

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

Année 2003

Thèse n°

Mise au point sur l'utilisation des culots
plaquettaires lors de la chirurgie
implantaire

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

Présentée
et soutenue publiquement par :

Monsieur LETIENT Alexandre

Né le 14/03/1978

Le 19 juin 2003, devant le jury ci-dessous :

Président : Monsieur le Professeur A. DANIEL
Assesseurs : Monsieur le Professeur B. GIUMELLI
Monsieur le Docteur F. UNGER

Directeur de thèse : Monsieur le Docteur Y. HIRIGOYEN

SOMMAIRE

Sommaire

Introduction

Première partie : Généralités et rappels :

1.1 les culots plaquettaires :

1.1.1 Définitions :

1.1.1.1 selon Robert E MARX :

1.1.1.1.1 le PRP = Platelet Rich Plasma

1.1.1.1.2 le concentré plaquettaire :

1.1.1.1.3 le gel plaquettaire

1.1.1.2 selon d'autres auteurs :

1.1.1.2.1 le PRP

1.1.1.2.2 le PRF

1.1.2 contenu du PRP et effets des molécules contenues :

1.1.2.1 le PDGF :

1.1.2.1.1 généralités :

1.1.2.1.2 effet du PDGF :

1.1.2.2 le TGF β :

1.1.2.2.1 généralités :

1.1.2.2.2 effets des TGF β :

1.1.2.3 VEGF :

1.1.2.4 IGF 1 et 2 :

1.1.2.5 EGF :

1.1.2.6 la fibrine

1.1.2.7 la fibronectine

1.1.2.8 en résumé sur les facteurs de croissance :

1.2. l'hémostase

1.2.1 définition :

1.2.2 l'hémostase primaire :

1.2.2.1 le vaisseau sanguin :

1.2.2.2 les plaquettes :

1.2.2.3 séquence de l'hémostase primaire :

1.2.3 la coagulation plasmatique :

1.2.3.1 mécanismes d'activation de la coagulation :

1.2.3.1.1 les facteurs de la coagulation

1.2.3.1.2 la voie endogène :

1.2.3.1.3 la voie exogène :

1.2.3.1.4 Activation du facteur X et formation du complexe prothrombinase

1.2.3.1.5 la trombinofomation :

1.2.3.1.6 fibrinofomation :

1.2.4 la fibrinolyse :

1.2.4.1 définition :

1.2.4.2 les facteurs de la fibrinolyse :

1.2.4.2.1 le plasminogène :

1.2.4.2.2 les activateurs du plasminogène :

1.2.4.2.2.1 l'activateur tissulaire du plasminogène : le tPA

1.2.4.2.2.2 les autres activateurs physiologiques :

1.2.4.2.3 les inhibiteurs de la fibrinolyse :

1.2.4.3 séquences de la fibrinolyse :

1.2.4.3.1 la formation de plasmine :

1.2.4.3.2 la dégradation de la fibrine par la plasmine :

1.3 physiologie osseuse

1.3.1 structure du tissu osseux des procès alvéolaires

1.3.2 l'os : ses constituants

1.3.2.1 les cellules :

1.3.2.1.1 les ostéoblastes

1.3.2.1.2 les ostéoclastes

1.3.2.1.3 les ostéocytes

1.3.2.1.4 les autres cellules

1.3.2.2 la matrice osseuse :

1.3.2.2.1 la phase inorganique ou minérale

1.3.2.2.2 la phase organique :

1.3.3 le turn-over osseux :

1.3.4 cicatrisation d'une fracture osseuse

1.3.4.1 la blessure initiale

1.3.4.2 la prolifération

1.3.4.3 le remodelage

1.3.5 cicatrisation d'une greffe osseuse

1.3.5.1 procédé initial de régénération

1.3.5.2 la régénération osseuse : première phase

1.3.5.3 la régénération osseuse : deuxième phase

Deuxième partie : méthodes de production du PRP/PRF

2.1 la plasmaphérèse

2.1.1 généralités

2.1.2 protocole

2.1.2.1 avec deux centrifugations

2.1.2.2 avec une seule centrifugation

2.2 la centrifugation :

2.2.1 méthode à une centrifugation :

2.2.2 méthode à deux centrifugations successives :

2.2.2.1 premier protocole:

2.2.2.2deuxième protocole

2.2.2.3troisième protocole

2.2.2.4quatrième protocole

2.2.2.5 cinquième protocole

2.3 le PRF

2.4 comparatif des méthodes

2.4.1 la plasmaphérèse :

2.4.2 la centrifugation

2.3.2.1 une seule centrifugation

2.3.2.2 deux centrifugations

2.4.3 quelle méthode choisir ?

2.4.4 les facteurs influençant les concentrations plaquettaires dans le culot

Troisième partie : les produits utilisés avec l'application de PRP/PRF en implantologie orale

3.1 les substituts osseux :

3.1.1 l'os naturel non autogène : bovin ou humain

3.1.2 dentine associée au plâtre de Paris

3.1.3 l'os synthétique

3.2 la thrombine

3.2.1 thrombine bovine

3.2.2 thrombine autologue :

3.3 les anticoagulants utilisés :

3.4 Chlorure de calcium :

3.5 L'os autogène :

3.6 l'oxygène hyperbare :

Quatrième partie: protocoles cliniques d'application du PRP

4.1 Indications et contre-indications à l'utilisation du PRP :

4.1.1 Indications

4.1.2 Contre-indication :

4.1.2.1 thrombocytopénies héréditaires :

4.1.2.2 thrombocytopénies acquises :

4.1.2.2.1 par une infection :

4.1.2.2.2 par des médicaments et autres produits chimiques :

4.2 : protocoles cliniques d'application des culots plaquettaire dans les déficits osseux

4.2.1 : classification des lésions osseuses :

4.2.1.1 : lésion dite de type 1

4.2.1.2 : lésion dite de type 2

4.2.1.3 : lésion dite de type 3

4.2.2 : les différents protocoles d'applications des culots plaquettaire :

4.2.2.1 : protocole « PRP pur » :art n°2, 5

4.2.2.2 : protocole « PRP et os autogène »: art 5

4.2.2.3 : protocole « gel plaquettaire et os autogène » : art 6,12

4.2.2.4 : protocole « gel plaquettaire pur » : art15

4.2.2.5 : protocole « gel plaquettaire et substituts osseux » : (art 1, 3, 7,13)

4.2.2.6 : le PRF :

4.2.2.7 : incidence de la pose d'une membrane sur le site greffé : (art1)

4.3 recommandations pour l'utilisation d'un culot plaquettaire

4.3.1 mentions légales

4.3.2 recommandations d'ordre techniques

Cinquième partie : Résultats :

5.1 résultats cliniques :

5.1.1 au niveau des tissus mous

5.1.2 au niveau des tissus durs

5.2 résultats radiologiques

5.3 résultats histologiques

Conclusion

Références bibliographiques

Références iconographiques

INTRODUCTION

La perte des dents s'accompagne toujours d'une alvéolyse partielle, centripète au maxillaire et centrifuge à la mandibule. Cette perte osseuse rend le volume d'os résiduel parfois insuffisant pour que la pose d'implants ostéointégrables soit réalisable.

Les modifications post-extractionnelles habituellement rencontrées sont l'accentuation des concavités osseuses, l'amincissement et la perte de hauteur des crêtes osseuses.

Ceci provoque des modifications des rapports occlusaux et peut changer la conformation des volumes des tissus mous de la face.

La reconstruction des volumes perdus s'avère donc une priorité en implantologie orale.

Les techniques les plus fréquemment rencontrées actuellement sont les greffes d'os autogène et la régénération osseuse guidée. La distraction osseuse permet également d'augmenter les volumes osseux mais cette technique est encore peu employée (9,33).

Depuis quelques années, se développent des techniques basées sur l'apport de facteurs de croissance appropriés sur les sites à reconstruire. Ces techniques sont séparées en deux groupes ou catégories :

- L'utilisation de protéines morphogénétiques osseuses (les bone morphogenetic protein : BMP) principalement produites par génie génétique. (les BMP's sont les seules protéines ostéoinductrices connues à ce jours) (38,3),
- L'utilisation des facteurs de croissance contenus dans le sang et surtout dans les plaquettes.

Ces techniques, faisant appel aux facteurs de croissance sanguins, ont toutes comme caractéristique commune d'utiliser des culots plaquettaires, c'est à dire un volume de plasma dans lequel les plaquettes sont concentrées. Ce sont des techniques qui permettent d'utiliser le propre sang du patient de façon à éviter d'éventuelles contaminations inter ou intra-espèces.

De récentes études utilisant ces culots plaquettaires ont montré que ces derniers pouvaient accélérer la vitesse de cicatrisation des tissus mous et osseux et donner une cicatrisation osseuse de meilleure qualité avec obtention plus rapide d'un os mature.

De nombreux protocoles sont proposés avec différents matériaux supports autogènes ou allogènes en association ou non avec une régénération osseuse guidée.

Outre l'implantologie orale, ces techniques trouvent également leur utilisation dans beaucoup de domaines médicaux comme la chirurgie orthopédique, l'ophtalmologie, la chirurgie maxillo-faciale, la chirurgie cardio-vasculaire, la neuro-chirurgie, la parodontologie...

PREMIERE PARTIE :
GENERALITES :

1.1 Les culots plaquettaires :

Sous le terme culots plaquettaires, on retrouve quatre produits ou notions :

- Le plasma riche en plaquette = PRP (Platelet-Rich Plasma) = plaquettes concentrées anticoagulées + plasma.
- Le gel plaquettaire = PRP coagulé juste avant sa mise en place dans le site receveur grâce à l'adjonction de thrombine (bovine ou humaine).
- Le concentré plaquettaire = plaquettes concentrées sans plasma.
- Les plaquettes riches en fibrine = PRF (Platelet-Rich Fibrin) = PRP non anticoagulé = caillot de fibrine et de plaquettes

Le concentré plaquettaire n'est pas utilisé en odondostomatologie.

Le gel plaquettaire et le PRP sont souvent regroupés sous le terme unique de PRP

On conservera donc la terminologie suivante :

- le PRP (sang anticoagulé)
- et le PRF (sang coagulé)

1.1.1 Définitions :

1.1.1.1 selon Robert E MARX :(27)

1.1.1.1.1 le PRP = Platelet Rich Plasma = plasma riche en plaquettes :

Le PRP est un volume de plasma autologue qui a une concentration en plaquettes supérieure à la moyenne. Selon Marx RE, il faut une concentration de plaquettes d'au moins 1.000.000/ μ L dans un volume utile de 5 mL (27).

Le taux normal de plaquette chez l'homme est compris entre 150.000 plaquettes/ μ L et 350.000 plaquettes/ μ L avec une moyenne de 200.000 plaquettes/ μ L.

Selon R.E.MARX on ne trouve dans le PRP que 7 facteurs de croissance, dans leurs proportions naturelles respectives, qui sont (27):

- PDGF aa : Platelet Derived Growth Factor AA (2 chaînes alpha)
- PDGF bb : Platelet Derived Growth Factor BB (2 chaînes bêta)
- PDGF ab : Platelet Derived Growth Factor AB (1 chaîne alpha et 1 chaîne bêta)
- TGFβ1 : Transforming Growth Factor bêta1
- TGFβ2 : Transforming Growth Factor bêta2
- VEGF : Vascular Endothélial Growth Factor
- EGF : Epithelial/Epidermal Growth Factor

Ce sont des facteurs de croissance autologues naturels donc a priori sans risque de contamination.

Le PRP n'est pas ostéo-inducteur car seules les BMP sont connues à ce jour comme ostéo-inductrices (38, 3, 41, 42). Les BMP ne sont trouvées à l'état naturel que dans l'os, mais le génie génétique permet la synthèse des BMP rh (rh = recombinant humain), notamment les BMP 2 et 7 (19). Le génie génétique permet la production de rhBMP en intégrant le gène responsable de la synthèse de la protéine souhaitée dans une cellule de culture (généralement il s'agit de cellule ovarienne de lapine) via un plasmide. Cette culture cellulaire est alors nourri par des sérums riches en facteurs de croissance (souvent à base d'Insulin Growth Factor d'origine bovine). Sinon, l'utilisation de BMP naturelles requiert le sacrifice d'animaux pour extraire les BMP des os de l'animal (19). On dénombre 13 BMP actuellement (18).

1.1.1.1.2 le concentré plaquettaire :

Marx fait également une différence entre le PRP et un concentré plaquettaire : selon lui un concentré plaquettaire ne contient que des plaquettes sans plasma et est donc incapable de former un caillot car les facteurs de la coagulation nécessaires sont absents. Le concentré plaquettaire n'est donc pas utilisé dans notre spécialité (27).

1.1.1.1.3 le gel plaquettaire :

De même, un gel plaquettaire est différent du PRP en ce sens où le gel n'a pas les propriétés biologiques d'adhésion que possède le PRP car il est déjà coagulé : le réseau de fibrine étant déjà aggloméré, l'adhésion tissulaire est compromise. R.E.Marx pense que l'utilisation de gel plaquettaire est à proscrire pour ces raisons (27).

De plus, l'initialisation de la coagulation du PRP sous forme de gel en extrabuccal se fait le plus souvent dans une seringue stérile par adjonction de thrombine bovine. Toutefois, cet auteur utilise largement le gel plaquettaire et rapporte d'excellents résultats dans ses publications (25,26,28).

Il est bon de rappeler que l'utilisation médicale de la thrombine bovine est interdite en France.

1.1.1.2 selon d'autres auteurs :

1.1.1.2.1 le PRP :

Pour les autres auteurs, le PRP est un volume de plasma autologue dont la concentration en plaquettes est supérieure à la normale (1, 8, 11, 20, 36).

Dans la littérature scientifique ayant comme sujet le PRP les différents auteurs retrouvent dans le PRP les molécules suivantes :

- PDGF: : Platelet Derived Growth Factor
- TGFβ1 : Transforming Growth Factor bêta1
- TGFβ2 : Transforming Growth Factor bêta2
- IGF1 : Insulin-like Growth Factor 1(8)
- ECGF : Epithelial Cell Growth Factor (39)
- Facteurs de croissance pour les hépatocytes (39)

1.1.1.2.2 le PRF : les plaquettes riche en fibrine :

Préparation la plus récente, il consiste en un culot plaquettaire centrifugé mais sans présence d'un anticoagulant. Le caillot de fibrine est directement obtenu coagulé au terme de la centrifugation. Son contenu et ses propriétés biologiques sont les mêmes que le PRP (10,13).

1.1.2 Contenu du PRP/PRF et effets des molécules contenues :

1.1.2.1 le PDGF :

1.1.2.1.1 généralités : (1, 6, 8, 13, 16, 30, 35)

Le platelet derived growth factor est ainsi appelé car il a été identifié pour la 1^{ère} fois dans les plaquettes.

Il est contenu dans les granules alpha des plaquettes mais on le retrouve également dans d'autres cellules comme les macrophages, les cellules endothéliales, les monocytes, les fibroblastes et la matrice osseuse.

C'est une glycoprotéine cationique de poids moléculaire de 30 Kda, de structure dimérique avec une chaîne A et une chaîne B. Les chaînes A et B sont semblables à 60%. La chaîne A contient 121 acides aminés dont le gène codant se trouve sur le chromosome 7. La chaîne B contient 125 acides aminés dont le gène codant se trouve sur le chromosome 22.

Le PDGF agit sur ses cellules cibles via des récepteurs tyrosine kinase :

- Un récepteur α pour les chaînes A et B
- Un récepteur β pour la chaîne B uniquement

1.1.2.1.2 effet du PDGF : (1, 6, 8, 13, 18, 20, 30, 35, 40)

La stimulation des récepteurs des cellules cibles du PDGF induit les réponses suivantes :

- stimulation du chimiotactisme principalement pour les cellules précurseurs ostéoblastiques
- mitose des cellules cibles
- activation des macrophages qui vont stimuler les cellules endothéliales pour une néoangiogénèse
- augmentation des fonctions fibroblastiques et ostéoblastiques.
- augmentation de la différenciation cellulaire des macrophages.
- augmentation des réponses des cellules cibles à d'autres facteurs de croissance.

De par sa présence dans les plaquettes, le PDGF est impliqué dans la 1^{ère} phase de la cicatrisation, de la revascularisation, de la synthèse collagénique et la régénération osseuse.

Le PDGF est connu pour :

- Augmenter la vitesse de cicatrisation des tissus mous,
- Augmenter la différenciation ostéogénique,
- Augmenter la vitesse de réparation osseuse lors des fractures,
- Augmenter la vitesse de réparation parodontale et de régénération parodontale(19, 22),
- Stimuler le chimiotactisme, l'activation cellulaire et la prolifération des fibroblastes et des cellules « ostéoblast-like »,
- Stimuler l'apposition de la matrice osseuse surtout si il est en présence de IGF1 et de TGF β ,
- Réguler la croissance squelettique sur le plan systémique et local,
- Stimuler la synthèse d'ADN et de protéines sur les cellules osseuses,
- Activer la résorption osseuse ce qui montre l'importance de PDGF dans le remodelage osseux.

1.1.2.2 le TGF β :

1.1.2.2.1 généralités : (1, 13, 18, 30, 35)

C'est un polypeptide dimérique de 25KDa formé de deux unités de 112 acides aminés reliées entre elles par un pont dissulfure (2x12,5 KDa). Il provient d'un précurseur de 391 acides aminés via une protéolyse. Le gène responsable de sa synthèse se trouve sur le bras long du chromosome 19.

Ce facteur possède 3 structures différentes : β 1, β 2 et β 3

- β 1 et β 2 sont à 72% identiques
- β 1 est trouvé en abondance dans les plaquettes, lymphocytes et polynucléaires neutrophiles.
- β 2 est trouvé dans les extraits osseux, les plaquettes, les lymphocytes et les neutrophiles.
- β 3 est un hétérodimère formé d'une chaîne de β 1 et d'une chaîne de β 2.

1.1.2.2.2 effets des TGF β : (1, 13, 30, 35)

TGF β 1,2,3 favorisent la formation osseuse en augmentant le taux de prolifération des cellules basales.

Certains auteurs suggèrent un rôle inhibiteur de la formation des ostéoclastes et donc de la résorption osseuse (8).

D'autres auteurs semblent avoir mis en évidence un effet dose quand à l'action du TGF β .

Il présente les effets suivants : (6, 8, 19, 26)

- agit sur les fibroblastes, les cellules souches et les préostéoblastes,
- est chimiotactique et mitogène pour les précurseurs des ostéoblastes et stimule leur est nécessaire pour la formation et la cicatrisation osseuse,
- inhibe la prolifération des cellules endothéliales,
- inhibe la dégradation de la matrice extracellulaire,
- Stimule la synthèse d'ADN des cellules osseuses donc leurs réplifications. Les cellules de la lignée ostéoblastiques sont les plus sensibles à cette action mitogène,
- Stimule et régule la synthèse de collagène.

1.1.2.3 VEGF :

Vascular Endothelial Growth Factor.

Juste cité dans la littérature, ce facteur de croissance est retrouvé dans le PRP.

Son rôle physiologique normal est de promouvoir une néoangiogénèse.

1.1.2.4 IGF 1 et 2 : (2, 13, 17, 24, 35)

Insulin Growth Factor 1 et 2 ou parfois Insulin-like Growth factor 1 et 2.

Les IGFs sont cités par certains auteurs comme étant des facteurs de croissance retrouvés dans un PRP. Ce sont des facteurs de croissance d'origine hépatique retrouvés dans le plasma. Comme une faible proportion de plasma est contenu dans le PRP, cela suffit à en avoir des traces.

Toutefois les IGF sont d'importants facteurs de croissance pour tout ce qui concerne l'os.

Néanmoins, sa concentration dans le PRP est encore peu étudiée et on peut donc se poser la question de son importance.

Par contre, l'apport d'un greffon d'os autogène amènera sur le site une importante quantité d'IGFs lors de son remaniement. Mais le remaniement osseux est un phénomène tardif ce qui nous importe peu dans le cadre du PRP ou l'on souhaite des résultats accélérés.

IGF 2 est le plus abondant des facteurs de croissance retrouvé dans la matrice osseuse (19).

IGF 2 serait moins puissant que IGF 1 dans la promotion de la formation osseuse.

IGF 1 est produit, entre autre, par les ostéoblastes et stimule la formation osseuse en stimulant la différenciation cellulaire, la prolifération et la biosynthèse de collagène.

Ils agissent sur les précurseurs des ostéoblastes.

IGF 1 régulerait la formation osseuse selon un mode autocrine

Effet synergique de IGF1 avec Basic Fibroblast Growth Factor(BFGF), PDGF et TGF β sur la mitogénèse des ostéoblastes

IGF1 et 2 combinés avec d'autres facteurs de croissance peuvent potentialiser le processus de cicatrisation osseuse.

IGF 1 et 2 augmentent le nombre d'ostéoblastes et accélèrent la déposition osseuse (8).

Ce sont des stimulateurs de la formation osseuse.

1.1.2.5 EGF :

Endothelial Growth Factor

Juste cité dans la littérature, ce facteur de croissance ne semble pas présenter d'intérêt en implantologie orale.

1.1.2.6 la fibrine :

Retrouvée dans le plasma et donc en faible proportion dans le PRP et en grande quantité dans le PRF, la fibrine est connue pour ses propriétés d'adhésion tissulaire (collagène) et d'ostéoconduction (matrice) (10, 27).

1.1.2.7 fibronectine et vitronectine:

Retrouvées dans le plasma et donc en faible proportion dans le PRP et en grande quantité dans le PRF. La fibronectine est connue pour servir d'échafaudage au transfert cellulaire (10) et la vitronectine pour ses propriétés d'adhésion cellulaire (27).

1.1.2.8 en résumé sur les facteurs de croissance :

Après la lecture de la littérature se rapportant à l'utilisation des facteurs de croissance en implantologie, il apparaît que les facteurs de croissance les plus importants retrouvés dans le PRP/PRF sont les PDGF et les TGF β . Certains auteurs citent également les IGF.

Les autres facteurs de croissance comme ECGF, EGF... ne sont pas décrits ni étudiés comme ayant une action intéressante dans le domaine qui nous concerne.

Certains auteurs préfèrent citer et décrire les BMP (qui font partie de la superfamille des TGF mais traitées à part pour une raison didactique) bien qu'elles ne soient pas retrouvées dans le PRP/PRF mais elles peuvent être apportées sur le site d'intervention via un greffon d'os autologue ou via un matériau support de Rh BMP2(BMP2 recombinante humaine créée par génie génétique).

En effet depuis les travaux d'Urist en 1965 qui a injecté en intramusculaire des BMP sur des rats et a obtenu du tissu osseux, on sait que les BMP sont des molécules ostéoinductives (38).

Marx suggère d'ailleurs que dans un futur proche les Rh BMP2 seront vraisemblablement ajoutées à une préparation plaquettaire de façon à avoir les effets bénéfiques des 2 produits. Par contre, le support idéal des BMP est encore recherché (3).

Toutefois, une publication récente (13) explique clairement que de nombreux progrès dans la connaissance des facteurs de croissance doivent encore être réalisés. Notamment, il existe une disparité des résultats et des effets des facteurs de croissance entre l'étude expérimentale *in vitro* sur culture cellulaire et la réalité clinique observée *in vivo* avec parfois des résultats contradictoires. De même, les facteurs de croissance présentent un effet dose-dépendant. Les facteurs de croissance sont de formidables outils thérapeutiques, jugés actuellement sans danger car non mutagènes (ils augmentent les synthèses cellulaires via des signaux intracytoplasmiques générés par la fixation du facteur de croissance sur son récepteur membranaire mais ne modifient en rien la structure de l'ADN cellulaire), autologues donc non immunogènes, et dont les proportions relatives sont celles retrouvées naturellement *in vivo*.

Cette conservation des proportions en chaque facteur de croissance est obtenue dans le PRP/PRF ce qui permet de garder l'effet de synergie qu'ils exercent entre eux.

Si cette parution récente (2003) affirme que les facteurs de croissances sont non cancérigènes, il n'en a pas été toujours le cas. En effet, de troublantes homologues de structure entre certains facteurs de croissance et des protéines connues pour leurs présences au sein de lésions cancéreuses ont été découvertes (3).

	PDGF	TGFβ	BMP	IGF	FGF	EGF
In vitro						
Cellules souches	mitose	+	+	0		
	Différentiation cellulaire		+	+		
ostéoblastes	mitose	+	+	+	+	+
	Sécrétion de matrice extracellulaire		+		+	+/-
	Minéralisation de la matrice	+				
	chimiotactisme	+			+	
ostéoclastes	mitose	+				
	Résorption osseuse					+
In vivo						
ostéoinducteur	-	+/0	+		+/0	
Ostéotransducteur de la matrice		+				
Formation osseuse	+	+	+		+	
Angiogénèse	+		+		+	
localisation						
Plaquettes	X	X				X
Matrice osseuse	X	X	X	X	X	
ostéoblastes		X		X	X	
Fibroblastes	X	X		X	X	
Cellules endothéliales	X			X	X	
Macrophages	(X)	X			X	X
Monocytes	X					
Autres		X		X	X	

Fig 1 : Tableau récapitulatif des effets in vitro, in vivo et la localisation des différents facteurs de croissance intervenant dans la cicatrisation et la régénération osseuse. D'après Diss et coll

1.2 L'hémostase (14)

1.2.1 Définition :

L'hémostase est l'ensemble des phénomènes physiologiques mis en jeu lors d'une plaie vasculaire. Elle a pour but de stopper le saignement.

On décrit 3 étapes dans l'hémostase :

- L'hémostase primaire
- La coagulation plasmatique
- La fibrinolyse

L'hémostase primaire et la coagulation plasmatique conduisent à la formation du caillot alors que la fibrinolyse amène la destruction du caillot une fois que le vaisseau sanguin endommagé est réparé.

1.2.2 L'hémostase primaire :

elle met en jeu plusieurs facteurs

1.2.2.1 le vaisseau sanguin :

Il est formé de trois couches :

- 1.La plus interne est l'endothélium, monocouche cellulaire formant une zone non-thrombogène, c'est à dire une zone sur laquelle le caillot sanguin ne peut se former.
- 2.La couche intermédiaire est le sous-endothélium, surface thrombogène.
- 3.La couche la plus externe est composée de cellules musculaires lisses dont la capacité contractile permet la vasodilatation ou la vasoconstriction du vaisseau.

1.2.2.2 les plaquettes :

aussi appelées thrombocytes, ce sont des petits éléments sanguins anucléés, arrondis ou ovalaires de 2 à 5µm de diamètre.

Le thrombocyte est limité par une membrane externe et contient des granules, des systèmes canaliculaires et des protéines contractiles.

Les granules sont de deux types :

1. Les granules denses contenant du calcium, de l'adrénaline, de la sérotonine et de l'ADP
2. Les granules alpha contiennent plusieurs protéines : la bêta-thromboglobuline, le facteur V, le facteur Willebrand, du fibrinogène, des facteurs de croissance.

Les granules sécrètent leurs contenus dans le milieu extérieur après activation des plaquettes.

1.2.2.3 : séquence de l'hémostase primaire :

Lorsqu'une plaie vasculaire se produit, le vaisseau sanguin se contracte (vasoconstriction), les plaquettes viennent ensuite se coller au sous-endothélium, surface thrombogène mise à nu par la plaie, et s'activent (activation).

Les plaquettes alors activées se mettent à sécréter leurs contenus granulaires (sécrétion) et s'agrègent entre elles (agrégation), formant ainsi le caillot plaquettaire qui sera ensuite renforcé par la fibrine qui se formera par la coagulation plasmatique.

Le caillot formé se rétracte et devient imperméable.

1.2.3 La coagulation plasmatique :

La coagulation plasmatique est la deuxième étape de l'hémostase.

Elle permet la formation d'un réseau de fibrine qui vient renforcer l'agrégat plaquettaire formé lors de l'hémostase primaire.

1.2.3.1 mécanismes d'activation de la coagulation :

1.2.3.1.1 les facteurs de la coagulation

Ils sont désignés par un chiffre romain auquel on rajoute la lettre « a » quand ils sont activés.

Ils sont numérotés ainsi de I à XIII.

Le facteur VIII a longtemps posé un problème de nomenclature du fait de sa liaison avec le facteur Willebrand, problème maintenant résolu par une nomenclature séparant le facteur VIII et le facteur von Willebrand annoté F.vWF.

On sépare les facteurs de la coagulation en :

1. Les facteurs plasmatiques : I à X
2. Les facteurs plasmatiques appartenant au système des kinines (les protéines de l'inflammation) : la prékallitréine (PK) et le Kininogène de Haut Poids Moléculaire (KHPM).
3. Le facteur tissulaire.
4. Le facteur XIII qui permet la polymérisation des monomères de fibrine formés en polymère de fibrine ou caillot de fibrine

Les facteurs PK, KHPM, XI et XII représentent les facteurs du système contact qui est le système qui va s'activer lors du contact entre le sang et le sous-endothélium.

1.2.3.1.2 la voie endogène :

Elle est appelée ainsi car tous les facteurs impliqués dans cette voie sont présents dans le plasma.

C'est la voie la plus longue qui se déroule en plusieurs étapes :

Activation des facteurs du système contact

L'action du facteur XIa est d'activer le facteur IX qui devient IXa.

Puis le facteur IXa en se liant au facteur VIIIc va activer le facteur X.

1.2.3.1.3 la voie exogène :

Son initiation est déclenchée par l'exposition du facteur tissulaire qui va alors fixer le facteur VII et l'activer.

Ce facteur VIIa va alors activer le facteur X

1.2.3.1.4 Activation du facteur X et formation du complexe prothrombinase :

Le facteur X est activé soit par la voie exogène soit par la voie endogène puis va permettre la formation de thrombine à partir de prothrombine.

1.2.3.1.5 la trombinoformation :

Le facteur Xa permet l'activation du facteur II prothrombine en IIa thrombine.

1.2.3.1.6 fibrinoformation :

La thrombine va alors permettre la transformation du fibrinogène en monomères de fibrine et l'activation du facteur XIII.

Les monomères de fibrine vont alors polymériser sous l'action du facteur XIIIa pour former un polymère de fibrine stable : le caillot de fibrine.

En résumé, la coagulation plasmatique consiste à activer le facteur X via les voies endogène et/ou exogène pour former de la thrombine à partir de prothrombine ce qui transformera le fibrinogène en fibrine.

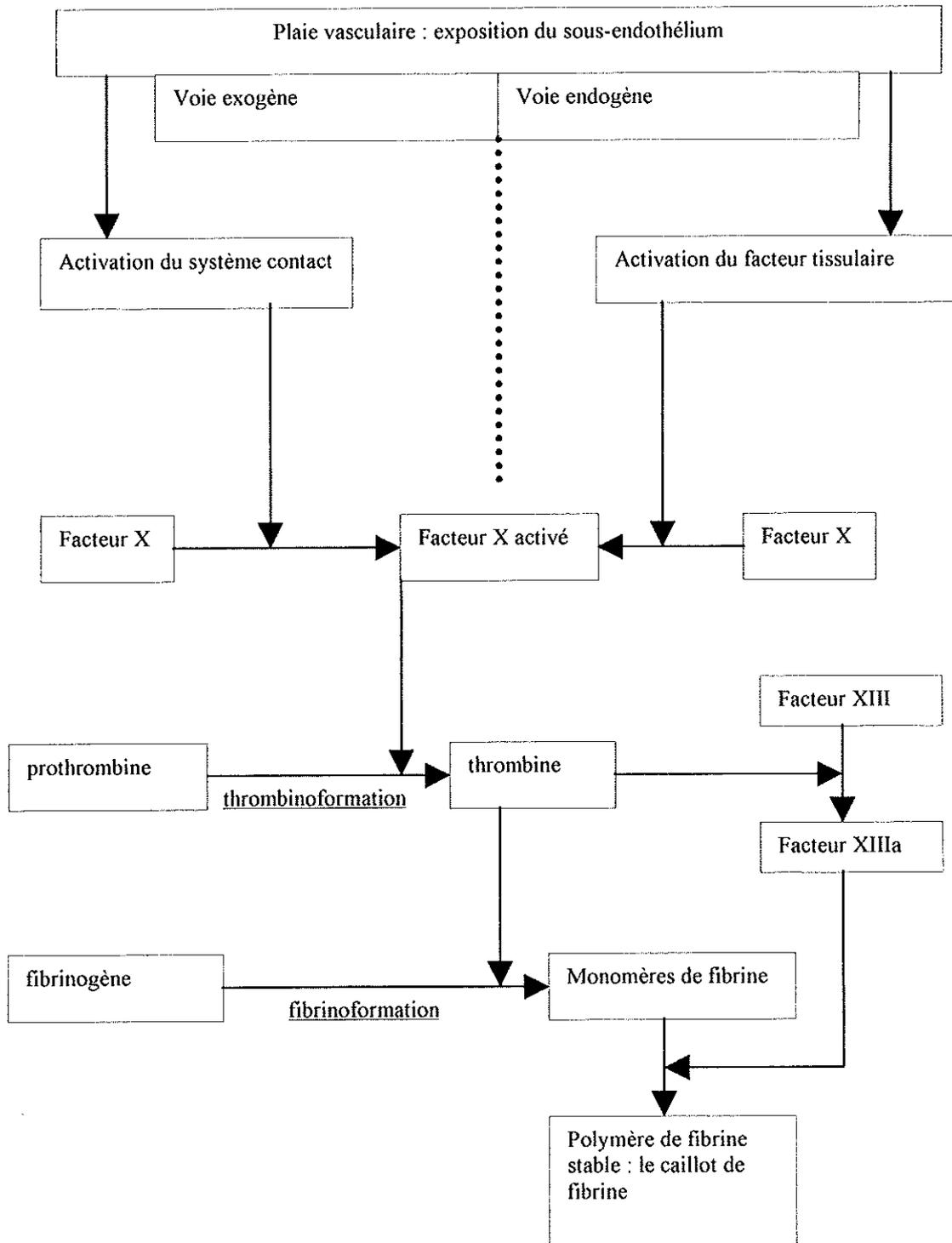


Fig 2 : Schéma de la coagulation plasmatique : activation du facteur X par les voie endogène et exogène, thrombinoformation et fibrinoformation. D'après Frauchet et coll.

1.2.4 La fibrinolyse :

1.2.4.1 définition :

C'est un processus physiologique visant à détruire in vivo les caillots de fibrine une fois la réparation du vaisseau lésé effectuée.

La fibrinolyse fait intervenir comme enzyme principale la plasmine qui dégrade la fibrine en ses sous-produits.

Cette plasmine est formée à partir de son précurseur inactif : le plasminogène.

1.2.4.2 les facteurs de la fibrinolyse :

1.2.4.2.1 le plasminogène :

C'est une glycoprotéine synthétisée par les hépatocytes, précurseur de la plasmine, enzyme dégradant le caillot de fibrine.

1.2.4.2.2 les activateurs du plasminogène :

1.2.4.2.2.1 l'activateur tissulaire du plasminogène : le tPA

Il est synthétisé et libéré par les cellules endothéliales.

A l'état basal, le tPA libre circulant en faible quantité est neutralisé par son inhibiteur spécifique : le PAI1 qui est synthétisé par l'endothélium. Lors de la fibrinolyse, la forte synthèse de tPA et sa libération saturent les possibilités inhibitrices de son inhibiteur et permet d'activer le plasminogène.

Il représente la voie tPA dépendante ou voie vasculaire de la fibrinolyse

1.2.4.2.2.2 les autres activateurs physiologiques :

Ce sont la pro-kinase et les facteurs du système contact.

Ces activateurs de la fibrinolyse représentent la voie plasmatique de la fibrinolyse, voie encore peu étudiée de nos jours.

1.2.4.2.3 les inhibiteurs de la fibrinolyse :

on les répartit en :

- inhibiteurs de la plasmine (comme l' α 2 antiplasmine),
- et inhibiteurs du plasminogène (comme le PAI1).

1.2.4.3 séquences de la fibrinolyse :

1.2.4.3.1 la formation de plasmine :

Le tPA et le plasminogène ont une très forte affinité pour la fibrine et se fixent dessus pour former un complexe tPA-plasminogène-fibrine.

Ce complexe permet l'activation du tPA qui va alors permettre la transformation du plasminogène en plasmine par clivage peptidique. L'endothélium joue un rôle régulateur dans ce mécanisme car il synthétise le tPA et son inhibiteur spécifique.

1.2.4.3.2 la dégradation de la fibrine par la plasmine :

La plasmine détruit par protéolyse la fibrine en fragments solubles.

Dans les conditions physiologiques de fibrinolyse, la plasmine a une action limitée au caillot car l' α 2 antiplasmine présente dans le plasma inhibe la plasmine libérée par le caillot en cours de fibrinolyse.

De plus l' α 2 antiplasmine est incorporée dans la structure du caillot lors de sa formation et il faut donc que la plasmine sature son inhibiteur avant de pouvoir réaliser son action fibrinolytique. Ceci explique que la fibrinolyse soit différée ce qui permet au caillot d'avoir le temps d'exercer son activité hémostatique.

1.3 Physiologie osseuse :

1.3.1 Structure du tissu osseux des procès alvéolaires : (18)

Le tissu osseux des procès alvéolaires dentaires est de type lamellaire et se divise en :

- Tissu haversien compact, très calcifié : c'est la corticale
- Tissus haversien aréolaire, peu calcifié : c'est l'os spongieux
- Le périoste : fine membrane fibreuse entourant l'os et qui présente un rôle important dans la nutrition et la croissance de l'os
- L'endoste : fine membrane conjonctive tapissant la cavité médullaire et les travées de l'os spongieux.

L'os est constitué de :

- La charpente collagénique, principalement à base de collagène de type 1.
- Une substance minérale donnant à l'os sa dureté et sa rigidité.
- Des vaisseaux sanguins.
- Des cellules (ostéocytes, ostéoblastes et ostéoclastes principalement)

Il est organisé en système de Havers.

Les systèmes de Havers sont des cylindres osseux centrés sur un axe : le canal de Havers qui est rempli par un vaisseau sanguin.

Les canaux de Havers sont reliés par des canaux transverses : les canaux de Volkman.



Fig 4 :Schématisation d'un os de type Haversien. D'après Carg. Tissue Engineering. Quintessence Publishing

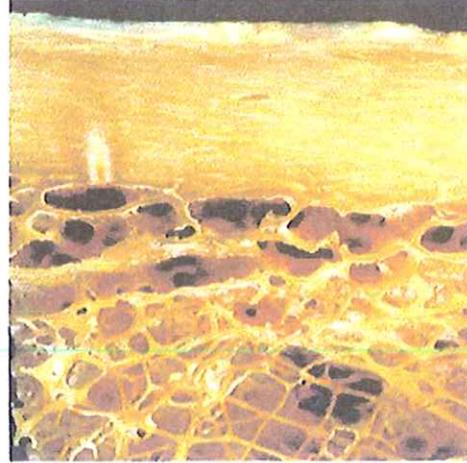


Fig 5 : Mise en évidence de la différence macroscopique entre l'os cortical et l'os spongieux. D'après Hollinger et coll. Tissue Engineering Quintessence Publishing

1.3.2 L'os : ses constituants : (18)

1.3.2.1 les cellules :

1.3.2.1.1 les ostéoblastes :

C'est une cellule d'environ 20 à 30 μm , arrondie, avec un gros noyau, de cytoplasme basophile.

Ce sont les cellules productrices de l'os : elles sécrètent la matrice collagénique osseuse ainsi que la substance fondamentale osseuse qui est minéralisée sous l'action de la phosphatase alcaline, enzyme minéralisante, elle aussi sécrétée par les ostéoblastes.

Leur activité décroît avec l'âge.

1.3.2.1.2 les ostéoclastes :

Grandes cellules de taille jusqu'à 100 μm , de forme variable et multinuclées (10 à 12 noyaux). Le cytoplasme est tout d'abord basophile puis devient éosinophile avec le vieillissement de la cellule.

Cette cellule après attachement à une surface osseuse sécrète un cocktail enzymatique qui a pour but de résorber l'os créant ainsi une lacune dans l'os : c'est la lacune de Howship.

1.3.2.1.3 les ostéocytes :

Ce sont les cellules qui habitent l'os formé. Ces cellules sont capables de formation et de résorption d'os dans une moindre mesure que les ostéoblastes et les ostéoclastes. Elles interviennent plus dans la régulation de l'homéostasie calcique à court terme.

1.3.2.1.4 les autres cellules :

On retrouve dans la moelle osseuse des cellules souches pluri-potentes, réservoir des différentes lignées cellulaires de l'organisme, ainsi que des cellules graisseuses.

1.3.2.2 la matrice osseuse:

1.3.2.2.1 la phase inorganique ou minérale :

C'est le compartiment minéralisé qui représente environ 65% du poids de l'os sec. C'est une réserve très importante de calcium, phosphore, magnésium et sodium. Constituée de cristaux d'apatite, elle donne sa rigidité à l'os.

1.3.2.2.2 la phase organique :

Elle représente environ 35% du poids de l'os sec. Composée principalement de collagène de type 1 (90%) et de composants non collagéniques (10%). L'entrelacement des fibres collagéniques tisse une véritable trame qui supporte la minéralisation.

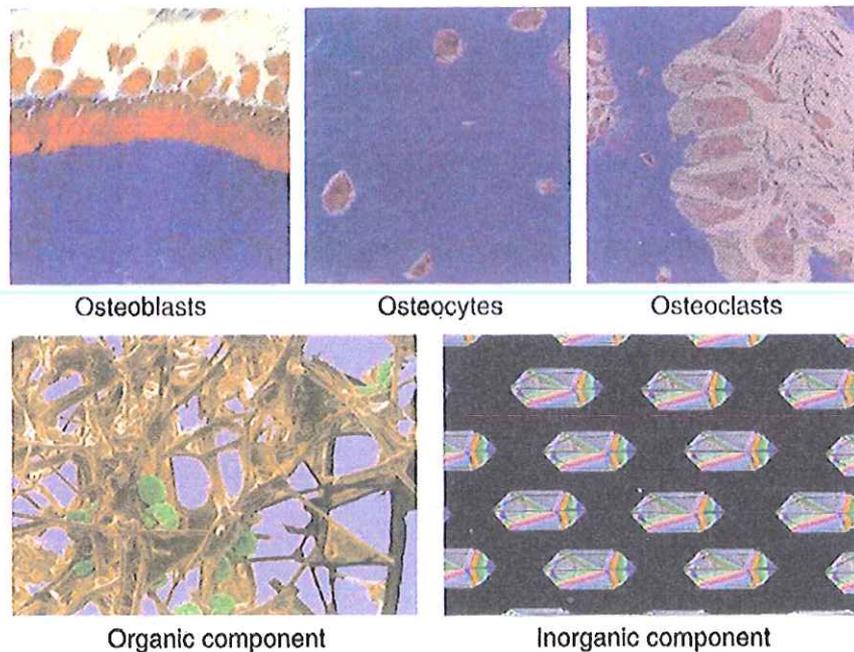


Fig 6 : Les différents éléments constitutifs du tissu osseux. D'après Hollinger et coll. Tissue Engineering. Quintessence Publishing

1.3.3 Le turn-over osseux :

le cycle activation-résorption-apposition :(18)

Le tissu osseux est en perpétuel remaniement consistant en la succession de phase de résorption et d'apposition osseuse.

Son déroulement est le suivant :

1. Sous l'action d'un signal, généralement la PTH (para-thyroïde-hormone), l'ostéocyte quitte son ostéoplaste laissant sa place vacante.
2. Un ostéoclaste prend alors cette place et va résorber l'os créant ainsi une lacune de Howship.
3. Sous l'action d'un signal encore mal connu, l'ostéoclaste va alors cesser sa résorption et partir.
4. Un ostéoblaste prend alors le relais et synthétise un nouvel os pour remplir cette lacune.

Ce cycle prend chez l'homme 3 à 6 mois.

1.3.4 Cicatrisation d'une fracture osseuse : (5, 18, 28)

1.3.4.1 Blessure initiale :

La fracture osseuse provoque :

- une réponse inflammatoire.
- des dégâts vasculaires.

ce qui provoque l'émission de signaux cellulaires.

La dégradation protéolytique de la matrice extracellulaire produit des molécules chimiotactiques attirant les monocytes et les macrophages sur le site. Les macrophages attirés sont activés et relarguent du FGF (fibroblast-growth-factor) stimulant ainsi les cellules endothéliales qui vont exprimer leur activateur du plasminogène et les procollagénases. Les facteurs de croissance relargués par les plaquettes activées (dégranulation) sont de véritables balises chimiques pour les polynucléaires, lymphocytes, monocytes et macrophages.

La collection de sang extravasée va alors coaguler formant ainsi un caillot et un hématome stoppant ainsi l'hémorragie.

Orchestrant la cascade de la coagulation, les plaquettes ont deux fonctions :

- L'hémostase.
- La médiation chimique principalement par l'émission de PDGF, TGF β et FGF.

Le site de fracture est caractérisé par une diminution de la tension en oxygène et une baisse du pH, conditions requises pour l'action des macrophages. Les polynucléaires vont alors enlever les infestations microbiennes et les microdébris pendant que les macrophages vont purger le site de tous les macrodébris en devenant des cellules géantes multinucléées afin de faire barrage à l'infection.

Les macrophages deviennent alors des machines à synthétiser des facteurs de croissance pour fortifier l'activité cellulaire, recruter des cellules et provoquer des mitoses.

1.3.4.2 la prolifération :

Entre le troisième et le cinquième jour post-fracture, un blastème de réparation (c'est à dire du tissu de granulation) se développe. Il est constitué de nouveaux vaisseaux sanguins, de collagène et de cellules, principalement des macrophages et des fibroblastes.

Il existe (à ce jour) 18 types de collagènes différents, chacun ayant une prédominance dans un certain type de tissu. Ainsi, par exemple, le collagène de type 1 est prédominant dans l'os, le type 3 et 5 sont prédominant dans le tissu de granulation...

Il a été supposé qu'il existait un lien sélectif entre les collagènes et les facteurs de croissance : les collagènes protégeraient et localiseraient les facteurs de croissance adéquats sur leurs sites ou ils sont prédominants pour augmenter les interaction facteurs de croissance/cellules.

Les composants collagéniques d'un site de réparation sont une sous-couche importante pour la présentation à leurs cellules cibles respectives des facteurs de croissance comme PDGF, TGF β , FGF et les BMP.

Les collagènes servent ainsi de matrice «solide » pour la différenciation cellulaire et la fixation des cellules différenciées sur le site.

Exemple : des cellules indifférenciées comme les ostéo-progénéiteurs localisés au niveau du périoste et de l'endoste traversent la néovascularisation pour rejoindre le site de fracture sous l'influence de signaux chimiotactiques comme le PDGF et le TGF β , s'ancrent au collagène du tissu de granulation et se différencient en ostéoblastes et chondrocytes sous l'égide de molécules signales comme les BMP.

La combinaison des activités cellulaires de transduction, d'ancrage et d'interaction cellulaire provoque la différenciation cellulaire en phénotype spécifique nécessaire à la réparation.

Avec l'augmentation des différenciations cellulaires, l'accumulation des produits d'expression cellulaires et la maturation de la matrice extracellulaire au fil des semaines, le cal osseux se forme.

Ce cal est constitué de :

- Eléments vasculaires,
- Cartilage,
- Cellules.

Le cartilage du cal est remplacé par de l'os non organisé (« woven bone ») : conglomérats de spicules osseuses placées aléatoirement et de cellules.

L'os non organisé du cal se transforme os lamellaire qui est moins cellularisé et qui consiste en des couches d'os dirigées de façon à soutenir les fragments osseux de la fracture.

Le rôle fonctionnel du cal est de stabiliser les fragments osseux. S'il n'y pas d'immobilisation des fragments, le cartilage sera prédominant. Si les fragments osseux sont immobilisés, l'os peut se régénérer rétablissant ainsi la forme et la fonction originelle.

Quand une fracture doit être réduite médicalement et immobilisée par ostéosynthèse, la phase cartilagineuse n'a pas lieu et le blastème de cicatrisation se forme directement par le biais des voies intramembranaire (périoste et endoste) plutôt que par la voie endochondrale (cartilagineuse).

Le rôle physiologique des BMP et du cal dans le mécanisme de réparation n'a pas été entièrement élucidé. Des données limitées indiquent que BMP2, BMP3, BMP4, BMP6 et BMP7 sont impliquées dans l'angiogénèse et la différenciation cellulaire durant la réparation d'une fracture.

Des équipes de cellules et de facteurs de croissance constituent les éléments qui assurent la cicatrisation de la fracture en 6 à 8 semaines.

La reconstitution de la structure, non distinguable du tissu prélésionnel est dirigée par une équipe de cellules dédiées à l'os : les ostéoblastes et les ostéoclastes.

Toutefois, les cellules sont en nombre insuffisant sur le site : elles doivent être recrutées, multipliées et activées par leurs propres combinaisons de facteurs de croissance.

Sur le site de fracture, les monocytes vont se transformer en ostéoclastes sous l'influence des fragments de fibronectine et des produits de dégradation de la matrice extracellulaire.

Les macrophages du site sécrètent FGF et VEGF, déclenchent et favorisent l'angiogénèse permettant ainsi l'apport de nouvelles cellules pour remplir le manque créé lors de la fracture c'est à dire des ostéoblastes.

1.3.4.3 le remodelage :

Le terme de remodelage est utilisé pour décrire le phénomène dynamique associé avec la réparation osseuse et l'homéostasie chez l'adulte mature sain.

Par contre, le terme de modelage est utilisé pour décrire les processus similaires impliqués dans la mise en forme de l'os avant la fermeture des épiphyses.

Il s'agit dans le cadre de la cicatrisation d'une fracture du même turn-over osseux que décrit précédemment au chapitre 1.3.3.

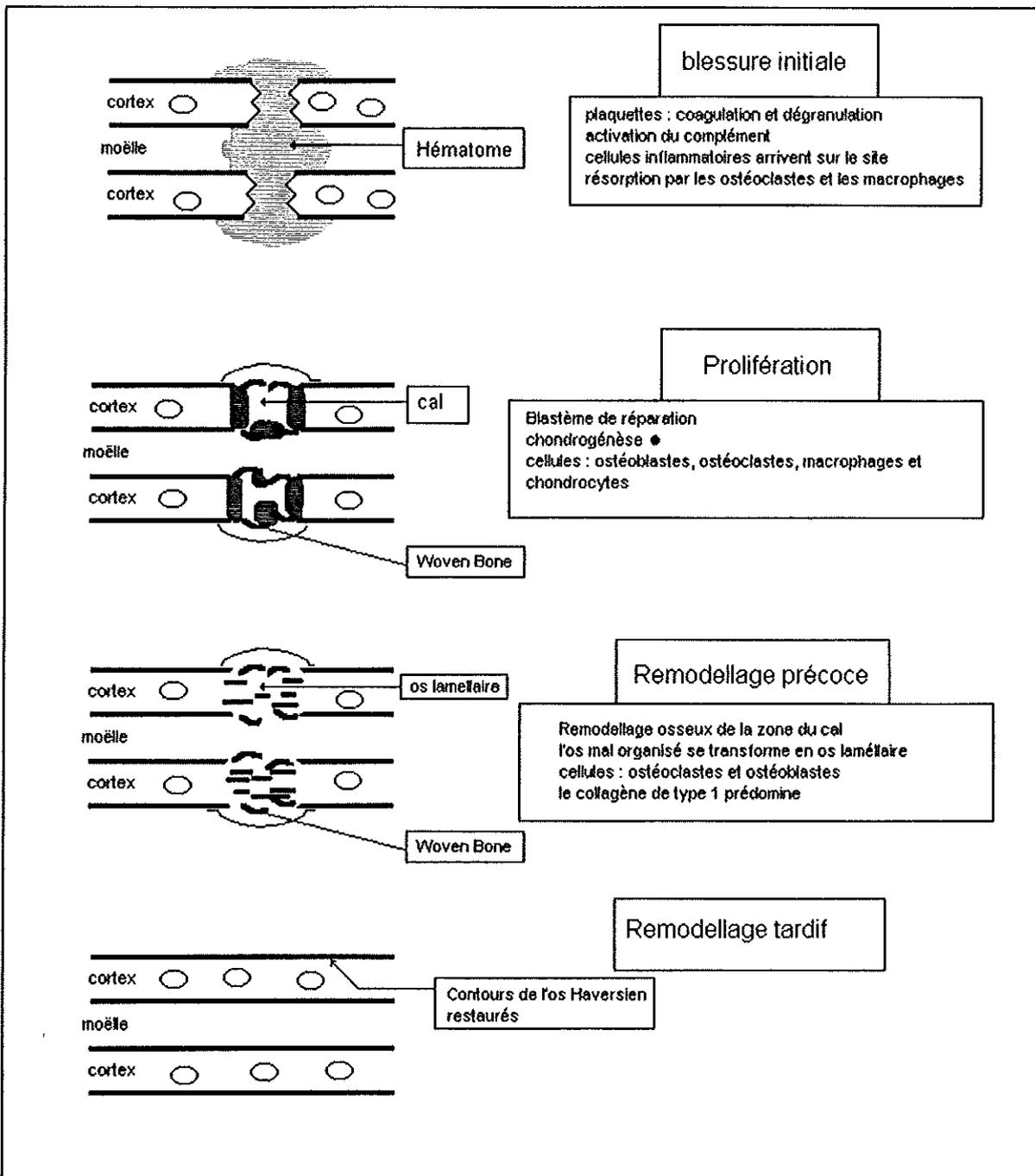


Fig 7 : Schématisation des mécanismes aboutissant à la réparation d'une fracture osseuse. D'après Hollinger et coll. Tissue Engineering. Quintessence Publication.

1.3.5 Cicatrisation d'une greffe osseuse : (25, 26, 28)

Le principe de la régénération osseuse basée sur la mise en place d'un greffon d'os autogène fait intervenir un processus cicatriciel osseux proche de celui de la réparation d'une fracture.

La régénération osseuse consiste en la transplantation de moelle osseuse entourée par de l'os spongieux (et cortical dans certains cas) (28).

Le but de cette régénération osseuse est d'obtenir des cellules ostéocompétentes qui sont principalement les ostéoblastes de l'endoste et des cellules souches de la moelle.

En règle générale, la régénération d'un tissu, ici de l'os, repose sur un trépied (23, 37):

- L'armature (matrice osseuse, de collagène, de fibrine ...)
- Les cellules (ostéoblastes...)
- Les signaux et médiateurs(BMP, facteurs de croissance...)

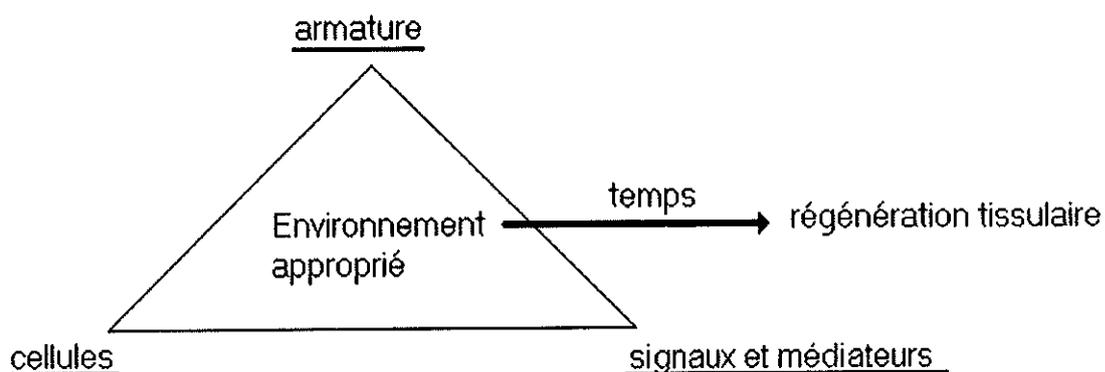


Fig 8 : Schématisation du trépied de la régénération tissulaire.
D'après Lynch. Tissue Engineering. Quintessence Publication

Une cellule souche ne se différencie que sous l'influence de protéines morphogénétiques (ici des BMP) pour quitter son phénotype de cellule souche afin d'obtenir un nouveau phénotype (ici il s'agit d'un phénotype ostéoblastique), puis sous l'action de facteurs de croissance ce nouveau phénotype prolifère par multiplication cellulaire (mitose).

On observe ensuite une période de synthèse (matricielle le plus souvent) qui est suivit d'un stade de maturation et de remodelage pour obtenir un tissu fonctionnel (19).

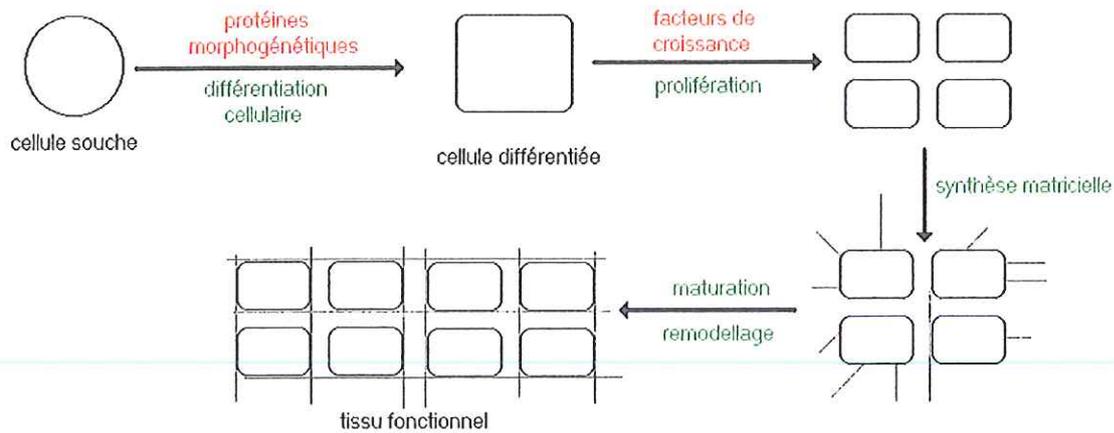


Fig 9 : Schématisation de l'action des protéines morphogénétiques et des facteurs de croissance sur le phénotype tissulaire. D'après Jepsen et coll.

Le greffon contient des cellules et de l'os spongieux minéralisé, de la fibrine et les plaquettes contenues dans le caillot.

L'ensemble de ces éléments survit environ 3 à 5 jours, principalement les éléments de surface car ils se nourrissent par simple diffusion des nutriments venant du site receveur.

Les ostéocytes meurent car ils sont enfermés trop profondément dans l'épaisseur de l'os pour recevoir des nutriments car la néoangiogenèse n'est pas encore effective.

1.3.5.1 Procédé initial de régénération :

A l'intérieur du greffon, les plaquettes contenues dans le caillot dégranulent en quelques heures aussitôt après le placement du greffon.

Les plaquettes relarguent alors les facteurs de croissance suivants : PDGF, TGFβ1 et TGFβ2. Ces facteurs de croissance démarrent le processus de régénération de l'os.

Le PDGF se lie aux cellules endothéliales afin d'initier la croissance des capillaires alors que TGFβ1 et TGFβ2 s'associent aux ostéoblastes de l'endoste et aux cellules souches mésenchymateuses afin d'initier des mitoses pour augmenter leur nombre aussi bien que pour stimuler la synthèse de tissu ostéoïde.

Ce processus continue pendant les 3 premiers jours après la greffe.

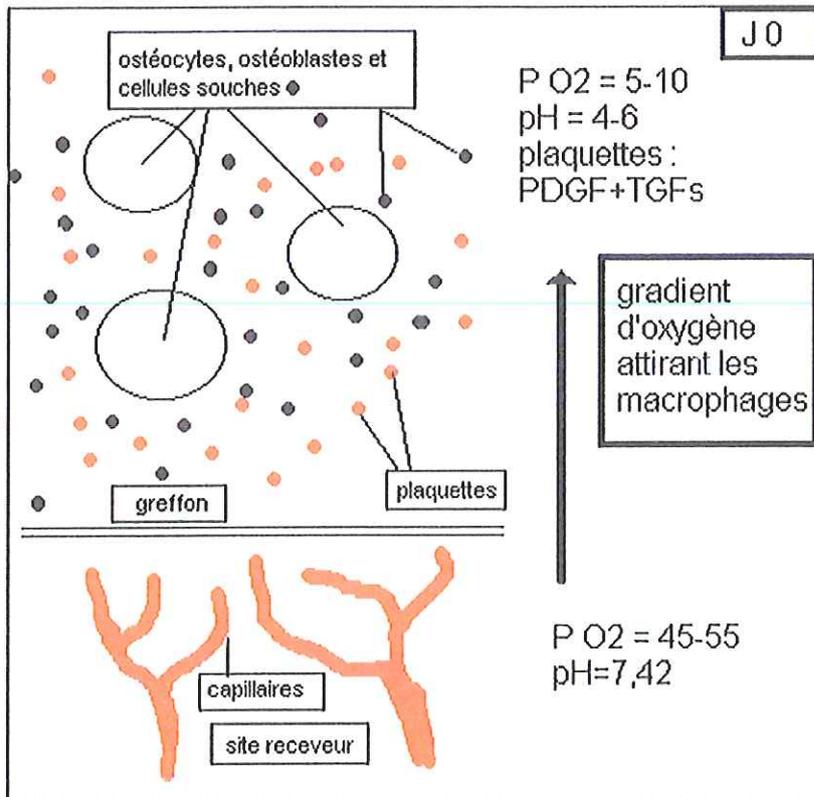


Fig 10 : Schématisation de la cicatrisation d'une greffe osseuse au stade J0. D'après Marx et coll.(28)

Au 3^{ème} jour, on peut déjà observer des capillaires qui entrent dans le greffon.

Cependant, au même moment les plaquettes ont entièrement dégranulé et ne sont plus des sources de facteurs de croissance. Les macrophages prennent alors ce rôle.

Les macrophages étaient à l'origine attirés sur le site de greffe par le greffon lui-même selon deux mécanismes :

- Les facteurs de croissance plaquettaire comme PDGF abondant sur le site
- Le gradient d'oxygène présent entre le site receveur ($pO_2 = 45-55$ mm Hg) et le greffon ($pO_2 = 0-5$ mm Hg). Ce gradient est supérieur à 20 mm Hg, valeur à laquelle les macrophages sont programmés pour répondre.

Les monocytes circulants sont également attirés sur le site.

Les macrophages attirés deviennent très actifs et synthétisent de grandes quantités de facteurs de croissance comme PDGF, TGF β mais également FGF et VEGF.

Ceci amène une néoangiogenèse précoce et qui vient nourrir les cellules ostéocompétentes transférées dans le greffon qui sont en pleine activité mitotique.

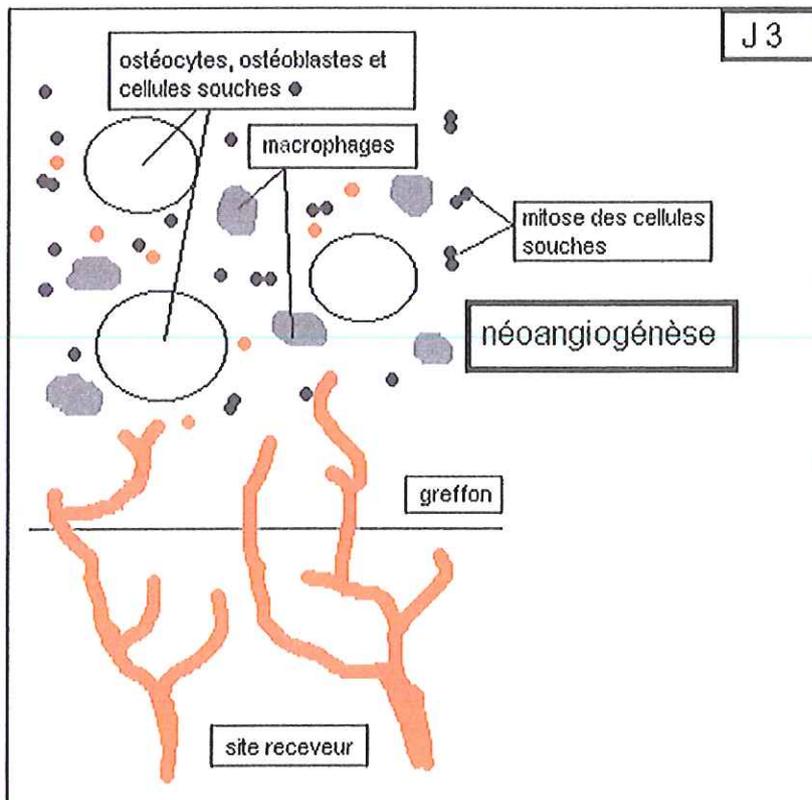


Fig 11 : Schématisation de la cicatrisation d'une greffe osseuse au stade J3. D'après Marx et coll (28).

La revascularisation du greffon se fait entre le 7^{ème} et le 14^{ème} jour.

A ce moment là, les ostéoblastes de l'endoste ont déjà déposé du tissu ostéoïde sur les trabéculations osseuses et les cellules souches de la moelle se sont multipliées par mitoses et ont commencé à se différencier en ostéoblastes.

Comme les capillaires sanguins revascularisent le greffon, le gradient d'oxygène diminue créant ainsi un mécanisme de contrôle des macrophages empêchant le risque d'angiogénèse excessive.

Pendant les 3 à 7 premiers jours, la population cellulaire (cellules souches et les ostéoblastes de l'endoste) produit une petite quantité de tissu ostéoïde. Cependant, une fois que le réseau vasculaire est établi, la production d'ostéoïde s'accélère, phénomène vraisemblablement dû à l'augmentation en apports nutritionnels et en oxygène.

La formation initiale d'ostéoïde se développe à la surface des trabéculations de l'os spongieux.

Peu de temps après, des îlots de tissu ostéoïde se développent entre les trabéculations minéralisées, vraisemblablement à partir des cellules souches transférées par le greffon.

Une 3^{ème} source de production de tissu ostéoïde se développe à partir des cellules souches circulantes qui sont également attirées sur le site par l'environnement biochimique de la greffe. On pense que ces cellules souches s'implantent dans le greffon où elles prolifèrent et contribuent à la production de tissu ostéoïde.

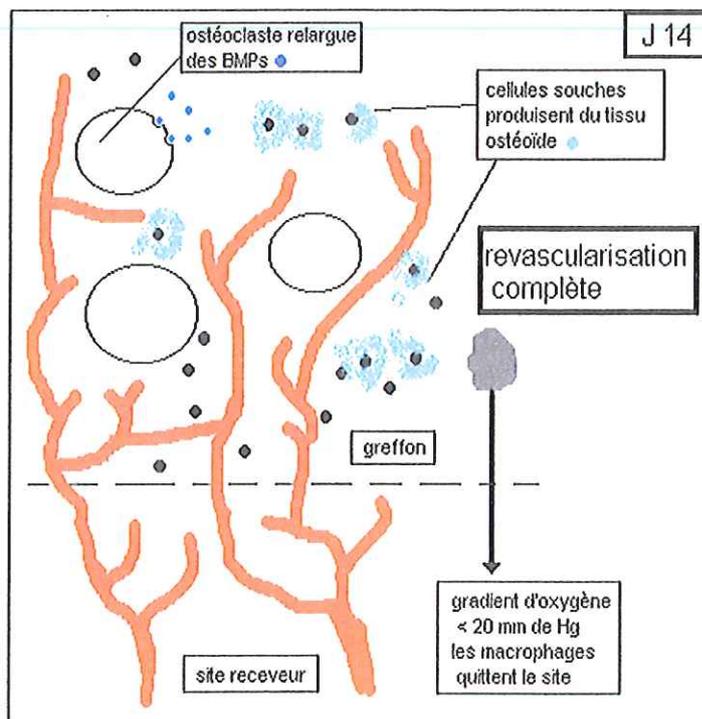


Fig 12 : Schématisation de la cicatrisation d'une greffe osseuse au stade J14. D'après Marx et coll.(28)

1.3.5.2 La régénération osseuse : première phase

Pendant les 3 ou 4 premières semaines, la phase biochimique et cellulaire de régénération osseuse progresse afin de consolider cliniquement le greffon en réunissant les îlots individuels de tissu ostéoïde, le tissu ostéoïde de surface allant vers les trabécules du greffon et vers l'os du site receveur. Ce processus est essentiellement de l'ostéogénèse transplantée.

Cependant ce processus utilise le réseau de fibrine du greffon comme armature. On appelle ceci de l'ostéoconduction.

Le réseau de fibrine procure un échafaudage pour ce qui a été appelée la substitution rampante («creeping substitution»). Mais ici il s'agit de formation rampante, c'est à dire que les ostéoblastes qui sont normalement des cellules immobiles peuvent devenir mobiles par le biais du processus d'endocytose le long d'une fibre de la matrice.

Le processus d'endocytose est tout simplement le transfert de la membrane cellulaire à partir du bord en retrait de la cellule, à travers le cytoplasme, comme une vésicule, jusqu'au bord «antérieur» de la cellule afin de reformer la membrane cellulaire et d'accroître ainsi la surface de contact cellulaire sur la zone avançante.

Ce mécanisme permet à la cellule d'avancer tout en sécrétant ses produits de synthèse.

Dans le cas présent, il s'agit de sécréter de l'ostéoïde le long du réseau de fibrine.

Cette régénération cellulaire est appelée phase 1 ou la phase d'os non organisé («Woven Bone»).

A ce moment là, à la fin d'un délai de 4 à 6 semaines, il y a suffisamment de tissu ostéoïde produit et minéralisé pour permettre au greffon de fonctionner. L'os s'est formé sans passer par le stade chondroblastique des fractures et apparaît histologiquement comme un tissu osseux dont les cellules sont réparties au hasard, ce que le pathologiste appelle du « Woven Bone ».

Parce que la quantité d'os formé pendant la phase 1 dépend directement de la densité en cellules ostéocompétentes transplantées, les sites donneurs choisis sont ceux qui en présentent la plus haute concentration.

Par ordre d'importance, ce sont :

- Les crêtes iliaques antérieures et postérieures,
- Le plateau tibial,
- La symphyse mentonnière.

Qui ont des densités en cellules ostéocompétentes plus importantes que :

- La calvaria,
- Les côtes,
- La fibula.

En outre, la production d'os durant la phase 1 est augmentée si le matériau de greffe à été compacté. Ceci est effectué par un broyat d'os au mortier compacté à la seringue puis avec des fouloirs chirurgicaux dans le cas des techniques implantaires.

1.3.5.3 la régénération osseuse : deuxième phase

La régénération des cellules osseuses qui s'est produite durant la première phase a permis la production d'un tissu osseux mal organisé (Woven Bone) mais parfaitement sain. Les propriétés mécaniques de cet os sont en deçà de celles de l'os mature. L'organisation aléatoire des cellules et le caractère hypercellulaire de cet os mal organisé sont similaires à ce que l'on peut observer à l'intérieur d'un cal osseux après fracture. Cet os va subir une résorption et un remodelage. Finalement, il finit par être remplacé par de l'os dit de phase 2 qui est moins cellularisé mais plus minéralisé et mieux organisé en os lamellaire.

Ce remodelage permettant le passage de l'os type 1 à l'os type 2 est initié comme tout remodelage osseux par les ostéoclastes. Ces ostéoclastes proviennent de la fusion des cellules mononucléaires qui arrivent sur le site de greffe par le biais du réseau vasculaire nouvellement établi.

Les ostéoclastes en résorbant l'os de phase 1 libèrent les BMP et les IGF contenus dans cet os. Comme dans un turn-over osseux normal, les BMP et les IGF agissent comme un lien entre la résorption de l'os et l'apposition d'un nouvel os. Ces facteurs de croissance sont déposés au sein du tissu ostéoïde par les ostéoblastes lors de la phase 1. Les cellules basales contenues dans le greffon ainsi que les cellules provenant des tissus voisins et de la circulation sanguine sont sensibles à la présence des BMP et IGF dans le milieu et se différencient sous leur influence en ostéoblastes permettant ainsi d'accroître la production osseuse d'os de phase 2.

Cet os de phase 2 se forme alors que le greffon est mis en fonction et sous l'effet de la stimulation mécanique devient un os mature haversien et lamellaire capable de résister aux forces de mastication. Cet os est capable de tolérer l'impact et les pressions occlusales et de la prothèse implanto-portée mise en fonction (28).

Histologiquement, un tel greffon entre dans une phase de remodelage à long terme en rapport avec un turn-over normal. Un périoste et un endoste se développent pendant ce cycle de remodelage.

Le cortex du greffon ne devient jamais aussi épais que le cortex initial des maxillaires et le greffon lui-même garde une structure trabéculaire spongieuse dense. Cette structure présente des avantages dans la promotion de l'ostéointégration et s'adapte à une variété de stress fonctionnels.

Après quelques années, le greffon prend la morphologie radiographique et les contours corticaux d'un maxillaire normal. Le chirurgien doit utiliser cette connaissance de la physiologie osseuse pour prévoir une éventuelle réhabilitation préprothétique.

Essentiellement, le greffon peut commencer à fonctionner à plein à partir de 6 semaines c'est à dire que sa revascularisation et sa minéralisation lui assure une stabilité et survie. Les procédures préprothétiques telles que la chirurgie muco-gingivale peut se faire à partir du 4^{ème} mois, date à partir de laquelle le périoste fonctionnel est formé. De même, souvent en même temps que la chirurgie muco-gingivale, des implants ostéointégrables sont posés. Ces implants s'ostéointègrent rapidement et peuvent être mis en charge à partir de 4 mois soit 8 mois après la greffe (28).

DEUXIEME PARTIE :
LES METHODES DE
PRODUCTION DU
PRP/PRE

A ce jour existent deux grandes méthodes de production du PRP :

- par une banque du sang qui effectue une plasmaphérèse.
- par une centrifugeuse

Le PRP est traité à part car il n'est produit que par centrifugeuse.

2.1 La plasmaphérèse :

2.1.1 Généralités :

Le sang du patient est « filtré » pour en extraire les plaquettes et ainsi les concentrer. Le reste du sang retourne au patient pour limiter la perte sanguine, ce qui selon certains d'auteurs est une source de contamination (20).

Cette méthode est toutefois celle donnant des PRP de meilleure qualité : en effet la concentration en plaquette est la plus élevée (en moyenne 5 fois la concentration plaquettaire initiale du donneur) (39).

Néanmoins, cette méthode est la plus longue, la plus difficile à mettre en œuvre et la plus coûteuse (250 Euro) (39).

2.1.2 Protocoles :

2.1.2.1 avec deux centrifugations : (32)

De grands volumes sanguins sont prélevés de façon à remplir un sac d'un volume d'environ 400 à 450 mL.

Le sang est centrifugé à 5600 tr/min à une vitesse de 50mL/min de façon à en séparer les différents éléments : plasma, plaquettes et globules blanc d'un côté et les globules rouges de l'autre.

Le plasma et les érythrocytes sont ré-injectés au patient avec les risques encourus (minimes actuellement car tout est stérile et à usage unique).

Les plaquettes et les globules blancs sont ensuite centrifugées à 2400 tr/min de façon à séparer les plaquettes des globules blancs. On peut ainsi obtenir des concentrations plaquettaires très importantes.

On peut choisir de ne pas ré-injecter les globules rouges et le plasma au patient dans le cas d'un prélèvement de sang total réalisé dans un EFS (Etablissement du Sang Français) ou le plasma et les globules rouges sont conservés pour d'autres applications médicales.

2.1.2.2 avec une seule centrifugation :

Une seule centrifugation est effectuée à 2400tr/min.

Le sang circule dans un anneau de séparation qui va séparer d'emblée les plaquettes des autres constituants. Les globules blancs sont éliminés via un filtre pour enlever toute contamination possible via un virus intra cellulaire.

Dans ce protocole, les globules rouges et le plasma retournent obligatoirement au patient.

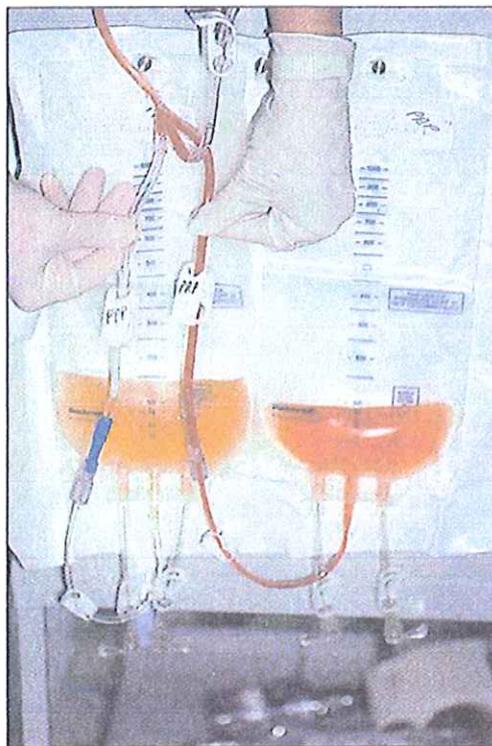


Fig 13 : Poches sanguines après plasmaphérèse : A droite : le PRP
A gauche : le PPP
D'après Marx.
Tissue Engineering
Quintessence Publishing



Fig 14 : Centrifugeuse Cobe Spectra*, permettant la séparation des éléments figurés du sang par aphérèse.
Source : www.Gambro.com

2.2 La centrifugation :

Beaucoup de techniques ont été décrites concernant les vitesses, les durées et le nombre de centrifugations successives nécessaires pour obtenir un PRP de qualité.

Il semble à ce jour que les meilleures techniques sont celles effectuant 2 centrifugations successives (en moyenne 3,5 fois la concentration plaquettaire initiale du donneur) (39).

2.2.1 Méthode à une centrifugation : (22, 36)

Le volume de sang prélevé chez le patient est centrifugé à une vitesse élevée (5600 tr/min 6 minutes) ce qui permet la séparation du sang en 3 fractions : (1, 22, 36)

1. PPP dans le haut du tube : c'est la portion de plasma pauvre en plaquettes et contenant du fibrinogène (Platelet Poor Plasma, parfois appelé PPGF = Plasma Poor in Growth Factor)
2. PRP au milieu du tube : c'est la portion de plasma riche en plaquettes contenant également du fibrinogène (Platelet Rich Plasma, parfois appelé PRGF = Plasma Rich in Growth Factor)
3. RBC dans le bas du tube : portion du plasma riche en cellules rouges sanguines (Red Blood Cells). Les 1^{er} mm du RBC sont particulièrement riches en plaquettes néoformées.

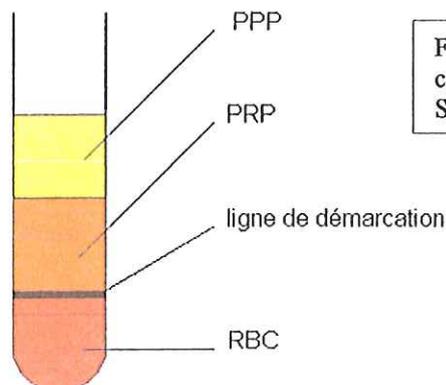
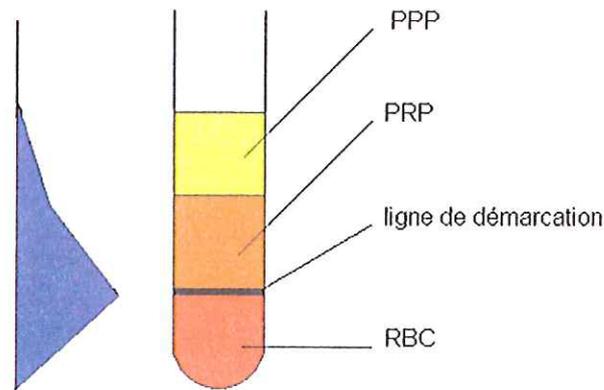


Fig 15 : Schématisation des 3 zones obtenues après 1 centrifugation
Selon Sonnleitner et coll.

Le PRP et RBC sont séparés par une ligne de démarcation : cette zone de démarcation est particulièrement riche en cellules blanches sanguines et en plaquettes

La séparation entre le PPP et le PRP est didactique car en réalité, l'ensemble du plasma, par opposition aux globules rouges, contient des plaquettes mais selon un gradient différent. En effet plus le plasma est proche des globules rouges, plus il contient des plaquettes.



Evolution de la concentration plaquettaire.

Fig 16 : Variation de la concentration en plaquettes après la 1^{ère} centrifugation.
Selon Sonnleitner et coll.

On enlève le PPP que l'on jette.

On prélève le PRP ainsi que le premier ou les deux premiers mm de RBC qui sont très riches en plaquettes nouvellement synthétisées.

On obtient ainsi un culot plaquettaire de haute concentration que l'on peut mélanger avec le matériau de reconstruction osseux choisi.

2.2.2 Méthode à deux centrifugations successives :

2.2.2.1 premier protocole : le type plasmaphérèse à deux centrifugations :

1^{ère} centrifugation : 5600 tr/min puis 2^{ème} centrifugation : 2400 tr/min (40).

Le «buffy coat» est le terme anglophone décrivant le produit obtenu contenant à la fois les plaquettes et les globules blancs.

Certains auteurs préfèrent garder dans leur préparation les globules blancs obtenus dans le buffy coat car une importante quantité de lymphocytes est présente. Ces lymphocytes sont eux aussi riches en facteurs de croissance. De plus, l'importante présence locale de cellules immunitaires permet une prévention supplémentaire de l'infection. (36)

Il est à noter que dans les préparations de culots plaquettaires par les banques de sang, un filtre de déleucocytation est placé afin de retirer tous les globules blancs afin d'éviter les problèmes immunologiques que cela pourrait poser lors d'une transfusion.

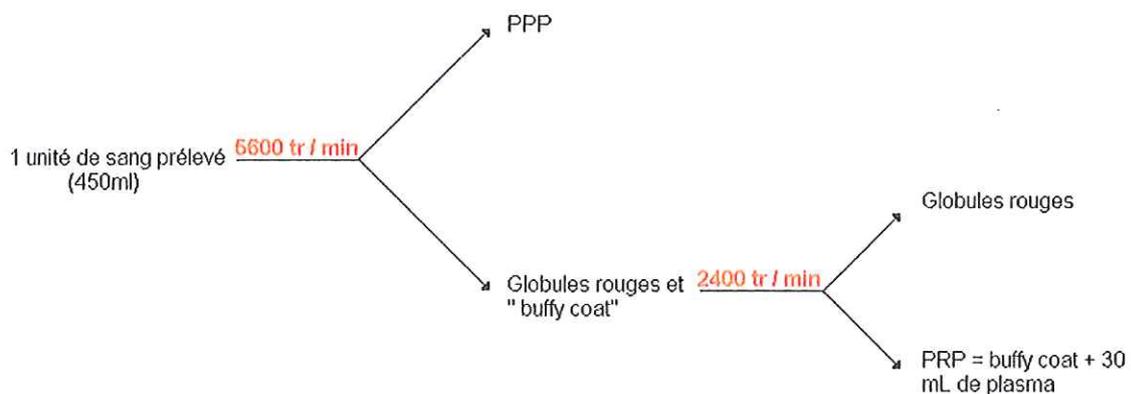


Fig 17 : Schématisation de la préparation d'un PRP d'après une méthode à deux centrifugation successives. D'après Whitman et coll.

2.2.2.2 deuxième protocole : le kit PRP Curasan*(11)

1^{ère} centrifugation à 2400 tr/min pendant 10 minutes puis 2^{ème} centrifugation à 3600 tr/min pendant 15 minutes

L'avantage de ce procédé est que tout est codifié, fournit par le fabricant avec des codes couleur évitant les erreurs de manipulations. L'ensemble des manipulations est réalisé de manière stérile grâce à un système de monovettes hermétiquement fermées.

Le protocole est le suivant :

1.Prise de sang

2.Séparation des érythrocytes et des leucocytes du plasma contenant les plaquettes :

- La monovette contenant le sang du patient est centrifugée à 2400 tr/min pendant 10 minutes
- On obtient une monovette avec 2 fractions sanguines à l'intérieur : le plasma et les thrombocytes dans la partie haute du tube, et un mélange de thrombocytes, leucocytes et d'érythrocytes. La plus grande concentration de plaquettes est obtenue dans la partie supérieure du tube.
- Cette partie supérieure est aspirée dans une monovette marquée en jaune.
- La monovette initiale de la prise de sang peut alors être jetée.

3.Séparation de la fraction de plasma exempte de cellules et de la fraction PRP :

- La monovette jaune est centrifugée à 3600 tr/min pendant 15 minutes
- On obtient alors dans la partie supérieure de la monovette du plasma exempt de plaquettes et dans la partie inférieure du tube un « globule de thrombocytes ».
- Le plasma de la monovette jaune est alors aspiré dans une monovette bleue en prenant garde à laisser dans la monovette jaune un volume résiduel de plasma d'environ 0,3mL.
- La monovette bleue peut être jetée.
- Le concentré de thrombocytes de la monovette jaune est alors remis en suspension dans le volume résiduel de plasma puis aspiré dans une seringue verte.
- La monovette jaune peut alors être jetée.

4.Le contenu de la seringue verte peut alors être mélangé avec le matériau de reconstruction osseuse choisit.

Selon Weibrich 2001(39), cette méthode permet d'obtenir des concentrations plaquettaires moyennes de l'ordre de 958.000 plaquettes/ μ L.

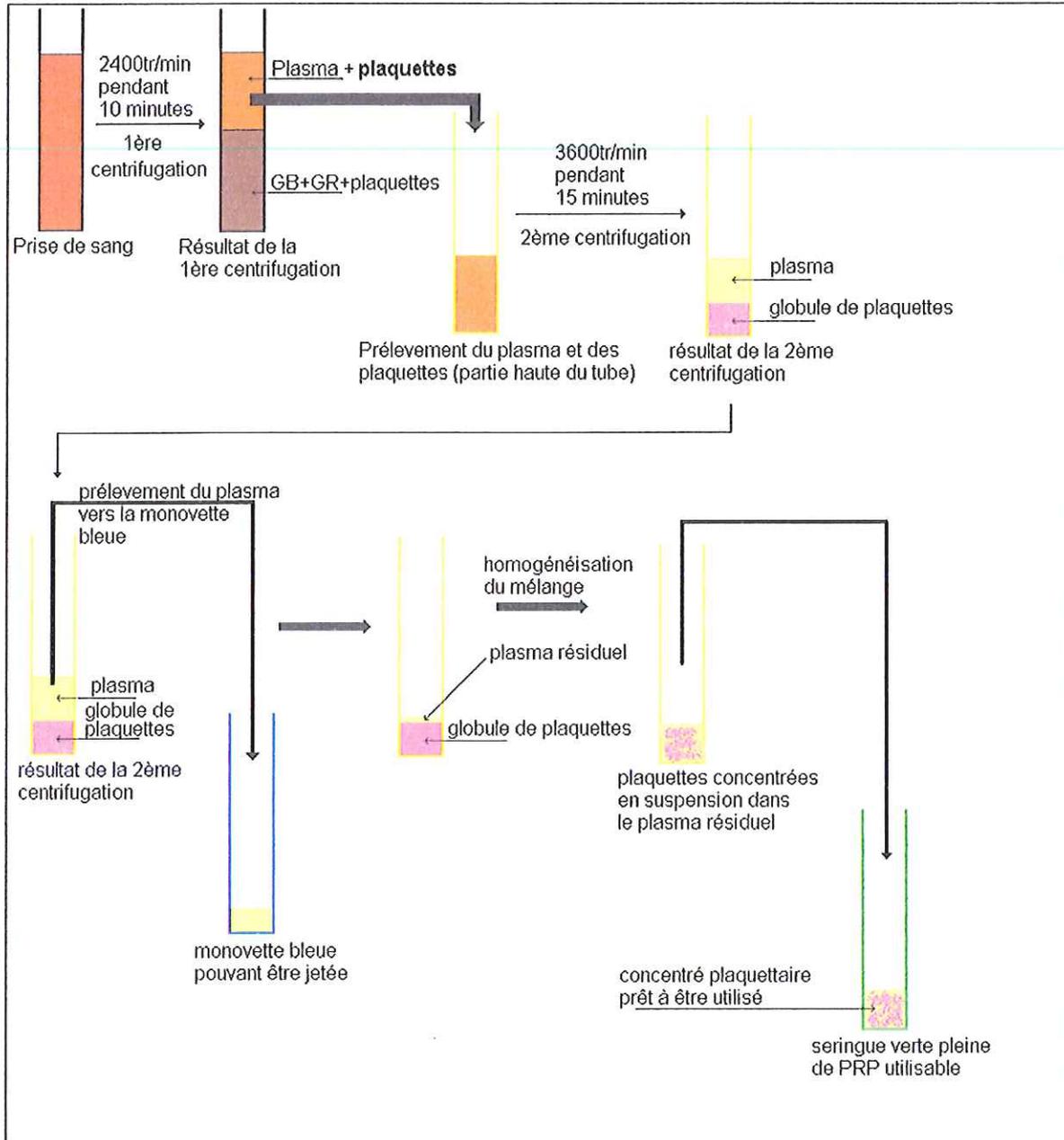


Fig 18 : Schéma explicatif du protocole Kit PRP de Curasan*
D'après Curasan*.

2.2.2.3 troisième protocole (Sonnleitner et coll 2000)

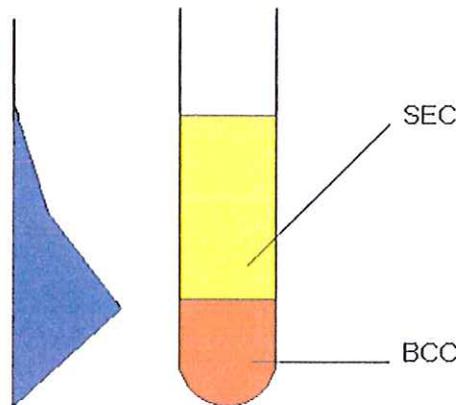
1^{ère} centrifugation à 1200 tr/min pendant 20 minutes puis 2^{ème} centrifugation à 2000 tr/min pendant 15 minutes(36).

Le sang provenant de la prise de sang est placé dans la centrifugeuse pour la première centrifugation.

Au terme de cette centrifugation, le tube est séparé en deux fractions :

- Dans le fond du tube : le BCC = « blood cells component » c'est à dire les globules rouges, blancs et des plaquettes (ce qui est appelé par d'autres auteurs le RBC).
- Dans le haut du tube : le SEC = « serum component » c'est à dire du plasma et des plaquettes (ce qui est appelé par d'autres auteurs le PPP et le PRP).

Le maximum de plaquettes est situé à la jonction entre le BCC et le SEC.



Evolution de la concentration plaquettaire.

Fig 19 : Variation de la concentration en plaquettes après la 1^{ère} centrifugation. Selon Sonnleitner et coll.

On prélève donc la totalité du SEC et les 6 à 8 premiers mm du BCC.
Ce volume prélevé est alors centrifugé de nouveau à 2000 tr/min pendant 15 minutes.
On obtient de nouveau deux fractions :
Dans le haut du tube du plasma avec très peu de plaquettes
Dans le fond du tube un concentré plaquettaire (0,5 mL environ)

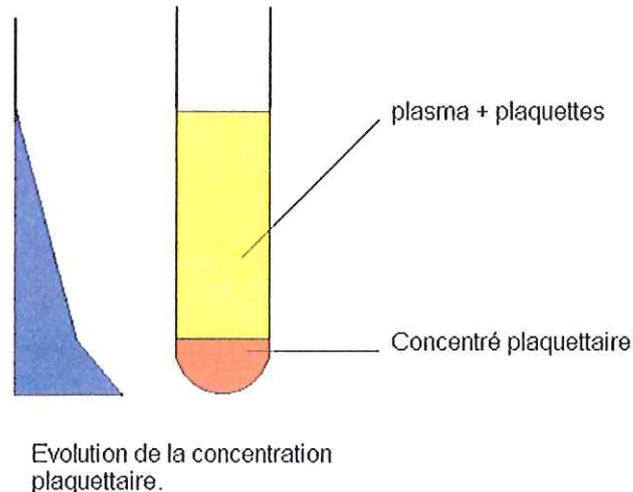


Fig 20 : Evolution de la concentration en plaquette lors de l'obtention d'un concentré plaquettaire. Selon Sonnleitner et coll.

Selon Sonnleitner et coll (36), la concentration en plaquette du concentré atteint 2.000.000 plaquettes/250 μ L soit 4.000.000 de plaquettes dans le concentré de 0.5mL.
De plus ce « concentré plaquettaire » contient très certainement des globules rouges car une partie du BCC est prélevé.

2.2.2.4 quatrième protocole : (21) (modèle animal)

1^{ère} centrifugation à 1000 tr/min pendant 10 minutes puis 2^{ème} centrifugation à 1500 tr/min pendant 10 minutes

Après la prise de sang, les tubes de prélèvement d'un volume de 5 mL sont centrifugés à 1000 tr/min pendant 10 minutes laissant apparaître trois fractions sanguines dans les tubes à la fin de la centrifugation :

- RBC dans le fond du tube
- PRGF dans le milieu du tube
- PPGF dans le haut du tube

On enlève 1mL de PPGF de chaque tube, et on prélève le reste de PPGF et de PRGF que l'on centrifuge à nouveau à 1500 tr/min pendant 10 minutes. On obtient alors un concentré plaquettaire dans le fond du tube avec un peu de plasma surnageant dans le haut du tube.

2.2.2.5 cinquième protocole : le Système SmartPREP* de Harvest Technology :

Récemment développé aux USA, ce système permet l'obtention de culots plaquettaire de très bonne qualité en terme de concentration et de survie des plaquettes. Ce système présente également l'avantage d'être entièrement automatisé sans nécessité d'intervention entre les deux centrifugations.

Ce système se compose :

- D'une centrifugeuse,
- De plusieurs kit de prélèvement sanguins (de 20, 60 et 120cc),
- Du « Process Disposable »: il s'agit du récipient dans lequel le sang anticoagulé est placé pour la centrifugation à l'intérieur de la centrifugeuse. Ce récipient se compose de deux chambres : la chambre sanguine et la chambre plasmatique.

Chaque Kit de prélèvement sanguin est d'un volume différent de façon à obtenir des quantité différentes de PRP (Cf tableau ci dessous)

	Volume de sang prélevé	Volume de PRP obtenu	Concentration plaquettaire	Augmentation moyenne
Kit 1	20cc	3cc	1191000/ μ L	X 4,4
Kit 2	60cc	7cc	1758000/ μ L	X 6,6
Kit 3	60cc	10cc	1151000/ μ L	X 4,3

Chaque Kit de prélèvement contient le nécessaire pour la prise de sang et les manipulations requises ainsi que l'anticoagulant (citrate dextrose)



Fig 25 : Kit de prélèvement SmartPRep*. D'après www.harvesttech.com



Fig 26 : Centrifugeuse SmartPRep* D'après www.harvesttech.com

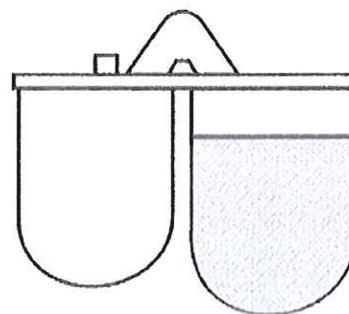


Fig 27 : Schéma du Process Disposable SmartPRep* D'après www.harvesttech.com

Le sang anticoagulé prélevé est introduit dans la chambre sanguine du Process Disposable qui est ensuite introduit dans la centrifugeuse.



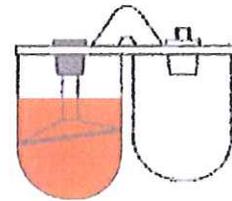
Fig 28 : Remplissage du Process Disposable. D'après www.harvesttech.com

Fig 29 : Placement du Process Disposable dans la centrifugeuse. D'après www.harvesttech.com

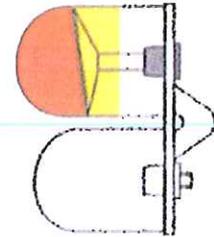


On peut ensuite décrire la centrifugation en 5 étapes : (Fig 30 ci-dessous)

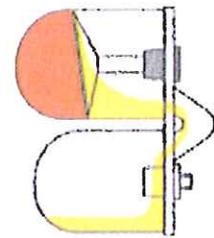
Etape 1 : le Process Disposable rempli de sang citraté est placé dans la centrifugeuse.



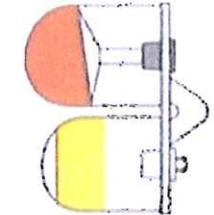
Etape 2 : la force centrifuge amène le Process Disposable à l'horizontale et permet la séparation entre les globules rouges et un mélange de plasma et de plaquettes.



Etape 3 : la vitesse de centrifugation diminue pour permettre au plasma et aux plaquettes de passer de la chambre sanguine à la chambre plasmatique



Etape 4 : la vitesse de centrifugation augmente de nouveau pour permettre la séparation entre les plaquettes au fond de la chambre (concentré plaquettaire) et le plasma surnageant



Etape 5 : la centrifugation s'arrête et le Process Disposable reprend une position verticale. Le concentré plaquettaire peut être prélevé.

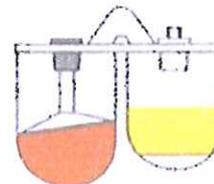


Fig 30 : les 5 étapes du processus d'obtention du PRP par le protocole SmartPReP*. D'après www.Harvesttech.com

Fig 31 : Obtention du concentré plaquettaire par le système SmartPReP*. D'après www.harvesttech.com



Le plasma surnageant (le PPP) est prélevé dans le Process Disposable à l'aide d'une seringue du Kit. Cette seringue est d'un volume calculé pour ne laisser dans la chambre plasmatique du Process Disposable que quelques mL de plasma et le concentré plaquettaire.

Une deuxième seringue va alors permettre de remettre les plaquettes en suspension dans ce qu'il reste de plasma de façon à garantir leur survie et la présence des facteurs de la coagulation contenus dans celui-ci.

Le PRP ainsi obtenu est placé dans une seringue et le PPP peut être conservé dans sa seringue de prélèvement pour une utilisation future (comme hémostatique le plus souvent).

Une solution coagulatrice est préparée dans une deuxième seringue de volume 1cc : cette solution est composée de chlorure de calcium et de thrombine bovine.

Ces deux seringues peuvent être montées sur un pistolet applicateur : L'Applicator LK2*



Fig 32 : Applicator LK2* : mélange du PRP et de la solution coagulatrice sur un broyat d'os autogène
D'après www.harvesttech.com

Fig 33 : Applicator LK2* utilisé en fonction spray
D'après www.harvesttech.com



2.3. Le PRF :(10)

Le PRF, contrairement au PRP, est produit par centrifugation du sang du patient dans **un tube non citraté**, c'est à dire que la coagulation du sang peut avoir lieu pendant la durée de la centrifugation. Par contre cela implique un prélèvement rapide du sang car il faut que la centrifugation démarre avant que la coagulation ne se fasse (2minutes 30s).

Le PRF obtenu à la fin de la centrifugation est de consistance pâteuse et peut être prélevé directement dans le tube de centrifugation à l'aide pincés stériles ce qui diminue le nombre de manipulations, source d'erreurs et d'éventuelles contaminations.

Le nombre de plaquettes contenues dans ce caillot fibrino-plaquettaire serait plus important que celui obtenu par une production de PRP car la totalité des plaquettes contenues dans le sang du tube serait enfermée dans la fibrine alors que dans le PRP une petite partie des plaquettes de l'échantillon serait perdue car restant dans le PPP.

Le PRF contient entre 2 et 3 millions de plaquettes, de la fibronectine (qui sert d'échafaudage au transfert cellulaire), de la fibrine (ostéoconductive), et des leucocytes (activité antimicrobienne locale).

Il n'existe pour le PRF qu'un seul temps et une seule vitesse de centrifugation : 3000 tr/min pendant 10 minutes.

Il est recommandé de laisser les tubes reposer 5 minutes une fois le PRF fabriqué.



Fig 34 : Tube de prélèvement sanguin non citraté centrifugé.
Le PRF apparaît entre le plasma (en haut du tube en jaune) et le culot de globule rouge (en bas du tube)
D'après fmf.affinitesante.com

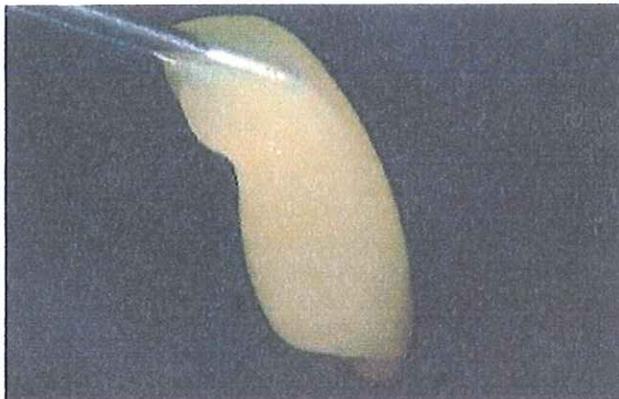


Fig 35 : Coagulum de PRF prélevé du tube par des pinces stériles
D'après fmf.affinitesante.com

2.4 Comparatif des méthodes :

2.4.1 La plasmaphérèse :

De grands volumes sanguins sont prélevés de façon à remplir un sac de prélèvement sanguin d'un volume d'environ 400 à 450 mL.

Le plasma et les érythrocytes sont ré-injectés au patient avec les risques encourus (minimes actuellement car tout est stérile et à usage unique), mais qui restent supérieurs aux risques d'une simple prise de sang (39).

On obtient ainsi des taux moyens de 1.400.000 de plaquettes/ μ L(39).

Il est toutefois possible bien que très peu rentable sur le plan économique de stopper une plasmaphérèse quand le volume de PRP voulu est obtenu.

C'est la méthode la plus compliquée et la plus coûteuse mais qui permet d'obtenir les concentrations plaquettaires les plus importantes.

2.4.2 La centrifugation :

2.4.2.1 une seule centrifugation :

C'est une méthode rapide s'appliquant à tous les volumes sanguins prélevés mais donnant de faibles concentrations sans toutefois pouvoir préciser de valeurs.

2.4.2.2 méthode à deux centrifugations :

Elle peut s'appliquer à tous les volumes sanguins et donne des concentrations plus basses que celles obtenus par plasmaphérèse.

On obtient des concentrations moyennes de 920.000 plaquettes par μ L soit environ 500.000 de moins que par plasmaphérèse(39).

Même si les vitesses de centrifugation sont égales, respectivement 5600 puis 2400 tr/min pour certaines plasmaphéreses et certaines techniques à deux centrifugations, la plasmaphérese reste meilleure car le passage du volume sanguin initial se fait par fraction de 50mL/min ce qui permet de « diluer » un mauvais résultat (39).

Les techniques de double centrifugation ayant des vitesses différentes que celles de la plasmaphérese semblent elles aussi donner de bons résultats (exemple du PRP Kit de Curasan*)

Il est toutefois dommage que la littérature ne donne pas plus d'informations quant aux concentrations en plaquettes obtenues après la préparation du culot plaquettaire.

Les seules références connues sont celles des plasmaphéreses et des protocoles fournis par les firmes Curasan* et Harvest Technology ainsi que l'étude comparative entre plasmaphérese et le Kit Curasan* de Weibrich et coll (39).

2.4.3 Quelle méthode choisir ?

Les plasmaphéreses sont à réserver à des actes chirurgicaux lourds avec de grandes reconstructions osseuses car le gros volume sanguin prélevé et donc l'important volume de PRP obtenu ne se justifie que si il peut être utilisé. Il semble stupide de prélever 450 cc de sang, de choisir une technique coûteuse (250 Euro)(39) et longue pour obtenir 70 cc de PRP dont on n'utilisera que 3 cc pour un comblement d'alvéole lors de l'extraction. De plus, pour des problèmes de législation, les culots plaquettaires préparés par plasmaphérese sont « réservés » pour des applications hospitalières.

Les techniques de centrifugation, qu'elles soient simples ou doubles, semblent donner de bons résultats pour un coût modique (entre 10 et 20 Euros)(39) et une préparation courte et facilement réalisable et peuvent être donc utilisées pour les actes quotidiens de greffe (tissu dur et tissu mou), de comblement d'alvéole, de lésions parodontales.

Toutefois, quitte à choisir une méthode par centrifugation, autant réaliser une double centrifugation qui apporte de meilleures concentrations et donc de meilleurs résultats.

Il est à noter que la technique par centrifugation type plasmaphérese (5600-2400 tr/min) a été testée avec succès par R.E.Marx avec un prélèvement sanguin initial de 70mL et a permis d'obtenir un PRP avec une concentration en plaquettes supérieure à 1.000.000 plaquettes/ μ L dans un volume de 5mL (la valeur exacte n'est pas précisée dans la littérature).

Il faut également parler de l'évolution des techniques car entre 1998 et 2000, Marx a fait évoluer son protocole, faisant passer le taux de plaquettes obtenu de 785.000 à plus de 1.000.000 de plaquette / μ L. Toutefois, avec le taux de 785.000 il obtenait déjà des résultats excellents.

On est donc en droit de se poser la question s'il convient de compliquer le protocole d'obtention des culots plaquettaires sachant que plus les plaquettes sont « déplasmatisées », c'est à dire concentrées, plus leurs chances de survie sont minces.

Le PRF, préparation récente, avec peu de publications à l'appui, semble très intéressant dans la mesure où la simplicité de mise en œuvre le rend accessible. Les concentrations en facteurs de croissance, plaquettes, fibrine sont mal documentées et demandent des approfondissements mais ce procédé, simple d'abord, semble donner les mêmes résultats que le PRP.

Il faut également garder à l'esprit que dans les techniques de centrifugation, le sang n'est pas réinjecté au patient : il convient donc de prendre juste la quantité nécessaire à l'acte thérapeutique en cours, c'est à dire posséder un système « évolutif et adaptatif », ce que proposent les techniques à base de tubes de centrifugation (PRF, Curasan* et dans une moindre mesure le SmartPRP*).

2.4.4 Facteurs influençant la concentration plaquettaire dans le culot : (39)

Dans une étude menée par Weibrich et coll (39), les auteurs étudient l'influence de l'âge, du sexe, du taux de plaquettes initial du donneur ainsi que la méthode de préparation (entre plasmaphérèse et kit Curasan*).

Il ressort de cette étude :

- que l'âge n'a pas d'influence,
- que les femmes possédant un taux de plaquettes plus important que les hommes, on obtient chez les femmes des culots plaquettaires de plus grande concentration,
- qu'il n'y a que peu de relation entre le taux initial et le taux final de plaquettes avec la méthode du Kit Curasan*,
- qu'il existe une relation directe entre le taux initial et le taux final de plaquettes avec une plasmaphérèse,
- Et que la plasmaphérèse présente des résultats plus constants et plus prédictibles.

TROISIEME PARTIE :
LES PRODUITS UTILISES
AVEC L'APPLICATION
DE PRP/PRF EN
IMPLANTOLOGIE
ORALE

3.1. Les substituts osseux : (7)

3.1.1 « L'os naturel non autogène » : bovin ou humain

En tête de ceux-ci on retrouve le FDBA (Freeze-dried-bone-allograft = os allogène de greffe congelé et lyophilisé). Présenté sous 2 formes : (29)

- Le MFDBA (mineralized freeze dried bone allograft)
- Et le DFDBA (decalcified freeze dried bone allograft)

Il s'agit le plus souvent d'os bovin qui est déprotéinisé et stérilisé.

Introduit en 1976 dans les traitements parodontaux il permet une régénération osseuse car sa matrice organique sert de support à la colonisation par les cellules osseuses (ostéoconduction)

Ces particules sont de taille variable (de 125 à 1000 µm généralement)(29).

Souvent utilisé par les auteurs (20, 22 29, 34) avec des résultats divers et pour certains contradictoires.

En effet, Shanaman (34) a testé un mélange de PRP et de DFDBA dans la réalisation de ROG. Or, il ne trouve pas de meilleurs résultats qu'une simple ROG avec une membrane armaturée espacée. Par contre, Shanaman constate une plus grande facilité d'utilisation du matériau de greffe du fait de la plasticité et de la malléabilité du mélange PRP/DFDBA.

A l'inverse, Kassolis(20), lors de comblements sous-sinusiens avec du PRP mélangé avec du DFDBA, obtient de meilleurs résultats avec un taux de succès de 89%.

Quasiment tous les matériaux de substitutions osseux ont été testés avec plus ou moins de succès (7, 20, 22, 27, 29, 31, 34).

Toutefois il est important de noter que quel que soit le matériau utilisé, ces auteurs ont toujours noté une augmentation de la vitesse de cicatrisation et de la maturation de l'os obtenu après greffe avec une adjonction de PRP par rapport aux groupes témoins sans adjonction de PRP, exception faite de l'article de Shanaman (34).

Les auteurs ont également testé différents mélanges à base de dérivés osseux, d'os autogène et de PRP : dans ces cas, l'amélioration est systématique. R.E.Marx attribue ceci au fait que le PRP n'agit que sur des cellules vivantes et donc dans le cas des greffes osseuses sur l'os autogène du site receveur ou du greffon ce qui explique pourquoi les mélanges de substituts osseux obtiennent de meilleurs résultats quand ils incorporent de l'os autogène (27).

3.1.2 Dentine associée au plâtre de Paris : (21)(essai chez le chien)

Le Plâtre de Paris est un sulfate de calcium, ostéoconducteur, facilement stérilisable et de faible coût de production.

La dentine, matériau d'origine dentaire dont la méthode de préparation en fines particules est plus longue et coûteuse.

- Les dents sont nettoyées et trempées dans du peroxyde d'hydrogène
- Les dents sont ensuite portées à une température de 2192°F (soit 1200°Celsius) pendant 2 heures
- Les dents sont broyées avec mortier et pilon en particules les plus fines possible.
- Les particules sont filtrées pour obtenir après 3 filtrations successives des particules d'environ 0,149mm
- Ces particules sont autoclavées 5 fois de suite.

On mélange 2 doses de particules dentinaires avec 1 dose de plâtre de Paris.

On rajoute une solution saline comme liant.

De l'autre côté, on prépare un gel plaquettaire à l'aide de PRP et de thrombine bovine.

Les 2 éléments sont mélangés et introduits dans le défaut osseux.

3.1.3 « L'os synthétique » :

Peu d'études utilisent de l'os synthétique ce qui rend l'exploitation des résultats difficiles. Il existe de nombreux type « d'os synthétique » : les céramiques, les mélanges d'hydroxyapatites et de phosphates tricalciques, le carbonate de calcium...(7)

L'utilisation de Cerasorb* par certains praticiens (4, 31) semble donner de bons résultats.

Les progrès de la recherche biomédicale en matière d'os synthétique sont prometteurs et il convient de ne pas perdre de vue leurs possibilités.

3.2 La thrombine :

3.2.1 La thrombine bovine :

Elle est ajoutée au PRP afin d'obtenir une gélification du matériau de greffe et le rendre ainsi plus malléable et modelable par le praticien.

C'est toutefois un vecteur de contamination car il s'agit d'un produit non allogène.

Il est à noter qu'en France, l'utilisation de thrombine bovine est interdite.

Il a été rapporté dans la littérature des cas de pathologie hématologique iatrogène due à la thrombine bovine (synthèse par le patient d'anticorps anti-facteur V et X de la coagulation)(32).

3.2.2 La thrombine autologue :

Utilisée de la même façon que la thrombine bovine, elle possède les mêmes propriétés sans être interdite d'utilisation en France.

Son mode de production est hélas très complexe et coûteux car il faut passer par l'Organisme Français de Fractionnement du Sang (Paris). Ce problème peut être contourné par l'utilisation de colles-fibrine qui ont reçu l'AMM comme le suggère Sonnleitner et coll(36).

3.3 Les anticoagulants utilisés :

Les tubes de prise de sang pour obtenir le PRP sont citratés, c'est à dire qu'ils contiennent soit du :

- Citrate dextrose A (ACD-A)
- Citrate phosphate dextrose (CPD)

Selon Marx.R.E, il vaut mieux utiliser du ACD-A car il est plus adapté au métabolisme des plaquettes contenues dans le tube et dont on veut garantir la survie le plus longtemps possible(27).

3.4 Chlorure de calcium :

Il est rajouté au dernier moment avant la mise en place du matériau de greffe afin de contrer l'action anticoagulante du citrate. Le calcium apporté à haute dose dépasse les capacités chélatrices du citrate et peut agir sur les plaquettes en les faisant dégranuler.

3.5 L'os autogène : (1, 12, 15, 36):

C'est le meilleur matériau de greffe possible car il est autogène.

Il contient des BMP's qui sont les seules molécules connues pour être ostéo-inductrices.

Les implants peuvent parfois être placés simultanément à la pose du greffon de façon à fixer celui-ci, les implants agissant ici comme des vis d'ostéosynthèse.

Les avantages de l'os autogène sont :

- La disponibilité :
 - les auteurs actuels apportent autant d'importance à la quantité du volume prélevé qu'à sa provenance. En effet, des études montrent qu'un greffon d'origine membraneuse (crâne : prélèvement pariétaux, ramus, symphyse) se résorbent moins vite qu'un greffon d'origine endochondrale (crête iliaque, fibula)
 - Les reconstructions de grande étendue posent toutefois un problème car les sites prélevés sont alors plus restreints : crête iliaque, crâne et os costal.
- L'ostéogénicité :

Elle est due à deux processus distincts :

 - Le greffon contient une quantité important de cellules vivantes (ostéoblastes, ostéocytes, ostéoclastes ...) qui lui confèrent un potentiel ostéogénique
 - Le greffon stimule le site receveur par différent processus (relargage de BMP's...) provoquant une ostéo-induction.

- La mise à disposition d'une matrice minérale :

La présence de cette matrice minérale caractérise les bases de l'ostéoconduction. Elle permet la colonisation du greffon par les éléments vasculaires et cellulaires en provenance du site receveur.

- La stabilité mécanique du greffon :

L'immobilisation du greffon par des vis d'ostéosynthèse ou des implants conditionne directement ses possibilités de revascularisation par le site receveur et le périoste réduisant ainsi sa résorption postopératoire et tout simplement sa « prise » sur le lit receveur.

L'os cortical permet d'isoler la portion médullaire spongieuse du greffon de toute interférence extérieure et de ne recevoir des cellules que du site receveur.

Seuls les greffons cortico-spongieux remplissent ces quatre critères et peuvent se prévaloir de bons pronostics.

Les caractéristiques du greffon idéal peuvent se résumer en 5 points : (12)

- Biocompatibilité
- Viabilité
- Potentiel ostéogénique
- Capacité à agir comme matrice (un des piliers du trépied de la régénération tissulaire)
- La stabilité mécanique

L'os autogène remplit ces conditions si l'opérateur assure sa viabilité et sa stabilité mécanique.

Certains auteurs comme Marx n'utilisent que de l'os autogène en combinaison avec du PRP de façon à garantir des résultats optimaux et une absence de problème de contamination.

En effet, selon Marx, le PRP n'agit que sur des cellules vivantes et donc les substituts osseux ne sont pas susceptibles d'avoir des résultats améliorés par le PRP.

Par contre l'utilisation conjointe d'os autologue et de substituts osseux est bénéfique.

« (...) à cette date (2001) aucun bénéfice clinique n'a été documenté sur l'utilisation de PRP/gel avec un substitut osseux non vital (...) »(27). Les cibles du PRP sont les cellules ostéoprogénitrices et les cellules basales(souches). Mais une augmentation de la régénération osseuse peut être obtenue quand du PRP est mélangé avec un mélange d'os autogène ou des substituts osseux contenant des GFrh comme les RhBMP's. Des résultats récents indiquent que « du PRP placé dans la logette implantaire préparée va augmenter, faciliter et accélérer l'ostéointégration ce qui est bénéfique au maxillaire supérieur, dans de l'os de type 4 et chez la femme ostéoporotique. »(27).

Les mêmes bénéfices sont obtenus quand le PRP/gel est placé dans une alvéole vide après extraction en attendant l'implantation.

3.6 L'utilisation d'oxygène hyperbare en combinaison avec le PRP :(28)

Lors d'une étude sur un pool de patients irradiés, il a été démontré que l'utilisation combinée d'oxygène hyperbare et de PRP permettait de placer des implants et d'avoir une mise en fonction avec un taux de succès de 84%, malgré 1% d'ostéoradionécrose (sur 1000 implants posés)(28).

Le taux de contact os/implant est alors de 39% par rapport à un taux normal de 47%.

Le taux de vascularisation de l'os irradié est de 30% par rapport à la normale.

Avec l'oxygène hyperbare, qui est connu pour ses capacités d'angiogénèse, ce taux monte à 75% par rapport à la normale rendant ainsi la cicatrisation meilleure et l'ostéointégration possible(28).

Le protocole suivant semble donner de bons résultats :

- 20 séances de 90 minutes chacune en préopératoire à une pression de 2,4ata
- puis 10 séances aux mêmes conditions en post-chirurgical(28).

Toutefois des précautions sont à prendre car les tissus irradiés restent fragiles :

- Une décollement minimal des périostes linguaux et palatins,
- Prendre les implants les plus larges et les plus longs possible car il faut pallier la diminution de la surface de contact os/implant en zone irradiée,
- Il faut augmenter le nombre d'implants de façon à répartir les forces au maximum et pallier le risque d'échec d'un ou de plusieurs implants,
- Le turn-over de l'os irradié est beaucoup plus lent que celui de l'os normal et il faut donc attendre un délai d'au moins 6 mois avant de mettre les implants en charge,
- Pour les édentements de grande étendue, il vaut mieux préférer une prothèse implantoportée amovible car les appuis implantaires sont moins sollicités(28).

QUATRIEME PARTIE :
PROTOCOLES
CLINIQUES
D'APPLICATION DU
PRP/PREF

4.1 Indications et contre-indications à l'utilisation d'un culot plaquettaire :

4.1.1 Indications :

L'indication de l'utilisation d'un culot plaquettaire en implantologie est la reconstruction d'un volume osseux déficient pour la pose d'implants dans des conditions idéales sinon correctes pour la réalisation de la prothèse dans de bonnes conditions esthétiques et fonctionnelles.

Comme il s'agit d'une technique adjuvante à la greffe osseuse et au comblement sinusien, il n'y a pas de réelles indications précises hormis le fait de vouloir obtenir une cicatrisation osseuse ou une ostéointégration de meilleure qualité dans un délai plus court.

Il est toutefois à noter que l'utilisation de PRP avec un substitut osseux non vital ne semble pas être très utile vis à vis de l'os autologue (27).

Toutefois, le coût supplémentaire et les difficultés thérapeutiques de mise en place d'un PRP font que ces techniques sont « réservées » pour des patients ostéoporotiques, les patients dits à risques comme les diabétiques ou irradiés, les comblements sinusiens, les patients âgés dont l'os n'est pas d'une grande qualité et peut compromettre l'ostéointégration des implants ou la réussite d'une greffe.

Le PRF par contre étant beaucoup plus simple à mettre en œuvre et de coût quasi insignifiant (10 Euro environ), ses indications peuvent être beaucoup plus nombreuses, ou tout du moins, moins restrictives.

Le PRP/PRF peut s'utiliser dans les cas suivants en odontostomatologie :

- Préparation des sites d'implantations (greffes osseuses ou de tissus mous)
- Chirurgie parodontale (le PRP/PRF accélère la régénération parodontale)
- Comblement sinusien (l'effet membrane du PRP/PRF est ici particulièrement intéressant)
- Comblement alvéolaire (les propriétés d'adhésions biologiques du PRP/PRF permettent une stabilisation biomécanique du caillot dans l'alvéole rendant les risques d'alvéolite quasi nulle)
- Chirurgie maxillo-faciale (chirurgie orthognatique, réduction de fracture mandibulaire...)(10).

4.1.2 Contre-indications : (11)

Les techniques de reconstruction osseuse via les culots plaquettaires (PRP/PRF) ne doivent pas être appliquées chez les patients souffrant de thrombocytopénies congénitales ou acquises.

Les thrombopénies correspondent à une diminution du nombre de plaquettes qui sont alors inférieures à $150 \cdot 10^9/L$.

NB : il existe d'autres pathologies de la coagulation comme les hémophilies mais elles contre-indiquent directement la chirurgie.

4.1.2.1 thrombocytopénies héréditaires :

Ce sont des maladies rares dont le représentant principal est le syndrome de WISKOTT-ALDRICH : appelée aussi maladie de WERRLHOF : c'est un purpura thrombocytopénique de cause inconnue.

C'est une maladie à transmission récessive liée au sexe, ne touchant que les individus de sexe masculin. L'évolution de cette maladie est mortelle.

4.1.2.2 thrombocytopénies acquises :

4.1.2.2.1 par une infection :

- infections virales (hépatites, VIH, ...)
- infections bactériennes (tuberculose, fièvre typhoïde, leptospirose, syphilis, dyphtérie, tularémie....)
- infections par des protozoaires (paludisme)

4.1.2.2.2 par des médicaments et autres produits chimiques :

- perturbation de la formation des plaquettes par un abus d'alcool, les oestrogènes, les thiazides...
- par un mécanisme d'allergie, dont les causes les plus fréquentes sont :
 - les analgésiques (acide acétylsalicylique, phénylbutazone)
 - les antibiotiques (rifampicine, sulfonamides, streptomycine)
 - les alcaloïdes de quinquina (quinine, quinidine)
 - les médicaments cardio-vasculaires (digoxine, antazoline, α -méthyldopa)
 - les composés métalliques (or, arsenic, mercure)
 - les dérivés de sulfonamides (chlorpropamide, chlotalidone, carbutamide, acétazolamide, diazoxide, chlorothlazide)
 - les sédatifs (apronalide, méprobamate, barbiturique, diphénylhydantoïne)
 - autres substances (chloroquine, insecticides, isoniazide, iodure de potassium, stibophène, thiouée)

4.2 Protocoles cliniques d'application des culots plaquettaires dans les déficits osseux :

Quel que soit le type de protocole choisi, la majorité des auteurs préconise une antibioprophylaxie à base d'amoxicilline en préopératoire, traitement qui est poursuivi pendant les premiers jours de la cicatrisation postopératoire (1, 8, 20, 22).

Concernant les prescriptions postopératoires, la littérature actuelle mentionne également la prescription d'anti-inflammatoires (8, 20).

De même, quel que soit le site d'intervention, les techniques opératoires sont identiques à celles connues pour les greffes d'os autologue ou la pose de biomatériaux, la seule question restant en suspend est la nécessité ou non de la pose d'une membrane, résorbable, non résorbable, avec/sans armature.

Il est toutefois obligatoire d'assurer la stabilité du greffon. Ceci peut être effectué par :

- la suture du lambeau lorsque les conditions anatomiques osseuses sont adéquates, c'est à dire que le nombre et la conformation des parois osseuses restantes permet la stabilité du caillot(15)
- la pose de vis d'ostéosynthèse
- la pose d'une membrane
- la pose de l'implant qui peut agir comme une vis d'ostéosynthèse en traversant le greffon
- les propriétés d'adhésion biologique du PRP/PRF

4.2.1 Classification des lésions osseuses : (15)

4.2.1.1 la lésion dite de type 1 :

Elle correspond à la fermeture d'une lésion alvéolaire.

Elle est caractérisée par :

- Une composante mésio-distale limitée (une à deux dents)
- Une composante vestibulo-linguale/palatine constituée par 3 ou 4 parois osseuses
- Une composante verticale variable parfois importante.

Ces lésions dites de type 1 ne permettent pas la stabilité primaire de l'implant mais possèdent de bonnes conditions car elles possèdent une cellularité importante.

4.2.1.2 la lésion dite de type 2 :

Elle correspond à une crête en lame de couteau nécessitant une correction transversale et/ou verticale.

4.2.1.3 la lésion dite de type 3 :

Elle correspond à une lésion de petite étendue

Elle est caractérisée par :

- Une composante mésio-distale variable
- Une composante vestibulo-linguale/palatine constituée de 2 à 4 parois osseuses.
- Une composante verticale réduite ne nécessitant pas forcément de correction.

Cette lésion permet la pose d'un implant et sa stabilité primaire. Toutefois, le nombre de parois osseuses détermine la difficulté opératoire et la nécessité de reconstruction et les possibilités d'espacement que pourra obtenir la pose d'une membrane.

Il faut noter que les lésions de type 1 et 2 rentrent dans le cadre des reconstructions osseuses pré-implantaires alors que les lésions de type 3 rentrent dans le cadre des reconstructions osseuses péri-implantaires.

Type de lésion	Nombre de parois osseuses	Auto-espacement	Stabilité primaire
Lésion de type 1	3 à 4	Favorable	Impossible
Lésion de type 2	1 à 2	Défavorable	Impossible
Lésion de type 3	2 à 4	Favorable	Possible

Fig 36 : Tableau récapitulatif du nombres de parois osseuses, des possibilités d'autoespacement et des possibilités de stabilité primaire en fonction du type de lésion. D'après Gardella et coll.

On peut également à partir de cette classification déterminer les indications entre la pose d'une membrane, l'utilisation d'un broyat osseux ou l'utilisation d'un bloc d'os cortico-spongieux.

Type de lésion	Membranes	Broyat osseux	Bloc cortico-spongieux
Lésion de type 1	Favorable	Favorable	Défavorable
Lésion de type 2	Défavorable	Favorable	Favorable
Lésion de type 3	Favorable	Favorable	Défavorable

Fig 37 : Tableau récapitulatif des indications thérapeutiques en fonction du type de lésion osseuse. D'après Gardella et coll.

4.2.2 Les différents types de protocoles d'application d'un culot plaquettaire :

Il existe également différents protocoles d'application du culot plaquettaire sur le site en fonction des différents adjuvants choisis par le praticien. En effet, certains auteurs « gélifient » leurs préparations en extra-buccal à l'aide de thrombine de façon à avoir un matériau d'emblée très malléable et facile de mise en place.

Les différents protocoles sont décrits ci-dessous

4.2.2.1 protocole « PRP pur » : (1, 36)

Le PRP préparé est mélangé avec du chlorure de calcium de façon à permettre sa coagulation puis est introduit tel quel dans une alvéole dentaire fraîchement curetée.

Ceci permet une limitation de l'alvéolyse physiologique de la cicatrisation.

Cela suppose également que l'alvéole présente la totalité de ses parois de façon à retenir au mieux le PRP. On peut donc se poser la question de la justification de ce protocole même si la cicatrisation des tissus mous et durs s'en trouvent accélérée et améliorée.

Le PRP peut également servir en étant pulvérisé en spray sur le site opératoire juste avant de suturer le lambeau d'accès et de fermer le site.



Fig 38 : Applicateur SmartPrep de Harvest Technology pour pulvérisation du PRP
D'après www.harvesttech.com

4.2.2.2 protocole « PRP et os autogène »: (1)

Le PRP préparé est mélangé avec du chlorure de calcium de façon à initier sa coagulation ainsi que de l'os autologue provenant soit des copeaux d'os récupérés soit d'un greffon.

Le caillot coagule en environ 10 à 15 minutes et peut ensuite servir de matériaux de greffe malléable. Le temps de remplissage du défaut doit être le plus court possible (environ 5 à 10 minutes) de façon à limiter la perte des plaquettes et donc celle des facteurs de croissance.

Cette technique a été utilisée avec succès par Anitua (1999) en comparant 3 groupes de patient.

- 1.Le premier groupe reçoit du PRP pur (5 patients)
- 2.Le deuxième groupe reçoit un mélange de PRP et d'os autogène de façon à éviter l'affaissement des tissus (5 patients)
- 3.Le troisième groupe sert de témoin et n'est porteur d'aucune greffe (10 patients)

Les 10 patients recevant du PRP présentent une épithélialisation excellente, nettement supérieure à celle du lot témoin.

Des biopsies osseuses sont effectuées sur les sites greffés entre la semaine 10 et la semaine 16 en fonction des disponibilités des patients.

8 des 10 patients ayant reçus du PRP montrent une régénération osseuse supérieure à celle des patients témoins, les 2 autres patients ayant reçus du PRP présentent un tissu osseux cicatriciel mal organisé. Il est à noter que ces 2 patients sont fumeurs et présentaient des défauts osseux très volumineux.

Les trabécules osseuses des patients des lots 1 et 2 sont nettement mieux organisées que celles des patients du groupe témoin.

Il est à noter que 3 patients présentant 2 défauts chacun ont été traités par PRP dans un seul de leur défaut osseux, l'autre défaut servant de témoin. Chez ces 3 patients, le degré d'épithélialisation, la maturation de l'os, la régénération de l'os et les trabécules sont meilleures sur le site traité par le PRP que sur le site témoin.

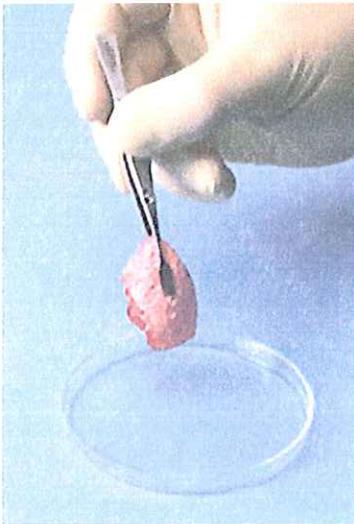


Fig 39 : Mélange de PRP et d'os autogène
D'après www.harvesttech.com

4.2.2.3 protocole « gel plaquettaire et os autogène » : (8, 26)

Le PRP est mélangé avec une solution initiatrice de coagulation formée par un mélange de chlorure de calcium et de thrombine bovine.

Cette solution activatrice est généralement constituée par 1mL de Chlorure de Calcium à 10% dans lequel on rajoute 10.000 unités de thrombine bovine en poudre.

6 mL de PRP sont prélevés depuis le récipient qui a servi à la centrifugation, ou à la plasmaphérèse, dans une seringue de 10mL.

Dans cette seringue est rajoutée 1mL de la solution activatrice et 1 mL d'air.

La seringue est alors vivement secouée ce qui permet à la bulle d'air de servir d'agitateur pour mélanger les différents composants. En 5 à 10 seconde, le gel est prêt.

On trouve parfois les proportions suivantes : 7 mL de PRP, 2mL d'air et 1 mL de solution activatrice.

Ce gel peut être mélangé avec des particules d'os autogène broyées de façon à rendre le matériaux de greffe plus malléable (il prend une consistance de silicone).

Ce gel peut également servir à combler les défauts périphériques autour d'un greffon cortico-spongieux monobloc. (8, 26)

Ce gel est alors mis dans le défaut et se lie aux cellules du lit receveur et du greffon. L'établissement du réseau de fibrine due à la coagulation permet la régénération osseuse par ostéoconduction.

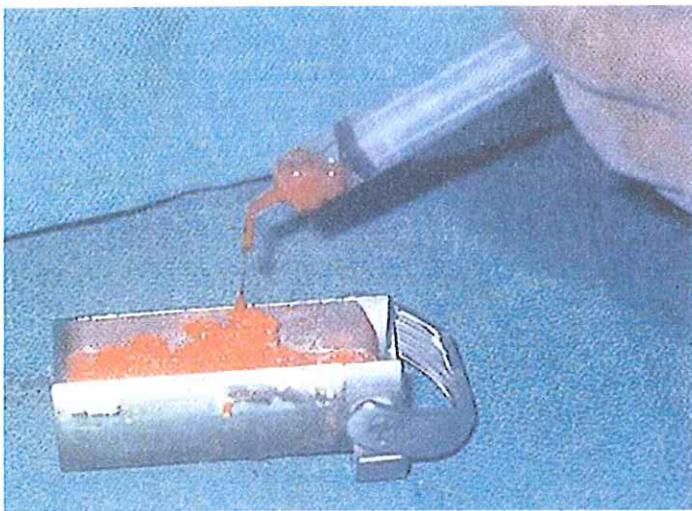


Fig 40 : Mélange de gel plaquettaire préparé en seringue et d'os autogène dans une cupule stérile
D'après Marx et coll. Tissue Engineering. Quintessence Publishing

4.2.2.4 protocole « gel plaquettaire pur » : (40)

Le gel plaquettaire est formé de la même façon que au paragraphe 4.2.2.3.

Ce gel à été testé sur plusieurs patients en chirurgie maxillo-faciale par WHITMAN et coll ou il sert de « colle-fibrine » de façon à obtenir une hémostase du site opératoire sur des chirurgies interruptrices. WHITMAN et coll ont d'ailleurs été les premiers à mettre cette technique au point.

Le gel est également utilisé pour la chirurgie des tissus mous de la sphère oro-faciale en étant badigeonné entre les plans tissulaires.

Placé en sous-cutané, ce gel permet une meilleures fermeture du site opératoire ce qui évite les hémorragies post-opératoires. De plus, ce gel placé en sous-cutané donne une cicatrisation de meilleure qualité et ce de façon plus rapide.

La même équipe opératoire a eu l'idée d'utiliser le PPP de la préparation du PRP comme hémostatique pour le site donneur d'un greffon osseux autogène. Le PPP activé par la solution activatrice se comporte comme un caillot de fibrine contenant quelques plaquettes. Le but recherché n'est donc pas ici le relargage de facteur de croissance mais l'hémostase. Cette équipe a donc ainsi diminué l'incidence des problèmes post-opératoires dus aux prélèvements des greffons osseux.

4.2.2.5 protocole « gel plaquettaire et substituts osseux » : (20, 21, 22, 34)

le substitut osseux choisi (généralement il s'agit de FDBA) est mélangé avec le gel plaquettaire dans une cupule stérile. Ce mélange est facilité par le fait que le substitut osseux est présenté sous forme de poudre ou de petites particules. Le mélange est effectué rapidement puis le matériau de greffe ainsi constitué peut être placé dans le défaut osseux, compacté à l'aide de fouloir et sculpté à volonté. Tous les auteurs (20, 21, 22, 34) ont apprécié la grande facilité de mise en œuvre que procure l'adjonction de gel plaquettaire au matériau de greffe : en effet, la possibilité de sculpture, la malléabilité et l'adhésion au lit receveur créés par le gel plaquettaire rend l'acte opératoire nettement plus facile. Ces substituts osseux avec adjonction de gel plaquettaire ont été testés dans des actes opératoires diverses comme les comblements sinusiens, les augmentations de volume des crêtes édentée, le comblement de défauts localisés...



Fig 41 : Gel plaquettaire mélangé avec un substitut osseux
D'après Lynch
Tissue Engineering
Quintessence Publishing

4.2.2.6 le PRF :(10)

Ce produit peut être :

- broyé, coupé en morceau pour être mélangé au matériau de greffe souhaité (os autologue ou substitut).
- étalé sur une plaque de verre stérile pour être préformé en membrane et utilisé tel quel avec l'avantage que procure les facteurs de croissance contenus et l'échafaudage de fibrine présent pour la régénération osseuse.
- Plaqué sur une paroi osseuse pour accélérer sa régénération.

L'utilisation du PRF en tant que membrane est toutefois sujette à deux précautions :

- il faut que la centrifugeuse choisie pour la préparation du PRF présente le plus faible taux de vibrations possible de façon à ne pas briser le réseau de fibrine formé dans le tube pour ne pas compromettre sa manipulation et les résultats (Choukroun dans sa publication préconise l'utilisation de la centrifugeuse ETTICH EBA 20 qui a l'avantage d'avoir une vitesse réglable de 100 à 6000 tours/mn mais également d'être celle qui ne présente absolument aucune vibration ; la centrifugeuse HETTICH EBA 20 est distribuée par la société PROCESS à Nice).
- le PRF obtenu à la fin de la préparation est « pressé » manuellement entre deux compresses stériles non tissées (pour éviter qu'un fragment de coton ne se mélange au PRF).

Les rares références sur le PRF sont élogieuses.



Fig 42 : PRF préparé sous forme de membrane
D'après fmf.affinitesante.com

Le PRF est alors utilisé de la même façon que le PRP dans les sinus-lift, les greffes osseuses ou greffes gingivales, les comblements alvéolaires...

Le PRF étant produit par centrifugation de sang sur tube sec, il suffit d'augmenter le nombre de tubes de prélèvement pour augmenter la quantité de PRF. La centrifugeuse citée ci-dessus peut recevoir jusqu'à 8 tubes sur son support porte-tube autoclavable.

L'utilisation du PRF en membrane présente plusieurs avantages :

- Le coût (10 euros au lieu de 120 euro pour une membrane classique) (cependant il faut ajouter le coût d'achat de la centrifugeuse),
- Parfaitement biocompatible, non immunogène,
- Peut être découverte/exposée sans risque (il s'agit d'un caillot de fibrine comme on en observe dans une alvéole dentaire après extraction),
- Manipulation aisée (légèrement collant du fait de la présence de fibrine, fibronectine et vitronectine).

4.2.2.7 incidence de la pose d'une membrane sur le site greffé : (22)

Une étude menée par Lekovic et coll en 2002 (22) portant sur 21 patients présentant des défauts osseux sur l'incidence de la pose d'une membrane associée à un gel plaquettaire a donné les résultats suivants :

Un groupe de patient est traité par un mélange de gel plaquettaire et de substitut osseux alors que le second groupe de patient est opéré par un mélange de gel plaquettaire et de substituts osseux recouvert par une membrane.

L'étude montre qu'aucun bénéfice, clinique, radiologique et à la réentrée chirurgicale du site, n'est obtenu par l'adjonction de membrane au protocole chirurgical.

Toutefois, de nombreuses parutions présentent des cas cliniques utilisant des membranes, principalement dans les régénérations osseuses guidées sur les crêtes édentées et les comblements sinusiens : il s'agit le plus souvent de stabiliser le greffon ou d'éviter le collapsus des tissus. Dans ces cas, les membranes sont souvent armaturées.

4.3 Recommandations pour l'utilisation d'un culot plaquettaire :

4.3.1 Mentions légales :

Ces produits entrent dans la catégorie des produits de thérapie cellulaire et sont encadrés par des dispositions législatives et réglementaires qui prévoient que ces produits doivent être autorisés (autorisation produits L.1261-3, L.1243-6 ; autorisation des établissements réalisant leurs préparations L.1261-2, L.1243-6) (Source : Afssaps).

Pour utiliser un culot plaquettaire, certaines règles sont à respecter :

- Le devis doit porter la mention d'adjuvant thérapeutique de cicatrisation ou encore de traitement curatif autogène des blessures.
- La centrifugeuse doit être à proximité de la salle d'opération voir dans la salle elle même de façon à éviter un croisement des échantillons entre les patients recevant ce type de traitement.

Il existe actuellement un vide juridique sur l'utilisation des PRP/PRF au cabinet dentaire.

On retrouve sur le sujet deux points de vue :

1. Le produit est à considérer comme une « greffe autogène » et que l'on peut l'utiliser sans problèmes légaux (art L.373 du code de la santé publique)(10).
2. Ou bien que « La loi prévoit également que ces produits peuvent être utilisés par les chirurgiens dentistes et les stomatologues (art L.1243-4 du code de la santé publique) Toutefois les dispositions de la loi de bioéthiques ne prévoient pas encore que ces produits peuvent être prélevés et préparés dans le cadre de cabinet dentaire » (projet de L'AFI).

4.3.2 : Recommandations d'ordre technique :

Le culot plaquettaire doit être préparé juste avant la phase chirurgicale pour les raisons suivantes :

- Eviter une perte des plaquettes par mort cellulaire (les plaquettes sont des éléments fragiles dont il convient de limiter le temps hors de leur milieu biologique normal)
- Eviter une dilution des plaquettes : en effet, si le culot plaquettaire était préparé pendant la phase chirurgicale, le saignement du site opératoire provoque une séquestration des plaquettes sur ce site, faisant ainsi baisser la concentration plaquettaire du reste du sang du patient, donnant ainsi un prélèvement sanguin de moins bonne qualité.

Le PRP doit être rapidement séparé du PPP car sinon il y a une rehomogénéisation du mélange et donc une perte de la concentration plaquettaire.

Le culot plaquettaire doit être mis en place rapidement car le relargage des facteurs de croissance est très rapide (90% en 10min, 100% en 1 heure)(27)

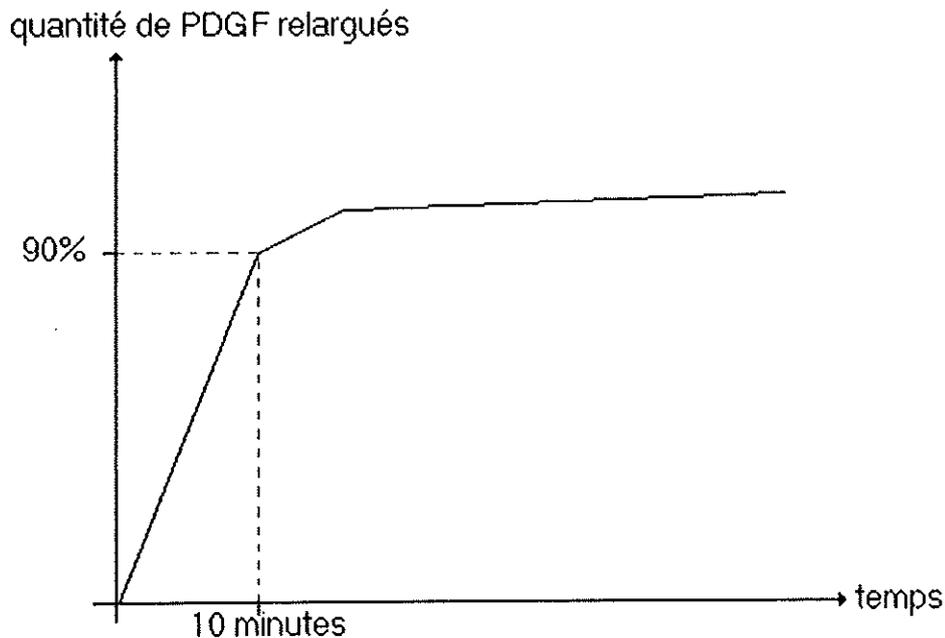


Fig 43 : Graphique montrant l'évolution de la quantité de PDGF relargué en fonction du temps. D'après Marx .(27)

Il est toutefois bon de signaler que ceci est vérifié et prouvé pour le PRP mais pas pour le PRF.

En effet, dans le PRP, les plaquettes sont « éclatées » ce qui provoque le relargage immédiat des facteurs de croissance, alors que dans le PRF les plaquettes sont intactes. J Choukroun pense que dans le cas du PRF les facteurs de croissance sont relargués quand même mais de façon plus lente et prolongée dans le temps.

CINQUIEME PARTIE :
RESULTATS

L'étude la plus connue et la plus complète est celle faite par MARX et coll en 1998. Cette étude permet d'évaluer cliniquement, radiographiquement et histologiquement 44 cas de greffes sur de grands défauts mandibulaire par de l'os autogène et l'adjonction de gel plaquettaire. (26). Cette résultats de cette étude sont repris ci-dessous.

5.1 Résultats cliniques :

5.1.1 Au niveau de l'épithélialisation et de la fermeture du site opératoire

Tous les auteurs s'accordent pour exprimer le fait que la cicatrisation est excellente, meilleure que sur les sites témoins et plus rapide (1, 4, 8, 10, 19, 20, 22, 25, 26, 34..). Les propriétés d'adhésion tissulaire des culots plaquettaires, notamment par la fibrine contenue, donne une explication de ce phénomène. L'utilisation par WHITMAN et coll du gel plaquettaire comme colle-fibrine, basée sur les travaux de MATRAS de 1982, à largement prouvé cette aptitude du gel plaquettaire à accélérer la cicatrisation et à réduire les problèmes post-opératoires (40). Le PDGF est reconnu pour ses propriétés cicatriciel de façon générale et s'ajoute à cette première explication (19,30).

5.1.2 Au niveau des tissus durs :

Les réentrées chirurgicales effectuées sur les sites greffés avec l'adjonction de culots plaquettaires ont quasiment tous montré d'excellents résultats, bien supérieurs aux lots témoins, à l'exception de la présentation de 3 cas cliniques faite par SHANAMAN et coll en 2001 (34) qui ont nécessité une deuxième greffe pour obtenir la régénération osseuse voulue.

Le tissu greffé retrouvé lors des réentrées chirurgicales s'est révélé être du tissu osseux mature, organisé et de trabéculatation importante.

5.2 Résultats radiologiques :

MARX dans son étude (26) a radiographié régulièrement les patients traités de façon à étudier l'évolution de la maturité osseuse des greffons posés.

En utilisant un « indice de maturité »(non défini dans l'article) de la greffe, MARX indique que la greffe avec l'ajout de PRP est mature beaucoup plus vite que le groupe des patients témoins.

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

Fig 44 : Evolution de l'indice de maturité osseuse en fonction du temps et de la présence de PRP. D'après MARX et coll 1998

5.3 Résultats histologiques : (26)

Etude histomorphométrique de la greffe à 6 mois post-opératoire :

- L'os traité avec le PRP présente beaucoup plus de trabéculations osseuses (74 %) que le greffon seul (55%).
- L'os natif présent dans la zone postérieure de la mandibule (cadre de l'expérience) lui ne présente que 39% de trabéculations.

Ceci suggère que le PRP accélère la formation osseuse et le degré de formation osseuse.

	Témoins	Greffon osseux seul	Greffon osseux et PRP
Densité en trabéculations osseuses à 6 mois	39%	55%	74%

Fig 45 : Variation de la densité en trabéculations osseuses en fonction de la technique opératoire. D'après MARX et coll 1998.

MARX profite également de l'étude pour observer la présence des facteurs de croissance PDGF et TGF β au niveau du PRP et de la greffe à 6 mois.

Etude des récepteurs au PDGF et TGF β le jour de l'opération.

- Le PRP est fortement marqué par les anticorps anti-PDGF et anti-TGF β ce qui prouve que le PRP est très riche en ces facteurs de croissance.
- Le greffon est testé positivement à la présence de récepteurs aux PDGF et TGF β . On remarque que ces récepteurs sont surtout situés autour des vaisseaux sanguins. D'autres récepteurs, moins nombreux, sont retrouvés sur les trabéculations osseuses et entre les cellules graisseuses de la moelle. Cette étude prouve la présence de cellules souches dans la moelle et d'ostéoprogéniteurs capables de répondre à la stimulation des facteurs de croissance amenés par le PRP.

Etude des récepteurs au PDGF et TGF β à 6 mois post-opératoire :

La greffe mature pendant 6 mois puis la pose d'implants permet de pratiquer des carottages d'os sur les sites greffés qui peuvent être analysés.

- Les anticorps monoclonaux identifient la présence de TGF β mais pas de PDGF.
- Les cellules positives au TGF β sont concentrées sur les trabéculations osseuses, le long du périoste et dans la moëlle osseuse.

TGF β serait donc impliqué dans la régénération osseuse à long terme alors que PDGF le serait dans la régénération osseuse précoce.

Ces résultats indiquent que les culots plaquettaires qui sont riches en facteurs de croissance permettent une accélération de la cicatrisation osseuse ainsi que l'obtention d'un os cicatriciel de meilleure qualité mais ne permettent en aucun cas une augmentation supplémentaire du volume osseux : le PRP est ostéoconducteur et non pas ostéoinducteur. L'ensemble de ces résultats et de ces applications cliniques semblent applicables au PRF bien que la littérature soit encore actuellement limitée sur ce sujet. Il convient donc de rester prudent.

CONCLUSION

La connaissance des principes de cicatrisation du tissu osseux et des mécanismes de l'hémostase ainsi que celle des facteurs biologiques sanguins s'y rattachant est le préalable pour la bonne appréhension du vaste sujet que constitue les facteurs de croissance plaquettaire et leurs applications cliniques et thérapeutiques en implantologie orale. En effet, les facteurs de croissance contenus dans les culots plaquettaires permettent une accélération des cicatrisations des tissus mous et des tissus durs ainsi que l'obtention d'un os mature de meilleure qualité.

Les culots plaquettaires riches en facteurs de croissance sont produits par différentes méthodes : la plasmaphérèse et les techniques de centrifugation. De nombreux protocoles de préparation de ces culots sont répertoriés dans la littérature, certains étant commercialisés.

L'implantologie orale permet l'utilisation de ces culots plaquettaires en les associant à différents matériaux tels que les substituts osseux ou l'os autogène, la thrombine, l'oxygène hyperbare....

Le développement en premier lieu du PRP avec son protocole complexe avec de nombreuses manipulations cède la place au PRF, dont la facilité de mise en place déconcertante permet une généralisation et une mise à disposition de l'emploi des culots plaquettaires accessible à tous en chirurgie pour le bien des patients. Toutefois, le manque d'encadrement législatif, le peu de recul clinique et les risques potentiels existants, tempèrent l'utilisation de ces produits au cabinet dentaire.

L'avenir prometteur du PRF ne doit pas faire oublier la recherche biomédicale en matière de nouveaux matériaux de greffe notamment le développement par le génie génétique des RhBMP's qui couplées au PRP/PRF pourraient alors permettre une régénération osseuse totale.

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

1. ANITUA E.

Plasma rich in growth factors : preliminary results of use in the preparation of future sites for implants.

Oral Maxillofac Implants 1999;**14**:529-535.

2. BECKER W, LYNCH SE, LEKHOLM U ET COLL.

A comparaisn of e-PTFE membranes alone or in combination with platelet-derived growth factors and insulin-like growth factor-I or demineralized freeze-dried bone in promoting bone formation around immediate extraction socket implants.

J Periodontol 1992;**63**:929-940.

3. BETTACH R ET TAROUNINE M

BMP et implants : revue de littérature.

Implantodontie 2001;**40**: 5-14.

4. BILK D.

Cerasorb and PRP : a successful combination in augmentative implantology.

Oral Chir J 2001;**2**:1-6.

5. BOLANDER ME.

Regulation of fracture repair by growth factors.

Proc Soc Exp Biol Med 1992;**200**:165-170.

6. CANALIS E, MCCARTHY T ET CENTRELLA M.

Growth factors and the regulation of bone remodeling.

J Clin Invest 1988;**81**: 277-281.

7. CARG AK.

Grafting materials in repair and restoration

In : LYNCH, GENCO , MARX., eds. Tissue Engineering : applications in maxillofacial surgery and periodontics.

Chicago : Quintessence Book,1999:83-101.

8. CARLSON ER.

Bone grafting in the jaws in the 21st century : the use of platelet-rich-plasma and bone morphogenetic protein.

Alpha Omegan 2000;**93**:26-30.

9. CHIN M.

Distraction osteogenesis in maxillofacial surgery

In : LYNCH, GENCO , MARX., eds. Tissue Engineering : applications in maxillofacial surgery and periodontics.

Chicago : Quintessence Book,1999:147-160.

10. CHOUKROUN J, ADDA F, SCHOEFFLER C ET VERVELLE A.

Une opportunité en paro-implantologie : le PRf (platelet rich fibrin).

Implantodontie 2001;**42**: 55-62.

11. CURASAN PDGU (laboratoire).

Comment produit-on le PRP ?

Sarreguemines : Curasan PDGU,2001.

12. DEBOISE A, SEBAN A ET BOUKHORS A.

Avantages des greffes osseuses autogènes avant le placement d'implants.

Clinic 2003;**24**(1):17-26.

13. DISS A, HITZIG C, CHARBIT Y ET SALSOU B.

Le point sur les facteurs de croissance dans la régénération osseuse revue de littérature.

J Parodontol Implantol Orale 2003;**22**:5-19.

14. FRAUCHET R ET IFRAH M.

Hématologie. Collection Biologie Médicale.

Cachan : Edition Médicale Internationale,1955:229-262.

15. GARDELLA JP ET RENOUARD F.

Régénération osseuse guidée, greffe osseuse autogène : limites et indications.

J Parodontol Implantol Orale 1999;**18**:127-142.

16. GIANNOBILE W.

Periodontal tissue regeneration by polypeptide growth factors and gene.

In : LYNCH, GENCO , MARX., eds. Tissue Engineering : applications in maxillofacial surgery and periodontics.

Chicago : Quintessence Book,1999:231-239.

17. HOCK JM, CENTRELLA M ET CANALIS E.

Insulin-like growth factor I has independant effects on bone matrix formation and cell replication.

Endocrinology 1988;122:254-260.

18. HOLLINGER JO, BUCK D ET BRUDER SP.

Biology of bone healing : its impact on clinical therapy

In : LYNCH, GENCO , MARX., eds. Tissue Engineering : applications in maxillofacial surgery and periodontics.

Chicago : Quintessence Book,1999:17-53.

19. JEPSEN S ET TERHEYDEN H.

L'apport des facteurs de croissance et des protéines morphogénétiques à la régénération parodontale et à l'ostéo-intégration.

J Parodontol Implantol Orale 2000;20:289-314.

20. KASSOLIS JD, ROSEN PS ET REYNOLDS MA.

Alveolar ridge and sinus augmentation utilizing platelet rich plasma in combination with freeze-dried bone allograft : case series.

J Periodontol 2000;71:1654-1661.

21. KIM SG, CHUNG CH, KIM YK ET COLL.

Use of particulate dentin-plaster of Paris combination with/without platelet-rich plasma in the treatment of bone defects around implants.

Oral Maxillofac Implants 2002;17:86-94.

22. LEKOVIC V, CAMARGO PM, WEINLAENDER M ET COLL.

Comparison of platelet-rich plasma, bovine porous bone mineral, and guided tissue regeneration versus platelet-rich plasma and bovine porous bone mineral in the treatment of intrabony defects : a reentry study.

J Periodontol 2002;73:198-205.

23. LYNCH SE.

Introduction

In : LYNCH, GENCO , MARX, eds. Tissue Engineering : applications in maxillofacial surgery and periodontics.

Chicago : Quintessence Book,1999:11-18.

24. LYNCH SE, BUSER D, HERNANDEZ RA ET COLL.

Effects of the platelet-derived growth factor/insulin-like growth factor-I combination on bone regeneration around titanium dental implants. Results of a pilot study in beagle dogs.

J Periodontol 1991;62:710-716.

25. MARX RE.

Platelet-rich plasma : a source of multiple autologous growth factors for bone graft

In : LYNCH, GENCO , MARX., eds. Tissue Engineering : applications in maxillofacial surgery and periodontics.

Chicago : Quintessence Book,1999:71-82.

26. MARX RE, CARLSON ER, EICHSTAEDT RM ET COLL.

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

Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 1998;85:638-646.

27. MARX RE.

Platelet-rich plasma (PRP) : what is PRP and what is not PRP ?

Implant Dent 2001;10:225-228.

28. MARX RE ET GARG AK.

Bone graft physiology with use of platelet-rich plasma and hyperbaric oxygen

In : OLET T, JENSEN N, eds The sinus bone graft

Chicago : Quintessence Publishing 1999 :183-189.

29. MELLONIG JT.

Freeze-dried bone allografts

In : LYNCH, GENCO , MARX., eds. Tissue Engineering : applications in maxillofacial surgery and periodontics.

Chicago : Quintessence Book,1999:259-268.

30. MIYAZONO K ET TAKAKU F.

Platelet-derived growth factors.

Blood Rev 1989;3:269-276.

31. PALTI A.

Bone regeneration with Cerasorb* : Restitutio ad integrum.

32. ROSENBERG ES ET TOROSIAN J.

Sinus grafting using platelet-rich plasma :initial case presentation.

Pract Periodont Aesthet Dent 2000;12(9):843-850.

33. SAMCHUKOV ML, CHERKASHIN AM ET COPE JB.

Distraction osteogenesis : history and biologic basis of new bone formation.

In : LYNCH, GENCO , MARX., eds : Tissue Engineering : applications in maxillofacial surgery and periodontics

Chicago : Quintessence Book.1999:131-146.

34. SHANAMAN R, FILSTEIN MR ET DANESH-MEYER MJ.

Augmentation de volume des crêtes édentées par la ROG et l'utilisation de concentrés plaquettaire : rapport de cas cliniques.

Parodont Dent Rest 2001;21:345-355.

35. SLATER M, PATAVA J, KINGHAM K ET MASON RS.

Involvement of platelets in stimulating osteogenic A.

J Orthopaedic Res 1995;13:655-663.

36. SONNLEITNER D, HUEMER P ET SULLIVAN DY.

A simplified technique for producing platelet-rich plasma and platelet concentrate for intraoral bone grafting techniques : a technical note.

Oral Maxillofac Implants 2000;15:879-882.

37. SPECTOR M.

Basic principles of tissue engineering.

In : LYNCH, GENCO , MARX., eds. Tissue Engineering : applications in maxillofacial surgery and periodontics.

Chicago : Quintessence Book,1999:3-16.

38. URIST MR.

Bone : formation by autoinduction.

Science 1965;150:893-899.

39. WEIBRICH G, KLEIS WKG, KUNZ-KOSTOMANOLAKIS M ET COLL.

Correlation of platelet concentration in Platelet-rich-plasma to the extraction method, age, sexe and platelet count of the donor.

Oral Maxillofac Implants 2001;16:693-699.

40. WHITMAN DH, BERRY RL ET GREEN DM.

Platelet gel : an autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery.

J Oral Maxillofac Surg 1997;55(11):1294-1299.

41. WIKESJO UME, HANISH O, SIGURDSSON T ET CAPLANIS N.

Application of rhBMP-2 to alveolar and periodontal defects

In : LYNCH, GENCO , MARX., eds. Tissue Engineering : applications in maxillofacial surgery and periodontics.

Chicago : Quintessence Book,1999:269-285.

42. WOZNEY JM.

Biology and clinical applications of rhBMP-2

In : LYNCH, GENCO , MARX., eds. Tissue Engineering : applications in maxillofacial surgery and periodontics.

Chicago : Quintessence Book,1999:103-123.

REFERENCES
ICONOGRAPHIQUES

Fig 1 : Tableau récapitulatif des effets in vitro, in vivo et la localisation des différents facteurs de croissance intervenant dans la cicatrisation et la régénération osseuse.

DISS A, HITZIG C, CHARBIT Y, SALSOU B.

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

Fig 2 : Schéma de la coagulation plasmatique : activation du facteur X par les voie endogène et exogène, thrombinoformation et fibrinoformation.

FRAUCHET R, IFRAH M.

Hématologie. Collection Biologie Médicale

Cachan:Edition Médicale Internationale,1955:229-262.

Fig 3 : Schéma des séquence de la fibrinolyse physiologique.

FRAUCHET R, IFRAH M.

Hématologie. Collection Biologie Médicale

Cachan:Edition Médicale Internationale,1955:229-262.

Fig 4 : Schématisation d'un os de type Haversien.

CARG AK.

In:Lynch, Genco , Marx., eds. Tissue Engineering : applications in maxillofacial surgery and periodontics.

Chicago:Quintessence Book,1999:83.

Fig 5 : Mise en évidence de la différence macroscopique entre l'os cortical et l'os spongieux.

HOLLINGER JO, DAVID CB, BRUDER SP.

In:Lynch, Genco , Marx., eds. Tissue Engineering : applications in maxillofacial surgery and periodontics.

Chicago:Quintessence Book,1999:23.

Fig 6 : Les différents éléments constitutifs du tissu osseux.

HOLLINGER JO, DAVID CB, BRUDER SP.

In:Lynch, Genco , Marx., eds. Tissue Engineering : applications in maxillofacial surgery and periodontics.

Chicago:Quintessence Book,1999:22.

Fig 7 : Schématisation des mécanismes aboutissant à la réparation d'une fracture osseuse.

HOLLINGER JO, DAVID CB, BRUDER SP.

In:Lynch, Genco , Marx., eds. Tissue Engineering : applications in maxillofacial surgery and periodontics.

Chicago:Quintessence Book,1999:38.

Fig 8 : Schématisation du trépied de la régénération tissulaire.

LYNCH SE.

In:Lynch, Genco , Marx., eds. Tissue Engineering : applications in maxillofacial surgery and periodontics.

Chicago:Quintessence Book,1999:12.

Fig 9 : Schématisation de l'action des protéines morphogénétiques et des facteurs de croissance sur le phénotype tissulaire.

JEPSEN S, TERHEYDEN H.

L'apport des facteurs de croissance et des protéines morphogénétiques à la régénération parodontale et à l'ostéo-intégration.J Parodontol Implantol Orale 2000;20:289-314

Fig 10 : Schématisation de la cicatrisation d'une greffe osseuse au stade J0.

MARX RE, GARG AK.

Bone graft physiology with use of platelet-rich plasma and hyperbaric oxygen. In:Olet T, Jensen N, eds The sinus bone graft

Chicago:Quintessence Publishing 1999 :183-189.

Fig 11 : Schématisation de la cicatrisation d'une greffe osseuse au stade J3.

MARX RE, GARG AK.

Bone graft physiology with use of platelet-rich plasma and hyperbaric oxygen. In:Olet T, Jensen N, eds The sinus bone graft

Chicago:Quintessence Publishing 1999 :183-189.

Fig 12 : Schématisation de la cicatrisation d'une greffe osseuse au stade J14.

MARX RE, GARG AK.

Bone graft physiology with use of platelet-rich plasma and hyperbaric oxygen. In:Olet T, Jensen N, eds The sinus bone graft

Chicago:Quintessence Publishing 1999 :183-189.

Fig 13 : Poches sanguines après plasmaphérèse.

MARX RE.

In:Lynch, Genco , Marx., eds. Tissue Engineering : applications in maxillofacial surgery and periodontics.

Chicago:Quintessence Book,1999:72.

Fig 14 : Centrifugeuse Cobe Spectra.

D'après <http://www.gambro.com>

Fig 15 : Schématisation des 3 zones obtenues après 1 centrifugation.

SONNLEITNER D, HUEMER P, SULLIVAN DY.

A simplified technique for producing platelet-rich plasma and platelet concentrate for intraoral bone grafting techniques : a technical note.

Oral Maxillofac Implants 2000;15:879-882.

FIG 16 : Variation de la concentration en plaquettes après la 1^{ère} centrifugation.

SONNLEITNER D, HUEMER P, SULLIVAN DY.

A simplified technique for producing platelet-rich plasma and platelet concentrate for intraoral bone grafting techniques : a technical note.

Oral Maxillofac Implants 2000;15:879-882.

FIG 17 : Schématisation de la préparation d'un PRP d'après une méthode à deux centrifugation successives.

WHITMAN DH, BERRY RL, GREEN DM.

Platelet gel : an autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery.

J Oral Maxillofac Surg 1997;55(11):1294-1299.

Fig 18 : Schéma explicatif du protocole Kit PRP de Curasan*.

CURASAN PDGU (laboratoire).

Comment produit-on le PRP ?

CURASAN PDGU Sarreguemines,2001.

FIG 19 : Variation de la concentration en plaquettes après la 1^{ère} centrifugation.

SONNLEITNER D, HUEMER P, SULLIVAN DY.

A simplified technique for producing platelet-rich plasma and platelet concentrate for intraoral bone grafting techniques : a technical note.

Oral Maxillofac Implants 2000;15:879-882.

FIG 20 : Evolution de la concentration en plaquettes lors de l'obtention d'un concentré plaquettaire.

SONNLEITNER D, HUEMER P, SULLIVAN DY.

A simplified technique for producing platelet-rich plasma and platelet concentrate for intraoral bone grafting techniques : a technical note.

Oral Maxillofac Implants 2000;15:879-882.

Fig 25 : Kit de prélèvement SmartPRep*.

D'après <http://www.harvesttech.com>

Fig 26 : Centrifugeuse SmartPRep*

D'après <http://www.harvesttech.com>

Fig 27 : Schéma du Process Disposable SmartPRep*.

D'après <http://www.harvesttech.com>

Fig 28 : Remplissage du Process Disposable.

D'après <http://www.harvesttech.com>

Fig 29 : Placement du Process Disposable dans la centrifugeuse.

D'après <http://www.harvesttech.com>

Fig 30 : les 5 étapes du processus d'obtention du PRP par le protocole SmartPREP*.

D'après <http://www.harvesttech.com>

Fig 31 : Obtention du concentré plaquettaire par le système SmartPREP*.

D'après <http://www.harvesttech.com>

Fig 32 : Applicator LK2* : mélange du PRP et de la solution coagulatrice sur un broyat d'os autogène

D'après www.harvesttech.com

Fig 33 : Applicator LK2* utilisé en fonction spray

D'après <http://www.harvesttech.com>

Fig 34 : Tube de prélèvement sanguin non citraté centrifugé.

D'après <http://fmf.affinitesante.com>

Fig 35 : Coagulum de PRF prélevé du tube par des pinces stériles

D'après <http://fmf.affinitesante.com>

Fig 36 : Tableau récapitulatif du nombres de parois osseuses, des possibilités d'autoespacement et des possibilités de stabilité primaire en fonction du type de lésion.

GARDELLA JP, RENOARD F.

Régénération osseuse guidée, greffe osseuse autogène : limites et indications.

J Parodontol Implantol Orale 1999;18:127-142.

Fig 37 : Tableau récapitulatif des indications thérapeutiques en fonction du type de lésion osseuse.

GARDELLA JP, RENOUEAUARD F.

Régénération osseuse guidée, greffe osseuse autogène : limites et indications.

J Parodontol Implantol Orale 1999;18:127-142.

Fig 38 : Applicateur SmartPrep de Harvest Technology pour pulvérisation du PRP

D'après <http://www.harvesttech.com>

Fig 39 : Mélange de PRP et d'os autogène

D'après <http://www.harvesttech.com>

FIG 40 : Mélange de gel plaquettaire préparé en seringue et d'os autogène dans une cupule stérile.

MARX RE.

In:Lynch, Genco , Marx., eds. Tissue Engineering : applications in maxillofacial surgery and periodontics.

Chicago:Quintessence Book,1999:73.

Fig 41 : Gel plaquettaire mélangé avec un substitut osseux.

LYNCH SE.

In:Lynch, Genco , Marx., eds. Tissue Engineering : applications in maxillofacial surgery and periodontics.

Chicago:Quintessence Book,1999:15.

Fig 42 : PRF préparé sous forme de membrane

D'après <http://fmf.affinitesante.com>

FIG 43 : Graphique montrant l'évolution de la quantité de PDGF relargué en fonction du temps.

MARX RE.

Platelet-rich plasma (PRP) : wath is PRP and what is not PRP ?

Implant Dentistry 2001;10:225-228.

FIG 44 : Evolution de l'indice de maturité osseuse en fonction du temps et de la présence de PRP.

MARX RE, CARLSON ER, EICHSTAEDT RM ET COLL.

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

Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 1998;85:638-646.

FIG 45 : Variation de la densité en trabéculations osseuses en fonction de la technique opératoire.

MARX RE, CARLSON ER, EICHSTAEDT RM ET COLL.

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

Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 1998;85:638-646.

LETIENT (Alexandre). – Mise au point sur les culots plaquettaires lors de la chirurgie implantaire.

121p., ill., 30 cm. -

(Thèse : Chir. Dent ; Nantes ; 2003).

N° 43 16 03

La reconstruction des volumes osseux est un préalable parfois nécessaire à la pose d'implants dentaires ostéointégrables, allongeant alors la durée du traitement. Techniques récentes dérivées de la chirurgie générale, l'utilisation des culots plaquettaires, par leur forte concentration en facteurs de croissance, permettent une accélération de la cicatrisation des tissus mous et des tissus durs. Le développement du PRP (Platelet-Rich Plasma) avec son protocole complexe semble céder la place au PRF (Platelet-Rich Fibrin) dont la facilité d'utilisation permet une généralisation de son emploi en implantologie orale.

Rubrique de classement : IMPLANTOLOGIE

Mots clés : Implant dentaire (Dental implants)
Facteur croissance plaquettes (Platelet-Derived Growth Factor)
Régénération osseuse (Bone regeneration)

JURY :

Président : Monsieur le Professeur A. DANIEL
Directeur : Monsieur le Docteur Y HIRIGOYEN
Asseseurs : Monsieur le Professeur B. GIUMELLI
Monsieur le Docteur F. UNGER

Adresse de l'auteur : LETIENT Alexandre
16 rue Crucy
44000 NANTES