



HAL
open science

Stimulation de la cicatrisation du tissu gingival et du tissu osseux par l'utilisation de concentrés plaquettaires

Virginie Mercier

► **To cite this version:**

Virginie Mercier. Stimulation de la cicatrisation du tissu gingival et du tissu osseux par l'utilisation de concentrés plaquettaires. Sciences du Vivant [q-bio]. 2011. hal-01739161

HAL Id: hal-01739161

<https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01739161v1>

Submitted on 20 Mar 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

ACADEMIE DE NANCY-METZ

**UNIVERSITE HENRI POINCARÉ NANCY-I
FACULTE D'ODONTOLOGIE**

Année 2011

N° 3822

THESE

pour le

**DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR
EN CHIRURGIE DENTAIRE**

par

Virginie MERCIER

Née le 6 avril 1985 à Toul

**STIMULATION DE LA CICATRISATION DU TISSU GINGIVAL ET
DU TISSU OSSEUX PAR L'UTILISATION DE CONCENTRES
PLAQUETTAIRES**

Présentée et soutenue publiquement le 9 décembre 2011.

Examineurs de la Thèse:

Monsieur P. AMBROSINI

Madame C. BISSON-BOUTELLIEZ

Monsieur J. PENAUD

Monsieur J. L'HERITIER

Professeur des Universités

Maître des Conférences

Maître des Conférences

Attaché Universitaire

Président

Juge

Juge

Juge

Président : Professeur J.P. FINANCE

Doyen : Docteur Pierre BRAVETTI

Vice-Doyens : Pr Pascal AMBROSINI – Pr Francis JANOT - Dr Jean-Marc MARTRETTE

Membres Honoraires : Dr L. BABEL – Pr. S. DURIVAUX – Pr A. FONTAINE – Pr G. JACQUART – Pr D. ROZENCWEIG - Pr M. VIVIER

Doyen Honoraire : Pr J. VADOT

Sous-section 56-01 Odontologie pédiatrique	Mme M. M. Mlle Mlle	<u>DROZ Dominique (Desprez)</u> PREVOST Jacques BOCQUEL Julien COSTER Charlotte PHULPIN Bérengère	Maître de Conférences* Maître de Conférences Assistant Assistante Assistante
Sous-section 56-02 Orthopédie Dento-Faciale	Mme M. M. Mlle	<u>FILLEUL Marie Pierryle</u> BOLENDER Yves EGLOFF Benoît PY Catherine	Professeur des Universités* Maître de Conférences Assistant Assistante
Sous-section 56-03 Prévention, Epidémiologie, Economie de la Santé, Odontologie légale	Mme M.	<u>CLEMENT Céline</u> JANOT Francis Poste transféré en 57-02	Maître de conférences* Professeur Contractuel Assistant
Sous-section 57-01 Parodontologie	M. Mme M. M. M. M.	<u>AMBROSINI Pascal</u> BISSON Catherine MILLER Neal PENAUD Jacques GALLINA Sébastien JOSEPH David	Professeur des Universités* Maître de Conférences* Maître de Conférences Maître de Conférences Assistant Assistant
Sous-section 57-02 Chirurgie Buccale, Pathologie et Thérapeutique Anesthésiologie et Réanimation	M. M. M. M. M. M. Mlle Mlle	<u>BRAVETTI Pierre</u> ARTIS Jean-Paul VIENNET Daniel WANG Christian BALLY Julien CURIEN Rémi GUILLET Julie SOURDOT Alexandra	Maître de Conférences Professeur 1er grade Maître de Conférences Maître de Conférences* Assistant (ex 58-01) Assistant Assistante (ex 56-03) Assistante
Sous-section 57-03 Sciences Biologiques (Biochimie, Immunologie, Histologie, Embryologie, génétique, Anatomie pathologique, Bactériologie, Pharmacologie)	M. M. M.	<u>WESTPHAL Alain</u> MARTRETTE Jean-Marc YASUKAWA Kazutoyo	Maître de Conférences* Maître de Conférences* Assistant Associé
Sous-section 58-01 Odontologie Conservatrice, Endodontie	M. M. M. M. M. Mlle	<u>ENGELS-DEUTSCH Marc</u> AMORY Christophe MORTIER Eric CUNY Pierre HESS Stephan PECHOUX Sophie	Maître de Conférences Maître de Conférences Maître de Conférences Assistant Assistant Assistante
Sous-section 58-02 Prothèses (Prothèse conjointe, Prothèse adjointe partielle, Prothèse complète, Prothèse maxillo-faciale)	M. M. M. M. M. Mlle Mlle	<u>LOUIS Jean-Paul</u> ARCHIEN Claude DE MARCH Pascal SCHOUVER Jacques BARONE Serge Poste mis au concours MONDON Hélène RIFFAULT Amélie Poste mis au concours	Professeur des Universités* Maître de Conférences* Maître de Conférences Maître de Conférences Assistant Assistant Assistante Assistante
Sous-section 58-03 Sciences Anatomiques et Physiologiques Occlusodontiques, Biomatériaux, Biophysique, Radiologie	Mlle M. Mme M. Mme	<u>STRAZIELLE Catherine</u> RAPIN Christophe (Sect. 33) MOBY Vanessa (Stutzmann) SALOMON Jean-Pierre JAVELOT Cécile (Jacquelin)	Professeur des Universités* Professeur des Universités* Maître de Conférences* Maître de Conférences Assistante Associée

*Par délibération en date du 11 décembre 1972,
la Faculté de Chirurgie Dentaire a arrêté que
les opinions émises dans les dissertations
qui lui seront présentées
doivent être considérées comme propres à
leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner
aucune approbation ni improbation.*

À notre président et directeur de thèse,

Monsieur le Professeur Pascal AMBROSINI

Docteur en Chirurgie Dentaire
Docteur de l'Université Henri Poincaré, Nancy-I
Vice-Doyen au budget et aux affaires hospitalières
Habilité à diriger des recherches
Professeur des Universités
Responsable de la Sous-section : Parodontologie

Vous nous avez fait l'honneur d'accepter la direction de cette thèse et nous vous en remercions.

Nous vous sommes reconnaissants pour votre gentillesse, votre disponibilité et vos conseils qui nous ont permis de mener à bien ce travail.

Nous vous remercions pour nous avoir inspiré ce sujet et nous avoir fait aimer la parodontologie à travers votre enseignement théorique et clinique.

Veillez trouver dans ce travail l'expression de notre gratitude et de notre très respectueuse considération.

A notre juge,

Monsieur le Docteur Jacques PENAUD,

Docteur en Chirurgie Dentaire
Docteur de l'Université Henri Poincaré, Nancy-I
Maître de Conférences des Universités
Sous-section : Parodontologie

*Vous nous avez fait l'honneur
d'accepter de siéger dans notre jury.*

*Nous vous remercions pour votre
sympathie et votre bonne humeur.*

*Nous gardons à l'esprit votre manière
d'enseigner, divertissante, amusante et
toujours faite avec humour.*

*Soyez assuré de notre respect le plus
sincère et de notre profonde gratitude.*

A notre juge,

Madame le Docteur Catherine BISSON-BOUTELLIEZ,

Docteur en Chirurgie Dentaire
Docteur de l'Université Henri Poincaré, Nancy-I
Maître de Conférences des Universités
Sous-section : Parodontologie

*Vous nous avez fait l'honneur de faire
partie de notre jury.*

*Nous regrettons de n'avoir pu profiter
de votre enseignement clinique mais
soyez assurée de notre gratitude pour
l'intérêt que vous portez pour notre
sujet.*

*Veillez trouver dans ce travail le
témoignage de notre profond respect et
de toute notre reconnaissance.*

A notre juge,

Monsieur le Docteur Julien L'Héritier,

Docteur en Chirurgie Dentaire
Attaché hospitalier universitaire
Sous-section : Parodontologie

Vous nous avez fait l'honneur de faire partie de notre jury.

Nous vous sommes reconnaissants pour l'intérêt que vous portez pour notre sujet.

Nous vous remercions pour votre disponibilité et gardons en mémoire vos magnifiques signatures sur le cahier de stage clinique de quatrième année.

Veillez trouver dans ce travail, le témoignage de notre profond respect et de toute notre gratitude.

Une vie ne suffira pas pour lui témoigner tout mon amour, toute mon admiration et toute ma gratitude ; à une femme hors du commun, courageuse, qui a su faire face à de nombreuses infortunes.
A ma maman.

Aux trois plus beaux cadeaux que l'on ne m'ait jamais fait : mes petites sœurs, mes trésors, dont je suis si fière : Aurélie, Baboum, Bibi.

Merci à toutes les quatre pour tout ce que vous m'apportez au quotidien, je vous aime.

A toi mon Shacha, pour tout ce que tu fais pour moi, pour m'apporter ton réconfort, ton soutien ; pour tes blagues (qui parfois ne font rire que moi), tes drôles de théories, ta joie de vivre, nos fous rires ; à tous nos moments passés et futurs ensemble. Je n'imagine pas ma vie sans toi. Je t'aime.

A toute la famille de Shacha, pour m'avoir toujours particulièrement bien accueillie et pour être toujours de bonne humeur.

A Julien pour prendre soin de ma sœur et pour ta générosité.

A tous ceux avec qui j'ai passé des moments inoubliables, ceux qui ont égayé mes études et avec qui j'ai traversé toutes ces années:

A celui que je considère comme un grand frère, à Pippo, pour les jeux vidéos, les karaokés, les kébabs et parce que je n'oublierai pas ce que tu as fait pour moi, merci. A Elo pour remettre ce grand enfant sur le droit chemin.

A Cécile, pour nos soirées entre fille, les rencontres improbables que l'on fait parfois et à ton cheesecake.

A Nana, Séb et bébé Amandine ma petite famille modèle préférée

A mes danseurs préférés Mimi, Mômone même si je ne vous ai jamais vu danser... à vos frangins, à Martha et Léo, à Dam's pour tes exploits sportifs : et oui j'ai un pot qui a fait l'Iron Man! , à Aline et Marion pour préparer des Nouvel An de folie, à TomTom y a toujours des trucs marrants à la télé chez toi, à Cyrielle et Charly pour l'énergie que vous communiquez; à Spich parfois un ours mais avec un cœur gros comme ça, à Yoyo pour avoir inventé le « nini-ball », à Laure, à Mattéo pour ton entrain.

A vous tous car c'est toujours un plaisir de vous voir autour d'un apéro et parce que nos soirées me manquent.

A l'équipe toulousaine et de Krug : Petite Marie, Olivier, Marin, Julie.

A sacrée Bobinette et toutes ces conversations qu'on n'arrive jamais à finir; à Bahya ; à Mounir et notamment ces souvenirs de P1 ; à mon binôme de prothèse et d'OC, Guillaume, pour ces fous rires, au globe trotter Pedro et tous les autres.

A Youns, Anne, Zinzin, Yang Hua, Teddy, François et toute la troupe.

A Julie et ton rire incroyable ; à Guillaume et Emilie; à Manu, Xa, et Angelo.

Un grand merci à toutes et à tous, et à tous les membres de la faculté de Chirurgie Dentaire de Nancy, pour tout ce qu'elle représente: de fantastiques années.

TABLE DES MATIERES

Introduction	- 8 -
---------------------------	--------------

Partie I - PRESENTATION DES CONCENTRES PLAQUETTAIRES	- 10 -
---	---------------

1. QUE SONT LES CONCENTRES PLAQUETTAIRES ?	- 11 -
1.1 L'origine des concentrés plaquettaires	- 11 -
1.1.1 Pour qui ?	- 11 -
1.1.2 Comment ?	- 11 -
1.1.3 A propos de la centrifugation	- 12 -
1.2 Procédés de récupération des concentrés plaquettaires	- 13 -
1.2.1 Le concentré standard de plaquettes	- 13 -
1.2.2 Le concentré plaquettaire d'aphérèse	- 15 -
1.3 Les concentrés plaquettaires autologues	- 15 -
2. DE LA COLLE DE FIBRINE	- 17 -
2.1 Les débuts de la colle de fibrine	- 17 -
2.2 Ses caractéristiques	- 18 -
2.3 Domaines d'applications	- 18 -
2.3.1 Chirurgie plastique et esthétique	- 19 -
2.3.2 Chirurgie abdominale et gastro-intestinale	- 19 -
2.3.3 Chirurgie cardiothoracique et vasculaire	- 20 -
2.3.4 Chirurgie orale et maxillofaciale	- 20 -
2.3.5 En ophtalmologie	- 20 -
2.3.6 En orthopédie	- 21 -
2.3.7 Autres domaines d'applications	- 21 -
2.4 Les différents produits	- 21 -
2.4.1 Colle de fibrine commerciale	- 22 -
2.4.1.1 Production	- 22 -
2.4.1.2 Mécanisme	- 23 -
2.4.2 Colle de fibrine autologue	- 24 -
2.5 Problèmes rencontrés	- 26 -
2.5.1 Réactions immunitaires	- 26 -
2.5.1.1 Réactions via l'aprotinine bovine	- 26 -
2.5.1.2 Réactions via la thrombine bovine	- 27 -
2.5.2 Problème de la transmission d'agents pathogènes	- 27 -

3. ... AU PRP	- 29 -
3.1 Le PRP : mal nommé.....	- 29 -
3.2 Les différents protocoles	- 31 -
3.2.1 Protocoles employant une double centrifugation	- 31 -
3.2.1.1 Première centrifugation	- 32 -
3.2.1.2 Seconde centrifugation	- 33 -
3.2.1.3 Activation	- 34 -
3.2.1.4 Exemples de protocoles employant deux centrifugations	- 35 -
3.2.2 Protocoles à une seule centrifugation	- 37 -
3.2.2.1 Le système GPS® (gravitational platelet separation system).....	- 37 -
3.2.2.2 Le PRGF « plasma rich in growth factor ».....	- 39 -
3.2.3 Protocole sans centrifugation.....	- 41 -
3.3 Domaines d'applications	- 42 -
3.3.1 Chirurgie parodontale et implantaire.....	- 42 -
3.3.2 Chirurgie orthopédique.....	- 43 -
3.3.3 Chirurgie esthétique et plastique	- 43 -
3.3.4 PRP et ophtalmologie	- 44 -
3.3.5 Chirurgie cardiaque	- 45 -
3.3.6 Autres domaines	- 45 -
3.4 Caractéristiques	- 46 -
3.4.1 Une base de colle de fibrine	- 46 -
3.4.2 Un manque de standardisation des protocoles.....	- 47 -
3.4.3 Une utilisation compromise en france	- 49 -
4. EVOLUTION VERS DE NOUVELLES TECHNIQUES : LE PRF.....	- 51 -
4.1 Ses caractéristiques.....	- 51 -
4.2 Protocole clinique.....	- 52 -
4.2.1 Bilan et anamnèse.....	- 52 -
4.2.2 Prélèvement sanguin.....	- 53 -
4.2.3 Centrifugation.....	- 54 -
4.2.4 Prélèvement du PRF	- 55 -
4.3 Ses indications et domaines d'applications	- 56 -
4.3.1 Le PRF en membrane ou en caillot	- 56 -
4.3.2 Indications en chirurgie orale	- 58 -
4.3.3 Autres domaines d'application	- 59 -

4.4 Législation	- 60 -
4.5 Engouement actuel	- 61 -
4.5.1 Ses intérêts.....	- 61 -
4.5.2 Ses propriétés.....	- 61 -
4.5.3 Critiques	- 61 -
Partie II - QUELQUES NOTIONS DE CICATRISATION.....	- 64 -
1. ROLE APODICTIQUE DES PLAQUETTES AU COURS DE LA CICATRISATION	- 65 -
1.1 Rappels sur la physiologie plaquettaire.....	- 65 -
1.2 A propos des cytokines et facteurs de croissance.....	- 67 -
1.2.1 Mécanisme d'action des facteurs de croissance	- 68 -
1.2.2 Principaux médiateurs libérés par les plaquettes.....	- 69 -
2. DEROULEMENT DE LA CICATRIATION TISSULAIRE	- 73 -
2.1 L'hémostase.....	- 74 -
2.1.1 L'hémostase primaire	- 74 -
2.1.2 L'hémostase secondaire ou coagulation.....	- 75 -
2.1.3 La fibrinolyse du caillot.....	- 77 -
2.2 Phase de détersion inflammation.....	- 78 -
2.3 Phase de prolifération	- 79 -
2.3.1 Phase d'épithélialisation.....	- 79 -
2.3.2 Formation d'un tissu de granulation.....	- 80 -
2.3.3 La néovascularisation	- 81 -
2.4 Phase de remodelage/maturation.....	- 82 -
3. PARTICULARITE DE LA CICATRISATION OSSEUSE	- 83 -
3.1 Le remodelage du tissu osseux	- 83 -
3.2 Etapes de la cicatrisation osseuse	- 85 -
3.2.1 Les acteurs essentiels de la cicatrisation osseuse	- 85 -
3.2.1.1 Origines des cellules souches mésenchymateuses.....	- 85 -
3.2.1.2 Les BMP « bone morphogenetic protein »	- 86 -
3.2.2 Déroulement	- 87 -
3.2.2.1 Phase de détersion inflammation.....	- 87 -

3.2.2.2 Phase de prolifération	- 87 -
3.2.2.3 Phase de modelage/ maturation.....	- 88 -

Partie III - PARTICIPATION DES CONCENTRES PLAQUETTAIRES A LA CICATRISATION - 89 -

1. LE PRF : UNE ARCHITECTURE PARTICULIERE	- 90 -
1.1 Une organisation tridimensionnelle.....	- 90 -
1.1.1 Mécanisme de polymérisation de la fibrine.....	- 90 -
1.1.2 Etablissement d'une architecture tridimensionnelle.....	- 92 -
1.2 Importance de la matrice de fibrine	- 94 -
1.2.1 Intérêt de la fibrine au cours de la cicatrisation.....	- 94 -
1.2.2 Polymérisations différentes, biologies différentes.....	- 96 -
2. CE QUE RENFERMENT LES CONCENTRES PLAQUETTAIRES.....	- 99 -
2.1 Plaquettes et facteurs de croissance.....	- 99 -
2.1.1 A propos des plaquettes	- 99 -
2.1.2 Facteurs de croissance à travers les concentrés plaquettaires.....	- 101 -
2.3 Leucocytes	- 103 -
2.3.1 Rôles des leucocytes.....	- 103 -
2.3.2 Médiateurs libérés par les leucocytes	- 104 -
2.3.2.1 Cytokines de l'inflammation.....	- 104 -
2.3.2.2 Cytokines de cicatrisation.....	- 105 -
2.3.3 Rôle des leucocytes dans les concentrés plaquettaires	- 106 -
3. COMPORTEMENT SUR LES LIGNEES CELLULAIRES.....	- 109 -
3.1 Comprotement des lignées cellulaires et PRF	- 110 -
3.2 Comportement des lignées cellulaires et PRP	- 114 -
4. CONTRIBUTIONS DES CONCENTRES PLAQUETTAIRES A LA CICATRISATION	- 116 -
4.1 Influence des concentrés plaquettaires	- 116 -
4.2 Concernant la cicatrisation du tissu osseux	- 118 -
4.3 Discussion.....	- 120 -

Partie IV - IMPLICATIONS CLINIQUES DU PRF	- 122 -
1. PRF ET PRESERVATION DU CAPITAL OSSEUX	- 123 -
1.1. Comblement d'alvéole post-extractionnel.....	- 123 -
1.2 PRF et matériaux de substitution osseux.....	- 124 -
1.3 PRF et apposition osseuse	- 125 -
2. PRF ET CHIRURGIE IMPLANTAIRE	- 126 -
3. PRF ET CHIRURGIE DES SINUS MAXILLAIRES	- 127 -
3.1 PRF et soulèvement du plancher sinusien	- 127 -
3.2. Protection de la membrane de Schneider	- 129 -
4. PRF ET GESTION DES TISSUS MOUS.....	- 130 -
4.1 PRF et traitement des récessions gingivales.....	- 130 -
4.2 PRF et chirurgie muco gingivale	- 131 -
Conclusion	- 133 -
TABLE DES ILLUSTRATIONS	- 135 -
BIBLIOGRAPHIE	- 138 -

INTRODUCTION

Une des réalités cliniques à laquelle sont confrontés les praticiens, est la cicatrisation. Elle se doit d'être optimale pour garantir le succès des différentes thérapeutiques, allant de la simple avulsion dentaire aux plans de traitement les plus complexes.

Garante de la l'aspect esthétique, de la pérennité prothétique, du confort du patient, la cicatrisation est déjà à prendre en considération avant toute intervention. Mais dépendante de nombreux paramètres, tels les variations interindividuelles, l'acte chirurgical en lui-même, elle demeure un défi, car souvent, c'est une réparation qui est obtenue.

Les mécanismes qui régissent la cicatrisation sont complexes et certains aspects demeurent méconnus. Mais une meilleure connaissance du rôle des facteurs de croissance a permis d'élaborer de nouveaux matériaux bioactifs capables de guider et de promouvoir la cicatrisation. C'est le cas des concentrés plaquettaires.

A la base, les concentrés plaquettaires étaient utilisés dans la prévention et le traitement des hémorragies, notamment dans le cas des thrombopénies (diminution pathologique du nombre de plaquettes), des aplasies médullaires, des leucémies aigües...

Initialement, le premier dispositif ayant été décrit comme ayant des propriétés intéressantes sur la cicatrisation fut la colle de fibrine dans les années 70. L'idée est de comprendre comment de la colle de fibrine, on en est arrivé aux concentrés plaquettaires autologues à usage topique et notamment au « Platelet rich fibrin » (PRF).

Les concentrés de plaquettes semblent inclure dans leur composition, de nombreux éléments essentiels à la cicatrisation. Ainsi, pour comprendre les suppositions liées à l'utilisation des concentrés plaquettaires et notamment celle du PRF, quelques rappels sur les mécanismes de la cicatrisation permettront d'appréhender comment ces biomatériaux autologues y participent.

Entre mythe ou réalité, ce travail propose d'analyser en quoi ces adjuvants, pour ceux qui les utilisent sont efficaces, et pour les autres, sujet de discorde. Car à l'heure où l'on rêve d'un matériau susceptible d'agir sur les différents tissus qui composent la sphère orale, l'engouement actuel avec leurs multiples publications, veut que ces concentrés de plaquettes soient ces produits capables de potentialiser la cicatrisation, qu'elle soit gingivale ou osseuse.

Mais qu'en est-il réellement ?

Partie I
PRESENTATION DES CONCENTRES
PLAQUETTAIRES

1. QUE SONT LES CONCENTRES PLAQUETTAIRES ?

Les concentrés plaquettaires sont à la base des produits dérivés du sang utilisés pour la prévention et le traitement des thrombopénies, donc d'un usage très limité, réservé au domaine de l'hématologie transfusionnelle.

Sur le plan strictement hématologique, le concentré plaquettaire correspond au surnageant enrichi en plaquettes, obtenu après centrifugation de sang total prélevé sous anticoagulant.
[65]

1.1 L'ORIGINE DES CONCENTRES PLAQUETTAIRES

1.1.1 POUR QUI ?

Les concentrés plaquettaires sont collectés dans les centres d'hématologie, grâce au don de sang, pour répondre au besoin des patients, dans le cadre notamment de troubles plaquettaires.

Les transfusions de concentrés plaquettaires bénéficient ainsi :

- aux patients souffrant de thrombopénie, lorsque la moelle ne fabrique plus de plaquettes ou bien lorsque celles-ci sont détruites dans la circulation ou dans la rate
- en cas de thrombopathies lorsque les plaquettes sont altérées fonctionnellement
- dans le cadre d'hémorragie déclarée ou bien pour en prévenir une (aplasie médullaire après chimiothérapie)

1.1.2 COMMENT ?

A partir du sang total, il est possible de préparer différents composants sanguins (plasma, plaquettes, globules rouges), par centrifugation, filtration et congélation.

On entend par sang total, le sang avec tous ses constituants. De cette façon, en fonction de l'indication clinique, le seul élément spécifiquement indiqué, est administré au patient.

Les composants sanguins peuvent être, ou préparés au cours du prélèvement par technique d'aphérèse, ou obtenus dans un second temps à partir du traitement du sang total. [43] Ils sont obtenus après étapes de centrifugation. En effet, chaque constituant ayant des masses différentes, ils sont séparés grâce à la force centrifuge. [5]

1.1.3 A PROPOS DE LA CENTRIFUGATION

La vitesse de centrifugation des cellules sanguines est fonction de leur taille, de leur différence de densité entre elles, du liquide environnant mais aussi de la viscosité du liquide et de la déformabilité des cellules. Ces derniers varient avec la température. [43]

Ayant un volume et une densité plus importants, les globules rouges et les leucocytes sédimement plus vite que les plaquettes. (Voir tableau 1)

	Densité moyenne (g/ml)	Volume moyen (10^{-15} l)
Plasma	1026	
Plaquettes	1058	9
Monocytes	1062	470
Lymphocytes	1070	230
Neutrophiles	1082	450
Globules rouges	1100	87

Tableau 1 : volumes et densité des composants sanguins, d'après [43]

Ainsi au cours de la centrifugation, les éléments se disposent comme suit :

- Le plasma riche en plaquettes ou PRP dans la partie supérieure
- Le culot globulaire dans la partie inférieure

Mais si l'on prolonge la durée de la centrifugation, on obtient :

- Le plasma acellulaire au dessus, puis ;
- Les plaquettes, juste au dessous ;
- Les leucocytes et enfin ;
- Les globules rouges dans la partie inférieure.

En fonction des composants désirés, la vitesse et la durée de la centrifugation doivent varier : si l'on veut obtenir un plasma riche en plaquettes, il faut cesser la centrifugation avant que les plaquettes ne sédimentent. En revanche, si l'on cherche à obtenir du plasma acellulaire, la centrifugation devra être à vitesse plus élevée et à durée suffisante.

[43]

1.2 PROCEDES DE RECUPERATION DES CONCENTRES PLAQUET- TAIRES

Deux techniques de récupération des concentrés plaquettaires sont décrites :

- A partir du traitement du sang total
- Par la technique de l'aphérèse

1.2.1 LE CONCENTRE STANDARD DE PLAQUETTES

Le concentré standard de plaquettes est le composant sanguin obtenu à partir du sang total frais et renfermant la plupart des plaquettes d'origine ou sous une forme efficace au plan thérapeutique. [43]

Le principe consiste à obtenir par centrifugation le plasma riche en plaquettes, à partir du sang total. Puis une seconde centrifugation plus puissante permet de faire sédimenter les plaquettes. (Voir figure 1)

Il est possible également de préparer les plaquettes à partir de la couche leuco-plaquettaire. À l'inverse, le sang total subit une première centrifugation forte puis une plus douce. [5, 113]

Il permet d'obtenir entre $0,45$ et $0,85 \times 10^{11}$ plaquettes. Il faut donc entre 4 à 6 unités de sang total pour obtenir une « dose thérapeutique » ; d'où un risque plus accru de contamination virale. [43]

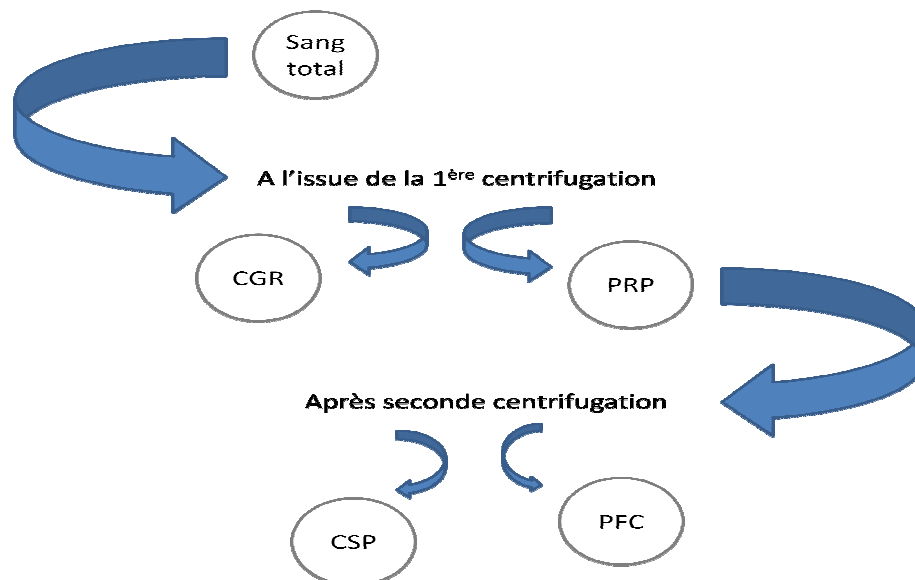


Figure 1 : les différents composants récupérés à partir du sang total.

A partir du sang total, une première centrifugation permet de séparer le PRP (plasma riche en plaquettes) du CGR (concentré de globules rouges). Une seconde centrifugation permet d'obtenir le CSP (concentré standard de plaquette) et le PFC (plasma frais congelé). Le plasma frais congelé sert à fournir le cryoprécipité par processus de congélation, décongélation.

1.2.2 LE CONCENTRE PLAQUETTAIRE D'APHERESE

Il s'agit d'un composant sanguin obtenu par apherèse plaquettaire, pratiquée sur un seul donneur et utilisant un séparateur de cellules automatique. Cette méthode présente l'avantage de réduire considérablement le risque de contamination virale, le nombre de donneur étant moindre, par rapport à la technique précédente. [43, 113]

Il permet d'obtenir entre 2 et 8×10^{11} plaquettes. [167]

Le sang total est prélevé chez un donneur sous anticoagulant et les plaquettes sont collectées grâce à un séparateur de cellules. Les composants sanguins restants, sont restitués au donneur.

Une centrifugation ou une filtration supplémentaire permettent de réduire le nombre de leucocytes. Cette technique permet de réduire davantage, les risques d'allo-immunisation et de traiter les patients déjà allo-immunisés.

1.3 LES CONCENTRES PLAQUETTAIRES AUTOLOGUES

Comme il est décrit plus haut, les concentrés plaquettaires étaient réservés au domaine de l'hématologie. Cependant, l'approfondissement des connaissances sur les processus de la cicatrisation, ont mené à l'idée de ne plus considérer les concentrés plaquettaires comme médicaments dérivés du sang, mais à les intégrer comme véritables adjuvants chirurgicaux. [81]

Pour cause, les études menées sur les plaquettes et plus spécifiquement sur les granules plaquettaires, ont révélé qu'ils sécrétaient des facteurs de croissance ayant un rôle majeur dans l'ensemble des événements menant à la cicatrisation. [93, 156]

Les plaquettes délivrent après activation les facteurs de croissance or, plus la concentration en plaquette est élevée, plus la libération des facteurs de croissance est accrue et plus la prolifération cellulaire, le remodelage matriciel et l'angiogénèse sont stimulés. [71]

De surcroît, le caillot sanguin naturel, contient près de 95% de globules rouges, 5% de plaquettes et moins de 1% de globules blancs, tandis que le concentré plaquettaire est capable de regrouper près de 95% de plaquettes, 4% de globules rouges et 1% de globules blancs. [188]

En 1998, Marx et al. [135] publient les premières études sur les facteurs de croissance plaquettaires contenus au sein du PRP, *platelet rich plasma*. Et comme il le décrit si bien : « *le PRP n'est que ça : c'est juste un volume de plasma autologue capable de concentrer les plaquettes au dessus de la normale* » [134]

Mais l'intérêt des facteurs de croissance en *paro-implantologie* n'est pas nouveau. Grâce aux travaux de Lynch, en 1987 [122], le rôle des facteurs de croissance sur la cicatrisation et leur mode de fonctionnement synergique, se faisaient déjà ressentir.

Initialement, ce sont les colles de fibrine, largement documentées, qui ont attiré l'attention. Capables de reproduire au plus près le processus de la coagulation, ces colles ont suscité l'intérêt dans de nombreux domaines.

Toutefois, souffrant d'être un produit dérivé du sang, au risque potentiel de transmission d'agents pathogènes, les investigations se sont penchées vers la conception d'un produit autologue, provenant du patient lui-même, donnant naissance à deux catégories de concentrés plaquettaires autologues : le PRP (*plasma riche en plaquette*) et le PRF (*plaquette riche en fibrine*). [57, 81]

Tous ces faits corrélés, on comprend pourquoi, les concentrés plaquettaires autologues connaissent un véritable essor. Les présentations commerciales, les protocoles et les applications cliniques se sont multipliés, laissant parfois un doute quant à leur réelle efficacité. [56, 71]

2. DE LA COLLE DE FIBRINE...

Les colles de fibrine sont documentées depuis bien longtemps et commercialisées depuis près de 40 ans.

Au départ, connues pour leurs atouts concernant l'hémostase, leur utilisation a été limitée en raison de leur grande complexité de mise au point, leur coût mais également pour les risques de transmission en tant que produits dérivés du sang.

Actuellement, à l'issue de recherches intensives pour pallier les différents problèmes rencontrés, les colles de fibrine sont largement utilisées et elles trouvent de nombreuses applications chirurgicales. [57, 65] Mais surtout, elles sont considérées comme les prédécesseurs des concentrés plaquettaires autologues.

2.1 LES DEBUTS DE LA COLLE DE FIBRINE

Les colles de fibrine appartiennent au domaine des colles biologiques, qui ont prouvé depuis longtemps leurs avantages quant à la gestion des troubles de l'hémostase. Bergel, en 1909, [20] reconnaît la fibrine comme substance capable de favoriser l'hémostase : il l'utilisait sous forme de poudre appliquée sur les plaies. Et ce n'est pas le seul, Grey en 1915 [86], Harvey en 1916 [91], utilisent des applications locales de fibrine pour maîtriser le saignement.

Les premières expérimentations dans le domaine de la chirurgie nerveuse, apparaissent dans les années 40 notamment avec Young et Medawar (1940) [202] qui mélange la thrombine bovine et le fibrinogène plasmatique pour produire une colle biologique. Fort de résultat encourageant sur le modèle animal, les études sur l'homme n'ont pas tardé à suivre avec Seddon et Medawar. Cependant les méthodes employées à l'époque ne permettaient pas d'obtenir une concentration suffisante en fibrinogène. [150, 154, 158, 172, 178]

Ce n'est réellement que vers les années 70, que le concept de colle de fibrine apparaît avec Matras [137]. Il décrit la colle de fibrine à travers des études expérimentales puis cliniques. En 1972, il développe un procédé de cryoprécipitation de fibrinogène, qui permet d'avoir

une plus haute concentration en fibrinogène, pour l'anastomose de nerfs périphériques sur le modèle animal. Il met au point le mélange fibrinogène/facteur XIII.

Plus tard, l'introduction d'aprotinine fit ses preuves concernant sa capacité à inhiber la fibrinolyse et la dégradation de la fibrine. Ce qui permit d'améliorer les capacités adhésives et la stabilité de la fibrine. [28]

Depuis, de nombreux travaux ont vu le jour, ayant au centre la molécule de fibrine. Et pour cause, en 1978, la « Food and Drug Administration » interdit l'utilisation de la colle de fibrine en raison des risques de transmission de pathologies virales et autres agents pathogènes. Leur utilisation, aux Etats-Unis, est restée interdite pendant 20 ans puis à nouveau commercialisée et autorisée durant les années 90. [83, 178]

2.2 SES CARACTERISTIQUES

La colle de fibrine imite la phase finale de la coagulation à savoir celle de la fibri-noformation qui convertit le fibrinogène en un réseau de fibrine ayant de multiples vertus. En outre, elle amplifie artificiellement le processus de polymérisation naturel de la fibrine au cours de l'hémostase. [65]

Ainsi, cette colle intra lésionnelle est dotée de propriété d'hémostase, de collage, d'adhésion et d'étanchéité des tissus, favorisant ainsi la cicatrisation des plaies chirurgicales. [28] Ces différentes propriétés lui sont conférées par la fibrine formée qui est capable d'adhérer physiquement et chimiquement aux tissus. [94, 129]

Par ailleurs, sa biodégradabilité ainsi que le caractère biocompatible lui valent ainsi une place importante dans de nombreux domaines de chirurgie. [178]

2.3 DOMAINES D'APPLICATIONS

Beaucoup d'études montrent l'efficacité de la colle de fibrine sur les foyers de saignements lents et diffus, les exsudats lymphatiques, les collections séreuses et de manière générale les saignements du parenchyme.

Bien entendu, même si leur efficacité concernant l'hémostase est bien connue, les colles de fibrine ne remplacent en aucun cas les méthodes d'hémostase traditionnelles et ne sont pas pour l'heure, l'adjuvant chirurgical suffisant pour le contrôle d'hémorragie artérielle importante. [65]

La colle de fibrine est indiquée en tant que moyen destiné à favoriser l'hémostase locale lors d'une intervention chirurgicale mais aussi la consolidation des sutures, l'adhésion et le collage tissulaire.

2.3.1 CHIRURGIE PLASTIQUE ET ESTHETIQUE

En chirurgie plastique et notamment dans le domaine des greffes, l'application de la colle de fibrine permet de limiter l'apparition de cicatrices chéloïdes à l'aspect disgracieux. Agissant comme un lit receveur, elle prépare le terrain lors de ré application de revêtements cutanés. Elle permet également de minimiser les sutures dans des zones délicates comme le visage, par le scellement des berges de plaies. [64, 65, 81, 158] C'est avant tout dans ce domaine qu'elle brille de ses propriétés.

Les intérêts de la colle de fibrine se font également ressentir chez les patients brûlés ayant bénéficié de greffes ; son application raccourcit la durée de cicatrisation et semble améliorer la qualité de vie du patient. [33]

2.3.2 CHIRURGIE ABDOMINALE ET GASTRO-INTESTINALE

Là encore, les propriétés adhésives de la colle de fibrine présentent un certain avantage sur certains tissus fragiles et fragilisés car elle permet de diminuer le nombre de sutures.

Ses propriétés d'hémostase aident sur de nombreuses zones particulièrement vascularisées. [64] En spray, elle est utilisée pour stopper les hémorragies dans le traitement des ulcères gastriques et duodénaux. [158]

En 2010, Gonzales J.A. et son équipe [12] font part des aspects bénéfiques de l'utilisation de la colle de fibrine en patch dans le traitement des fistules entéro-cutanées.

2.3.3 CHIRURGIE CARDIOTHORACIQUE ET VASCULAIRE

En chirurgie cardiopulmonaire et vasculaire, les colles de fibrine par application en spray, étaient utilisées pour le contrôle de saignements micro vasculaires. Toujours pour leurs propriétés adhésives et hémostatiques, elles sont d'une grande utilité lors d'interventions sur les coronaires ou dans le cadre de plastie valvulaire. [64, 65]

La plus grande expérience avec la colle de fibrine appartient certainement à ce domaine. [158]

2.3.4 CHIRURGIE ORALE ET MAXILLOFACIALE

Egalement bien décrite en chirurgie orale et maxillo faciale, l'utilisation des colles de fibrine permettrait de réduire le risque d'hématome post opératoire et d'accélérer la cicatrisation. [57, 65]

Ainsi sa biodégradabilité et ses capacités d'adhérence en font un adjuvant chirurgical des plus intéressants. De plus, hormis le coté hémostatique, ses propriétés sur la cicatrisation permettent de réduire le temps opératoire, de prévenir certaines complications et de surcroît d'améliorer le résultat global de nombreuses interventions chirurgicales. [178]

En chirurgie orale, lors d'extractions dentaires, ces colles offrent une tranquillité concernant les patients à risque hémorragique, en complément des méthodes d'hémostase traditionnelles.

2.3.5 EN OPHTALMOLOGIE

L'utilisation de la colle de fibrine trouve ses intérêts dans de nombreux champs de l'ophtalmologie, comme dans la gestion des récidives du ptérygion (épaississement de la conjonctive) [126], dans la chirurgie du strabisme, de la cornée...

En effet, elle offre un avantage sur le temps opératoire, la facilité de la chirurgie, la gestion des complications post opératoires et le nombre de récidives. [152]

2.3.6 EN ORTHOPEDIE

La chirurgie orthopédique occasionne des pertes de sang non négligeable (en moyenne 1400ml). Même si la colle de fibrine n'est utilisée dans ce domaine que de manière occasionnelle, les études semblent être prometteuses et la colle permet de diminuer les pertes de sang de manière significative. [154]

2.3.7 AUTRES DOMAINES D'APPLICATIONS

Les divers et variés domaines de la chirurgie emploient la colle de fibrine dans de nombreuses situations comme elles le sont décrites ci-dessus mais également en urologie, en neurochirurgie... [127]

2.4 LES DIFFERENTS PRODUITS

Il existe des colles biologiques autologues (Vivostat-Magellan) et issues de pools de plasma (Tissucol®, Beriplast®, Quixil®).

Deux types de colle de fibrine sont disponibles à savoir :

- La colle de fibrine commerciale (Tissucol®, Beriplast®, Evicel®, Quixil®...)
- La colle de fibrine autologue [178]

2.4.1 COLLE DE FIBRINE COMMERCIALE

2.4.1.1 production

Elles sont obtenues à partir de cryoprécipité de plasma, c'est-à-dire par processus de congélation et décongélation du plasma issu à partir de pools de donneurs.

Pour satisfaire aux précautions liées à l'utilisation de produits d'origine sanguins, chaque produit est donc purifié à travers plusieurs étapes de précipitation, de centrifugation, d'ultrafiltration et de lyophilisation.

Il s'agit ensuite de désactiver et d'éliminer les virus tout d'abord par le dépistage de donneurs de plasma puis à travers un certain nombre d'étapes et de traitement : filtration, irradiation aux ultra-violets, traitement par solvant détergent...

Généralement sous forme de kit, les colles de fibrine commerciales possèdent comme principes actifs :

- Des protéines coagulables humaines contenant principalement du fibrinogène et de la fibronectine
- Le facteur XIII humain
- Du plasminogène
- Un agent antifibrinolytique : l'aprotinine bovine (Tissucol®, Beriplast®, Evicel®, Biocol®) ou l'acide tranexamique (Quixil®)
- De la thrombine humaine

En fonction des produits, les concentrations en principe actif varient et les modifications faites pour obtenir le produit final peuvent affecter les propriétés finales du produit. [178]

2.4.1.2 mécanisme

Les colles commerciales imitent le processus naturel de la coagulation par mélange de leurs principes actifs. Citons pour exemple le Tissucol® (Baxter) ; même si de manière globale, l'ensemble des kits de colle de fibrine répondent au même protocole.

Ce kit est composé de quatre flacons qui vont être amenés à une température de 37°C. Après quelques minutes, poudres et solutions sont mélangées :

- La poudre de fibrinogène est diluée dans la solution d'aprotinine
- La poudre de thrombine est reconstituée avec la solution de chlorure de calcium

Une fois poudres et solutions reconstituées, les deux flacons résiduels sont agités et chaque mélange est monté sur une seringue à deux cartouches, munie d'un embout auto-mélangeur ou bien appliqué en spray.

Ainsi au moment de l'application, il se reproduit le processus de la coagulation (qui sera décrit plus tard): le fibrinogène est convertit en un réseau de fibrine stable, par l'intermédiaire de la thrombine et du calcium. **[57, 178]**

Les monomères de fibrine polymérisent à travers des liaisons hydrogènes et des réactions électrostatiques pour former une structure d'abord instable de fibres de fibrine soluble.

Puis, l'activation du facteur XIII par la thrombine, permet d'obtenir des liaisons covalentes en présence de calcium. Ceci va contribuer à la formation d'un réseau stable de fibrine, qui devient par ailleurs insoluble.

Ce mode de réticulation va augmenter la résistance mécanique du caillot de fibrine et réduit sa sensibilité au clivage protéolytique. Au fil du temps, le caillot est progressivement rompu par la fibrinolyse naturelle quoique généralement un antifibrinolytique (l'aprotinine), dont l'ajout est controversé, soit ajouté à la colle pour retarder ce phénomène. **[178]**

2.4.2 COLLE DE FIBRINE AUTOLOGUE

Le risque de transmission d'agents infectieux a suscité le développement de colle de fibrine autologue. Ainsi, préparée à partir du propre sang du patient, la colle subit un processus de cryoprécipitation ou de précipitation avec éthanol, éthylène glycol ou sulfate d'ammonium.

Tayapongsak en 1994 [186] décrit l'AFA : « Autologous Fibrin Adhesive ». Malgré un protocole complexe et relativement long (le sang du patient était prélevé de une à trois semaines avant intervention et nécessitait deux jours de manipulation pour être utilisé.), Tayapongsak fit à son insu, un plasma riche en plaquettes qui motiva les recherches vers des protocoles plus simplifiés.

Quant à la polymérisation, elle nécessite l'adjonction de thrombine, notamment bovine.

Malgré l'efficacité du produit, il existe cependant encore quelques inconvénients à savoir : les résultats sont moins reproductibles, comparés aux préparations commerciales et il y a des risques quant à la thrombine bovine. Les protocoles souffrent par ailleurs d'une réelle complexité de production. [65] (Voir tableau 2)

Les risques liés à la thrombine bovine, sont de développer des anticorps après exposition avec la protéine bovine et donc de développer une réaction allergique mais aussi de contracter le prion responsable de l'encéphalite spongiforme bovine.

Actuellement une colle de fibrine nommée « autocolle® » permet l'élimination de la thrombine. [178]

	Production industrielle		Productions autologues	
	Avantages	Inconvénients	Avantages	Inconvénients
Propriétés intrinsèques	<ul style="list-style-type: none"> -Concentration en fibrinogène élevée -Pureté en fibrinogène (70 à 90%) -Elasticité -Résistance à la traction -adhésion 		Processus contrôlé	<ul style="list-style-type: none"> -faible concentration en fibrinogène -pureté du fibrinogène <50%
Risque de contamination virale	<ul style="list-style-type: none"> -sélection des donneurs -tests de dépistages -traitements de réduction virale 	Pools de donneurs donc pas de risque zéro	Donneur unique	Contamination virale ou microbienne non exclue
Reproductibilité	<ul style="list-style-type: none"> -standardisation -spécifications établies -contrôle qualité des échantillons 		Processus contrôlé	<ul style="list-style-type: none"> -Pas de contrôle qualité -moins reproductible ?

Tableau 2 : comparaison entre la colle de fibrine industrielle et autologue d'après [158]

2.5 PROBLEMES RENCONTRES

2.5.1 REACTIONS IMMUNITAIRES

2.5.1.1 Réactions via l'aprotinine bovine

Malgré les traitements chimiques, des *Réactions immunitaires* via l'aprotinine bovine c'est-à-dire des risques d'hypersensibilités, et de réactions anaphylactiques ont été décrites. [154]

L'ajout d'aprotinine aux colles, permet d'inhiber la fibrinolyse : elle inhibe l'action de la plasmine sur le fibrinogène. Ainsi, l'apport d'un antifibrinolytique permet d'augmenter la durée de vie de la colle de fibrine, et participe à la qualité du processus de cicatrisation. Cependant cette addition est liée à des réactions immunitaires, type hypersensibilité pouvant conduire à des chocs anaphylactiques.

Ces risques semblent augmenter avec une exposition antérieure au produit, notamment dans les six mois. L'intervalle où le risque atteint son maximum, se situe entre le 4^{ème} jour et le 30^{ème} jour. [50]

Bien que rare ; il semblerait que le risque de développer une hypersensibilité serait élevé dans le premier mois après exposition puis le risque décline après 12 mois. Quoiqu'il en soit, l'utilisation d'un produit composé d'aprotinine doit se faire avec vigilance et toute exposition dans les 12 mois suivant le contact, est contre-indiquée. [18, 107, 178]

Même si l'apport d'un agent antifibrinolytique est controversé, d'autres produits ont été développés pour remplacer l'aprotinine, notamment par l'acide tranexamique. C'est le cas de Quixil®.

Depuis 2007, l'antifibrinolytique initialement d'origine bovine du Tissucol® est remplacé en faveur d'un inhibiteur synthétique. La tendance actuelle en raison de ces risques veut que tous les produits d'origine notamment bovine soient remplacés en faveur de produits de synthèse. [115]

2.5.1.2 Réactions via la thrombine bovine

La thrombine est une protéase sérique qui permet :

- La transformation du fibrinogène en monomère de fibrine
- L'activation du facteur XIII
- La stabilisation du réseau de fibrine

Sa concentration détermine la rapidité du processus de la coagulation. La thrombine est également mitogène pour les fibroblastes et les cellules endothéliales. [154, 178]

Avant que la FDA (Food and Drug Administration) n'émette en 1996 des recommandations, les produits à base de thrombine bovine étaient largement utilisés. Seulement, face à de multiples effets secondaires décrits, cette dernière laisse progressivement sa place à la thrombine humaine et recombinante.

La thrombine d'origine bovine est responsable :

- De coagulopathies
- D'hémorragies post opératoires inexplicables
- De thromboses post opératoires

Pour cause, les produits préparés à base de thrombine bovine cumulent également d'autres protéines d'origine bovine, responsables de la synthèse d'anticorps humains dirigés contre leur propre facteur V, des anticorps anti-phospholipidiques mais aussi contre la thrombine bovine. [115]

2.5.2 PROBLEME DE LA TRANSMISSION D'AGENTS PATHOGENES

En tant que produits dérivés du sang, il persiste un risque de transmission d'agents viraux [167], malgré la sélection des donneurs et l'ensemble des procédés nécessaires pour minimiser les risques.

Concernant le VIH, le virus de l'hépatite C et B, le risque est quasi nul en revanche, les mesures de précautions peuvent être limitées face à certains virus encore inconnus ou émergents. [65, 154, 178]

D'autre part, certains virus sont capables de développer des résistances face aux méthodes d'inactivation employées.

En 2000, Masayuki Hino et coll. [136] rapportent le cas de trois infections par le parvovirus B19 liées à l'utilisation de colle de fibrine durant la chirurgie.

Horowitz B et Busch M (2008) [95] ont calculé les marges de sécurité pour les virus de l'immunodéficience humaine, l'hépatite B et A, le parvovirus B19 et pour la maladie de Creutzfeld Jakob, concernant la colle de fibrine et la thrombine. Parmi les agents étudiés, les risques de transmission sont infimes que ce soit pour l'ensemble des virus ou le prion. Cependant, la marge de sécurité concernant le parvovirus semble être la plus faible.

L'essentiel...

- La colle de fibrine imite la phase finale de la coagulation
- Possède des propriétés d'hémostase, de collage, d'adhésion, d'étanchéité des tissus favorisant ainsi la cicatrisation
- Utilisée dans de nombreux domaines de chirurgie

Mais :

- A longtemps posé problème : Face aux risques de transmission les colles de fibrine ont été interdites dès 1978 aux Etats Unis.
- Des tentatives d'élaboration de colles de fibrine autologues ont été décrites

C'est l'avènement des concentrés plaquettaires...

3. ... AU PRP

Rappelons-le, les colles de fibrine malgré leurs grandes propriétés, ont été interdites aux Etats Unis à partir de 1978, en raison du risque de transmission de pathologies virales et autres pathogènes. Ainsi, dans l'objectif de pallier ce risque, les différentes recherches se sont tournées vers l'élaboration d'un produit autologue.

C'est ainsi que Tayapongsak, obtint un plasma riche en fibrinogène décrit plus tard comme plasma riche en plaquettes. Le concept de concentré plaquettaire s'étend. [57, 138]

Les plaquettes sont une source importante de facteurs de croissance tels PDGF, TGF β et VEGF (voir p.69), éléments clés pour stimuler la prolifération cellulaire, le remodelage matriciel et l'angiogenèse. Or le PRP est défini comme un plasma à haute concentration en plaquettes, allant de paire avec la concentration en facteurs de croissance. [71, 135, 194]

Ceci a contribué à une large exploitation dans ce domaine menant au développement d'un large éventail de protocoles et de centrifugeuses aboutissant à un produit à la dénomination erronée : PRP. [63]

3.1 LE PRP : MAL NOMME

En hématologie transfusionnelle, le PRP est ce que l'on obtient après une seule étape de centrifugation or, les concentrés riches en plaquettes utilisés en tant qu'adjuvants chirurgicaux, d'application topique, sont soumis pour beaucoup de protocoles, à une double centrifugation.

L'autre caractéristique est la fin thérapeutique elle-même : l'un est destiné à être transfusé ou bien à fournir un produit pour l'industrie pharmaceutique (le cryoprécipité) et ce à partir d'un pool de donneurs, tandis que l'autre, provenant du patient lui-même est utilisé en tant qu'adjuvant chirurgical.

Ainsi, le PRP utilisé à des fins topiques, peut être dénommé « concentré plaquettaire autologue ».

En conséquence, ce que l'on nomme communément « PRP » diffère dans son mode de production, dans son indication mais aussi dans sa composition. Et il en est de même pour les différentes préparations de concentrés autologues entre elles, l'ensemble des préparations PRP sont soumis à une réelle ambiguïté.

Par ailleurs plusieurs appellations sont retrouvées : PVRP pour plasma très riche en plaquette [9], c PRP pour « concentrated platelet rich plasma » proposé par Dugrillon et coll. en 2002[67], PRGF pour plasma riche en facteur de croissance, décrit par Anuita et coll. en 2001[8]...

Précisions sur les terminologies employées

En raison du grand nombre de protocoles, des nombreuses dénominations différentes à l'égard des concentrés plaquettaires autologues, et, en absence d'accord universel sur les différentes terminologies, nous utiliserons dans ce travail la dénomination commune aux concentrés plaquettaires, à savoir : « PRP ».

Par ailleurs, différentes unités concernant la centrifugation sont retrouvées dans la littérature : rotations par minute (rpm) ou bien « g » qui correspond à la force centrifuge relative (RCF).

Nous conserverons les données issues des différentes sources, pour la simple et bonne raison que les rpm n'ont de signification qu'en fonction du rotor donné, c'est-à-dire qu'en fonction des dimensions (ou plutôt distance entre le tube et l'axe de rotation) de la centrifugeuse utilisée et donc dépendante des données du fabricant.

L'explication provient de la formule suivante :

$$\text{RCF} = 1,118 \times 10^{-5} \times r \times \text{RPM}^2$$

RCF est la force centrifuge relative (g)

RPM représente les rotations/min

**r le rayon de rotation ou distance entre l'axe du rotor et
un point considéré en cm**

En conséquence, les rotations par minutes données qui correspondent à la vitesse de rotation, ne prennent pas en compte les caractéristiques de la centrifugeuse et seuls, ne permettent pas de déterminer la force de centrifugation. [65, 161]

3.2 LES DIFFERENTS PROTOCOLES

Depuis la prise de conscience que les concentrés plaquettaires sont riches en facteurs de croissance et donc susceptibles de favoriser la cicatrisation, de nombreux protocoles ont été proposés.

3.2.1 PROTOCOLES EMPLOYANT UNE DOUBLE CENTRIFUGATION

Le concept général d'élaboration des concentrés plaquettaires autologues, repose sur la technique d'aphérèse, utilisant un séparateur de cellules, décrite plus haut. A partir de 450 ml de sang, prélevé sous anticoagulant, il est obtenu environ 30 ml de PRP. Les composants sanguins inutilisés sont ensuite restitués au patient.

Etant donnée la quantité importante de sang nécessaire, l'utilisation des concentrés n'était réservée qu'aux établissements spécialisés, jusqu'à ce que le développement de technique, à partir de plus petits volumes, rende possible son usage en pratique courante. [165]

Répondant globalement au même principe, la production classique du PRP requiert le prélèvement de sang sous anticoagulant, deux étapes de centrifugation et une polymérisation artificielle du concentré plaquettaire par l'intermédiaire de thrombine et de chlorure de calcium. [188]

3.2.1.1 première centrifugation

La première centrifugation permet l'obtention de trois couches distinctes :

- Le fond du tube est constitué d'hématies et de leucocytes. Il représente 55% du volume total.
- En surface il s'agit du plasma acellulaire, nommé PPP (plasma pauvre en plaquette). Il est composé essentiellement de molécules plasmatiques circulantes dont le fibrinogène. Il représente 40% du volume total.
- Entre les deux couches réside le futur PRP, seulement 5% du volume total, auquel il faut encore débarrasser les hématies et le PPP résiduels. Cette couche est la plus concentrée en plaquettes et en fibrinogène. Elle porte le nom de « buffy coat ». [57, 63, 65] (Voir figure 2)

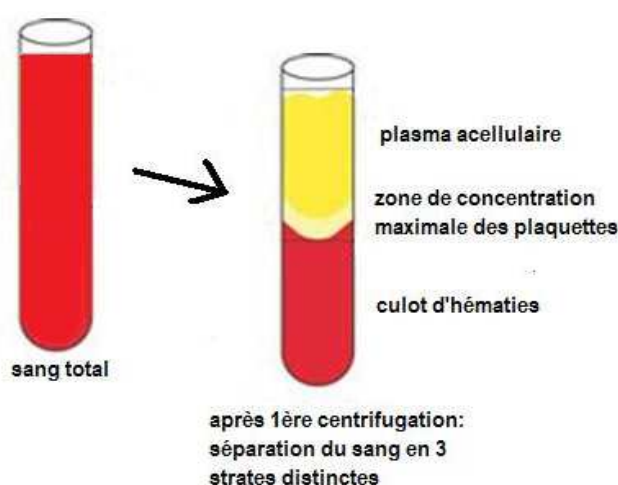


Figure 2 : issue de la première centrifugation [65]

3.2.1.2 seconde centrifugation

Une fois la couche intermédiaire isolée, au moyen d'une seringue stérile ou automatiquement, en fonction des systèmes, il s'agit de lui faire subir une seconde centrifugation de manière à ne recueillir que le PRP.

La seconde centrifugation doit permettre de séparer les plaquettes de leur valeur résiduelle et d'obtenir à nouveau trois strates (Voir figure 3):

- Quelques hématies résiduelles au fond du tube
- En surface : le plasma acellulaire ou PPP, représentant 80% du volume obtenu.
- Entre les deux couches : le c PRP (plasma riche en plaquettes concentré).

Le prélèvement final est réalisé à partir d'un second seringage. Il est à noter que sur le volume total, le volume recueilli est minime.

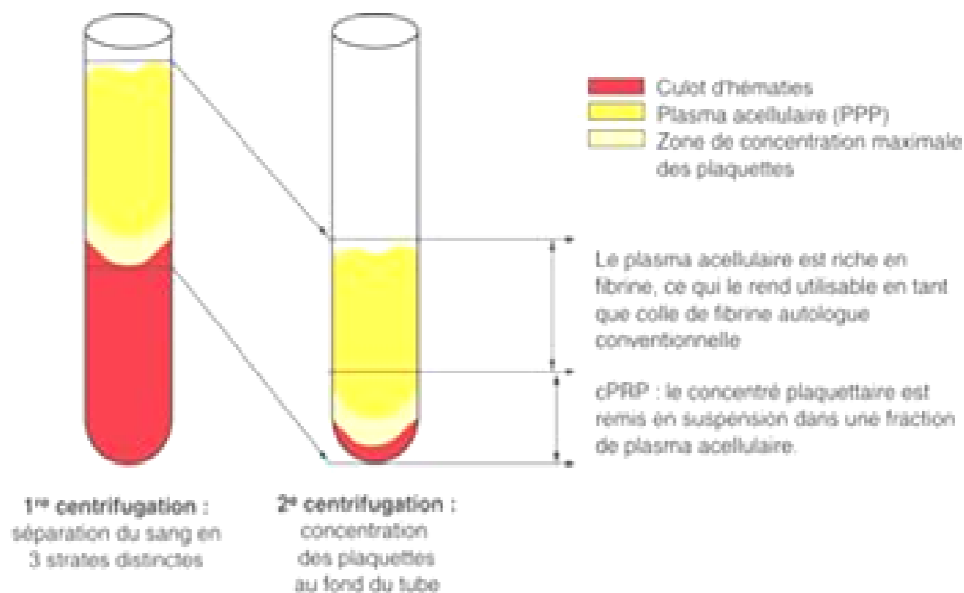


Figure 3 : issue de la seconde centrifugation [65]

3.2.1.3 activation

En fonction des protocoles, la dernière étape consiste à mélanger le PRP avec un activateur, afin de permettre l'activation de manière massive des plaquettes concentrées par les centrifugations et d'obtenir la gélification de la préparation.

Généralement, deux composants sont adjoints au PRP :

- La thrombine, nécessaire au clivage du fibrinogène en fibrine et à l'activation du facteur XIII, stabilisateur du réseau de fibrine
- Le chlorure de calcium pour chélater l'anticoagulant

L'application se fait à l'aide d'une seringue munie d'un embout auto mélangeur, de la même manière que l'application de la colle de fibrine. (Voir figure 4) Par polymérisation, on obtient la gélification du concentré. [57, 65, 178]

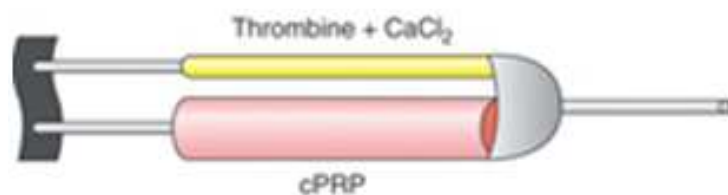


Figure 4 : seringue d'auto mélange pour l'application du gel de concentré plaquettaire. [65]



Figure 5: seringue d'auto mélange du système GPS® [25]

3.2.1.4 exemples de protocoles employant deux centrifugations

Le concept général est décrit plus haut. Les différentes méthodes sont présentées sous forme de tableau, suivies de quelques illustrations.

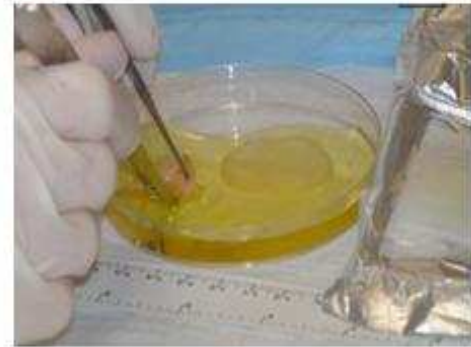
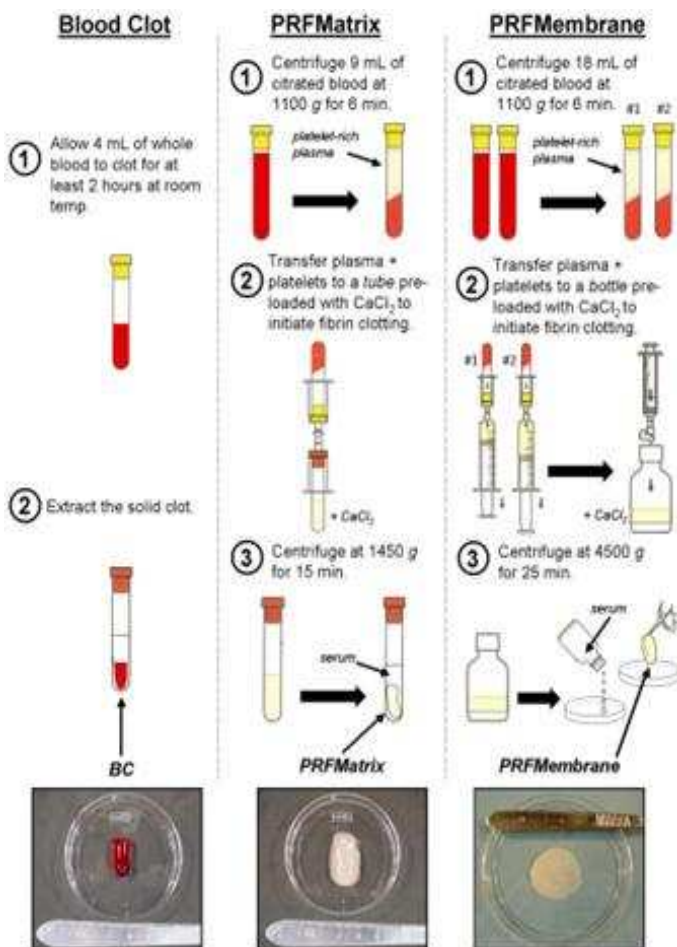
<u>Nom des protocoles</u>	<u>Sang total</u>	<u>anticoagulant</u>	<u>Méthode de prélèvement</u>	<u>1^{ère} centrifugation</u>	<u>2^{nde} centrifugation</u>	<u>activation</u>	<u>Durée de la procédure</u>
Curasan et friadent-schutze [9, 102, 197, 198]	8,5ml	CPDA	Seringage/ pipetage	2400rpm pendant 10min	3600rpm pendant 15min	Thrombine+ chlorure de calcium	40 à 70 min
PCCS [9, 77,198, 199, 200]	60ml	CPDA ou ACD-A	Automatique par système d'aspiration d'air	3000rpm pendant 3'45''	3000rpm pendant 13'	Thrombine+ chlorure de calcium	20 à 40 min
Smart Prep [4, 65, 118, 197]	60ml	ACD-A	Automatique, double chambre de centrifugation qui permet la décantation	Centrifugation continue décroissante		Thrombine +chlorure de calcium	12 min
Plateltex [102, 140]	6ml	ACD-A	pipetage	180g pen- dant 10min	1000g pen- dant 10min	Gluconate de calcium + batroxobine	
PRFM [149, 173, 194]	9ml	Citrate tri sodique	Système de transfert	1100g pen- dant 6 min	4500g pen- dant 25 min	Chlorure de calcium	
Fibrinet [140]	7ml	ACD		1100g pen- dant 10 min	1500g pen- dant 15min	Chlorure de calcium	

Tableau 3 : protocoles employant une double centrifugation (CPDA : Citrate-Phosphate-Dextrose-Adénosine, CDA-A : Citrate-Dextrose-Adénosine acide)



Figure 6 et Figure 7 : système Smart PReP ®2

A gauche : la présence de la double chambre de centrifugation permet la séparation des trois couches par principe de décantation ; à droite : système d'application par seringue d'automélange. [90]



Figures 8 : procédure PRFM [194] (droite), membrane obtenue [149] (gauche)

La particularité de la technique PRFM réside dans l'absence de thrombine, elle permet d'obtenir un matériel dense, facile à manipuler et suturable. A la fin, il s'agit d'une véritable membrane.

Actuellement, deux systèmes sont approuvés par la FDA (Food and Drug administration) : le système SmartPrep et PCCS. [165]

3.2.2 PROTOCOLES A UNE SEULE CENTRIFUGATION

Ces protocoles reposent sur une seule et unique étape de centrifugation à partir du sang prélevé sous anticoagulant. Les étapes suivantes en revanche ne sont guère modifiées : pour obtenir le PRP sous forme de gel, l'adjonction de thrombine ou de chlorure de calcium est toujours de mise.

Il existe une multitude de protocoles et de marques de centrifugeuse, comme pour la technique précédente (le système GenesisCS, Cytomedix Angel, Cascade® platelet rich plasma...). Nous ne citerons que quelques modèles.

3.2.2.1 Le système GPS® (gravitational platelet separation system) [102, 164]

Entre 30 et 60ml de sang sont prélevés sous ACD-A. (Voir figure 9, image A) L'ensemble est centrifugé à 180g ou 3200rpm [25] pendant 15 minutes. Les trois traditionnelles couches PPP, culot d'hématies et PRP sont séparées. (Voir figure 9, image B)



Figure 9 : système GPS®

Un système d'évacuation permet de récupérer le plasma dans une seconde seringue, qui servira à faire la thrombine autologue. Pour remettre les plaquettes en suspension, la première seringue est mélangée vigoureusement pendant 30s et le PRP est récupéré par aspiration. (Voir figure 10)



Figure 10 : système GPS III

(A) retrait du plasma pauvre en plaquette (B) prélèvement du plasma riche en plaquettes, d'après [164]

De cette façon, 10ml de PRP et 1ml de thrombine sont obtenus. Le ratio étant de 10 :1. PRP et thrombine sont prélevés puis portés sur la seringue à double mélange. (Voir figures 11 et 12)



Figure 11 : récupération du PRP et de la thrombine et prélèvement [25]



Figure 12: PRP et thrombine montés sur la seringue à double mélange [25]

3.2.2.2 Le PRGF « plasma rich in growth factor »

Anuita et coll. ont décrit une méthode de préparation de PRP plus simple et sans ajout de thrombine, éradiquant les risques d'antigénécité ou de transmission d'agents pathogènes.

Le protocole consiste en la centrifugation du sang, pour une durée de 8 minutes à 1800 rotations par minutes. [8, 116, 200] Les tubes sont ou pré-traités avec 3,8% de citrate de sodium ou bien, 0,5ml de citrate de sodium est ajouté au 4.5ml de sang prélevé. [200]

Après la centrifugation, quatre couches sont à distinguer :

- Au fond du tube : les globules rouges
- Au milieu, le buffy coat : contenant plaquettes et leucocytes
- Le plasma riche en facteurs de croissance ou PRGF
- Sur le dessus, le plasma pauvre en facteurs de croissance (PPGF) (voir figure 13)

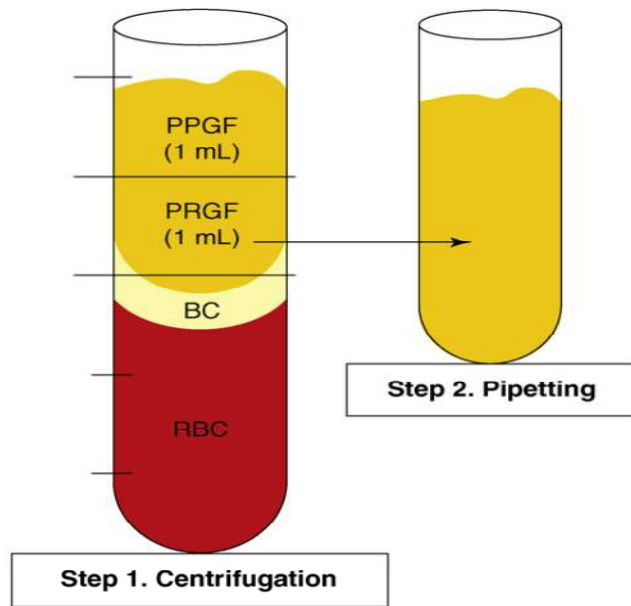


Figure 13 : protocole PRGF [63]

Seules les trois premières strates sont prélevées par pipetage. Une fois recueillies, du chlorure de calcium est ajouté. Quelques minutes après, un gel est obtenu (voir figure 14), prêt à être utilisé. La procédure dure un total d'environ 15 à 25 minutes.



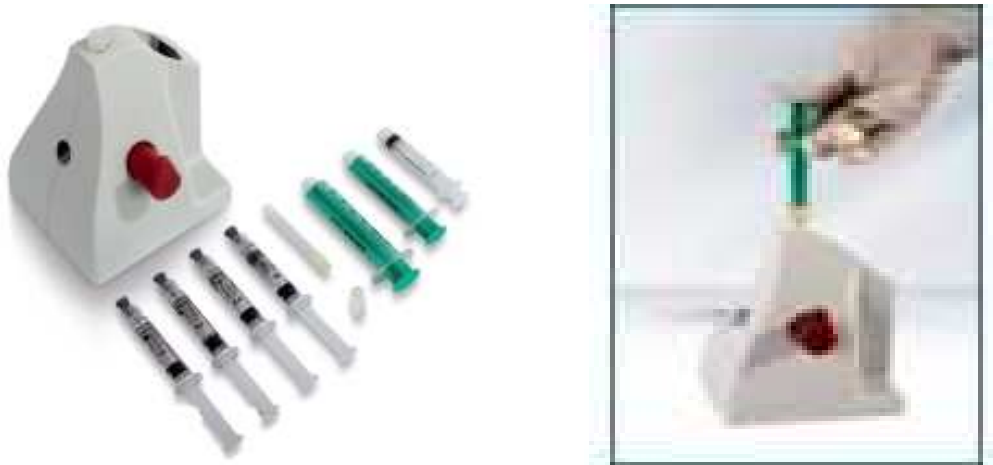
Figure 14 : Résultat de l'activation du PRP par le chlorure de calcium, aboutissant à un gel prêt à l'emploi. [7]

Il s'agit d'une technique encourageante qui montre la volonté d'évoluer vers des protocoles de plus en plus simplifiés. La concentration des plaquettes est d'environ : 6×10^5 plaquettes/ μL . [7]

3.2.3 PROTOCOLE SANS CENTRIFUGATION

En 2006, Sumida et son équipe [183] décrivent un protocole de préparation du PRP sans centrifugation. Pour cela, ils ont testé 16 polymères hydrosolubles. De cette étude ressortent 3 polymères capables de séparer les plaquettes des autres éléments du sang.

La société Curasan commercialise depuis mi-2010 un procédé de récupération d'un concentré de médiateurs de thrombocytes (CMT), le système ATR® (Advanced Tissue Regeneration).



Figures 15 : kit ATR®-curasan

A partir de 8 ml de sang et sans centrifugeuse, le sang est mélangé à un anticoagulant et un agent de sédimentation. Il faut attendre entre 50 et 60 minutes pour récupérer 3,5ml du plasma surnageant riche en plaquettes. Celui-ci est transféré dans le système ATR® et y subit un processus de séparation, en ajoutant une solution tampon d'hydrogencarbonate de sodium.

Enfin, l'ajout d'une solution d'eau pour injection, déclenche la libération des facteurs de croissance, qu'il suffit de prélever avec une seringue qui sera montée latéralement au système. [46]

Il s'agit de protocoles alternatifs et peu d'études ont été faites à leur sujet.

3.3 DOMAINES D'APPLICATIONS

Tout comme les colles de fibrine, les publications au sujet du PRP sont nombreuses et concernent des domaines multiples et variés.

Même si les propositions au sujet de l'application des concentrés plaquettaires autologues ne datent pas d'hier, il n'en demeure pas moins que la thérapeutique PRP est une technologie en émergence. Les résultats sont parfois contradictoires et sans preuve scientifique réellement apportée, mais ils suscitent l'intérêt dans de nombreux domaines.

3.3.1 CHIRURGIE PARODONTALE ET IMPLANTAIRE

Depuis son introduction le PRP est utilisé dans de nombreuses procédures et notamment en mélange avec les matériaux de greffe osseuse. Mais les résultats concernant la régénération osseuse sont controversés. [188]

Utilisé seul, le concentré plaquettaire n'offre pas de réelles satisfactions. En revanche, en association avec des substituts osseux, dont il facilite la manipulation, [165] il semble apporter de bons résultats. En 2000, Kassolis et son équipe [101] rapportent des résultats encourageants sur l'association PRP/FDBA, au cours de procédures d'augmentation de sinus sur 14 cas.

Mais Froum et coll., [78] en 2002, ne constatent pas de potentiel inducteur significatif. Plus récemment, Badr et coll. [13], ont évalué les effets du PRP sur la cicatrisation de greffes, l'intégration implantaire mais aussi sur la cicatrisation des tissus mous. Ils n'ont pas observé de différence avec le groupe contrôle, qui n'a pas bénéficié de l'adjonction de PRP. De la même manière, dans une méta-analyse de 2010, Bae et coll. [14] concluent sur un non impact significatif de l'apport du PRP.

In vitro, le PRP aurait tendance à stimuler les cellules du ligament parodontale. Cependant, son utilisation dans l'optique de favoriser la régénération parodontale, doit être soumise à plus d'investigations. [89, 104]

3.3.2 CHIRURGIE ORTHOPEDIQUE

C'est sans doute dans ce domaine que l'utilisation du PRP fait le plus parler de lui, notamment dans le domaine sportif.

Beaucoup d'articles relatent les effets bénéfiques des injections de PRP dans l'épaule [68, 84, 143], le pied [17], les genoux [72, 79], les muscles [26, 164]...

C'est d'ailleurs la raison pour laquelle, de plus en plus de sportifs, qu'ils soient amateurs ou professionnels (Tiger Woods, Chris Canty, Cliff Lee...) ont recours à cette nouvelle thérapie. Par injection directe dans les zones blessées, le PRP par son caractère biocompatible et sa capacité à améliorer la cicatrisation, permettrait de diminuer le temps de convalescence voire même d'éviter le recours à la chirurgie. Gagnant du terrain, cette thérapie est contestée par le manque d'études réelles sur le sujet et pour avoir fait polémique en termes de dopage. [26, 75, 108, 158, 169, 181]

Une récente étude a été entreprise pour déterminer l'efficacité du PRP par rapport aux injections de corticostéroïdes chez des patients atteints d'épicondylite latérale chronique, avec un suivi de deux ans. Les deux groupes de travail ont été assignés au hasard : ou bien les patients ont reçu une injection de PRP ou bien une injection de corticoïdes.

Le groupe ayant reçu le PRP, a été traité avec plus de succès que le second groupe : à deux ans, le groupe « PRP » a permis de constater une amélioration significative en termes de douleur et de handicap. [84]

3.3.3 CHIRURGIE ESTHETIQUE ET PLASTIQUE

Dans ce domaine, le PRP est employé dans diverses procédures : l'abdominoplastie, les liftings de la face et du cou, les liposuccions, la chirurgie mammaire... Il permettrait de limiter les douleurs post opératoires, les saignements, et de diminuer le temps de récupération.

Une étude menée sur 20 patients par Man et coll. en 2001 [128], a permis de constater les avantages de l'utilisation des colles de fibrine autologues (Tissucol®) et des gels de plaquettes autologues (SmartPRP).

Une réduction des sensibilités post opératoires, une réduction des œdèmes, une amélioration de la guérison et une élimination du besoin de drains ont été rapportés.

En termes d'œdème, d'ecchymoses et de douleur, l'emploi du PRP au cours de blépharoplastie (chirurgie esthétique des paupières) ne semble pas atteindre les buts escomptés. [193]

Les plaies complexes post traumatiques avec exposition osseuse, sont relativement longues, douloureuses et difficiles à se fermer. Le PRP en association avec de l'acide hyaluronique semble être une approche encourageante : elle amène satisfaction du patient, une bonne guérison des plaies et semble améliorer la ré épithélialisation. [30, 31]

3.3.4 PRP ET OPHTALMOLOGIE

Une étude réalisée entre 1995 et 1996 sur 28 patients, avait pour but d'envisager une nouvelle stratégie thérapeutique concernant les déchirures maculaires. Deux types de concentrés plaquettaires ont été utilisés : à partir du sang total et à partir de la technique d'aphérèse. Sur ces 28 patients, un total de 19 a bénéficié des préparations, 18 d'entre eux ont eu une fermeture du trou maculaire, 14 ont retrouvé une acuité visuelle supérieure. [82]

Une autre évaluation des concentrés plaquettaires, sur la fermeture des trous maculaires, avec cette fois une comparaison entre un groupe témoin (57 yeux) et un groupe avec adjonction de concentré (53 yeux), a permis de constater une amélioration notable de la fermeture maculaire, dans le groupe avec concentré plaquettaire. Par contre, concernant l'acuité visuelle, la différence statistique n'est pas flagrante. [153]

En 2007, Alio et coll. [3] présentent les gains obtenus sur des ulcères cornéens chroniques : que ce soit par traitement chirurgical ou par simple application topique sous forme de collyre, le PRP, présent dans les deux cas, a apporté une guérison dans la plupart des cas, avec pour certains, une amélioration de la vision, une diminution de la douleur et du degré d'inflammation.

3.3.5 CHIRURGIE CARDIAQUE

Décrit en chirurgie cardiaque, l'utilisation de gel de plaquettes autologues permettrait d'améliorer les procédures d'hémostase, d'agir favorablement sur la cicatrisation et de diminuer les risques d'infection, dû à une activité antibactérienne du PRP. [24, 87, 192]

Dans ce type de procédure, PRP et PPP sont utilisés notamment pour la fermeture des sites d'incision, permettant une diminution des douleurs [70], et du taux d'infection [189].

Une étude rétrospective [105] sur 1446 interventions cardiothoraciques mais aussi sur la veine saphène, a permis de comparer 2 groupes, l'un ayant bénéficié d'une application topique de plasma pauvre et riche de plaquettes (system GPS®), l'autre de traitement standard. Cette étude possède l'avantage de n'avoir eu recours qu'à un seul protocole. L'application de PRP a eu un impact significatif sur les complications infectieuses post-opératoires.

Pourtant, plus tôt, Wajon et coll. [196] considéraient l'utilisation des concentrés plaquet-taires comme inefficace, voire même inutile.

3.3.6 AUTRES DOMAINES

Concernant l'usage des concentrés plaquet-taires, au vu de l'intérêt qu'ils suscitent, et malgré les aspects parfois controversés, d'autres applications et nouveaux domaines de recherches apparaissent.

Récemment, des études se sont penchées sur la possibilité du PRP à être incriminé dans la régénération des nerfs périphériques [203]. De nouvelles perspectives de traitement apparaissent également dans le cadre de patients sous biphosphonates [162], et du diabète [170].

Et aussi étonnant que cela puisse paraître, le PRP semble faciliter la transplantation de cheveux par stimulation des greffes de follicules capillaires et pourrait intervenir dans la prévention de l'alopecie. [21]

3.4 CARACTERISTIQUES

3.4.1 UNE BASE DE COLLE DE FIBRINE

La valeur biologique des colles de fibrine réside dans leur faculté à imiter la dernière étape de la coagulation contribuant ainsi au processus de l'hémostase et à la cicatrisation. [178]

Rappelons-le, elles amplifient artificiellement le processus de polymérisation naturel de la fibrine au cours de l'hémostase, par le mélange de ses principes actifs dont les principaux sont:

- Le fibrinogène
- La thrombine
- Le chlorure de calcium

Essentiellement, c'est la concentration en fibrinogène qui détermine la résistance mécanique du caillot. Or cette caractéristique est variable en fonction de l'origine autologue ou non de la colle. La plus faible concentration en fibrinogène est retrouvée dans les produits autologues ; ce qui réduit la résistance du caillot de fibrine. [178]

La spécificité des concentrés plaquettaires, elle, est attribuable à leur origine autologue et à leur concentration en plaquettes. [178] Par ailleurs, le fibrinogène est présent dans le plasma sanguin mais également dans les granules α des plaquettes. [57]

Ce qui marque la principale différence entre colles et concentrés plaquettaires, est la présence même du fibrinogène et des plaquettes, en plus grande quantité dans ces derniers.

Hormis le fait que colles et concentrés plaquettaires imitent et reproduisent le processus de la coagulation, la présence d'anticoagulant inhibant la polymérisation du réseau de fibrine et l'ajout de thrombine ou de tout autre activateur, procurent à ces deux composés une sorte de lien de parenté: leur mode de prise presque instantanée. [57]

3.4.2 UN MANQUE DE STANDARDISATION DES PROTOCOLES

Vu précédemment, les applications concernant les concentrés plaquettaires ne font pas l'unanimité, même si la balance penche plutôt en leurs faveurs. Dans la plupart des cas, une accélération de la cicatrisation est constatée. Cependant, si certains auteurs n'en apprécient pas les effets escomptés, c'est que pour l'heure, outre le défaut d'études, beaucoup de paramètres ne sont pas pris en considération et peuvent nuire à la qualité des préparations.

En 2010, Nagata et coll. [146] ont comparé, chez le lapin, la quantité et la qualité du PRP relative à la technique de centrifugation : soit unique ou double.

Les tubes du premier groupe (groupe I) sont soumis à une centrifugation unique : 160g pendant 6 minutes. Le second groupe (groupe II) étudié correspond à la technique de double centrifugation :

- La première : 160g pendant 20minutes
- La seconde : 400g pendant 15minutes

Concernant la technique de double centrifugation, elle permet une plus grande concentration en plaquette. Cependant, ce protocole altère la morphologie des plaquettes, notamment par une activation prématurée, ce qui a un impact direct sur la libération des facteurs de croissance espérée.

Tamimi et al. en 2007 [185] étaient déjà arrivés à cette même conclusion.

Ces études soulèvent le problème de la standardisation des protocoles. En effet, malgré le concept commun des différentes méthodes, il est facile de constater la divergence de certains paramètres, agissant directement sur les qualités intrinsèques des PRP.

La particularité inhérente aux PRP est bien liée à la présence des plaquettes et des facteurs de croissance, qui constituent un réel atout pour la cicatrisation. Or, plus la concentration en plaquette est élevée plus la propension à libérer les facteurs de croissance sera importante. Mais leurs effets biologiques peuvent être influencés si les plaquettes sont altérées ou bien activées trop rapidement. [167]

Selon Froum (2002) [78] le concentré plaquettaire dépend de trois paramètres :

- le nombre total de plaquettes de l'échantillon de départ,
- le taux de récupération en fonction du système employé,
- du volume final dans lequel les plaquettes sont concentrées.

Anitua (2006) [7] suggère qu'il faille prendre également en compte :

- le type d'activation finale (thrombine ou chlorure de calcium)
- la quantité de leucocytes
- le temps d'établissement de la matrice de fibrine

La centrifugation peut compromettre la qualité des plaquettes et donc l'ensemble des facteurs qu'elles contiennent. Le nombre de centrifugation, leur durée, la force centrifuge sont autant de paramètres qu'il est nécessaire d'évaluer.

De surcroît, l'activation des plaquettes, déjà entamée par la centrifugation, doit être réduite au minimum au cours des manœuvres, notamment le pipetage. [71, 146]

Au total près d'une dizaine de paramètres différents en fonction des protocoles :

- la quantité de sang prélevé
- la capacité à libérer les facteurs de croissance
- le type d'anticoagulant
- le mode d'activation des plaquettes
- le mode de centrifugation
- le volume final récupéré
- les centrifugeuses : fonction des fabricants
- la durée totale de la procédure
- la concentration des plaquettes
- la procédure de récupération

Au vu du nombre de variables et de paramètres interférant avec la cicatrisation, certains auteurs comme Weibrich (2002) [201] ont suggéré qu'en fonction des individus et des circonstances, la concentration en plaquettes devait être modulable.

C'est certainement la raison pour laquelle il n'y a pas vraiment de consensus sur la quantité de plaquettes nécessaires et l'absence de standardisation des protocoles.

Quoiqu'il en soit, des études supplémentaires sont nécessaires pour améliorer la reproductibilité des résultats. [165]

3.4.3 UNE UTILISATION COMPROMISE EN FRANCE

Pour libérer leurs granules, les plaquettes doivent être activées. Cette activation est provoquée par différents stimuli ou substances comme :

- La présence de thrombine
- Le chlorure de calcium
- Adénosine diphosphate [184]

Le protocole de fabrication du PRP inclus quelques manipulations chimiques du sang, parmi lesquelles l'utilisation de thrombine, qui a posé quelques problèmes.

Actuellement, les protocoles tendent vers l'utilisation de thrombine autologue ou bien des dérivés (ex : la bathroxobine proposée par Plateltex) pour éviter les problèmes d'antigénécité.

Par ailleurs, l'ensemble des protocoles pour élaborer le PRP nécessitent l'emploi d'un anti-coagulant.

Or, la législation française interdit toute manipulation chimique du sang, en dehors des établissements spécialisés. C'est la raison pour laquelle, face à des dispositions réglementaires strictes, ces concentrés ne peuvent être utilisés en pratique courante en France.

L'essentiel...

- Comme le décrit Marx : le PRP est un volume de plasma autologue capable de concentrer les plaquettes au dessus de la normale
- Riche en facteurs de croissance, ces concentrés plaquettaires sont un véritable atout en termes de cicatrisation
- Le PRP est une préparation autologue éliminant ainsi les risques de transmission de pathologies ou de réaction d'allo immunisation.

Mais :

- L'engouement naissant a vite laissé la place à une « jungle » de protocoles
- Les résultats ne font pas l'unanimité, sans doute dû à un défaut de standardisation des protocoles
- Des études supplémentaires sont nécessaires pour améliorer la reproductibilité des résultats
- La manipulation du sang en limite l'utilisation en France

Les efforts auraient pu rester vains, mais c'était sans compter sur le développement d'une technique simplifiée, permettant de profiter des vertus des plaquettes tout en respectant la législation française : le PRF ou « platelet rich fibrin »...

4. EVOLUTION VERS DE NOUVELLES TECHNIQUES : LE PRF

Les vertus du PRP concernant la cicatrisation des tissus durs et des tissus mous, lui ont valu d'être utilisé dans de nombreux domaines. Cependant son utilisation en pratique clinique n'est guère possible et la législation française interdit la manipulation des produits sanguins ailleurs qu'en milieu spécifique.

C'est pourquoi, en 2001, *Dr Choukroun* a mis au point ce qu'il nomme « une seconde génération de concentré plaquettaire » : le PRF pour « Platelet rich fibrin ». [184] Cette dénomination évite les confusions avec d'autres techniques comme « Vivostat Platelet rich Fibrin » ou « PRFMatrix de Fibrinet ». Actuellement, il est dénommé également « L-PRF » (leucocyte and platelet rich fibrin). [61]

4.1 SES CARACTERISTIQUES

Le PRF possède différents avantages par rapport au PRP, à savoir :

- Une préparation au coût plus abordable
- Un protocole simplifié : une seule centrifugation, facile à mettre en œuvre dans un cabinet
- Une origine purement autologue
- Aucune manipulation chimique du sang
- Pas d'anticoagulant
- Cette technique permet d'obtenir l'intégralité des plaquettes
- Peu de quantité de sang nécessaire (10ml) [176]

Etant donné l'absence d'anticoagulant, les plaquettes sont activées en l'espace de quelques minutes [188], la cascade de coagulation commence ainsi au sein même du tube. Le caillot de fibrine se forme et peut être collecté.

4.2 PROTOCOLE CLINIQUE

L'idée est simple. En effet, un prélèvement de sang de 10ml suffit, puis le tube est centrifugé à 2700 tours/minute pendant 12 minutes. Un caillot de fibrine riche en plaquettes mais aussi en leucocytes est obtenu.

A l'issue de la centrifugation, on observe 3 phases à savoir :



Figure 16 : tube après centrifugation permettant de distinguer les trois phases. [59]

- Une phase de plasma acellulaire
- Un caillot de fibrine au milieu
- Un culot d'hématies au fond du tube

4.2.1 BILAN ET ANAMNESE

Comme c'est le cas de toute prise en charge, le patient devra subir un interrogatoire médical recensant son passé médical, son état de santé général, ses traitements en cours...

Un examen clinique consciencieux secondé par la radiographie, permettra de mettre en place un plan de traitement global.

Concernant le PRF, et comme avant toute intervention chirurgicale, le patient devra être tenu informé des modalités de l'intervention, des éventuels risques encourus et des bénéfices apportés.

Un bilan pré opératoire est nécessaire et s'avère utile. Il consiste en un bilan sanguin (NFS/plaquettes/VS), l'évaluation de la tension artérielle et d'un bilan biologique (glycémie, hypercholestérolémie, lipides).

Ainsi, un consentement éclairé est nécessaire.

4.2.2 PRELEVEMENT SANGUIN

Depuis peu, le chirurgien dentiste est habilité au prélèvement sanguin, sous réserve d'y avoir été formé et de pouvoir justifier de sa capacité. [49]

Le lieu de la ponction veineuse se fait au niveau des veines du pli du coude : elles y sont de gros calibres et assurent un débit de sang suffisant. La zone est reconnue par sa forme en M. Préférentiellement, le prélèvement se fait au niveau de la veine céphalique, ou éventuellement la veine basilique.

Après avoir choisit la veine, un garrot est serré à distance du point de prélèvement. On procède à l'antisepsie de la zone choisie.

Il faut tendre la peau sans écraser la veine. L'introduction de l'aiguille doit se faire dans l'axe de la veine, avec une angulation d'environ 30 degrés. Le papillon est fixé.

Le remplissage des tubes se fera par un mécanisme d'aspiration, dès lors que le tube sera correctement positionné dans le porte tube.

Une fois la quantité de sang désirée prélevée, le garrot est desserré, l'aiguille est retirée, le point de prélèvement comprimé. [53, 98]

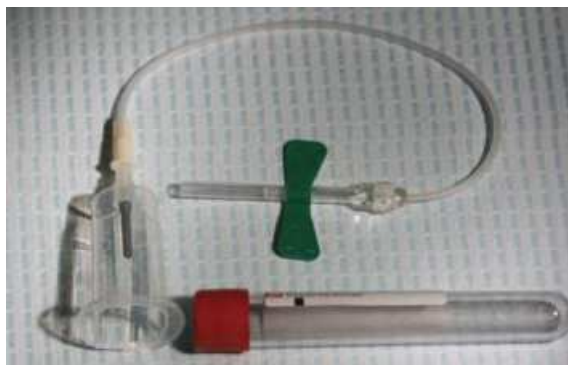


Figure 17: kit nécessaire pour le prélèvement sanguin [188]



Figure 18: prélèvement sanguin [1]

Au cours de la formation PRF, Choukroun préconise de laisser le garrot en place pendant le prélèvement de manière à ce que l'écoulement sanguin soit le plus rapide possible : ceci évite que le processus de coagulation ne se déclenche trop rapidement et la perte des propriétés des plaquettes.

Les tubes destinés à recevoir le sang sont en plastique avec des particules de silice, nécessaire au démarrage du processus de polymérisation. [59]

4.2.3 CENTRIFUGATION

La centrifugation est une méthode permettant la séparation de particules de densité différente, sous l'action de la force centrifuge.



Figures 19 : centrifugeuse Process (PC-02, Process, Nice)

La centrifugeuse à une capacité de 8 tubes. Ils devront être placés en respectant une position précise pour ne pas créer de déséquilibre, à savoir positionné par paire. S'il s'avère que l'on dispose de tubes en nombre impair, il convient alors de remplir un tube d'eau. [1]

4.2.4 PRELEVEMENT DU PRF

La manipulation du PRF débute immédiatement après la centrifugation. Le concentré est extrait à l'aide d'une précelle stérile (Voir figure 20) et est débarrassé, au moyen d'une paire de ciseaux stériles, de son caillot de globules rouges. Il suffit de « peller » le globule rouge pour le désolidariser.

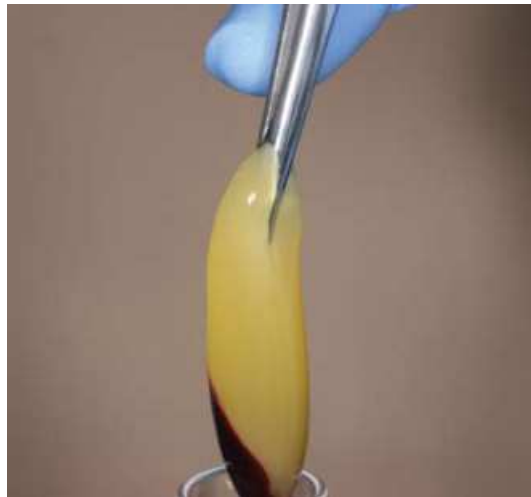


Figure 20 : prélèvement du caillot de PRF, d'après [188]

En fonction de l'indication clinique, la préparation pourra être soit utilisée telle quelle, soit en membrane ou soit découpée en petits morceaux, destinés à être mélangés avec des matériaux de comblement osseux. [138]

4.3 SES INDICATIONS ET DOMAINES D'APPLICATIONS

4.3.1 LE PRF EN MEMBRANE OU EN CAILLOT

La particularité de la technique est que l'on peut ou bien utiliser le caillot de fibrine tel quel, ou bien sous forme de membrane.

Initialement, la membrane était obtenue après compression du caillot entre deux compresses stériles. Actuellement, la PRF box® (voir figure 21) permet de produire des membranes d'épaisseur constante et de récupérer l'exsudat de sérum produit par le caillot, au fond de la boîte. Cet exsudat, riche en vitronectine et fibronectine [55] peut :

- Etre utilisé pour hydrater les matériaux de greffe ou des éponges de collagène
- Rincer le site opératoire
- Servir de lit temporaire pour les greffes autologues



Figure 21 : PRF Box® [188]

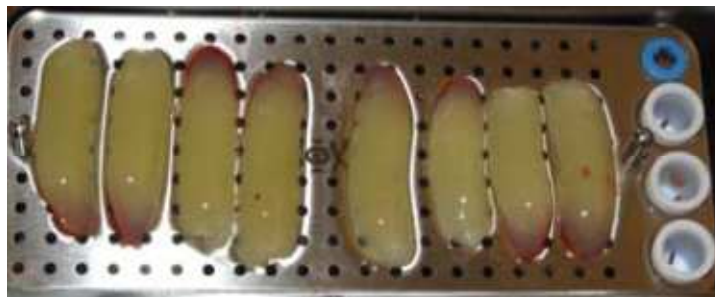


Figure 22 : mise en place des caillots de fibrine dans la PRF Box® [48]



Figure 23 : obtention des membranes après compression [48]

La membrane ainsi obtenue se manipule et se plaque sur le site chirurgical aisément. [138]

Utilisé sous forme de membrane, le PRF permet de protéger les sites opératoires des agressions extérieures, par exemple la protection d'un fond de sinus ou bien par-dessus un matériau de comblement avant fermeture de site.

Le PRF peut également être transformé en « carotte » ou « plug » avec la PRF box®. Sous cette forme, le PRF permet de combler les sites d'extraction ou de faciliter les procédures d'élévation du plancher sinusien. [188]



Figure 24 : Plug de PRF: à gauche le piston permettant d'obtenir le plug ; à droite, le résultat après compression [188]

Sous forme de caillot fragmenté, le PRF sert généralement de liant notamment avec de l'os allogène ou encore mélangé avec des prélèvements osseux. [35, 40] D'ailleurs Dr Choukroun et son équipe ont développé une cupule et un ciseau s'adaptant parfaitement pour faciliter la découpe de la fibrine.

4.3.2 INDICATIONS EN CHIRURGIE ORALE

- a. En complément de matériaux de substitution osseux ou mélangé avec une greffe autogène*

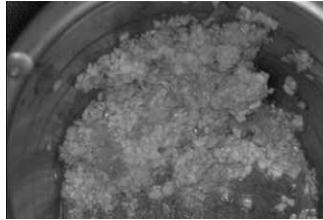


Figure 25: PRF® associé au BioOss® [99]

- Comblement de sinus
- Soulevé du plancher sinusien
- Greffe d'apposition
- Dans le cas de fenestration
- Comblement de déficit osseux post extractionnel
- Comblement post extractionnel pour la préservation du volume osseux avant la pose d'implant
- Distraction osseuse

- b. Utilisé seul sous forme de membrane*



Figure 26: membrane de PRF®

- En protection lors de la perforation de la membrane de Schneider
- En fermeture des sites d'accès au sinus
- En membrane pour régénération osseuse guidée et régénération tissulaire guidée
- Pour la gestion des tissus mous [1]

4.3.3 AUTRES DOMAINES D'APPLICATION

Les différents champs d'application demeurent encore à développer. Mais de nombreuses perspectives extra-orales pourraient être envisagées, notamment en chirurgie plastique. Cependant, seulement un volume limité de PRF est disponible et peut être utilisé en raison du caractère autologue du biomatériau. [39] Ceci limite son utilisation en chirurgie générale et peut expliquer sa plus grande étendue dans le domaine odontologique.

Il est possible de trouver cependant quelques publications concernant les applications cliniques du PRF, qui pour l'heure, sont encore au stade de l'extrapolation théorique et de l'empirisme.

En chirurgie maxillo faciale, les parotidectomies laissent une zone rétromandibulaire vide, proportionnelle à la dimension de la résection de la glande. Pour la reconstruction après chirurgie, de nombreuses techniques ont été proposées, dont celle de l'apport du PRF, qui semble encourageante.

D'une part, sa résorption lente assure un intérêt essentiel pour l'esthétique, d'autre part, ses qualités intrinsèques améliorent la cicatrisation, la revascularisation et la reprise post-opératoire du nerf facial. [34]

L'apport des membranes de PRF pourrait être profitable après une tympanoplastie et au cours des procédures de liposculpture. En effet, le PRF induit une stimulation de la prolifération in vitro des kératinocytes et des préadipocytes.

Entre 2005 et 2006, une trentaine de patients ont bénéficié de greffes adipocytaires, selon la technique de lipostructure faciale de Coleman, avec association de PRF. Le caillot de fibrine obtenu est découpé en petits fragments et imbibé de tissu graisseux (récupéré au cours du processus de purification du tissu adipeux).

Le dépôt du mélange se fait avant mise en place des greffons adipeux, dans le but de préparer le terrain receveur. Le suivi à un an a permis de constater des suites post opératoires moins prolongées et une meilleure stabilité du greffon. [27, 37]

4.4 LEGISLATION

Quelques années plus tôt, la législation française interdisait l'utilisation de concentrés plaquettaires en clinique ou en cabinet, et de manière générale toute manipulation chimique du sang. Ainsi la loi bioéthique du 8 juin 2004 et l'accord conclu entre le ministère et le SNPI (syndicat National des Paro-implantologistes) a permis d'ouvrir une porte quant à l'utilisation du PRF en cabinet de ville. [54, 138]

La loi bioéthique votée le 8 juin 2004, puis publiée le 7 août 2004 au Journal Officiel, vient compléter la notion de prélèvement autologue en l'autorisant en cabinet libéral.

Les articles 1242-1 et 1243-6 précisent :

« La possibilité de prélever et d'administrer des tissus et cellules dans les cabinets libéraux médicaux et dentaires »

Et l'article 1245-2 :

« Les tissus, les cellules et les produits du corps humain, prélevés à l'occasion d'une intervention médicale pratiquée dans l'intérêt de la personne opérée, peuvent être utilisés à des fins thérapeutiques ou scientifiques, sauf opposition exprimée par elle après qu'elle ait été informée des finalités de cette utilisation. » [163]

Selon le guide de prévention des infections liées aux soins réalisés en chirurgie dentaire et stomatologie de juillet 2006, le « Platelet Rich Fibrin » est considéré comme produit d'origine humaine à visée thérapeutique. [51]

Désormais, l'usage du PRF est autorisé sous réserve de respecter les règles de bonne pratique et de se référer aux obligations déontologiques. [54]

Conditions médico-légales à l'usage du PRF

- Formation au prélèvement sanguin ou au cas échéant, celui-ci devra être réalisé par un personnel qualifié et autorisé
- Formation à la préparation extemporanée et à l'utilisation du PRF [49]
- Consentement éclairé du patient
- La centrifugeuse doit être agréée CE c'est-à-dire être aux normes européennes
- Le matériel et les produits doivent être soumis à traçabilité [138]

4.5 ENGOUEMENT ACTUEL

4.5.1 SES INTERETS

Quatre aspects du PRF amènent à le considérer comme un adjuvant chirurgical intéressant :

- *Son aspect mécanique* : d'une part protection des sites opérés, d'autre part, cohésion entre les fragments osseux
- *Son aspect cellulaire* : inhérent au réseau de fibrine, lui offrant l'opportunité d'interagir avec de multiples cellules
- *Son aspect biochimique* : dû à l'architecture du réseau de fibrine
- *Son aspect immunitaire* : lié à la présence de leucocytes et de cytokines dans le caillot, permettant de réguler les phénomènes infectieux et inflammatoires [138]

4.5.2 SES PROPRIETES

- Accélération de la cicatrisation osseuse et de l'ostéointégration en implantologie
- Accélération de l'angiogenèse
- Accélération de la cicatrisation gingivale
- Permet le piégeage de cellules et leur migration [175]
- Protection et stabilisation par le biais de la membrane de PRF d'un greffon osseux
- Permet d'éviter la chirurgie mucogingivale de recouvrement
- Rôle de liant pour les particules osseuses [176]

4.5.3 CRITIQUES

De nombreux articles font part de l'intérêt que procure le PRF® en termes de cicatrisation et souvent les cas cliniques exposés sont une réussite.

Cependant, la SFPIO en 2008 [148] émet sa position sur le PRF et conclut :

« L'absence totale de publications cliniques objectives et donc de preuves scientifiques avérées, conjuguée à la faiblesse méthodologique des rares études fondamentales suggèrent que de nouvelles études parfaitement structurées sont absolument nécessaires pour pouvoir justifier l'utilisation pratique d'un tel protocole. Sans présager de la qualité potentielle des concentrés plaquettaires mais dans la limite des informations actuellement disponibles et dans un souci d'objectivité et d'information, la Société Française de Parodontologie et d'Implantologie Orale ne peut, pour le moment, recommander l'utilisation du PRF. »

Et pour cause, la plupart des articles et des constatations émises sont faites par la même équipe de chercheurs. De surcroît, le PRF® étant une marque déposée [38], les chercheurs disposent du monopole PRF® et d'un droit de regard sur les différentes études menées. [4, 59]

L'autorisation du prélèvement sanguin en cabinet dentaire dépend de la participation à la formation PRF, dirigée par Dr Choukroun lui-même. **[Formation PRF]**

Par ailleurs, le matériel nécessaire à la fabrication du PRF a été bien étudié pour éviter la concurrence, citons pour exemple la PRF box® qui possède un poids précis pour obtenir des membranes d'épaisseur constante, ou bien la cupule et la paire de ciseaux adaptées à la découpe des fragments de PRF.

Au cours de la formation, la plupart des biomatériaux utilisés pour exposer les cas cliniques, proviennent également de la société qui commercialise les produits PRF® (exemple de la membrane de collagène Jason®). Et si les résultats obtenus ne sont pas en accord avec ce qu'ils devraient être, c'est dû au non respect du protocole PRF.

S'il est légitime de défendre son produit et d'en exposer les bienfaits, il est clair que si le seul inventeur possède le monopole du produit, la crédibilité en termes d'efficacité et de qualité biologique semble réduite à une seule démarche marketing.

C'est ainsi que pour mieux comprendre les propriétés du PRF et de déterminer si oui ou non il s'agit d'un biomatériau prometteur, il est nécessaire de connaître les bases fondamentales biochimiques et les mécanismes cellulaires qui lui sont associés.

L'essentiel...

- Cela fait 10 ans que la technique PRF® est née
- Le protocole est simple, issu d'une unique centrifugation et sans manipulation chimique du sang

Le point fort :

- L'engouement naissant pour cette méthode semble y être pour quelque chose concernant l'autorisation des chirurgiens dentistes au prélèvement sanguin

Mais :

- Il existe une lacune en termes d'étude
- Les mécanismes de la cicatrisation ne sont pas entièrement décryptés

Le mode de fonctionnement de ce caillot de fibrine reste à élucider...

Partie II
QUELQUES NOTIONS DE CICATRISATION

[29, 112, 124, 141, 171]

La cicatrisation est définie macroscopiquement comme la guérison d'une plaie. C'est un processus biologique complexe qui fait intervenir un grand nombre d'intervenants et de mécanismes cellulaires, depuis l'arrivée de cellules sur le site lésé, jusque la formation d'une matrice extracellulaire spécifique du tissu lésé, le but ultime étant la réparation du tissu mais aussi la lutte contre l'infection. [42]

Que ce soit à partir de procédures chirurgicales ou à partir d'une blessure, les vaisseaux qui ont été lésés provoquent une extravasation, une agrégation des plaquettes et la formation d'un caillot de fibrine. [188]

Il s'agit d'un processus dynamique, faisant appel à des mécanismes complexes, orchestré par de multiples intervenants, dont les plaquettes.

1. ROLE APODICTIQUE DES PLAQUETTES AU COURS DE LA CICATRISATION

1.1 RAPPELS SUR LA PHYSIOLOGIE PLAQUETTAIRE

Les plaquettes ou thrombocytes sont des dérivés des mégacaryocytes, issues de la moelle osseuse. De forme discoïde, ce sont des structures anucléées dont la durée de vie varie de 7 à 10 jours. Sauf pathologie, le taux de plaquettes se situe entre 150 000 à 400 000/mm³.

La membrane plaquettaire est une bicouche phospholipidique dans laquelle sont implantés de nombreux récepteurs, dont le plus important est celui de la thrombine, et, des glycoprotéines (GPIIb, IIIa, Ib).

Ayant de nombreuses invaginations, la structure même de la membrane est propice à une communication rapide entre le milieu extra plaquettaire et le milieu intra plaquettaire.

En plus d'une structure membranaire particulière, le cytoplasme plaquettaire est relativement riche : il contient de nombreux organites comme des mitochondries, des microtubules, des micro-filaments d'actine et de myosine qui permettent à la plaquette de changer de morphologie au cours des différents processus.

De surcroît, les plaquettes renferment trois types de granules qui sont libérées au moment de l'activation plaquettaire. Par plaquettes, ils sont au nombre de 50 à 80 et chacun contient près de 30 protéines agissant au cœur de l'hémostase et de la cicatrisation. [44, 71, 168]

Parmi elles :

- Les granules α riches en protéines (facteur 4 plaquettaire, β -thromboglobuline, fibronectine, thrombospondine, fibrinogène, facteur von Willebrand, facteurs de croissance, inhibiteurs de la fibrinolyse, immunoglobulines...).
- Les granules denses contiennent de l'ADP, du calcium et de la sérotonine.
- Les granules au contenu enzymatique (phosphatase, lysosomes)

[55, 69, 80, 168]

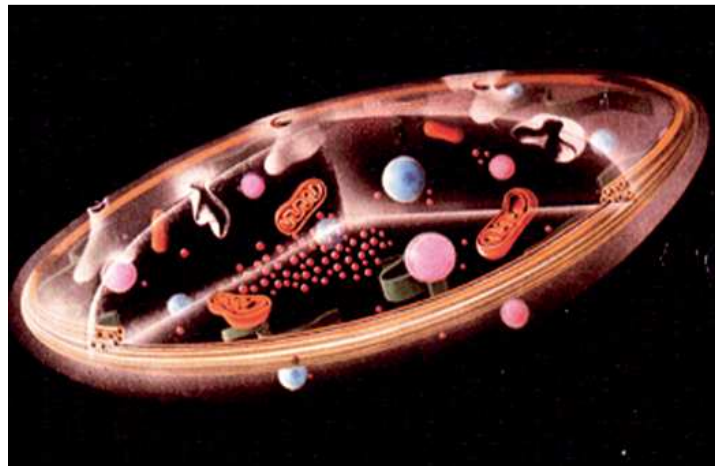


Figure 27 : représentation d'une plaquette normale.

Le cytoplasme des plaquettes est particulièrement riche (granules sécrétoires, mitochondries). Elle possède un réseau dense des microtubules qui sous-tend la forme ellipsoïdale et une membrane avec de nombreuses glycoprotéines. [44]

La dégranulation permet l'apparition de médiateurs moléculaires au sein du foyer cicatriciel :

- L'apparition de médiateurs inflammatoires (IL-1, PAF-4) nécessaires au recrutement et à l'activation des leucocytes qui agissent au cœur de la phase de détersion inflammation.
- L'apparition des facteurs de croissance qui eux, interviennent dans la phase de prolifération cellulaire (PDGF, bFGF, TGF α et β , IGFs, PD-EGF, EGF, VEGF) attirant les fibroblastes et responsables de l'activation des polynucléaires et des macrophages. [106, 110]

1.2 A PROPOS DES CYTOKINES ET FACTEURS DE CROISSANCE

Il est à noter que les termes de cytokines et facteurs de croissance sont souvent utilisés indifféremment dans la littérature. En effet, ces deux médiateurs ne sont pas si dissemblables. Ils possèdent le même mode de fonctionnement, ils sont capables de moduler l'activité cellulaire et jouent un rôle important dans les mécanismes de la cicatrisation : tant par leur capacité à stimuler la prolifération et la colonisation cellulaire (en particulier PDGF) qu'à induire le remodelage du lit de fibrine et la sécrétion des premiers éléments d'une matrice cicatricielle (TGF β , en particulier). [55] D'ailleurs, certaines cytokines à large spectre ont été surnommées facteurs de croissance.

Leur mode de diffusion est autocrine c'est-à-dire liaisons aux récepteurs du type cellulaires qui les sécrètent, ou paracrine, par liaison à un récepteur d'un type cellulaire différent situé à proximité.

Pour résumer, les facteurs de croissance sont des protéines capables de transmettre des messages pro-prolifératifs ou pro-différenciant, de cellules en cellules, grâce à des récepteurs spécifiques. Ils régulent la migration, la prolifération, le chimiotactisme et la différenciation cellulaire. [55, 176]

1.2.1 Mécanisme d'action des facteurs de croissance

Après activation plaquettaire, en réponse à une agression et une exposition vasculaire, les granules α fusionnent avec la membrane plasmique plaquettaire. Des protéines bioactives sont sécrétées puis se lient à des récepteurs transmembranaires de cellules cibles (cellules souches mésenchymateuses, ostéoblastes, fibroblastes, cellules endothéliales, cellules épidermales). [71, 188]

Les plaquettes sécrètent activement leur protéine dans les dix minutes qui suivent la coagulation. Plus de 95% des facteurs de croissance sont libérés dans l'heure qui suit mais les plaquettes sont capables de synthétiser des protéines supplémentaires jusqu'à la fin de leur vie. [71, 133]

Une fois liées aux récepteurs spécifiques (tyrosine kinase ou sérine thréonine kinase), les protéines de signalisation cellulaires sont activées. Ceci mène à l'expression de gènes qui contrôlent la prolifération cellulaire, la synthèse de collagène, la formation de matrice, la production d'un tissu ostéoïde... [80]

Les cellules interprètent le message en modulant leur activité mitotique ou bien métabolique. A leur tour elles seront capables d'émettre des facteurs de croissance ou en se différenciant. [112]

D'ailleurs, lorsque l'effet plaquettaire s'estompe, les macrophages prennent le relais et sécrètent à leur tour, leurs propres facteurs. [71]

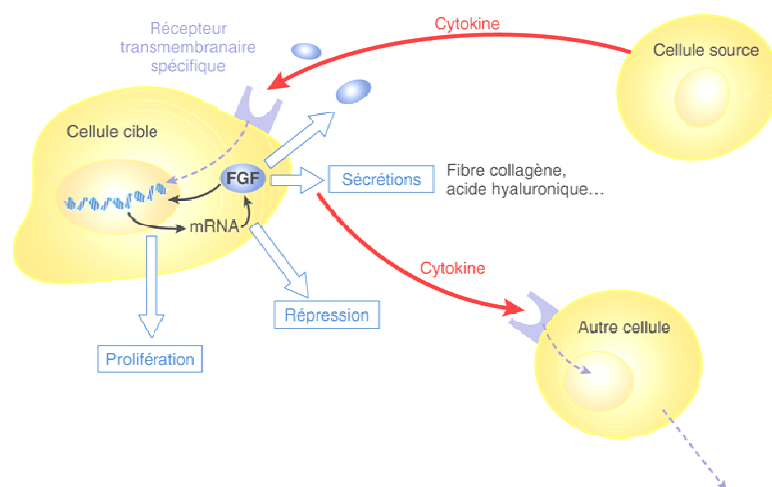


Figure 28 : mode d'action d'une cytokine [112]

Il existe un grand nombre de facteurs de croissance et de cytokines ayant un impact sur la cicatrisation. Cependant, penchons nous sur ceux libérés par les plaquettes, puisqu'ils sont censés composer les concentrés plaquettaires autologues.

1.2.2 Principaux médiateurs libérés par les plaquettes

Près d'une trentaine de facteurs sont contenus dans les granules α . [24] Il ne s'agit pas de tous les énumérer, mais de limiter la description à ceux qui interviennent vraisemblablement au cœur des concentrés plaquettaires autologues. Les principaux facteurs de croissance et cytokines relargués par les plaquettes activées sont:

- TGF β -1 “transforming growth factor β 1”
- PDGF « platelet derived growth factor »
- IGF “insulin-like growth factor”
- PD-ECGF « platelet-derived endothelial cell growth factor »
- EGF « epidermal growth factor »
- VEGF « vascular endothelial growth factor » [80, 106, 110, 138]

a. Platelet-derived growth factor (PDGF)

En 1974, Ross et al. décrivent pour la première fois un dérivé plaquettaire susceptible d'accélérer la prolifération des cellules musculaires lisses des artères chez le singe : le « platelet-derived growth factor ». [80, 121]

Ce dérivé appartient à la famille de cinq homo et hétérodimères (AA , AB, BB, CC, DD isomère) : les « disulfide bonded polypeptide». Codé par 4 gènes A, B, C, D, ils se lient à différents récepteurs membranaires de type tyrosine kinase.

Sources/origines :

- Majoritairement libéré par les plaquettes et stocké dans les granules α
- Cellules épithéliales et endothéliales
- Cellules musculaires lisses

Cellules cibles et actions:

- Chimiotactiques pour les macrophages et stimulation de la migration
- Activité mitogène pour les fibroblastes et stimulation de la sécrétion matricielle
- Stimulation de la prolifération des cellules endothéliales (favorise l'angiogenèse)
- Mitogènes pour les cellules souches et ostéoblastiques

[80, 112, 121, 127, 141]

b. Transforming growth factor β (TGF β)

Il existe trois isomères de TGF à savoir : TGF β 1, TGF β 2 et TGF β 3. Ils appartiennent à la superfamille de protéine incluant les « bone morphogenic protein ». Le récepteur TGF β est une sérine/thréonine kinase.

Tout au long du processus de cicatrisation, TGF reste disponible : certaines formes actives sont latentes et stockées dans la matrice et libérés par protéolyse. [141]

Sources :

- Principalement ce sont les plaquettes et la matrice osseuse qui représentent la plus grande source de TGF β . Ces deux secteurs synthétisent cent fois plus TGF β que les autres tissus. [110]
- Mais aussi : macrophages, chondrocytes et ostéoblastes

Cellules cibles et actions :

- Chimiotactique pour les macrophages, stimule la synthèse de FGF et PDGF
- Chimiotactisme, prolifération des chondrocytes, des ostéoblastes et des ostéoclastes, favorisant la synthèse matricielle
- Chimiotactique et mitogène pour les fibroblastes et stimulation de la synthèse matricielle (collagène, fibronectine, protéoglycanes), agent fibrosant
- Action sur l'angiogenèse

[55, 80, 121, 127, 138, 141]

c. Epidermal growth factor (EGF)

Décrit pour la première fois en 1962 par Cohen, ce polypeptide partage le même récepteur qu'une autre famille de facteurs de croissance, les TGF α . [110, 127]

Sources/origines :

- Les plaquettes
- Les cellules épithéliales
- Les macrophages

Cellules cibles et actions :

- Les cellules épithéliales possèdent le plus grand nombre de récepteurs à EGF. La liaison favorise l'activité chimiotactique et mitogène de ces dernières.
- Dans une moindre mesure, les autres cellules cibles sont les fibroblastes et les cellules endothéliales provoquant chimiotactisme et effet mitogénique. [29]

d. Insulin like growth factor (IGF)

IGF est un polypeptide ayant une large séquence identique à celle de l'insuline induisant le fait que son mode d'action est proche de l'insuline. Leur récepteur est de type tyrosine kinase.

Il existe deux isomères : IGF-I et IGF-II. Même s'il est moins abondant, IGF-I est beaucoup plus puissant que son homologue.

Sources/origines :

- Plaquettes
- Plasma

Cellules cibles et actions :

- Stimulation de la prolifération et de l'activité des ostéoblastes (synthèse de matrice osseuse dont le collagène de type I)
- Puissants mitogènes pour différents types de cellules lorsqu'ils agissent en synergie avec PDGF et EGF [110] et ils seraient impliqués dans la prolifération et le développement des cellules tumorales. [55]

e. Platelet-derived endothelial cell growth factor (PD-EGF)

Sources/origines :

- stocké dans les granules α des plaquettes

Cellules cibles et actions :

- cellules endothéliales, facteur essentiel de l'angiogenèse [110, 138]

f. Vascular endothelial growth factor (VEGF)

Il s'agit du facteur indispensable à l'angiogenèse capable d'induire la prolifération, la migration, et la spécialisation des cellules endothéliales.

Sources/origines :

- Plaquettes
- Cellules épithéliales
- Cellules endothéliales
- Macrophages
- Fibroblastes

Cellules cibles et actions :

- cellules endothéliales : stimulation de l'angiogenèse et de la néoangiogenèse [16, 29, 58, 111]

2. DEROULEMENT DE LA CICATRIATION TISSULAIRE

Classiquement, la cicatrisation est décrite selon trois ou quatre phases pour en simplifier la compréhension, mais elles sont toutes imbriquées les unes aux autres et plusieurs phases peuvent coexister simultanément au sein d'une même plaie. [171]

Les trois étapes sont :

- Une phase de détersion-inflammation et vasculaire, qui se met en place immédiatement après la blessure pour se poursuivre durant 3 à 4 jours. Etant donné que sans lésion d'un tissu, il n'y a pas lieu à cicatriser, l'hémostase est souvent décrite comme étant la première étape de la cicatrisation. Elle est concomitante avec la phase de détersion/inflammation.
- Une phase de prolifération d'une dizaine de jour, aboutissant à la formation du tissu de granulation
- Une phase de remodelage ou de maturation qui peut durer de quelques jours à plusieurs mois [141]

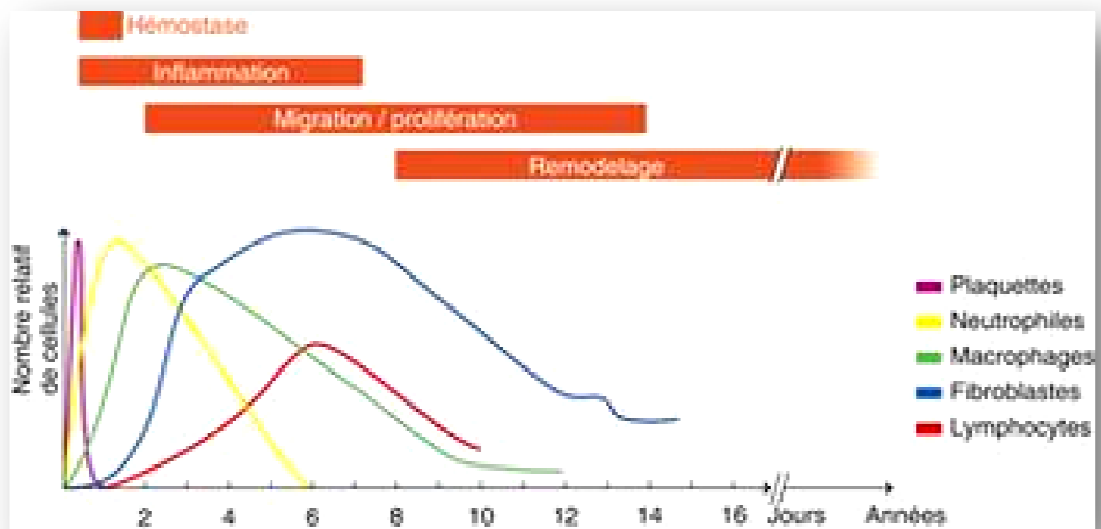


Figure 29 : recrutement cellulaire et dynamique temporelle du processus de cicatrisation, d'après [112]

2.1 L'HEMOSTASE

L'hémostase représente le phénomène de colmatage naturel permettant de rétablir la continuité vasculaire, en cas de brèche. Elle est sous la dépendance des plaquettes et de leur activation, nécessaires à l'apparition du caillot de fibrine, dont le rôle est d'une part de stopper le saignement et d'autre part de constituer une matrice provisoire pour la migration cellulaire. Elle peut être définie comme : « l'ensemble des mécanismes qui concourent à maintenir le sang à l'état fluide à l'intérieur des vaisseaux ». [168]

Plusieurs étapes composent l'hémostase :

- L'hémostase primaire :
 - Temps vasculaire
 - Temps plaquettaire
- L'hémostase secondaire ou coagulation
- La fibrinolyse du caillot

2.1.1 L'HEMOSTASE PRIMAIRE

Elle aboutit à l'arrêt du saignement.

a. Le temps vasculaire

Dès qu'une brèche vasculaire apparaît, une vasoconstriction locale se met en place de manière à réduire ou arrêter le saignement. La lumière vasculaire est diminuée, provoquant une réduction du flux vasculaire.

Ayant permis de modifier les conditions hémodynamiques, les cellules et autres médiateurs nécessaires au bon déroulement de l'hémostase, s'agglutinent au site lésé. [69]

b. Le temps plaquettaire

Cette étape de l'hémostase constitue en l'adhésion puis en l'agrégation des plaquettes. C'est au cours de cette phase que les plaquettes dégranulent et sont à même de libérer de nombreux médiateurs.

L'adhésion plaquettaire est indispensable au recrutement des autres plaquettes circulantes. Dès lors que la brèche vasculaire met à nu le sous endothélium, riche en microfibrilles de collagène, les plaquettes adhèrent par l'intermédiaire de glycoprotéines (GP Ib) et du facteur von Willebrand.

Les plaquettes qui ont adhéré, s'activent. L'activation induit d'une part, un changement de conformation des GP IIbIIIa, et d'autre part, la libération du contenu des plaquettes ; enzymes, calcium et granules.

Le recrutement d'autres plaquettes circulantes, associé à cette activation des plaquettes adhérentes provoque l'agrégation plaquettaire. Les GP (glycoprotéines) ayant changé de forme, sont alors capables de fixer le fibrinogène, en présence de calcium. C'est cette interaction GP/fibrinogène qui permet l'agrégation et qui donne naissance à un premier thrombus frêle.

Progressivement, grâce à la libération du contenu des plaquettes, ce premier thrombus va constituer le clou plaquettaire.

2.1.2 L'HEMOSTASE SECONDAIRE OU COAGULATION

Classiquement, on distingue deux voies d'activation de la coagulation :

- La voie extrinsèque ou exogène, initiée par la mise en contact du facteur tissulaire avec le sang.
- La voie intrinsèque ou endogène ou système contact, qui débute par la fixation du facteur XII au sous endothélium. Cette voie a la particularité de se déclencher au contact d'une surface chargée négativement, comme c'est le cas des phospholipides anioniques de la membrane des plaquettes ou bien du verre.

La voie intrinsèque est la seule empruntée in vitro. C'est ce qui explique la coagulation immédiate du sang au contact des tubes de prélèvement et notamment ce qui se passe pour obtenir le PRF.

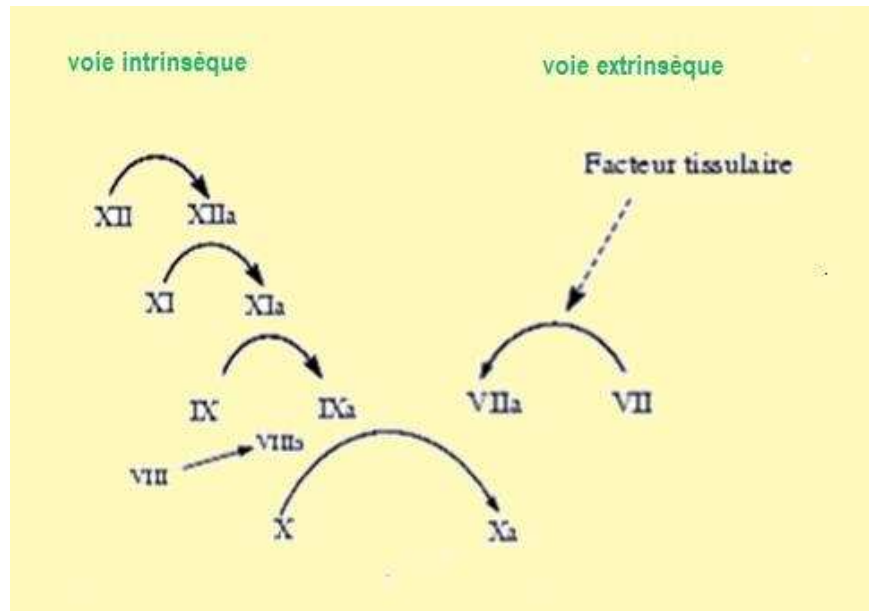


Figure 30 : voies d'activation de la coagulation

Quelle que soit la voie empruntée, le résultat est l'activation du facteur X, nécessaire à la génération de thrombine.

La thrombine est une formidable machinerie enzymatique capable de catalyser sa propre naissance en recrutant de nouvelles plaquettes et en agissant sur la génération de différents facteurs de la coagulation (FVIIIa, FVa et FXIa). De surcroît, elle est capable de catalyser 1000 fois son poids en fibrinogène, son substrat.

Une fois l'apparition de la thrombine, le processus de coagulation prend toute son ampleur et il se forme un véritable réseau de fibrine autour des globules rouges : la thrombine convertit la molécule de fibrinogène soluble en monomères de fibrine insoluble : c'est la fibri-noformation.

La thrombine agit également sur le facteur XIII, facteur stabilisant la fibrine, ayant un rôle majeur dans la stabilisation et la consolidation du caillot.

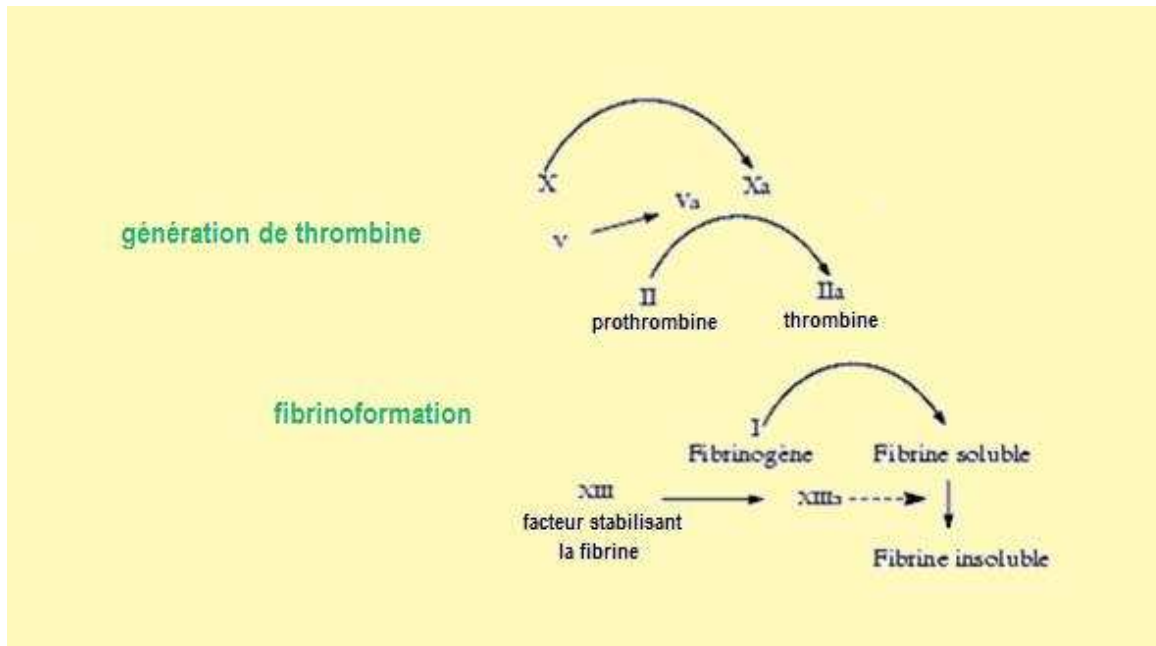


Figure 31 : génération de la thrombine et fibrinoformation

Le caillot de fibrine s'organise en matrice provisoire, servant à la migration des cellules. [124, 141, 171] Fibrine et fibronectine agissent comme une matrice provisoire dans laquelle, monocytes, fibroblastes et cellules endothéliales vont pouvoir migrer. Ces cellules dotées de récepteurs spécifiques (récepteur de l'intégrine) reconnaissent la fibrine, la fibronectine, la vitronectine et peuvent ainsi interagir avec le clou plaquettaire. [41]

2.1.3 LA FIBRINOLYSE DU CAILLOT

Dernier temps de l'hémostase, la fibrinolyse correspond à l'étape de destruction du réseau de fibrine, le but étant d'éviter l'extension du caillot. La dégradation du caillot de fibrine par la plasmine génère des produits de dégradation de la fibrine nommés PDF.

Cette étape est essentielle au cours de la cicatrisation car elle permet la prolifération des cellules et donc le remodelage tissulaire.

2.2 PHASE DE DETERSION INFLAMMATION

Il s'agit de la lutte, contre les éléments exogènes et les débris cellulaires, médiée par les neutrophiles, les premiers à être présents dans le site. Neutrophiles et monocytes sont non seulement attirés par les facteurs plaquettaires, mais également par les peptides bactériens, les fibrinopeptides -issus du clivage du fibrinogène par la thrombine- et les produits de dégradation de la fibrine. [41]

Tandis que les polynucléaires neutrophiles favorisent la pénétration de cellules dans la plaie grâce à leur libération d'enzymes protéolytiques, les monocytes infiltrent la plaie sous l'influence de TGF, adhèrent à la matrice extracellulaire et deviennent des macrophages.

L'intervention des macrophages induit également la libération des facteurs de croissance tels PDGF, VEGF, qui interviennent dans la prolifération cellulaire. Ils sécrètent aussi des cytokines inflammatoires comme TNF α , IGF1 et des interleukines, l'ensemble amplifiant la réponse inflammatoire et participant à la stimulation de la prolifération des fibroblastes, la production de collagène et la formation du tissu de granulation.

Les macrophages prédominent entre 48 et 72h après la formation de plaie. Puis, vers le 5^{ème} et le 7^{ème} jour, les fibroblastes deviennent le type cellulaire dominant, tandis que les cellules inflammatoires ne persistent que peu. [124, 171]

Les cellules mésenchymateuses migrent et commencent à se différencier en fonction du type de tissu lésé (tissu osseux, cartilagineux, tissu fibreux, vaisseaux sanguins et autres). Les fibroblastes quant à eux migrent et se chargent de produire la matrice extracellulaire. L'angiogénèse est initiée et un tissu de granulation apparaît, riche en fibroblastes, en cellules inflammatoires et en néo capillaires. [71, 97]

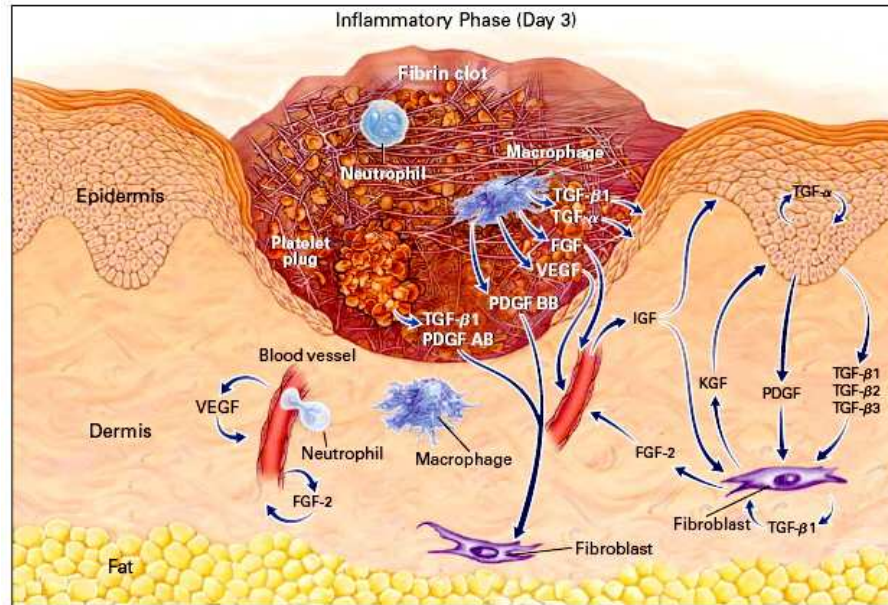


Figure 32 [177] : cicatrisation de la plaie à 3jours

2.3 PHASE DE PROLIFERATION

Cette phase de recolonisation est orchestrée par la succession des cascades de réaction régies par les facteurs de croissance. Les premières étapes ont conduit à la formation d'un tissu encore mal organisé, qui va subir les étapes de remodelage et de différenciation. Tout se déroule de manière centripète c'est-à-dire de l'extérieur vers l'intérieur.

La phase de prolifération comprend trois évènements:

- Une phase d'épithélialisation
- La formation du tissu de granulation
- La néo-vascularisation

2.3.1 PHASE D'EPITHELIALISATION

Elle donne lieu à la prolifération des cellules épidermiques, qui expriment des intégrines, réagissant avec les protéines de matrice extracellulaire (fibronectine, vibronectine).

Il s'agit d'une véritable étape de réorganisation de la matrice extracellulaire ; les cellules pour progresser et en progressant expriment des collagénases (des métalloprotéinases) qui dégradent collagène et autres protéines matricielles.

2.3.2 FORMATION D'UN TISSU DE GRANULATION

Le tissu de granulation envahit la plaie.

Il est composé de macrophages, de vaisseaux sanguins, de la matrice extracellulaire intermédiaire avec des molécules structurales (fibrine, fibronectine, d'acide hyaluronique), des fibroblastes qui se chargent de la synthèse de collagène pour le modelage de la matrice. Sous l'action de TGF β 1, la matrice est progressivement remplacée par une matrice définitive.

Cette phase dure entre 10 et 15 jours et est dépendante de la présence des cytokines. Elle correspond à la prolifération des fibroblastes, à l'angiogenèse et la synthèse de la matrice.

Elle comprend les phénomènes de migration, prolifération des cellules endothéliales et fibroblastiques ainsi que la synthèse de la nouvelle substance fondamentale et de la nouvelle matrice par les fibroblastes.

La prolifération des fibroblastes commence dès les 48 premières heures et dépend de la présence de cytokines produites par les plaquettes et les macrophages : IGF-1, EGF, TNF et PDGF-BB mais aussi par ceux émis par les fibroblastes eux-mêmes, par stimulation autocrine.

La formation du tissu de granulation se met en place grâce à la présence du réseau de fibrine lui-même, qui sert de trame à la migration des fibroblastes. Mais au fur et à mesure de l'avancée des fibroblastes, la matrice est remaniée. La dégradation de la fibrine est essentielle pour laisser la place aux fibroblastes qui peuvent alors apposer du collagène.

La prolifération cellulaire nécessite un système protéolytique actif. [41] Les constituants de la matrice sont attaqués par des protéinases : les métallo-protéines matricielles ou MMPs. [29]

D'ores et déjà on peut estimer l'importance de cette trame de fibrine mais aussi du rôle des plaquettes. Là encore, les facteurs de croissance interviennent dans les processus de régulation et de contrôle de la fibrinolyse. [97]

2.3.3 LA NEOVASCULARISATION

Elle est intense, indispensable à la survie du jeune tissu. La migration des cellules endothéliales s'effectue à partir des vaisseaux les plus proches. L'organisation de la matrice provisoire et sa richesse en acide hyaluronique rendent possible l'avancée des néocapillaires. L'hypoxie tissulaire favorise l'angiogénèse. Les cytokines les plus angiogéniques au cours de la cicatrisation sont FGF, TGFb, VEGF et l'angiopoiétine.

Hormis les facteurs de croissance et autres agents stimulateurs, la présence de la matrice est là encore essentielle pour l'angiogénèse : la fibrine elle-même a été reconnue pour induire l'angiogénèse directement. [41]

C'est au cours des trois étapes décrites ci-dessus que le tissu de granulation comble le foyer cicatriciel tout en repoussant le caillot de fibrine qui s'organise en croûte.

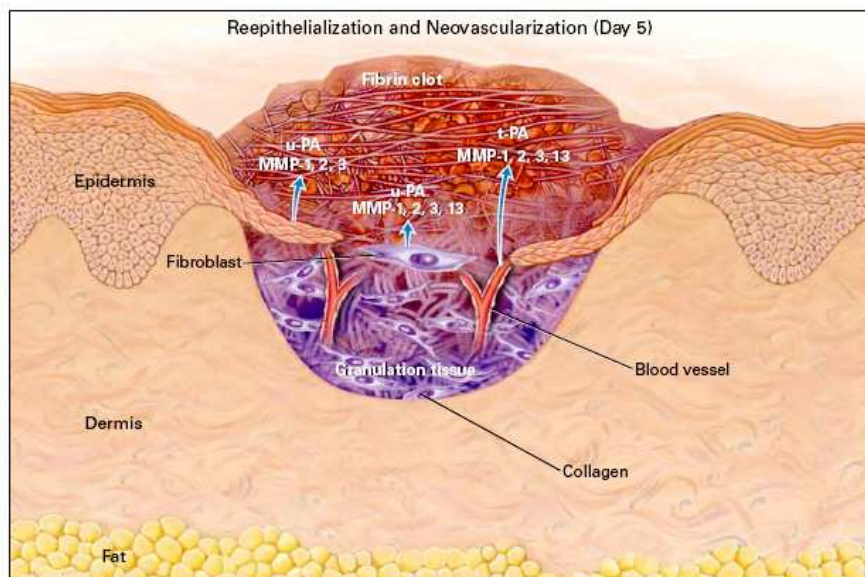


Figure 33: plaie à 5 jours [177]

Progression des fibroblastes et des néo vaisseaux, dans le réseau de fibrine, grâce au jeu des protéinases

2.4 PHASE DE REMODELAGE/MATURATION

Dernière et ultime étape de la cicatrisation, c'est elle qui détermine les aspects esthétiques, structuraux et fonctionnels du tissu cicatrisé. Elle est caractérisée par la contraction de la plaie sous l'action de TGF β 1 et TGF β 2.

Le remodelage est un équilibre précis entre synthèse et dégradation, contrôlé par les métalloprotéinases matricielles sécrétées par les macrophages, les cellules épidermiques, les cellules endothéliales et les fibroblastes.

Grossièrement, cette étape se charge de dégrader les fibres de collagène non orientées de manière fonctionnelle et de perfectionner les fibres ordonnées, jusque l'obtention d'un réseau stable et fonctionnel. Il peut durer jusqu'à 2 mois après la fermeture de la plaie.

Etapes	Phase de détersion inflammation	Phase de prolifération	Remodelage
Cellules	Plaquettes Macrophages, mastocytes Polymorphonucléaires Cellules endothéliales	Fibroblastes Macrophages Cellules endothéliales Cellules épithéliales	Fibroblastes Cellules endothéliales Cellules épithéliales, musculaires lisses
Facteurs principaux	PDGF, EGF, TGF α et β , IL-1 et 2, IFN, MCP-1, HB-EGF	FGF, VEGF, TGF- β , IGF, HGF	FGF, IGF, VEGF, TGF- β
Matrice	Fibrine, fibronectine	Fibrine, fibronectine, collagènes I et III, acide hyaluronique, GAG	collagènes I et III, acide hyaluronique, GAG

Tableau 4 : quelques intervenants caractéristiques de la cicatrisation, en fonction des différentes étapes, d'après [29]

3. PARTICULARITE DE LA CICATRISATION OSSEUSE

Le processus de cicatrisation osseuse reprend les mêmes grandes étapes que la cicatrisation tissulaire. Mais à la différence près que le tissu osseux est le siège de remaniements permanents et constants afin de répondre à trois grandes fonctions :

- Maintenir l'homéostasie phosphocalcique de l'organisme
- Adapter le squelette à son environnement pour éviter les risques de fractures
- Réparer par renouvellement cellulaire les dommages osseux [4, 111, 187]

3.1 LE REMODELAGE DU TISSU OSSEUX

Le remodelage suit comme chronologie : activation/ résorption/ inversion/ formation. Il dure de 3 à 6 mois.

Phase d'activation sous la dépendance des cellules bordantes

Les cellules bordantes ne sont autres que des ostéoblastes devenus inactifs. Malgré leur inactivité, elles participent aux communications entre cellules. Elles peuvent être une source de cellules ostéoblastiques de réserve capable de se transformer en cellules ostéogéniques. De surcroît, elles modulent l'activité des ostéoclastes.

Les cellules bordantes qui recouvrent une surface osseuse inactive s'activent et dégradent la couche collagénique sous-jacente exposant ainsi une zone attirant par chimiotactisme des préostéoclastes.

Phase de résorption sous la dépendance des ostéoclastes

Les ostéoclastes sont des cellules multi nucléées spécialisées dans la résorption osseuse. Les préostéoclastes fusionnent, deviennent des ostéoclastes actifs et adhèrent à la surface osseuse : il s'agit de la dégradation du minéral osseux et de la matrice organique.

Phase d'inversion sous la dépendance des cellules ostéoprogénitrices

Au fur et à mesure que les ostéoclastes pourchassent leur activité de résorption, ils laissent la place pour le recrutement de cellules ostéoprogénitrices nécessaires à la formation d'une nouvelle matrice qui se minéralise. (Voir figure 34)

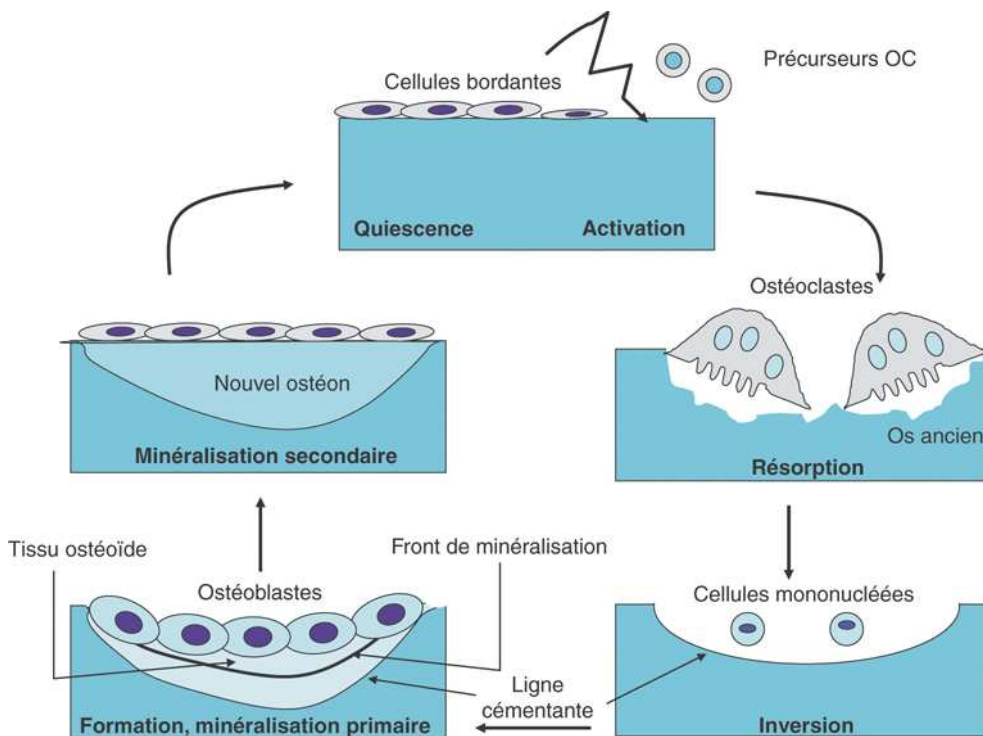


Figure 34 : étapes du remodelage osseux, d'après [187]

OC=préostéoclastes

Phase de formation sous la dépendance des ostéoblastes

Les ostéoblastes situés à la surface de l'os sont responsables de l'ostéogenèse en synthétisant la matrice extracellulaire (substance ostéoïde) puis en contrôlant la minéralisation de celle-ci. Ils sont capables de sécréter des cytokines, des facteurs de croissance (TGF β , PDGF, BMP2, 4 et 6) et sont remarquables grâce à l'activité de la phosphatase alcaline. Puis ils se différencient en cellules bordantes et en ostéocytes au fur et à mesure que la matrice est synthétisée et minéralisée.

Les ostéocytes, enfermés dans la matrice minérale osseuse, sont capables de communiquer entre eux par des canalicules nommés ostéoplastes pour la transmission de différents signaux. Ils ne sont plus capables ni de se diviser ni de toute activité de synthèse.

Les ostéoblastes recrutés viennent combler la lacune en apposant une nouvelle matrice organique, le tissu ostéoïde, qui sera minéralisé secondairement. [4, 111, 166, 179, 187]

3.2 ETAPES DE LA CICATRISATION OSSEUSE

Elle dépend de la capacité de migration et de prolifération des ostéoblastes. Ces derniers proviennent de cellules souches mésenchymateuses qui doivent migrer et se différencier sous l'influence de facteurs de croissance dont le plus important semble être la BMP « bone morphogenic protein ».

3.2.1 LES ACTEURS ESSENTIELS DE LA CICATRISATION OSSEUSE

3.2.1.1 Origines des cellules souches mésenchymateuses

La régénération osseuse ne peut se faire que lorsque des cellules souches forment les cellules progénitrices des ostéoblastes, chondroblastes ou chondroïdocytes.

Ces cellules souches ainsi que les cellules progénitrices ont été mises en évidence dans la moelle osseuse ainsi que dans le périoste. Ce dernier contient des ostéoblastes, des pré ostéoblastes et des cellules ostéoprogénitrices. [166]

Récemment, certaines études ont montré que la membrane de Schneider contenait des cellules ostéoprogénitrices et donc un potentiel ostéogénique. [180]

Les cellules souches mises en évidence dans la moelle osseuse ont montré une extraordinaire plasticité. De même, des cellules des tissus péri-osseux (cellules péri vasculaires ou péricytes), situées dans le dédoublement de la membrane basale qui entoure l'endothélium des capillaires, adipocytes ou cellules musculaires, ainsi que des cellules circulantes ont montré certaines capacités à se trans-différencier en ostéoblastes lorsqu'ils sont placés *in vitro* dans un environnement moléculaire ostéogénique. [76]

Le ligament alvéolo-dentaire est également un tissu ostéogénique. Des cellules ostéoprogénitrices situées dans les espaces endostés de l'os alvéolaire et dans le ligament peuvent être stimulés par les facteurs du caillot sanguin. Les cellules desmodontales se sont révélées pluripotentes, et capables de se différencier en ostéoblastes, cémentoblastes ou fibroblastes. Ces mêmes cellules expriment des marqueurs phénotypiques osseux tels que la phosphatase alcaline, l'ostéocalcine. [166]

3.2.1.2 Les BMP « bone morphogenetic protein »

Urist les décrit pour la première fois en 1965. Ces protéines sont responsables de la transformation des cellules souches mésenchymateuses indifférenciées en chondrocytes et en ostéoblastes. Elles possèdent donc un potentiel particulièrement ostéogéniques.

Elles appartiennent à la superfamille des TGF β et jouent un rôle déterminant dans la morphogenèse et la réparation du squelette. [166]

Leur principale source est la matrice osseuse.

3.2.2 DEROULEMENT

3.2.2.1 Phase de détersion inflammation

La cicatrisation osseuse débute par une phase inflammatoire et de manière concomitante par la formation du caillot sanguin. Le caillot sanguin contient les plaquettes qui vont synthétiser les facteurs de croissance tels PDGF, TGF β , IGF-1. Ces facteurs vont stimuler l'angiogénèse et initier la différenciation des cellules souches mésenchymateuses en cellules ostéoprogénitrices qui vont s'engager vers la voie ostéoblastique.

De manière concomitante, macrophages et monocytes se chargent de débarrasser le site des éléments nuisibles et de réguler la réponse inflammatoire. Ils sécrètent des cytokines essentielles pour stimuler la phase de réparation. Il s'agit de TNF α et d'IL-1. Le premier est un facteur angiogénique tandis que le second stimule l'activité ostéoclasique.

Progressivement, le site lésé est envahit de nouveaux vaisseaux, de collagènes et de cellules. D'autres facteurs se voient incriminés dans une action chimiotactique sur les cellules endothéliales, les principaux sont : VEGF, FGF et l'angiopoietine.

3.2.2.2 Phase de prolifération

Si l'on se remémore la phase d'inversion au cours du remodelage, les ostéoclastes libèrent la place pour le recrutement des cellules ostéoprogénitrices. TGF β stimule l'engagement des cellules ostéoprogénitrices vers la voie ostéoblastique ; IGF stimule leur prolifération.

Les surfaces endostées et périostées sont recouvertes de cellules souches mésenchymateuses enchâssées pendant l'ostéogénèse. Durant le remodelage osseux, les cellules bordantes se rétractent et libèrent l'accès en faveur des ostéoclastes. La résorption ostéoclastique permet à la matrice osseuse dégradée de libérer des facteurs de croissance à potentialité inductrice : les BMP. Ils induisent la différenciation des cellules souches en chondroblastes ou ostéoblastes. L'activation des cellules ostéoprogénitrices par les BMP semble être l'élément majeur de la différenciation des ostéoblastes. [166]

3.2.2.3 Phase de modelage/ maturation

Le foyer s'organise en une matrice tridimensionnelle propice aux interactions cellulaires. On ne parle plus de tissu de granulation mais de cal osseux. La migration et la différenciation des cellules pluripotentes sont rendues possibles.

Ces cellules prolifèrent et se différencient pour engendrer une réponse cicatricielle. Les ostéoblastes actifs migrent vers le site lésionnel et synthétisent une nouvelle matrice osseuse non encore minéralisée (tissu ostéoïde).

Puis au terme du recrutement de cellules ostéoprogénitrices et de leur différenciation, la trame cartilagineuse confectionnée par les ostéoblastes, finit par se minéraliser. D'abord immature, l'os va progressivement se remanier. [4, 47, 121]

L'essentiel...

La cicatrisation peut être divisée en trois ou quatre étapes :

- Phase vasculaire et de détersion-inflammation
- Phase de prolifération
- Phase de remodelage

Même si le déroulement précis de la cicatrisation conserve encore quelques mystères, plaquettes, facteurs de croissance, fibrine et cellules inflammatoires participent activement à ce processus dynamique et complexe.

Or ces éléments sont présents dans les concentrés plaquettaires autologues...

Partie III

**PARTICIPATION DES CONCENTRES PLAQUET-
TAIRES A LA CICATRISATION**

1. LE PRF : UNE ARCHITECTURE PARTICULIERE

La particularité du PRF provient de son architecture tout à fait particulière, qui lui confère des propriétés intéressantes, que nous détaillerons par la suite. Son organisation est due au mode de polymérisation de la fibrine. [109]

1.1 UNE ORGANISATION TRIDIMENSIONNELLE

1.1.1 MECANISME DE POLYMERISATION DE LA FIBRINE

Le processus de polymérisation de la fibrine s'effectue au cours de la coagulation. Une fois l'apparition de la thrombine, il se forme un véritable réseau de fibrine autour des globules rouges.

La thrombine convertit la molécule de fibrinogène soluble en monomères de fibrine insoluble.

Le fibrinogène est une protéine de bas poids moléculaire précurseur de la fibrine. Elle est composée de deux monomères, chacun possédant trois chaînes (alpha, beta, gamma). En son centre, ce dimère présente un domaine E et latéralement deux domaines D.

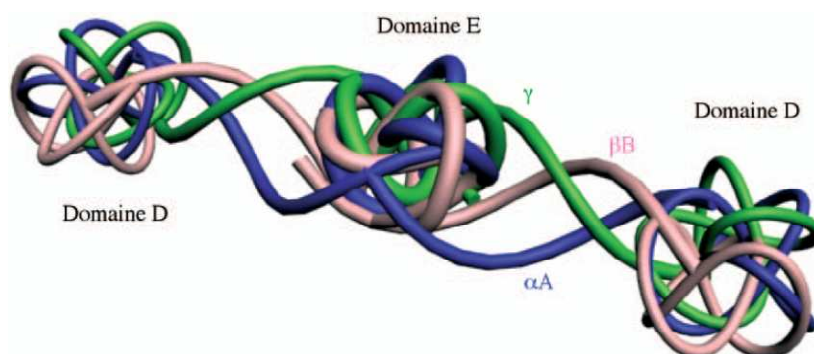


Figure 35 : Modélisation simplifiée d'une molécule de fibrinogène, d'après [65]

En clivant cette molécule, au niveau des extrémités N-terminale des chaînes α et β , des domaines de liaison E et D, de monomères adjacents, apparaissent. Les deux domaines ainsi libres, se lient par des liaisons non covalentes. (Voir figure 36)

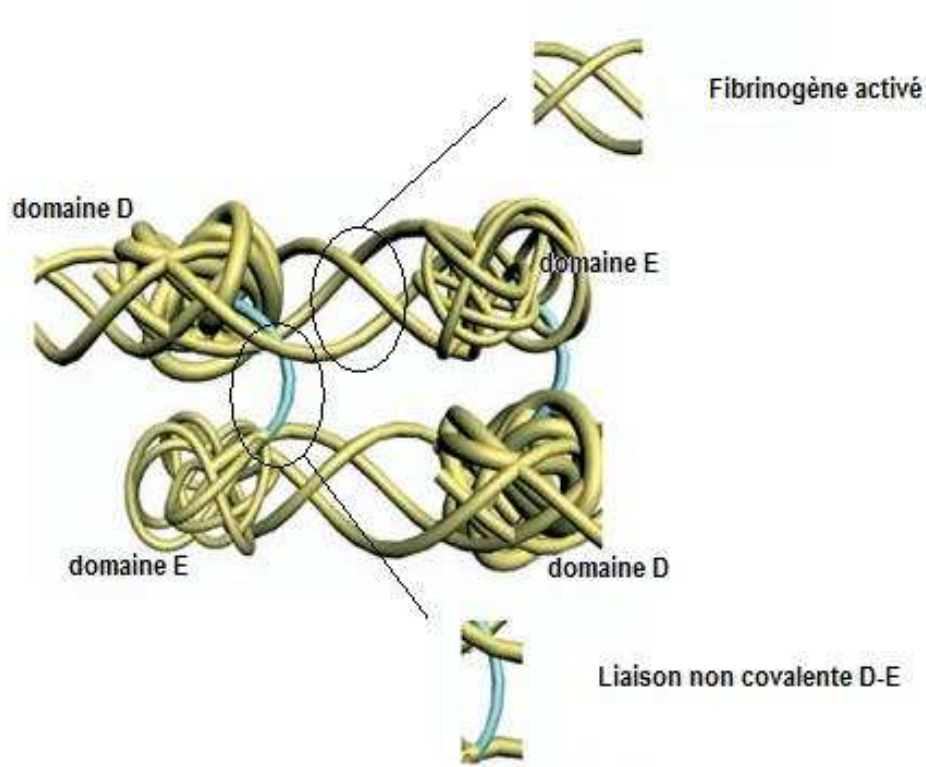


Figure 36 : Modélisation théorique des liaisons non covalentes permettant l'alignement des domaines E et D des molécules de fibrinogène [65]

Ceci permet de constituer un réseau de monomères de fibrine par processus de polymérisation en chaîne. [23, 57]

Cependant, le polymère de fibrine est encore instable. Les liaisons non covalentes vont permettre le rapprochement et l'alignement des domaines E et D et ainsi contribuer à la liaison des domaines D ensemble. (Voir figure 37)

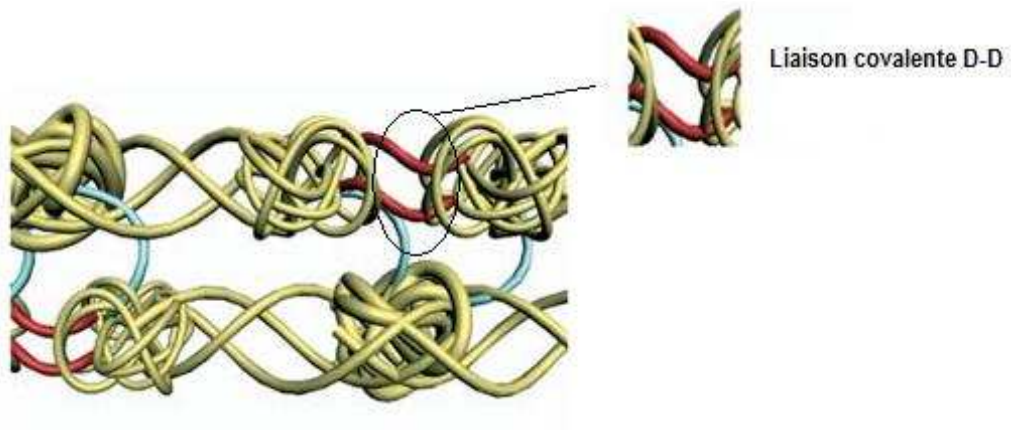


Figure 37 : Modélisation théorique de l'établissement des liaisons covalentes, permises par l'action du facteur XIII, aboutissant à un polymère stabilisé [65]

En effet, de manière concomitante, la thrombine, en tant que véritable « super enzyme », active le facteur XIII (ou facteur stabilisant de la fibrine : FSF) indispensable à la formation de liaisons covalentes liant les domaines D au sein du réseau de fibrine. Ceci aboutit à un réseau de fibrine stabilisé et donc, à la consolidation du thrombus.

1.1.2 ETABLISSEMENT D'UNE ARCHITECTURE TRIDIMENSIONNELLE

C'est ainsi qu'à partir du fibrinogène se constitue progressivement, fibrille après fibrille, un véritable réseau tridimensionnel de fibrine qui sera capable d'emprisonner les globules rouges pour la formation du thrombus définitif. Cependant, le mode de polymérisation semble influencer les qualités mécaniques et biologiques de la trame de fibrine.

A la différence des matrices de fibrine obtenues dans les protocoles de colles tissulaires, qu'il s'agisse de colle de fibrine ou bien du PRP, le PRF est issu d'une polymérisation naturelle et progressive au cours de la centrifugation : les concentrations de thrombine au sein du PRF sont physiologiques puisqu'il n'y a aucun ajout.

Ce mode de réticulation est l'une des caractéristiques principales du PRF. Il procure ainsi un réseau de fibrine, à l'organisation tridimensionnelle homogène, propice à la prolifération cellulaire.

Tandis que l'association de thrombine et de calcium pour déclencher les dernières étapes de la coagulation, entraîne une polymérisation brutale de la fibrine, des colles ou du PRP. [57]

Au cours de l'assemblage des fibrilles de fibrine, deux architectures sont possibles :

- Ou bien des jonctions condensées tétra moléculaires ou bilatérales
- Ou des jonctions branchées tri moléculaires ou équilatérales

Les jonctions condensées se constituent lorsque la thrombine est en grande concentration. Le réseau est alors rigide et peu propice à la migration des cellules. C'est ce qui est obtenu avec les colles de fibrine et avec le PRP. (Voir figure 38)

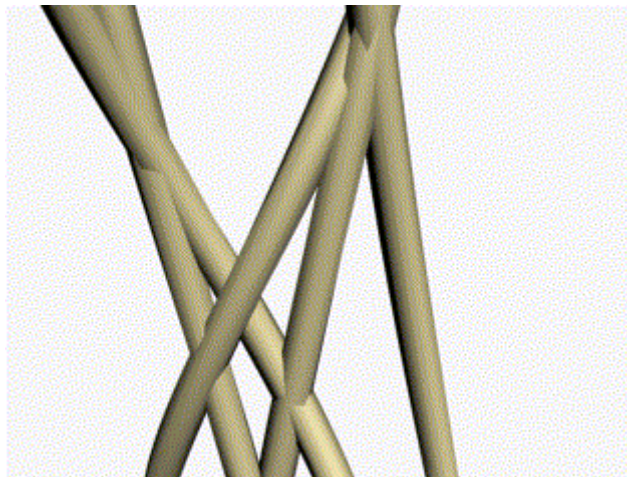


Figure 38 : Modélisation théorique des jonctions condensées, rigides d'après [57]

A contrario, avec une concentration plus faible de thrombine, le réseau de fibrine possède une organisation tridimensionnelle qui lui confère une grande élasticité, propice à la migration des cellules et à la rétention de molécules. (Voir figure 39) [57, 65]

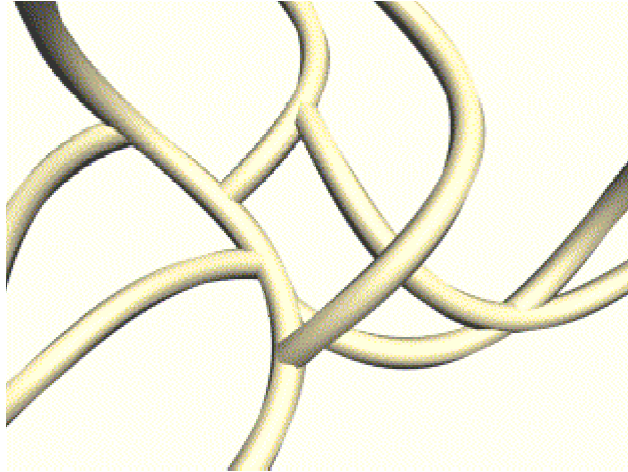


Figure 39 : Modélisation théorique des jonctions branchées procurant une grande élasticité du réseau, d'après [57]

1.2 IMPORTANCE DE LA MATRICE DE FIBRINE

Nous venons de voir le mode de polymérisation de la fibrine. La fibrine, forme activée du fibrinogène, est le produit final de la coagulation, mais son rôle ne se limite pas uniquement à être un élément d'obturation de brèche vasculaire : elle peut être considérée comme « substrat » de la cicatrisation.

1.2.1 INTERET DE LA FIBRINE AU COURS DE LA CICATRISATION

La génération de la fibrine est un élément essentiel à la consolidation du thrombus. Naturellement, ce qui aboutit à la formation du caillot de fibrine, suggère l'existence préalable d'une brèche. Ainsi, le processus de coagulation aboutit à la création du réseau fibrine-fibronectine, élément essentiel pour la stabilisation du clou plaquettaire.

Le caillot de fibrine, en comblant la perte de substance, s'organise en matrice provisoire et devient un véritable guide pour la cicatrisation : monocytes, fibroblastes et cellules endothéliales vont ainsi pouvoir migrer, en suivant le maillage de fibrine. [124, 141, 171]

En effet, ces cellules dotées de récepteurs spécifiques (récepteur de l'intégrine), reconnaissent la fibrine, la fibronectine, la vitronectine et peuvent ainsi interagir avec le clou plaquettaire. [41]

Clou plaquettaire et réseau de fibrine forment alors le thrombus rouge qui, de part sa configuration spatiale et sa composition, incorpore d'autres éléments sériques : des leucocytes, des globules rouges, de la fibronectine, vitronectine, thrombosporine. [97, 157]

Mais ce n'est pas tout, la matrice de fibrine crée ainsi un véritable réservoir de facteurs de croissance, qui enchâssés dans ce maillage, voient leur effets biologiques prolongés. [123]

Tuan et al. [190] ont décrit le rôle de la matrice de fibrine dans la réparation tissulaire et ont montré que les fibroblastes réorganisent activement la matrice de fibrine pour synthétiser du collagène.

Soumis à un remodelage intensif, le caillot de fibrine s'organise progressivement en tissu conjonctif mature.

Le réseau de fibrine va agir en tant que véritable tuteur au cours du processus de cicatrisation, il permet :

- Le recrutement
- La migration
- L'adhésion
- La différenciation cellulaire [2]

De surcroît, la dégradation de la fibrine par la plasmine, produit des fibrinopeptides qui se révèlent être de puissants chémoattractants pour les neutrophiles et les monocytes, donc pour les cellules immunitaires. [39, 57, 80, 165, 188]

La destruction de cette matrice de fibrine est essentielle à la prolifération cellulaire, notamment aux fibroblastes, qui suivent rigoureusement la trame de fibrine pour pouvoir apposer le collagène. [41]

La cicatrisation ne peut se faire s'il n'existe pas la formation de nouveaux vaisseaux pour permettre entre autre l'arrivée des différentes cellules. Il s'agit du phénomène d'angiogénèse.

Là encore, ce phénomène est permis par l'invasion des cellules endothéliales au niveau de la matrice de fibrine qui, elle-même a permis le recrutement de glycoprotéines circulantes (fibronectine, vibronectine...) et de cytokines.

Nehls et Herrmann [147] ont démontré sur des artères pulmonaires de bœufs, que la structure de la fibrine, ou plutôt son degré de rigidité, influence la migration cellulaire et la formation de néocapillaires. De la même manière, Van Hinsbergh et al. [191] ont montré in vitro, que la croissance des cellules endothéliales dans un modèle de matrice tridimensionnel de fibrine, était modulée par sa structure. Le réseau de fibrine doit être suffisamment souple et stable pour permettre une migration cellulaire.

Par ailleurs, la fibrine est également une matrice propice au remodelage osseux, par sa capacité à retenir les protéines morphogènes osseuses. [103]

1.2.2 POLYMERISATIONS DIFFERENTES, BIOLOGIES DIFFERENTES

Les différentes technologies des fibrines ont des modes de polymérisation différents qui impliquent des mécanismes d'intégration biologique très différents [57, 60]

Le réseau de fibrine issu d'un processus progressif et naturel, à l'image du PRF, entraîne un piégeage de cytokines et de facteurs de croissance, au sein même du réseau, qui seront disponibles progressivement pour le remodelage matriciel au cours de la cicatrisation. [35, 55]

Le processus de polymérisation au sein du PRF permet une architecture telle que la libération des facteurs de croissance et des glycoprotéines se fait de manière continue pendant près de 7 jours. Ce qui n'est guère possible au sein du PRP où l'activation brutale des plaquettes libère de manière immédiate et brutale les facteurs de croissance. Par ailleurs sa structure plus rigide est moins propice à la migration des cellules. [60, 61]

Le PRF semble être constitué d'un assemblage intime de cytokines et renferme des glycosaminoglycanes (héparine, acide hyaluronique), entremêlés au sein du réseau de fibrine lentement polymérisé. L'ensemble contribue à potentialiser la cicatrisation. [55, 65]

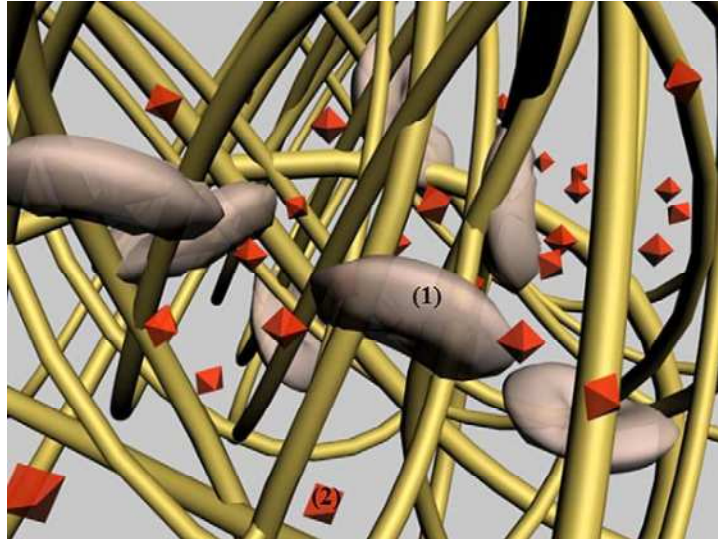


Figure 40 Modélisation de la structure tridimensionnelle du réseau de fibrine issu du PRP: (1) plaquettes (2) cytokines extrinsèques, d'après [55]

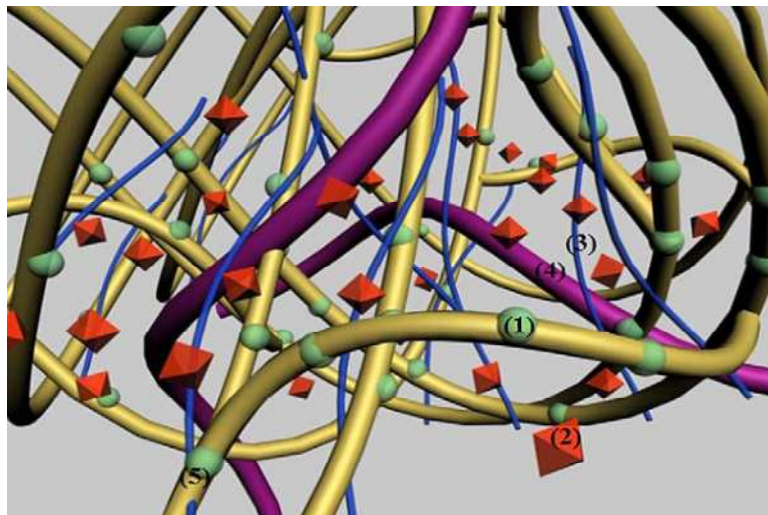


Figure 41 : Modélisation de la structure tridimensionnelle du réseau de fibrine issu du PRF : (1) cytokines intrinsèques (2) cytokines extrinsèques (3) chaînes glycaniques (4) fibronectine (5) fibrilles de fibrine entremêlées avec les chaînes glycaniques et les glycoprotéines, d'après [55]

La matrice de fibrine offre un lieu de migration cellulaire propice à la cicatrisation et à l'angiogénèse. Son organisation tridimensionnelle est un élément majeur : elle doit permettre l'interaction cellulaire mais aussi l'incorporation des divers éléments essentiels à la cicatrisation. Or, c'est l'essence même du PRF.

Son architecture propre est capable d'attirer et de piéger de nombreux composants agissant au cœur de la cicatrisation et, son élasticité semble propice à la migration cellulaire. A travers cette organisation, le caillot formé agirait comme un centre au sein duquel, le réseau cicatriciel se mettrait en place, avec tous les éléments « nutritifs » essentiels pour promouvoir la cicatrisation.

L'essentiel...

Fibrine et hémostase :

- Le réseau de fibrine s'établit lors de la fibrinoformation, au cours du processus de l'hémostase
- Il obture les brèches vasculaires et consolide le thrombus

Fibrine et cicatrisation :

- Le réseau de fibrine s'organise en matrice provisoire, véritable tuteur pour la cicatrisation
- En tant que guide, il favorise : le recrutement, la migration, l'adhésion, la différenciation et la prolifération des cellules (fibroblastes, cellules inflammatoires et cellules endothéliales)
- Incorpore différents éléments sériques et possède un rôle de réservoir de facteurs de croissance et de cytokines
- Depuis sa génération jusque sa destruction, cette matrice demeure primordiale : elle favorise la prolifération cellulaire et le remodelage au cours des étapes finales de la cicatrisation

Mais :

- Le mode de polymérisation influence ses propriétés or :
 - la réticulation est amplifiée artificiellement dans les protocoles menant aux PRP et aux colles de fibrine tandis qu'elle reste proche des conditions physiologiques pour le PRF
 - Il en découle une biologie et un mode d'incorporation des divers éléments différents.

2. CE QUE RENFERMENT LES CONCENTRES PLAQUET- TAIRES...

Précédemment énoncé, le « platelet rich plasma » est obtenu par centrifugation(s), sous anticoagulant pour rechercher à concentrer les plaquettes. L'ajout d'un activateur permet la gélification quasi instantanée. La matrice de fibrine qui en découle n'est donc pas la même que celle issue à partir de la technique PRF. Or le concept du « platelet rich fibrin » repose davantage sur la formation du treillis de fibrine, milieu de culture idéal.

Ainsi, leur architecture diffère en quelques points et pourtant, l'un comme l'autre, ils ont pour prétention de stimuler la cicatrisation...

2.1 PLAQUETTES ET FACTEURS DE CROISSANCE

2.1.1 A PROPOS DES PLAQUETTES

Les plaquettes sont incriminées dans le processus de l'hémostase, souvent considéré comme la première étape de la cicatrisation, mais pas uniquement. Elles possèdent diverses fonctions :

- Rôle majeur dans le processus de l'hémostase et de la coagulation
- Rôle influant sur la cicatrisation
- Rôle dans l'inflammation : les plaquettes peuvent amplifier une réaction inflammatoire via : la synthèse de prostaglandines, leur chimiotactisme pour les polynucléaires neutrophiles et la sécrétion de facteurs de perméabilité vasculaire
- Rôle immunologique
- Rôle dans les métastases
- Action sur les parois vasculaires [4]

Pour rappel, les plaquettes possèdent près de 50 à 80 granules au sein de leur cytoplasme, parmi lesquels les granules α , qui contiennent les facteurs de croissance, ces médiateurs régulant migration, prolifération, chimiotactisme et différenciation cellulaire. [44, 71]

Au vu du pouvoir de ces médiateurs plaquettaire sur le comportement cellulaire, il est intéressant de concentrer un maximum de plaquettes pour bénéficier de toutes leurs vertus.

Haynesworth et al. (2002) [92] ont montré que la prolifération et la différenciation des cellules souches mésenchymateuses étaient en relation avec la concentration des plaquettes. Lui et al. (2002) [120] arrivent à la même conclusion mais cette fois en rapport avec la prolifération des fibroblastes et leur production en collagène de type I.

Pourtant d'autres études suggèrent que la présence des plaquettes en forte concentration peut engendrer des effets inhibiteurs. [85, 96]

Ce n'est donc pas pour rien que la question de la concentration en plaquettes des protocoles PRP a fait l'objet de plusieurs études et de comparaisons.

Weibrich [197, 198, 200, 201], Appel [9], Kaux [102], Leitner [114], Mazzuco [140]... n'ont pas échappé à la tentation de débattre sur le système le plus efficace.

Mais au final, aucune corrélation précise n'a pu être fondée sur la capacité à concentrer les plaquettes, les facteurs de croissance, les paramètres de centrifugation...sans compter les variations inter individuelles en composants sanguins. Ce qui nous ramène à la question de la standardisation des protocoles. (voir première partie)

Quant au PRF, les analyses histologiques ont montré que les plaquettes s'accumulent dans la partie basse du caillot de fibrine, à la jonction entre la portion contaminée par les globules rouges et le caillot de fibrine à proprement parlé. [65] (Voir figure 42)

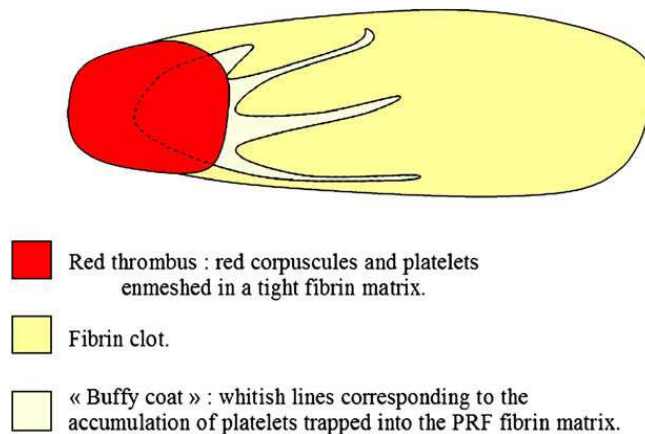


Figure 42 : caillot obtenu après centrifugation [55]

Etant donné la consistance du biomatériau, le nombre de plaquettes ne peut être évalué. [80] Cependant, une étude menée en 2009, par Su et al. [182] corrobore avec le fait que les plaquettes sont « piégées » dans la matrice de fibrine. Ayant l'idée d'étudier le plasma acellulaire non utilisé du PRF, ils se sont aperçus que l'ajout de thrombine n'induisait pas la formation d'un caillot, indiquant que toutes les plaquettes faisaient partie intégrante du caillot de PRF.

2.1.2 FACTEURS DE CROISSANCE A TRAVERS LES CONCENTRES PLAQUETTAIRES

Gassling et al. en 2009 [80] ont comparé le PRP et le PRF sur leur propension à libérer des facteurs de croissance sur différents types cellulaires. Leurs résultats sont proches de ceux déjà constatés par Dohan et al. en 2006 [55] : de manière générale, les quantités de facteurs de croissance sont plus élevées avec le PRP.

A l'issue d'une étude pour déterminer la quantité de cytokines plaquettaires et où elles sont concentrées au sein du PRF, Choukroun et al. se sont rendus compte qu'elles n'étaient ni dans le surnageant ni dans l'exsudat, émettant alors l'hypothèse qu'elles faisaient partie de la matrice de fibrine et intimement liées aux polymères de fibrine. [55, 56]

Ce qui peut expliquer qu'à un instant t, la concentration soit faible par rapport notamment au PRP. Ce dernier en libérant de manière massive les cytokines, via l'ajout d'un activateur, leur confère un effet que pendant un court laps de temps, tandis qu'enchevêtrées dans le réseau de fibrine du PRF, les cytokines sont libérées progressivement. [56, 188]

Plusieurs études confirment cette hypothèse.

Ling et coll. [93] ont quantifié la présence de 2 facteurs de croissance : PDGF-AB et TGF- β 1, présents dans les exsudats du PRP et du PRF à différents moments (1, 7, 14, 21 et 28 jours). Concernant le niveau de TGF- β 1, à 7 et 14 j, il se trouve en concentration significativement plus élevée au sein du PRF et atteint le niveau le plus haut à 14j. Les résultats sont à peu près similaires pour la libération du PDGF, avec une libération maximale à 7j.

Le comportement du PRP face à la libération de ces deux facteurs de croissance, montre une libération massive le premier jour (de manière plus importante que le PRF) pour finalement décroître dans le temps.

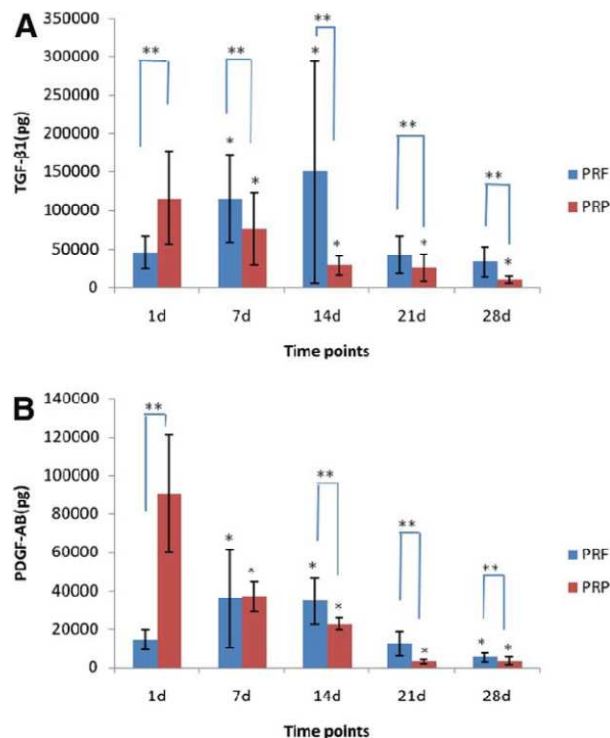


Figure 43 [93] : quantité de facteurs de croissance libérée à différents temps, (A) concerne TGF- β 1, (B) concerne PDGF-AB.

Si l'on en revient à l'étude de Su et al. [182], le projet n'étant pas seulement de dégrossir la composition du plasma acellulaire, mais d'évaluer la présence des facteurs de croissance du PRF, elle confirme bien la libération graduelle de PDGF, VEGF, EGF et TGFβ1 au cours du temps (300min soit 5h).

Dohan E. et coll. en 2009 [64] se sont proposés de quantifier à travers une étude in vitro, la libération de facteurs de croissance et d'une glycoprotéine de la matrice, au sein de membranes PRF.

L'étude s'échelonne à travers 7 temps expérimentaux allant de 20min jusque 7jours et concerne : TGF-β1, PDGF-AB, TSP-1 et VEGF. En conformité avec les résultats de Su et al.[182], ces facteurs connaissent une libération croissante et élevée durant les 24 premières heures puis, elle demeure progressive mais plus lente jusqu'au 5^{ème} jour. VEGF ne connaît pas tout à fait la même progression : sa libération est massive les 4 premières heures.

2.3 LEUCOCYTES

2.3.1 ROLES DES LEUCOCYTES

Les leucocytes ou globules blancs sont des cellules du système immunitaire, chargés de :

- Réguler l'expression inflammatoire
- Sécréter de nombreux facteurs impliqués non seulement dans l'inflammation mais également dans la cicatrisation. (angiogéniques tel le VEGF) [141]

Il existe trois types de leucocytes, dont on distingue :

Les polynucléaires neutrophiles : ils interviennent dans le mécanisme de phagocytose, de lyse, de déterision et ont un rôle anti-infectieux. Ils agissent très précocement et sont les premiers à arriver sur les lieux, ayant pour mission principale : combattre les microorganismes présents.

Les macrophages : interviennent plus tard (vers le troisième jour) mais de manière plus spécifique, avec une efficacité anti-infectieuse supérieure à celle des PNN.

D'origine sanguine et tissulaire, ils ont des propriétés lytiques, de phagocytose (débarassant le tissu des cellules mortes et des microorganismes) et de présentation des antigènes aux lymphocytes T.

Ils ont un rôle dans la phase de détersion mais aussi dans la phase de prolifération de la cicatrisation. En induisant la libération de cytokines et de facteurs de croissance, tels le PDGF, le TGF β et IGF, ils stimulent la prolifération et la migration des cellules endothéliales et des fibroblastes, favorisant ainsi la formation de la matrice extracellulaire.

Les lymphocytes eux, sont capables d'activer les cellules inflammatoires par la libération de cytokines et d'induire l'expression de molécules d'adhésion. Ils possèdent un rôle antibactérien spécifique. [141]

Par ailleurs rappelons que la dégradation de la fibrine, génère des fibrinopeptides chimiotactiques pour les neutrophiles et les monocytes, donc pour les cellules immunitaires.

2.3.2 MEDiateurs LIBERES PAR LES LEUCOCYTES

A l'instar des plaquettes, ils libèrent des facteurs de croissance et des cytokines, dès leur activation, parmi lesquels, des cytokines inflammatoires (IL-1, IL-6, TNF α) et des cytokines de cicatrisation (IL-4).

2.3.2.1 Cytokines de l'inflammation

2.3.2.1.1 Les interleukines

IL-1, IL-6 sont des cytokines inflammatoires, produites par de nombreuses cellules (macrophages, neutrophiles, fibroblastes...)

Cellules cibles et actions

- IL-1 β stimule l'activité des ostéoclastes notamment en combinaison avec TNF α
- Accroît l'activation des cellules immunitaires (LT) et induit l'expression d'interféron γ par les lymphocytes
- Agit en synergie avec le « tumor necrosis factor » (TNF α) pour la stimulation des lymphocytes [110]
- IL-6 est un facteur de différenciation des lymphocytes B et permet ainsi de stimuler la synthèse des anticorps [58]

2.3.2.1.2 Le tumor necrosis factor

Sécrété par les macrophages, les monocytes, les polynucléaires neutrophiles et les lymphocytes T, sa production est régulée par IL-6 et TGF- β . TNF α stimule les fibroblastes, augmente la phagocytose et la cytotoxicité des neutrophiles. [58]

2.3.2.2 Cytokines de cicatrisation

2.3.2.2.1 Interleukine 4 (IL-4)

Sa source principale provient des LT. Cette interleukine stimule la prolifération et la différenciation des lymphocytes B mais intervient également en modérant l'effet inflammatoire.

2.3.2.2.2 VEGF, TGF, EGF

Ils sont également sécrétés par les leucocytes et notamment les macrophages. [58, 110, 141]

2.3.3 ROLE DES LEUCOCYTES DANS LES CONCENTRES PLAQUETTAIRES

Le rôle des leucocytes dans les concentrés plaquettaires est la proie de contradictions : tantôt certains auteurs clament la nécessité de les éliminer, tantôt, les leucocytes présents en quantité modérée sont essentiels dans le processus de cicatrisation. [61, 131]

Durant le processus de centrifugation du PRF, les leucocytes sécrètent des cytokines inflammatoires qui semblent procurer à ce biomatériau des propriétés immunitaires.

En 2006, Dohan D. et coll. [58] ont dosé la présence des cytokines leucocytaires au sein du PRF. Cinq cytokines sont recensées : IL-1 β , IL-6, TNF α , IL-4 et VEGF. Supposées être enchâssées dans la matrice de fibrine au même titre que les facteurs de croissance plaquettaires, la présence de ces éléments pourrait expliquer la réduction des infections post opératoires lorsque le PRF est utilisé. Cette présence des leucocytes lui a valu d'être parfois dénommé « L-PRF » pour « Leucocyte-Platelet rich fibrin ». [63]

Le PRP libère les facteurs de croissance et bien d'autres substances à travers l'activation des plaquettes, induite par la thrombine. De manière subséquente, la fibrine se forme. De récentes études ont évalué la libération des leucocytes à travers les gels riches en plaquettes. Elles ont révélé que leur présence était significativement plus élevée par rapport à la composition sanguine. Ainsi, monocytes, neutrophiles et lymphocytes sont présents au sein des gels de PRP. Or ces cellules jouent un rôle immunitaire. [73, 74, 192]

De surcroît, monocytes et neutrophiles contiennent des granules contribuant à un effet antibactérien des concentrés plaquettaires, et donc à une protection immune des sites opérés et sous entendu un certain potentiel en terme de cicatrisation.

En 2007, Dirk et al. [144] ont enquêté sur cette activité anti-infectieuse des concentrés plaquettaires contre *Staphylococcus aureus*. Leur conclusion est sans équivoque : au contact du gel obtenu (PRP polymérisé), le nombre des bactéries a rapidement diminué. Le résultat est moins rapide et moins prononcé avec le PRP « non activé », ce qui semble témoigner de l'importance de l'activation des plaquettes.

Quoiqu'il en ressort, comme il ne s'agit pas d'une complète destruction des bactéries, après 4h le nombre de bactéries augmente : la croissance bactérienne surpassant les défenses. Cependant, il semble que passées 24h, la croissance bactérienne atteigne une phase stationnaire et ce de manière moins élevée dans les groupes au contact du PRP, par rapport au groupe contrôle.

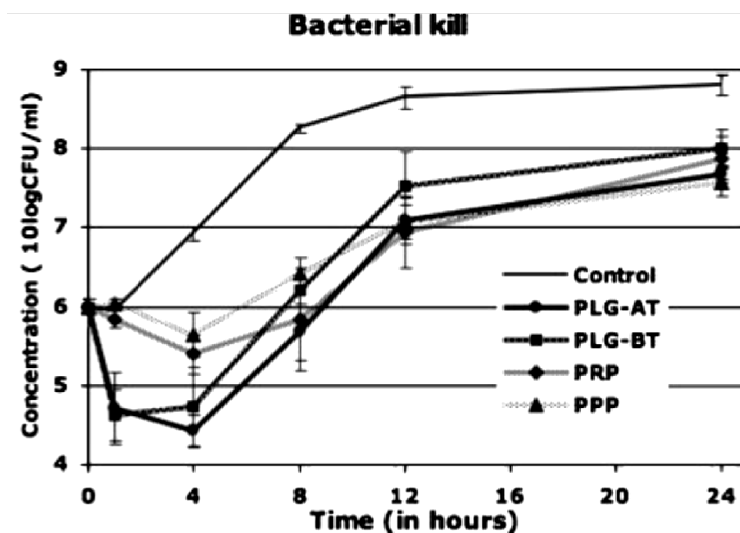


Figure 44 : montrant d'une part, la décroissance bactérienne qui atteint son maximum à 4h puis une croissance qui devient stationnaire à 24h. (Avec: PLG-AT, platelet-leukocyte gel activated with autologous thrombin; PLG-BT, platelet-leukocyte gel activated with bovine thrombin; PRP, platelet-rich plasma; PPP, platelet poor plasma)[144]

Bien évidemment il ne s'agit pas d'un effet miracle mais d'un potentiel à exploiter notamment dans la prévention des infections post opératoires.

En 2007, Bielecki et al. [24] ont analysé les effets potentiels du PRP, sur différentes souches bactériennes dont:

- *Staphylococcus aureus* résistant aux méthicillines
- *Staphylococcus aureus* sensible aux méthicillines
- *Escherichia coli* productrice de beta lactamase à spectre étendue
- *Escherichia coli*
- *Klebsiella pneumoniae*
- *Enterococcus faecalis*
- *Pseudomonas aeruginosa*

Ces bactéries ont été mises en culture sur boîte de pétri, puis des disques de 6mm de PRP y ont été déposés. Là où le PRP est actif, les germes ne se développent pas. (Voir figure 45)

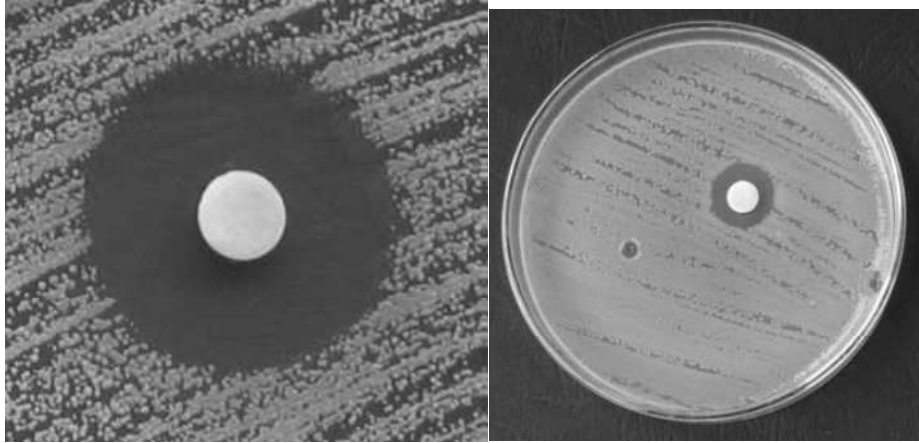


Figure 45 : inhibition de la croissance de *staphylococcus aureus* (à gauche) et d'*escherichia coli* (à droite) tout autour du PRP [24]

Après 16 à 18h d'incubation, les zones d'inhibition ont été mesurées. Le PRP a significativement agit sur:

- *Staphylococcus aureus* sensible aux méthicillines avec des valeurs allant jusque 24mm (moyenne de 19,8mm)
- *Staphylococcus aureus* résistant aux méthicillines (moyenne de 8,4mm)
- *Escherichia coli* productrice de beta lactamase à spectre étendue (moyenne de 11,8)
- *Escherichia coli* (moyenne de 10,8)

Cependant aucun effet n'a pu être constaté sur les autres souches. Voir même, *Pseudomonas aeruginosa* a pu se développer au sein du PRP. (Voir figure 46) Les auteurs suggèrent que les traitements avec du PRP lorsqu'il existe une infection à *Ps. aeruginosa*, relèvent d'une contre-indication, au vu de la susceptibilité à exacerber la réponse inflammatoire.

Les auteurs n'ont pas mis en évidence de corrélation entre la concentration des plaquettes, celles des leucocytes et l'activité antimicrobienne. [24]

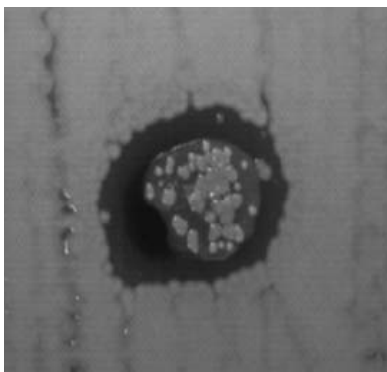


Figure 46 : montrant la croissance de *Pseudomonas aeruginosa* au sein du PRP. [24]

L'essentiel...

- Le PRP et le PRF sont à même de libérer des facteurs de croissance, médiateurs biologiques polypeptidiques qui régulent la prolifération, le chimiotactisme et la différenciation cellulaire. [176]
- Ils sont en concentration plus élevée au sein du PRP.

Mais :

- Tandis que le PRP laisse échapper en masse les facteurs de croissance, le PRF quant à lui, semble les maintenir dans le réseau de fibrine, permettant une libération progressive, au cours du temps.

De manière similaire :

- la présence des leucocytes offre aux concentrés plaquettaires, des propriétés anti-infectieuses, par l'intermédiaire des médiateurs qu'ils sécrètent. Mais cet aspect demeure à élucider.

3. COMPORTEMENT SUR LES LIGNEES CELLULAIRES

La faculté des cellules à pouvoir migrer, proliférer et se différencier, est une condition sine qua none pour promouvoir la cicatrisation. Les différents éléments qui composent les concentrés plaquettaires ont été abordés. A présent, il s'agit de savoir comment les cellules réagissent en leur présence.

3.1 COMPORTEMENT DES LIGNEES CELLULAIRES ET PRF

Dohan et coll. (2009) [61] se sont intéressés au comportement de quatre lignées cellulaires (prékératinocytes, fibroblastes, préadipocytes et ostéoblastes) en présence de PRF. Comparés aux résultats obtenus avec le groupe contrôle (sans PRF), la prolifération cellulaire est significativement augmentée et dose dépendante pour les fibroblastes et les ostéoblastes (Voir figure 47).

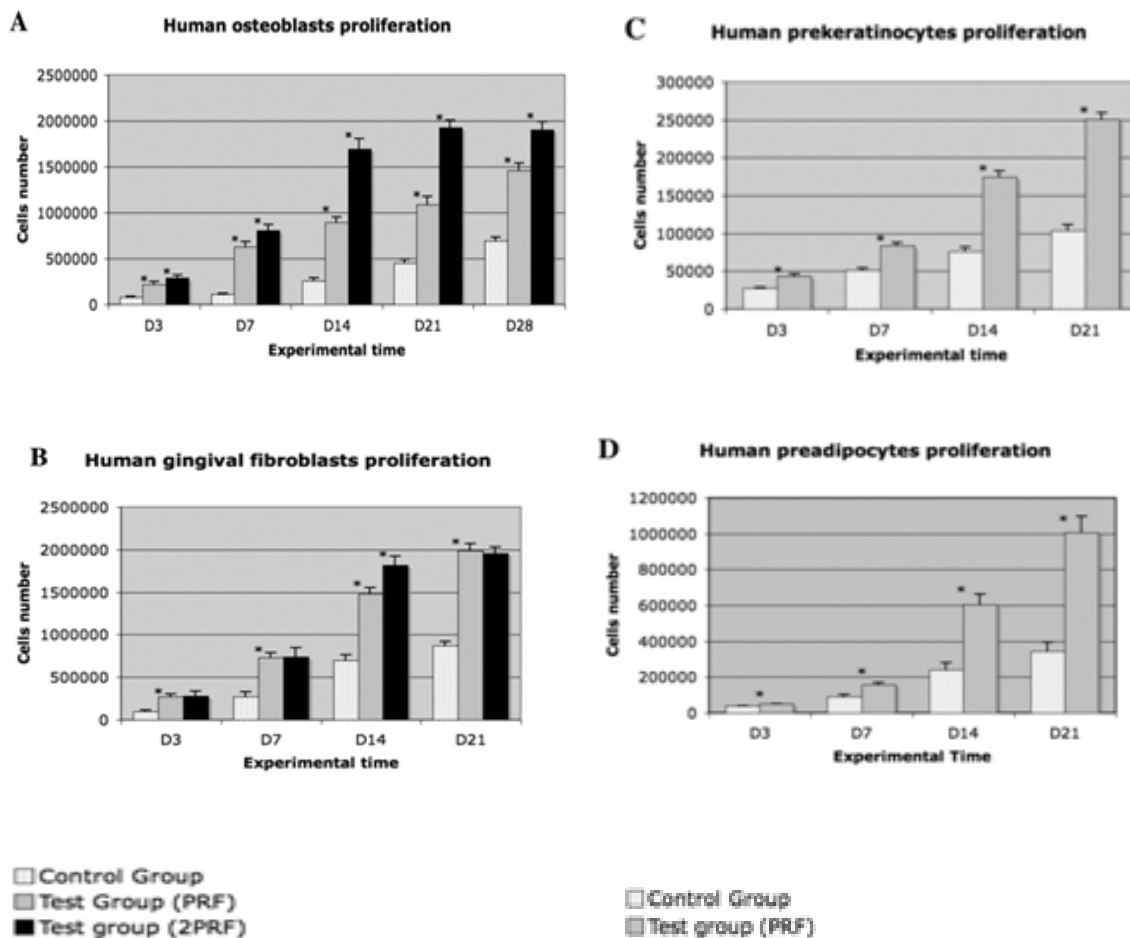


Figure 47 : prolifération et la survie des différentes cellules jusque 28j pour les ostéoblastes (A), et jusque 21j pour les fibroblastes (B), les prékératinocytes (C), les préadipocytes (D). (A) et (B) permettent de constater l'effet dose dépendant relatif à l'ajout d'une seule ou de deux membranes de PRF. (C) et (D) n'évaluent que la différence groupe contrôle et PRF, d'après [61]

Par ailleurs, ils se sont intéressés de plus près à la différenciation des ostéoblastes. Ils ont pu : constater une nette augmentation de la phosphatase alcaline (témoin de l'activité ostéoblastique) et observer la présence de nodules de minéralisation.

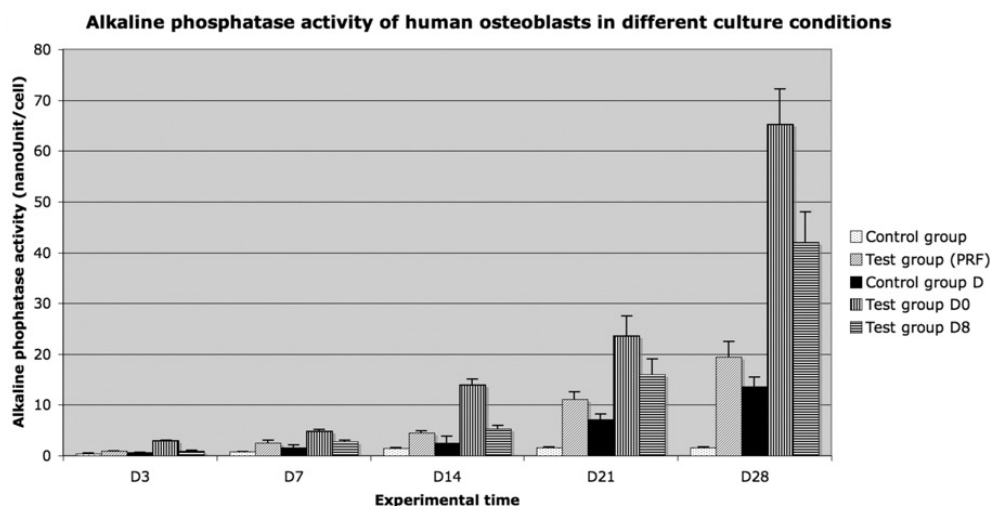


Figure 48 : évolution de la phosphatase alcaline dans 5 milieux de culture différents : conditions de prolifération (groupe contrôle), conditions de prolifération et une membrane de PRF (groupe test), conditions de différenciation (groupe contrôle D), conditions de différenciation et PRF, depuis le début de l'expérimentation (groupe D0) et PRF puis conditions de différenciation qu'à partir du 7ème jour (groupe D8), d'après [61]

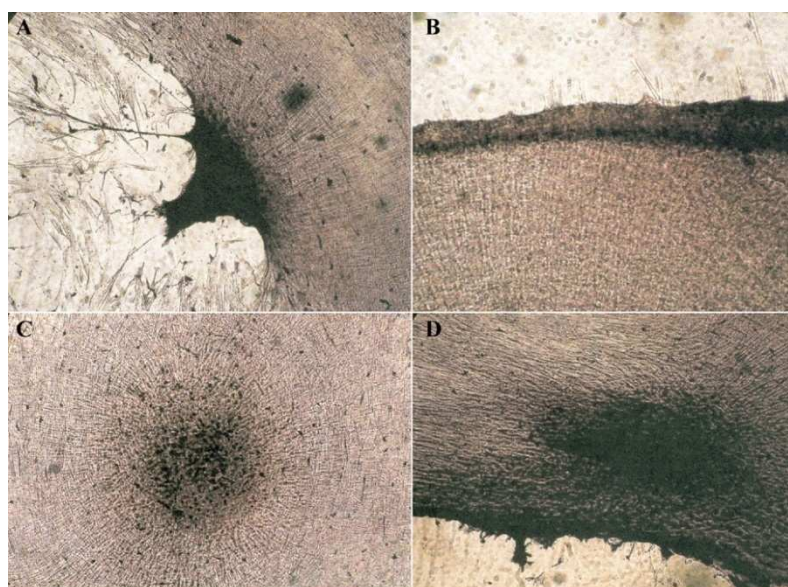


Figure 49 : coupe au microscope électronique d'une culture d'ostéoblastes mis en contact avec du PRF dans des conditions de différenciation. Noter le processus de minéralisation au contact de la membrane de PRF (A) voir même sur toute la membrane (B, C, D), d'après [61]

Le PRF semble donc favoriser la prolifération de différents types cellulaires, avec un effet dose dépendant. Mais il induit également la différenciation des ostéoblastes en plus de leur prolifération, ce qui pourrait s'expliquer par la non homogénéité de ce biomatériau.

En 2010, la même équipe s'est penchée sur les effets du PRF sur des cellules souches mésenchymateuses osseuses, humaines, récoltées sur un site stimulé avant la pose d'un implant, sur le même donneur.

Les cellules souches ont été cultivées avec ou sans PRF, dans des conditions propices pour la prolifération ou la différenciation ostéblastique. Par ailleurs, une série de cultures ont été préparées avec deux membranes de PRF, dans le but de d'évaluer un effet dose-dépendant. [62]

Pour cette étude, 30 cultures ont été préparées :

- 15 cultures réalisées selon des conditions standards :
 - ✓ 5 cultures seules (groupe contrôle)
 - ✓ 5 avec une membrane de PRF
 - ✓ 5 avec deux membranes de PRF
- 15 dans des conditions de différenciation :
 - ✓ 5 dans les conditions de différenciation
 - ✓ 5 avec une membrane
 - ✓ 5 avec deux membranes

Une culture de chaque groupe a été utilisée pour évaluer le nombre de cellules à 3 jours, 7 jours, 14 jours, 21 jours et 28 jours.

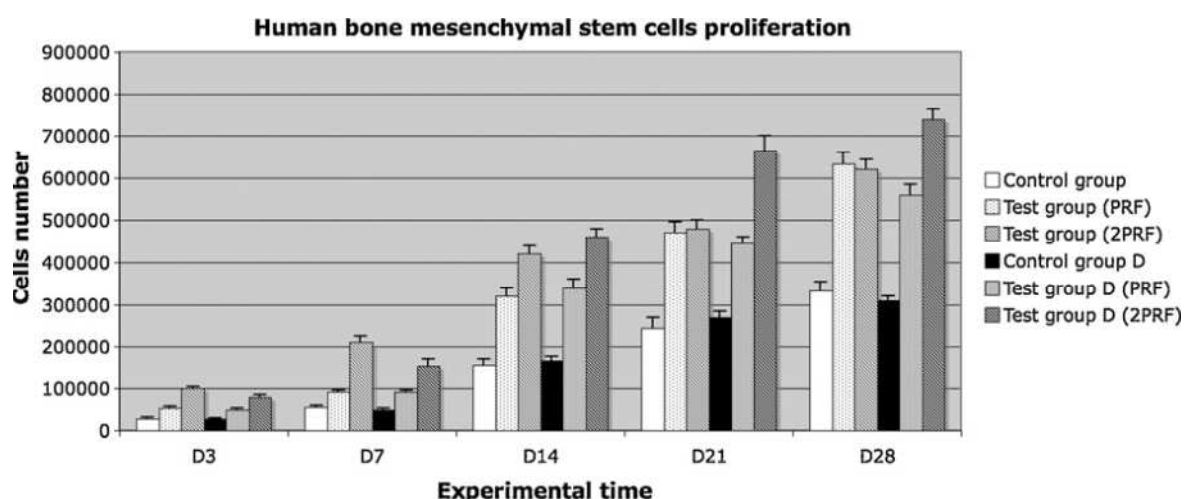


Figure 50 [62] : histogramme représentant le nombre de cellules pour chaque type de culture, évalué à chaque période expérimentale. Noter à 28 jours une augmentation significative du nombre de cellules pour le groupe avec 2 membranes.

L'activité de différenciation ostéoblastique est évaluée à ces mêmes temps, à travers la quantification de nodules de minéralisation et mesure de l'activité de la phosphatase alcaline (ALP).

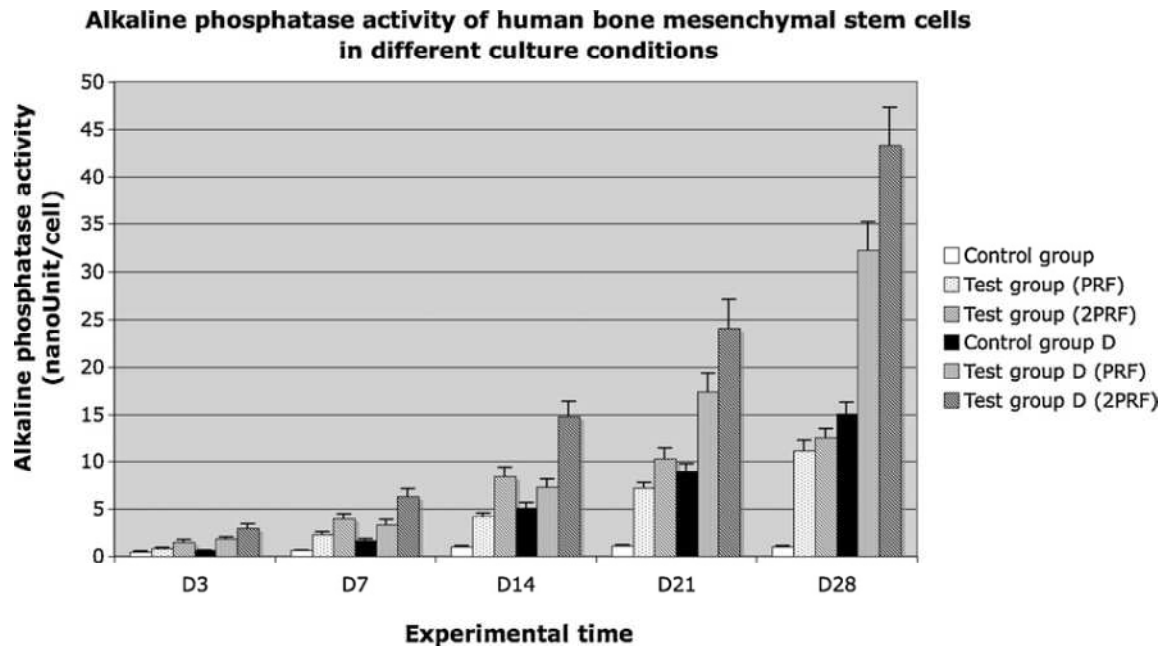


Figure 51 [62] : quantification de l'activité de la phosphatase alcaline

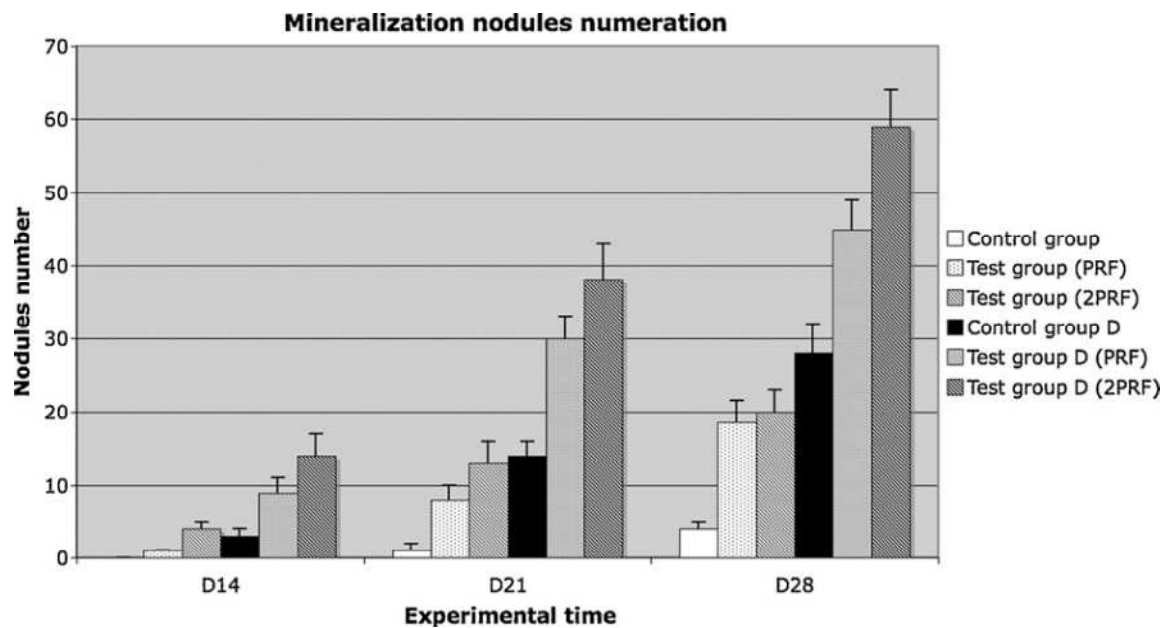


Figure 52 [62] : quantification des nodules de minéralisation

En plus des effets déjà constatés sur les fibroblastes, les prékératinocytes, les préadipocytes et les ostéoblastes, cette étude met en évidence la portée significative du PRF sur la prolifération et la différenciation des cellules souches, ainsi que l'effet dose-dépendant.

Bensaid et al. (2003) ont produit une matrice de fibrine à partir de Tissucol®. Ils ont montré la capacité des cellules souches mésenchymateuses à proliférer, à migrer et à adhérer, de manière fibrinogène dépendante. Toutefois, à haute concentration en fibrinogène ($> 18\text{mg/ml}$), les cellules échouent à se développer, dû à la densité du réseau de fibrine élaboré à partir de colle. [19]

Là encore, on peut présager que la structure intrinsèque du PRF est propice à l'activité cellulaire : il s'agit du treillis formé par la fibrine, plus souple et moins dense. Certaines études ont d'ailleurs montré l'effet ostéoinducteur d'un réseau de fibrine en culture avec les cellules souches. [88]

Kawamura et Urist ont montré que la fibrine était également une matrice propice au remodelage osseux, par la capacité à retenir les protéines morphogènes osseuses. [103]

3.2 COMPORTEMENT DES LIGNÉES CELLULAIRES ET PRP

Concernant le PRP, les différentes études sur la propension à induire migration, prolifération, différenciation sont parfois contradictoires.

Le potentiel prolifératif est souvent constaté sur les cellules endothéliales [22, 145], sur les ostéoblastes [130, 145], sur les cellules souches mésenchymateuses [11, 151], sur les fibroblastes [155].

Le potentiel inducteur lui est plus contrasté.

Certaines études sur les cultures de cellules souches mésenchymateuses osseuses, ont montré qu'en présence de PRP, on obtenait une prolifération et une capacité de différenciation vers différentes lignées (chondrocytaire, ostéogène et adipocytaire) [195] et de manière dose dépendante. [119]

S'intéressant à différentes concentrations de PRP, Creeper et al. [45] observent une stimulation de la migration, de la prolifération et de la différenciation des cellules ostéoblas-

tiques et desmodontales. Toutefois, une trop forte concentration de PRP altère la morphologie cellulaire et en affecte la survie.

Pourtant, d'autres études constatent l'absence de ce potentiel inducteur du PRP [145], voire même que l'usage du PRP ne peut se substituer à la BMP2 recombinante, plus apte à mener vers une différenciation des cellules souches mésenchymateuses. [11]

Déjà soulignés auparavant, l'absence de protocole unique et leur manque de standardisation, influencent directement les résultats. Par ailleurs les études ne s'appuient pas forcément sur des techniques commercialisées, ce qui complique quelque peu leur évaluation.

L'essentiel...

- Le PRF semble promouvoir la migration, la prolifération et la différenciation de plusieurs types cellulaires ;
- Le PRP quant à lui est la proie à de plus grandes contradictions. Globalement, il induit une bonne prolifération mais il ne semble pas agir sur la différenciation des ostéoblastes.

Mais :

- Le grand nombre de publications au sujet du PRP ne peut être confronté à la pauvreté des publications sur le PRF.

4. CONTRIBUTIONS DES CONCENTRES PLAQUETTAIRES A LA CICATRISATION

Compte tenu de leur composition, de leur structure et de leur capacité à interagir avec leur environnement cellulaire, les concentrés plaquettaire permettent de contribuer favorablement à la cicatrisation.

4.1 INFLUENCE DES CONCENTRES PLAQUETTAIRES

La réponse de l'organisme face à un traumatisme est proportionnelle au degré des lésions tissulaires. Mais on peut considérer que l'apport d'un concentré plaquettaire surpasse la réponse physiologique. Ainsi, le fait d'amener directement les plaquettes sur le site en question, permet de créer un environnement local propice à la régénération tissulaire. [71]

Toutefois, on peut se demander si le caillot naturel ne se suffit pas à lui-même. Visser et coll. (2010) [194] ont répondu à cette question à travers le PRFM. L'ensemble des éléments profitant à la cicatrisation est concentré dans le caillot créé ex-vivo et en quantité plus importante, permettant une accélération de la prolifération cellulaire et ce, dès les premiers temps de la cicatrisation.

La capacité des cellules à proliférer est indéniablement liée à la matrice de fibrine, facilement colonisable. Ainsi, les fibroblastes migrant au sein de cette matrice permettent un remodelage accéléré, une réduction des temps de cicatrisation muco-gingivale, d'accroître le rendu esthétique et le confort du patient. [81] Ceci est d'autant vrai que la matrice issue de la technologie PRF est homogène et élastique, propice à la prolifération cellulaire. [57]

Or si le site traité connaît une accélération de la cicatrisation muco-gingivale, il est donc moins fragile face aux agressions extérieures et le tissu osseux mieux protégé. [81]

De nombreuses études ont montré l'influence directe des facteurs de croissance sur la migration cellulaire, la prolifération et la synthèse de matrice. C'est pourquoi il est finalement légitime de penser que l'apport d'un concentré plaquettaire autologue optimise l'environnement local et favorise la réponse cicatricielle, d'autant lorsque le tissu est déjà fragilisé. [133] Car, même si la cicatrisation se fait généralement sans encombre dans les tissus sains, ce n'est pas forcément le cas des tissus où la vascularisation est perturbée (diabète) ou encore lorsque l'activité cellulaire est limitée (sénescence).

Ainsi, l'apport d'un concentré riche en éléments bioactifs, à la libération prolongée peut aider à la réparation des plaies : l'ensemble des facteurs pris ensemble jouant un rôle initiateur et de soutien à la cicatrisation. [67]

Cependant face à la relative rapidité de dégradation des facteurs de croissance, [36] l'emploi seul de PRP ne demeure pas suffisant en termes de libération prolongée en facteurs de croissance, ce qui est pallié avec le PRF.

La cicatrisation étant fondée sur une colonisation et un remodelage rapide, elle se voit stimulée par la synergie des signaux issus des concentrés plaquettaires et du site en cours de réparation. [81]

La littérature n'évoque pas de contre-indications particulières à l'emploi des concentrés plaquettaires autologues. Néanmoins, certaines précautions sont toutefois à prendre en compte, notamment sur la question des processus tumoraux. [65]

En effet si les facteurs de croissance sont réputés stimuler l'activité cellulaire, une application de concentrés plaquettaires sur des sites d'exérèse tumoraux, dans le cadre de l'existence de lésions précancéreuses ou bien chez des terrains sujets à transformation (chez les fumeurs notamment) doit être évitée. [132]

Il ne s'agit pour l'heure que d'hypothèses, qui doivent être prises en considérations et qui nécessitent davantage d'études. Pour l'heure, il n'existe pas de faits relatant des cas de transformations malignes, pour des technologies évoluant depuis plus de 10ans.

Malgré tout, des applications de PRP, issues de la technique Regen®, ont été faites chez des patients souffrant de radio-épidermiques, menant à une guérison complète de ces troubles post-radiques. [15]

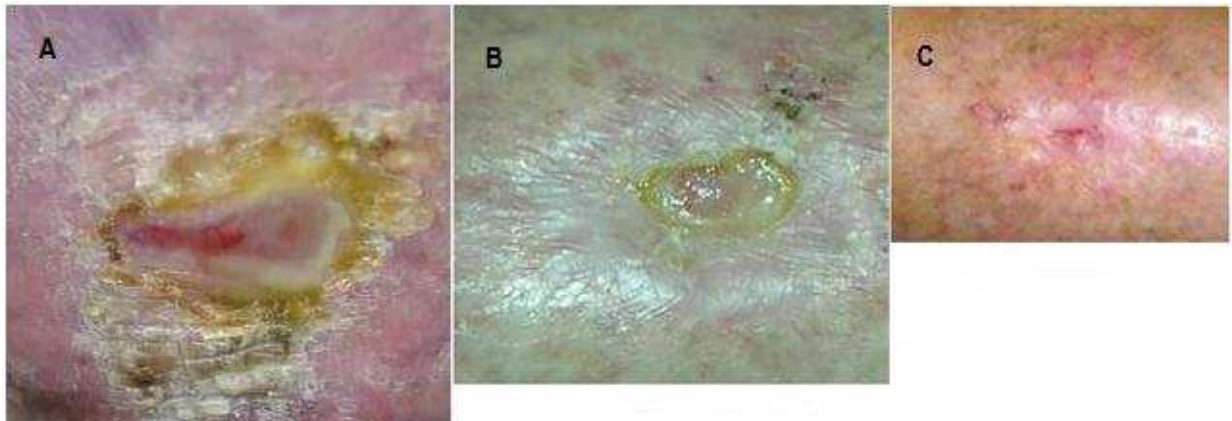


Figure 53 : cas d'une cicatrisation d'une radio nécrose, d'après [15]

(A) Radio nécrose profonde et surinfectée au moment de la prise en charge. (B) Réduction de l'extension de l'ulcère après 3 mois d'application de concentré. (C) Disparition de la radio nécrose après 6 mois d'application de concentré plaquettaire.

4.2 CONCERNANT LA CICATRISATION DU TISSU OSSEUX

Sous l'influence de facteurs de croissance et d'une trame de migration fibrinaire (en particulier avec le PRF), les cellules sont stimulées en termes de migration, prolifération, différenciation et d'activité, notamment les ostéoblastes.

Le problème des défauts osseux et la recherche de techniques de régénération sont des problèmes récurrents. C'est pourquoi, de nombreuses études se sont intéressées à la combinaison des CP aux matériaux de substitution osseux : avec du DFBA [40], du calcium triphosphate [117, 142].

L'intérêt des méthodes combinées pour la cicatrisation du tissu osseux et notamment des tissus parodontaux, est de pouvoir répondre à toute sorte de défauts, indépendamment de l'étendue et de la morphologie des lésions osseuses.

Dori et coll. (2008) [66] se sont intéressés à différentes techniques de régénération. Il ressort que le plasma riche en plaquettes n'améliorait pas la minéralisation osseuse, ne semblait pas posséder de pouvoir régénérateur particulier et malgré la présence en grand nombre des facteurs de croissance, la régénération ne semblait pas augmentée.

Weibrich et coll. (2004) [199] sont enclins au même genre de conclusion : l'emploi du PRP n'offre pas de bénéfices majeurs sur l'accélération de l'ostéointégration implantaire et une trop forte concentration en plaquettes semble avoir des effets inhibiteurs.

La combinaison de PRF associé à DFBA semble permettre une réduction du temps de cicatrisation à 4 mois, d'un point de vue histologique, contre 8 mois en temps normal. Toutefois, la formation du tissu ostéoïde semble ne pas montrer de différence significative entre le groupe DFBA seul et PRF/DFBA. [40]

Une publication de 2009 [142], relate le suivi de 20 patients entre 2002 et 2008, ayant bénéficié de greffes sinusiennes employant l'association de phosphate tricalcique, de PRP et de membranes de PRF. Les résultats sont plutôt encourageants avec un taux de succès implantaire de 97,6%. Cependant, l'emploi simultané de différents biomatériaux noie la véritable identité du principe actif. Lequel entre le PRP, le PRF, ou le matériau de substitution possède les propriétés les plus intéressantes ?

Mazor et coll. (2009) [139] se sont intéressés à l'emploi seul de PRF. Ils reportent une série de cas d'augmentation sinusienne et d'implantation immédiate. Les analyses radiologiques et histologiques, ainsi que l'évaluation à 6 mois des 20 patients, témoignent du succès de la méthode :

- Les biopsies indiquent une bonne organisation de l'os néoformé, avec une architecture semblable à l'os naturel,
- Après 6 mois, l'ensemble des 37 implants posés sont stables,
- Les contrôles radiographiques ont montré un gain osseux.

Evaluer le réel impact des concentrés plaquettaires autologues sur la cicatrisation du tissu osseux demeure difficile. Néanmoins partant du principe que la cicatrisation du tissu osseux et l'intégration des matériaux de substitution ou des greffes font appel à un processus d'invasion vasculaire et cellulaire [42], l'emploi des concentrés plaquettaires autologues qui favorise ce processus, peut se justifier. Par ailleurs, si l'herméticité du site opératoire et la cicatrisation des tissus mous semblent accélérées [135], l'environnement osseux lui, est mieux protégé [81].

Mais les conclusions tirées restent souvent subjectives et le manque d'études fiables ne permettent pas à elles seules d'apporter de conclusions significatives.

4.3 DISCUSSION

Que ce soit le PRF ou le PRP, ces deux biomatériaux semblent regrouper l'ensemble des éléments nécessaires à une cicatrisation optimale : plaquettes, cytokines plaquettaires et leucocytaires, leucocytes et quelques cellules souches circulantes.

Toutefois, le mode d'incorporation de ces structures, diffère : le PRF permet un relargage progressif, agissant directement sur les phénomènes cellulaires incriminés dans les mécanismes de la cicatrisation, tandis qu'avec le PRP, le relargage est plus massif mais moins prolongé dans le temps.

Entre PRP et PRF, la comparaison est difficile voire illusoire en terme de potentiel à stimuler la cicatrisation. Car même si leur composition recèle quelques similitudes, l'un s'appuie sur une matrice de fibrine organisée et structurée, l'autre sur sa concentration en facteurs de croissance.

L'élément clé du PRF réside dans la matrice de fibrine polymérisée. Cependant les études menées souffrent de quelques biais :

- Elles sont généralement faites par les mêmes auteurs
- Les quantifications en facteurs de croissance sont tantôt évaluées à partir de l'exsudat du PRF, tantôt à partir de la membrane elle-même
- Les conclusions relèvent plus de l'extrapolation théorique que de preuves scientifiques
- La cicatrisation osseuse est appréciée de façon subjective

Des études fiables et reproductibles manquent pour supporter la réelle efficacité du biomatériau. Mais cette lacune concerne également la technologie PRP. Elle souffre également du manque d'études cliniques, d'un grand nombre de protocoles, d'un défaut de standardisation, et de techniques souvent opérateurs-dépendants.

Et pourtant, malgré l'absence de justifications scientifiques, ces techniques subsistent. Car même si le potentiel cicatriciel n'est pas clairement expliqué en théorie, l'efficacité clinique elle, est bien constatée, ce qui pousse les recherches à persévérer.

Par ailleurs, ce qui peut favoriser l'usage du « platelet rich fibrin » est sa simplicité d'élaboration, permettant son utilisation en pratique courante. (Voir tableau récapitulatif). De surcroît, l'utilisation du propre sang du patient, sans aucune adjonction, peut être plus emballante.

	Platelet rich plasma, PRP	Platelet rich fibrin, PRF
Nature du sang	Sang autologue	Sang autologue
Présence d'anticoagulant	<ul style="list-style-type: none"> • CPDA • CDA • Citrate de sodium 	non
centrifugation	En deux temps : le plus souvent	unique
Mode d'application	Seringue d'auto-mélange	Prélèvement direct dans les tubes
Produit final	Formation d'un gel sous action de thrombine et de calcium	Caillot ou membrane
Mode de polymérisation	Brutal : constitution d'un réseau de fibrine rigide	Lente, réseau de fibrine plus lâche
Manipulation du sang	Oui, non autorisé en France	non

Tableau 5 : récapitulatif

Partie IV
IMPLICATIONS CLINIQUES DU PRF

1. PRF ET PRESERVATION DU CAPITAL OSSEUX

1.1. COMPLEMENT D'ALVEOLE POST-EXTRACTIONNEL

A la suite d'une extraction dentaire, le PRF peut être utilisé pour combler les alvéoles et ainsi favoriser la cicatrisation du site. Seul ou en association avec de l'os, le PRF favorise l'épithélialisation, la néoangiogenèse, la restructuration de l'alvéole et permet d'éviter la résorption des parois alvéolaires. [35, 48, 54]

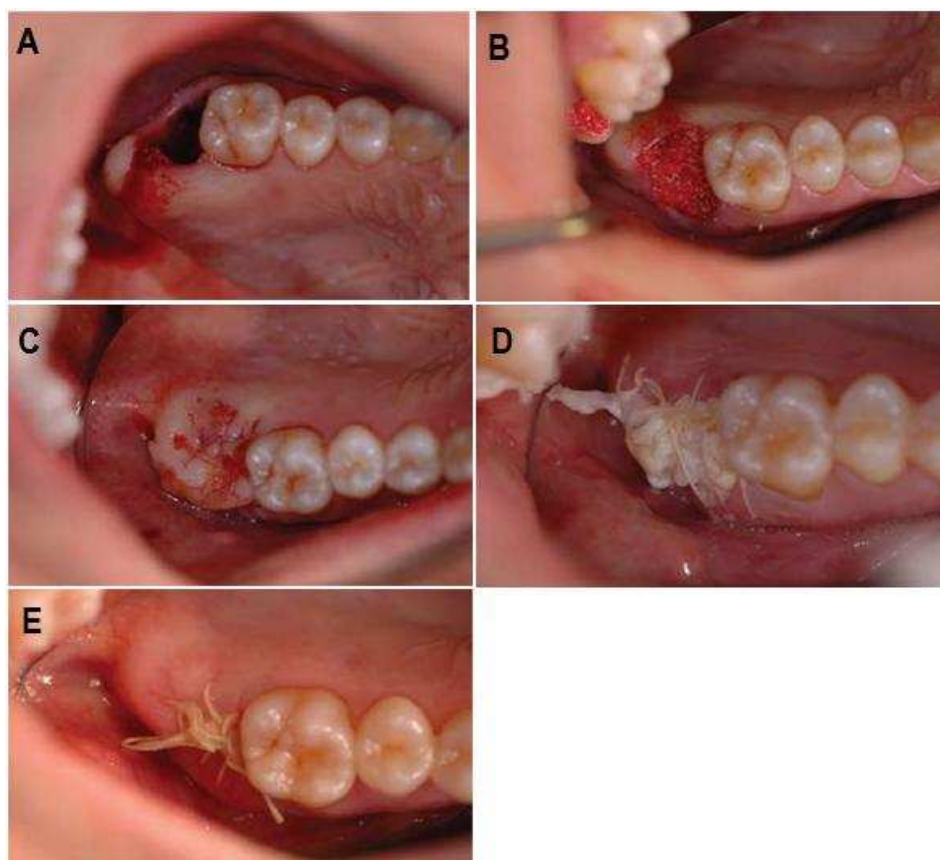


Figure 54 : comblement d'alvéole post extractionnel, d'après Del Corso et coll. [48]

(A) site d'extraction de 27. (B) comblement avec une allogreffe. (C) placement de la membrane de PRF et suture. (D) cicatrisation à 24h : la membrane protège le site d'extraction et stimule la cicatrisation. (E) cicatrisation à 15j.

La gestion des sites d'avulsion doit être réalisée avec soin de manière à ne pas compromettre le volume osseux et les aspects esthétiques. C'est pourquoi il peut être recommandé de combler l'alvéole au vu d'une future pose d'implant.

Agissant comme caillot naturel, le PRF permet d'augmenter le processus naturel de la cicatrisation, de faciliter la fermeture des tissus mous et d'obtenir un site implantable de grande qualité. [48, 54]

Utilisé comme membrane pour une régénération osseuse guidée, le PRF permet de protéger et de stabiliser les matériaux de substitution osseux et le site opératoire de manière plus générale. D'ailleurs, lorsque les berges de la plaie ne se rapprochent pas facilement, ce biomatériau autologue peut être utilisé en tant que membrane protectrice.

Par ailleurs, la texture même du PRF permet de suturer avec facilité. [48]

1.2 PRF ET MATERIAUX DE SUBSTITUTION OSSEUX

Adjoint à de l'os autogène ou allogène, le PRF améliore la cohésion et agit comme une colle biologique.

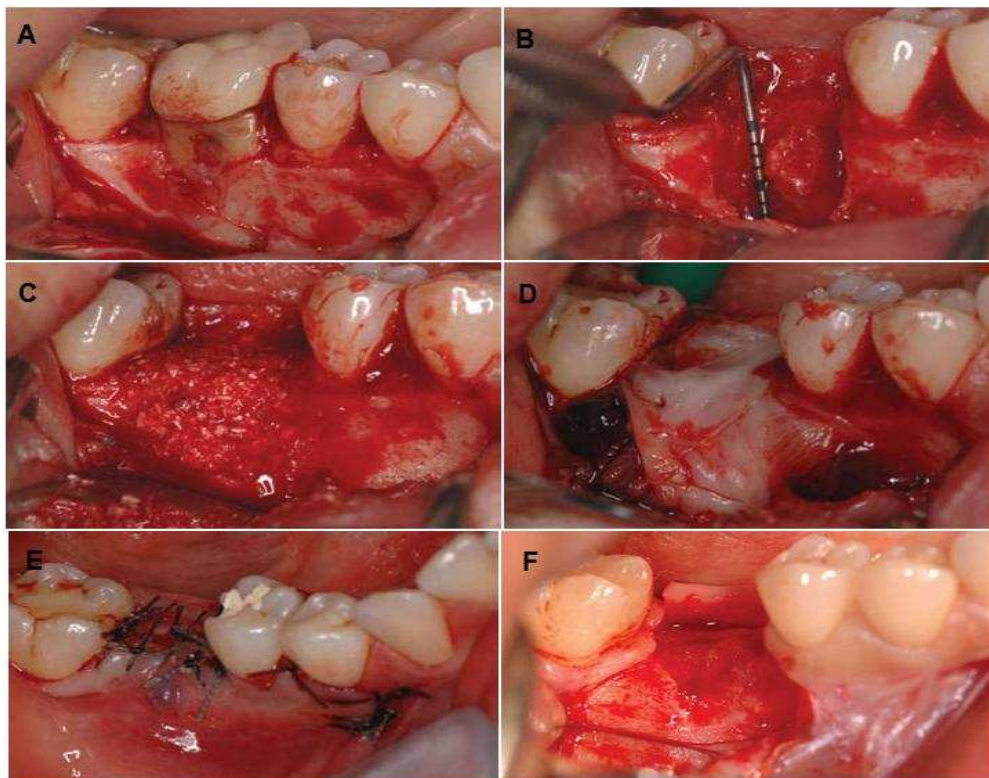


Figure 55 : (A) *Vue pré-opératoire.* (B) *Vue près extraction, noter le défaut osseux.* (C) *Adjonction de biomatériaux osseux mélangés avec le PRF découpés en morceaux.* (D) *Les membranes de PRF viennent protéger le site et sont suturées.* (E) *Fermeture du lambeau.* (F) *Cicatrisation osseuse à 3 mois, d'après Del Corso et coll. [48]*

1.3 PRF ET APPPOSITION OSSEUSE

En 2009, Simonpieri et al. [174] reporte le cas d'une reconstruction maxillaire complexe associant allogreffe osseuse et membranes de PRF. (Voir figures 56 et 57)

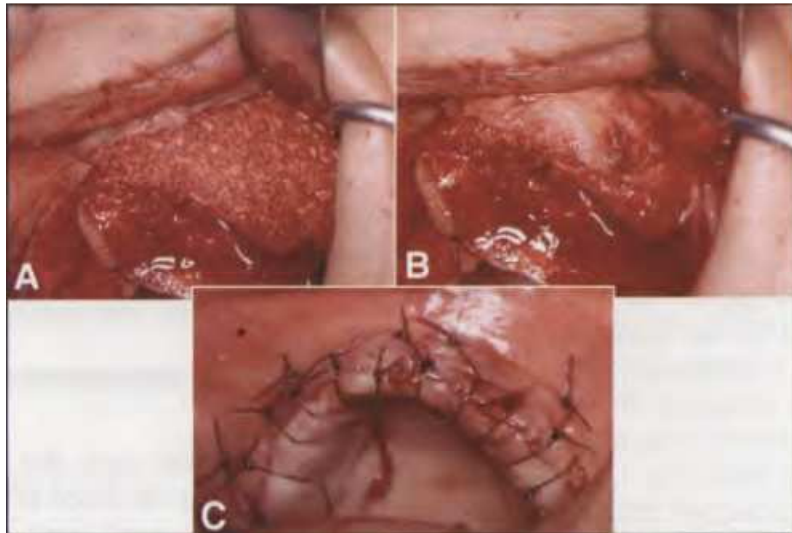


Figure 56 : reconstruction maxillaire complexe associant allogreffe osseuse et membranes de PRF, d'après Simonpieri et coll. [174]

Le protocole consiste en la combinaison de FDBA, membranes de PRF et d'une solution de métronidazole. Le mélange est utilisé pour combler le vestibule et pour augmenter la hauteur sous sinusienne. (A) De manière à protéger la greffe et optimiser la cicatrisation, des membranes de PRF ont été utilisées pour recouvrir entièrement le site. (B) Enfin, le lambeau a été replacé par-dessus l'apposition et suturé. (C)



Figure 57 : retrait des sutures à 3 jours post opératoire, les membranes de fibrine permettent une fermeture rapide du site, d'après Simonpieri et coll. [174]

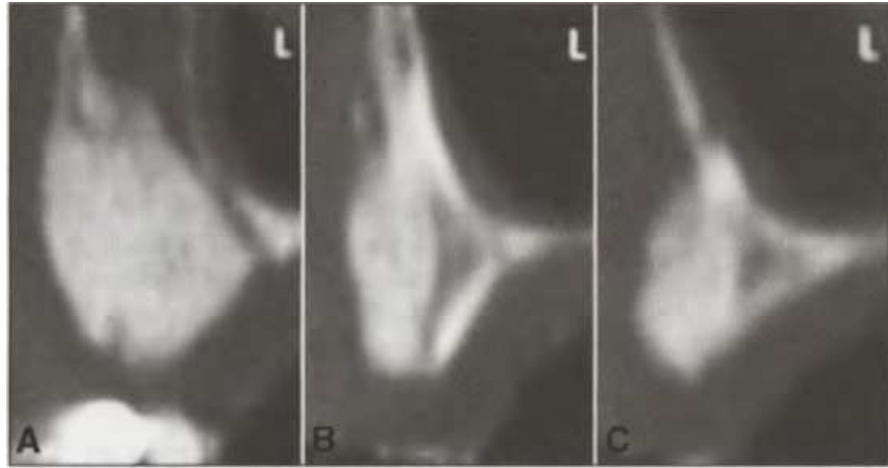


Figure 58 : images obtenues au scanner à 75 jours, montrant l'intégration de la greffe, en termes d'homogénéité et de volume, d'après Simonpieri et coll. [174]

Concernant les greffes osseuses endobuccales, le PRF agit comme liant, et augmente les chances de survie du greffon. A plus long terme, il est constaté des greffons mieux intégrés et mieux remodelés. [54]

Un article parut en 2009 [125] rapporte le cas d'un kyste osseux solitaire à la mandibule. Une année après un premier curetage seul, la réossification n'a pas été observée. Une réintervention a eu lieu. Après curetage, la cavité kystique a été comblée avec des membranes de PRF. Un examen de contrôle à 6 mois montrait un comblement total de la cavité.

2. PRF ET CHIRURGIE IMPLANTAIRE

L'implantation immédiate post-extractionnelle est une approche qui doit tenir compte à la fois de la cicatrisation post-extractionnelle, mais aussi de la phase d'ostéointégration des implants. [174] Ainsi, l'intérêt du PRF peut se manifester à différents niveaux :

- Mélangé avec de l'os autogène ou allogène, le PRF sert de liant aux particules osseuses permettant ainsi une accélération de la cicatrisation osseuse et donc celui du processus de l'ostéointégration. (voir figure 59)
- L'emploi des membranes de PRF permet de protéger, de stabiliser le greffon et d'accélérer la cicatrisation gingivale. (voir figure 60)

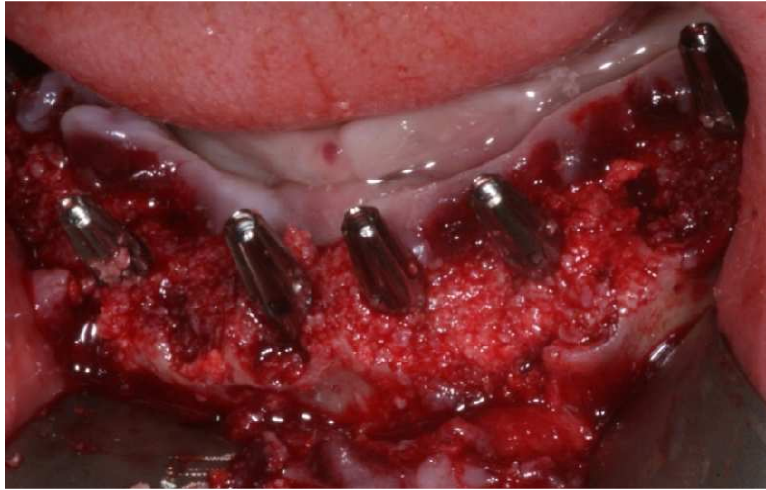


Figure 59 : mélange de BioOss et de PRF, placé autour des implants (cas du Dr Goch-tovtt)

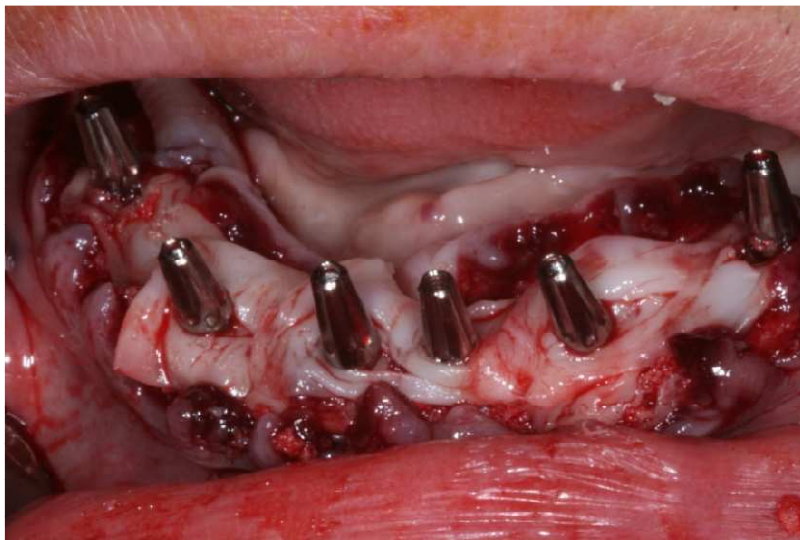


Figure 60 : mise en place de membranes perforées autour des implants (cas du Dr Goch-tovtt F.)

3. PRF ET CHIRURGIE DES SINUS MAXILLAIRES

3.1 PRF ET SOULEVE DU PLANCHER SINUSIEN

Fréquemment, l'indication de pose d'implant au maxillaire est limitée en raison d'une hauteur d'os insuffisante. C'est la raison pour laquelle, pour répondre à cette contrainte, des techniques de surélévation du plancher sinusien ont été développées.

Globalement l'idée est d'interposer un matériau de comblement sous la membrane de Schneider, ayant des propriétés ostéogéniques naturelles.

En fonction de la quantité d'os résiduel, diverses approches sont possibles :

- l'accès peut être latéral (protocole dérivé de la méthode de Caldwell-Luc) lorsque la résorption est importante
- ou crestal (ostéotomie de Summers) lorsque la hauteur d'os est peu résorbée.

La mise en place des implants peut se faire dans le même temps opératoire ou après un délai de 6 à 9 mois. [111, 139]

Mazor et al. [139] ont suivis, entre 2007 et 2008, 25 élévations de sinus avec pour seul matériau de comblement, le PRF, dont voici quelques illustrations.

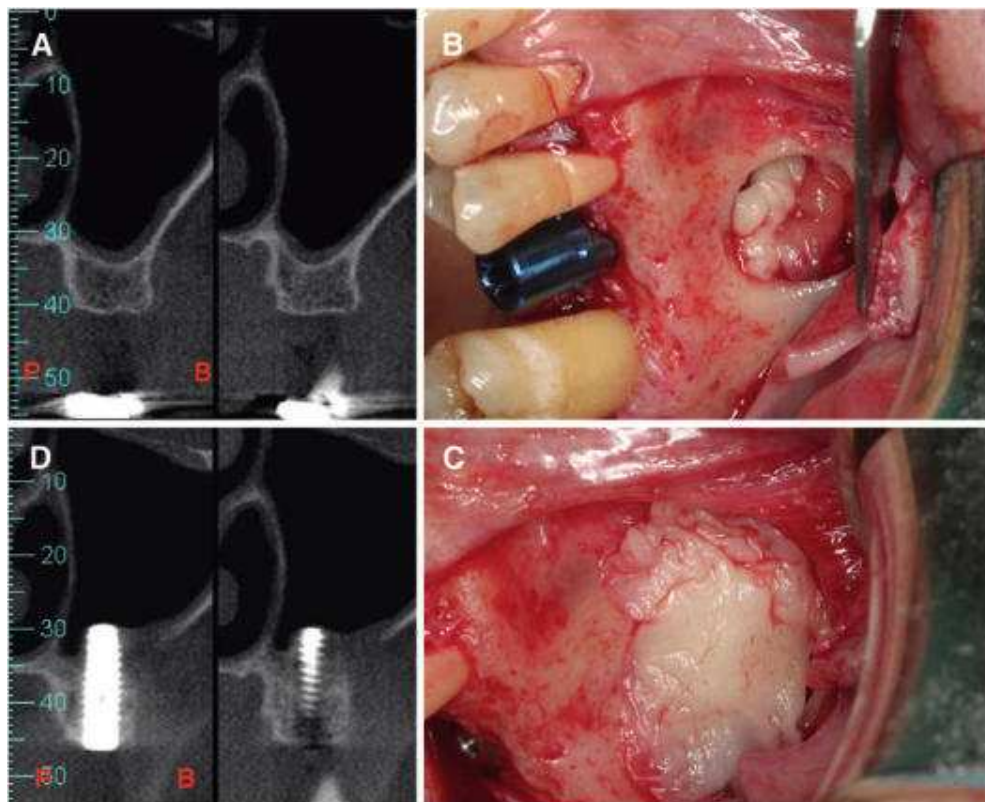


Figure 61 : (A) examen radiographique avant chirurgie, montrant une hauteur résiduelle de 6 mm, secteur de la première molaire. (B) seuls des caillots de PRF ont été utilisés pour combler le sinus et un implant de 15 mm été mis en place. (C) mise en place de membranes de PRF pour recouvrir la fenêtre latérale. (D) contrôle radiographique à 6 mois, Mazor et coll. [139]

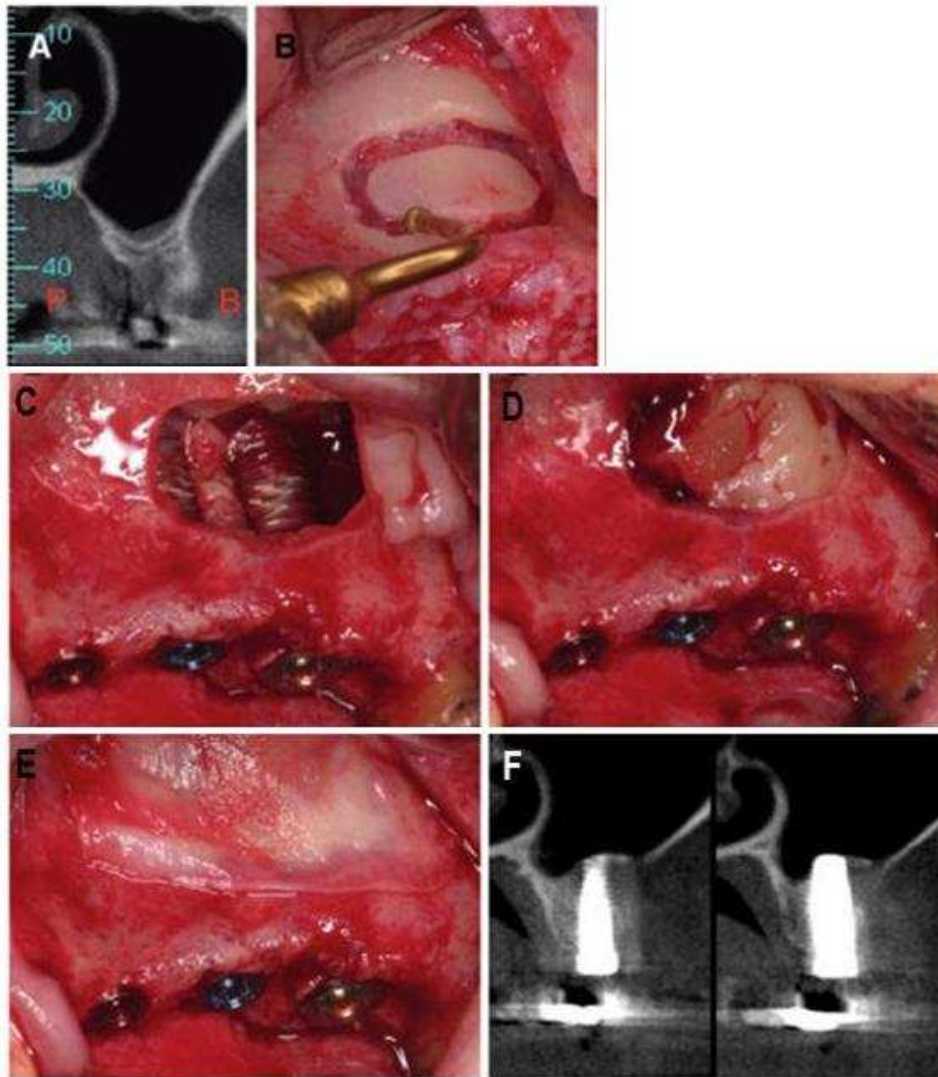


Figure 62 : (A) examen pré opératoire montrant une faible hauteur d'os résiduel, d'environ 2mm. (B) ostéotomie latérale (C) les implants sont placés dans la hauteur d'os résiduel, et maintiennent la membrane sinusienne colmatée par des membranes de PRF. (D) comblent par le PRF et (E) une dernière membrane vient fermer la fenêtre. (F) cliché radiographique à 6 mois montrant l'intégration osseuse des implants, Mazor et coll. [139]

De la même manière, le PRF peut être utilisé lors d'ostéotomie de Summers. [52]

3.2. PROTECTION DE LA MEMBRANE DE SCHNEIDER

Les membranes de PRF pourront aussi servir en cas de perforation de la membrane sinusienne. Mise en tant que barrière mécanique, elle favorise la cicatrisation de la membrane de Schneider en cas de déchirure de taille peu importante.

4. PRF ET GESTION DES TISSUS MOUS

4.1 PRF ET TRAITEMENT DES RECESSIONS GINGIVALES

Du lambeau déplacé coronairement aux techniques de greffes, il existe toute une variante de thérapeutiques à disposition pour le traitement des récessions gingivales et dénudations radiculaires de classe I et II dont l'usage du PRF.

Même si son apport, dans ce genre de traitement ne fait pas l'unanimité, ce biomatériau autologue constitue un outil supplémentaire à intégrer en fonction de la situation clinique.

Selon Aroca et al. [10] l'apport du PRF n'apporte pas de gain significatif en termes de recouvrement, comparé avec des techniques conventionnelles, mais améliore l'épaisseur de gencive attachée.

Jankovic et al. [100] ont confronté l'utilisation du PRF et celle des dérivés amélaire en association avec un lambeau déplacé coronairement. Les conclusions sont proches de celles d'Aroca et al. [10], cependant, l'intensité de la douleur était nettement réduite, en faveur du PRF. [100]

Enfin, Saadoun [160] reconnaît un meilleur rendu esthétique grâce au PRF.

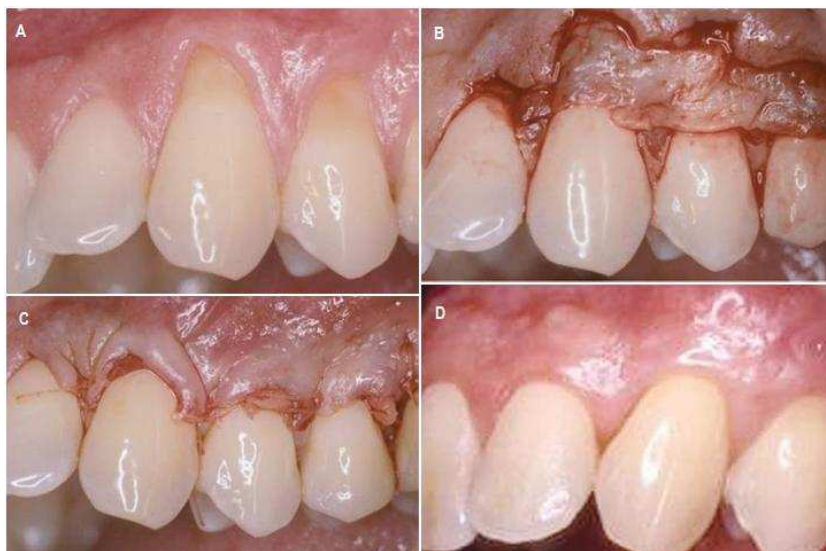


Figure 63 : (A) image préopératoire d'une récession de classe I concernant 23 et 24. (B) mise en place des membranes de PRF sur les récessions. (C) le lambeau recouvre les membranes sans tension. (D) cicatrisation à 1 an, d'après Saadoun et coll. [160]

Anilkumar et al. [6] reportent le cas d'un traitement d'une récession gingivale avec une membrane de PRF.

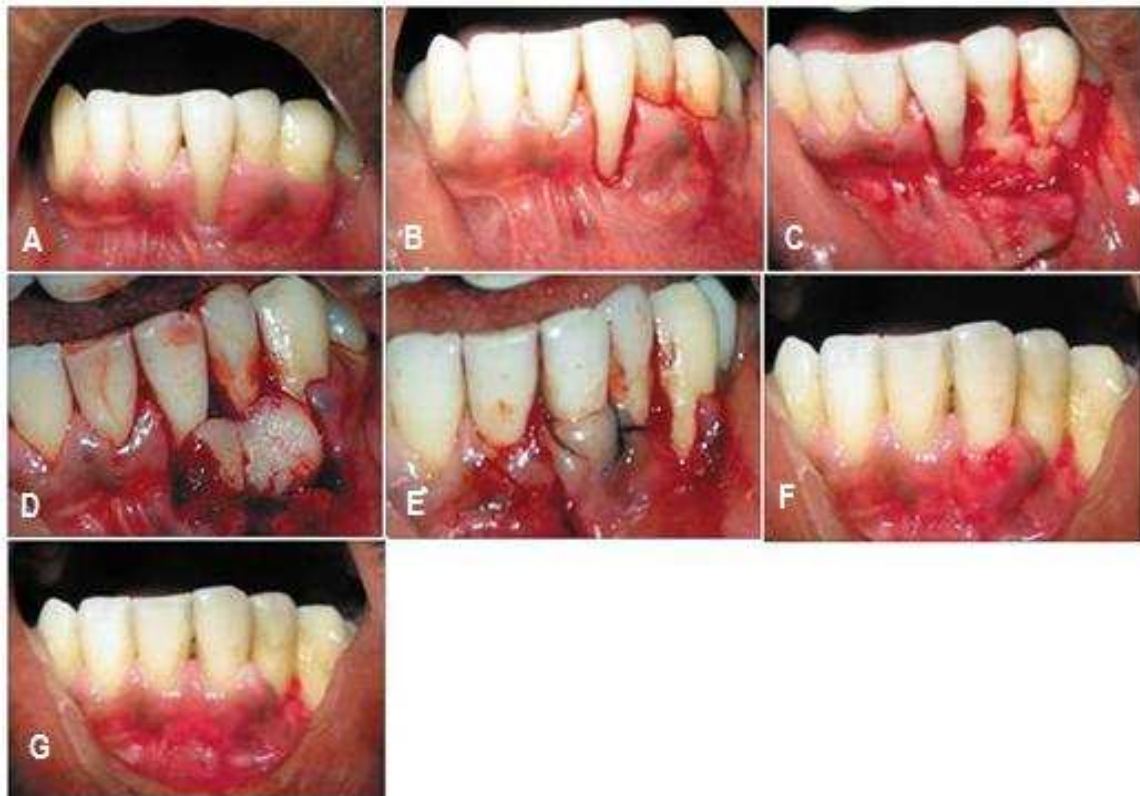


Figure 64 : (A) l'examen clinique révèle une perte d'attachement de 7mm et une distance de 5 mm entre la jonction émail cément et la gencive marginale en regard de 32. (B) tracé d'incision en biseau éliminant l'épithélium à la surface radiculaire. (C) levé du lambeau et préparation du site receveur. (D) une membrane de PRF est placée par-dessus la racine dénudée. (E) le lambeau est récliné de manière à recouvrir complètement la membrane et suturé. (F) cicatrisation à 10 jours. (G) cicatrisation à 6 mois, d'après Anilkumar et al. [6]

4.2 PRF ET CHIRURGIE MUCO GINGIVALE

Les membranes de PRF peuvent trouver leur indication dans la protection des sites de prélèvements palatins lors de greffe épithélio-conjonctive ou de conjonctif enfoui. Par protection mécanique du site, les membranes de PRF réduisent les sensibilités post opératoires, réputées douloureuses après ce genre de procédures. (voir figure 65)

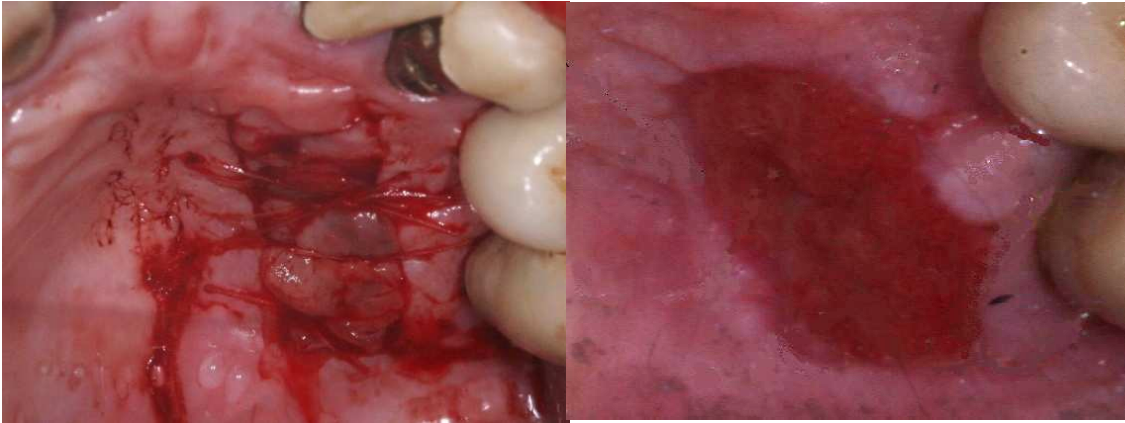


Figure 65 : Photos représentant le site de prélèvement palatin protégé par les membranes de PRF (cas du Dr Gochtovtt).

L'essentiel...

Utilisé dans divers domaines de la chirurgie orale, le PRF permet :

- D'accélérer la fermeture du site
- Un retrait plus rapide des sutures
- De stabiliser et de lier les matériaux de substitution osseuse
- De protéger le site des agressions extérieures grâce à une herméticité du site plus rapide
- D'apporter de meilleures suites opératoires en termes de réduction des douleurs et d'accélération de la cicatrisation

Outre ses propriétés cicatricielles, cette technique :

- Est peu onéreuse
- Permet d'obtenir une quantité suffisante de biomatériau autologue, provenant du patient lui-même

CONCLUSION

La découverte des colles de fibrine a permis une grande avancée dans le domaine de la chirurgie. Leur potentiel à favoriser l'hémostase et la cicatrisation, leur ont valu d'être largement utilisées dans de nombreux domaines.

Cependant, l'évolution permanente des techniques, notamment en chirurgie orale, implantaire et parodontale, demande davantage, en matière de cahiers des charges :

- Diminuer les délais de cicatrisation tout en préservant le confort du patient
- Optimiser la cicatrisation osseuse
- Posséder un potentiel ostéoinducteur
- Accélérer la cicatrisation gingivale...

L'engouement qu'ont suscité les colles de fibrine, a permis d'évoluer vers de nouveaux biomatériaux : les concentrés plaquettaires autologues. D'une génération, celle des PRP riche en facteurs de croissance, à une autre, celle du PRF, basée sur une matrice de fibrine, ces matériaux bioactifs ont montré leurs atouts en termes de cicatrisation. Et pour cause, ils possèdent de nombreux éléments, interagissant directement sur le processus de la cicatrisation.

Toutefois, les applications cliniques potentielles des concentrés plaquettaires sont sujettes à polémique. En effet, il n'existe pour l'heure, pas encore de réelles investigations pouvant réellement prouver les résultats cliniques constatés. Il manque, malgré toutes les constatations émises sur le sujet, notamment sur le potentiel à stimuler la cicatrisation, des protocoles d'analyses fiables, prédictibles et reproductibles.

Les constatations cliniques sont en avance par rapport aux preuves scientifiques. Et malgré des résultats encourageants, les recherches sont à approfondir pour apporter une validité scientifique complète.

Pour l'heure les concentrés plaquettaires autologues méritent leur place dans notre arsenal thérapeutique et même s'ils ne sont pas des produits miracles, il n'en reste pas moins qu'ils sont particulièrement efficaces pour potentialiser la cicatrisation, dans la limite du raisonnable.

TABLE DES ILLUSTRATIONS

TABLEAUX

Tableau 1 : volumes et densité des composants sanguin [43]	-12-
Tableau 2 : comparaison entre la colle de fibrine industrielle et autologue [158].....	-25-
Tableau 3 : protocoles employant une double centrifugation.....	-35-
Tableau 4 : intervenants caractéristiques de la cicatrisation, en fonction des différentes étapes [29].....	-82-
Tableau 5 : comparaison entre le PRP et le PRF.....	-121-

FIGURES

Figure 1 : les différents composants récupérés à partir du sang total.	- 14 -
Figure 2 : issue de la première centrifugation [65].....	- 32 -
Figure 3 : issue de la seconde centrifugation [65]	- 33 -
Figure 4 : seringue d'auto mélange pour l'application du gel de concentré plaquettaire. [65].-	34 -
Figure 5: seringue d'auto mélange du système GPS® [25]	- 34 -
Figure 6 et Figure 7 : système Smart PReP ®2.....	- 36 -
Figures 8 : procédure PRFM [194]et membrane [149]	- 36 -
Figure 9 : système GPS®.....	- 38 -
Figure 10 : système GPS III.....	- 38 -
Figure 11 : récupération du PRP et de la thrombine et prélèvement [25]	- 39 -
Figure 12: PRP et thrombine montés sur la seringue à double mélange [25]	- 39 -
Figure 13 : protocole PRGF [63]	- 40 -
Figure 14 : activation du PRP [7]	- 40 -
Figures 15 : kit ATR®-curasan.....	- 41 -
Figure 16 : tube après centrifugation permettant de distinguer les trois phases[59]	-52-
Figure 17: kit nécessaire pour le prélèvement sanguin [188]	- 53 -
Figure 18: prélèvement sanguin [1]	- 54 -
Figures 19 : centrifugeuse Process (PC-02, Process, Nice).....	- 54 -
Figure 20 : prélèvement du caillot de PRF, d'après [188].....	- 55 -
Figure 21 : PRF Box® [188].....	- 56 -
Figure 22 : mise en place des caillots de fibrine dans la PRF Box® [48]	- 56 -
Figure 23 : obtention des membranes après compression [48].....	- 57 -
Figure 24 : Plug de PRF [188]	- 57 -
Figure 25: PRF® associé au BioOss® [99].....	- 58 -
Figure 26: membrane de PRF®.....	- 58 -
Figure 27 : représentation d'une plaquette normale.	- 66 -
Figure 28 : mode d'action d'une cytokine [112]	- 68 -
Figure 29 : recrutement cellulaire et dynamique temporelle de la cicatrisation [112].....	- 73 -
Figure 30 : voies d'activation de la coagulation	- 76 -
Figure 31 : génération de la thrombine et fibrinof ormation.....	- 77 -
Figure 32 : cicatrisation de la plaie à 3jours [177]	- 79 -
Figure 33: plaie à 5jours [177]	- 81 -
Figure 34 : étapes du remodelage osseux, d'après [187].....	- 84 -
Figure 35 : Modélisation simplifiée d'une molécule de fibrinogène, d'après [65]	- 90 -
Figure 36 : Modélisation théorique des liaisons non covalentes [65].....	- 91 -
Figure 37 : Modélisation théorique de l'établissement des liaisons covalentes [65].....	- 92 -
Figure 38 : Modélisation théorique des jonctions condensées, rigides d'après [57].....	- 93 -

<i>Figure 39 : Modélisation théorique des jonctions branchées [57]</i>	- 94 -
<i>Figure 40 Modélisation de la structure tridimensionnelle issue du PRP [55]</i>	- 97 -
<i>Figure 41 : Modélisation de la structure tridimensionnelle issue du PRP[55]</i>	- 97 -
<i>Figure 42 : caillot obtenu après centrifugation [55]</i>	- 101 -
<i>Figure 43 : quantité de facteurs de croissance libérée à différents temps[93]</i>	- 102 -
<i>Figure 44 : décroissance bactérienne[144]</i>	- 107 -
<i>Figure 45 : inhibition de la croissance bactérienne autour du PRP [24]</i>	- 108 -
<i>Figure 46 : croissance de Pseudomonas aeruginosa au sein du PRP. [24]</i>	- 108 -
<i>Figure 47 : prolifération et survie des différentes cellules jusque 28j[61]</i>	- 110 -
<i>Figure 48 : évolution de la phosphatase alcaline dans 5 milieux de culture différents [61.</i>	- 111 -
<i>Figure 49 : coupe au microscope électronique d'une culture d'ostéoblastes mis en contact avec du PRF[61].</i>	- 111 -
<i>Figure 50 : histogramme d'après [62].</i>	- 112 -
<i>Figure 51 : quantification de l'activité de la phosphatase alcaline[62]</i>	- 113 -
<i>Figure 52 : quantification des nodules de minéralisation[62]</i>	- 113 -
<i>Figure 53 : cas d'une cicatrisation d'une radio nécrose, d'après [15]</i>	- 118 -
<i>Figure 54 : comblement d'alvéole post extractionnelle, d'après Del Corso et coll. [48]</i>	- 123 -
<i>Figure 55 : cas d'après Del Corso et coll. [48]</i>	- 124 -
<i>Figure 56 : reconstruction maxillaire complexe associant allogreffe osseuse et membranes de PRF, d'après Simonpieri et coll. [174]</i>	- 125 -
<i>Figure 57 : retrait des sutures à 3 jours post opératoire, d'après Simonpieri et coll. [174]</i>	- 125 -
<i>Figure 58 : scanner à 75 jours, d'après Simonpieri et coll. [174]</i>	- 126 -
<i>Figure 59 : mélange de BioOss et de PRF, placé autour des implants (cas du Dr Gochtovtt) .</i>	- 127 -
<i>Figure 60 : membranes perforées autour des implants (cas du Dr Gochtovtt F.)</i>	- 127 -
<i>Figure 61 : comblement de sinus, Mazor et coll. [139]</i>	- 128 -
<i>Figure 62 :cas d'après Mazor et coll. [139]</i>	- 129 -
<i>Figure 63 : cas d'une récession de classe I, d'après Saadoun et coll. [160]</i>	- 130 -
<i>Figure 64 : cas d'après Anilkumar et al. [6]</i>	- 131 -
<i>Figures 65 :site de prélèvement palatin protégé par les membranes de PRF.</i>	- 132 -

BIBLIOGRAPHIE

[1] **ABCDENT**

Applications cliniques des concentrés plaquettaires en chirurgie implantaire
www.abcdent.fr/pdf/prf3.pdf

[2] **AHMED TA, DARE EV, HINCKE M**

Fibrin: a versatile scaffold for tissue engineering applications.
Tissue Eng Part B Rev 2008; 14:199–215

[3] **ALIO JORGE L ; ABAD M. ; ARTOLA A.; RODRIGUEZ-PRATS J.L. et al.**

Use of autologous platelet-rich plasma in the treatment of dormant corneal ulcers.
Ophthalmology, Vol. 114, Numéro 7, 2007-07: 1286-1293

[4] **AMATORE GUILLAUME**

Le point sur les concentrés plaquettaires en 2010
Thèse odontologie Marseille, 2010

[5] **ANDREU G.**

Transfusion chez l'adulte : quels produits sanguins labiles ?
Médecine thérapeutique. Volume 3, Number 10, 813-9, Décembre 1997, Dossier : Transfusion sanguine

[6] **ANILKUMAR K, GEETHA A, UMASUDHAKAR, RAMAKRISHNAN T, et al.**

Platelet rich fibrin: a novel root coverage approach
J Indian Soc Periodontol. 2009 Jan; 13(1):50-4.

[7] **ANITUA E, SÁNCHEZ M, NURDEN AT, NURDEN P, ORIVE G, ANDÍA I.**

New insights into and novel applications for platelet-rich fibrin therapies.
Trends Biotechnol. 2006;24:227–234

[8] **ANITUA,E**

Use of plasma rich growth factors(PRGF) in oral surgery
Pract Proced Anesth Dent 2001; 13(6): 487-493

[9] **APPEL T.R., PÖTZSCH B. et MÜLLER J.**

"Comparaison of three different preparations of platelet concentrates for growth factor enrichment."
Clinical Oral Implant Research. 2002; 13, (5):522-528

[10] **AROCA S., KEGLEVICH T., BARBIERI B., GEERA I., ETIENNE D.**

Clinical evaluation of a modified coronally advanced flap alone or in combination with a platelet rich fibrin membrane for the treatment of adjacent multiple gingival recessions: a 6 month study
J.Periodontol. feb.2009, vol 20, number 2

[11] **ARPORNMAEKLONG P., KOHEL M., DEPPRICH R., KUBLER N.R. et WURZLER**

K.K. "Influence of platelet-rich plasma (PRP) on osteogenic differentiation of rat bone marrow stromal cells. An in vitro study."
International journal of oral and maxillofacial surgery. 2004; 33 : 60-70

[12] **AVALOS-GONZÁLEZ J., PORTILLA-DEBUEN E., LEAL-CORTÉS CA. et al.**

Reduction of the closure time of postoperative enterocutaneous fistulas with fibrin sealant
World J Gastroenterol. 2010 June 14; 16(22): 2793–2800

- [13] **BADR MOHAMED; COULTHARD PAUL; ALISSA RAMI; OLIVER RICHARD**
The efficacy of platelet-rich plasma in grafted maxillae. A randomised clinical trial.
European journal of oral implantology, Vol 3, Numéro 3, 2010: 233-44
- [14] **BAE J H ; KIM YK.; MYUNG SK.**
Effects of Platelet-Rich Plasma (PRP) on Sinus Bone Graft: Meta-Analysis.
Journal of periodontology, 2010-11-23
- [15] **BALLERINI G. TURZI A. BERNIER J.**
Efficacité du concentré plaquettaire Regenkit® dans le traitement des radioépidermites
http://www.regenkit.com/publication/2006_Ballerini_Bernier_Efficacite_du_concentre_plaquettaire_RegenKit.pdf.
- [16] **BANKS R.E., FORBES M.A, KINSEY S.E, STANLEY A., INGHAM E., et al.**
Release of the angiogenic cytokine vascular endothelial growth factor (VEGF) from platelets: significance for VEGF measurements and cancer biology.
Br J Cancer. 1998 March; 77(6): 956–964.
- [17] **BARRETT S, ERREDGE S.**
Growth factors for chronic plantar fasciitis.
Podiatry Today. 2004; 17:37–42.
- [18] **BEIERLEIN W, SCHEULE AM, DIETRICH W, ZIEMER G.**
Forty years of clinical aprotinin use: a review of 124 hypersensitivity reactions.
Ann Thorac Surg 2005;79:741–8
- [19] **BENSAID W, TRIFFITT JT, BLANCHAT C, OUDINA K, SEDEL L, PETITE H.**
A biodegradable fibrin scaffold for mesenchymal stem cell transplantation.
Biomaterials 2003;24:2497-502
- [20] **BERGEL S.**
Über Wirkung des Fibrins.
Dtsch Med Wochenschr 1909; 35:663-5 (in German).
- [21] **BERNSTEIN MEDICAL**
<http://www.bernsteinmedical.com/medical-treatment/medications/platelet-rich-plasma-prp/>
- [22] **BERTRAND-DUCHESNE, M.-P., GRENIER, D. AND GAGNON, G.**
Epidermal growth factor released from platelet-rich plasma promotes endothelial cell proliferation *in vitro*. Journal of Periodontal Research, 2010; 45: 87–93
- [23] **BEZEAUD ANNIE, GUILLIN MARIE-CLAUDE**
Physiologie de la coagulation
Encycl Méd Chir,hématologie, 13-019-A-20, 2001, 7p
- [24] **BIELECKI TM, GAZDZIK TS, ARENDT J, SZCZEPANSKI T, et al.**
Antibacterial effect of autologous platelet gel enriched with growth factors and other active substances-an *in vitro* study.
J Bone Joint Surg Br 2007;89-B(7):417-420

[25] **BIOMET**

http://www.cuneyttas.com/Calcibon-GPS_2_protocol.pdf

[26] **BORRIONE P, GIANFRANCESCO AD, PEREIRA MT, PIGOZZI F**

Platelet-rich plasma in muscle healing

Am J Phys Med Rehabil, October 2010, 89 (10): 854–61

[27] **BRACCINI F, DOHAN DM.**

The relevance of Choukroun's platelet rich fibrin (PRF) during facial aesthetic lipostructure (Coleman's technique): Preliminary results (in French).

Rev Laryngol Otol Rhinol (Bord) 2007; 128:255-260.

[28] **CANONICO SILVESTRO**

The use of Human Fibrin Glue in the surgical operations

Acta Bio Medica 2003; 74; Suppl. 2: 21-25

[29] **CARUELLE J-P, CASSIER P., HOUDRY J.**

La régénération

Editions Belin 2000

[30] **CERVELLI V.; L. LUCARINI; D.SPALLONE et al.**

Use of platelet-rich plasma and hyaluronic Acid in the loss of substance with bone exposure.

Advances in skin & wound care Vol. 24, Numéro 4, 2011-04: 176-81

[31] **CERVELLI, VALERIO; PIETRO GENTILE; BARBARA DE ANGELIS et al.**

Application of enhanced stromal vascular fraction and fat grafting mixed with PRP in post-traumatic lower extremity ulcers.

Stem cell research, Vol. 6, Numéro 2, 2011-03: 103-11

[32] **CHAING S., PETTIET M.**

Apport des Choukroun's PRF aux reconstructions gingivales et osseuses en parodontologie et implantologie

Mémoire de validation du diplôme universitaire de chirurgie buccale et d'implantologie 2011, Dijon

[33] **CHAMPSAUR A. ; GOUDEAU M. J. ; MARICHY J.**

Value of fibrin glue in the surgery of severely burned patients

Annales de chirurgie plastique et esthétique, 1991, vol. 36, no5, pp. 394-398

[34] **CHARRIER JB, MONTEIL JP, ALBERT S, COLLON S, BOBIN S, DOHAN EHRENFEST DM.**

Relevance of Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF) and SMAS flap in primary reconstruction after superficial or subtotal parotidectomy in patients with focal pleiomorphic adenoma: A new technique.

Rev Laryngol Otol Rhinol (Bord) 2008; 129:313-318.

[35] **CHARRIER PHILIPPE**

Intérêt du PRF (platelet Rich Fibrin) et des allogreffes en implantologie

Mémoire de validation du diplôme universitaire de chirurgie buccale et d'implantologie 2007

[36] **CHEN RR, MOONEY DJ**

Polymeric growth factor delivery strategies for tissue engineering.
Pharm Res 2003;20: 1103–1112

[37] **CHOUKROUN J, BRACCINI F, DISS A, GIORDANO G, DOGLIOLI P, DOHAN DM.**

Influence of platelet rich fibrin (PRF) on proliferation of human preadipocytes and tympanic keratinocytes: A new opportunity in facial liposstructure(Coleman's technique) and tympanoplasty?
Rev Laryngol Otol Rhinol (Bord) 2007; 128:27-32.

[38] **CHOUKROUN J.**

Questions-réponses sur le PRF

<http://www.dentalespace.com/dentiste/formation/67-questions-reponses-sur-prf.htm>

Mise en ligne : 16 novembre 2005

[39] **CHOUKROUN J., DISS A., SIMONPIERI A.**

Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part IV: Clinical effects on tissue healing

Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2006;101:E56-60

[40] **CHOUKROUN J., DISS A., SIMONPIERI A., GIRARD MO.**

Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part V: Histologic evaluations of PRF effects on bone allograft maturation in sinus lift

Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2006;101:299-303

[41] **CLARK RA.**

Fibrin and wound healing.

Ann N Y Acad Sci 2001; 936:355-67

[42] **COLOMBIER M-L, LESCLOUS P., TULASNE J-F**

La cicatrisation des greffes osseuses

Revue de Stomatologie et de Chirurgie Maxillo-Faciale Vol 106, N° 3 - juin 2005, pp. 157-165

[43] **CONSEIL DE L'EUROPE**

Guide pour la préparation, l'utilisation et l'assurance de qualité des composants sanguins

12^{ème} édition, édition du conseil de l'Europe, 2004, 284p

[44] **CRAMER BORDE E.**

Production plaquettaire : régulation cellulaire et moléculaire

EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), hématologie, 13-019-A-40, 2008

[45] **CREEPER, F., LICHANSKA, A. M., MARSHALL, R. I., SEYMOUR, G. J., IVANOVSKI, S.**

The effect of platelet-rich plasma on osteoblast and periodontal ligament cell migration, proliferation and differentiation.

Journal of Periodontal Research, 2009; 44: 258–265.

[46] **CURASAN**
www.curasan.com

[47] **DAVARPANA M., SZMUKLER S.**
Manuel d'implantologie clinique : concepts, protocoles et innovations récentes
Edition CDP, 2008-539p

[48] **DEL CORSO M, TOFFLER M, DOHAN EHRENFEST DM.**
Use of an Autologous Leucocyte and Platelet-Rich Fibrin (L-PRF) Membrane in Post-Avulsion Sites: An Overview of CHOUKROUN'S PRF.
Journ of Impl Advanc Clin Dent 2010 Dec/Jan; 1(10):27-35

[49] **DENTALESPACE**
<http://www.dentalespace.com/dentiste/formation/263-legislation-prf-chirurgie-dentaire-en-stomatologie.htm>

[50] **DIETRICH W, EBELL A, BUSLEY R, BOULESTEIX AL.**
Aprotinin and anaphylaxis: analysis of 12,403 exposures to Aprotinin in cardiac surgery.
Ann Thorac Surg 2007;84:1144-50

[51] **DIRECTION GENERALE DE LA SANTE - MINISTERE DE LA SANTE ET DES SOLIDARITES**
http://www.sante.gouv.fr/IMG/pdf/Guide_de_prevention_des_infections_liees_aux_soins_en_chirurgie_dentaire_et_en_stomatologie.pdf
Deuxième Edition, juillet 2006

[52] **DISS, A., DOHAN, D.M., MOUHYI, J., MAHLER, P.**
Osteotome sinus floor elevation using Choukroun's platelet-rich fibrin as grafting material: a 1-year prospective pilot study with microthreaded implants
Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology 2008,105 (5), pp. 572-579

[53] **DITTMANN M.**
Guide et notices explicatives pour le prélèvement sanguin veineux
VACUETTE® Blood Collection Techniques, 2009
www.gbo.com/preanalytics

[54] **DOHAN D, DISS A**
Report of the 2nd international symposium on growth factors (syfac 2005)
Implantodontie 2005 ;14 (3) : 116-25

[55] **DOHAN DM, CHOUKROUN J., DISS A.**
Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part II: platelet-related biologic features.
Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2006 Mar; 101(3):e45-50. Epub 2006 Jan 10.

[56] **DOHAN DM. CHOUKROUN J.**

PRP, cPRP, PRF, PRG, PRGF, FC ... How to find your way in the jungle of platelet concentrates?
OOOOE vol.103, number 3: 56-61 2009

[57] **DOHAN DM. CHOUKROUN J., DISS A.**

Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part I: technological concepts and evolution.

Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2006 Mar; 101(3):e37-44. Epub 2006 Jan 19.

[58] **DOHAN DM., CHOUKROUN J., DISS A.**

Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part III: Leucocyte activation: A new feature for platelet concentrates?

Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2006;101:E51-5

[59] **DOHAN DM; DEL CORSO M.; CHARRIER JB**

letters to the editor

OOOOE 2007; vol. 103, number 5

[60] **DOHAN EHRENFEST D., DEL CORSO M, DISS A**

Three dimensional architecture and cell composition of choukroun's platelet rich fibrin clot and membrane

Journal of Periodontology 2010, vol 81, n4, p 546-555

[61] **DOHAN EHRENFEST D.M., DISS A., ODIN G., DOGLIOLI P., et al.**

In vitro effects of Choukroun's PRF (platelet-rich fibrin) on human gingival fibroblasts, dermal prekeratinocytes, preadipocytes, and maxillofacial osteoblasts in primary cultures

Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology 2009,108 (3), pp. 341-352

[62] **DOHAN EHRENFEST DM, DOGLIOLI P., DE PEPPA GM., et al.**

Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF) stimulates in vitro proliferation and differentiation of human oral bone mesenchymal stem cell in a dose-dependent way

Arch Oral Biol. 2010 Mar; 55(3):185-94. Epub 2010 Feb 21.

[63] **DOHAN EHRENFEST DM., RASMUSSEN L., ALBREKTSSON T.**

Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF)

Trends in Biotechnology 2009,27 (3), pp. 158-167

[64] **DOHAN EHRENFEST, DM., DE PEPPA, GM., DOGLIOLI, P., SAMMARTINO, G**

Slow release of growth factors and thrombospondin-1 in Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF): a gold standard to achieve for all surgical platelet concentrates technologies

Growth Factors,2009; 27:1,63 — 69

[65] **DOHAN S., DOHAN A., CHOUKROUN J., DISS A.**

De l'usage des concentrés plaquettaires autologues en application topique

EMC-Odontologie, volume 1, issue 2, juin 2005, p.141-180

- [66] **DORI F.**
Effect of combined therapeutic methods on healing of periodontal vertical bone defects in regenerative surgery
Orv Hetil. 2009 Mar 15; 150(11):517-22. Hungarian.
- [67] **DUGRILLON A., EICHLER H., KERN S. et KLÜTER H.**
"Autologous concentrated platelet-rich plasma (cPRP) for local application in bone regeneration."
Internal Journal of Oral and Maxillofacial Surgery. 2002; 31: 615-619
- [68] **EDWARDS SG, CALANDRUCCIO JH.**
Autologous blood injections for refractory lateral epicondylitis.
Am J Hand Surg. 2003; 28(2): 272–8.
- [69] **ELALAMY ISMAËL, SAMAMA MEYER-MICHEL**
Physiologie de l'hémostase
Encycl Méd Chir, angiologie 19-0100, 2001, 6p
- [70] **ENGLERT SJ, ESTEP TH, ELLIS-STOLL CC.**
Autologous platelet gel applications during cardiovascular surgery: effect on wound healing.
J Extra Corpor Technol 2005;37:148-152
- [71] **EPPLEY BARRY L.; PIETRZAK WILLIAM S.; BLANTON MATTHEW**
Platelet-Rich Plasma: A Review of Biology and Applications in Plastic Surgery
Plastic Reconstructive Surgery, Volume 118(6), November 2006, pp 147e-15
- [72] **EVERTS P, DEVILEE R, MAHONEY C, EEF TINCK-SCHATTENENKERK M, et al.**
Platelet gel and fibrin sealant reduce allogeneic blood transfusions in total knee arthroplasty. Acta Anaesthesiol Scand. 2006; 50:593–9.
- [73] **EVERTS PA, VAN ZUNDERT A, SCHONBERGER JP, DEVILEE RJ, KNAPE JT.**
What do we use: platelet-rich plasma or plateletleukocyte gel?
J Biomed Mater Res A 2008; 85(4):1135–6.
- [74] **EVERTS PAM, JAKIMOWICZ JJ, VAN BEEK M, et al.**
Reviewing the structural features of autologous platelet leukocyte gel and suggestions for use in surgery.
Eur Surg Res 2007;39:199–207
- [75] **FOSTER TE, PUSKAS BL, MANDELBAUM BR, GERHARDT MB, RODEO SA**
Platelet-rich plasma: from basic science to clinical applications
Am J Sports Med, November 2009, 37 (11): 2259–72.
- [76] **FRAYSSINET P., GUICHET J-M**
Aspects cellulaires de la régénération osseuse
Rôle du périoste et de la moelle osseuse
Revue de Chirurgie Orthopédique et Traumatologique Vol 90, N° 8 - décembre 2004, p.765-770

- [77] **FRECHETTE J.-P., MARTINEAU I. et GAGNON G.**
 "Platelet-rich Plasmas: Growth Factor Content and Roles in Wound Healing."
 Journal of Dental Research. 2005; 84, (5):434-439
- [78] **FROUM, S. J., WALLACE, S. S., TARNOW, D. P., ET AL.**
 Effect of platelet-rich plasma on bone growth and osseointegration in human maxillary sinus grafts:
 Three bilateral case reports.
 Int. J. Periodontics Restorative Dent. 22: 45, 2002.
- [79] **GARDNER MJ, DEMETRAKOPOULOS D, KLEPCHICK P, MOOAR P.**
 The efficacy of autologous platelet gel in pain control and blood loss in total knee arthroplasty: an
 analysis of the haemoglobin, narcotic requirement and range of motion.
 Int Orthop. 2006;31:309–13.
- [80] **GÄBLING, V.L.W., AÇIL, Y., SPRINGER, I.N., HUBERT, N., WILTFANG, J.**
 Platelet-rich Plasma and Platelet-rich fibrin in human cell culture
 Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology 2009,108 (1),
 pp. 48-55
- [81] **GAULTIER F., NAVARRO G., DONSIMONI JM., DOHAN D.**
 Concentrés plaquettaires : technologies, biologie associée, applications cliniques, analyses histolo-
 giques 3e partie : applications cliniques
 Implantodontie 13 (2003) 3-11
- [82] **GEHRING, S., HOERAUF, H., LAQUA, H., KIRCHNER, H. AND KLÜTER, H. (1999),**
 Preparation of autologous platelets for the ophthalmologic treatment of macular holes.
 Transfusion, 39: 144–148.
- [83] **GIBBLE JW. NESS PM.**
 Fibrin glue: the perfect operative sealant?
 Transfusion, volume 30, issue 8, p. 741-747, oct 1990
- [84] **GOSENS TACO; PEERBOOMS JOOST C; VAN LAAR WILBERT; et al.**
 Ongoing Positive Effect of Platelet-Rich Plasma Versus Corticosteroid Injection in Lateral Epicon-
 dylitis: A Double-Blind Randomized Controlled Trial With 2-Year Follow-Up.
 The American journal of sports medicine, 2011-03-21
- [85] **GRAZIANI F, IVANOVSKI S, CEI S, DUCCI F, TONETTI M, GABRIELE M.**
 The in vitro effect of different PRP concentrations on osteoblasts and fibroblasts.
 Clin Oral Implants Res 2006;17(2):212–9
- [86] **GREY EG.**
 Fibrin as a haemostatic in cerebral surgery.
 Surg Gynecol Obstet 1915; 21:452-4.

[87] **GUNAYDIN S ; MCCUSKER K.; SARI T.; ONUR M.; GURPINAR A. ; SEVIM H.**
Clinical impact and biomaterial evaluation of autologous platelet gel in cardiac surgery.
Perfusion Vol. 23, Numéro 3 2008-05; p.179-86

[88] **GUREVICH O, VEXLER A, MARX G, PRIGOZHINA T, LEVDANSKY L, SLAVIN S, ET AL.**
Fibrin microbeads for isolating and growing bone marrow-derived progenitor cells capable of forming bone tissue.
Tissue Eng 2002;8(4):661–72

[89] **HAN, J., MENG, H. X., TANG, J. M., LI, S. L., TANG, Y. AND CHEN, Z. B.**
The effect of different platelet-rich plasma concentrations on proliferation and differentiation of human periodontal ligament cells *in vitro*.
Cell Proliferation, 2007. 40: 241–252

[90] **HARVEST**
www.harvesttech.com

[91] **HARVEY SC.**
The use of fibrin paper and forms in surgery.
Boston Med Surg J 1916; 174:658-9.

[92] **HAYNESWORTH SE, KADIYALA S, LIANG LN, ET AL:**
Mitogenic stimulation of human mesenchymal stem cells by platelet release suggest a mechanism for enhancement of bone repair by platelet concentrates.
Presented at the 48th Meeting of the Orthopedic Research Society, Boston, MA, 2002

[93] **HE LING , LIN YE, HU XIULIAN, ZHANG YU, WU HUI**
A comparative study of platelet-rich fibrin (PRF) and platelet-rich plasma (PRP) on the effect of proliferation and differentiation of rat osteoblasts in vitro
OOOOE, vol.108, number 5: 707-713 2009

[94] **HERMANN ARNAUD**
Actualisation des techniques d'immobilisation du greffon dans la greffe gingivale. Etude critique d'un nouveau procédé biologique d'hémostase et d'adhésion tissulaire
Thèse od. Nancy, 1984

[95] **HOROWITZ B, BUSH M**
Estimating the pathogen safety of manufactured human plasma products: application to fibrin sealants and to thrombin
Transfusion 2008; 48(8): 1739-53

[96] **HSU C.W., YUAN K., TSENG C.C**
The negative effect of platelet rich plasma on the growth of human cells is associated with secreted thrombospondin-1
Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology, vol 107, issue 2, feb 2009, p185-92

[97] **IKRAMUDDIN AUKHIL**

Biology of wound healing

Periodontology 2000, Vol. 22, 2000, 44–50

[98] **IMBERT M., JOUAULT H.**

Hémogramme: prélèvement de sang

EMC (Elsevier Masson SAS), Biologie Médicale, 90-15-0090, 2003

[99] **INCHINGOLO F., TATULLO M., MARELLI M., INCHINGOLO A.M. ET AL.**

Trial with Platelet-Rich Fibrin and Bio-Oss used as grafting materials in the treatment of the severe maxillar bone atrophy: clinical and radiological evaluations

European Review for Medical and Pharmacological Sciences, 2010 Dec; 14(12):1075-84.

[100] **JANKOVIC S, ALEKSIC Z, MILINKOVIC I, DIMITRIJEVIC B.**

The coronally advanced flap in combination with platelet-rich fibrin (PRF) and enamel matrix derivative in the treatment of gingival recession: a comparative study.

Eur J Esthet Dent 2010 Autumn;5(6):260-73.

[101] **KASSOLIS, J. D., ROSEN, P. S., AND REYNOLDS, M. A.**

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

J. Periodontol. 71: 1654, 2000

[102] **KAUX J-F, ET AL.**

Étude comparative de cinq techniques de préparation plaquettaire (platelet-rich plasma).

Pathol Biol (Paris) (2009), doi:10.1016/j.patbio.2009.04.007

[103] **KAWAMURA M, URIST MR.**

Human fibrin is a physiologic delivery system for bone morphogenetic protein.

Clin Orthop Relat Res 1988;302-10

[104] **KAWASE, TOMOYUKI; KAZUHIRO OKUDA; YOSHINORI SAITO; HIROMASA YOSHIE**

In vitro evidence that the biological effects of platelet-rich plasma on periodontal ligament cells is not mediated solely by constituent transforming-growth factor-beta or platelet-derived growth factor.

Periodontology Vol 76 Numéro 5 Date 2005-05 Pages: 760-7

[105] **KHALAFIA REZA S., BRADFORD DARIEN W., WILSON MICHAEL G.**

Topical application of autologous blood products during surgical closure following a coronary artery bypass graft

Eur J Cardiothorac Surg 2008;34:360-364.

[106] **KIRAN N, MUKUNDA K, TILAK RAJ T**

Platelet Concentrates: A Promising Innovation In Dentistry

Journal of Dental Sciences & Research, February 2011, 2:1: Pages 50-61

- [107] **KOBER BENJAMIN J., SCHEULE ALBERTUS M., VOTH VLADIMIR**
Anaphylactic Reaction After Systemic Application of Aprotinin triggered by Aprotinin-Containing Fibrin Sealent
A&A august 2008, vol. 107 no.2 406-409
- [108] **KOLATA GINA**
Popular Blood Therapy May Not Work
New York Times, January 12, 2010
- [109] **KOOLWIJK P., VAN ERCK MG, DE VREE WJ**
Cooperative effect of TNFa, bFGF, and VEGF on the formation of tubular structures of human microvascular endothelial cells in a fibrin matrix. Role of urokinase activity
J Cell Biol 1996; 132(6):1177-88
- [110] **KOSKIEVIC J, GAREL JM, ROUAH Y.**
Facteurs de croissance plaquettaires en implantologie orale: mythes ou réalités? 1ère partie : Aspects fondamentaux
Implant 2003 ; 9(4):263-281
- [111] **L'HERITIER JULIEN**
Apport des facteurs de croissance dans la gestion de la cicatrisation après chirurgie reconstructrice maxillo-mandibulaire
Thèse odontologie Nancy, 2005
- [112] **LE PILLOUER-PROST A., COULOMB B.**
Physiologie de la cicatrisation cutanée
Cosmétologie et Dermatologie esthétique, EMC
- [113] **LEFRERE JJ., SCHVED JF.**
Transfusion en hématologie
John Libbey Eurotext, 2010 - 591 pages
- [114] **LEITNER, G. C., GRUBER, R., NEUMÜLLER, J., et al.**
Platelet content and growth factor release in platelet-rich plasma: a comparison of four different systems. Vox Sanguinis, 2006 ; 91: 135–139. doi: 10.1111/j.1423-0410.2006.00815.x
- [115] **LEW WK, WEAVER FA.**
Clinical use of topical thrombin as a surgical hemostat.
Biologics. 2008 Dec; 2(4):593-9.
- [116] **LOO WEE LIM, LEE DAVE YH, SOON MICHAEL YH**
Plasma Rich in Growth Factors to Treat Adductor Longus Tear
Annals Academy of Medicine, Letter to the editor, August 2009, Vol. 38 No. 8

- [117] **LÓPEZ-LÓPEZ J, CHIMENOS-KÜSTNER E, MANZANARES-CESPEDES C, et al.**
Histomorphological study of the bone regeneration capacity of platelet-rich plasma, bone marrow and tricalcium phosphate Experimental study on pigs.
Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2009 Aug 13
- [118] **LOZADA J.L., CAPLANIS N., PROUSSAEFS P., WILLARSEN J. et KAMMEYER G.**
"Platelet-Rich Plasma: application in sinus graft surgery, part I-Background and processing techniques." Journal of Oral Implantology. 2001 ; 27, (1):38-42
- [119] **LUCARELLI E, BECCHERONI A, DONATI D, et al.**
Platelet-derived growth factors enhance proliferation of human stromal stem cells.
Biomaterials 2003;24(18):3095–100
- [120] **LUI Y, KALEN A, RISTO O, et al.**
Fibroblast proliferation due to exposure to a platelet concentrate in vitro is pH dependent.
Wound Repair Regen 10:336, 2002
- [121] **LYNCH SAMUEL E., MARX ROBERT E., NEVINS MYRON, WISNER-LYNCH LESLIE A.**
Tissue engineering.Applications in Oral and Maxillofacial Surgery and Periodontics
second edition quintessence books 2008
- [122] **LYNCH S.E., NIXON J.C., COLVIN R.B., ANTONIADES H.N.**
Role of platelet-derived growth factor in wound healing: synergistic effects with other growth factors.
Proc Natl Acad Sci USA. 1987 November; 84(21): 7696-7700
- [123] **MACRI L, SILVERSTEIN D, CLARK RA:**
Growth factor binding to the pericellular matrix and its importance in tissue engineering.
Adv Drug Deliv Rev 2007;59:1366–1381
- [124] **MAGALON GUY, VANWIJCK ROMAIN**
Guides des plaies : du pansement à la chirurgie
John libbey eurotext, 2003, 253p
- [125] **MAGREMANNE M, BAEYENS W, AWADA S, VERVAET C.**
Solitary bone cyst of the mandible and platelet rich fibrin (PRF)
Rev Stomatol Chir Maxillofac. 2009 Apr; 110(2):105-8. Epub 2009 Mar 26. French
- [126] **MALIK VK, KUMAR S**
Use of fibrin glue in the management of recurrent pterygium by conjonctival autograft.
Saudi Med J. dec 2010; 31(12): 1326-30
- [127] **MAMAN DOMINIQUE**
L'utilisation du plasma riche en plaquettes et de la fibrine riche en plaquettes dans le traitement des fractures chez le chien
Thèse vétérinaire, Lyon, 25 septembre 2008

[128] **MAN, D., PLOSKER, H., AND WINLAND-BROWN, J. E.**

The use of autologous platelet-rich plasma (platelet gel) and autologous platelet-poor plasma (fibrin glue) in cosmetic surgery.

Plast. Reconstr. Surg. 107: 229-37, 2001.

[129] **MARIN ANNE**

Les colles tissulaires: colles acryliques et colles GRF, colles de fibrine leur intérêt en chirurgie

Thèse pharmacie, 1987, Nancy

[130] **MARKOPOULOU CE, MARKOPOULOS P, DEREKA XE, PEPELASSI E, VROT-SOS IA.**

Effect of homologous PRP on proliferation of human periodontally affected osteoblasts. In vitro preliminary study. Report of a case.

J Musculoskelet Neuronal Interact. 2009 Jul-Sep; 9(3):167-72.

[131] **MARTIN P, LEIBOVICH SJ.**

Inflammatory cells during wound repair: the good, the bad and the ugly.

Trends Cell Biol 2005; 15:599-607

[132] **MARTINEZ JM, CANO J, GONZALO JC, CAMPO J, ESPARZA GC, SEOANE JM.**

¿Existen riesgos al utilizar los concentrados de Plasma Rico en Plaquetas (PRP) de uso ambulatorio?

Medicina Oral 2002; 7: 375-90.

[133] **MARX RE**

Platelet-rich plasma: evidence to support its use

J. Oral Maxillofac. Surg. April 2004; 62 (4): 489–96

[134] **MARX R.E.**

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

Implant Dent 2001 ; 10 (4) : 225-228

[135] **MARX R.E., CARLSON E.R., EICHSTAEDT R.M., SCHIMMELE S.R., et al.**

Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. Oral Surg Oral Med Oral Pathol

Oral Radiol Endod 1998 ; 85 (6) : 638-646

[136] **MASAYUKI HINO, OSAMU ISHIKO, KEN-ICHI HONDA**

Transmission of symptomatic parvovirus B19 infection by fibrin sealant used during surgery

British Journal of Haematology, 2000, 108, 194±195

[137] **MATRAS H, DINGES HP, LASSMANN H, MAMOLI B.**

Suture-free interfascicular nerve transplantation in animal experiments.

Wien Med Wochenschr 1972;122:517-23

[138] **MAXIME ANGELI, HABERSTICH LISE**

Le PRF en implantologie : indications et techniques

Mémoire de validation diplôme universitaire de chirurgie buccale et d'implantologie 2006, Dijon

- [139] **MAZOR Z., HOROWITZ RA., DEL CORSO M., et al.**
Sinus Floor Augmentation With Simultaneous Implant Placement Using Choukroun's Platelet-Rich Fibrin as the Sole Grafting Material: A Radiologic and Histologic Study at 6 Months
J. Periodontol dec 2009, vol 80, number 12
- [140] **MAZZUCCO, L., BALBO, V., CATTANA, E., GUASCHINO, R. AND BORZINI, P.**
Not every PRP-gel is born equal Evaluation of growth factor availability for tissues through four PRP-gel preparations: Fibrinet®, RegenPRP-Kit®, Plateltex® and one manual procedure.
Vox Sanguinis, 2009; 97: 110–118. doi: 10.1111/j.1423-0410.2009.01188.x
- [141] **MEAUME SYLVIE, TEOT LUC, DEREURE OLIVIER**
Plaies et cicatrisations
Elsevier Masson, 2005, 456p
- [142] **MEYER C., CHATELAIN B., BENARROCH M., et al.**
Massive sinus-lift procedures with b-tricalcium phosphate: Long-term results
Rev Stomatol Chir Maxillofac 2009;110:69-76
- [143] **MISHRA A, PAVELKO T.**
Treatment of chronic elbow tendinosis with buffered platelet-rich plasma.
Am J Sports Med. 2006;10(10):1–5
- [144] **MOOJEN DJ, EVERTS PA, SCHURE RM, OVERDEVEST EP, et al.**
Antimicrobial activity of plateletleukocyte gel against Staphylococcus aureus.
J Orthop Res 2008;26(3):404–10
- [145] **MOOREN RE, HENDRIKS EJ, VAN DEN BEUCKEN JJ, MERKX MA, et al.**
The effect of platelet-rich plasma in vitro on primary cells: rat osteoblast-like cells and human endothelial cells.
Tissue engineering. Part A Volume 16 Numéro 10 Date 2010-10 Pages: 3159-72
- [146] **NAGATA MARIA J. H., MESSORA MICHEL R., FURLANETO FLÁVIA A. C., et al.**
Effectiveness of Two Methods for Preparation of Autologous Platelet-Rich Plasma: An Experimental Study in Rabbits
Eur J Dent. 2010 October; 4(4): 395–402
- [147] **NEHLS, V. & R. HERRMANN.**
The configuration of fibrin clots determines capillary morphogenesis and endothelial cell migration.
Microvasc. Res. 1996 ; **51**: 347–364.
- [148] **NISAND D.**
Position de la SFPIO sur le PRF
<http://www.sfparo.org/espace-praticiens-et-membres/les-recommandations-de-la-sfpio/45-position-de-la-sfpio-sur-le-prf.html>

[149] **O'CONNELL SM., IMPEDUGLIA T., HESSLER K., WANG XJ., CARROLL RJ., DARDIK H.**

Autologous platelet-rich fibrin matrix as cell therapy in the healing of chronic lower-extremity ulcers

Wound Repair and Regeneration (2008) 16 749-756

[150] **OBERLIN CHRISTOPHE**

Manuel de chirurgie du membre inférieur

Editions scientifique et médicales Elsevier SAS 2000 p.181-182

[151] **OGINO Y., AYUKAWA Y. TSUKIYAMA Y. et KOYANO K.**

"The effect of platelet-rich plasma on the cellular response of rat bone marrow cells in vitro."

Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod (O.O.O.O.E.)2005; 100: 302-307

[152] **PANDA ANITA, KUMAR SANDEEP, KUMAR ABHIYAN**

Fibrin glue in ophthalmology

Indian Journal of Ophthalmology, 2009 ; vol.57, issue 5 : 371-379

[153] **PAQUES M; CHASTANG C.; MATHIS A.; SAHEL J.; MASSIN P.; DOSQUET C.**

Effect of autologous platelet concentrate in surgery for idiopathic macular hole: results of a multi-center, double-masked, randomized trial. Platelets in Macular Hole Surgery Group.

Ophthalmology, Vol 106, Numéro 5, 1999-05: 932-8

[154] **PATEL S., RODRIGUEZ-MERCHAN E.C, HADDAD F.S**

The use of fibrin glue in surgery of the knee

J Bone Joint Surg Br, Oct 2010; 92-B: 1325-1331

[155] **PEPELASSI EA ; MARKOPOULOU CE; DEREKA XE; et al.**

Platelet-rich plasma effect on periodontally affected human gingival fibroblasts: an in vitro study.

Journal of the International Academy of Periodontology Vol. 11 Numéro 1 Date 2009-01 Pages: 160-8

[156] **PICARDI, A., LANTI, A., CUDILLO, L., CERRETTI, R., et al.**

Platelet gel for treatment of mucocutaneous lesions related to graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplant.

Transfusion, 2010; 50: 501-506

[157] **POLIMENI, G., XIROPAIDIS, A. V. AND WIKESJÖ, U. M. E.**

Biology and principles of periodontal wound healing/regeneration.

Periodontology 2000, 2006; 41: 30-47

[158] **RADOSEVICH M., GOUBRAN H.A. ET BURNOUF T.**

"Fibrin sealant: scientific rationale, production methods, properties and current clinical uses."

Vox Sanguinis. 1997; 72 : 133-143

[159] **REYNOLDS GRETCHEN**

Phys Ed : Does Platelet-rich Plasma Therapy Really Work ?
The New York Times, January 26, 2011

[160] **SAADOUN A.**

Current trends in gingival recession coverage. Part II: Enamel matrix derivative and platelet rich plasma
Pract Proced Aesthet Dent 2006; 18(8): A-G

[161] **SABBARI HASSANI T., KESSELER D. ET DEOM A.**

www.cscq.ch/com/publi/f/centrifugation.pdf
CSCQ Juillet 2009

[162] **SALVATORE L. RUGGIERO, THOMAS B. DODSON, LEON A. ASSAEL, et al.**

American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons Position Paper on Bisphosphonate-Related Osteonecrosis of the Jaws
J Oral Maxillofac Surg 67:2-12, 2009, Suppl 1

[163] **SAMAKH P.**

Prélèvements en cabinet libéral : la loi de bioéthique enfin votée ! Conséquences sur l'utilisation des facteurs de croissance.
<http://www.snpi-france.com/loibioethique.pdf>

[164] **SAMPSON S., GERHARDT M., MANDELBAUM B.**

Platelet rich plasma injection grafts for musculoskeletal injuries: a review
Curr Rev Musculoskelet Med (2008) 1:165–174

[165] **SÁNCHEZ AR, SHERIDAN PJ, KUPP LI.**

Is platelet-rich plasma the perfect enhancement factor? A current review.
Int J Oral Maxillofac Implants. 2003;18:93–103

[166] **SAUTIER JEAN-MICHEL, LOTY SABINE, LOTY CHRISTINE, FOREST NADINE**

Mécanismes cellulaires et moléculaires de la régénération osseuse parodontale
Médecine thérapeutique, vol.5, Number 8, 626-30, octobre 1999, revue odontologie

[167] **SCHREZENMEIER H, SEIFRIED E**

Buffy-coat-derived pooled platelet concentrates and apheresis platelet concentrates: which product type should be preferred?
Vox Sang. 2010 Jul 1; 99(1):1-15. Epub 2009 Jan 4.

[168] **SCHVED J.F.**

http://www.med.univ-montp1.fr/enseignement/cycle_1/PCEM2/modbase/MB7_Bio_Med/Ressources_locales/HEMATO/H3.Hemostase-v2.pdf

[169] **SCHWARZ ALAN**

A Promising Treatment for Athletes, in Blood
The New York times, February 16, 2009

[170] **SCIMECA CHRISTY L ; BHARARA M.; FISHER TK.; KIMBRIEL H.; ARMSTRONG DG**

Novel use of platelet-rich plasma to augment curative diabetic foot surgery.
Journal of diabetes science and technology, Vol 4, Numéro 5, 2010-09: 1121-6

[171] **SENET P.**

Physiologie de la cicatrisation cutanée
Dermatologie, EMC

[172] **SIERRA DAVID H.**

Fibrin Sealant Adhesive Systems: A Review of Their Chemistry, Material Properties and Clinical Applications
J Biomater Appl 1993 7: 309

[173] **SIMON BI, ZATCOFF AL, KONG JJ, O'CONNELL SM.**

Clinical and Histological Comparison of Extraction Socket Healing Following the Use of Autologous Platelet-Rich Fibrin Matrix (PRFM) to Ridge Preservation Procedures Employing Demineralized Freeze Dried Bone Allograft Material and Membrane.
Open Dent J. 2009 May 20;3:92-99

[174] **SIMONPIERI A, DEL CORSO M, SAMMARTINO G, DOHAN EHRENFEST DM.**

The relevance of CHOUKROUN'S platelet-rich fibrin and metronidazole during complex maxillary rehabilitations using bone allograft. Part I: a new grafting protocol.
Implant Dent. 2009 Apr;18(5):102-11

[175] **SIMONPIERI A, SCHOEFLER CH, DOHAN D,**

Le platelet rich fibrin : biomatériau de cicatrisation performant.
Inf Dent 2005 ; 87 (14) : 803-11

[176] **SIMONPIERI A., CHOUKROUN J., GIRARD M.O., OUKAKINE T., DOHAN D.**

Implantation immédiate post-extractionnelle (IPE) : l'intérêt du PRF®
Implantodontie, Volume 13, numéro 3 pages 177-189 (juillet-septembre 2004)

[177] **SINGER AJ, CLARK RA.**

Cutaneous wound healing.
N Engl J Med 341:738-746, 1999

[178] **SOFFER EMMANUEL, OUHAYOUN JEAN PIERRE, ANAGNOSTOU FANI**

Fibrin sealants and platelet preparations in bone and periodontal healing
Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2003;95:521-8

[179] **SOUEIDAN A.; HAMEL L.**

Peut-on contrôler la résorption osseuse ? En avons-nous les moyens ?
Les cahiers de l'ADF- N ° 8 - 2 e t r i m e s t r e 2000

[180] **SROUJI S. ET AL.**

The Schneiderian Membrane Contains Osteoprogenitor Cells
Calcif Tissue Int (2009) 84:138–145

[181] **STORRS CARINA**

Is Platelet-Rich Plasma an Effective Healing Therapy?
Scientific American, December 18, 2009

[182] **SU C.Y., KUO Y.P., TSENG Y.H., SU C.-H., BURNOUF T.**

In vitro release of growth factors from platelet-rich fibrin (PRF): a proposal to optimize the clinical applications of PRF

Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology 2009,108 (1), pp. 56-61

[183] **SUMIDA E., IWASAKI Y., AKIYOSHI K. et KASUGAI S.** (2006)

"Platelet Separation From Whole Blood in an Aqueous Two-Phase System With Water-Soluble Polymers."

Journal of Pharmacological Sciences. 101, (1):91-97

[184] **SUNITHA RAJA V, MUNIRATHNAM NAIDU E**

Platelet-rich fibrin: evolution of a second-generation platelet concentrate.

Indian J Dent Res. 2008 Jan-Mar;19(1):42-6.

[185] **TAMIMI F., MONTALVO S, TRESGUERRES I**

A comparative study of 2 methods for obtaining platelet rich plasma

J Oral Maxillofacial Surg 65; 1084-1093, 2007

[186] **TAYAPONGSAK P, O'BRIEN D.A., MONTEIRO C.B.**

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

J. Oral Maxillofac. Surg. 1994;52, 161-166

[187] **THOMAS T., MARTIN A., LAFAGE-PROUST MH.**

Physiologie du tissu osseux

Appareil locomoteur, EMC

[188] **TOFFLER M, TOSCANO N, HOLTZCLAW D**

Introducing Choukroun's platelet rich fibrin (PRF) to the reconstructive surgery milieu

JIACD sept 2009; vol.1, n6

[189] **TROWBRIDGE CC, STAMMERS AH, WOODS E, YEN BR, KLAYMAN M, GILBERT C.**

Use of platelet gel and its effects on infection in cardiac surgery.

J Extra Corpor Technol 2005;37:381-386

[190] **TUAN TL, SONG A, CHANG S, YOUNAI S, NIMNI ME.**

In vitro fibroplasia: matrix contraction, cell growth, and collagen production of fibroblasts cultured in fibrin gels.

Exp Cell Res 1996;223:127-34

[191] **VAN HINSBERGH V, COLLEN A, KOOLWIJK P.**

Role of fibrin matrix in angiogenesis.

Ann N Y Acad Sci 2001;936:426-37

[192] **VANG SEE N ; BRADY CHAD P ; CHRISTENSEN KEVIN A; et al.**

Autologous platelet gel in coronary artery bypass grafting: effects on surgical wound healing

The Journal of extra-corporeal technology, Vol.39 Numéro 1, 2007-03: 31-8

[193] **VICK VALERIE L ; HOLDS JOHN B; HARTSTEIN MORRIS E; et al.**

Use of autologous platelet concentrate in blepharoplasty surgery.

Ophthalmic plastic and reconstructive surgery Vol. 22, Numéro 2, 2006-03: 102-4

[194] **VISSER LANCE C., ARNOCKY STEVEN P. , CABALLERO O, EGERBACHER M**

Platelet-Rich Fibrin Constructs Elute Higher Concentrations of Transforming Growth Factor-b1 and Increase Tendon Cell Proliferation Over Time when Compared to Blood Clots: A Comparative In Vitro Analysis

Veterinary Surgery 39 (2010) 811–817

[195] **VOGEL JP, SZALAY K, GEIGER F, KRAMER M, RICHTER W, KASTEN P.**

Platelet-rich plasma improves expansion of human mesenchymal stem cells and retains differentiation capacity and in vivo bone formation in calcium phosphate ceramics.

Platelets 2006;17(7):462–9

[196] **WAJON P; GIBSON J.; CALCROFT R.; HUGHES C.; THRIFT B.**

Intraoperative plateletpheresis and autologous platelet gel do not reduce chest tube drainage or allogeneic blood transfusion after reoperative coronary artery bypass graft.

Anesthesia and analgesia, Vol. 93, Numéro 3, 2001-09: 536-42

[197] **WEIBRICH G, KLEIS WKG, BUCH R, HITZLER WE, HAFNER G.**

The Harvest Smart PRePTM system versus the Friadent-Schütze platelet-rich plasma kit

Clin. Oral Impl. Res, 14, 2003; 233–239

[198] **WEIBRICH G, KLEIS WKG.**

Curasan PRP kit vs. PCCS PRP system

Clin. Oral Impl. Res, 13, 2002; 437–443

[199] **WEIBRICH G., HANSEN T., KLEIS W.K.G., BUCH R. et HITZLER W.E. (2004)**

"Effect of platelet concentration in platelet-rich plasma on peri-implant bone regeneration."

Bone. 666, (34):665-671

[200] **WEIBRICH G., KLEIS W, HITZLER W**

Comparison of the platelet concentrate collection system with the plasma rich in growth factors kit to produce platelet rich plasma: a technical report

Int J Oral Maxillofac Implants 2005;20:118–123

[201] **WEIBRICH, G., KLEIS, W. K., HAFNER, G., ET AL.**

Growth factor levels in platelet-rich plasma and correlations with donor age, sex, and platelet count
J. Craniomaxillofac. Surg. 30: 97, 2002

[202] **YOUNG JZ, MEDAWAR PB.**

Fibrin suture of peripheral nerves.

Lancet 1940; 236:126-8.

[203] **YU W, WANG J, YIN J.**

Platelet-Rich Plasma: A Promising Product for Treatment of Peripheral Nerve Regeneration After Nerve Injury

Int J Neurosci, January 2011

Jury : Président : P. AMBROSINI – Professeur des Universités
Juges : C.BISSON – Maître de Conférences des Universités
J.PENAUD – Maître de Conférences des Universités
J.L'HERITIER – Attaché Universitaire

Thèse pour obtenir le diplôme D'Etat de Docteur en Chirurgie Dentaire

Présentée par: **Mademoiselle MERCIER Virginie, Aurélie, Karine**

né(e) à: **TOUL (Meurthe-et-Moselle)**

le **6 avril 1985**

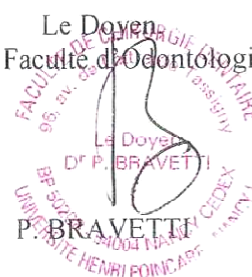
et ayant pour titre : **«Stimulation de la cicatrisation du tissu gingival et du tissu osseux par l'utilisation de concentrés plaquettaires ».**

Le Président du jury,



P. AMBROSINI

Le Doyen
de la Faculté d'Odontologie



P. BRAVETTI

Autorise à soutenir et imprimer la thèse

3822

NANCY, le 8.11.2011

Le Président de l'Université Henri Poincaré, Nancy-I



J.-P. FINANCE

