topique soient évitées.

Même si les thérapies géniques ont été conçues, à l'origine, pour corriger de façon permanente un seul gène face à des désordres monogéniques, ils incluent maintenant des méthodes :

- de modification ou d'élimination des cellules malignes,
- de réduction ou d'inhibition de l'expression de gènes spécifiques associés à des pathologies spécifiques
- de modulation des défenses de l'hôte
- d'ingénierie d'organes malades ou de tissus pour modifier directement in vivo une population cellulaire spécifique ou pour transplanter in vivo des cellules issues d'un donneur ou des cellules autologues préalablement génétiquement modifiées ex vivo (121).

Cette approche souligne donc le pouvoir de modifier génétiquement les cellules pour exprimer les facteurs de croissance nécessaires à la régénération parodontale (112).

Ainsi des cellules souches et progénitrices ont été génétiquement modifiées pour augmenter leur efficacité en ingénierie tissulaire face à un environnement hostile et pour sécréter un nombre important de facteurs trophiques (122).

En général, la libération génique peut être réalisée à l'aide de vecteurs viraux ou non-viraux.

3.1.1. Les méthodes non virales

Les méthodes non virales consistent à agir selon des méthodes chimiques ou encore à appliquer une force physique afin d'augmenter la perméabilité membranaire. Celles-ci ne sont pas spécifiques à la cellule et ont souvent été employées *ex vivo*. L'expression du vecteur contient le gène d'intérêt qui peut être délivré via une variété de techniques (Fig. 57).

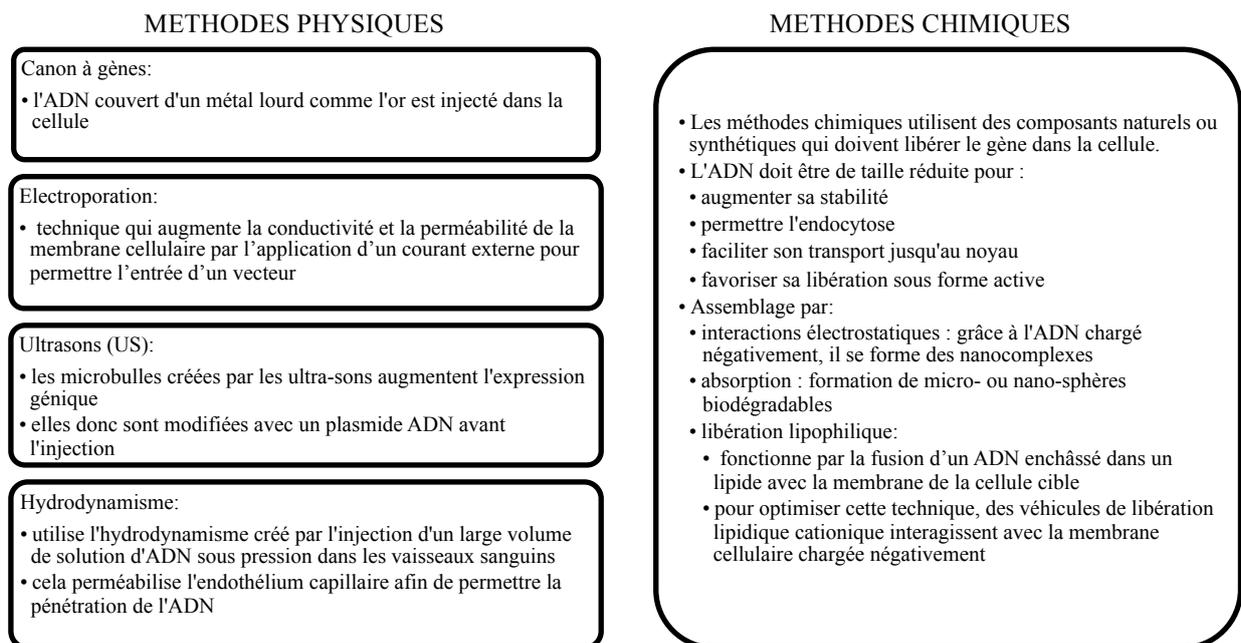


Fig. 57 : Méthodes de transfert génique

Ces méthodes non virales sont faciles d'utilisation, efficaces pour cibler les cellules et n'entraînent que de faibles réponses immunitaires. Cependant, elles sont non spécifiques à la cellule et varient en efficacité selon la cellule cible. De plus, elles sont limitées par la faible transduction génique et par un manque conséquent d'expression.

3.1.2. Les méthodes virales

Un vecteur est un transporteur qui en contournant les barrières naturelles, permet l'intégration d'un ADN dans le noyau cellulaire, il peut alors utiliser la machinerie cellulaire pour exprimer le gène exogène.

Les vecteurs viraux se composent de virus qui sont transformés en véhicules de libération géniques en remplaçant une partie de leur génome avec un gène thérapeutique (123).

Les vecteurs les plus utilisés sont les rétrovirus, les lentivirus et les adénovirus (Fig. 58, Fig. 59, Fig. 60, Fig. 61).

Les vecteurs viraux sont rendus non pathogènes et peuvent être employés *ex vivo*. Ils peuvent servir également à infecter des cellules cibles spécifiques *in situ* ou dans l'organisme hôte. Malheureusement, l'affinité grandissante des virus pour des hôtes spécifiques pose problème puisque les systèmes immunitaires ont coévolué en mettant en place des mécanismes efficaces pour combattre l'infection virale (123).

Toutefois, il y a eu des progrès considérables concernant la réduction de l'immunogénéité de nombreux virus.

Les vecteurs doivent :

- permettre la libération génique dans la cellule et le noyau
- fournir une protection à la dégradation génique c'est à dire une acidification de l'endosome
- assurer la transcription génique dans les cellules

Rétrovirus

- Description:
 - ils présentent une enveloppe et contiennent 2 copies de génome RNA.
 - le RNA viral possède 3 gènes essentiels :
 - Gag: encode des protéines capsidiques, la capsid, la matrice et la nucléocapside
 - Pol: encode des enzymes viraux : protéase, reverse transcriptase, intégrase
 - Env: encode l'enveloppe glycoprotéique
- Création du retrovirus:
 - ces 3 gènes sont retirés pour créer de l'espace pour l'insertion du gène thérapeutique dans le génome rétroviral
 - néanmoins 1 lignée cellulaire d'encapsidation est indispensable pour créer des particules de vecteurs. Celle-ci fournit les protéines virales nécessaires à la production de la capsid et à la maturation du virion. En effet, elle donc est créée pour exprimer les gènes gag, pol et env.
- Méthode d'infection:
 - pénètre par une interaction entre le récepteur de surface cellulaire et l'enveloppe protéinique virale
 - lorsque le virus s'internalise, son brin de RNA se transforme en double brin d'ADN
 - ce double brin d'ADN est libéré dans le nucléus et intègre le génome de l'hôte.
 - l'intégration de l'ADN viral dans le génome de l'hôte est médié par des "long terminal repeat" (LTR) qui accompagnent les gènes viraux gag, pol et env.
- Caractéristiques:
 - infection des cellules en division uniquement car les membranes cellulaires se scindent et sont donc exclues d'application dans les tissus où les divisions sont rares comme dans le cerveau par exemple.
- Points négatifs
 - la gamme d'hôtes est très large ce qui peut être utile dans les approches ex vivo mais rend la selection des cellules impossible

Fig. 58 : Description d'un retrovirus

Lentivirus

- Membre de la famille des rétrovirus
- Ils diffèrent des rétrovirus par :
 - leurs capacités :
 - à infecter la cellule qu'elle soit en division ou non puisqu'ils peuvent traverser une membrane nucléaire intacte
 - à libérer une quantité importante d'informations génétiques
 - le fait de ne généralement pas entraîner de réponses immunitaires
 - l'expression du gène d'intérêt qui reste stable à long terme

Fig. 59 : Description d'un lentivirus

L'adénovirus

- Description:
 - virus non enveloppé qui contient un double brin d'ADN linéaire
 - responsable des infections respiratoires ou intestinales
- Création du virus vecteur:
 - le gène E1 nécessaire à la réplication est éliminé du virus, permettant ainsi l'insertion du gène d'intérêt à l'aide d'un élément promoteur
- Méthode d'infection :
 - l'entrée du virus implique les récepteurs CAR (Coxsackie and adenovirus receptor) des glycosaminoglycane transmembranaires qui permettent un changement de conformation et exposent ainsi des motifs RGD qui interagissent avec les intégrines cellulaires: l'endocytose est initiée
 - une fois absorbé, l'adénovirus subit une décapsidation, l'ADN viral pénètre dans le noyau et y demeure tel un épisode
 - le gène d'intérêt sera transcrit comme n'importe quel gène
- Caractéristiques
 - grande efficacité de transduction
 - il n'est pas répliqué lors de la division cellulaire et donc les cellules descendantes ne posséderont pas ce gène
 - il peut infecter des cellules sans pour autant qu'elles soient en division
 - à l'inverse des rétrovirus, les adénovirus contiennent un génome ADN et ne s'intègrent pas dans le génome de l'hôte.
- Points négatifs
 - le temps d'expression est court certainement lié à la réponse immunitaire causée par l'adénovirus
 - très immunogène avec le risque de conversion d'un vecteur non répliatif en virion type sauvage et carcinogène

Fig. 60 : *Caractéristiques d'un adénovirus*

Virus adénoassocié AAV

- C'est un petit virus avec 1 brin d'ADN non pathogène
- Création du vecteur viral:
 - les gènes viraux cap et rep sont éliminés pour permettre l'insertion du gène d'intérêt
 - la réplication de AAV nécessite la présence d'un virus "helper" (adénovirus) contenant les gènes rep et cap nécessaires à l'encapsidation, à la réplication et à l'intégration cellulaire
 - en effet, grâce à l'expression de ces gènes l'ADN viral peut s'intégrer au chromosome 19
- Méthode d'infection:
 - après attachement à la membrane cellulaire et endocytose, le brin d'ADN est transloqué au noyau et s'intègre au génome de l'hôte
- Caractéristiques:
 - peut pénétrer dans des cellules en division
 - a une capacité clonogénique limitée
 - possède une faible immunogénéicité
- Points négatifs:
 - difficulté de la manipulation génétique
 - taille d'insertion faible

Fig. 61 : *Caractéristiques d'un virus adénoassocié*

L'application topique de facteurs de croissance recombinants est une des méthodes les plus efficaces pour stimuler les cellules souches endogènes et les cellules progénitrices.

Ces systèmes de libération virale permettent une bonne transduction avec une expression génique et une efficacité à long terme (123).

Néanmoins, ces approches sont limitées par :

- les vecteurs viraux avec leurs potentiels de toxicité, de troubles immunitaires, de réponses inflammatoires et de risques pathogènes
- le risque de combinaison génique.

Chaque méthode possède ses avantages et ses inconvénients et aucune ne possède de propriétés idéales, c'est pour cette raison que des systèmes hybrides ont été créés offrant moins de risques liés au virus et une meilleure transduction.

Récemment, des chercheurs ont réussi un transfert génique de PDGF dans des cémentoblastes (124). Ce transfert génique stimulait davantage l'activité des cémentoblastes que lors d'une application topique de PDGF. Une autre étude a démontré que PDGF induit par adénovirus, stimulait la formation d'os alvéolaire, de ciment et de ligament dans les défauts parodontaux in vivo (16).

Par ailleurs, le transfert de gène viral de BMP a montré des résultats remarquables dans la régénération osseuse. En effet, le transfert génique de BMP7-transduit dans des fibroblastes ex-vivo a généré de l'os alvéolaire et du ciment (22).

Cela suggère que cette technique peut procurer un niveau de facteurs de croissance constant, qui peut en revanche, être néfaste à la différenciation cellulaire ou à la cicatrisation de la lésion.

3.2. Libération des facteurs in situ

3.2.1. Les prérequis

La conception d'une libération appropriée de facteurs de croissance dépend de multiples facteurs :

- le facteur de croissance
- l'information quantitative et qualitative concernant sa distribution dans le tissu
- le microenvironnement du tissu cible.

L'action du facteur de croissance est généralement « concentration dépendante », une concentration suffisamment importante permet un contrôle du rayon d'activation des tissus environnants par le point source. Néanmoins, une concentration excessive résulte en un effet toxique qui empêche une régénération et présente des risques de biosécurité (13).

Malgré de nombreux modèles in vitro et in vivo, il est toujours très difficile d'identifier la concentration optimale d'un facteur de croissance en régénération parodontale. Cela s'explique en partie par la présence de nombreuses variables impliquées dans la cicatrisation et par une gamme de facteurs parmi lesquels le conditionnement radiculaire, la sur-occlusion, le sexe du patient, son âge ou encore son éducation. En effet, chacune de ces variables peut affecter le taux de facteurs de croissance responsables de l'ostéogénèse ou de la cémentogénèse et en conséquence de la formation du LAD lors des phases précoces ou tardives de la cicatrisation parodontale (125,126).

Il est donc indispensable de procéder à une évaluation minutieuse du concept de concentration optimale des facteurs de croissance.

Par ailleurs, le fait d'établir des gradients de facteur de croissance permet d'améliorer leur efficacité, en les incorporant au biomatériau, pour maintenir leur stabilité et contrôler leur libération cinétique.

Les gradients de facteurs de croissance jouent des rôles clés dans la régénération tissulaire et le développement biologique puisqu'ils fournissent un mécanisme par lequel les cellules reçoivent des signaux directionnels et spatiaux permettant une migration et une domiciliation cellulaire correcte ainsi qu'une reconstruction tissulaire (122).

3.2.2. Immobilisation des facteurs de croissance

L'application locale de certains facteurs dans le défaut parodontal stimulerait la régénération. Malheureusement, peu d'études en double aveugle ont été effectuées à ce jour.

Pour une libération directe de facteurs de croissance, il existe 2 types de stratégies en ingénierie parodontale : une immobilisation de facteurs de croissance covalente ou non covalente (126).

La liaison non covalente des facteurs de croissance dans la matrice de transport peut être de 3 types, soit par :

- encapsulation physique des facteurs de croissance (A),
- absorption des facteurs de croissance à la surface de la matrice (B),
- formation de complexes ioniques avec les matrices des polymères (C)

Mais ce type de liaison n'est pas efficace à cause des faibles quantités de protéines qui peuvent être liées de cette façon et de leurs propriétés de libération qui sont imprévisibles (**Fig. 62**).

L'immobilisation covalente est une attache covalente de protéines à l'intérieur ou sur la matrice (D).

Ce type d'immobilisation sur un matériau transporteur peut éliminer le risque de libération brutale et s'avère prometteur quant à une libération prolongée des facteurs de croissance, contrairement à une immobilisation physique.

L'immobilisation covalente est nécessaire dès lors que les molécules liantes sont incapables d'absorption à la surface ou que les facteurs de croissance ont une absorption trop faible due à une non-conformité ou à une orientation incorrecte.

En outre, cette approche présente des limites telles que la difficulté à déterminer sélectivement le site de couplage spécifique sur la protéine conjuguée ou encore, avec ce type de liaison, le risque pour les protéines de perdre leur bioactivité (126).

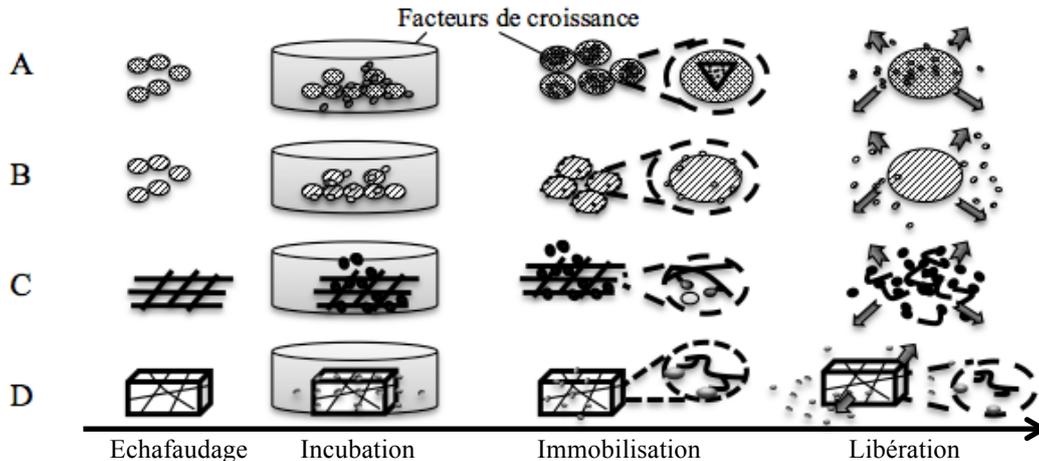


Fig. 62 : Illustration schématique des méthodes d'immobilisation des facteurs de croissance et de leurs mécanismes primaires de libération

3.2.3. Les différents profils de libération

Les mécanismes de relâche des facteurs de croissance sont déterminés par leur type d'immobilisation (**Fig. 62** et **Fig. 63**).

A moins d'être conçue autrement (C), l'immobilisation non covalente devrait généralement suivre un mécanisme contrôlé de diffusion ou d'enflure. Cela consiste en une phase initiale de libération brutale suivie d'une libération plus lente par la matrice (A et B).

La libération contrôlée par diffusion et enflure est influencée par :

- la solubilité et le coefficient de diffusion des facteurs de croissance dans le milieu,
- le cloisonnage des facteurs de croissance entre le milieu et la matrice
- la distance entre le chargement des facteurs de croissance et leur diffusion (126)

En contraste, les protéines immobilisées de manière covalente suivent un mécanisme de libération contrôlée :

-il permet un meilleur contrôle de la quantité et de la distribution des facteurs de croissance dans des matrices solides

-il facilite l'établissement d'un gradient (D) (13).

Ces facteurs liés chimiquement au transporteur, sont relâchés par scission hydraulique ou enzymatique des liens chimiques qui relient les facteurs à la matrice offrant la possibilité d'un mode de libération linéaire, pulsatile ou lent (D) des protéines.

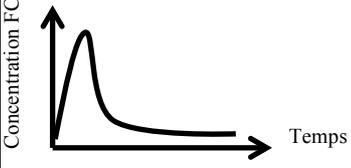
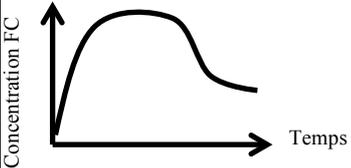
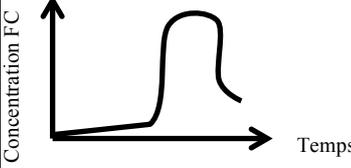
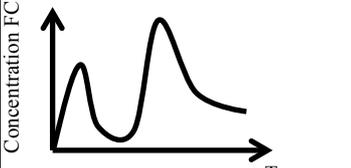
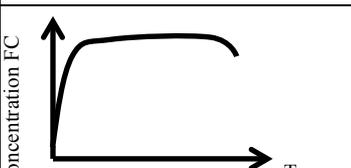
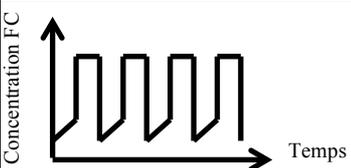
Stratégies	Profil de libération	Modèles de libération
Incorporation : injection ou facteurs bioactifs directement absorbés par le biomatériau		Libération brutale : hydrogel, échafaudage poreux
Immobilisation non covalente : Facteurs bioactifs encapsulés dans des micro-sphères de faible réticulation (A, B)		Libération prolongée : microsphères, nanoparticules
Immobilisation non covalente : les facteurs de croissance sont encapsulés dans des microsphères de forte réticulation (A, B)		Libération retardée : microsphères
Immobilisation non covalente : les facteurs sont libérés par des trames et des microsphères (C)		Libération type pulsatile : matériau composite, véhicules multifonctionnels
Immobilisation covalente: les facteurs de croissance sont réticulés chimiquement (D)		Libération continue : collagène, alginate gel
Immobilisation covalente ou modification chimique (D)		Libération pulsatile : hydrogel intelligent, système de libération on/off

Fig. 63: Profils de libération de facteurs de croissance

Même si le moment où a lieu la libération est important, la nature dynamique de la zone de cicatrisation rend difficile l'obtention des cinétiques de libération désirées.

4. Les études des facteurs de croissance en régénération parodontale

Depuis plusieurs années, les études sur les facteurs de croissance en régénération parodontale se sont multipliées. Nous avons, à titre d'illustration, sélectionné 5 d'entre elles, de puissance satisfaisante selon l'HAS (**Fig. 70**), elles seront exposées brièvement.

4.1. Revue systématique d'EMD

Une revue systématique récente (127), a permis d'observer en moyenne, un an après la mise en place d'EMD, une réduction significative de la perte d'attache et de la profondeur des poches comparée au placebo ou au groupe contrôle.

Néanmoins le haut degré d'hétérogénéité observé lors de l'étude, suggère que ces résultats sont peut-être surestimés et doivent être interprétés avec précaution. De plus, il n'y avait pas de différences cliniques majeures entre GTR et EMD.

4.2. Méta-analyse de PDGF-BB

PDGF est le premier facteur de croissance à avoir été évalué dans des pré-études cliniques en régénération parodontale.

La prolifération et la migration cellulaires ainsi que la synthèse de la matrice sont observées dans des cultures de PDGF avec des cellules parodontales : cellules ligamentaires, fibroblastes, cémentoblastes, préostéoblastes et ostéoblastes. Les activités de ce facteur sont « temps/dose dépendants ».

Il semblerait que dans des cultures de cellules ostéoblastes-like, l'activité phosphatase alcaline et ostéocalcine soient régulées à la baisse par PDGF (110).

De plus, PDGF-BB augmenterait *in vivo*, la formation d'os et de cartilage induit par la matrice osseuse déminéralisée.

Cependant, il faut considérer ces résultats avec précaution. Des chercheurs ont donc tenté de faire le point sur l'utilisation de PDGF en régénération parodontale en réalisant une méta-analyse (9).

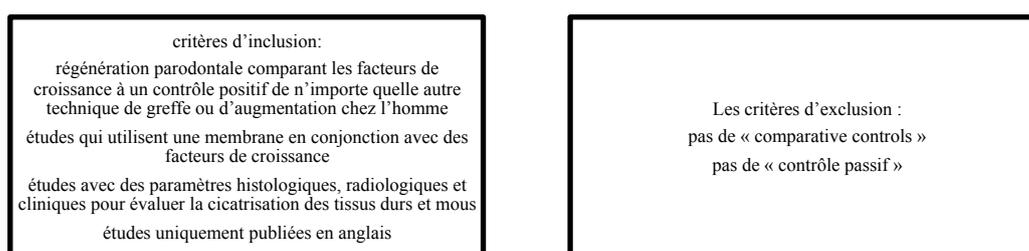


Fig. 64 : Critères d'inclusion et d'exclusion de l'étude

Après une sélection précise d'études (**Fig. 64**), la méta-analyse démontre que l'utilisation de rhPDGF dans des sites intra-osseux ou furcations de classe II comparé au groupe contrôle ostéoconducteur β TCP :

- a entraîné un gain d'attache de 1 mm environ
- a entraîné un pourcentage de formation osseuse plus élevé (40%) environ
- a augmenté le taux de croissance osseuse de 2mm

L'utilisation de facteurs de croissance ne semble pas avoir d'effets secondaires supplémentaires en chirurgie parodontale. La variation de cette étude a rendu la comparaison difficile et limite l'utilisation des données.

4.3. Etude randomisée double aveugle de FGF2

Lors d'une étude randomisée en double aveugle, (118) des chercheurs ont tenté de comparer l'efficacité d'un surfaçage sous lambeau Widman à l'utilisation de FGF-2 dans des défauts de 2 ou 3 parois sur 253 patients atteints de parodontite.

Ils ont pu observer que la densité osseuse était supérieure dans le groupe où FGF-2 était associé au surfaçage avec lambeau d'accès par rapport à celui où seul un surfaçage sous lambeau avait été réalisé. Néanmoins, aucune différence n'était visible en terme de gain d'attache.

4.4. Association de deux facteurs

En tenant compte de la complexité de la régénération parodontale, un facteur bioactif seul ne permettra peut être jamais d'obtenir une régénération parodontale (**Fig. 65**).

Basée sur la compréhension de la réparation tissulaire, la combinaison de facteurs de croissance peut potentialiser l'induction d'événements cellulaires et moléculaires en cicatrisation tissulaire.

Des études ont prouvé que les « cocktails » de facteurs de croissance peuvent parfois avoir des propriétés additives et des effets synergiques sur la prolifération, la mobilité et la différenciation cellulaires. Ainsi, via l'activité de diverses cellules *in vitro* et *in vivo*, ils entraînent une accélération et une augmentation de régénération tissulaire.

PDGGBB+IGF1	Incorporé dans du méthycellulose	libération simultanée	formation tissulaire dans le défaut parodontal (128,129)
BMP2 + IGF1	Encapsulé dans des micropsheres et introduit dans un hydrogel	libération simultanée	libération morcelée augmente le comportement cellulaire <i>in vitro</i> (130)

Fig. 65 : Exemples d'études cliniques impliquant deux facteurs de croissance en régénération parodontale

PARTIE 4 : ANALYSE DE LA LITTÉRATURE SCIENTIFIQUE

Les études en régénération parodontale portent majoritairement sur le développement de moyens capables de réparer les effets néfastes de la parodontite. Ainsi, avec le temps, les chirurgiens dentistes ont vu s'intégrer à leur pratique clinique une variété de procédés chirurgicaux, de matériaux alloplastiques, d'allogreffes, de xéno greffes, de facteurs de croissance ou encore de membranes barrières (GTR).

Néanmoins, ces moyens présentent des limites et ne peuvent restaurer qu'une fraction du volume du tissu original. En effet, les moyens de régénération actuels possèdent, pour la majorité d'entre eux, une faible capacité ostéoinductrice, et sont plutôt prisonniers d'un tissu conjonctif fibreux dense que résorbés et remplacés par des néotissus.

Par conséquent, le besoin d'une approche régénératrice plus efficace a permis le développement de procédés qui associent l'incorporation d'un nombre approprié de cellules souches mésenchymateuses au sein d'une matrice extracellulaire ou d'un transporteur approprié et la présence de facteurs bioactifs produisant des signaux régulateurs.

Le principe consiste donc à isoler des cellules mésenchymateuses, à les ensemercer au sein d'une matrice et à les implanter dans un défaut parodontal. En outre, il est également possible d'utiliser les capacités in situ des cellules résidentes du parodonte. Effectivement, malgré le rôle des cellules exogènes délivrées, il est avantageux de recruter en plus, des cellules endogènes par l'intermédiaire de facteurs de croissance ou de facteurs trophiques.

Mieux que la réparation, le but ultime du parodontologiste serait d'obtenir une régénération parodontale ad integrum. Les avancées récentes en ingénierie tissulaire, en particulier l'isolement des MSC, la biologie des facteurs de croissance et le développement de polymères biodégradables ont favorisé la mise en place de nombreux protocoles d'études de plus en plus pertinents dans l'espoir de régénérer le parodonte.

Nous allons ainsi recueillir et analyser les différentes études cliniques concernant la régénération parodontale à l'aide de cellules souches mésenchymateuses et de biomatériaux sur modèles humains ou animaux.

I. Méthodologie de la stratégie de recherches documentaires

1. Recueil des données

La stratégie de recherches d'études cliniques a été réalisée par l'intermédiaire de bases de données électroniques et de recherches manuelles (**Fig. 66**).

Electroniquement	Manuellement
à l'aide de Cochrane Database et Pubmed en utilisant les mots clés suivants : « stem cell » AND « periodontal » AND « regeneration » « stem cell » AND « Biomaterial » AND « periodontal » AND « regeneration » « stem cell » AND « periodontal » AND « regeneration » AND « in vivo »	à l'aide de différentes revues : -International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry -Journal of Clinical Periodontology -Journal of Dental Research -Journal of Periodontology Research -Journal of Periodontology

Fig. 66 : Méthodes et outils de recherche

Suite à ces recherches, 454 articles au total ont été identifiés dont 438 électroniquement et 16 manuellement.

2. Sélection des articles

A l'issue de notre recherche, nous nous sommes trouvés face à une multitude d'articles dont la qualité n'était pas toujours garantie. Il a donc été nécessaire de définir des critères d'inclusion et d'exclusion de manière à ne garder que les études les plus pertinentes (**Fig. 67**).

Critères d'inclusion :
 -études sur l'utilisation de cellules souches mésenchymateuses avec un biomatériau
 -nombre de spécimens clairement indiqué
 -mise en place in vivo
 -évaluation histologique et radiologique
 -études publiées en anglais

Critères d'exclusion :
 -utilisation de cellules souches mésenchymateuses seules
 -utilisation de facteurs de croissance seuls
 -études in vitro
 -études in vivo sur modèles rongeurs
 -études s'intéressant à la régénération osseuse uniquement et non à la totalité du parodonte
 -études dont $p > 0.05$

Fig. 67 : Critères d'inclusion et d'exclusion

Il est important de préciser que la valeur de p correspond à la probabilité que la survenue d'un résultat ne soit due qu'au seul hasard. Ainsi, nous n'avons pas retenu les études dont les analyses montraient une valeur de $p > 0.05$.

Une fois les critères définis, nous avons utilisé la méthodologie de sélection suivante (**Fig.68**) :

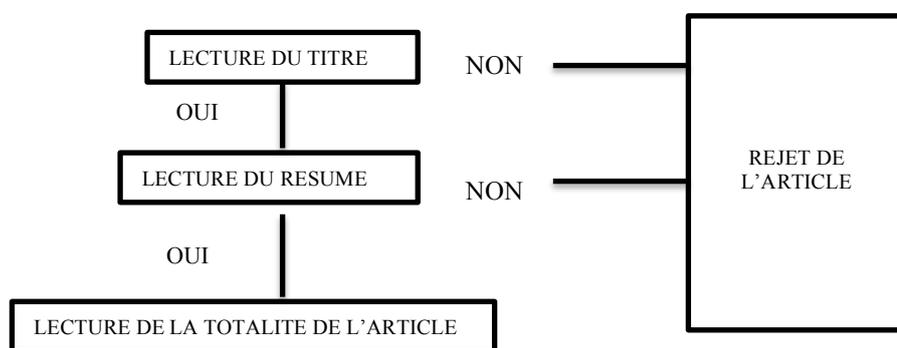


Fig. 68 : Méthodologie de sélection des études

Ainsi, les 454 articles ont été traités selon cette méthodologie de sélection (**Fig.69**) tout en prenant en compte les critères d'inclusion et d'exclusion préalablement définis.

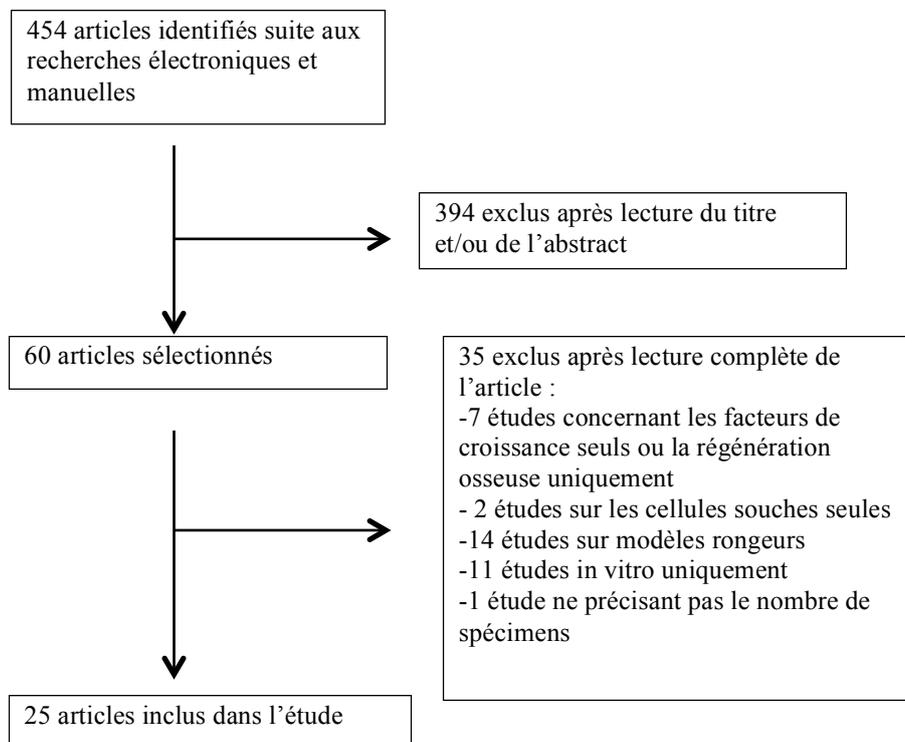


Fig. 69: Différentes étapes de sélection des études cliniques

394 articles au total ont été exclus à l'issue d'une première élimination après lecture du titre puis la lecture de l'abstract a permis une deuxième élimination parmi les articles qui avaient été retenus.

Ainsi pour les 60 articles restants, la dernière sélection a consisté en la lecture complète de chaque article et a abouti à l'exclusion de 35 articles supplémentaires.

De ce fait, en tenant compte des critères d'inclusion et d'exclusion, 25 articles au total, ont été sélectionnés sur les 454 initialement identifiés.

3. Critères d'évaluation pour l'analyse qualitative

Toutefois, avant de pouvoir analyser ces articles, il a été nécessaire de les classer en terme de valeur scientifique. En effet, tout article scientifique doit faire l'objet d'une lecture critique pour déterminer si ses conclusions sont valables ou non.

Pour déterminer le grade de recommandations de chaque étude, il est nécessaire d'évaluer la pertinence de l'article, la justesse des données et leur interprétation.

Ainsi, différents critères devront être pris en compte lors de la lecture de chaque article:

- L'objectif de l'étude est-il clairement défini ?
- Quelle est la population source des sujets étudiés ?
- La taille de l'échantillon est-elle suffisante ?
- Existe-t-il des biais potentiels ?
- Le protocole proposé est-il adapté à l'étude ?
- La durée de suivi est-elle suffisante ?
- Les résultats sont-ils présentés de façon claire, détaillée et objective ?
- Les conclusions répondent-elles aux objectifs ?

Une fois les réponses à ses questions obtenues, nous avons à l'aide de la classification de l'HAS, adaptée du score Sackett, déterminé le grade de recommandations de chaque étude (**Fig. 70**).

Niveau de preuves scientifiques fourni par la littérature	Grade de recommandations
Niveau 1 : -essais comparatifs randomisés de forte puissance -méta-analyses d'essais comparatifs randomisés -analyse de discussion basée sur des études bien menées	Preuve scientifique établie A
Niveau 2 : -essais comparatifs randomisés de faible puissance -études comparatives non randomisées bien menées -études de cohorte	Présomption scientifique B
Niveau 3 : -études cas-témoins	Faible niveau de preuve C
Niveau 4 : -études comparatives comportant des biais importants -études rétrospectives -séries de cas	

Fig. 70 : Classification HAS selon le grade de recommandations

L'analyse qualitative représente l'étape finale de la sélection des études retenues.

Elle permet de ne retenir que les études les plus pertinentes que ce soit par la crédibilité de la publication ou par l'applicabilité des résultats. Cette étape est essentielle puisque la qualité de ces études garantit la qualité des résultats exploités et donc de l'analyse qui va suivre.

II. ANALYSES DES ETUDES SELECTIONNEES

1. Classement des études selon le grade de recommandations

Chaque article sélectionné a été évalué selon les critères d'analyse qualitative, dans l'objectif de ne retenir que les études de forte puissance pour réaliser une analyse rigoureuse des résultats. Celles-ci ont alors été classées en fonction de leurs niveaux de preuves scientifiques (**Fig. 71**).

Types d'études	Etudes	Niveau de preuves	Grades de recommandations
Etude expérimentale comparative contrôlée prospective randomisée simple aveugle de faible puissance	(131–133)	2	B
Etude expérimentale comparative contrôlée prospective NON randomisée bien menée	(134,135)	2	B
Etude expérimentale comparative contrôlée prospective randomisée simple aveugle comportant des biais importants	(136–142)	4	C
Etude expérimentale comparative contrôlée prospective NON randomisée comportant des biais importants	(46,47,91,143–148)	4	C
Séries de cas	(149–152)	4	C

Fig. 71 : Hiérarchisation des différentes études

Nous pouvons donc constater que la majorité des études retenues sont des études expérimentales comparatives contrôlées prospectives randomisées ou non, comportant des biais importants ; elles possèdent donc le niveau de preuves le plus faible selon l'HAS. Ce niveau global de faible puissance est confirmé par un classement chiffré des études selon le grade de recommandations et montre une nette supériorité du nombre d'études de grade C (Fig. 72).

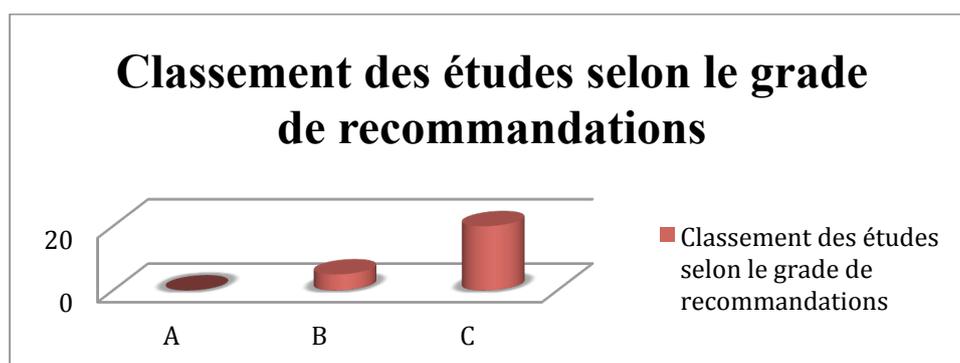


Fig. 72 : Classement des études selon leur grade de recommandations

En effet sur les 25 études sélectionnées, seules 5 sont de grade B et les 20 autres sont de grade C (Fig. 72). Nous sommes, aujourd'hui, seulement au stade des balbutiements de l'ingénierie tissulaire en régénération parodontale, il est donc normal de ne trouver pour l'instant aucune étude de grade A et peu d'études de grade B.

2. Analyse des résultats

Nous avons jugé bon d'identifier les études les plus pertinentes et d'analyser les différents résultats obtenus afin de faciliter la tâche du praticien, informé en permanence des avancées en matière de recherche scientifique.

Nous avons souhaité procéder à l'analyse des résultats en incluant la totalité des études. Certes, nous aurions pu baser notre analyse uniquement sur les 5 études de grade B mais notre but n'était pas de réaliser une analyse de forte puissance mais plutôt de recenser et d'analyser les études disponibles à l'heure actuelle.

Notre objectif est donc de faire le point sur les études disponibles en régénération parodontale à l'aide de cellules souches mésenchymateuses et de biomatériaux (Fig. 81).

1.1. Généralités

A travers un tableau comparatif des études cliniques sélectionnées (Fig. 81), nous avons pu observer une grande variété de combinaisons de cellules souches associées à divers biomatériaux. Cette hétérogénéité significative dans les études doit susciter une certaine prudence dans l'interprétation globalisante des résultats.

Nous avons débuté cette analyse par l'étude du type de population, principalement d'origine animale. En effet, les modèles d'expérimentation sont en majorité le chien et le cochon, confirmant ainsi la faible puissance des études en régénération parodontale (**Fig. 73**).

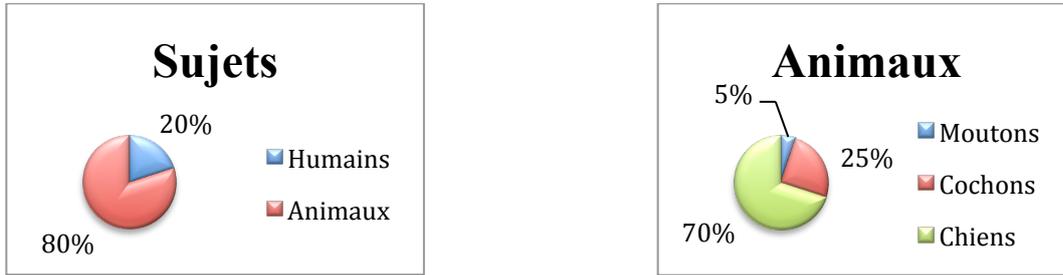


Fig. 73 : Différents types de sujets parmi les études sélectionnées

Il est important de préciser que nous avons volontairement exclu les études sur les rongeurs à cause de la faible ressemblance de leur physiopathologie avec celles des humains même si ce sont d'excellents modèles de protocoles préliminaires.

Par la suite, il nous a paru intéressant de les classer selon le type de cellules souches utilisées (**Fig. 74**) puis selon le type de biomatériaux utilisés (**Fig. 75**).

Etudes Cliniques classées en fonction du type de cellules souches mésenchymateuses

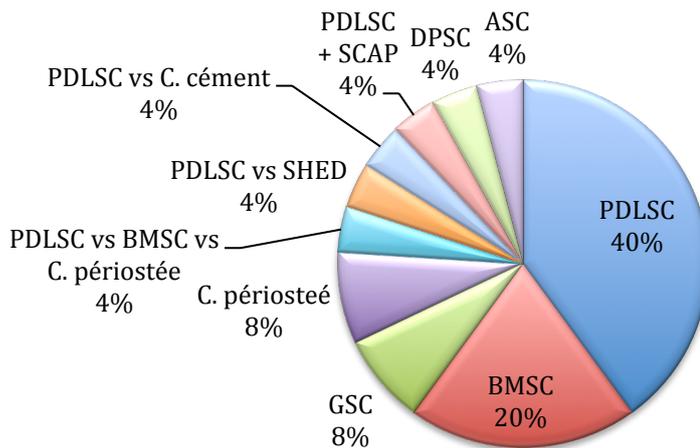


Fig. 74 : Etudes cliniques classées en fonction du type de cellules souches mésenchymateuses

Ainsi, nous avons constaté que les cellules souches du ligament alvéolo-dentaire (LAD) étaient de loin les plus étudiées représentant 40% du nombre total des études. Quant aux BMSC, qui sont pourtant les premières cellules souches à avoir été étudiées, elles ne représentent que 20% des recherches cliniques.

Les biomatériaux ont un rôle tout aussi important que les cellules souches au sein de ces études. Plus que de simples transporteurs, ils sont pour certains, capables de potentialiser l'activité des cellules souches.

D'ailleurs, certaines de ces études ont recours à des associations de biomatériaux, comme HA/ β TCP par exemple, pour potentialiser les avantages ou contrecarrer les inconvénients de chacun.

Malgré tout, dans le cadre d'une régénération parodontale au moyen de cellules souches mésenchymateuses, le collagène est la matrice la plus utilisée (**Fig. 75**).

Etudes cliniques classées en fonction du type de biomatériaux utilisés

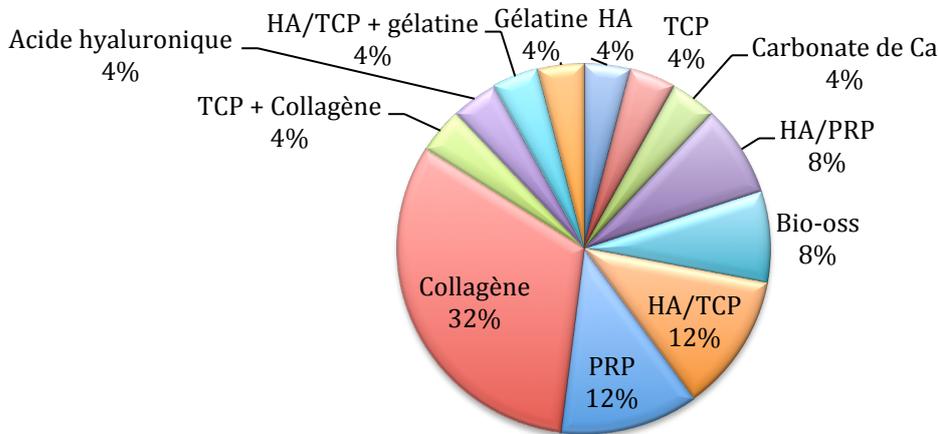


Fig. 75 : Etudes cliniques classées en fonction du type de biomatériaux utilisés

Les PDLSC étant les cellules souches les plus étudiées, nous avons réalisé un schéma illustrant les différentes associations présentes dans les 14 études les concernant (**Fig. 76**). Tout comme dans la majorité des études, le collagène demeure la trame la plus utilisée en association avec PDLSC, suivi de HA/ β TCP, qui lui est plus fréquemment utilisé en pratique quotidienne.

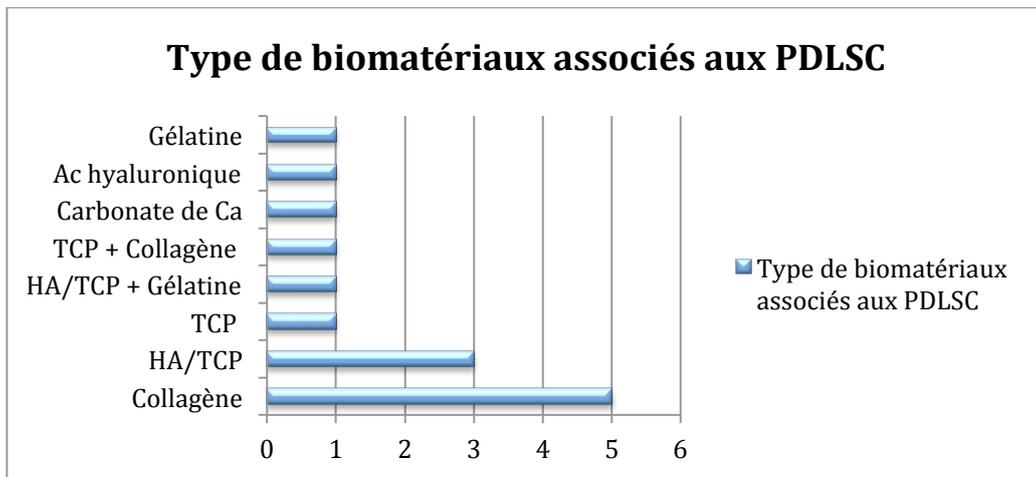


Fig. 76 : Type de biomatériaux associés aux PDLSC

Ainsi, l'analyse générale des études cliniques a permis de constater que parmi les études majoritairement animales, l'association la plus fréquente est celle des PDLSC implantées sur une trame de collagène.

Les BMSC, HA/ β TCP et PRP figurent également dans une grande partie des études. La présence récurrente des ces 2 biomatériaux pourrait s'expliquer par une volonté de la part des chercheurs de potentialiser des techniques de régénération déjà connues et utilisées par des praticiens.

1.2. Analyse récapitulative selon le type de cellules souches mésenchymateuses

1.2.1. PDLSC

De nombreuses études ont été réalisées sur la capacité régénératrice de PDLSC. En effet, la majorité des études soit 40% leur sont consacrées, dont une sur modèle humain. Néanmoins, les valeurs de ces études restent de faible puissance avec seulement 3 études de grade B et 10 autres de grade C.

Feng et al. ont été les premiers à associer des cellules progénitrices du LAD à du carbonate de calcium et à les transplanter dans un défaut intra-osseux chez 3 patients souffrant de parodontite chronique. Les résultats très prometteurs de cette étude, consistent en un gain d'attache clinique avec une baisse de profondeur des poches ainsi qu'une amélioration des récessions sur une durée de 72 mois (149). Toutefois, ces résultats ne se retrouvent que chez 2 patients. Le 3^{ième} patient, lui, présente une dégradation clinique et radiologique. Même si les auteurs émettent des réserves concernant la faible taille de l'échantillon, ils s'accordent tout de même sur l'efficacité prometteuse des cellules souches du LAD.

Depuis plusieurs années, les études animales sur les PDLSC se multiplient, Menicanin et al. ont combiné des PDLSC autologues à une trame de gélatine recouverte de e-PTFE dans un défaut intra-osseux à 1 paroi chez 7 moutons. Ils ont obtenu une régénération tissulaire supérieure dans les groupes tests par rapport aux groupes contrôles avec la formation de ciment, d'os et de structures similaires aux fibres de Sharpey (134).

Très fréquemment employé chez les praticiens, le biomatériau HA/ β TCP possède de nombreux avantages en terme de régénération, il est donc évident que les chercheurs tentent de concevoir la combinaison de ce biomatériau avec des cellules souches. Liu et al. ont pratiquement observé un retour ad integrum des tissus parodontaux après l'implantation de PDLSC autologues et HA/ β TCP dans un défaut intra-osseux à 1 paroi sur un échantillon de 12 cochons sur 12 semaines (135).

D'ailleurs, ce n'est pas la seule fois que l'on a constaté une régénération parodontale quasi-complète, Ding et al. ont présenté des résultats similaires en réalisant la même combinaison de cellules souches et de biomatériaux chez 15 cochons sur 12 semaines. De plus, ils ont conclu quant à l'efficacité quasi-identique des cellules souches du LAD qu'elles soient autologues ou allogènes (131).

Par ailleurs, dans l'optique de faciliter le protocole pour un chirurgien dentiste dans sa pratique quotidienne, les études se portent également sur les cellules du LAD sans chercher à isoler les PDLSC.

Qu'elles soient associées au collagène, à du PGA, ou encore à de l'acide Hyaluronique, puis implantées dans des défauts intra-osseux à 1 ou 2 parois ou avec des atteintes de furcations classe II ou III, les différents auteurs s'accordent à dire qu'une amélioration est notable en terme de largeur et d'épaisseur de l'os, du ciment et du ligament, lui même composé d'une orientation correcte de fibres de Sharpey (46,47,139,141,142).

Toutefois, même si la plupart des auteurs vantent les mérites et le potentiel des PDLSC, d'autres sont plus mitigés sur la capacité de PDLSC à régénérer les 3 tissus composant le parodonte.

C'est le cas de Nakahara et al. : ils ont implanté des PDLSC autogènes associées à une trame de collagène recouverte de e-PTFE dans un défaut intra-osseux à 1 paroi chez 6 chiens. Suite à l'analyse histomorphométrique à 8 semaines, la formation cémentaire était nettement plus importante chez les groupes tests ; il n'y avait cependant aucune différence de formation osseuse entre les groupes tests et contrôles (138).

En conclusion, même si les résultats sont parfois contradictoires, la majorité se révèle en faveur du grand potentiel de PDLSC en régénération parodontale.

1.2.2. BMSC

Depuis plusieurs années, les BMSC ont fait l'objet de nombreuses recherches. Plus employées sur modèles animaux, il n'existe, à ce jour, qu'une étude réalisée sur l'homme, une personne atteinte de parodontite chronique (151). Un défaut intra-osseux à 1 paroi après un surfaçage sous lambeau, a été comblé par des BMSC autologues et du PRP en gel. A 1 an, Yamada et al. ont pu observer une amélioration radiologique et clinique en terme de profondeur de poche, de gain d'attache ainsi qu'une disparition de saignement et de mobilité dentaire.

L'association des BMSC au PRP n'est pas nouvelle, plusieurs études sur modèle animal se sont intéressées à cette combinaison.

Pieri et al. les ont associées à HA recouvert d'une membrane de collagène chez 8 cochons sur une durée de 3 mois ; ils ont constaté de très bonnes performances en terme de régénération osseuse en particulier (153).

Toutefois, cette étude n'a pas été incluse dans notre tableau comparatif car son objectif concernait uniquement la régénération osseuse (**Fig. 67**).

Simsek et al. ont d'ailleurs comparé cet alliage à l'os autogène dans un défaut de furcation de classe II sur modèle canin. Même si la différence n'était pas sensible, le groupe BMSC associé à PRP se démarquait néanmoins par une meilleure régénération tissulaire (148).

De fait, cette association présenterait un potentiel de régénération plus important que les méthodes actuellement disponibles sur le marché.

Par ailleurs, des résultats très prometteurs ont pu être observés lorsque des BMSC ont été associées à une trame de collagène. Hasegawa et al. et Kawaguchi et al. ont indépendamment constaté, sur modèle canin présentant un défaut avec atteinte de furcation de classe III, un recouvrement complet de la racine par un néocément ainsi que la formation d'un néoligament séparant un os, qui lui, n'était pas totalement régénéré. Même si la régénération osseuse complète n'a pu être appréciée, la rapidité de génération cémentaire et ligamentaire, respectivement de 4 et de 12 semaines, semble très encourageante. De plus, aucune ankylose ni résorption radiculaire n'ont pu être constatées (143,145).

Les BMSC ont été largement étudiées en régénération parodontale, et ont prouvé leur capacité à être cryopréservées sans aucune altération, à favoriser la régénération osseuse, cémentaire et ligamentaire ainsi que la néovascularisation (146). Elles présentent donc un avenir en ingénierie tissulaire.

1.2.3. DPSC

Les cellules souches de la pulpe dentaire ont fait l'objet de diverses études en régénération parodontale, elles présentent toutefois des résultats divergents.

Le potentiel des DPSC à régénérer des défauts osseux a été étudié chez l'homme (57). Même si cette étude ne concerne pas la régénération parodontale dans son intégrité mais uniquement l'aspect osseux, il est important de l'évoquer puisque c'est l'une des seules études de DPSC sur sujet humain. Son but était de traiter les pertes osseuses associées à l'extraction dentaire. Les cellules souches préalablement prélevées, étaient combinées à une éponge collagène et implantées dans l'alvéole immédiatement après l'extraction. Les résultats de l'étude se sont avérés encourageants avec une régénération osseuse autologue réussie. De même, une étude (154) réalisée sur modèle canin pendant 8 semaines, conclut quant à leur capacité à favoriser une génération osseuse et une néovascularisation.

A l'inverse, Khorsand et al. ont observé des résultats très différents en implantant des DPSC autologues associées à du Bio-Oss dans un défaut intra-osseux à 3 parois sur un échantillon de 10 chiens (137). Après analyse histologique et histomorphométrique, le ciment et le ligament générés étaient très épais et nettement plus importants dans le groupe test, mais la formation osseuse, quant à elle, semblait identique dans tous les groupes.

Cette capacité osseuse limitée sera soutenue par Park et al. qui ont constaté peu de différences cliniques et radiologiques entre la greffe des DPSC dans un défaut intra-osseux et le groupe témoin sans cellules souches (155).

Malgré les résultats contradictoires, la majorité des chercheurs sont optimistes quant au potentiel que présente DPSC dans la pratique clinique de demain.

1.2.4. SHED

A ce jour, il n'y a aucune publication décrivant les SHED dans le cadre de la régénération parodontale. Jamais encore réalisée chez l'homme, leur capacité de régénération osseuse a été évaluée chez le cochon et le chien. Ces publications n'ont donc pas été sélectionnées puisqu'elles concernaient la régénération osseuse uniquement (**Fig. 67**). Cependant nous allons les citer dans le but d'illustrer la capacité régénératrice de SHED.

Zheng et al. ont implanté SHED avec β TCP dans un défaut intra-osseux para-symphysaire chez 16 cochons sur une durée de 24 semaines. Les résultats étaient plutôt encourageants puisque après analyse morphologique, histologique et radiologique le groupe comprenant les SHED présentait la formation osseuse la plus importante (156).

Yamada et al., quant à eux, ont transplanté des SHED autologues avec PRP dans un défaut mandibulaire sur modèle canin, ce qui a résulté en la formation d'os et le développement d'une néovascularisation (154).

L'ensemble de ces études démontre que les SHED peuvent servir de sources alternatives en régénération tissulaire.

1.2.5. GMSC

L'efficacité d'une thérapie cellulaire à partir de fibroblastes autologues de la gencive, a été évaluée dès 1995 par Feng et al, lorsqu'ils ont été greffés sur un transporteur HA chez l'homme. Suite à une parodontite chronique, le patient présentait un défaut intra-osseux avec une atteinte de furcation de classe II en vestibulaire. A 28 mois d'implantation, les chercheurs ont observé une réduction de la profondeur de poche, un gain d'attache ainsi qu'une augmentation de densité osseuse (152).

Par la suite, des études confirmèrent la présence de cellules souches dans le tissu gingival, validant donc les résultats trouvés par Feng à l'époque (99).

Une quinzaine d'années plus tard, El-Sayed et al. ont associé des GMSC à du Bio-Oss recouvert d'une membrane collagène dans des défauts intra-osseux à une paroi chez 8 cochons sur 12 semaines. Comparées aux groupes contrôles, les zones traitées avec GMSC ont obtenu de meilleurs résultats en terme de gain d'attache, de diminution de profondeur de poche et de récession gingivale ; avec histologiquement une diminution de l'épithélium long de jonction (132).

Même si les résultats semblent encourageants, d'autres études devront être réalisées avant de pouvoir confirmer les capacités de GMSC en régénération parodontale.

1.2.6. SCAP

De plus en plus étudiées, les cellules souches SCAP ont été co-transplantées avec PDLSC sur une trame de gélatine dans des alvéoles immédiatement après des extractions dentaires chez 6 cochons dans le but de régénérer la racine et son parodonte (91). Sonoyama et son équipe ont réussi à obtenir, à 3 mois, une racine dentaire avec son parodonte associé.

Toutefois, plus d'études de plus forte puissance doivent être menées avant de pouvoir en tirer des conclusions valides.

1.2.7. DFSC

Les cellules souches du follicule présentent un grand intérêt clinique compte tenu, entre autres, des extractions fréquentes de dents de sagesse considérées comme déchets médicaux. Cependant, aucune étude sur les DFSC associées à un biomatériau en régénération parodontale n'a pu être identifiée.

Néanmoins, une étude de Guo et al. a démontré le potentiel de DFSC en ingénierie tissulaire. Ils ont implanté les DFSC sur une matrice dentinaire dans 3 microenvironnements différents chez le rat : dans la bourse omentale, zone non minéralisée, dans le crâne, zone hautement minéralisée et dans une alvéole dentaire. Les DFSC ont formé dans la bourse omentale de la dentine, dans le crâne, de l'os et dans l'alvéole, un complexe pulpo-dentinaire ainsi qu'un LAD ancré à une structure cément-like par des fibres de Sharpey (157). Il en a été conclu que les DFSC possédaient un potentiel de régénération parodontale avec une capacité de différenciation influencée par le microenvironnement.

1.2.8. Cellules souches périostées

Les cellules souches périostées ont récemment été décrites comme ayant un fort potentiel en régénération parodontale.

En 2008, Yamamiya et al. ont mené une étude sur 30 patients souffrant de parodontite chronique, chez lesquels des cellules périostées autologues associées à PRP et à HA ont été implantées dans les défauts parodontaux. Après une période de 1 an, les résultats étaient satisfaisants cliniquement et radiologiquement. Ce traitement a semble-t-il favorisé une régénération parodontale (133).

De même sur un échantillon plus faible (3 hommes), Okuda et al. ont implanté cette même combinaison de cellules souches et biomatériaux dans des défauts intra-osseux de 1, 2 ou 3 parois. A 6 mois, ils ont pu observer en moyenne, une réduction de la profondeur de poche de 6 mm ainsi qu'un gain d'attache de 4.3 mm (150).

De plus, cette capacité régénératrice a été également décrite par Mizuno et al. qui ont obtenu une régénération des tissus parodontaux après avoir implanté, chez le chien dans un défaut de furcation de classe III, des cellules périostées autologues en cell sheets (158).

Ces études confirment donc le grand potentiel de ces cellules périostées hétérogènes sans même qu'il soit nécessaire d'isoler les cellules souches au préalable.

1.2.9. ASC

Le tissu adipeux est très complexe et est composé entre autre d'adipocytes matures, de pré-adipocytes, de fibroblastes, et de cellules souches adipocytaires. Des études récentes ont montré que le tissu adipeux sous-cutané fournit un grand nombre de cellules souches. En effet, ce tissu possède le pourcentage le plus élevé de cellules souches dans le corps avec 5000 ASC/g de tissu adipeux (159). En conséquence, leur utilisation en régénération parodontale apparaît très attrayante.

En 2013, Tobita et al. ont implanté des ASC avec PRP dans des défauts parodontaux sur modèles canins (144). A 2 mois, les analyses morphométrique, histologique, immunohistologique et radiologique confirment une formation néo-osseuse, cémentaire ainsi qu'une structure ligamentaire-like supérieures dans le groupe test.

Cette même équipe avait, quelques années auparavant, réalisé une étude similaire mais sur des rongeurs avec des résultats très satisfaisants. Cette nouvelle étude confirme donc le potentiel des ASC. Il a également été observé qu'en présence de PRP, il n'y avait aucune prolifération excessive de gencive ; de ce fait PRP inhiberait la prolifération gingivale en relâchant des facteurs de croissance (159).

1.3. Analyse comparative des cellules souches mésenchymateuses :

1.3.1. Selon leur capacité régénératrice

Plutôt que d'évaluer leur performance individuellement, certaines études ont cherché, dans le cadre d'une régénération parodontale, à comparer les cellules souches mésenchymateuses entre elles (**Fig.77**).

A ce jour, les PDLSC sont non seulement les cellules souches mésenchymateuses les plus utilisées en études cliniques, mais semble également présenter le plus grand potentiel de régénération. En effet, Park et al. en comparant PDLSC, DPSC et DFSC ont constaté la capacité régénératrice supérieure des PDLSC (155).

Par ailleurs, dans plusieurs modèles d'expérimentation, BMSC a fait également preuve d'une grande capacité de régénération parodontale (143,145,151). Toutefois, suite à une étude sur des rongeurs, Yu et al. rapportent que son potentiel régénérateur serait inférieur à celui de PDLSC (160).

Toutefois certains auteurs tirent des conclusions plus mitigées, en particulier, Tsumanama et al. après avoir implanté respectivement des cellules du LAD, des cellules périostées et des BMSC sur une trame de β TCP/collagène, le tout recouvert d'une membrane PGA dans un défaut parodontal sur modèle canin. A 8 semaines, grâce à l'analyse histologique et morphométrique, ils remarquèrent que le groupe LAD possédait l'épaisseur de ciment la plus importante et une formation ligamentaire nettement supérieure. Cependant, ils n'observèrent aucune différence de formation osseuse entre les groupes tests (147). Ils ont donc conclu que PDLSC était supérieur uniquement en termes de régénération cémentaire et ligamentaire.

A l'inverse, plusieurs études ne révèlent aucune différence de potentiel parmi les différentes cellules souches mésenchymateuses (136,140,154,160,161).

Kim et al. ont comparé les capacités de régénération osseuse de PDLSC et BMSC, et n'ont pas observé de différence majeure. De même, Fu et al. ne constatent aucune différence notable entre PDLSC et SHED, ni Nunez et al. entre PDLSC et les cellules périostées. Enfin, l'équipe de Yamada a réalisé une étude sur modèle canin et n'a également trouvé aucune différence clinique, radiologique ou histomorphométrique entre les groupes BMSC, DPSC et SHED (154).

Etude	Potentiel en régénération parodontale		Potentiel en régénération parodontale	Etude
(136) (154)	PDLSC = SHED BMSC = DPSC = SHED	< == >	PDLSC > DPSC > DFSC	(155)
(161)	PDLSC = BMSC	< == >	PDLSC > BMSC	(160)
(140)	PDLSC = C. cémentaires	< == >	PDL > BMSC > C. périostées	(147)

Fig. 77 : Variations des résultats selon les études cliniques

1.3.2. Selon leurs limites

Face à la démocratisation des cellules souches, les scientifiques se trouvent confrontés aux limites de leurs utilisations (**Fig. 78**).

Les PDLSC sont de loin les cellules souches les plus utilisées et sont de bons candidats dans le cadre d'une régénération parodontale. Néanmoins, leur utilisation est limitée puisque leur prélèvement se réalise suite à une extraction dentaire, qui n'est pas nécessaire dans tous les cas cliniques.

Les 2 autres sources principales de cellules souches mésenchymateuses sont la moelle osseuse et le tissu adipeux. Ces cellules sont immuno-phénotypiquement et morphologiquement identiques à PDLSC.

De même, une des limites majeures à l'utilisation de BMSC est sa méthode de prélèvement ; soit la nécessité d'une hospitalisation avec une intervention longue et douloureuse associée à un risque de morbidité du site. De ce fait, son avenir en ingénierie tissulaire semblerait compromis.

Cependant, pour les ASC, le procédé de chirurgie est facile et reproductible et les procédés d'isolement enzymatique sont simples. De plus, le fait de pouvoir être prélevé en grand nombre et de posséder 100 fois plus de MSC que la moelle osseuse, rend le tissu adipeux attractif en tant que source alternative de MSC. Toutefois, comparées aux BMSC ou aux cellules souches mésenchymateuses orales, elles présentent une capacité réduite à se différencier en os ou en cartilage (162).

Et enfin, comparées en particulier à PDLSC et à BMSC, les cellules périostées sont supérieures en terme d'abondance, mais elles présentent un plus faible potentiel de différenciation et un temps de culture plus long.

Type de cellule souche	Avantages	Inconvénients
PDLSC	-La plus grande capacité de régénération parodontale -Stabilité après cryopréservation	-Nécessite une avulsion dentaire -procédés d'isolement complexes
BMSC	-Grande capacité en régénération parodontale -Stabilité après cryopréservation -Plus grand recul clinique	-Temps de prélèvement -Hospitalisation nécessaire -Risque de morbidité du site -Douleurs post-opératoires
C. périostée	-Prélèvement aisé -Capacité de différenciation favorable	-Temps de culture
ASC	-Les plus abondantes -Prélèvement facile et reproductible	-Différenciation limitée in vitro et in vivo
GSC	-Intérêt majeur en ingénierie tissulaire souvent considéré comme déchet médical -prélèvement facile -grand pouvoir immuno-modulateur	-Prolifération limitée in vitro

Fig. 78 : Avantages et inconvénients des différents types cellules souches mésenchymateuses

III. Les challenges en régénération parodontale:

La régénération d'un parodonte sain est la stratégie thérapeutique la plus prometteuse face à un patient atteint de parodontite chronique. Les avancées récentes en biotechnologie ont encouragé les chercheurs à explorer le potentiel d'une régénération parodontale ad integrum. Ainsi des complexes parodontaux ont été générés sur modèle animal à partir de cellules souches mésenchymateuses d'origine adipeuse, issues de la moelle osseuse ou encore d'origine dentaire.

Cependant si l'on tient compte de la complexité des structures chez l'homme, les reproduire avec les moyens actuels semble compromis. En effet, avant que la régénération parodontale ad integrum devienne une réalité clinique, les chercheurs devront relever divers challenges (**Fig. 80**) qu'ils soient biologiques, techniques ou cliniques.

1. Challenge biologique

1.1. La source cellulaire

Le type de cellules utilisées influencera nettement la prédictibilité des résultats cliniques. Chaque tissu a ses propres caractéristiques biologiques et malgré des marqueurs identiques, les cellules souches mésenchymateuses provenant de sources tissulaires différentes sont influencées par leur environnement d'origine et pourraient éventuellement être déjà engagées dans une voie de différenciation spécifique (162).

En effet, le microenvironnement local et le tissu environnant sont des facteurs importants qui influencent le destin cellulaire de n'importe quelle cellule. De plus, il faudra également prendre en considération la provenance des MSC à savoir autologues, allogènes ou encore xénogènes.

1.2. Différents modèles expérimentaux

Il existe de nombreux modèles d'expérimentation parmi les études sélectionnées (**Fig. 79**). Cependant, ces modèles sont majoritairement incapables de reproduire des caractéristiques fondamentales retrouvées chez l'homme, telles que l'émergence spontanée de la maladie, la part génétique ou encore les facteurs de risques ; alors que celles-ci sont essentielles pour reproduire un modèle le plus semblable possible à l'homme (163).

Modèles	Similitude avec l'homme	Limites
Primates	-accumulation de tartre, -bactéries pathogènes -possibilité de développement spontané d'une parodontite	-coût -considération éthique -réglementation et conditions de captivité -développement plus fréquent de maladies infectieuses que de parodontites
Chiens	-bactéries pathogènes -étiopathologie -survenue de parodontite fréquente -sévérité de la maladie qui augmente avec l'âge et se termine par la perte de dents	-mouvements masticatoires différents -pas de sulcus gingival -lésions parodontales non homogènes -précaution réglementaire : besoin d'exercice, espace nécessaire, entretien
Cochons	-physiologique -pathologique -immunologique -parodontite spontanée avec dépôt de tartre	-coût -entretien
Rats	-structure gingivale -progression rapide la maladie parodontale	-occurrence de la parodontite -pas indiqués dans le cas d'études à long terme car éruption et migration dentaire continues

Fig. 79 : Avantages et inconvénients des différents modèles expérimentaux

En plus des autres animaux, le lapin peut également être utilisé en tant que modèle expérimental, cependant il n'a pas encore été utilisé dans le cadre du traitement de la parodontite mais plutôt dans celui de la péri-implantite (163).

La plupart des chercheurs induisent une parodontite sur le modèle d'expérimentation. Ainsi le défaut sur le modèle peut être soit aigu : le ciment, l'os et le ligament sont éliminés ; soit chronique : lorsqu'une ligature ou un élastomère est inséré dans une zone inter-proximale ; les 2 méthodes peuvent également être associées.

Une fois la parodontite induite, les chercheurs doivent prendre en compte des mesures cliniques (indice gingival, profondeur de poche sous gingivale, mobilité dentaire), radiologiques ainsi que des analyses bactériennes et des tests sanguins (163) pour obtenir des résultats pertinents.

Cependant, malgré les tentatives pour obtenir un modèle expérimental animal se rapprochant le plus possible du modèle humain, certains facteurs tels que le type de parodontite (chronique, agressive) ne sont toujours pas inclus en tant que paramètre au sein des études (162). En effet, la multiplicité de facteurs en parodontologie doit être prise en compte même si elle rend l'équation de la régénération plus complexe.

2. Challenge technique

2.1. Différents types de matrices

A ce jour, il existe une grande diversité de matrices utilisables en recherche clinique. De nombreuses études s'intéressent actuellement à l'association de biomatériaux pour potentialiser leur efficacité. De plus en plus de biomolécules, en particulier des facteurs de croissance, sont associées aux biomatériaux pour faciliter la régénération parodontale. Mais inévitablement, l'hétérogénéité dans les méthodologies des études rend leur comparaison difficile (164).

2.2. Le milieu de culture

Comme vu précédemment le milieu de culture agit sur la différenciation cellulaire. Sa composition exacte étant encore mal connue, on ne peut garantir que la prolifération et la différenciation cellulaires puissent s'effectuer en toute sécurité (107) ; en outre, ce dernier n'est pas suffisamment complexe pour imiter le microenvironnement humain.

3. Challenge clinique

L'ingénierie tissulaire cherche à associer des techniques complexes et précises tout en restant dans le cadre d'une utilisation clinique facile. Cependant, à ce jour, les protocoles d'isolement, coûteux et non reproductibles à grande échelle, sont une entrave à la future démocratisation de l'ingénierie tissulaire (165).

Il existe également un risque associé aux interactions entre les cellules transplantées et le système immunitaire de l'hôte même si la plupart des cellules souches mésenchymateuses possèdent à la fois une faible immunogénicité et une fonction immunosuppressive (166).

Une des principales limites à l'utilisation des cellules souches mésenchymateuses est le risque d'effets secondaires. Effectivement, les cellules souches peuvent être sujettes à une sénescence voire une instabilité génétique. De plus, on leur suppose un potentiel cancérigène qui peut être du à une implication directe par auto-transformation maligne ou une implication indirecte par effet modulateur tumoral (166).

En outre, l'effet de domiciliation permettrait aux MSC de migrer vers les cellules tumorales, d'interagir avec le stroma, d'augmenter leur croissance et d'entraîner une transformation maligne des MSC au site de la tumeur. Néanmoins à ce jour, aucune transformation maligne n'a été décrite aux cours des thérapies cellulaires parodontales.

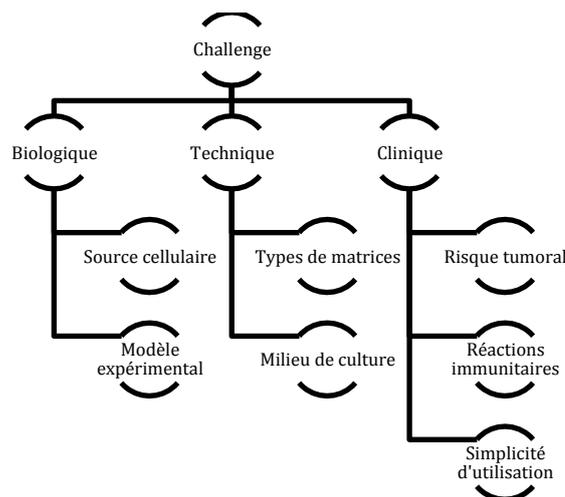


Fig. 80 : Différents challenges en régénération parodontale

IV. Les perspectives d'avenir

Chaque année, de nombreux protocoles d'études sont proposés à l'AFSSAPS et soumis à son appréciation. Par ailleurs, d'autres organismes tel que l'Agence de biomédecine, le comité de protection des personnes, l'agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM) et l'office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et des technologies (OPECST), jouent également un rôle dans l'autorisation des recherches cliniques. Une fois acceptés, ces protocoles de recherches peuvent être mis en place, et de nombreuses études sont publiées.

Même si leur potentiel clinique en régénération tissulaire semble indéniable, les mécanismes impliqués après la transplantation des cellules souches mésenchymateuses ne sont pas encore établis. Et malgré un nombre insuffisant d'études initiales et une omission des études concernant la biologie exacte des cellules souches, les pressions pour commencer les études sur sujet humain, vont grandissant.

Dans les bases de données issues de l'international clinical trials registry platform, 4 études cliniques en cours ont pu être identifiées (162) :

-2 études à bras unique utilisant ASC pour 12 patients avec des défauts intra-osseux profonds (en recrutement) et un mélange de MSC et de MSC différenciées en ostéoblastes cultivées chez 10 patients atteints de parodontite chronique (en cours)

-2 études cliniques sur la sécurité et l'efficacité de PDLSC dans une parodontite chronique, une randomisée l'autre non avec respectivement 35 et 80 patients.

Le but de l'ingénierie tissulaire est de développer, dans le cadre d'une pratique clinique, des produits, peu coûteux et rapides d'utilisation, capables de régénérer des tissus ou des organes lésés (165). Toutefois, la difficulté majeure à laquelle se trouvent confrontés les chercheurs, est de simplifier des protocoles de laboratoire complexes afin de faciliter leur mise en œuvre ; c'est le cas des IPSC.

Depuis leur découverte en 2006, les IPSC ont été obtenues à partir de DFSC, SHED, SCAP, OESC, de fibroblastes gingivaux et de fibroblastes du ligament parodontal (165).

Malgré des résultats prometteurs en régénération parodontale, la reprogrammation cellulaire demeure très complexe et incompatible avec la pratique clinique. C'est justement pour cette raison que l'étude réalisée par Obakata et son équipe s'apprête à bouleverser le domaine de l'ingénierie tissulaire.

Ils décrivent un moyen de reprogrammer des cellules adultes en cellules pluripotentes sans aucune manipulation génique. En introduisant des cellules sanguines matures de souris dans un milieu acide, l'équipe a observé, à sa grande surprise, une transformation de ces cellules en cellules pluripotentes. Ce procédé est nommé STAP (Stimulus triggered acquisition of pluripotency).

De cette manière les nombreux problèmes éthiques autour de l'utilisation de IPSC seraient résolus. De plus, il n'y aurait pas de risque de rejet immunitaire avec l'utilisation de ces cellules.

Cependant, comme pour la plupart des études cliniques, d'autres recherches sont essentielles avant d'envisager un essai sur l'homme. Cette découverte capitale va peut-être ouvrir un nouveau chapitre dans le monde médical et nous permettre alors d'entrer dans l'ère de la médecine personnalisée (167).

ETUDE	VAL EUR	SITE	TRAITEMENT			n	Tps	EVALUATION	RESULTATS
			Pré-op	Per-opérateur	Post-op				
Yamamiya K et coll. J Periodontol. 2008 (133)	B	Défaut intra-osseux avec une profondeur de poche >6 mm	LMP + S	-Cellules périostées + PRP+ HA (autologues) -HA + PRP (groupe contrôle)	AB positif opératoire 0.12% CHX	30H	12 m	<i>Clinique :</i> profondeur de poche, attache clinique, récession gingivale, saignement au sondage, indice de plaque <i>Radiologique</i> Le groupe test a présenté les meilleurs résultats avec une amélioration en terme de gain d'attache et de densité osseuse ; même si le groupe contrôle a également obtenu des résultats satisfaisants	
Menicain D et coll. Stem Cells Dev. 2014 (134)	B	Défaut intra-osseux à 1 paroi de 5 mm de profond	LMP + S	Split-mouth : -PDLSC autologues + gélatine -Gélatine seule → Tous recouverts d'une membrane ePTFE	AB positif opératoire	7M	8 s	<i>Histomorphométrique</i> <i>Immunohistochimique</i> Le groupe PDLSC présente une formation supérieure , d'os, et de fibres de collagène (similaires aux fibres de Sharpey) insérées dans un néocément	
Ding G et coll. Stem cells. 2010 (131)	B	Défaut intra-osseux à 1 paroi 3 mm de large, 5 mm de long et 7 mm de profond	LMP + S	-Groupe contrôle -HA/βTCP seul - PDLSC autogènes + HA/βTCP - PDLSC allogènes + HA/βTCP - Cellules du LAD autogènes + HA/βTCP → Les groupes tests sont recouverts d'une membrane de gélatine		15 Co	12 s	<i>Clinique :</i> profondeur de poche, récession gingivale, attache clinique <i>Radiologique</i> <i>Histomorphométrique</i> Les PDLSC allogéniques et autogènes ont amélioré de manière équivalente la régénération parodontale par rapport aux autres groupes ; avec un retour quasi ad-integrum cliniquement et radiologiquement soit une formation d'os, de ciment et de ligament	
Liu Y et coll. Stem Cells. 2008 (135)	B	Défaut intra-osseux à 1 paroi de 7 mm de long, 3 mm de large et 5 mm de profond	LMP + S	-HA/βTCP seul - PDLSC + HA/βTCP -Groupe contrôle → Les groupes tests sont recouverts d'une membrane de gélatine	AB positif opératoire 0.2%CHX	12 Co	12 s	<i>Clinique :</i> indice de plaque, saignement au sondage, profondeur de poche, récession gingivale et attache clinique <i>Radiologique</i> <i>Histopathologique</i> Le traitement par PDLSC a entraîné une régénération osseuse, ligamentaire et cémentaire avec un bon ancrage des fibres de Sharpey comparé aux autres groupes. Radiologiquement on observe un retour de niveau osseux pratiquement ad-integrum	

Fawzy El-Sayed KM et coll. J Clin Periodontol. 2012 (132)	Défaut intra-osseux à 1 paroi 3mm mésio-distal 7mm coronal apical et 5mm vestibulo-lingual	B	LMP + S	<p>Split-mouth :</p> <ul style="list-style-type: none"> -GMSC autogènes + Bio-Oss collagène -Bio-Oss seul -Matrice collagène -Lambeau et surfaçage uniquement -Groupe contrôle sans intervention <p>→ Les groupes tests sont recouverts d'une membrane de collagène</p>	AINS pendant 5 jours	8 Co	12 s	<p><i>Clinique :</i></p> <p>niveau d'attache, profondeur de poche, récession gingivale</p> <p><i>Radiologique :</i> densité et volume osseux</p> <p><i>Histologique :</i> niveau d'attache histologique, d'épithélium long de jonction et de tissu conjonctif</p>	Les traitements avec les GMSC comparés aux matrices seules ou aux groupes de contrôle, ont entraîné des meilleurs résultats en terme de gain d'attache, de diminution de la profondeur des poches, de récession gingivale et sur le plan histologique une diminution de l'épithélium long de jonction
Feng F et coll. Oral Dis. 2010 (149)	Défaut intra-osseux à 1, 2 ou 3 parois mais > à 6 mm	C	LMP + S	Cellules progénitrices du LAD autologues + Carbonate de Ca	CHX 0.2%	3 H	72 m	<p><i>Clinique :</i></p> <p>profondeur de poche, récession gingivale, attache clinique, indice de plaque, saignement au sondage</p> <p><i>Radiologique</i></p>	Les résultats ont présenté une régénération de fibres collagénocémentaires sans effets secondaires
Okuda K et coll. J Int Acad Periodontol. 2009 (150)	Défaut intra-osseux à 1, 2 ou 3 parois	C	LMP + S	Cellules périostées autologues + HA + PRP	AB post-opératoire 0.12% de CHX	3 H	6 m	<p><i>Clinique :</i></p> <p>profondeur de poche, attache clinique</p> <p><i>Radiologique</i></p>	En moyenne les résultats présentent une réduction des poches de 6 mm, un gain d'attache de 4.3 mm à 6 mois. Les cellules périostées paraissent donc prometteuses.
Feng F et coll. Formos Mcd Assoc Taiwan Yi Zhi. 1995 (152)	Défaut intra-osseux avec atteinte de furcation classe II 4 mm disto-vestibulaire et 7 mm mésio-vestibulaire	C	LMP + S	Fibroblastes gingivaux autologues + HA	AB post-opératoire 0.1% CHX	1 H	28 m	<p><i>Clinique :</i></p> <p>index gingival, de plaque, profondeur de sondage</p> <p><i>Radiologique</i></p>	Une réduction de poche et un gain d'attache, une baisse de la mobilité dentaire ainsi qu'une augmentation de densité osseuse ont pu être observés dans le groupe test.

Yamada Y et coll. J Periodontics Restorative Dent. 2006 (151)	C	Défaut intra-osseux à 1 paroi 5 mm de profondeur	LMP + S	BMSC autologues + PRP gel	0,1% de CHX	1 H	1 a	Clinique : profondeur de poche, attache clinique, saignement au sondage Radiologique : densité osseuse	Les résultats étaient satisfaisants avec une réduction de 4 mm au sondage, gain d'attache clinique de 4 mm avec une disparition du saignement et de la mobilité dentaire
Fu X et coll. J Periodontol. 2013 (136)	C	Défaut intra-osseux à 1 paroi 5 x 5 x 7 mm	LMP + S	Split mouth : -HA/βTCP seul - PDLSC allogènes+ HA/βTCP - SHED allogènes + HA/βTCP → les groupes tests sont recouverts d'une membrane gélatine		6 Co	12 s	Clinique : profondeur de poche, récession gingivale, attache clinique Radiologique Histologique	Aucune différence notable entre les groupes PDLSC et SHED, tous les 2 ont nettement amélioré la régénération parodontale avec une très faible zone inflammatoire.
Sonoyama W et coll. PLoS ONE. 2006 (91)	C	Alvéole dentaire		Split mouth : -HA/βTCP seul -PDLSC + SCAP + HA/βTCP + gélatine		6 Co	4 s	Histologique Radiologique	Une régénération parodontale était observable dans les groupes tests avec la formation d'une bio-racine présentant une bonne force compressive
Kawaguchi H et coll. J Periodontol. 2004 (143)	C	Défaut intra-osseux avec atteinte de furcation de classe III 4mm profond	LMP + S	Split mouth : - BMSC (autologues) + atelocollagène -Atelocollagène seul	Povidone iodine 0.2%	12 Ch	1 m	Clinique : profondeur de poche, attache clinique, récession gingivale Histologique Histomorphométrique	Dans le groupe BMSC, un néocément recouvrait quasiment toute la racine dénudée, associé à une formation osseuse et ligamentaire (fibres de Sharpey). Mais le retour ad-integrum osseux n'a pas été obtenu Aucune résorption ou ankylose radiculaire
Khorsand A et coll. J Oral Implantol. 2013 (137)	C	Défaut intra-osseux à 3 parois 3 mm vestibulo-lingual 5mm corono-apical 8 mm mésio-distal	LMP + S	Split mouth : -DPSC autogène + 3 ou 4 granules de Bio-Oss -3 ou 4 granules de Bio-Oss	AB post-opératoire ATG CHX	10 Ch	8 s	Histologique Histomorphométrique	Le cément généré en présence de DPSC était plus épais et recouvrait une surface plus importante comparé au groupe contrôle De même la formation ligamentaire était plus importante dans le groupe test Par contre aucune différence de formation osseuse n'a été visible entre les 2 groupes

Tobita M et coll. Cytotherapy. 2013 (144)	C	Défaut intra-osseux avec atteinte de furcation classe III 5mm de profondeur	/	Split mouth : -ASC + PRP gel -PRP gel -Aucun traitement	/	8 Ch	2 m	<i>Histologique</i> <i>Immunohistologique</i> <i>Radiologique</i> <i>Morphométrique</i>	La formation osseuse, cémentaire et la structure ligamentaire-like étaient plus importantes dans le groupe ASC/PRP Le groupe sans traitement a présenté une invasion gingivale
Suaid FF et coll. J Clin Periodontol. 2012 (142)	C	Défaut intra-osseux avec une atteinte de furcation classe III 5 mm apico-occlusal	LMP + S	Split-mouth : -Aucun traitement -ePTFE seul -Collagène + ePTFE - Cellules LAD autologues + collagène + ePTFE	0.2% CHX	7 Ch	3 m	<i>Histomorphométrique:</i> - longueur : du défaut, de la zone sans tissu, du néocément, de la régénération parodontale et de l'épithélium -surface : totale du défaut, de la zone non recouverte, du tissu mou et dur	Le groupe avec les cellules LAD présentait une meilleure régénération parodontale, avec une largeur cémentaire et osseuse plus importante.
Suaid FF et coll. J Clin Periodontol. 2011 (141)	C	Défaut intra-osseux avec atteinte de furcation classe II 5 mm corono-apical et 2mm vestibulo-lingual	LMP + S	Split mouth : -Cellules LAD autologues + collagène -Collagène seul → Les groupes tests sont recouverts d'une membrane de ePTFE	0.2% CHX	7 Ch	3 m	<i>Histomorphométrique:</i> - longueur : du défaut, de la zone sans tissu, du néocément, de la régénération parodontale et de l'épithélium -surface : totale du défaut, de la zone non recouverte, du tissu mou et dur	Les résultats ont présenté une meilleure régénération parodontale dans le groupe avec les cellules LAD
Nakahara T et coll. Tissue Eng. 2004 (138)	C	Défaut intra-osseux à I paroi 6x4 mm	LMP + S	Split mouth : -PDLSC autogène + collagène -Collagène seul -aucun traitement → Tous les groupes sont recouverts de e-PTFE	/	6 Ch	4 s	<i>Histomorphométrique:</i> hauteur du défaut d'os, régénération osseuse et cémentaire: coronaires, apicales et isolées.	La formation cémentaire était nettement plus importante avec PDLSC Mais il n'y avait aucune différence de formation osseuse entre les différents groupes.
Hasegawa N et coll. J Periodontol. 2006 (145)	C	Défaut intra-osseux avec atteinte de furcation Classe III	LMP + S	Split mouth : -BMSC allogènes + atelocollagène -Aucun traitement	0.2% povidone iodine	6 Ch	4 s	<i>Morphologique</i> <i>Immunohistochimique</i>	La régénération parodontale était presque complète dans le groupe test avec un néocément qui recouvrait la casi-totalité de la racine dénudée accompagné d'une formation ligamentaire importante. Par contre, la formation osseuse n'était pas ad-Integrum

Akizuki T et coll. J Periodontal Res. 2005 (47)	C	Défaut intra-osseux à 1 paroi 5 x 5 mm	LMP + S	Split mouth : -Cellules LAD autologues + acide hyaluronique -Acide hyaluronique seul	AB post-opératoire 2% CHX	5 Ch	8 s	<i>Histologique</i> <i>Histométrique</i>	Il n'y avait pas de signes d'inflammation ou de récession dans les 2 groupes. Les formations de cément , d'os et de ligament dans le groupe test étaient supérieures au groupe contrôle
Inukai T et coll. Biochem Biophys Res Commun. 2013 (139)	C	Défaut intra-osseux à 1 paroi	LMP + S	Split mouth : - PDL allogènes + MSC + atélocollagène + -Atélocollagène + Phosphate buffered saline -Aucun traitement	AB post-opératoire	5 Ch	4 s	<i>Histologique</i> <i>Radiologique</i> : -hauteur de néocément -hauteur d'os régénéré -surface d'os régénéré	Les hauteurs cémentaire, osseuse, et la surface osseuse étaient plus importantes dans le groupe comprenant les PDLSC
Li H et coll. Cells Tissues Organs. 2009 (146)	C	Défaut intra-osseux à 1 paroi 5x5 mm	LMP + S	Split mouth : - BMSC autologues cryopréservées + collagène - BMSC autologues seules -Collagène seul	AB post-opératoire	5 Ch	8 s	<i>Histomorphométrie</i> <i>Histologique</i>	Cryopréservée ou non BMSC a présenté une meilleure régénération parodontale avec néoformation osseuse, cémentaire et ligamentaire comparé au groupe de collagène seul
Tsumanuma Y et coll. Biomaterials. 2011 (147)	C	Défaut intra-osseux à 1 paroi 5x5 mm	LMP + S	Split mouth : - Cellules PDL autologues - BMSC autologues - Cellules périostées autologues -aucun traitement → Les groupes tests sont complétés avec β TCP/Coll puis recouverts membrane de PGA	AB post-opératoire 2%CHX	4 Ch	8 s	<i>Histométrique</i> <i>Morphométrique</i> : -épaisseur cémentaire -% de formation d'os -épithélium long de jonction	Le groupe cellules PDL présente une épaisseur cémentaire plus importante . De plus dans ce groupe, la présence de fibres de collagène correctement orientées est constatées ; alors qu'elles sont obliques pour le groupe BMSC et parallèles dans le groupe de cellules du périoste. En revanche, il n'y avait pas de différence de formation osseuse ou d'épithélium long de jonction entre les différents groupes

Nuñez J et coll. J Periodontal Res. 2012 (140)	C	Défaut intra-osseux à 3 parois 3 mm de large, 4 mm de mm de profondeur	LMP + S	Split mouth : -Cellules cémentaires autologues + collagène -PDLSC autologues + collagène -culture medium + collagène	AB post-opératoire AINS CHX 0.12%	4 Ch	3 m	Histologique Histométrique	Des taux plus importants de ciment ont été retrouvés dans les groupes tests ainsi qu'un gain d'attache et de tissu conjonctif plus important. Des résultats similaires sont observés dans les différents groupes tests
Iwata T et coll. Biomaterials. 2009 (46)	C	Défaut intra-osseux à 3 parois 5mm de profondeur, 5 mm mésio-distal, 4 mm vestibulo-lingual	LMP + S	-Cellules LAD autogènes + PGA + β TCP -PGA seul	AB post-opératoire CHX 2%	4 Ch	6 s	Histométrique Morphométrique Radiologique	Les cellules LAD ont permis une régénération osseuse et cémentaire avec un collagène bien orienté alors qu'une formation osseuse limitée a pu être observée dans le groupe contrôle
Simsck SB et coll. Clin Oral Investig. 2012 (148)	C	Défaut intra-osseux avec atteinte de furcation classe II 5 mm corono-apical et 2 mm vestibulo-lingual	LMP + S	Split mouth : -Aucun traitement -PRP autologue -Os autogène -Os autogène + PRP -BMSC + PRP autologues	0.2% de CHX	3 Ch	8 s	Histomorphométrique	La formation de ciment, d'os alvéolaire était plus importante dans les 3 derniers groupes même si parmi ces 3 groupes BMSC présentait le plus grand potentiel en régénération parodontale

Fig. 81 : Etudes cliniques associant cellules mésenchymateuses et biomatériaux en régénération parodontale

Légende : H : homme, M : mouton, Co : cochon, Ch : chien ; a : an, m : mois, s : semaine ; AB : antibiotique, AINS : anti-inflammatoire stéroïdien ; LMP : lambeau muco-périosté, S : surfaçage.

Face au refus de vieillir, phénomène de société récent, le chirurgien dentiste a recours à tous les moyens possibles pour éviter l'extraction dentaire, synonyme d'échec thérapeutique. Cependant, le vieillissement général de la population rend l'apparition de pathologies comme la parodontite chronique inévitable.

Les moyens disponibles sur le marché ne suffisent plus à lutter contre la conséquence ultime de la parodontite : la perte de dents. Ainsi, ces dernières années, la régénération tissulaire du complexe parodontal par l'association de cellules souches et de biomatériaux, a suscité un intérêt croissant en ingénierie tissulaire.

Certains chercheurs considèrent qu'une régénération tissulaire n'est possible qu'en associant 4 éléments clés à savoir un échafaudage, des cellules souches, des facteurs de croissance et une vascularisation adéquate.

L'utilisation de biomatériaux en pratique clinique, présente des résultats encourageants grâce à une stimulation endogène des cellules in situ. Mais ces résultats sont très variables et non prévisibles, car ils dépendent des capacités intrinsèques du sujet. De ce fait, est née l'idée d'un apport exogène de cellules souches par l'intermédiaire d'un biomatériau, qui viendrait compléter le recrutement endogène.

D'origine naturelle ou synthétique, les biomatériaux ont, pour la majorité, des propriétés inductrices et s'intègrent facilement au tissu. De plus, ils peuvent influencer le comportement et le destin cellulaire in vivo. Conçus pour posséder des informations complexes codées dans leur structure, ils doivent imiter le plus fidèlement possible la matrice extracellulaire naturelle, être capables de supporter l'attachement cellulaire, voire dans certains cas, de fournir les signaux nécessaires au contrôle du développement spatial et temporel. Quant au choix du biomatériau, il dépendra des situations et des objectifs cliniques.

D'abord, identifiées dans la moelle osseuse, puis au sein de la cavité buccale, les cellules souches mésenchymateuses sont caractérisées par leur capacité d'auto-renouvellement ainsi que par leur potentiel de différenciation, plus ou moins avancé ou restreint selon leur tissu d'origine. Après leur prélèvement, les cellules souches, pluripotentes ou multipotentes, sont d'abord isolées puis différenciées par l'intermédiaire d'un milieu de culture particulier, elles sont ensuiteensemencées sur un biomatériau adapté avant d'être placées au sein du défaut parodontal.

Les développements dans le domaine des matrices polymériques ou céramiques ont nettement progressé ; ces dernières permettent une libération de cellules souches, de facteurs de croissance ou encore une libération génique. Il nous a donc paru intéressant de faire un état de lieux des études en régénération parodontale à l'aide de cellules souches mésenchymateuses associées à un biomatériau. Après une sélection précise, 25 études ont été retenues ; réalisées en majorité sur modèle animal, elles présentent pour la plupart des résultats positifs. En effet, une grande partie des études a montré qu'en présence de cellules souches mésenchymateuses, les formations osseuse, cémentaire et ligamentaire avec une orientation correcte des fibres de Sharpey, étaient supérieures à celles des groupes contrôles. Même si les études sélectionnées étaient de faible puissance, nous pouvons conclure à travers cette analyse, à l'avenir certain des cellules mésenchymateuses en régénération parodontale. Cela étant, il est indispensable de réaliser davantage d'études de plus forte puissance afin d'en tirer des conclusions plus probantes.

Toutefois, certains aspects de la régénération parodontale sont à prendre en considération, tels que, entre autres, le risque tumoral et les problèmes éthiques liés à l'utilisation de cellules souches embryonnaires.

Malgré certains risques que peuvent présenter les cellules souches, leurs bénéfices sont tout de même confirmés par la majorité des chercheurs. C'est en effet le domaine d'études médicales le plus prometteur de notre siècle ; car au delà du traitement de la parodontite, les cellules souches pourraient être des moyens de guérir les maladies dégénératives neurales comme par exemple Alzheimer ou Parkinson.

En conclusion, malgré un manque de recul évident, les avancées dans le domaine de la régénération parodontale, basées sur une approche multidisciplinaire combinant biologie, médecine et ingénierie, vont indéniablement révolutionner le monde médical, inversant les lois de la nature et offrant à l'être humain la possibilité d'une éternelle jeunesse.

BIBLIOGRAPHIE

1. Lymeri S, Ligoudistianou C, Taraslia V, Kontakiotis E, Anastasiadou E. Dental Stem Cells and their Applications in Dental Tissue Engineering. *Open Dent J.* 2013;7:76.
2. Bluteau G, Luder HU, De Bari C, Mitsiadis TA. Stem cells for tooth engineering. *Eur Cell Mater.* 2008;16:1-9.
3. Bartold P, Mcculloch CA, Narayanan AS, Pitaru S. Tissue engineering: a new paradigm for periodontal regeneration based on molecular and cell biology. *Periodontol 2000.* 2000;24(1):253-69.
4. Sedgley CM, Botero TM. Dental stem cells and their sources. *Dent Clin North Am.* 2012;56(3):549-561.
5. Polimeni G, Xiropaidis AV, Wikesjö UM. Biology and principles of periodontal wound healing/regeneration. *Periodontol 2000.* 2006;41(1):30-47.
6. Bartold PM, Xiao Y, Lyngstaadas SP, Paine ML, Snead ML. Principles and applications of cell delivery systems for periodontal regeneration. *Periodontol 2000.* 2006;41(1):123-35.
7. Cochran DL, Wozney JM. Biological mediators for periodontal regeneration. *Periodontol 2000.* 1999;19(1):40-58.
8. Baraniak PR, McDevitt TC. Stem cell paracrine actions and tissue regeneration. *Regen Med.* 2010;5(1):121-143.
9. Darby I. Periodontal materials. *Aust Dent J.* 2011;56 Suppl 1:107-118.
10. Graziani F, Gennai S, Cei S, Cairo F, Baggiani A, Miccoli M, et al. Clinical performance of access flap surgery in the treatment of the intrabony defect. A systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *J Clin Periodontol.* 2012;39(2):145-156.
11. Villar CC, Cochran DL. Regeneration of periodontal tissues: guided tissue regeneration. *Dent Clin North Am.* 2010;54(1):73-92.
12. Lin N-H, Menicanin D, Mroziak K, Gronthos S, Bartold PM. Putative stem cells in regenerating human periodontium. *J Periodontal Res.* 2008
13. Chen F-M, Zhang J, Zhang M, An Y, Chen F, Wu Z-F. A review on endogenous regenerative technology in periodontal regenerative medicine. *Biomaterials.* 2010;31(31):7892-7927.
14. Laaksonen M, Sorsa T, Salo T. Emdogain in carcinogenesis: a systematic review of in vitro studies. *J Oral Sci.* 2010;52(1):1-11.
15. Tresco PA, Biran R, Noble MD. Cellular transplants as sources for therapeutic agents. *Adv Drug Deliv Rev.* 2000;42(1):3-27.
16. Ishikawa I, Iwata T, Washio K, Okano T, Nagasawa T, Iwasaki K, et al. Cell sheet engineering and other novel cell-based approaches to periodontal regeneration. *Periodontol 2000.* 2009;51(1):220-38.
17. Flores MG, Hasegawa M, Yamato M, Takagi R, Okano T, Ishikawa I. Cementum-periodontal ligament complex regeneration using the cell sheet technique. *J Periodontal Res.* 2008;43(3):364-371.
18. Scheller EL, Krebsbach PH, Kohn DH. Tissue engineering: state of the art in oral rehabilitation. *J Oral Rehabil.* 2009;36(5):368-389.
19. Nyman S, Gottlow J, Karring T, Lindhe J. The regenerative potential of the periodontal ligament. An experimental study in the monkey. *J Clin Periodontol.* 1982;9(3):257-265.
20. Yamanaka S. Strategies and New Developments in the Generation of Patient-Specific Pluripotent Stem Cells. *Cell Stem Cell.* 2007;1(1):39-49.

21. Friedenstein AJ, Gorskaja JF, Kulagina NN. Fibroblast precursors in normal and irradiated mouse hematopoietic organs. *Exp Hematol.* 1976;4(5):267-274.
22. Mao JJ, Giannobile WV, Helms JA, Hollister SJ, Krebsbach PH, Longaker MT, et al. Craniofacial tissue engineering by stem cells. *J Dent Res.* 2006;85(11):966-79.
23. Gay I, Chen S, MacDougall M. Isolation and characterization of multipotent human periodontal ligament stem cells. *Orthod Craniofac Res.* 2007;10(3):149-60.
24. Gronthos S, Mrozik K, Shi S, Bartold PM. Ovine Periodontal Ligament Stem Cells: Isolation, Characterization, and Differentiation Potential. *Calcif Tissue Int.* 10 2006;79(5):310-317.
25. Miura M, Gronthos S, Zhao M, Lu B, Fisher LW, Robey PG, et al. SHED: stem cells from human exfoliated deciduous teeth. *Proc Natl Acad Sci.* 2003;100(10):5807-12.
26. Gronthos S, Mankani M, Brahimi J, Robey PG, Shi S. Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci.* 2000;97(25):13625-30.
27. Sonoyama W, Liu Y, Yamaza T, Tuan RS, Wang S, Shi S, et al. Characterization of the Apical Papilla and Its Residing Stem Cells from Human Immature Permanent Teeth: A Pilot Study. *J Endod.* 2008;34(2):166-171.
28. Seo B-M, Miura M, Gronthos S, Mark Bartold P, Batouli S, Brahimi J, et al. Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament. *The Lancet.* 2004;364(9429):149-55.
29. Morszeck C, Moehl C, Götz W, Heredia A, Schäffer TE, Eckstein N, et al. In vitro differentiation of human dental follicle cells with dexamethasone and insulin. *Cell Biol Int.* 2005;29(7):567-575.
30. Kémoun P, Laurencin-Dalicieux S, Rue J, Farges J-C, Gennero I, Conte-Auriol F, et al. Human dental follicle cells acquire cementoblast features under stimulation by BMP-2/-7 and enamel matrix derivatives (EMD) in vitro. *Cell Tissue Res.* 2007;329(2):283-294.
31. Yokoi T, Saito M, Kiyono T, Iseki S, Kosaka K, Nishida E, et al. Establishment of immortalized dental follicle cells for generating periodontal ligament in vivo. *Cell Tissue Res.* 2006;327(2):301-311.
32. Zhu Y, Liu T, Song K, Fan X, Ma X, Cui Z. Adipose-derived stem cell: a better stem cell than BMSC. *Cell Biochem Funct.* 2008;26(6):664-675.
33. Nelson TJ, Martinez-Fernandez A, Yamada S, Ikeda Y, Perez-Terzic C, Terzic A. Induced pluripotent stem cells: advances to applications. *Stem Cells Cloning Adv Appl.* 2010;3:29-37.
34. Nakahara T. Potential feasibility of dental stem cells for regenerative therapies: stem cell transplantation and whole-tooth engineering. *Odontology.* 2011;99(2):105-111.
35. Kim Y-T, Park J-C, Choi S-H, Cho K-S, Im G-I, Kim B-S, et al. The dynamic healing profile of human periodontal ligament stem cells: histological and immunohistochemical analysis using an ectopic transplantation model: Regenerative process by human periodontal ligament stem cells. *J Periodontal Res.* 2012;47(4):514-524.
36. Kelm JM, Fussenegger M. Scaffold-free cell delivery for use in regenerative medicine. *Adv Drug Deliv Rev.* 2010;62(7-8):753-764.
37. Murray PE. Constructs and scaffolds employed to regenerate dental tissue. *Dent Clin North Am.* 2012;56(3):577-588.
38. Taba M, Jin Q, Sugai J, Giannobile W. Current concepts in periodontal bioengineering. *Orthod Craniofac Res.* 2005;8(4):292-302.
39. Zivkovic P, Petrovic V, Najman S, Stefanovic V. Stem Cell-Based Dental Tissue Engineering. *Sci World J.* 2010;10:901-916.

40. Vaquette C, Fan W, Xiao Y, Hamlet S, Hutmacher DW, Ivanovski S. A biphasic scaffold design combined with cell sheet technology for simultaneous regeneration of alveolar bone/periodontal ligament complex. *Biomaterials*. 2012;33(22):5560-5573.
41. Sanchez-Lara PA, Zhao H, Bajpai R, Abdelhamid AI, Warburton D. Impact of Stem Cells in Craniofacial Regenerative Medicine. *Front Physiol* [Internet]. 2012 [cité 14 nov 2013];3. Disponible sur: http://www.frontiersin.org/Craniofacial_Biology/10.3389/fphys.2012.00188/abstract
42. Xiao Y, Haase H, Young WG, Bartold PM. Development and transplantation of a mineralized matrix formed by osteoblasts in vitro for bone regeneration. *Cell Transplant*. 2004;13(1):15-25.
43. Zhang L, Morsi Y, Wang Y, Li Y, Ramakrishna S. Review scaffold design and stem cells for tooth regeneration. *Jpn Dent Sci Rev*. 2013;49(1):14-26.
44. Phadke A, Hwang Y, Kim SH, Kim SH, Yamaguchi T, Masuda K, et al. Effect of scaffold microarchitecture on osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells. *Eur Cell Mater*. 2013;25:114-128; discussion 128-129.
45. Le Nihouannen D, Daculsi G, Saffarzadeh A, Gauthier O, Delplace S, Pilet P, et al. Ectopic bone formation by microporous calcium phosphate ceramic particles in sheep muscles. *Bone*. 2005;36(6):1086-1093.
46. Iwata T, Yamato M, Tsuchioka H, Takagi R, Mukobata S, Washio K, et al. Periodontal regeneration with multi-layered periodontal ligament-derived cell sheets in a canine model. *Biomaterials*. 2009;30(14):2716-2723.
47. Akizuki T, Oda S, Komaki M, Tsuchioka H, Kawakatsu N, Kikuchi A, et al. Application of periodontal ligament cell sheet for periodontal regeneration: a pilot study in beagle dogs. *J Periodontol Res*. 2005;40(3):245-251.
48. Isenberg BC, Tsuda Y, Williams C, Shimizu T, Yamato M, Okano T, et al. A thermoresponsive, microtextured substrate for cell sheet engineering with defined structural organization. *Biomaterials*. 2008;29(17):2565-2572.
49. Akiyama K, Chen C, Gronthos S, Shi S. Lineage Differentiation of Mesenchymal Stem Cells from Dental Pulp, Apical Papilla, and Periodontal Ligament. In: Kiousi C, éditeur. *Odontogenesis* [Internet]. Totowa, NJ: Humana Press; 2012 [cité 14 nov 2013]. p. 111-121. Disponible sur: http://www.springerlink.com/index/10.1007/978-1-61779-860-3_11
50. Mano JF, Silva GA, Azevedo HS, Malafaya PB, Sousa RA, Silva SS, et al. Natural origin biodegradable systems in tissue engineering and regenerative medicine: present status and some moving trends. *J R Soc Interface*. 2007;4(17):999-1030.
51. Moioli EK, Clark PA, Xin X, Lal S, Mao JJ. Matrices and scaffolds for drug delivery in dental, oral and craniofacial tissue engineering. *Adv Drug Deliv Rev*. 2007;59(4-5):308-324.
52. Sun J, Tan H. Alginate-Based Biomaterials for Regenerative Medicine Applications. *Materials*. 2013;6(4):1285-1309.
53. Wang Y, Kim H-J, Vunjak-Novakovic G, Kaplan DL. Stem cell-based tissue engineering with silk biomaterials. *Biomaterials*. 2006;27(36):6064-6082.
54. Zhang L, Wang P, Mei S, Li C, Cai C, Ding Y. In vivo alveolar bone regeneration by bone marrow stem cells/fibrin glue composition. *Arch Oral Biol*. 2012;57(3):238-244.
55. Guo J, Chen H, Wang Y, Cao C-B, Guan G-Q. A novel porcine acellular dermal matrix scaffold used in periodontal regeneration. *Int J Oral Sci*. 2013;5(1): 37-43.
56. Rosa V, Della Bona A, Cavalcanti BN, Nör JE. Tissue engineering: From research to dental clinics. *Dent Mater*. 2012;28(4):341-348.

57. D' Aquino R, De Rosa A, Lanza V, Tirino V, Laino L, Graziano A, et al. Human mandible bone defect repair by the grafting of dental pulp stem/progenitor cells and collagen sponge biocomplexes. *Eur Cell Mater.* 2009;18:75-83.
58. Rosa V, Della Bona A, Cavalcanti BN, Nör JE. Tissue engineering: From research to dental clinics. *Dent Mater.* avr 2012;28(4):341-348.
59. Egusa H, Sonoyama W, Nishimura M, Atsuta I, Akiyama K. Stem cells in dentistry – Part I: Stem cell sources. *J Prosthodont Res.* 2012;56(3):151-165.
60. Hubbell JA. Materials as morphogenetic guides in tissue engineering. *Curr Opin Biotechnol.* 2003;14(5):551-558.
61. Hunter KT, Ma T. In vitro evaluation of hydroxyapatite-chitosan-gelatin composite membrane in guided tissue regeneration. *J Biomed Mater Res A.* 2013;101(4):1016-1025.
62. Shue Li, Yufeng Zhang, Mony Ullas. Biomaterials for periodontal regeneration. *Biomater.* 2(4):271-277.
63. Galler KM, Cavender A, Yuwono V, Dong H, Shi S, Schmalz G, et al. Self-assembling peptide amphiphile nanofibers as a scaffold for dental stem cells. *Tissue Eng Part A.* 2008;14(12):2051-2058.
64. Ge, Zhao, Wang, Yu, Liu, Song, et al. Bone repair by periodontal ligament stem cell-seeded nanohydroxyapatite-chitosan scaffold. *Int J Nanomedicine.* 2012;5405.
65. Busilacchi A, Gigante A, Mattioli-Belmonte M, Manzotti S, Muzzarelli RAA. Chitosan stabilizes platelet growth factors and modulates stem cell differentiation toward tissue regeneration. *Carbohydr Polym.* 2013;98(1):665-676.
66. Thomson RC, Shung AK, Yaszemski MJ, Mikos AG. Chapter 21: Polymer Scaffold Processing. In: Lanza RP, Langer R, Vacanti J, éditeurs. *Principles of Tissue Engineering (Second Edition)* [Internet]. San Diego: Academic Press; 2000 [cité 2 déc 2013]. p. 251-262. Disponible sur: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780124366305500258>
67. Hoppe A, Güldal NS, Boccaccini AR. A review of the biological response to ionic dissolution products from bioactive glasses and glass-ceramics. *Biomaterials.* 2011;32(11):2757-2774.
68. Padilla S, Sánchez-Salcedo S, Vallet-Regí M. Bioactive and biocompatible pieces of HA/sol-gel glass mixtures obtained by the gel-casting method. *J Biomed Mater Res A.* 2005;75(1):63-72.
69. Elkins AD, Jones LP. The effects of plaster of Paris and autogenous cancellous bone on the healing of cortical defects in the femurs of dogs. *Vet Surg VS.* 1988;17(2):71-76.
70. Struillou X, Boutigny H, Badran Z, Fella BH, Gauthier O, Sourice S, et al. Treatment of periodontal defects in dogs using an injectable composite hydrogel/biphasic calcium phosphate. *J Mater Sci Mater Med.* 2011;22(7):1707-1717.
71. Struillou X, Rakic M, Badran Z, Macquigneau L, Colombeix C, Pilet P, et al. The association of hydrogel and biphasic calcium phosphate in the treatment of dehiscence-type peri-implant defects: an experimental study in dogs. *J Mater Sci Mater Med.* 2013;24(12):2749-2760.
72. Even-Ram S, Yamada KM. Cell migration in 3D matrix. *Curr Opin Cell Biol.* 2005;17(5):524-532.
73. Lutolf M p., Raeber G p., Zisch A h., Tirelli N, Hubbell J a. Cell-Responsive Synthetic Hydrogels. *Adv Mater.* 2003;15(11):888-92.
74. Lowry WE, Richter L, Yachechko R, Pyle AD, Tchieu J, Sridharan R, et al. Generation of human induced pluripotent stem cells from dermal fibroblasts. *Proc Natl Acad Sci.* 2008;105(8):2883-8.

75. Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, Schwartz RE, Keene CD, Ortiz-Gonzalez XR, et al. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature*. 2002;418(6893):41-49.
76. Takahashi K, Yamanaka S. Induction of Pluripotent Stem Cells from Mouse Embryonic and Adult Fibroblast Cultures by Defined Factors. *Cell*. 2006;126(4):663-676.
77. Tada M, Tada T, Lefebvre L, Barton SC, Surani MA. Embryonic germ cells induce epigenetic reprogramming of somatic nucleus in hybrid cells. *EMBO J*. 1997;16(21):6510-6520.
78. Egusa H, Okita K, Kayashima H, Yu G, Fukuyasu S, Saeki M, et al. Gingival Fibroblasts as a Promising Source of Induced Pluripotent Stem Cells. *Klymkowsky M, éditeur. PLoS ONE*. 2010;5(9):e12743.
79. Li H-Y, Chien Y, Chen Y-J, Chen S-F, Chang Y-L, Chiang C-H, et al. Reprogramming induced pluripotent stem cells in the absence of c-Myc for differentiation into hepatocyte-like cells. *Biomaterials*. 2011;32(26):5994-6005.
80. Nakano N, Nakai Y, Seo T-B, Yamada Y, Ohno T, Yamanaka A, et al. Characterization of conditioned medium of cultured bone marrow stromal cells. *Neurosci Lett*. 2010;483(1):57-61.
81. Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, Schwartz RE, Keene CD, Ortiz-Gonzalez XR, et al. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature*. 4 juill 2002;418(6893):41-49.
82. Han J, Okada H, Takai H, Nakayama Y, Maeda T, Ogata Y. Collection and culture of alveolar bone marrow multipotent mesenchymal stromal cells from older individuals. *J Cell Biochem*. 2009;107(6):1198-1204.
83. Colter DC, Class R, DiGirolamo CM, Prockop DJ. Rapid expansion of recycling stem cells in cultures of plastic-adherent cells from human bone marrow. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000;97(7):3213-3218.
84. Huang GT-J, Gronthos S, Shi S. Mesenchymal Stem Cells Derived from Dental Tissues vs. Those from Other Sources: Their Biology and Role in Regenerative Medicine. *J Dent Res*. 2009;88(9):792-806.
85. Chen L, Tredget EE, Wu PYG, Wu Y. Paracrine Factors of Mesenchymal Stem Cells Recruit Macrophages and Endothelial Lineage Cells and Enhance Wound Healing. *Bozza P, éditeur. PLoS ONE*. 2008;3(4):e1886.
86. Rodríguez-Lozano F, Insausti C, Iniesta F, Blanquer M, Ramírez M, Meseguer L, et al. Mesenchymal dental stem cells in regenerative dentistry. *Med Oral Patol Oral Cirugia Bucal*. 2012;e1062-e1067.
87. Tsukamoto Y, Fukutani S, Shin-Ike T, Kubota T, Sato S, Suzuki Y, et al. Mineralized nodule formation by cultures of human dental pulp-derived fibroblasts. *Arch Oral Biol*. 1992;37(12):1045-1055.
88. Park J-C, Kim J-M, Jung I-H, Kim JC, Choi S-H, Cho K-S, et al. Isolation and characterization of human periodontal ligament (PDL) stem cells (PDLSCs) from the inflamed PDL tissue: in vitro and in vivo evaluations: Stem cells from inflamed PDL. *J Clin Periodontol*. 2011;38(8):721-731.
89. Fawzy El-Sayed KM, Dörfer C, Fändrich F, Gieseler F, Moustafa MH, Ungefroren H. Adult Mesenchymal Stem Cells Explored in the Dental Field. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2012 [cité 14 nov 2013]. Disponible sur: http://link.springer.com/10.1007/10_2012_151
90. Egusa H, Sonoyama W, Nishimura M, Atsuta I, Akiyama K. Stem cells in dentistry – Part II: Clinical applications. *J Prosthodont Res*. 2012;56(4):229-248.
91. Sonoyama W, Liu Y, Fang D, Yamaza T, Seo B-M, Zhang C, et al. Mesenchymal Stem Cell-Mediated Functional Tooth Regeneration in Swine. *Csete M, éditeur. PLoS ONE*. 2006;1(1):e79.
92. Murakami S. Periodontal tissue regeneration by signaling molecule (s): what role does basic fibroblast growth factor (FGF-2) have in periodontal therapy? *Periodontol 2000*. 2011;56(1):188-208.
93. Seo B-M, Miura M, Sonoyama W, Coppe C, Stanyon R, Shi S. Recovery of stem cells from cryopreserved periodontal ligament. *J Dent Res*. 2005;84(10):907-912.

94. McCulloch CA, Bordin S. Role of fibroblast subpopulations in periodontal physiology and pathology. *J Periodontal Res.* 1991;26(3 Pt 1):144-154.
95. Orciani M, Trubiani O, Vignini A, Mattioli-Belmonte M, Di Primio R, Salvolini E. Nitric oxide production during the osteogenic differentiation of human periodontal ligament mesenchymal stem cells. *Acta Histochem.* 2009;111(1):15-24.
96. Liu N, Shi S, Deng M, Tang L, Zhang G, Liu N, et al. High levels of β -catenin signaling reduce osteogenic differentiation of stem cells in inflammatory microenvironments through inhibition of the noncanonical Wnt pathway. *J Bone Miner Res.* 2011;26(9):2082-2095.
97. Guo W, Gong K, Shi H, Zhu G, He Y, Ding B, et al. Dental follicle cells and treated dentin matrix scaffold for tissue engineering the tooth root. *Biomaterials.* 2012;33(5):1291-1302.
98. Yagyuu T, Ikeda E, Ohgushi H, Tadokoro M, Hirose M, Maeda M, et al. Hard tissue-forming potential of stem/progenitor cells in human dental follicle and dental papilla. *Arch Oral Biol.* 2010;55(1):68-76.
99. Marynka-Kalmani K, Treves S, Yafee M, Rachima H, Gafni Y, Cohen MA, et al. The Lamina Propria of Adult Human Oral Mucosa Harbors a Novel Stem Cell Population. *STEM CELLS.* 2010;28(5):984-95.
100. Izumi K, Terashi H, Marcelo CL, Feinberg SE. Development and characterization of a tissue-engineered human oral mucosa equivalent produced in a serum-free culture system. *J Dent Res.* 2000;79(3):798-805.
101. Izumi K, Feinberg SE, Terashi H, Marcelo CL. Evaluation of transplanted tissue-engineered oral mucosa equivalents in severe combined immunodeficient mice. *Tissue Eng.* 2003;9(1):163-174.
102. Yang H, Gao L-N, An Y, Hu C-H, Jin F, Zhou J, et al. Comparison of mesenchymal stem cells derived from gingival tissue and periodontal ligament in different incubation conditions. *Biomaterials.* 2013;34(29):7033-7047.
103. Uematsu K, Kawase T, Nagata M, Suzuki K, Okuda K, Yoshie H, et al. Tissue culture of human alveolar periosteal sheets using a stem-cell culture medium (MesenPRO-RSTM): In vitro expansion of CD146-positive cells and concomitant upregulation of osteogenic potential in vivo. *Stem Cell Res.* 2013;10(1):1-19.
104. Cowan CM, Shi Y-Y, Aalami OO, Chou Y-F, Mari C, Thomas R, et al. Adipose-derived adult stromal cells heal critical-size mouse calvarial defects. *Nat Biotechnol.* 2004;22(5):560-567.
105. Tomlinson MJ, Tomlinson S, Yang XB, Kirkham J. Cell separation: Terminology and practical considerations. *J Tissue Eng.* 2013;4:2041731412472690.
106. Discher DE, Janmey P, Wang Y. Tissue cells feel and respond to the stiffness of their substrate. *Science.* 2005;310(5751):1139-43.
107. Khanna-Jain R. Isolation, characterization & osteogenic differentiation of dental stem cells in vitro... [S.l.]: Tampere Univ Pr; 2012.
108. Du L, Yang P, Ge S. Stromal cell-derived factor-1 significantly induces proliferation, migration, and collagen type I expression in a human periodontal ligament stem cell subpopulation. *J Periodontol.* 2012;83(3):379-388.
109. Kim T-G, Wikesjö UME, Cho K-S, Chai J-K, Pippig SD, Siedler M, et al. Periodontal wound healing/regeneration following implantation of recombinant human growth/differentiation factor-5 (rhGDF-5) in an absorbable collagen sponge carrier into one-wall intrabony defects in dogs: a dose-range study. *J Clin Periodontol.* 2009;36(7):589-597.
110. Giannobile WV. Periodontal tissue engineering by growth factors. *Bone.* juill 1996;19(1 Suppl):23S-37S.

111. Jung RE, Glauser R, Schärer P, Hämmerle CH, Sailer HF, Weber FE. Effect of rhBMP-2 on guided bone regeneration in humans. *Clin Oral Implants Res.* 2003;14(5):556-68.
112. Kaigler D, Cirelli JA, Giannobile WV. Growth factor delivery for oral and periodontal tissue engineering. *Expert Opin Drug Deliv.* 2006;3(5):647-662.
113. Wolfman NM, Hattersley G, Cox K, Celeste AJ, Nelson R, Yamaji N, et al. Ectopic induction of tendon and ligament in rats by growth and differentiation factors 5, 6, and 7, members of the TGF-beta gene family. *J Clin Invest.* 1997;100(2):321-330.
114. Cooke JW, Sarment DP, Whitesman LA, Miller SE, Jin Q, Lynch SE, et al. Effect of rhPDGF-BB Delivery on Mediators of Periodontal Wound Repair. *Tissue Eng.* 2006;12(6):1441-1450.
115. Lee J-H, Um S, Jang J-H, Seo BM. Effects of VEGF and FGF-2 on proliferation and differentiation of human periodontal ligament stem cells. *Cell Tissue Res.* 2012;348(3):475-484.
116. Xiao L, Sobue T, Esliger A, Kronenberg MS, Coffin JD, Doetschman T, et al. Disruption of the *Fgf2* gene activates the adipogenic and suppresses the osteogenic program in mesenchymal marrow stromal stem cells. *Bone.* 2010;47(2):360-370.
117. Maegawa N, Kawamura K, Hirose M, Yajima H, Takakura Y, Ohgushi H. Enhancement of osteoblastic differentiation of mesenchymal stromal cells cultured by selective combination of bone morphogenetic protein-2 (BMP-2) and fibroblast growth factor-2 (FGF-2). *J Tissue Eng Regen Med.* 2007;1(4):306-313.
118. Reynolds MA, Aichelmann-Reidy ME. Protein and Peptide-Based Therapeutics in Periodontal Regeneration. *J Evid Based Dent Pract.* 2012;12(3):118-26.
119. Cho MI, Lin WL, Garant PR. Occurrence of epidermal growth factor-binding sites during differentiation of cementoblasts and periodontal ligament fibroblasts of the young rat: a light and electron microscopic radioautographic study. *Anat Rec.* 1991;231(1):14-24.
120. Matsuda N, Kumar NM, Ramakrishnan PR, Lin WL, Genco RJ, Cho MI. Evidence for up-regulation of epidermal growth-factor receptors on rat periodontal ligament fibroblastic cells associated with stabilization of phenotype in vitro. *Arch Oral Biol.* 1993;38(7):559-569.
121. Lu H, Xie C, Zhao Y-M, Chen F-M. Translational Research and Therapeutic Applications of Stem Cell Transplantation in Periodontal Regenerative Medicine. *Cell Transplant.* 2013;22(2):205-229.
122. Soto-Gutierrez A, Yagi H, Uygun BE, Navarro-Alvarez N, Uygun K, Kobayashi N, et al. Cell Delivery: From Cell Transplantation to Organ Engineering. *Cell Transplant.* 2010;19(6):655-665.
123. Cevher E, Demir A, Sefik E. Gene Delivery Systems: Recent Progress in Viral and Non-Viral Therapy. In: Sezer AD, éditeur. *Recent Advances in Novel Drug Carrier Systems* [Internet]. InTech; 2012 [cité 16 janv 2014]. Disponible sur: <http://www.intechopen.com/books/recent-advances-in-novel-drug-carrier-systems/gene-delivery-systems-recent-progress-in-viral-and-non-viral-therapy>
124. Kao RT, Murakami S, Beirne OR. The use of biologic mediators and tissue engineering in dentistry. *Periodontol 2000.* 2009;50:127-153.
125. Chen F-M, Zhang M, Wu Z-F. Toward delivery of multiple growth factors in tissue engineering. *Biomaterials.* 2010;31(24):6279-6308.
126. Chen F-M, An Y, Zhang R, Zhang M. New insights into and novel applications of release technology for periodontal reconstructive therapies. *J Control Release Off J Control Release Soc.* 2011;149(2):92-110.
127. Esposito M, Coulthard P, Thomsen P, Worthington HV. Enamel matrix derivative for periodontal tissue regeneration in treatment of intrabony defects: a Cochrane systematic review. *J Dent Educ.* 2004;68(8):834-844.

128. Lynch SE, de Castilla GR, Williams RC, Kiritsy CP, Howell TH, Reddy MS, et al. The effects of short-term application of a combination of platelet-derived and insulin-like growth factors on periodontal wound healing. *J Periodontol.* 1991;62(7):458-467.
129. Howell TH, Fiorellini JP, Paquette DW, Offenbacher S, Giannobile WV, Lynch SE. A phase I/II clinical trial to evaluate a combination of recombinant human platelet-derived growth factor-BB and recombinant human insulin-like growth factor-I in patients with periodontal disease. *J Periodontol.* 1997;68(12):1186-1193.
130. Chen F-M, Chen R, Wang X-J, Sun H-H, Wu Z-F. In vitro cellular responses to scaffolds containing two microencapsulated growth factors. *Biomaterials.* 2009;30(28):5215-5224.
131. Ding G, Liu Y, Wang W, Wei F, Liu D, Fan Z, et al. Allogeneic Periodontal Ligament Stem Cell Therapy for Periodontitis in Swine. *Stem cells.* 2010;28(10):1829-1838.
132. Fawzy El-Sayed KM, Paris S, Becker ST, Neuschl M, De Buhr W, Sälzer S, et al. Periodontal regeneration employing gingival margin-derived stem/progenitor cells: an animal study. *J Clin Periodontol.* 2012;39(9):861-870.
133. Yamamiya K, Okuda K, Kawase T, Hata K-I, Wolff LF, Yoshie H. Tissue-engineered cultured periosteum used with platelet-rich plasma and hydroxyapatite in treating human osseous defects. *J Periodontol.* 2008;79(5):811-818.
134. Menicanin D, Mrozik KM, Wada N, Marino V, Shi S, Bartold PM, et al. Periodontal-Ligament-Derived Stem Cells Exhibit the Capacity for Long-Term Survival, Self-Renewal, and Regeneration of Multiple Tissue Types in Vivo. *Stem Cells Dev.* 2014;
135. Liu Y, Zheng Y, Ding G, Fang D, Zhang C, Bartold PM, et al. Periodontal Ligament Stem Cell-Mediated Treatment for Periodontitis in Miniature Swine. *Stem Cells.* 2008;26(4):1065-1073.
136. Fu X, Jin L, Ma P, Fan Z, Wang S. Allogeneic Stem Cells From Deciduous Teeth Mediated Treatment for Periodontitis in Miniature Swine. *J Periodontol.* 2013;
137. Khorsand A, Eslaminejad MB, Arabsolghar M, Paknejad M, Ghaedi B, Rokn AR, et al. Autologous dental pulp stem cells in regeneration of defect created in canine periodontal tissue. *J Oral Implantol.* 2013;39(4):433-443.
138. Nakahara T, Nakamura T, Kobayashi E, Kuremoto K-I, Matsuno T, Tabata Y, et al. In situ tissue engineering of periodontal tissues by seeding with periodontal ligament-derived cells. *Tissue Eng.* 2004;10(3-4):537-544.
139. Inukai T, Katagiri W, Yoshimi R, Osugi M, Kawai T, Hibi H, et al. Novel application of stem cell-derived factors for periodontal regeneration. *Biochem Biophys Res Commun.* 2013;430(2):763-768.
140. Nuñez J, Sanz-Blasco S, Vignoletti F, Muñoz F, Arzate H, Villalobos C, et al. Periodontal regeneration following implantation of cementum and periodontal ligament-derived cells. *J Periodontal Res.* 2012;47(1):33-44.
141. Suaid FF, Ribeiro FV, Rodrigues TL, Silvério KG, Carvalho MD, Nociti FH Jr, et al. Autologous periodontal ligament cells in the treatment of class II furcation defects: a study in dogs. *J Clin Periodontol.* 2011;38(5):491-498.
142. Suaid FF, Ribeiro FV, Gomes TRLES, Silvério KG, Carvalho MD, Nociti FH, et al. Autologous periodontal ligament cells in the treatment of class III furcation defects: a study in dogs. *J Clin Periodontol.* 2012;39(4):377-384.
143. Kawaguchi H, Hirachi A, Hasegawa N, Iwata T, Hamaguchi H, Shiba H, et al. Enhancement of periodontal tissue regeneration by transplantation of bone marrow mesenchymal stem cells. *J Periodontol.* 2004;75(9):1281-1287.

144. Tobita M, Uysal CA, Guo X, Hyakusoku H, Mizuno H. Periodontal tissue regeneration by combined implantation of adipose tissue-derived stem cells and platelet-rich plasma in a canine model. *Cytherapy*. 2013;15(12):1517-1526.
145. Hasegawa N, Kawaguchi H, Hirachi A, Takeda K, Mizuno N, Nishimura M, et al. Behavior of transplanted bone marrow-derived mesenchymal stem cells in periodontal defects. *J Periodontol*. 2006;77(6):1003-1007.
146. Li H, Yan F, Lei L, Li Y, Xiao Y. Application of autologous cryopreserved bone marrow mesenchymal stem cells for periodontal regeneration in dogs. *Cells Tissues Organs*. 2009;190(2):94-101.
147. Tsumanuma Y, Iwata T, Washio K, Yoshida T, Yamada A, Takagi R, et al. Comparison of different tissue-derived stem cell sheets for periodontal regeneration in a canine 1-wall defect model. *Biomaterials*. 2011;32(25):5819-5825.
148. Simsek SB, Keles GC, Baris S, Cetinkaya BO. Comparison of mesenchymal stem cells and autogenous cortical bone graft in the treatment of class II furcation defects in dogs. *Clin Oral Investig*. 2012;16(1):251-258.
149. Feng F, Akiyama K, Liu Y, Yamaza T, Wang T-M, Chen J-H, et al. Utility of PDL progenitors for in vivo tissue regeneration: a report of 3 cases. *Oral Dis*. 2010;16(1):20-8.
150. Okuda K, Yamamiya K, Kawase T, Mizuno H, Ueda M, Yoshie H. Treatment of human infrabony periodontal defects by grafting human cultured periosteum sheets combined with platelet-rich plasma and porous hydroxyapatite granules: case series. *J Int Acad Periodontol*. 2009;11(3):206-213.
151. Yamada Y, Ueda M, Hibi H, Baba S. A novel approach to periodontal tissue regeneration with mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma using tissue engineering technology: A clinical case report. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2006;26(4):363-369.
152. Feng F, Liu CM, Hsu WC, Hou LT. Long-term effects of gingival fibroblast-coated hydroxylapatite graft on periodontal osseous defects. *J Formos Med Assoc Taiwan Yi Zhi*. 1995;94(8):494-498.
153. Pieri F, Lucarelli E, Corinaldesi G, Fini M, Aldini NN, Giardino R, et al. Effect of mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma on the healing of standardized bone defects in the alveolar ridge: a comparative histomorphometric study in minipigs. *J Oral Maxillofac Surg Off J Am Assoc Oral Maxillofac Surg*. 2009;67(2):265-272.
154. Yamada Y, Ito K, Nakamura S, Ueda M, Nagasaka T. Promising cell-based therapy for bone regeneration using stem cells from deciduous teeth, dental pulp, and bone marrow. *Cell Transplant*. 2011;20(7):1003-1013.
155. Park J-Y, Jeon SH, Choung P-H. Efficacy of periodontal stem cell transplantation in the treatment of advanced periodontitis. *Cell Transplant*. 2011;20(2):271-285.
156. Zheng Y, Liu Y, Zhang CM, Zhang HY, Li WH, Shi S, et al. Stem cells from deciduous tooth repair mandibular defect in swine. *J Dent Res*. 2009;88(3):249-254.
157. Guo W, Gong K, Shi H, Zhu G, He Y, Ding B, et al. Dental follicle cells and treated dentin matrix scaffold for tissue engineering the tooth root. *Biomaterials*. 2012;33(5):1291-1302.
158. Mizuno H, Hata K-I, Kojima K, Bonassar LJ, Vacanti CA, Ueda M. A novel approach to regenerating periodontal tissue by grafting autologous cultured periosteum. *Tissue Eng*. 2006;12(5):1227-1335.
159. Tobita M, Mizuno H. Adipose-derived stem cells and periodontal tissue engineering. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2013;28(6):e487-493.
160. Yu B-H, Zhou Q, Wang Z-L. Periodontal ligament versus bone marrow mesenchymal stem cells in combination with Bio-Oss scaffolds for ectopic and in situ bone formation: A comparative study in the rat. *J Biomater Appl*. 2014;

161. Kim S-H, Kim K-H, Seo B-M, Koo K-T, Kim T-I, Seol Y-J, et al. Alveolar bone regeneration by transplantation of periodontal ligament stem cells and bone marrow stem cells in a canine peri-implant defect model: a pilot study. *J Periodontol*. 2009;80(11):1815-1823.
162. Trofin EA, Monsarrat P, Kémoun P. Cell therapy of periodontium: from animal to human? *Front Physiol*. 2013;4:325.
163. Struillou X, Boutigny H, Soueidan A, Layrolle P. Experimental Animal Models in Periodontology: A Review. *Open Dent J*. 2010;4:37-47.
164. Saini R, Saini S, Sharma S. Therapeutics of stem cells in periodontal regeneration. *J Nat Sci Biol Med*. 2011;2(1):38-42.
165. Hynes K, Menicanin D, Gronthos S, Bartold PM. Clinical utility of stem cells for periodontal regeneration. *Periodontol 2000*. 2012;59(1):203-27.
166. Yoshida T, Washio K, Iwata T, Okano T, Ishikawa I. Current status and future development of cell transplantation therapy for periodontal tissue regeneration. *Int J Dent*. 2012;2012:307024.
167. Obokata H, Sasai Y, Niwa H, Kadota M, Andrabi M, Takata N, et al. Bidirectional developmental potential in reprogrammed cells with acquired pluripotency. *Nature*. 2014;505(7485):676-680.
168. Fatimi A, Axelos M, Tassin JF, Weiss P. Rheological characterization of self-hardening hydrogel for tissue engineering applications : Gel point determination and viscoelastic properties. *Macromol. Symp*. 2008;266 :12-16

MARSDEN Anne-Claire – Biomatériaux de régénération parodontale et cellules souches mésenchymateuses : état de la question. –

RESUME :

Les cellules souches mésenchymateuses, qu'elles soient pluripotentes ou multipotentes, sont apparues comme l'élément clé des médecines régénératrices grâce à leur capacité inhérente à se différencier en une variété de phénotypes cellulaires. Elles seraient donc source de nombreuses thérapies cellulaires potentielles visant à traiter une gamme de maladies dégénératives telle que la parodontite. La régénération du complexe parodontal nécessite à la fois des cellules souches, des facteurs de croissance, une vascularisation suffisante et la présence d'un biomatériau. D'origine naturelle ou synthétique, ce moyen de libération est plus qu'un simple transporteur puisqu'il peut également potentialiser l'adhésion, la prolifération et la différenciation cellulaires, facilitant ainsi l'intégration tissulaire in vivo. Après une recherche systématique des publications associant régénération parodontale, cellules souches mésenchymateuses et biomatériau, 25 études ont été sélectionnées. Malgré des résultats très prometteurs, ces études restent de faible puissance, il est donc difficile d'en tirer des conclusions probantes ; il devient alors essentiel, de réaliser des études de plus grande valeur dans ce domaine. Nous pouvons toutefois conclure que les cellules souches semblent prometteuses afin d'obtenir une régénération parodontale reproductible dans le cadre d'une pratique clinique odontologique.

RUBRIQUE DE CLASSEMENT :**MOTS CLES MESH :**

Français : parodonte, régénération, cellule stromale mésenchymateuse, matériaux biomédicaux et dentaire, ingénierie tissulaire, recherche sur les cellules souches

English : peridontium, regeneration, mesenchymal stromal cell, biomedical and dental materials, tissue engineering, stem cell research

JURY :

Président : Pr. A. SOUEIDAN

Directeur : Dr. X. STRUILLOU

Assesseurs : Pr. P. WEISS
Dr. C. VERNER

ADRESSE DE L'AUTEUR :

17 rue Jean-Jacques Rousseau
44000 NANTES

acmmarsden@gmail.com