



HAL
open science

Intérêt du PRF dans la qualité de la cicatrisation : état actuel des connaissances et controverses

Clotilde Nicolet

► **To cite this version:**

Clotilde Nicolet. Intérêt du PRF dans la qualité de la cicatrisation : état actuel des connaissances et controverses. Autre [q-bio.OT]. 2012. dumas-00984656

HAL Id: dumas-00984656

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-00984656>

Submitted on 28 Apr 2014

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.



THÈSE POUR L'OBTENTION DU DIPLOME D'ÉTAT DE
DOCTEUR EN CHIRURGIE DENTAIRE

présentée par

Clotilde Nicolet

Née le 20/01/1987 à Landerneau

Année : 2012

Préparée à l'UFR d'odontologie de BREST

Thèse N° : 29011

Intérêt du PRF dans la qualité
de la cicatrisation : état actuel
des connaissances et
controverses

Thèse soutenue le 06/06/2012

devant le jury composé de :

Jacques-Olivier Pers

PU-PH service de parodontologie en qualité de président

Jérémy Santucci

Assistant en parodontologie en qualité de directeur

Sylvie Boisramé-Gastrin

MCU-PH en pathologie et chirurgie buccales en qualité d'assesseur

Valérie Nagot

Assistant en parodontologie en qualité d'assesseur



THÈSE POUR L'OBTENTION DU DIPLOME D'ÉTAT DE
DOCTEUR EN CHIRURGIE DENTAIRE

présentée par

Clotilde Nicolet

Née le 20/01/1987 à Landerneau

Année : 2012

Préparée à l'UFR d'odontologie de BREST

Thèse N° : 29011

Intérêt du PRF dans la qualité de la cicatrisation : état actuel des connaissances et controverses

Thèse soutenue le 06/06/2012

devant le jury composé de :

Jacques-Olivier Pers

PU-PH service de parodontologie en qualité de président

Jérémy Santucci

Assistant en parodontologie en qualité de directeur

Sylvie Boisramé-Gastrin

MCU-PH en pathologie et chirurgie buccales en qualité d'assesseur

Valérie Nagot

Assistant en parodontologie en qualité d'assesseur

UNIVERSITÉ DE BRETAGNE OCCIDENTALE

PRESIDENT

Monsieur Pascal OLIVARD

DIRECTEUR GENERAL DES SERVICES

Monsieur Stéphane CHARPENTIER

CORPS PROFESSORAL DE L'U.F.R. D'ODONTOLOGIE DE BREST

Année Universitaire 2011-2012

DOYEN

Monsieur Alain ZERILLI

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS

57-02 Chirurgie Buccale et Pathologique
57-03 Sciences Biologiques
58-02 Prothèse

Monsieur François PREDINE-HUG
Monsieur Jacques-Olivier PERS
Monsieur Gérard DERRIEN

MAITRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS

56-01 Pédiodontie
56-01 Pédiodontie
56-03 Prévention Epidémiologie
56-03 Prévention Epidémiologie
57-01 Parodontologie
57-02 Chirurgie Buccale et Pathologique
57-02 Chirurgie buccale et Pathologique
disponibilité)
57-03 Sciences Biologiques
58-01 Odontologie Conservatrice
58-01 Odontologie Conservatrice
HERISSET
58-02 Prothèse
58-02 Prothèse
58-03 Sciences anatomiques et physiologiques,
occlusodontiques, biomatériaux,
biophysique et radiologie
58-03 Sciences anatomiques et physiologiques,
occlusodontiques, biomatériaux,
biophysique et radiologie

Monsieur Hervé FORAY
Madame Frédérique d'ARBONNEAU
Monsieur Alain ZERILLI
Monsieur Bertrand PIVER
Monsieur Guy LE TOUX (en disponibilité)
Madame Sylvie BOISRAME-GASTRIN
Monsieur Michel LEGENS (en
Mademoiselle Laëtitia LE POTTIER
Monsieur Reza ARBAB CHIRANI
Madame Valérie CHEVALIER-
Monsieur Vincent JARDEL
Madame Elisabeth LEIZE-ZAL
Madame Céline BODERE

Monsieur Brice CHAUVEL

ASSISTANTS

57-01 Parodontologie
57-01 Parodontologie
57-02 Chirurgie Buccale et Pathologique
58-01 Odontologie Conservatrice
58-01 Odontologie Conservatrice
58-02 Prothèse
58-02 Prothèse

Mademoiselle Valérie NAGOT
Monsieur Jérémy SANTUCCI
Mademoiselle Julie LELIEVRE
Mademoiselle Emilie THIEBAUT
Monsieur Mathieu ARMBRUSTER
Monsieur Bassem HIJAZI
Monsieur Gabriel SCOLAN

ASSISTANTS ASSOCIES

56-02 Orthopédie Dento Faciale
57-03 Sciences Biologiques

Monsieur Yann CHOQUIN
Monsieur Pierre POCHARD

Remerciements :

A Monsieur le Professeur Jacques Olivier Pers

Docteur en chirurgie dentaire, Professeur des universités, Praticien Hospitalier

Qui nous a fait l'honneur d'accepter de présider le jury de cette thèse.

Je vous adresse toute ma sincère gratitude pour la richesse de votre enseignement.

Nous vous prions de croire en notre sincère reconnaissance.

A Monsieur le Docteur Jérémy Santucci

Docteur en chirurgie dentaire, Assistant en parodontologie

Qui m'a fait l'honneur de diriger cette thèse.

Je te remercie, pour ta disponibilité, ton attention, tes conseils, ta patience, et ta discrétion.

Grâce à ton enseignement, je me suis rendue compte de ce que je voulais réellement faire par la suite

A Mme le Docteur Sylvie Boisramé-Gastrin

Docteur en Chirurgie Dentaire, Maître de conférences des universités, Praticien Hospitalier

Sa présence au sein du jury m'honore.

Merci d'avoir été aussi attentive et disponible avec nous tout au long de nos études, d'avoir été proche de nous et de nous avoir soutenus tout au long des épreuves qui se sont présentées.

Grâce à vous, j'ai pu m'épanouir à Dijon.

Je vous souhaite bonne continuation dans l'enseignement.

A Madame le Docteur Valérie Nagot

Docteur en Chirurgie Dentaire, Assistante en Parodontologie,

Qui me fait l'honneur d'accepter de juger ce travail.

Merci de ta disponibilité et de ta discrétion, tu nous as appris à parler avec tact à nos patients.

Cela a toujours été un plaisir de travailler avec toi.

Remerciements personnels

A mes parents :

Merci de m'avoir toujours aimée et chérie, de m'avoir soutenue dans mes choix, pas toujours faciles à prendre, certes. Merci de m'avoir donné un bel exemple de vie. Merci Mam, de tes conseils informatiques, et de me sauver régulièrement de grosses galères.

A Guigui et Lulu :

Merci ma Lulu de ta douceur matinale, mais surtout de ta générosité.

Merci Guigui, de ta motivation illimitée et ta joie de vivre.

A mes grands-parents :

Merci pour tout ce que vous avez fait pour moi, merci de votre disponibilité, vos conseils et vos bons petits plats.

A Gwigwi :

Merci pour tout ce que tu fais pour moi, de m'avoir toujours supportée.

Ps : je ne saurais faire plus de ménage que ce que je ne fais déjà.

A ma marraine :

Merci marraine, pour ton soutien, tes bons conseils et nos pique-niques à Saint-Pabu.

A Véro :

Merci ma petite Véro, pour la joie et le rire que tu nous apportais.

A Laurette et Momo :

En souvenir des Gets : « Il y a des blessures qui ne guérissent pas ; pour tout le reste il y a le PRF !!! »

A Dodo et Ginette :

Merci pour ce que vous faites pour moi.

A Fifette :

Merci de ton enthousiasme et ton énergie.

A toute la famille :

Merci à vous tous, on a une chouette famille quand même !!!!

Une petite dédicace à Christiane, qui représente la sagesse et la gentillesse à mes yeux

A mes amies Clem et Ionion :

Vous qui avez toujours été là pour moi, on a partagé tellement de choses ensemble.

Vous m'avez toujours bien fait rigoler, ici ou en voyage.

A Bibi et Charles :

Merci de nous considérer comme vous le faites, merci de vos bons conseils, aussi bien professionnels que culinaires.

A Alice, Greg, Kevin, Marine et Yves :

Mes potes de promo, avec qui je me suis éclatée pendant toutes ces études, et avec qui je continuerai de le faire. Spéciale dédicace à Gégé.

A JC :

Bien que l'on ne te voie pas aussi souvent que l'on aimerait, c'est toujours une joie, profite bien de Dijon

A Boubou :

Qui m'a toujours vendu du rêve. Un type qui n'a peur de rien et qui,

A ma petite Marie Lulu :

Avec qui l'on s'est toujours comprises, c'est toujours un plaisir de te voir.

A Cams, Pif, Tof, Mik et Marie, et les autres :

Mes petits bûcherons,....

A Benj :

Mon compagnon d'infortune,...loin derrière Junior tout de même

A Marianne :

Ma voisine chérie

A Momone, Flore, Soum et Val :

Qui m'ont permis de rire autant, en jouant au volley.

A Hélène, Marie, Soso et Laetita :

Merci des bonnes soirées qu'on a fait ensemble et de votre amitié.

A Marine, Camille, Quentin, Marie, Cécile, Pauline, Adrien, Julien, Mikael :

Merci pour ces bons moments passés avec vous à Dijon et surtout au Duplex

A Ju, Alexis, Marie, Juliette, Adé et Flore, et tous les autres affreux du ski :

On remet ça après votre ECN !!!

A Charlot, Manue :

C'est toujours un plaisir de vous voir, merci pour votre thèse.

A Julie Lelièvre :

Merci pour ta bibliographie, et ton mémoire

A Seb,

Merci pour tes conseils en stat

A Armelle et Marie-Claire :

Merci de votre gentillesse, de votre patience et de votre disponibilité

À nos enseignants et assistants de la faculté de Chirurgie Dentaire de Brest :

En témoignage de notre reconnaissance pour votre enseignement

Aux infirmières, assistantes et secrétaires du centre de soin :

Merci pour la patience et l'énergie dont vous faites preuve avec nous.

A Dédé :

Merci mon petit Dédé, de m'avoir toujours supportée et conseillée, au gré de tes humeurs.

A Monsieur le Docteur Joseph Choukroun

Je vous remercie de votre disponibilité et votre générosité.

Vos articles, ont contribué à la richesse du contenu de cette thèse.

Au service d'odontologie de Dijon

A Mr Perrin, Mr Ahossi, Mr Larras et à Arnaud Lafon

Merci de votre accueil, de vos bons conseils, de la qualité de votre apprentissage, qui m'a permis d'avancer dans mes choix, et de continuer ma formation.

Merci à tout le service, Kiki, Fabienne, Sandrine, Joelle, et les autres assistantes et secrétaires.

Vous avez été formidables, pendant ces six mois à Dijon.

Je venais avec un peu d'appréhension, vous m'avez tout de suite mis à l'aise, et bien conseillée. Plus personne ne viendra faire sonner l'alarme incendie en faisant de crêpes.

Au Dr Guénnal :

Merci pour la patience et la pédagogie dont vous faites preuve avec moi, pour l'énergie que cela vous demande.

J'en apprend tous les jours que je passe au cabinet.

Vous n'hésitez pas à me corriger avec tact et humour dans mes erreurs.

Merci pour tout

Merci aussi à Gaëlle, Pierrette, Nancy, Morgane et Marine :

Merci de me coacher comme vous le faites, de m'accueillir comme vous l'avez fait, et pour tout le reste

A tous ceux que j'ai pu oublier

Je certifie sur l'honneur ne pas avoir repris pour mon propre compte des propos,
des citations, des illustrations déjà publiés.

BREST, le 07/01/2012

Clotilde Nicolet

INTRODUCTION	13
CHAPITRE 1 LE PRF	14
1.1 Définitions	14
1.1.1 Le Plasma riche en plaquettes (PRP)	14
1.1.2. Le Plasma riche en fibrine (PRF).....	14
1.2 Historique	14
1.3 Aspects médico-légaux de l'utilisation du PRF en France	15
1.4. Préparation des concentrés plaquettaire	17
1.4.1. Principe et objectifs de la centrifugation (Dohan <i>et al.</i> , 2005b)	17
1.4.2. Préparation du PRP	19
1.4.3. Préparation du PRF	20
1.4.3.1 Prélèvement	20
1.4.3.2 Centrifugation	20
1.4.3.3 Prélèvement du coagulum.....	21
1.4.3.4 Erreurs de manipulation	21
1.5. Constitution de la matrice de PRF	22
1.5.1. Fibrinofomation	22
1.5.1.1. Le Fibrinogène	22
1.5.1.2. Activation de la coagulation <i>in vitro</i> et fibrinofomation	22
1.5.2. Les plaquettes.....	23
1.5.2.1. Architecture des plaquettes	23
1.5.2.2. Activation des plaquettes	24
1.5.3. Autres cellules	25
1.5.4 Cytokines	26
1.5.4.1. Généralités sur les cytokines	26
1.5.4.2 Cytokines plaquettaire.....	27
1.5.4.2.1 TGF- β : l'agent fibrosant	27
1.5.4.2.2 PDGF (Platelet Derived Growth Factor)	28
1.5.4.2.3 VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor)	28
1.5.4.2.5 EGF.....	29
1.5.4.2.6 FGF	30
1.5.4.3 Les cytokines leucocytaires	30
1.5.4.3.1 Cytokines pro-inflammatoires	30

1.5.4.3.2 Les cytokines immunorégulatrices "Th1" (IL2, interféron gamma).....	31
1.5.4.3.3 Les cytokines immunorégulatrices "Th2"	32
1.5.4.4 Dosage des cytokines dans le gel de PRF.....	32
1.6 Architecture d'une membrane de PRF	33
1.6.1 Relation entre l'architecture et l'activité du PRF : influence du mode de polymérisation	33
1.6.2 Facteurs modifiant l'architecture du PRF	35
1.6.2.1 Influence du délai entre le prélèvement et la centrifugation.....	35
1.6.2.2 Influence du contenant.....	35
1.6.2.3 Influence de la compression	35
1.7 Propriétés mécaniques des membranes de PRF	36
 CHAPITRE 2 PRF ET REPARATION TISSULAIRE	 37
2.1 PRF et angiogenèse.....	37
2.2 PRF et inflammation.....	38
2.3 PRF et couverture épithéliale	39
2.4 PRF et cellules souches ostéoprogénitrices humaines.....	41
2.5 PRF et influence cellulaire	42
2.6 Résumé de l'action du PRF sur la cicatrisation	43
 CHAPITRE 3 APPLICATIONS CLINIQUES EN ODONTO-STOMATOLOGIE.....	 44
3.1 Sinus lift et PRF	44
3.1.1. PRF utilisé en association avec un matériau de comblement osseux	45
3.1.2. PRF utilisé comme seul matériau de comblement et pose immédiate des implants.....	46
3.1.3. PRF et fermeture de la fenêtre d'accès	48
3.1.4. PRF dans la gestion des perforations de la membrane sinusienne.....	49
3.2 Utilisation du PRF dans les défauts parodontaux intra-osseux.....	49
3.3 PRF et Régénération Osseuse Guidée (ROG)	52
3.4 PRF et traitement des récessions tissulaires marginales	54
3.5 PRF et sujets à risques.....	55
3.5.1 PRF et hémostase en chirurgie orale.....	55
3.5.2 PRF et bisphosphonates	56

3.5.2.1 PRF et prévention des ONMBP	59
3.5.2.2 PRF et prise en charge médico-chirurgicale d'une ONMBP avérée	61
3.6 Synthèse des indications	64
CHAPITRE 4 EFFICACITE DU PRF LES CONTROVERSESES	65
4.1 Des résultats cliniques spectaculaires	65
4.2 Des études fondamentales peu fiables	66
4.2.1. Dosage des cytokines dans le gel de PRF	66
4.2.2 Limites liées au modèle animal.....	67
4.3 Stimulation <i>in vitro</i> certes, mais quels effets <i>in vivo</i> ?	67
4.4 Le PRF peut-il représenter un risque ?	70
4.4.1 Toxicité du PRF	70
4.4.2 PRF et processus tumoral.....	71
4.5 PRF et conflits d'intérêts	72
4.6 Fiabilité des études cliniques et synthèse des recommandations de la SFPIO (2011)	73
CONCLUSION.....	75
ANNEXES.....	76
Annexe 1 : guide de prévention des infections liées aux soins en chirurgie dentaire et en stomatologie (2006)	76
Annexe 2 : Recommandations de prise en charge bucco-dentaire des patients sous biphosphonates (AFSSAPS).....	78
BIBLIOGRAPHIE	85

Liste des abréviations

ADP : adénosine diphosphorique
ALP : alkaline phosphatase
ARIF : apposition-résorption-inversion-formation
BMP : bone morphogenetic protein
BMSC : cellules souches mésenchymateuses humaines
Ca : calcium
CD : cluster de différenciation
DDS : dents de sagesse
DFDBA : Demineralized Freeze-Dried Bone Allograft
EGF : epidermal growth factor
ELISA (test) : enzyme-linked immunosorbent assay
EVA : échelle visuelle analogique
FGF : fibroblast growth factor
IGF : insulin-like growth factor
IL : interleukines
LAD : ligament alvéolo-dentaire
Mg : magnésium
ONMBP : ostéonécrose des maxillaires liés aux biphosphonates
PDGF : platelet derived growth factor
PGF : placenta growth factor
PPGF : plasma pauvre en facteurs de croissance
PPP : plasma pauvre en plaquettes
PRF : plasma riche en fibrine
PRGF : plasma riche en facteurs de croissance
PRP : plasma riche en plaquettes
PTH : parathormone
SNPI : syndicat national des paro-implantologistes
SFPIO : société française de paro-implantologie
TFPI : tissue factor pathway inhibitor
TGF : transforming growth factor
VEGF : vascular endothelial growth factor

INTRODUCTION

La chirurgie orale est confrontée à une diversification et une complexification des interventions faisant naître de nouvelles exigences tant pour le patient que pour le praticien. Aussi, l'amélioration des suites opératoires et la réduction des délais de cicatrisation, sans entraîner de surcoût sont des enjeux de premier ordre. L'avènement des concentrés plaquettaires tels le PRP aux Etats-Unis a ouvert une voie prometteuse vers une optimisation des protocoles chirurgicaux. Néanmoins, leurs applications ne sont pas encore standardisées.

Nous nous intéressons plus particulièrement au PRF qui est l'adaptation de ces concentrés à la loi de bioéthique française de 2004. A l'heure actuelle, l'usage du PRF en chirurgie orale fait l'objet de nombreuses controverses. D'un côté les leaders d'opinion considèrent le PRF comme un matériau bioactif permettant d'orienter et accélérer la cicatrisation. Ils étayent leur propos sur des études *in vitro* et des rapports de cas avec des résultats spectaculaires. De l'autre côté, les sociétés savantes modèrent cet enthousiasme. En 2011, la SFPIO rappelle dans ses recommandations qu'en « l'absence totale de publications cliniques objectives et donc de preuves scientifiques avérées, conjuguée à la faiblesse méthodologique des rares études fondamentales, de nouvelles études parfaitement structurées sont absolument nécessaires pour pouvoir justifier l'utilisation pratique d'un tel protocole ».

Dans une démarche de transparence, notre thèse va s'organiser autour de deux axes de réflexion :

- le premier est une revue de la littérature qui expose les principes d'action du PRF et recense les applications potentielles du produit en chirurgie orale,
- le second est une discussion autour de la fiabilité des études fondamentales et cliniques et des risques liés à l'utilisation du PRF,

Chapitre 1 Le PRF

1.1 Définitions

1.1.1 Le Plasma riche en plaquettes (PRP)

Il est défini par Dohan *et al.* (2005b) comme le surnageant enrichi en plaquettes, obtenu après centrifugation de sang prélevé sous anticoagulant. Il se caractérise par une modification biochimique du sang.

1.1.2. Le Plasma riche en fibrine (PRF)

Le PRF se définit comme un concentré plaquettaire permettant de rassembler en une seule membrane de fibrine, l'ensemble des constituants favorables à la cicatrisation présents dans un prélèvement sanguin. Le PRF correspond à un réseau tridimensionnel alliant un gel de fibrine à un sérum enrichi en cytokines plaquettaires et leucocytaires. Il reproduit une matrice cicatricielle *ad integrum* sans recourir à une modification du sang (Dohan *et al.*, 2004a).

1.2 Historique

Le PRF dérive des colles de fibrine confectionnées à partir de plasma issu des banques de sang. Ces colles ont été décrites pour la première fois en 1970, par Matras *et al.*, leur mode de fonctionnement est la reproduction des dernières étapes de la cascade enzymatique de la coagulation au cours desquelles le fibrinogène est transformé en fibrine. Il s'agit donc d'un mécanisme biologique naturel amplifié de manière artificielle (Dohan *et al.*, 2005b). Cependant, leur faible dosage en fibrinogène les rend difficilement utilisables, en effet ces colles sont extrêmement labiles. Leur instabilité a été corrigée par cryoprécipitation de sang, aboutissant à la formation d'un noyau de fibrine. Les premières préparations commerciales apparaissent alors au milieu des années 70.

L'utilisation clinique de ces colles s'est limitée pendant de nombreuses années au traitement des hémorragies micro-vasculaires en chirurgie cardio-thoracique et vasculaire. Les colles de fibrine sont uniquement efficaces pour contrôler des foyers de saignement lents et diffus et ne peuvent remplacer les techniques conventionnelles d'hémostase dans les hémorragies artério-veineuses. De nouvelles indications apparaissent en chirurgie plastique et générale pour le scellement des plaies et la

réapplication des revêtements cutanés. Leur intérêt est d'éviter la formation de cicatrices chéloïdes. Les chirurgiens constatent que ces colles de fibrine accélèrent le processus de cicatrisation cutanée (Dohan *et al.*, 2005c). Dans l'ensemble les colles ont deux principales fonctions : l'adhérence aux tissus et la biodégradabilité.

Face au risque de transmission des hépatites, les colles de fibrine sont interdites aux États-Unis dès 1978 (Dohan *et al.*, 2004c). La gestion des risques s'améliore grâce à l'apparition de colles thermotraitées comme le TISSEEL® (BAXTER) mais un risque de transmission viral demeure présent. Dès lors, les tentatives de mise au point de colles de fibrine autologues sont de plus en plus nombreuses, mais avec des succès mitigés. En effet, il est difficile d'obtenir des taux de fibrinogène élevés.

Ce n'est qu'en 1994 que Tayapongsak décrit une colle de fibrine autologue lui permettant de maintenir les fragments osseux d'une greffe, en une masse cohérente. Sa technique est relativement compliquée et chronophage puisque le sang est prélevé entre 1 et 3 semaines avant l'intervention et nécessite 2 jours de manipulation. En cherchant un plasma riche en fibrinogène, Tayapongsak (1994) fut le premier à obtenir, mais il l'ignorait alors, un plasma riche en plaquettes. Des protocoles simplifiés ont vu le jour par la suite, essentiellement basés sur le principe de double centrifugation. La prise de sang se fait juste avant l'intervention, un séparateur de cellules permet la transformation en concentré plaquettaire, ce dernier est ensuite combiné à de la thrombine et du chlorure de calcium afin de provoquer la polymérisation du produit.

En France, privés du droit accordé aux praticiens américains et du reste de l'Europe de manipuler des produits sanguins, il fallut réinventer le concept de concentrés plaquettaires dans le cadre de la loi, ainsi Choukroun et Schleider mettent au point le PRF en 2000.

1.3 Aspects médico-légaux de l'utilisation du PRF en France

Le statut du PRF et son utilisation n'ont pas toujours été clairs. En effet, ce n'est que depuis la loi bioéthique de 2004, et l'accord conclu entre le ministère et le syndicat national des parodontologistes (SNPI), que son usage a été codifié et simplifié.

Son application peut alors être effectuée en cabinet, mais les prélèvements doivent être réalisés par du personnel qualifié. La formation se fait auprès de la SYFAC (Symposium international des facteurs de croissance), qui est la seule à dispenser cette formation, le PRF est une marque déposée, on ne peut pas breveter une technique médicale. Cette étape clarifie le rôle du chirurgien-dentiste :

- Il peut réaliser un prélèvement ou une injection sanguine à condition qu'il rentre dans le cadre

du soin buccal (limitation anatomique).

- Toutes les précautions en rapport avec les risques d'infection doivent être prises en accord avec le guide de bonnes pratiques. (Annexes 1 et 5)
- La formation au prélèvement et à l'utilisation du PRF devient obligatoire.

Le PRF est classé en tant que dispositif médical grâce aux directives 2000/70/CE et 2001/104/CE mais le PRP demeure interdit, car il nécessite une modification biochimique du prélèvement.

L'AFSSAPS en 2003, a établi un guide de bon usage du PRF qui insiste sur le recueil du consentement éclairé du patient. Le consentement du malade aux soins est une obligation consécutive au caractère contractuel de la relation médecin malade. L'article 35 du Code de déontologie médicale indique que :

« Le médecin doit à la personne qu'il examine, qu'il soigne où qu'il conseille, une information loyale, claire et appropriée sur son état, les investigations et les soins qu'il lui propose. Tout au long de sa maladie, il tient compte de la personnalité du patient dans ses explications et veille à leur compréhension... ».

L'information est une donnée récente dans la thérapeutique médicale, la loi a été révisée le 4 Mars 2002 : « L'information donnée au patient doit être accessible et loyale. Le patient participe aux choix thérapeutiques qui le concernent ».

L'Article R 4127-233 du code de déontologie odontologique stipule que le chirurgien-dentiste qui a accepté de donner des soins à un patient s'oblige :

- à lui assurer des soins éclairés et conformes aux données acquises de la science, soit personnellement, soit lorsque sa conscience le lui commande en faisant appel à un autre chirurgien-dentiste ou à un médecin ;
- à agir toujours avec correction et aménité envers le patient et à se montrer compatissant envers lui ;
- à se prêter à une tentative de conciliation qui lui serait demandée par le président du conseil départemental en cas de difficultés avec un patient.

1.4. Préparation des concentrés plaquettaires

1.4.1. Principe et objectifs de la centrifugation (Dohan *et al.*, 2005b)

Une particule soumise à un champ gravitationnel tend à se déplacer dans ce champ jusqu'à ce qu'elle rencontre une résistance capable de l'arrêter complètement. La vitesse avec laquelle les particules se déplacent est fonction de :

- La force gravitationnelle à laquelle la particule est soumise
- La différence de densité
- La masse de la particule

La vitesse est inversement proportionnelle à :

- La friction avec le milieu, la taille et la géométrie des particules.

La centrifugation permet donc de séparer des constituants de taille et de masse variables contenus dans un liquide. Les particules les plus lourdes se déposent au fond du tube (hématies) et les plus légères (fibrinogène,...) restent proches de l'axe de rotation (*figure 1.1*). Ces particules de différentes natures, tailles et masses vont se déposer à différentes distances de l'axe de rotation ce qui permet notamment d'obtenir une séparation cellulaire du sang. Les globules rouges sédimentent plus vite que les autres composants sanguins.

	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

Figure 1.1 Volume et densité des composants sanguins

Tous les constituants contenus dans un échantillon sont soumis à la gravité, force qui s'exerce du haut vers le bas et à la poussée d'Archimède qui s'exerce en sens opposé. Un autre phénomène intervient : l'agitation moléculaire, elle, n'a pas de direction privilégiée et est plus importante que les deux autres forces, la séparation des particules dépendra donc de cette dernière (figure 1.2).

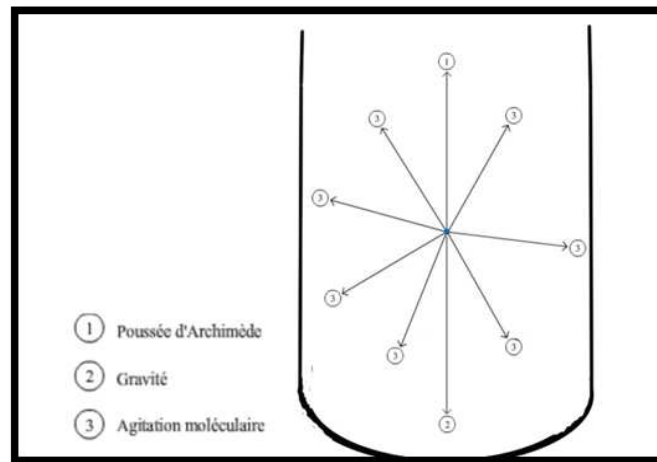


Figure 1.2 Force s'exerçant sur une particule en suspension dans un liquide soumis à la centrifugation

La force de centrifugation se calcule :

$$g = w^2 r = 1,119 \times 10^{-5} \times r \times n^2$$

- w : vitesse angulaire (rad/s) = $2 \pi V$ radians/s
- r : distance à l'axe de rotation
- n : nombre de rotations par minute (rpm).

L'interprétation de cette équation, permet de comprendre que la force de centrifugation ne s'exerce pas de la même manière d'un bout à l'autre du tube, plus on s'éloigne de l'axe de rotation, plus la force de centrifugation est importante ; c'est pour cela qu'il faut raisonner en terme de force moyenne ou relative. Chaque rotor a une force de centrifugation différente, car le rayon de rotation est différent. Ainsi la force de centrifugation maximale se calcule avec le rayon au fond du tube, la force moyenne avec le rayon au milieu du tube et la force minimale avec le rayon au sommet du tube. Généralement, lorsqu'aucune indication n'est donnée, on utilise le rayon au fond du tube.

Malheureusement, certaines plaquettes sont piégées entre les hématies, pour affiner la séparation, il faudrait augmenter la force de centrifugation, si cette dernière est trop importante, un pourcentage conséquent de plaquettes va s'activer et libérer immédiatement les facteurs de croissance. A 400 g le pourcentage d'activation des plaquettes est de l'ordre de 5 % seulement contre 40 à 70 % à 3 000 g.

Les protocoles essayent donc de maintenir des forces modestes comprises entre 160 g et 800 g, il en est de même pour les temps de centrifugation, ces derniers doivent rester suffisants pour permettre la séparation des éléments sanguins, soit environ une dizaine de minutes. Il n'existe peu de corrélation entre les critères de centrifugation et la qualité des concentrés plaquettaires. Les différences entre les résultats s'expliquent davantage par les grandes variations interindividuelles qui existent dans la constitution du sang (Dohan *et al.*, 2005b).

1.4.2. Préparation du PRP

Du sang veineux total est prélevé, dans des tubes contenant un anticoagulant le citrate-phosphate-dextrose-adenosine, pour éviter l'activation et la dégranulation des plaquettes. Une première centrifugation réalisée pendant 10 minutes à 2 400 tours/min soit environ 260 g, ce qui permet d'obtenir trois phases (Dohan *et al.*, 2005c) (*figure 1.4*) :

- le fond du culot, correspond aux hématies, il représente 55% en volume du contenu du tube,
- la phase supérieure est le plasma acellulaire (40% du volume) ou plasma pauvre en plaquettes (PPP),
- la partie intermédiaire est le « buffy coat » et le plasma riche en plaquettes.

Avec une seringue stérile le PPP et le PRP sont prélevés. Une deuxième centrifugation plus longue et plus rapide est alors réalisée pendant 15 minutes à 3 600 tours/min soit environ 580g. Cette seconde opération permet de concentrer les plaquettes au fond du tube sous la forme du cPRP, il s'agit d'un concentré à plus d'un million de plaquettes/ μ l. Cette phase représente environ 20% du volume centrifugé. Ce cPRP est mélangé à de la thrombine bovine, et du chlorure de calcium, qui a pour conséquence l'activation de la cascade de coagulation, et celle des plaquettes permettant la libération de facteurs de croissance. Ceci aboutit à la gélification du concentré plaquettaire par polymérisation du fibrinogène et réalise ainsi la matrice de fibrine.

1.4.3. Préparation du PRF

Le protocole a été mis au point en 2000 par Choukroun et Schleider.

1.4.3.1 Prélèvement

Un prélèvement de sang total de 2 à 8 tubes est réalisé au niveau de la veine basilique ou sur la veine saphène externe en particulier lors d'interventions sous anesthésie générale (*figure 1.3*). Ce protocole requiert des tubes secs en plastique de 10ml ne présentant ni thrombine, ni anticoagulant.



Figure 1.3 Prélèvement du sang veineux

1.4.3.2 Centrifugation

Ces tubes sont immédiatement centrifugés à 2700 tours par minute, pendant 12 minutes soit environ 320g. L'absence d'anticoagulant permet l'activation massive et rapide des plaquettes et le déclenchement de la coagulation, trois phases distinctes apparaissent (*figures 1.4*):

- un culot d'hématies et de leucocytes,
- une zone intermédiaire, correspondant au concentré plaquettaire, le caillot de fibrine
- une partie supérieure, le surnageant, qui est le plasma acellulaire.



Figure 1.4 Centrifugeuse Process EBA® et obtention de trois phases après centrifugation d'après

1.4.3.3 Prélèvement du coagulum

Une fois séparé du caillot d'hématies, le coagulum peut être prélevé et utilisé de différentes façons (*figure 1.5*) :

- tel quel dans le comblement d'alvéoles d'extraction par exemple,
- sous la forme d'une membrane après une légère compression,
- sous forme de fragments s'il est associé à une greffe osseuse.

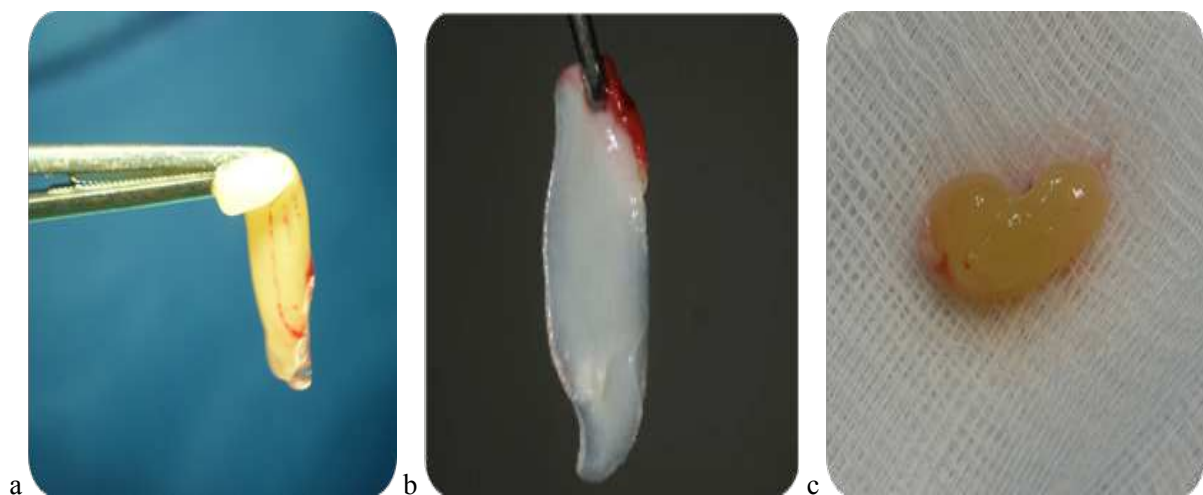


Figure 1.5 Différentes présentations du PRF a : coagulum ; b : membrane ; c : fragmenté d'après

1.4.3.4 Erreurs de manipulation

Dès le prélèvement réalisé, la manipulation doit être rapide, sinon, la coagulation commence de façon inhomogène avant la centrifugation ce qui aboutit à une polymérisation instable de fibrine.

1.5. Constitution de la matrice de PRF

L'absence d'anticoagulant va permettre l'activation, en quelques minutes, de la majorité des plaquettes contenues dans le prélèvement, au contact des parois du tube, et le déclenchement des cascades de réaction de la coagulation. Le fibrinogène est dans un premier temps concentré dans la partie haute du tube, avant que la thrombine ne fasse son effet et ne le transforme en fibrine.

Un caillot de fibrine est obtenu en plein cœur de la masse de plasma acellulaire avec un maximum de plaquettes piégées au sein des mailles de fibrine (Dohan *et al.*, 2005c). Concentrées dans le gel de fibrine, les plaquettes activées vont libérer les cytokines capables de stimuler la migration, la colonisation et la prolifération cellulaires indispensables à l'initiation de la cicatrisation.

1.5.1. Fibrinoformation

1.5.1.1. Le Fibrinogène

Le fibrinogène est une glycoprotéine d'une masse molaire de 340kDa, de 46nm de long synthétisée au niveau hépatique et dans les mégacaryocytes. Il est stocké dans les granules α des plaquettes. Cette glycoprotéine soluble circule dans le plasma sanguin à une concentration de 2 à 4,5g/L et joue un rôle déterminant dans l'agrégation des plaquettes (De Revel et Doghmi, 2004). Il est composé de six chaînes polypeptidiques identiques deux à deux, 2 chaînes α A, 2 chaînes B β et 2 chaînes γ .

1.5.1.2. Activation de la coagulation *in vitro* et fibrinoformation

La constitution d'une matrice de fibrine insoluble découle de divers mécanismes biochimiques (De Revel et Doghmi, 2004) amplifiés de manière artificielle reproduisant les dernières étapes de la cascade enzymatique de la coagulation. Les facteurs contacts dont la synthèse ne dépend pas de la vitamine K jouent un rôle essentiel dans l'initiation de la coagulation *in vitro*. L'activation de la phase contact par la contiguité du sang avec des surfaces artificielles comme la silice peut aussi être comparée à une cascade de réactions dont les quatre protéines initiatrices sont le facteur XII dit de

Hageman, le facteur XI, la prékallicroïne et le kininogène de haut poids moléculaire (KHPM). Le complexe formé par le KHPM, le facteur XII et la prékallicroïne se trouvent au centre de cette phase d'activation de contact. La libération de facteur XIIa permettrait d'une part d'activer le facteur XI et ainsi la voie d'activation intrinsèque de la coagulation mais aussi elle convertirait la prékallicroïne en kallicroïne qui elle-même active le facteur XII. La voie intrinsèque de la coagulation est déclenchée. En effet, le facteur XIa, activé par les facteurs contacts, active en retour le facteur IX pour générer avec son cofacteur VIII et les phospholipides plaquettaires, le complexe tenase. Le complexe tenase active la prothrombine en thrombine. Le système de la coagulation est lancé avec comme résultante la formation de thrombine. La thrombine déclenche alors la conversion du fibrinogène en fibrine (De Revel et Doghmi, 2004).

Sous l'action de la thrombine, le fibrinogène est transformé en fibrine, molécule insoluble, par clivages des chaînes α A du fibrinogène. Cela démasque alors les premiers sites de polymérisation du domaine E, qui se lient de façon non covalente aux domaines D des monomères adjacents. Les monomères polymérisent, des liaisons non-covalentes (liaisons D-E) se forment entre ces monomères, conduisant à la formation d'un réseau tridimensionnel de fibrine soluble. Le facteur XIII, activé par la thrombine, en présence de Ca^{++} , permet aux monomères de se stabiliser entre eux et entraîne la formation de fibrine par mise en place de liaisons covalentes (liaisons D-D).

1.5.2. Les plaquettes

1.5.2.1. Architecture des plaquettes

Les plaquettes sanguines sont des particules anucléées discoïdes provenant de la fragmentation du cytoplasme de cellules de la moelle osseuse : les mégacaryocytes. Les plaquettes sanguines sont distribuées principalement dans le compartiment sanguin : la numération plaquettaire normale est de 150 – 400 G/L et leur durée de vie est de 7 à 12 jours. Les plaquettes sont constituées de (De Revel et Doghmi, 2004) :

- une membrane plaquettaire organisée sous la forme d'une bicouche phospholipidique
- une membrane cytoplasmique riche en glycoprotéines fonctionnelles
- un système membranaire complexe intracytoplasmique
- un système microtubulaire et microfibrillaire
- un système de granulations intracytoplasmiques constituant le principal réservoir intracellulaire de protéines destinées à être libérées au cours de l'hémostase primaire.

Les granules α , contiennent des protéines spécifiques (β -thromboglobuline, le facteur 4 plaquettaire, fibrinogène) et non spécifiques (fibronectine, fibrinogène, facteur Willebrand, ainsi que d'autres facteurs de la coagulation).

Les granules denses contiennent de l'ADP (adénosine diphosphorique), de la sérotonine et du calcium.

1.5.2.2. Activation des plaquettes

In vivo, la rupture de la continuité endothéliale démasquant le facteur tissulaire est l'élément primordial responsable de l'initiation de la coagulation. La lésion de la paroi vasculaire, découvre les structures localisées dans les cellules endothéliales, d'abord dans la paroi du vaisseau, et si la brèche est complète dans les tissus irrigués par ce vaisseau. Ces différentes structures provoquent l'adhésion puis l'activation simultanée des plaquettes et des protéines de la coagulation présentes dans le sang circulant, déclenchant une série de réactions interdépendantes, à l'origine de la formation du caillot.

In vitro, la réaction est différente, il n'y a pas d'adhésion au sous-endothélium, c'est donc la voie intrinsèque qui intervient grâce à la surface de contact électronégative des silicates d'alumine, provoquant un changement conformationnel du facteur XII. Les tubes secs de prélèvement sont enduits de particules de silice enrobées d'alumine, cette contiguïté avec le sang, va entraîner une réponse du tissu hôte au contact de la surface étrangère : c'est la phase contact. L'adhésion de différents milieux entre eux s'explique par l'énergie de surface ou tension superficielle de toute surface. Le caractère hydrophobe/hydrophile de la surface est important, car le premier événement est l'adsorption par la surface artificielle d'ions inorganiques associés à des molécules d'eau. Les silicates d'alumine sont non-hydrosolubles mais hautement hydrophiles. Cette surface hydrophile en contact avec le sang va être modifiée par une couche d'eau, en rompant les interactions entre les chaînes de polymères. (Guibaud et *al.*, 2005).

Lorsqu'une solution protéique est mise en contact avec une surface artificielle solide, une certaine quantité de protéines dissoutes est adsorbée par cette surface. Il s'agit d'un phénomène précoce. Les protéines s'adsorbent en couche de quelques nanomètres d'épaisseur. C'est en deux temps que ce phénomène se décompose. Il y a d'abord un transfert de la protéine vers la surface, suivi d'une fixation de celle-ci à la surface. La fixation protéique répondrait à trois types de liaisons : les liaisons électrostatiques, les liaisons de type hydrogène et les liaisons de type hydrophobe-hydrophile. Cette adsorption protéique est rapide et elle se déroule en deux phases : une phase rapide de fixation, suivie d'une phase de plateau où la surface polymérique n'absorbe plus de protéines. Cette phase en plateau est dynamique si la quantité de protéines adsorbées reste constante ; il persiste un échange entre

protéines dissoutes et protéines adsorbées.

Le sang est une solution complexe multiprotéique. Des phénomènes d'adsorption compétitive entrent en jeu. Sur une surface avec des particules de silice, le fibrinogène initialement adsorbé est rapidement remplacé par du kininogène de haut poids moléculaire et par du facteur XII. Ce phénomène est appelé conversion. Mais il est aussi décrit un phénomène rapide d'adsorption/déplacement des protéines, les plus abondantes étant remplacées par les moins nombreuses comme le KHPM, la kalllicréine, le facteur XIa. La désorption de protéines, initialement fixées, libère des protéines sous une forme altérée, fragmentée, qui sont à l'origine de l'activation plaquettaire. Le mécanisme de l'activation plaquettaire, au contact d'une surface artificielle, fait intervenir trois séquences d'événements : adhésion, excrétion, agrégation. (Guibaud *et al.*, 2005).

L'adsorption protéique modifie la surface artificielle si bien que l'interaction directe entre les plaquettes et le biomatériau est rare. Cette adhésion s'exprime plus par une interaction entre les plaquettes et la protéine fixée. Le fibrinogène étant adsorbé préférentiellement, il permettrait l'adhésion plaquettaire par l'intermédiaire du récepteur glycoprotéique GPIIb-IIIa. Cette adhésion aboutit à une modification de la morphologie des plaquettes ce qui va permettre la libération du contenu de leurs granules et en particulier leurs cytokines et des molécules proagrégantes. La thrombine entraîne également la libération par les granules denses d'autres facteurs conduisant à l'agrégation plaquettaire. (Guibaud *et al.*, 2005).

La modification de conformation des plaquettes aboutit à l'exposition de protéines membranaires comme la P-sélectine qui exprimée sur les faces internes des membranes des granules α est mise à jour au cours de la fusion des granules avec la membrane cytoplasmique au moment de l'activation plaquettaire. La P-sélectine assure la fixation des plaquettes aux neutrophiles et aux monocytes. La P-sélectine est le reflet de la modification de la morphologie des plaquettes. L'antigène CD 62 qui se fixe sur la P-sélectine permet de déterminer le degré d'activation plaquettaire au sein des préparations (Mc Gregor, 1995).

1.5.3. Autres cellules

Dohan *et al.*, 2010(d) affirment que plus de la moitié des leucocytes dont beaucoup de lymphocytes, sont piégés dans le gel de PRF. Les plaquettes et les leucocytes sont concentrés dans une couche intermédiaire située entre les hématies et le caillot de PRF.

Les leucocytes et les plaquettes représentent une couche macroscopiquement visible, ainsi lors de la mise en place des caillots de PRF, les cliniciens doivent recueillir cette couche intermédiaire blanchâtre. Plus on s'éloigne de la jonction hématies / PRF et plus on observe une diminution du

nombre de cellules captives dans les mailles de fibrine, les leucocytes et les hématies restent localisés dans le « Buffy coat », et à la jonction avec le PRF. Plus on se rapproche du PRF et plus le réseau de fibres de fibrine est épais et forme un maillage dense. Les évaluations cytologiques confirment une zone d'hypocellularité dans le tiers supérieur du PRF, les éléments cellulaires apparaissent dans la partie inférieure des échantillons issus du tiers moyen de la membrane. Ces zones demeurent pauvres en cellules et présentent une forte densité en fibres. Le tiers inférieur se caractérise quant à lui par son hypercellularité et sa pauvreté en fibres (Gurbuser *et al.*, 2010) (*figure 1.13*). Une connaissance précise de l'architecture de caillot est nécessaire pour optimiser l'utilisation du PRF (*figure 1.6*).

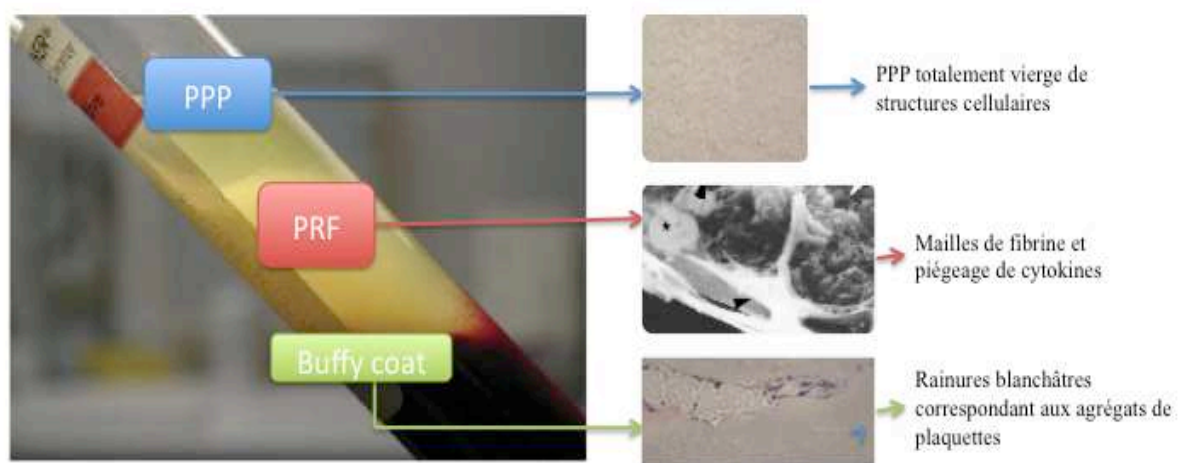


Figure 1.6 Fractions sanguines et contenu après centrifugation Dohan *et al.* 2005

1.5.4 Cytokines

1.5.4.1. Généralités sur les cytokines

Les cytokines, du grec *cyto* : cellule et *kinos* : mouvement, sont des substances solubles de communication synthétisées par les cellules du système immunitaire ou par d'autres cellules et/ou tissus, agissant à distance sur d'autres cellules pour en réguler l'activité et la fonction (Cavaillon, 2005).

Les cytokines sont de petites molécules protéiques dont la masse moléculaire n'excède pas 50 kDa. Elles jouent un rôle fondamental dans les communications intercellulaires en se fixant à un petit nombre de récepteurs à la surface des cellules pour lesquelles elles ont une grande affinité. Elles se rapprochent d'un langage biochimique grâce auquel les cellules prennent connaissance de la présence de leurs voisines et de leur appartenance à un tissu. Elles agissent de façon coordonnée sur l'hématopoïèse, la réponse immunitaire et la cicatrisation. Cependant, lorsqu'une cytokine stimule une

cellule, elle peut l'orienter aussi bien vers la mitose que vers l'apoptose. Dans une telle situation, les informations matricielles demeurent un référentiel incontournable : lorsque les cytokines sont incohérentes, la cellule prend ses ordres dans la matrice qui la soutient (Dohan *et al.*, 2004).

Certaines cytokines à spectre large sont considérées comme des facteurs de croissance (*growth factors*). Les principales cytokines relarguées par les plaquettes activées en font partie : *transforming growth factor* (TGF) β -1, *platelet-derived growth factor* (PDGF), *insulin-like growth factors* (IGF) et *platelet-derived endothelial cell growth factor* (PD-ECGF). Ces cytokines agissent sur la croissance cellulaire et sur le taux de production de la matrice extracellulaire en contrôlant le phénotype cellulaire. Elles sont généralement issues d'une molécule précurseur et sont activées par clivage. Leur mode de diffusion est le plus souvent paracrine, c'est-à-dire que la production des facteurs de croissance par un type cellulaire influence la fonction d'un autre type cellulaire et/ou autocrine (Dohan *et al.*, 2004).

Les facteurs de croissance agissent en se fixant sur les récepteurs membranaires spécifiques des cellules cibles, déclenchant, par l'intermédiaire d'une cascade de réactions, la stimulation de messagers intracellulaires migrant dans le noyau où ils activent par phosphorylation des facteurs transcriptionnels. L'aboutissement de ces réactions est la synthèse de protéines régulatrices, qui vont pouvoir moduler l'activité de certains phénomènes comme la différenciation et la division cellulaires.

1.5.4.2 Cytokines plaquettares

1.5.4.2.1 TGF- β : l'agent fibrosant

La super famille des TGF- β comporte plus de 30 protéines.

Structure

TGF- β est une glycoprotéine homodimérique qui existe sous cinq isoformes (TGF- β 1 à TGF- β 5) de poids moléculaire allant de 25 KDa à 30 KDa, elle est unie par un pont disulfure. On retrouve le TGF- β dans les plaquettes sous formes de TGF- β 1 et de TGF- β 2 (Koskievic, 2003).

Principe d'action

TGF- β régule la différenciation et le fonctionnement de nombreux types cellulaires dont la stimulation des cellules souches mésenchymateuses et la diminution de différenciation des ostéoclastes.

Le tissu osseux et les plaquettes contiennent 100 fois plus de TGF- β que les autres tissus et les ostéoblastes possèdent le plus grand nombre de récepteurs au TGF- β . TGF- β est un modérateur de l'inflammation, un puissant stimulateur de chimiotaxie des lymphocytes, monocytes, neutrophiles et

fibroblastes. Il induit l'inhibition de la dégradation du collagène en diminuant la sécrétion des protéases et en augmentant les inhibiteurs des protéases. Il stimule la migration et la prolifération cellulaire, il permet la synthèse de molécules matricielles comme le collagène I et la fibronectine, par les ostéoblastes ou les fibroblastes. Il inhibe la prolifération des cellules épithéliales et stimule celle des cellules conjonctives (Dohan *et al.*, 2004).

Les protéines inductrices de la famille des BMP sont des glycoprotéines de bas poids moléculaire, elles sont dissociables en deux chaînes polypeptidiques de près de 400 acides aminés, une chaîne propeptidique qui différencie les différentes protéines entre elles et une chaîne distale carboxylée commune dite mature et commune à l'ensemble des BMP, avec sept liaisons cystéines caractéristiques de la superfamille TGF- β . Les BMP sont retrouvées notamment dans la moelle osseuse, les plaquettes, les ostéoclastes du périoste et de l'endoste. Elles sont capables de stimuler la différenciation et la prolifération de cellules mésenchymateuses en cellules ostéoprogénitrices, et permettent donc la formation osseuse.

1.5.4.2.2 PDGF (Platelet Derived Growth Factor)

Structure

C'est une glycoprotéine de poids moléculaire de 30 KDa qui existe sous 3 isoformes donnant 2 homodimères (PDGF-aa et PDGF-bb) et un hétérodimère (PDGF-ab).

Principe d'action

Ils régulent la migration, la prolifération et la survie des cellules souches d'origine mésenchymateuse par accélération du cycle cellulaire. Ils sont tout aussi capables d'induire l'inhibition que la stimulation de ces cellules. Ils ont un effet vasoconstricteur et angiogénique. Ils ont un rôle primordial dans le remodelage tissulaire, le PDGF accélère la fermeture précoce des plaies en stimulant la formation de dépôts de glycosaminoglycanes, d'acide hyaluronique et de fibronectine. Il participe à la synthèse de la matrice. Il a un rôle important dans la cicatrisation en potentialisant d'autres facteurs de croissance comme IGF-1 (Koskievic, 2003).

1.5.4.2.3 VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor)

Structure

Il appartient à la super famille des PDGF. Il existe sept sous-types de VEGF (A, B, C, D, E et PGF 1 et 2 (placenta growth factor)). C'est le plus puissant facteur de croissance vasculaire (Dohan *et al.*, 2004).

Principe d'action

Il permet par ses isoformes de diriger le schéma de croissance vasculaire, et d'augmenter la perméabilité vasculaire. Le VEGF joue également un rôle dans la croissance des tumeurs, en leur apportant l'oxygène et les nutriments dont la tumeur a besoin, grâce à la néo-angiogénèse.

1.5.4.2.4 IGF (Insulin Like Growth Factor)

Structure

Leurs structures tridimensionnelles et leurs modes d'action sont proches de l'insuline. Ils sont décelables dans les tissus fœtaux dès le 4ème mois de gestation. Ils sont produits par le foie.

Il existe deux isoformes d'IGF (IGF-I et IGF-II), dont les principes modes d'action sont proches mais leur régulation différente. Leur poids moléculaire est respectivement de 7,6kDa et 7,4kDa (Koskievic, 2003).

Principe d'action

Ils stimulent la prolifération (fibroblastes, cellules endothéliales) et la différenciation cellulaire. Ils permettent la régulation par l'élaboration de signaux protecteurs de stimuli apoptotiques. Ils augmentent la différenciation des précurseurs d'ostéoblastes et la formation de matrice par les ostéoblastes matures ; la synthèse de collagène de type 1 et de protéines non collagéniques. IGF-I inhibe la dégradation de collagène via l'inhibition de l'expression de la collagénase par les ostéoblastes (Rosenberg, 1999).

1.5.4.2.5 EGF

Structure

EGF est synthétisé à partir d'un précurseur de 1217 acides aminés, correspondant à une masse de 6,4kDa. La forme active représente 4% de la masse du précurseur (WIKIPEDIA, 2011).

Principe d'action

Il a un rôle principalement trophique, sur la plupart des tissus, ainsi qu'une action anti-apoptotique. Les cellules épithéliales possèdent le plus grand nombre de récepteurs à EGF. La liaison favorise l'activité chimiotactique et mitogène de ces dernières. Les autres cellules cibles sont les cellules endothéliales et les fibroblastes, elles provoquent leur chimiotactisme et des effets mitogéniques. Il est impliqué dans le développement et le fonctionnement normal de différents organes. L'action de ces facteurs de croissance est médiée par une famille de quatre récepteurs membranaires. Le récepteur de l'EGF a été le premier récepteur membranaire impliqué dans la cancérogénèse (Koskievic, 2003).

1.5.4.2.6 FGF

Structure

Elle appartient à une famille comportant 22 protéines. Elle est composée de 146 acides aminés, pour une masse d'environ 18kDa.

Principe d'action

Elles entraînent la migration et la multiplication de leurs cellules cibles. Elles ont un rôle important dans la signalisation, la cicatrisation épithéliale et l'angiogénèse (Yang, 2000).

1.5.4.3 Les cytokines leucocytaires

1.5.4.3.1 Cytokines pro-inflammatoires

L'interleukine-1 (IL1)

L'IL1 existe sous deux formes moléculaires, IL1 α et IL1 β différant par leur séquence d'acides aminés mais ayant les mêmes propriétés biologiques. Les activités biologiques de l'IL1 sont nombreuses et importantes (WIKIPEDIA, 2012) :

- L'IL1 active l'expression de nombreux gènes qui interviennent dans la synthèse des médiateurs de l'inflammation.
- Elle augmente l'expression de facteurs d'adhésion sur les cellules endothéliales, afin de faciliter la transmigration des leucocytes sur les sites d'infection.
- Elle stimule la production des protéines de l'inflammation : fibrinogène, composants du complément, protéine C-réactive...
- Elle entraîne une résorption osseuse et favorise la prolifération de nombreuses cellules comme les fibroblastes.

Interleukine-6 (IL6)

L'IL6 intervient en stimulant la production des protéines de la phase aiguë de l'inflammation : CRP, C3, fibrinogène, α 2-macroglobuline...

L'IL6 diminue la production d'IL1 et stimule la production de molécules intervenant dans les processus de réparation tissulaire (Esnaut, 2012).

L'IL6 intervient aussi dans les mécanismes de l'immunité en favorisant la différenciation des lymphocytes B en plasmocytes, en stimulant la prolifération des lymphocytes T et en favorisant la genèse de lymphocytes T cytotoxiques.

Les facteurs de nécrose tumorale : TNF α et TNF β

Le TNF existe également sous deux formes : le TNF α et le TNF β . Les actions du TNF dans les mécanismes de l'immunité et de l'inflammation s'exercent sur de nombreux types cellulaires. Certaines de ces actions sont communes avec celles de l'IL1 et se font en synergie.

Le TNF α agit sur :

- les macrophages et monocytes : il permet leur chimiotactisme et transmigration mais inhibe leur différenciation et supprime leur prolifération. Il induit la synthèse de cytokines et de prostaglandines.
- les cellules endothéliales : il permet de moduler l'angiogenèse, d'augmenter la perméabilité des vaisseaux et d'induire la production de diverses cytokines.
- les polynucléaires neutrophiles : il augmente leur capacité de phagocytose.
- les fibroblastes : il entraîne leur prolifération, permet la sécrétion d'IL1, IL6, et inhibe la synthèse de collagène.
- les lymphocytes : entraîne l'apoptose des lymphocytes T matures et active la migration des T cytotoxiques.

L'interleukine-8 (IL8)

L'IL8 est une chimiokine. De nombreuses cellules stimulées par l'IL1 ou les TNF α produisent de l'IL8. Les polynucléaires neutrophiles sont la cible privilégiée de l'IL8 (Esnaut, 2012).

1.5.4.3.2 Les cytokines immunorégulatrices "Th1" (IL2, interféron gamma)

Elles induisent une réponse immunitaire de type cellulaire.

L'Interleukine 2 (IL2)

Elle est produite par les lymphocytes T activés et possède un rôle régulateur de l'immunité. L'IL2

accroît la vitesse de prolifération des CD4. Elle stimule les lymphocytes CD8 cytolytiques, et augmente la production d'anticorps par les lymphocytes B. Parmi les autres effets de l'IL2 sur la réaction immunitaire, l'augmentation de la production d'autres cytokines tels que l'interféron, le TNF α et l'IL6, ainsi qu'une augmentation de l'activité Natural Killer (NK) et une diminution de l'apoptose (Esnaut, 2012).

Interféron gamma

C'est un immuno-modulateur et un antiviral. Il active les macrophages et les polynucléaires, augmente la production d'Ig G et active le complément. Il permet la sécrétion d'anticorps par les lymphocytes B. C'est un anti-angiogénique puissant.

1.5.4.3.3 Les cytokines immunorégulatrices "Th2"

Elles induisent une réponse immunitaire de type humoral.

L'interleukine-10 (IL10)

L'IL10 est une cytokine régulatrice produite à la fois par les lymphocytes T de type Th2 et par les monocytes. Elle inhibe la présentation de l'antigène par les cellules présentatrices d'antigène (macrophages, monocytes) et freine la production de différentes cytokines : TNF α , IL1, IL6, IL8...

L'interleukine-4 (IL4)

L'IL-4 est sécrétée par les lymphocytes T de type CD4+. Elle augmente la croissance et la différenciation des lymphocytes B préalablement activés (Esnaut, 2012).

1.5.4.4 Dosage des cytokines dans le gel de PRF

L'insolubilité de la fibrine, entraîne des difficultés de dosage des cytokines contenues dans la membrane de PRF. La consistance du gel rend impossible le dosage de ces cytokines qui ne peut se faire que dans un liquide de faible viscosité. Ainsi, Dohan *et al.*, (2004) réalisent une première étude sur des prélèvements sanguins issus de 15 patients dont l'objectif est d'identifier la position et la nature (en solution ou incorporé dans les polymères de fibrine) de trois cytokines plaquettaires (PDGF-BB, TGF- β 1 et IGF-1) au sein de préparations de PRF.

A cette fin, ils étudient par test Elisa leur profil de sécrétion au sein du surnageant (PPP) et au sein de l'exsudat issu du caillot de PRF, l'exsudat est obtenu en laissant les caillots de PRF dans une cupule métallique stérile pendant 15 minutes afin de relâcher peu à peu tout le liquide ou exsudat contenu à l'intérieur.

Les résultats de cette étude indiquent une absence de différence significative entre les concentrations en cytokines présentes dans le surnageant PPP et celles issues du PRF. En l'attente de techniques permettant de doser les cytokines présentes au sein du PRF, les concentrations sont appréciées au niveau du PPP ou de l'exsudat. L'ensemble des résultats se base sur des extrapolations.

Le contenu en cytokines du surnageant et de l'exsudat est très faible. Dohan *et al.* (2004) estiment donc que la majorité des cytokines ne s'y trouverait pas et serait incorporée aux polymères de fibrine. Cette hypothèse est à ce jour non vérifiée et fait l'objet d'un vif débat.

1.6 Architecture d'une membrane de PRF

1.6.1 Relation entre l'architecture et l'activité du PRF : influence du mode de polymérisation

Une des différences essentielles entre le PRF, le PRP et les colles biologiques repose sur leur mode de polymérisation. Pour les colles biologiques et les PRP, il est rajouté du chlorure de calcium et de la thrombine en grande quantité. Ceci va entraîner une polymérisation brutale qui va modifier les propriétés biologiques et mécaniques de la trame de fibrine. Cela crée un milieu peu propice à la migration cellulaire et au piégeage des cytokines. Une polymérisation brutale met en difficulté l'incorporation des cytokines au sein de la matrice : les jonctions sont bilatérales, la matrice devient rigide. L'élimination des cytokines est massive et rapide car elles sont extrinsèques, c'est-à-dire piégées dans la suspension colloïdale entre les mailles du réseau de fibrine au cours de la gélification.

Le PRF quant à lui, se caractérise par une polymérisation naturelle, lente et homogène puisqu'aucun activateur n'est rajouté. Ce mode de polymérisation permet la formation d'une matrice élastique riche en glycoprotéines avec des jonctions équilatérales, favorables à la migration et la rétention cellulaire. Les cytokines sont alors retenues dans les mailles du réseau tridimensionnel et ne sont pas solubilisées. Elles sont disponibles *in situ* et ne sont libérées qu'au moment du remodelage cicatriciel de la matrice (Dohan *et al.*, 2005). Le PRF consiste alors en un système de libération prolongé des cytokines.

Dohan *et al.* (2004) analysent les taux des cytokines inflammatoires et cicatricielles présentes dans le PRF, à partir d'échantillons sanguins issus de 15 volontaires, des préparations de PRF sont réalisées. Les taux d'IL-1, d'IL-4, d'IL-6, de TNF- α et de VEGF présents dans le surnageant PPP et dans l'exsudat issu du caillot de PRF sont analysés par un test Elisa. Les valeurs obtenues sont alors comparées à celles observées dans le sérum (sang complet activé) et dans le plasma (sang non activé). Les quantités de cytokines obtenues dans l'exsudat de PRF sont toutes significativement supérieures à celles retrouvées dans les échantillons de plasma et de serum analysés. Les auteurs en concluent, par extrapolation, que le mode de production du PRF aboutit à une sécrétion accrue des cytokines inflammatoires et cicatricielles d'origine leucocytaire. Ils suggèrent également que ces cytokines puissent être piégées dans le gel de fibrine avant d'être libérées progressivement dans le milieu.

L'hypothèse de Dohan et al, 2004 est confirmée par d'autres études en particulier celle de He Ling *et al.*, en 2009 qui évaluent la concentration de 2 facteurs de croissance TGF β 1 et PDGF-AB dans les exsudats de PRP et de PRF à J1, J7, J14, J21 et J28. Selon les données de cette étude, les facteurs de croissance du PRF sont libérés progressivement et le pic de libération est retardé par rapport au PRP. En effet, le pic est obtenu à J1 pour le PRP, et à J14 pour le PRF. Le PRP atteint un niveau maximal de libération de TGF β 1 et PDGF-AB au bout d'une heure avec une décroissance rapide. En revanche, pour le PRF le niveau maximal de TGF β 1 et PDGF-AB est obtenu à J14. A 14 jours, le PRF conserve des niveaux statistiquement plus élevés de TGF β 1 et PDGF-AB que le PRP (He Ling *et al.*, 2009) (*figure 1.17*).

Une autre étude datant de 2009 dirigée par Chen *et al.*, évalue les concentrations en facteurs de croissance (PDGF-AB, TGF-1, VEGF, EGF, et IGF1) de l'exsudat du PRF au cours des premières minutes jusqu'à 5 heures (5, 60, 120 et 300minutes). Les données montrent également une augmentation de la teneur de PDGF-AB, TGF β 1, VEGF, et de EGF au cours du temps jusqu'à une teneur totale respective d'environ 52, 72, 1 et 3 ng. En revanche, la concentration en IGF1 est restée stable durant la période d'observation à environ 250 ng. La libération de PDGF-AB, TGF β 1, EGF, VEGF obtenu à partir de l'exsudat de PRF en 300 minutes est équivalente à $0.295 \cdot 10^{-16}$, $0.998 \cdot 10^{-16}$, $1.7 \cdot 10^{-18}$ g, et $0.5 \cdot 10^{-18}$ g par plaquette respectivement.

En se basant sur l'étude de Burnouf, *et al.*, (2008) qui détermine le dosage de PDGF-AB, TGF β 1, de EGF, Chen *et al.*, (2009), suggèrent que 17%, 55% et 82% de la teneur totale plaquettaire de ces 3 facteurs de croissance est libéré dans les moins de 300 minutes.

1.6.2 Facteurs modifiant l'architecture du PRF

1.6.2.1 Influence du délai entre le prélèvement et la centrifugation

Dans des conditions normales un caillot de fibrine est obtenu au milieu du plasma acellulaire avec la plupart des plaquettes piégées au sein des mailles de fibrine. Il faut quelques minutes de centrifugation pour concentrer le fibrinogène dans la zone médiane et supérieure du tube et obtenir un caillot de PRF.

Sans anticoagulant, le sang prélevé commence à coaguler dès qu'il entre en contact avec le verre du tube ou les particules de silice, si la période entre le prélèvement et la centrifugation est trop longue un amas diffus et inexploitable apparaît au sein du tube (*figure 1.8*).

1.6.2.2 Influence du contenant

Quelle que soit la nature du contenant : du verre ou du plastique avec des particules de silice, cela n'affecte pas l'architecture ni la qualité du PRF (Dohan *et al.*, en 2010).

1.6.2.3 Influence de la compression

Une étude de Lucarelli *et al.*, (2010) évalue l'influence de la compression sur le coagulum de PRF. Ils étudient la répartition des plaquettes et des fibres de fibrine après compression des membranes sur une plaque de verre. La partie inférieure et supérieure de la membrane sont analysées par immunofluorescence grâce à des anticorps anti-fibrinogène et en microscopie électronique à balayage. Les auteurs retrouvent deux populations de fibres :

- La première population présente une taille proche des fibres natives avec un diamètre moyen de $95,7 \pm 29,5$ nm.
- La deuxième, possède un diamètre moyen de $305,3 \pm 95,9$ nm et se compose principalement de faisceaux de fibres pressées entre elles, plus courtes et emballées longitudinalement.

Sur la face inférieure de la membrane, la formation de gros câbles parallèles fusionnés en faisceaux est plus prononcée, que sur la face supérieure. Les auteurs y observent des fibres fortement pressées contre la surface en verre, formant des agrégats denses, sans pores.

Gurbuzer *et al.*, (2010), confirment cette organisation et retrouvent eux aussi quelques agrégats plaquettaires au sein de ce maillage dense. Par contre, le prélèvement semble pollué, en effet, Gurbuzer *et al.*, (2010), retrouvent des particules de silice au contact des plaquettes. Cet élément est à

prendre en compte notamment à l'égard de la toxicité éventuelle des membranes. Il semble par ailleurs que le positionnement des plaquettes varie en fonction des donneurs, il est donc délicat de tirer des conclusions quant à la répartition des plaquettes après compression. Il est admis que les deux côtés de la membrane présentent une densité de fibres très élevée par rapport aux caillots de fibrine ordinaires non comprimés.

1.7 Propriétés mécaniques des membranes de PRF

Lucarelli *et al.*, en 2010 évaluent la résistance à la traction et le module d'élasticité à 5 et 18 jours après la préparation des membranes de PRF, à une température de 25°C. Il n'y a pas de différence significative entre les deux périodes : c'est à dire que le module d'élasticité est de $937,3 \pm 314,6$ kPa, l'élongation jusqu'à rupture de $146,3 \pm 33,8$ % (en % de la longueur initiale), et la contrainte jusqu'à rupture est de $1476 \pm 526,3$ kPa, les membranes de PRF possèdent des propriétés mécaniques favorables, un module d'élasticité et une résistance à la déchirure accrue par rapport aux autres concentrés plaquettaires et de manière durable. Les auteurs indiquent qu'une membrane de PRF est 600 fois plus rigide que le caillot de fibrine obtenu à pression ambiante et de façon naturelle.

Selon les auteurs, l'augmentation du module d'élasticité du PRF, confère à la membrane de PRF une souplesse lui permettant de s'adapter à divers sites chirurgicaux. Sa résistance à la traction accrue lui permet d'être facilement suturée. Ces caractéristiques laissent envisager des applications cliniques en particulier dans les techniques de régénération osseuse guidée (cf chapitre 3).

Chapitre 2 PRF et réparation tissulaire

La réparation tissulaire correspond à une succession d'événements aux niveaux moléculaire et cellulaire visant à la restauration structurale d'un tissu lésé chirurgicalement ou par toute autre forme de traumatisme. La réparation tissulaire diffère en fonction de nombreux paramètres dépendant de l'individu, du type de tissu lésé et enfin de la nature du traumatisme, nous n'aborderons pas ici les notions fondamentales concernant la réparation tissulaire et osseuse, nous évoquerons seulement les mécanismes permettant au PRF d'intervenir au cours de ces processus et en quelle mesure ils sont capables de les optimiser.

2.1 PRF et angiogenèse

L'angiogenèse consiste en la formation de néo-vaisseaux sanguins à l'intérieur d'une plaie. Pour que l'angiogenèse débute, il faut que les cellules soient exposées au $TNF\alpha$ et à un facteur angiogénique. Les structures tubulaires apparaissent dès le 2ème jour, puis s'étendent dans le gel de fibrine. Un réseau complexe s'établit au sein du gel de fibrine en 5 à 10 jours (Abelli *et al.*, 1998).

L'angiogenèse nécessite une matrice extracellulaire qui sert de support à la migration, au changement de phénotype, à la division des cellules endothéliales. Il a été clairement démontré que la matrice de fibrine supporte et conduit directement l'angiogenèse. La propriété angiogénique de la matrice de fibrine s'explique d'une part grâce à sa structure tridimensionnelle et d'autre part grâce à l'action simultanée des cytokines piégées dans les mailles du PRF (Roy *et al.*, 2011). La structure tridimensionnelle et les propriétés mécaniques de la matrice ont une importance sur la rapidité de l'angiogenèse. Selon les modèles développés par Nehls et Herrmann (1996), la rigidité de la matrice influence la formation des capillaires par les cellules endothéliales en réponse au FGF β ou au VEGF. Le PRF, par sa polymérisation lente et naturelle permet la formation d'un gel souple qui va permettre une croissance des capillaires beaucoup plus importante que le PRP et les colles biologiques. Au cours de leur expérience, Van Hinsbergh, Collen *et al.*, (2001) ont étudié le comportement des cellules endothéliales dans des gels de fibrine différents sur le plan structural. Ils ont observé que la croissance des néocapillaires (sous l'induction de facteurs de croissance identiques) est meilleure dans les gels souples que dans les gels rigides. Néanmoins la stabilité des capillaires augmente avec la rigidité du gel dans lesquels ils se forment.

Un élément important de l'angiogénèse est l'expression de l'intégrine $\alpha\beta3$ par les cellules endothéliales. Cette protéine permet la fixation directe des cellules à la fibrine, fibronectine et vitronectine. La régulation de l'expression de cette intégrine se ferait directement par la fibrine. En culture, les cellules endothéliales, mises en contact avec une matrice de fibrine, expriment $\alpha\beta3$ ce qui n'est pas le cas avec le collagène seul (Feng *et al.*, 1999). Les principaux facteurs solubles présents dans le gel et impliqués dans le processus sont le FGF β , le VEGF, l'angiopoïétine et le PDGF. De plus, le FGF β et le PDGF peuvent se lier à la fibrine avec une haute affinité par conséquent induire directement l'angiogénèse. Leur libération lente et continue et leur distribution dans l'espace au sein du PRF sont des facteurs impliqués dans l'angiogénèse (Choukroun *et al.*, 2006) mais cela demeure une hypothèse à confirmer.

2.2 PRF et inflammation

L'expression des récepteurs CD11 et CD18 à la surface des polynucléaires neutrophiles ainsi que la migration de ces derniers sont stimulés par les produits de dégradation de la fibrine et du fibrinogène. Ces récepteurs vont permettre l'adhérence des neutrophiles à l'endothélium et leur transmigration. La libération de cytokines par le PRF va pouvoir moduler la phagocytose et les processus de dégradations enzymatiques de cette première ligne de défense (Choukroun *et al.*, 2006).

Les monocytes et macrophages arrivent plus tard sur le site lésionnel, leur migration est facilitée par la fibronectine, les propriétés physico-chimiques de la matrice et les agents chémo-attractants (Choukroun *et al.*, 2006).

La présence de ces cytokines leucocytaires ayant des actions pro-inflammatoires (IL-1 β , IL6,8 et TNF α), anti-inflammatoires (IL-4,10) ou de stimulation de l'angiogénèse (VEGF) permet de considérer ce concentré plaquettaire comme un véritable matériau ayant des propriétés immunitaires. Les capacités de défense contre les infections du PRF ne seraient donc pas négligeables, tant par le pouvoir chimiotactique de ces cytokines que par leur capacité à faciliter l'accès au site agressé (Choukroun *et al.*, 2006). La présence de ces facteurs de croissance pourrait expliquer la réduction des infections post-opératoires, de plus les monocytes et polynucléaires neutrophiles piégés dans les mailles du PRF contiennent des granules contribuant à l'effet antibactérien. Ainsi, le PRF présente des capacités antibactériennes importantes, notamment sur les Staphylocoques (Idelevich *et al.*, 2011).

L'utilisation de PRF dans la réparation tissulaire des plaies dépend de l'effet et de la stabilité des facteurs de croissance dérivés du PRF. Il existe au moins deux facteurs de croissance contenus dans la membrane de PRF qui sont protégés de la dégradation protéolytique par des mécanismes multiples. Effectivement, quand des anticorps anti-PDGF et anti-TGF β , sont mis au contact de la membrane de

PRF, il persiste une libération de ces facteurs de croissance d'une manière durable (Lundquist *et al.*, 2008). Cela fait naître un grand espoir pour les cliniciens, ainsi le PRF est désormais utilisé en médecine chez les sportifs de haut niveau dans le traitement des tendinites et des inflammations ostéo-articulaires. Les effets thérapeutiques du PRF sur le contrôle de l'inflammation demeurent à démontrer.

2.3 PRF et couverture épithéliale

La cicatrisation est guidée par la matrice de PRF qui intervient sur deux types de cellules : les cellules épithéliales et les cellules conjonctives et en particulier les fibroblastes :

Choukroun *et al.*, en 2007 évaluent l'effet du PRF sur des cultures de kératinocytes tympaniques et de préadipocytes, 4 séries de cellules de chaque type sont cultivées selon des conditions normales (groupe contrôle) et en présence de PRF (test). Les boîtes de cultures sont retirées pour comptage au 3, 7, 14 et 21^{ème} jour. Les préadipocytes et les kératinocytes réagissent de manière significative ($p < 0,01$) à l'adjonction de PRF dès le 7^{ème} jour de culture : + 60 % de cellules avec PRF par rapport au témoin. En présence de PRF, le nombre total de cellules en culture est multiplié par 2,5 par rapport au témoin dès le 14^{ème} jour, et cela pour les deux types cellulaires. Cependant, à partir du 14^{ème} jour, le pic de prolifération quotidienne moyenne des préadipocytes atteint un plateau, ce qui signe une stabilisation de la stimulation induite par le PRF. Ce phénomène est encore plus marqué avec les kératinocytes : après un pic de prolifération à 14 jours, le nombre de cellules produites chaque jour chute rapidement, jusqu'à atteindre quasiment le niveau du groupe témoin. La prolifération des types cellulaires testés est accélérée de manière significative par l'adjonction de PRF tout au long de la culture.

Les résultats de Choukroun *et al.*, en 2007 semblent en opposition avec ceux de Tsai *et al.*, (2009) qui estiment que le PRF induit une pression négative sur des kératinocytes oraux via le TGF β .

En association avec la fibronectine et la vitronectine, la fibrine du PRF fournit un support pour la migration et l'organisation des fibroblastes. La migration des fibroblastes est optimale lorsqu'il existe un maximum de liaisons croisées entre les chaînes α au sein du PRF. Après digestion de la fibrine, les fibroblastes s'orientent vers la synthèse de collagène grâce à la libération locale de facteurs de croissance et en particulier le PDGF qui accélère la fermeture précoce des plaies en stimulant la formation de dépôts de glycosaminoglycanes, d'acide hyaluronique et de fibronectine. Le PDGF participe à la synthèse de la matrice. Il a un rôle important dans la cicatrisation avec IGF-1 qui stimule la prolifération des fibroblastes (Clark *et al.*, 2007 ; Dohan *et al.*, 2009). *In vitro*, Lundquist *et al.*, (2008), comparent les effets de PRF avec les surnageants de PRP, le PDGF et un homologue FS dans

des cultures de fibroblastes dermiques d'origine humaine (*figure 2.1*). La prolifération des fibroblastes grâce au PRF a dépassé celle des FS et PDGF utilisés seuls, même si les résultats sont inférieurs au PRP, les auteurs estiment que la libération soutenue de cytokines plaquettaires stimule la croissance des fibroblastes (Lundquist *et al.*, 2008). D'autres cytokines que le PDGF sont impliquées.

Danielsen *et al.*, en 2010 évaluent l'effet du PRF sur l'épithélialisation du site donneur d'une greffe de peau mince. 20 patients sont inclus dans leur étude, la moitié est traitée par le PRF l'autre par un traitement standard de référence : un pansement gras à base d'alginate de calcium. L'évaluation repose sur un examen clinique à 5 et 8 jours ainsi que sur des analyses histologiques faites à l'aide de punch. Les résultats montrent une épithélialisation plus importante et plus rapide sur les sites traités par le PRF. Avec un pourcentage d'épithélialisation de 50% à 8 jours avec le PRF contre 20% avec le pansement usuel. Selon les mêmes auteurs, l'addition de PRF améliore la stimulation de la fibrine sur les fibroblastes et les kératinocytes par l'apport local de facteurs de croissance.

2.4 PRF et cellules souches ostéoprogénitrices humaines

Le caillot de fibrine piège les cellules souches mésenchymateuses circulantes amenées sur le site lésé grâce à la néo-vascularisation, ces cellules migrent vers un phénotype sécrétoire qui va permettre l'accélération de la cicatrisation des brèches tissulaires. Gurevich *et al.*, (2002), affirment que le contact prolongé de cellules souches mésenchymateuses médullaires avec de la fibrine induit la constitution de phénotypes ostéogéniques très puissants. Les facteurs locaux contenus dans le PRF tels le TGF- β , IGF-1, FGF et TGF- β vont favoriser la différenciation des cellules mésenchymateuses vers une lignée ostéoblastique (Lucarelli *et al.*, 2010).

Plusieurs études montrent que le PRP possède un effet limité dans la régénération osseuse (He ling *et al.*, 2009 ; Zhu *et al.*, 2009). Il est possible que cela provienne des facteurs de croissance du PRP qui sont libérés rapidement et massivement, juste avant la croissance des cellules. De plus, la thrombine pourrait avoir un effet toxique sur les cellules. Le PRF est quant à lui confectionné naturellement sans ajout de thrombine, et la libération progressive des facteurs de croissance pourrait protéger les cytokines de la protéolyse. Zhu *et al.*, (2006) dans leur étude chez le rat, montrent que l'injection sous-cutanée d'un mélange de cellules souches mésenchymateuses et BMP-2 en contact avec le PRF est à l'origine d'une ostéogénèse significativement supérieure à celle du même mélange en contact avec le PRP. L'étude de He ling *et al.*, en 2009, va dans le même sens, le PRF stimule la régénération osseuse *in vitro* efficacement. En se basant sur l'activité des phosphatases alcalines et le nombre de foyers de minéralisation, le PRF améliore la prolifération et la différenciation des ostéoblastes de calvaria de rats d'une façon plus prolongée et plus intense que le PRP.

Dohan *et al.*, (2010), s'inspirent des études faites sur le PRP et les cellules souches ostéoprogénitrices pour évaluer la stimulation et la différenciation des cellules d'origine humaine par le PRF. L'objectif des études étant de proposer un nouveau substitut osseux à base de cellules souches d'origine iliaque mélangées à un milieu de culture autologue. Les résultats montrent que le PRP constitue un excellent milieu de culture et pourrait se substituer au sérum fœtal de veau (Yamada *et al.*, 2004 ; Oliva *et al.*, 2005). Si le PRP favorise la prolifération cellulaire, il semble s'opposer à la différenciation des cellules souches ostéoprogénitrices (Lucarelli *et al.*, 2004). Cependant, le recueil des cellules d'origine iliaque est complexe, Dohan *et al.*, (2010) proposent alors de prélever des cellules ostéoprogénitrices buccales après une stimulation endostée. L'étude de Dohan *et al.*, (2010) est réalisée chez un volontaire sain devant bénéficier d'une implantation, 15 jours avant la pose des implants un forage est réalisé à l'aide d'une tréphine pour stimuler et favoriser l'arrivée des cellules souches. Le jour de la pose des implants les cellules sont recueillies. Les cellules souches ostéoprogénitrices sont isolées des cultures primaires et incubées avec ou sans membrane de PRF provenant du même donneur que les cellules dans des conditions standard et selon des conditions de différenciation et de prolifération.

Cinq cultures sont réalisées dans des conditions standards (groupe témoin), 5 avec une membrane de PRF dans des conditions standards, 5 avec deux membranes de PRF dans des conditions standard, 5 dans des conditions de différenciation, 5 avec une membrane de PRF dans des conditions de différenciation et 5 avec deux membranes PRF dans des conditions de différenciation. Après 7 jours, les membranes de PRF ont été supprimées. Une série de culture est effectuée en utilisant deux membranes de PRF, afin de mesurer l'effet dose-dépendant. Les évaluations portent sur le nombre de cellules et la différenciation vers la lignée ostéoblastique en appréciant l'activité des phosphatases alcalines, le nombre de nodules de minéralisation et la morphologie des cellules en MEB.

Le PRF a généré une stimulation significative de la prolifération et la différenciation des cellules ostéoprogénitrices tout au long de la période expérimentale, les résultats avec le PRF sont supérieurs à ceux obtenus avec le PRP. Cet effet était dose-dépendant pendant les premières semaines dans des conditions normales, et pendant toute l'expérimentation dans des conditions de différenciation. En effet les résultats sont significativement meilleurs lorsque les membranes sont multipliées. Dans des conditions standard de culture, la stimulation de la prolifération variait entre 160% et 210% avec 1 PRF, entre 190% et 380% avec 2 PRF. Le niveau de stimulation a été stable, avec une membrane, mais il y a eu un pic de stimulation durant la première semaine (330% à J3, 380% à J7) avec 2 membranes, l'effet dose-dépendant disparaît dans le temps. L'analyse de la culture à J14 a permis de montrer des nodules de minéralisation plus nombreux et plus structurés dans les groupes avec PRF par rapport aux groupes témoins. Enfin, les cellules exposées au PRF et au milieu de différenciation ont montré des caractéristiques de différenciation supérieures à tous les autres groupes. Cependant, il est difficile d'imaginer que les mêmes cellules peuvent proliférer et se différencier en même temps. Le PRF favoriserait la séparation de la culture en deux profils : une partie des cellules prolifère tandis que l'autre se différencie.

2.5 PRF et influence cellulaire

L'étude *in vitro* de Tsai *et al.*, en 2009 évalue le rôle du PRF sur la prolifération des cellules parodontales. Les fibroblastes sont issus du ligament d'une troisième molaire extraite, les kératinocytes d'un carcinome épidermoïde et les ostéoblastes d'un sarcome osseux. Les cultures isolées sont réalisées sur des milieux enrichis. La quantification cellulaire a été réalisée à 3 jours après mise en culture.

Les résultats montrent que le PRF n'interfère pas avec la viabilité des cellules épithéliales mais qu'il retarde leur prolifération. En effet, il inhibe la prolifération des cellules épithéliales, mais stimule la croissance des ostéoblastes, des fibroblastes desmodontaux. Ce mécanisme est dû à la libération

progressive de PDGF et de TGF- β . Le TGF- β joue un rôle clef car il agit comme un inhibiteur de croissance pour les cellules épithéliales et stimule les cellules ostéoprogénitrices. Cette capacité semble favorable à la cicatrisation parodontale. Par extrapolation, Tsai *et al.*, (2009), estiment que le ralentissement et la baisse de croissance de l'épithélium jonctionnel sur la surface des racines par le PRF, est de nature à promouvoir la cicatrisation des tissus parodontaux profonds. Le PRF pourrait jouer un rôle favorable dans les techniques de régénération tissulaire guidée. Cette hypothèse est à valider sur des modèles animaux et par des études cliniques (Tsai *et al.*, 2009).

2.6 Résumé de l'action du PRF sur la cicatrisation

PDGF, TGF β , FGF β , VEGF, angiopoïétine, libérés de la membrane, initient une néo-vascularisation et stimulent la prolifération cellulaire. A trois jours, les capillaires péri-lésionnels échafaudent un treillis vasculaire. Le caillot de fibrine piège les cellules souches circulantes amenées sur le site lésé grâce à la néo vascularisation ; qui vont avec les ostéoblastes, sous l'action de PDGF et TGF β , proliférer et synthétiser une nouvelle matrice osseuse.

PDGF stimule la mitose des cellules souches et des ostéoblastes, induit leur prolifération, et permet la prolifération des fibroblastes. TGF β initie la prolifération et la différenciation des préostéoblastes en ostéoblastes matures, également des fibroblastes ; il va permettre la sécrétion d'inhibiteurs de protéases. Les ostéoblastes vont synthétiser la matrice osseuse et les fibroblastes, la matrice de collagène. Les macrophages sont attirés vers le site, par l'action de PDGF, ils jouent un rôle régulateur de la phase inflammatoire en libérant des facteurs de croissance.

Un réseau complexe s'établit au sein du gel de fibrine en 5 à 10 jours.

TGF β entretient le processus de cicatrisation et participe à la formation d'un nouvel os immature qui sera progressivement remodelé.

Le PRF permet d'accélérer un phénomène strictement physiologique grâce à une matrice de fibrine mieux organisée, capable de diriger de manière plus efficace la captation des cellules souches.

Chapitre 3 Applications cliniques en odonto-stomatologie

Une fois séparé du caillot d'hématies, le PRF peut être prélevé, ses utilisations cliniques découlent directement de ses diverses présentations : soit sous forme de coagulum ou fragmenté et associé à des greffons, soit sous forme de membranes ou encore sous forme de colle biologique (*figure 1.7*).

Les effets bénéfiques sur la cicatrisation osseuse et muqueuse, l'ergonomie du produit, la possibilité de multiplier les prélèvements (jusqu'à 8 tubes) et le coût modéré permettent de :

- combiner les différentes présentations du produit en particulier dans les techniques de régénération osseuse guidée où le PRF est utilisé à la fois comme matériau de comblement et comme membrane d'exclusion.
- proposer une alternative aux colles biologiques allogènes chez des sujets à risque.

Les applications potentielles sont nombreuses ce qui ouvre de nouvelles perspectives de traitement en chirurgie orale. Il est regrettable que la plupart des indications s'appuient sur des rapports de cas isolés ou sur des études cliniques à faible niveau de preuve scientifique.

3.1 Sinus lift et PRF

Le sinus maxillaire est une cavité aérienne continuellement soumise à une pression positive fluctuante liée à la respiration nasale (Lambert *et al.*, 2008). Lors d'un sinus lift, l'espace créé par le décollement de la membrane de Schneider est rempli par la formation d'un caillot sanguin. Ce caillot va s'organiser et des bourgeons conjonctivo-vasculaires vont progresser à partir des murs osseux. Ainsi, le caillot sanguin est le siège d'une régénération osseuse à partir des parois osseuses périphériques. Des facteurs de croissance pourront induire la différenciation des cellules mésenchymateuses en ostéoblastes, qui vont synthétiser du collagène de type I, et initier ainsi la néoformation osseuse de manière concentrique (Araujo *et al.*, 2005). La protection et l'immobilité du caillot dans un site clos, limité par des parois osseuses, est la condition *sine qua non* à la régénération osseuse. L'implication de la membrane de Schneider dans ce processus de cicatrisation osseuse est donc essentielle. Même si son potentiel ostéogénique et ostéoinducteur est encore discuté, il est nécessaire qu'elle soit maintenue en position haute durablement. En effet, des auteurs comme Ellegaard *et al.*, (1997) ou Lundgren *et al.*, (2003 et 2004), ont montré une régénération osseuse, même sans matériel osseux de comblement, dans les élévations de sinus, selon la technique de régénération osseuse guidée.

Des greffes allogènes, alloplastiques synthétiques et en grande partie des xéno greffes d'origine bovine sont utilisées (Lambert *et al.*, 2008). Ces substituts osseux ostéoconducteurs, associés ou non à de l'os autogène permettent de maintenir dans une position haute la membrane de Schneider, et apportent une bonne reconstruction osseuse. Tous ces substituts seront plus ou moins résorbés dans un délai plus long que l'os autogène (9 à 12 mois minimum) puis remplacés par un néo-tissu osseux. Le problème est le pourcentage d'os vital présent et la persistance de particules de biomatériau dans le nouveau tissu formé. Il n'existe pas à l'heure actuelle de biomatériau idéal, mais l'on comprend par ce processus de cicatrisation qu'un matériau à résorption lente serait certainement approprié. Ce biomatériau doit être capable (Lambert *et al.*, 2008) :

- de maintenir mécaniquement la membrane en position haute,
- de permettre la stabilisation tridimensionnelle du caillot sanguin,
- d'accélérer la progression ostéogénique,
- d'empêcher la ré-expansion du sinus,
- d'accélérer la vitesse et la qualité de l'os régénéré.

Pour augmenter la proportion d'os vital certains auteurs proposent de mélanger l'os autogène au biomatériau, d'autres auteurs vont plus loin en essayant d'optimiser la cicatrisation osseuse par les BMP contenus dans le PRF (Choukroun 2001, 2004). Le PRF est alors utilisé seul (*figure 3.1*) ou en association avec un substitut osseux, le but étant d'accélérer la cicatrisation et d'améliorer l'ostéointégration des implants et le pourcentage de contact entre l'os et l'implant.

L'utilisation du PRF comme matériau de comblement sinusien seul ou en association, est un des rares sujets documentés s'appuyant sur des études cliniques. Malheureusement, la plupart des études s'appuient quasi exclusivement sur des critères radiologiques. Lorsque l'intervention est réalisée en deux temps, il serait possible de procéder à un carottage osseux et une analyse histologique le jour de la pose des implants et les couples de vissage des implants devraient être présentés.

3.1.1. PRF utilisé en association avec un matériau de comblement osseux

Neuf augmentations du plancher du sinus ont été réalisées par Choukroun *et al.*, en 2006. Dans 6 sites, le PRF associé à de l'os de banque humain TBF® (groupe test), et dans 3 sites sans PRF (groupe témoin). Des prélèvements osseux sont réalisés à quatre mois pour le groupe test et à 8 mois pour le groupe témoin. Les évaluations histologiques révèlent la présence de particules de TBF® entourées par de l'os nouvellement formé et du tissu conjonctif. Après 4 mois de cicatrisation, la maturation histologique du groupe test semble identique à celle du groupe contrôle après une période de 8 mois

(évaluation uniquement radiologique). La néoformation osseuse est équivalente entre les deux groupes. Selon les auteurs, l'association de PRF avec du TBF®, conduirait à une réduction du temps de guérison. Dès lors, la pose des implants peut se faire plus rapidement grâce au PRF. Les critères d'évaluation ne sont pas définis, les échantillons trop faibles et le choix de la période de 8 mois pour biopsier la zone de comblement paraît aléatoire.

Une autre étude datant de 2011 (Zhang et *al.*) vise à évaluer l'influence du PRF sur la régénération osseuse dans l'élévation de la membrane sinusienne en combinaison à une xéno greffe d'os bovin déprotéinisé (Bio-Oss®). Dix patients ont été sélectionnés pour l'étude : onze sinus-lift ont été réalisés, six avec un mélange de Bio-Oss et de PRF (groupe test), cinq avec du Bio-Oss seul (groupe contrôle). Les examens cliniques et radiologiques sont effectués avant et après opération. Une biopsie est réalisée à 6 mois lors de la pose des implants. Aucune complication n'a été observée sur la période de 6 mois. L'examen histologique a montré des caractéristiques morphologiques similaires pour le groupe test et le groupe de contrôle. Le pourcentage de néoformation osseuse dans le groupe avec PRF était environ 1,4 fois supérieur au groupe contrôle ($18,35\% \pm 5,62\%$ vs $12,95\% \pm 5,33\%$), le pourcentage de substitut osseux résiduel dans le groupe témoin était environ 1,5 fois plus élevé que dans le groupe avec PRF ($28,54\% \pm 12,01\%$ vs $19,16\% \pm 6,89\%$). Ces pourcentages ne représentent pas une différence statistique significative entre les deux groupes. L'usage du PRF ne semble pas influencer la régénération osseuse des xéno greffes d'origine bovine dans les procédures d'élévation de la membrane sinusienne.

3.1.2. PRF utilisé comme seul matériau de comblement et pose immédiate des implants

La mise en place simultanée d'implants à l'élévation du plancher sinusien, permet de simplifier la procédure (moins de délais). Les implants maintiennent dans une position haute la membrane de Schneider et présentent un pourcentage de succès variant de 75 à 100 % (Guez, 2006). Sul et *al.*, (2008) estiment que le gain de masse osseuse lorsqu'aucun biomatériau n'est placé dans cet espace est limité et que les extrémités apicales des implants sont intégrées dans le tissu conjonctif du sinus et, par conséquent, non ostéo-intégrés. Ainsi quelques études évaluent l'intérêt d'interposer le coagulum de PRF dans l'espace créé entre la membrane de Schneider et les implants.

Une étude de Mazor et *al.*, en 2009 présente l'utilisation du PRF comme seul matériau de comblement, lors d'un sinus lift, associé à la pose simultanée des implants : 25 interventions ont été effectuées sur 20 patients, une tomographie volumique préopératoire est réalisée. 41 implants de trois systèmes différents (Biomet 3I NanoTite, MIS Seven, Intra-Lock Ossean) ont été placés. Les implants sont positionnés dans une hauteur d'os résiduel d'une moyenne de $2,9 \pm 0,9$ mm. A 6 mois, les

analyses radiologiques montrent un gain osseux significatif : entre 7 et 13 mm pour un gain moyen de $10,1 \text{ mm} \pm 0,9 \text{ mm}$. Aucun implant n'a été perdu après la mise en charge et la position finale du plancher du sinus était toujours dans le prolongement de l'extrémité apicale des implants. Les auteurs affirment que le comblement sinusien par du PRF avec la pose immédiate des implants est une technique fiable.

Simonpieri *et al.*, 2011, proposent une étude ouverte où 23 sinus lift sont réalisés chez 20 patients. La technique opératoire est la suivante : une impaction latérale du toit osseux est réalisée, puis la membrane de Schneider est décollée, deux membranes de PRF sont positionnées à la fois sur le volet osseux et la membrane de Schneider pour obturer d'éventuelles micro-perforations. La séquence implantaire est alors débutée, les implants sont posés. Les implants utilisés entre 2003 et 2006 étaient tous des implants Astra, ceux posés après 2006 des implants Intra-Lock. Le coagulum de PRF est placé dans l'espace libéré par l'élévation de la membrane sinusienne. Une dernière membrane est positionnée pour fermer la fenêtre d'ouverture et éviter l'aspiration de la muqueuse. Les implants ne sont pas mis en charge immédiatement. Les auteurs ne déclarent aucune complication post-opératoire, le gain osseux moyen était de $10,4 \pm 1,2 \text{ mm}$. Tous les patients ont été suivis pendant une période minimale de 2 ans après la pose des implants. Il n'y a pas eu de variation de hauteur osseuse après cette période d'observation. Cette étude n'est scientifiquement pas fiable : la technique utilisée n'est pas toujours la même, les patients ne sont pas suivis selon une même fréquence de soins, les implants ne sont pas identiques, l'évaluation radiologique à elle seule n'est pas suffisante. L'impaction d'un toit osseux et le maintien d'un environnement clos par plusieurs parois osseuses apparaissent comme des paramètres de premier ordre, ainsi nous pouvons douter de la seule implication du coagulum de PRF dans la régénération osseuse.

Diss *et al.*, 2008 proposent l'utilisation du PRF dans l'abord du sinus par voie crestale selon la technique de Summers. Les implants sont posés dans le même temps opératoire et les auteurs interposent dans l'espace créé entre la membrane de Schneider et le plancher sinusien le coagulum de PRF. 35 implants Astra sont positionnés chez 20 patients : 19 implants de 11 mm, 6 implants de 9mm, 5 implants de 8 mm et 13 mm. Ces implants sont placés dans une crête de hauteur résiduelle moyenne de 6,5mm. Les auteurs mesurent le gain de niveau osseux à 1an, les résultats montrent un gain moyen endosinusien de 3,2mm. Sur une période d'observation d'un an, 1 seul implant est perdu. Après 8 semaines de cicatrisation implantaire, les vis de cicatrisation sont placées, les implants tolèrent un torque de vissage de 25N/cm. Selon Diss *et al.*, (2008), les avantages d'une telle procédure sont nombreux :

- pas de site donneur la chirurgie est donc moins invasive
- pas de nécessité d'une xéno greffe ou d'un matériau synthétique biocompatible
- une perforation limitée de la membrane sinusienne peut être traitée en raison de la capacité de

guérison de la matrice de fibrine

- il n'y a pas de risque d'infection sinusienne en cas de pénétration du matériau de greffe dans le sinus
- le PRF protège la membrane de Schneider des perforations
- coût amoindri

3.1.3. PRF et fermeture de la fenêtre d'accès

La mise en place d'une barrière physique comme des membranes collagéniques ou un volet osseux au niveau de la fenêtre d'entrée latérale maxillaire, évite toute invagination du lambeau muqueux et une mobilité du matériel osseux *in situ* à l'intérieur du sinus. Cela transforme ce site chirurgical en un espace clos et favorise la libération de protéines morphogénétiques à l'intérieur du sinus (Tarnow et al., 2000 ; Lundgren et al., 2004). La constitution d'une barrière d'exclusion de la muqueuse vestibulaire est un paramètre essentiel du succès des comblements sinusiens. Les membranes de PRF peuvent être utilisées dans cette indication comme dans l'étude de Simonpietri et al., (2011) (figure 3.1). La littérature met en évidence une ossification de meilleure qualité, dans la région de la fenêtre, si une membrane y est appliquée. Elle permet d'éviter une infiltration de tissu conjonctif à travers la fenêtre d'accès. Cependant, une augmentation du taux de survie implantaire avec l'application d'une membrane, n'a pas été démontrée (Wallace et al., 2005). Aucune étude clinique ne considère l'influence de la fermeture de la fenêtre d'accès par des membranes PRF sur la régénération osseuse comme issue principale.

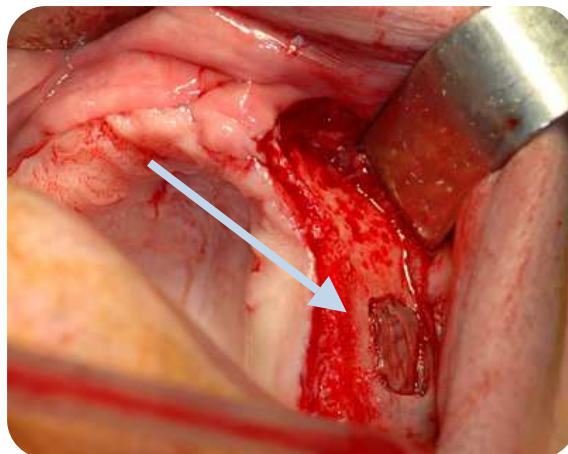


Figure 3.1 Fermeture de la fenêtre d'accès (Dr Santucci. J)

3.1.4. PRF dans la gestion des perforations de la membrane sinusienne

Un des principaux écueils lors des procédures d'élévation du plancher sinusien par un abord latéral reste la perforation de la membrane de Schneider. Les perforations, cliniquement décelables se produisent dans 4% à 44% des interventions, toutes techniques confondues. Ce taux est sensiblement supérieur lorsqu'un abord à l'aide instruments rotatifs est réalisé de 17% à 44% contre 4% à 7% avec des inserts de piezochirurgie (Wallace et *al.*, 2005). Face à une déchirure de la membrane sinusienne différentes techniques ont été proposées pour fermer la brèche et prévenir la fuite du matériau de comblement dans le sinus : suture de la muqueuse, accollement d'une membrane de collagène résorbable, réalisation d'une poche avec une grande membrane collagénique, mise en place d'un greffon cortico-spongieux sous la forme d'un toit. La prise de décision est sous la dépendance de la taille et la localisation de la perforation. Cependant face à un imprévu, la mise en œuvre de ces techniques apparaît complexe. La suture de la membrane de Schneider étant aléatoire, la possibilité d'utiliser des membranes de PRF pour colmater une perforation est une alternative séduisante grâce à leur manipulation aisée et leur adhésion directe à la muqueuse sinusienne.

Le recours aux membranes de PRF repose sur une étude réalisée sur un modèle animal par Choi et *al.*, en 2006. Cette étude évalue l'efficacité de la colle de fibrine autologue dans la gestion de perforations de la membrane sinusienne survenant au cours du sinus lift. Après l'élévation bilatérale de la membrane sinusienne chez 6 chiens adultes femelles, une lacération (environ 2,0 cm de longueur) a été faite dans la membrane, celle-ci a été soit réparée avec de la colle de fibrine autologue (groupe test) ou recouverte d'une membrane de collagène résorbable (groupe contrôle). Les zones lésées sont biopsiées deux semaines après l'intervention. Les lésions réparées avec de la colle de fibrine ont montré un épithélium nouvellement formé et continu sur le site de perforation. Une fibrose, une infiltration inflammatoire et une absence d'épithélium sont découvertes dans les plaies traitées par la membrane de collagène. Ces résultats proposent une utilisation clinique potentielle de la colle de fibrine autologue dans la réparation des perforations de la membrane sinusienne cliniquement décelable. De plus, de nombreux auteurs accolent les membranes de PRF contre la membrane de Schneider afin de recouvrir des lésions infra-cliniques.

3.2 Utilisation du PRF dans les défauts parodontaux intra-osseux

Historiquement, les procédures chirurgicales du traitement des parodontites consistent en l'élévation d'un lambeau muco-périosté, l'élimination du tissu de granulation gingival et osseux, un curetage radiculaire et osseux et un surfaçage cémento-dentinaire. La cicatrisation intervient par la formation d'un épithélium de jonction long accolé à la racine sans régénération *ad integrum* du

desmodonte, du ciment ni de l'os environnant. La régénération tissulaire guidée (RTG) est une thérapeutique visant non plus à stabiliser la lésion parodontale mais à effacer les effets destructeurs de la maladie avec retour à la situation originelle. Or le desmodonte est le seul tissu susceptible de fournir des cellules pluripotentes permettant la régénération osseuse et la formation d'une attache conjonctive. Le concept de la RTG, développé par Nyman en 1982, est basé sur le principe d'une recolonisation sélective des surfaces radiculaires nettoyées, en empêchant, grâce à une membrane (résorbable ou non), l'envahissement de la plaie par les cellules épithéliales et conjonctives afin de permettre la cémentogenèse et l'ostéogenèse. En 2011, Yu-chao et *al.*, sont les premiers à proposer le PRF dans le comblement des défauts intra-osseux parodontaux à travers un cas clinique : la 36 et la 27 présentent des défauts intra-osseux. Un traitement initial a été au préalable effectué, consistant en une motivation à l'hygiène et une succession de détartrages-suraçages. L'accès aux lésions intra-osseuses se fait par un lambeau de pleine épaisseur, puis curetage du tissu de granulation, les surfaces radiculaires sont soigneusement polies, puis le PRF a été hâché et appliqué contre les murs des défauts puis recouverts par un lambeau muco-périosté. Les principaux résultats évalués dans cette étude sont les variations de la profondeur de sondage, le niveau d'attache, et la densité osseuse radiographique entre J0 et 6 mois post-opératoire.

Les auteurs estiment que l'application du PRF comme unique matériau de greffe dans le comblement des défauts intra-osseux permettrait une réduction de poche et un gain d'attache clinique après 3 mois. A 6 mois postopératoires, la densité osseuse radiographique de la 27 et de la 36 est augmentée de 1,6 et 1,3 fois par rapport à la radiographie préopératoire de chaque dent respective.

Thorat et *al.*, en 2011 proposent un étude pour évaluer l'action du PRF dans le traitement des défauts intra-osseux chez des patients présentant une parodontite chronique. 32 patients présentant des défauts intra-osseux bilatéraux sont traités soit avec du PRF (groupe test), soit avec un lambeau de débridement seul (groupe témoin). Plusieurs paramètres sont évalués le jour de la consultation et à 9 mois : l'indice de plaque, indice de saignement, profondeur de poche, perte d'attache, hauteur de gencive marginale, niveau et densité de l'os alvéolaire. Pour tous les paramètres étudiés, les résultats sont statistiquement meilleurs avec le PRF qu'avec le groupe témoin :

- la densité osseuse est plus importante avec 46.92% pour le PRF contre 28.66 % avec le groupe témoin.
- la réduction de profondeur de poche est de 4.56 ± 0.37 contre 3.56 ± 0.27 par rapport au groupe témoin
- le gain d'attache 3.69 ± 0.44 contre 2.13 ± 0.43 pour le groupe sans PRF

Thorat *et al.*, en 2011 estiment que le PRF est une nouvelle alternative thérapeutique dans le comblement des défauts osseux parodontaux, néanmoins il est regrettable qu'il n'évaluent pas le PRF

par rapport à un autre biomatériau de comblement habituellement utilisé tel les protéines dérivées de la matrice amélaire du porc ou encore une membrane collagénique recouvrant un substitut osseux.

Dans cette démarche, Lekovic et *al.*, (2011) ont montré que le PRF seul, était moins efficace qu'associé à une xéno greffe d'origine bovine dans le comblement de défauts intra-osseux parodontaux. En effet, ils réalisent une étude comparative où 17 patients sont inclus, chacun d'eux possède des défauts bilatéraux. Les défauts sont comblés soit avec du PRF, soit avec du PRF associé à de l'os d'origine bovine. L'évaluation porte sur la profondeur de poche, le niveau d'attache et le gain osseux. Les auteurs réinterviennent à 6 mois pour apprécier le niveau osseux. Les résultats sont en faveur de l'association PRF et os bovin :

- La profondeur de poche a nettement diminué dans le groupe PRF associé à une xéno greffe (4.47±0.78mm côté vestibulaire, 4.29±0.82mm côté lingual) par rapport à du PRF seul (3.35±0.68mm côté vestibulaire, 3.24±0.73mm côté lingual).
- Le gain d'attache dans le groupe PRF/xéno greffe est de 3.82±0.78mm côté vestibulaire, et 3.71±0.75mm côté lingual, contre 2.24±0.73mm en vestibulaire et 2.12±0.68mm lingual, dans le groupe PRF seul.
- Le gain osseux a été de 4.06±0.87mm en vestibulaire et 3.94±0.73mm en lingual dans le groupe PRF/xéno greffe, contre 2.21±0.68mm en vestibulaire et 2.06±0.64mm en lingual dans le groupe PRF seul.

L'efficacité du PRF associé à une xéno greffe bovine dans le comblement des défauts intra-osseux serait plus importante qu'avec du PRF seul.

Une étude clinique de Pradeep et *al.*, 2012, compare l'action du PRF, du PRP et l'absence de biomatériau, dans des défauts intra-osseux chez des patients présentant une parodontite chronique. Le premier groupe correspond au comblement avec PRF, le second avec PRP, et le troisième au groupe témoin, sans comblement. Les critères d'évaluation portent sur la comparaison de la profondeur de poche et du niveau d'attache avant la chirurgie et à 9 mois post-opératoire.

La réduction de profondeur de poche et le gain d'attache ont été plus importants pour les groupes PRF (3.77 + 1.19 mm, 3.17 + 1.29 mm) et PRP (3.77 + 1.07 mm, 2.93 + 1.08 mm) que dans le groupe témoin (2.97 ± 0.93 mm, 2.83 ± 0.91 mm). Le gain osseux évalué radiologiquement est également plus important dans les groupes avec PRF (55.41 + 11.39 %) et PRP (56.85 + 14.01 %) par rapport au groupe contrôle (1.56 ± 15.12 %).

Les concentrés plaquettaires montrent une supériorité dans le comblement des défauts osseux intra-parodontaux par rapport à la chirurgie d'assainissement seule. Cependant il n'existe pas de différence significative entre le PRF et le PRP lorsqu'ils sont utilisés dans le comblement des défauts osseux en termes de réduction de profondeur de poche et gain d'attache.

3.3 PRF et Régénération Osseuse Guidée (ROG)

La R.O.G. repose sur le principe de sélection cellulaire qui permet la néoformation osseuse. Elle dérive de la régénération tissulaire guidée appliquée aux tissus osseux. C'est Murray et *al.*, en 1957, qui ont mis en évidence pour la première fois le principe de régénération osseuse guidée, en isolant mécaniquement, à l'aide d'une cage en plastique un défaut osseux créé dans un os iliaque de chien. Après cicatrisation, l'intérieur de la cage a été comblé par un os néoformé. Plus tard, Dahlin et *al.*, en 1989, ont montré qu'il était également possible de régénérer de l'os autour d'implants mis en place dans des tibias de lapins et recouverts par une membrane en PTFE-e. La technique consiste en la protection du caillot sanguin, autour d'un défaut osseux, par une membrane. Celle-ci a pour objectif de bloquer la migration des cellules épithéliales et conjonctives du tissu gingival, dont la prolifération est très rapide, afin de permettre la différenciation des progéniteurs de cellules osseuses, en ostéoblastes. Ces derniers vont alors former la trame du tissu ostéoïde, qui se minéralisera par la suite en os primaire. Le concept de régénération osseuse guidée repose sur les principes suivants (Buser et *al.*, 1990) :

- maintien de l'espace nécessaire à la régénération osseuse cet espace sera favorable à l'angiogénèse et à la formation osseuse
- maintien et protection durable du caillot sanguin, source même de la régénération osseuse
- mise en place d'une barrière contre l'invasion cellulaire du tissu conjonctif et épithélial gingival, empêchant ainsi la compétition cellulaire défavorable à la minéralisation osseuse
- sutures gingivales obtenues et maintenues avec une bonne gestion des forces postopératoires sous-jacentes.

A l'exception des membranes rigides, la ROG, exige la combinaison d'une membrane résorbable ou non résorbable avec une greffe osseuse autogène ou exogène servant de mainteneur d'espace et de support ostéo-conducteur (Buser et *al.*, 1990). Ainsi des auteurs tels que Rasmusson et *al.*, (1997), proposent d'introduire sous la membrane de l'os autogène ou des biomatériaux d'origine bovine, humaine ou synthétique. La revue de littérature de Queiroz et *al.*, (2006), montre que si la régénération osseuse peut fonctionner parfois avec une membrane seule ou avec le biomatériau utilisé seul, ces résultats ne sont pas réguliers ni reproductibles. Face aux échecs des membranes non résorbables en cas d'exposition et la nécessité de les déposer, le standard thérapeutique est désormais l'utilisation d'une membrane résorbable à résorption lente combinée à de l'os autogène ou à une xéno greffe.

La ROG comprend des inconvénients majeurs : des délais généralement longs, des taux de succès variables avec des échecs liés essentiellement à une exposition de la membrane, une mobilisation du caillot/comblement ou une infection, une quantité d'os régénéré limitée par la morphologie du défaut. Dans le but de répondre à ces limites de nouvelles techniques sont apparues, la voie du PRF semble offrir de nouvelles perspectives (*figure 3.6*).

L'utilisation du PRF va être différente en fonction du compartiment auquel il s'adresse. Le compartiment osseux est traité par des substituts osseux mélangés à des boudins de PRF pour (Dohan *et al.*, 2005) :

- assurer une meilleure cohésion du matériau de comblement. En agissant comme un liant entre les différents éléments de la greffe osseuse, le PRF contrebalance les micromouvements et les déplacements incontrôlables sous l'action des contraintes mécaniques.
- concentrer des facteurs de croissance en vue d'améliorer l'angiogénèse et la perfusion de la greffe.
- et enfin favoriser l'ostéoconduction grâce au maintien et à la stimulation des cellules ostéoprogénitrices au contact des particules.

Le compartiment muqueux est contrôlé grâce à la superposition de plusieurs membranes de PRF sur la greffe. L'objectif étant de maintenir à distance, les cellules épithéliales et conjonctives gingivales de la cicatrisation osseuse tout en demeurant perméable au développement d'une micro-vascularisation. Inversement, les membranes protègent le lambeau des angles vifs des greffons ou des vis d'ostéosynthèses insérées (*figure 32*).

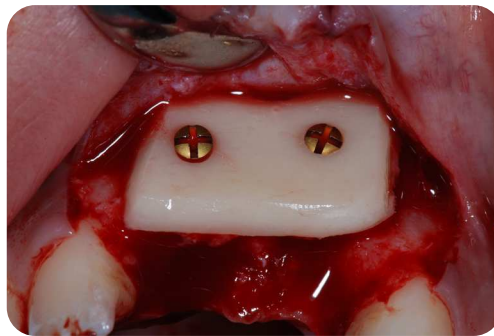


Figure 3.2 Vis d'ostéosynthèse fixant une greffe d'apposition, couverture par une membrane de PRF
(Dr. Santucci J)

Les indications du PRF dans le cadre de la ROG sont multiples (Mercier *et al.*, 2011) (*figure 3.3*) :

- Préservation du volume d'une crête au stade de l'extraction
- Préservation de la crête alvéolaire lors d'une extraction / implantation immédiate
- Aménagement des fenestrations et déhiscences au stade de l'implantation
- Protection d'une greffe osseuse pour éviter sa résorption
- Augmentation des volumes osseux au cours des expansions de crête
- Augmentation verticale de la crête osseuse dans le cadre des sinus lifts

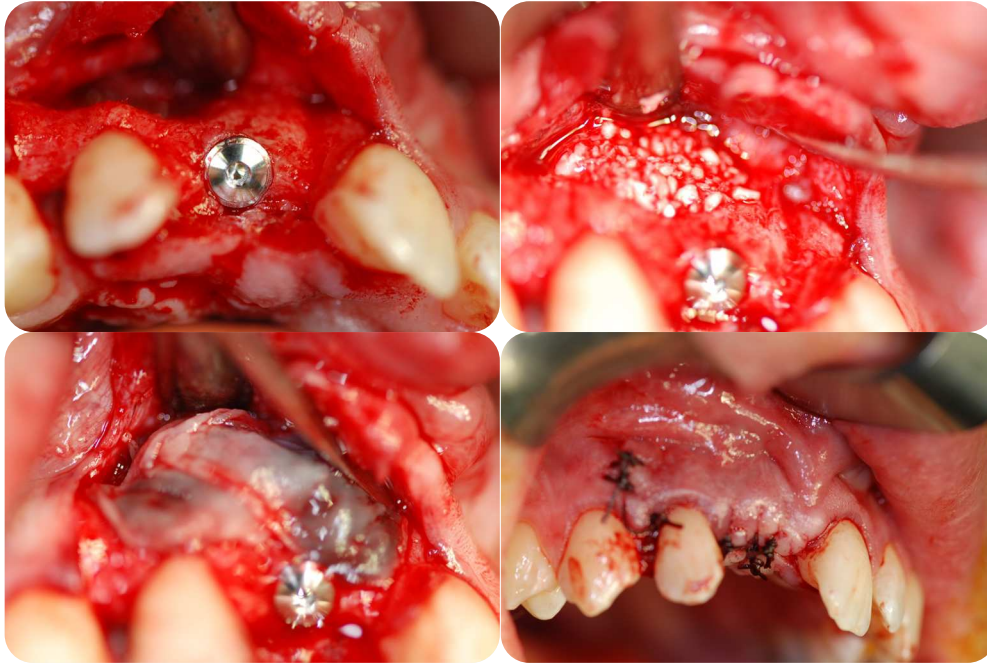


Figure 3.3 Exemple d'utilisation du PRF au cours de la ROG (Dr. Santucci J)

En dehors des études menées sur les greffes sinusiennes, l'utilisation du PRF dans le cadre de la ROG est totalement empirique et ne repose sur aucune étude clinique fiable. Ces indications ne seront pas détaillées du fait du manque de références bibliographiques

3.4 PRF et traitement des récessions tissulaires marginales

Anilkumar et *al.*, en 2009, proposent une technique novatrice de recouvrement d'une récession de classe II de Miller de 7 mm où une membrane de PRF est placée sous un lambeau déplacé latéralement. Les résultats présentés à 6 mois sont spectaculaires : le pourcentage de recouvrement de la récession tissulaire est de 100% avec un fondus esthétique optimal. Les auteurs estiment que le PRF optimise le recouvrement radiculaire. En effet, il est admis que les meilleurs résultats sont obtenus par les greffons conjonctifs enfouis (91 % de recouvrement de la récession initiale et 66 % des dents bénéficiant d'un recouvrement total), suivis par les lambeaux déplacés coronairement (83 % et 58 % respectivement), puis par les greffes gingivales épithélio-conjonctives (73 % et 57 %). D'une manière générale, les moins bons résultats sont à mettre au compte des membranes (74 % et 30 %) et des lambeaux déplacés latéralement (68 % et 43 %) (Wennström et Pini-Prato, 1998), or dans le rapport de cas présenté ici, les résultats s'opposent à cette assertion. De plus l'absence de prélèvement d'un greffon conjonctif accélère la séquence opératoire et rend les suites opératoires moins difficiles pour le patient.

Ces résultats encourageants sont à modérer : il ne s'agit que d'un cas isolé, il est donc essentiel d'envisager des études contrôlées menées sur des échantillons significatifs afin d'évaluer la

reproductibilité et l'efficacité de la technique proposée. Le dernier résultat présenté n'est qu'à six mois, une récurrence demeure possible de plus une récession est apparue sur la dent adjacente en regard du site donneur.

Une autre étude (Jankovic *et al.*, 2012) compare les résultats obtenus entre l'utilisation de membranes de PRF et une greffe de tissu conjonctif enfouie associées à des lambeaux déplacés coronairement dans le traitement de récession tissulaires marginales de classe I ou II de Miller chez 19 patients. Le patient est son propre contrôle : une chirurgie avec le PRF a été faite d'un côté tandis que de l'autre, un greffon conjonctif est appliqué sur la récession. L'évaluation porte sur l'impact clinique (profondeur de la récession, gain d'attache, hauteur de gencive kératinisée, profondeur de poche) la qualité et la rapidité de la cicatrisation des plaies et sur l'inconfort du patient. La période d'observation est de 12 mois.

L'utilisation d'une membrane de PRF associée à un lambeau déplacé coronairement dans le traitement de récession gingivale de Classe I ou II fournit des résultats cliniques acceptables et statistiquement équivalents à la greffe de conjonctif enfouie. Un plus grand gain de tissu kératinisé est obtenu avec le greffon conjonctif mais une cicatrisation plus rapide est observée avec les PRF, suivie d'une meilleure cicatrisation et d'une diminution de l'inconfort du patient par rapport à la mise en place d'un greffon de conjonctif.



Figure 3.4 Traitement de récessions de classe 1 par la technique de l'enveloppe, avec mise en place d'un greffon de PRF (Dr. Santucci J)

3.5 PRF et sujets à risques

3.5.1 PRF et hémostase en chirurgie orale

Le risque hémorragique associé aux extractions dentaires est une complication rare. La prévalence des complications hémorragiques post-extractionnelles, tout facteur de risque confondu, se situerait entre 0,2 et 2,3 % (Samson *et al.*, 2005). Pour des patients sous anticoagulants, ce risque est augmenté. Une série rapportant 2014 interventions (1964 extractions dentaires) effectuées chez 774 patients avec poursuite des anticoagulants oraux, n'a rapporté des complications hémorragiques sévères que chez 12 patients (1,5 %), dont plus de la moitié à l'occasion d'une anticoagulation excessive (Wahl, 1998).

Une étude française de Gaudy *et al.*, en 2005 trouve des résultats équivalents : chez 2 389 patients ayant eu des extractions dentaires au cours d'un traitement par AVK, seuls 2 patients (0,1%) ont eu une complication hémorragique majeure, une réintervention locale a été nécessaire dans 34 cas (1,4 %).

Sammartino *et al.*, en 2011 évaluent l'action hémostatique du PRF après des avulsions dentaires chez des patients sous traitement AVK ayant subi une opération de chirurgie cardiaque et sans modification de leur traitement anticoagulant. Cinquante patients sont retenus dans l'étude, leur INR moyen est de $3,16 \pm 0,39$. 168 avulsions ont été réalisées, les alvéoles sont comblées par un coagulum de PRF, les berges suturées. Seuls deux patients ont rapporté des complications hémorragiques (4%), résolues après quelques heures de compression et la mise en place d'agents hémostatiques locaux. Dix patients (20%) ont montré un léger saignement s'arrêtant spontanément ou résolu par une compression minimale de moins de 2 heures. Aucun cas de saignement retardé n'a été signalé. Les 38 patients restants (76%) ont montré une hémostase adéquate après les extractions dentaires. Dans tous les cas, aucune alvéolite ou événements douloureux n'ont été déclarés et la guérison des tissus mous a été rapide lors du contrôle à J8. Selon Sammartino *et al.*, (2011) la mise en place de PRF à des fins hémostatiques paraît être une option thérapeutique fiable pour éviter un saignement important après extractions dentaires sans arrêt du traitement anticoagulant.

3.5.2 PRF et bisphosphonates

Les bisphosphonates (BP), anciennement dénommés diphosphonates, sont des analogues structuraux des pyrophosphates inorganiques. Connus par les chimistes depuis le 19^{ème} siècle, leur usage était alors industriel (inhibiteurs de la corrosion dans l'industrie textile). En médecine, ces molécules sont utilisées depuis plus de trente-cinq ans pour leurs propriétés inhibitrices des résorptions osseuses pathologiques. Initialement administrés pour le traitement de la maladie de Paget, les BP trouvent actuellement des indications en rhumatologie et en oncologie. Administrés par voie intraveineuse (IV), les BP sont indiqués dans la prise en charge des myélomes multiples, la prévention des complications osseuses de tumeurs malignes métastasées et le traitement des hypercalcémies malignes. Les BP constituent par ailleurs le traitement le plus largement prescrit dans des maladies bénignes avec au premier rang le traitement de l'ostéoporose liée à l'âge et l'ostéoporose secondaire. Dans ces indications, les BP sont généralement administrés par voie orale à faible dose (Abi Najm *et al.*, 2008).

Ces molécules existent sous deux formes chimiques : les BP sans groupement amine et les amino-BP. Ces produits constituent un progrès thérapeutique majeur, avec des effets indésirables initialement considérés comme mineurs. En effet, ces traitements améliorent la qualité de vie des patients en réduisant les complications squelettiques (fractures pathologiques, tassements vertébraux,

compressions médullaires et douleurs osseuses) et métaboliques (hypercalcémie maligne). Cependant, les BP de dernière génération peuvent être à l'origine d'un effet indésirable potentiellement dévastateur : l'ostéonécrose des maxillaires.

Il s'agit d'une pathologie récente, décrite pour la première fois par Marx et *al.*, en 2003. Un nouveau terme apparaît alors dans la littérature, en analogie avec l'ostéoradionécrose : « l'ostéochimionécrose » (OCN). Cette dernière se traduit par une exposition osseuse au-delà de huit semaines chez un patient recevant ou ayant reçu des BP, en l'absence d'antécédent de radiothérapie cervico-faciale et en l'absence de localisation métastatique au niveau de la zone d'ostéonécrose des maxillaires (AAOMS, 2007). Depuis cette première publication, des milliers de cas ont été rapportés dans la littérature. Il semble qu'un nombre encore plus important soit observé sans avoir fait l'objet d'une déclaration à la pharmacovigilance. La majorité des cas concerne des patients traités pour des métastases osseuses de tumeurs solides ou pour un myélome multiple, avec le pamidronate ou le zolédronate administrés par voie IV.

La relation exacte entre la survenue de ces ostéonécroses et l'administration des BP demeure floue, plusieurs hypothèses étiopathogéniques ont été avancées : hypocellularité et diminution du turn-over osseux, hypovascularisation, micro-fractures, infection, toxicité muqueuse aucune d'elles n'est pleinement satisfaisante. En effet, de multiples facteurs de risques peuvent jouer un rôle dans la survenue de l'OCN ce qui rend leur évaluation très difficile. La dose cumulée sous la dépendance de la durée du traitement, la fréquence d'administration, la voie d'administration et de la demi-vie osseuse constitue le facteur prédisposant essentiel dans le développement des ostéonécroses (Bamias et *al.*, 2005). Ainsi, bien que l'alendronate soit dix fois plus puissant que le pamidronate, le risque est supérieur avec le pamidronate administré par voie IV. Cette différence s'explique par une dose cumulée supérieure du pamidronate administré par voie IV à celle de l'alendronate per os. L'étude prospective de Bamias et *al.*, (2005) montre une corrélation positive entre l'incidence de l'ONMBP et la dose cumulée des BP. Il convient donc de dissocier deux grands contextes : l'administration de BP per os dans le traitement d'affections bénignes et la prise d'amino-BP intraveineux pour une pathologie onco-hématologique.

La prévalence de cette affection est controversée, puisque les études affichent des taux variant de 1 à 12% pour les amino-BP administrés par voie IV dans un contexte d'affection maligne. En ce qui concerne l'ostéoporose quelques centaines de cas sont rapportés lors d'un traitement per os en particulier avec l'alendronate, le risédronate et l'ibandronate. Le nombre d'ONM dues aux BP administrés par voie orale est en nette augmentation (Barrier et *al.*, 2010) de quelques cas sporadiques avec une incidence de 0,7/ 100 000 patients par année de traitement en 2007, l'incidence actuelle est estimée à 1/20 000. Près de 14 millions de femmes aux Etats-Unis et huit millions en Europe et ailleurs sont traitées par BP. Avec le vieillissement de la population, l'importance de la population-

cible, l'élargissement des indications, l'augmentation de la puissance inhibitrice des molécules, l'accumulation des doses, la persistance du produit au niveau osseux, le recours aux formes IV dans la prévention de l'ostéoporose, les scientifiques et les cliniciens craignent une augmentation croissante des ostéonécroses dans les années à venir, évoquant même les termes d'«*épidémie grandissante*» (Marx, 2003), ou de «*bombe à retardement*» (Richter, 2005).

Les industries pharmaceutiques commercialisant ces produits, publient rapidement des messages d'avertissement quant à l'usage des BP. Dès novembre 2003, les notices concernant l'utilisation du pamidronate et du zolédronate sont remaniées. La nécrose osseuse des maxillaires y figure comme effet secondaire. Des recommandations sur la prévention, le diagnostic et le traitement des ostéonécroses liées aux BP chez des patients sous pamidronate ou zolédronate par voie intraveineuse ont été établies par Novartis en juin 2004. En septembre 2004, Novartis édite une lettre destinée à attirer l'attention des professionnels de santé sur le risque d'ostéonécrose des maxillaires. Cette lettre vise à informer les praticiens des changements apportés aux précautions d'emploi et de pharmacovigilance de l'Aredia® et du Zometa®. Elle explique que des cas d'ostéonécroses ont été rapportés en lien avec ces traitements chez des patients atteints de cancer. Elle précise qu'«*il est supposé que les incidences rapportées sont déterminées en fonction des manifestations indésirables spontanément signalés durant la pharmacovigilance et sous-estiment les risques associés aux traitements médicamenteux*». Malheureusement, il n'existe aucune précision sur les bisphosphonates oraux. A la suite de cette lettre, l'Agence Européenne du Médicament et l'AFSSAPS lancent, en juillet 2005, un communiqué qui recommande : «*aux prescripteurs de suivre ces précautions pour les autres bisphosphonates indiqués dans les hypercalcémies malignes et le traitement palliatif des ostéolyses d'origine maligne, dans l'attente d'éventuelles données complémentaires*». L'AFSSAPS rappelle que tout effet indésirable grave ou inattendu doit être déclaré aux centres régionaux de pharmacovigilance par le praticien qui pose le diagnostic qui, lui, doit avertir le médecin prescripteur. Enfin en Décembre 2007, l'AFSSAPS publie des recommandations sur la prise en charge bucco-dentaire des patients traités par BP par voie intraveineuse et *per os* (annexe 4). La prise en charge de cet effet indésirable, connu depuis 2003, n'est pas encore codifiée. Actuellement, il n'existe pas suffisamment de preuves scientifiques pour justifier et/ou conseiller un protocole de prise en charge plus qu'un autre (Abi Najm et al., 2008). Ainsi, il est important de privilégier les mesures à visée préventive et de faire appel «*au bon sens clinique*».

Le PRF pourrait trouver sa place dans l'arsenal thérapeutique à disposition des praticiens tant sur le plan de la prévention que sur le plan curatif.

3.5.2.1 PRF et prévention des ONMBP

Choukroun et *al.*, en 2006 supposent que si le PRF améliore la cicatrisation muqueuse et alvéolaire, le risque d'ostéonécrose pourrait être diminué chez les patients devant faire l'objet d'une intervention de chirurgie orale. L'ostéonécrose peut survenir spontanément ou en l'absence de facteur clairement identifiable mais dans la majorité des cas, un traumatisme initial endobuccal est associé à son apparition. Ce traumatisme est en relation directe, chronologique et topographique avec le foyer d'OCN. Il peut s'agir d'un acte chirurgical (extractions, chirurgie parodontale, pose d'implant, résection apicale), d'une pathologie bucco-dentaire (pathologie endodontique et/ou parodontale) ou d'une prothèse inadaptée (Kuntz, 2005). L'analyse de la littérature retrouve un antécédent de geste invasif dans 50 à 85% des ostéonécroses. Les procédures chirurgicales impliquent une rupture d'un équilibre biologique délicat entre les ostéoblastes, les ostéoclastes et les ostéocytes. De plus, il faut s'interroger sur l'implication des anesthésiques locaux dans lesquels peuvent être présents des vasoconstricteurs qui limitent ou diminuent l'afflux sanguin nécessaire à la cicatrisation (Zervas et *al.*, 2006). Ces actes favorisent la contamination, à partir de la flore buccale, de l'os en voie de nécrose. Cette contamination participe même à l'apparition et à l'extension du processus nécrotique (Hansen et *al.*, 2006). Dans les cas publiés, il existe peu de précisions sur les raisons qui ont motivé les extractions dentaires, qui pour la plupart des auteurs auraient déclenché le processus nécrotique. Cependant selon Abi Najm, en 2008, l'extraction dentaire révélerait l'existence de l'ostéonécrose sous-jacente et n'en serait donc pas la cause directe. Le traitement par amino-BP IV comporte un risque élevé d'ostéonécrose dont l'évolution est difficilement contrôlable, d'où la nécessité d'appliquer systématiquement des mesures préventives (Abi Najm, 2008). Les mesures à prendre pour cette catégorie de patient sont similaires à celles pour prévenir les ostéites post-radiques chez les patients ayant bénéficié d'une radiothérapie cervico-faciale (AMERICAN DENTAL ASSOCIATION DIVISION OF SCIENCE, 2006). Néanmoins, en cas d'avulsion, les recommandations de l'AAOMS ne mentionnent pas la nécessité d'utiliser des colles biologiques pour optimiser la cicatrisation muqueuse. Ainsi, des auteurs tels Mozzato et *al.*, (2012) avancent l'intérêt d'utiliser le PRF comme une colle biologique chez les patients exposés à un traitement par amino-BP par voie IV et devant faire l'objet d'avulsions dentaires. En effet Mozzato et *al.*, (2012) émettent l'hypothèse que les facteurs de croissance contenus dans le PRF constituent un facteur essentiel dans le succès thérapeutique en restaurant l'homéostasie des cycles ostéoblastes / ostéoclastes. En outre, l'utilisation de concentrés plaquettaires permet de réduire le risque d'ostéonécrose quand il est nécessaire d'effectuer des extractions dentaires chez les patients subissant un traitement par amino-BP IV. Ces auteurs s'appuient sur une étude prospective randomisée incluant 176 patients ayant été exposés à la même dose d'acide zolédronique par voie IV. 91 ont été traités avec du PRF (groupe contrôle) et les 85 autres n'ont pas été traités avec la préparation (groupe témoin), après un suivi clinique et

radiologique sur une période de 60 mois, 5 ONMBP ont été diagnostiquées dans le groupe témoin dans un délai moyen de 91 jours. Aucune ONMBP n'est survenue dans le groupe contrôle. Actuellement un PHRC mené au sein du CHRU de Metz-Thionville évalue l'intérêt d'une telle prise en charge.

L'utilisation du PRF pour prévenir une ONMBP semble une alternative particulièrement intéressante chez les sujets sous BP *per os* pour plusieurs raisons :

Chez les patients exposés à un traitement par amino-BP *per os*, l'attitude clinique est plus nuancée et ne se superpose pas à celle recommandée pour la prévention des ostéites post-radiques. L'indication d'une intervention chirurgicale est possible pendant les trois premières années de traitement avec toutefois un risque de retard de cicatrisation, après les trois premières années de traitement le risque de développer une ostéonécrose augmente d'une façon importante. Même si le risque est plus faible qu'avec les BP en IV, il n'est pas négligeable et semble en nette progression (Barrier *et al.*, 2010). Il convient alors de proposer de nouveaux outils de prévention. L'utilisation des colles biologiques allogéniques n'est pas mentionnée dans les recommandations chez les patients sous BP *per os*, cette prise en charge peut être considérée comme un excès de précaution et ne peut être réalisée en pratique de ville. L'autorisation de la manipulation du PRF en pratique libérale, la facilité de mise en œuvre, le faible coût et le contrôle du risque de transmission de maladies infectieuses sont des arguments en faveur de l'utilisation du PRF chez les patients sous BP *per os*.

En juillet 2011, l'AFSSAPS émet de nouvelles recommandations quant à l'usage des antibiotiques en pratique bucco-dentaire. L'utilisation d'antibiotiques comporte des risques individuels et collectifs; il convient de les prescrire de manière parcimonieuse et rationnelle, donc dans des situations cliniques pour lesquelles l'étiologie bactérienne est fortement suspectée et l'efficacité des antibiotiques démontrée ou fortement présumée. A l'heure actuelle, l'étiologie bactérienne dans le développement des OCN est encore débattue et ne fait pas consensus au sein de la communauté scientifique. De plus, les traitements par BP *per os* s'adressent à une tranche importante de la population (patients âgés de 65 ans et plus) et dont les besoins en soins chirurgicaux sont importants (avulsions, chirurgies parodontale et implantaire). Il devient légitime de s'interroger sur la nécessité d'envisager une antibioprofylaxie systématique en cas de geste invasif chez ces patients, en effet les recommandations de 2011 rappellent qu'en médecine bucco-dentaire les antibiotiques sont réservés à des situations peu fréquentes. Dans une démarche d'amélioration des pratiques professionnelles, l'intérêt d'une antibiothérapie prophylactique encadrant les avulsions chez des patients sous BP *per os* est en cours d'évaluation. L'utilisation du PRF chez les patients sous BP *per os* pour améliorer la cicatrisation et limiter l'usage des antibiotiques, constitue une piste de travail.

3.5.2.2 PRF et prise en charge médico-chirurgicale d'une ONMBP avérée

La prise en charge d'une ONMBP avérée est une question controversée ; en effet les recommandations actuelles privilégient les traitements conservateurs en première intention et réservent les traitements chirurgicaux aux ONM réfractaires (protocole de Marx *et al.*, 2005 ; recommandations de l'AAOMS, 2007 et recommandations de l'AFSSAPS, 2006) ou encore aux patients symptomatiques avec de larges zones d'expositions osseuses. La prise en charge repose alors essentiellement sur des traitements antibiotiques et symptomatiques. Différents protocoles ont été proposés, le dernier en date est celui de juillet 2011 par l'AFSSAPS qui édite de nouvelles recommandations encadrant la prescription des antibiotiques en pratique bucco-dentaire et affirme que chez l'adulte, l'association amoxicilline et métronidazole est recommandée pour traiter une ostéonécrose d'origine médicamenteuse surinfectée, à raison de 2g d'amoxicilline par jour, en deux prises, et de 1 500 mg de métronidazole par jour, en deux ou trois prises, jusqu'à amendement des signes infectieux locaux. En cas d'allergie aux β -lactamines chez l'adulte, la clindamycine sera prescrite à raison de 1 200 mg par jour, en deux prises, jusqu'à amendement des signes infectieux locaux

Actuellement, la tendance semble s'inverser, en effet des auteurs tels Samson *et al.*, (2008) affirment que cette attitude attentiste aboutit à une progression de la nécrose osseuse car la surinfection à partir du milieu buccal est systématique et impossible à contrôler. Bien qu'il soit très difficile d'obtenir des bords marginaux d'os viable, il est nécessaire d'éliminer l'os nécrotique, car il est une source constante d'infection et insensible aux antibiotiques. Samson *et al.*, (2008) préfèrent alors une prise en charge médico-chirurgicale précoce. Une résection osseuse marginale et une fermeture du site de nécrose par un lambeau de recouvrement fournissent des résultats encourageants (Wutzl *et al.*, 2006 ; Abi Najm, 2008). Ce constat est conforté par les résultats de l'équipe Genevoise de Samson *et al.*, (2008) : sur 21 cas traités, 15 ont évolué favorablement (régression ou cicatrisation). La principale difficulté de ce traitement est que la limite entre l'os nécrotique et l'os sain est déterminée de façon empirique (recherche d'un saignement). La chirurgie est difficile à codifier et les résultats deviennent opérateur-dépendant. Abi Najm *et al.*, (2008) fournissent quelques pistes. Comme l'action des BP affecte l'os dans son ensemble, les auteurs pensent que la chirurgie ne permet pas d'atteindre en réalité des limites parfaitement saines. Il est alors déconseillé d'essayer d'étendre le décollement et le débridement cependant le lambeau doit être suffisamment large pour tenter de localiser les limites de la nécrose. Quelquefois le périoste n'adhère plus à l'os, il se décolle facilement : ceci signifie que l'os sous-jacent est nécrosé et qu'il doit être éliminé en grande partie. Les auteurs préconisent des reprises multiples en cas de récurrence ou recrudescence en particulier au niveau maxillaire. Des auteurs comme Lee *et al.*, (2007) ou Vescovi *et al.*, (2006) proposent alors des traitements complémentaires (facteurs de croissance plaquettaires, laser basse énergie) pour stimuler la cicatrisation osseuse et muqueuse. Ainsi, un traitement par le laser Yag de basse énergie (125W, 15Hz, 5 applications de 60 secondes) a

été utilisé par Vescovi *et al.*, (2006) dans le but de stimuler l'os exposé, cette thérapie prometteuse possède plusieurs avantages :

- un potentiel antimicrobien

- *in vitro* et *in vivo*, le laser Yag favorise la prolifération des cellules dans les sites en cours de cicatrisation,

- le laser Yag stimule la prolifération des capillaires et des ostéoblastes.

Le laser Yag est utilisé sur les surfaces osseuses exposées, en complément des traitements conventionnels : débridement et antibiothérapie. Les auteurs obtiennent des résultats prometteurs, avec une cicatrisation complète pour 9 cas sur 14 et une diminution de la symptomatologie pour les autres.

Lee *et al.*, (2007) sont les premiers à proposer un traitement chirurgical d'une ostéonécrose pour lequel ils utilisent des concentrés plaquettaires autologues pour stimuler la cicatrisation et obtenir une fermeture muqueuse. Les premiers résultats sont encourageants puisqu'ils obtiennent un amendement complet de la symptomatologie et une fermeture muqueuse pour les 2 cas traités. Dans la foulée, Adornato *et al.*, (2007) traitent 12 patients atteints d'OCN réfractaire par la même technique, les résultats sont spectaculaires puisqu'ils obtiennent une résolution des signes infectieux chez 10 patients. L'ablation du foyer de nécrose couplée à l'usage des concentrés plaquettaires permettrait la fermeture du site et le contrôle de la symptomatologie chez 80% des patients (Curi *et al.*, 2011). Mozzati *et al.*, (2012) confirment ces résultats prometteurs et publient une série de 32 patients atteints d'OCN dans un contexte d'affection maligne. Les examens cliniques et radiologiques (panoramique et tomographie volumique) avant et après ablation du foyer nécrotique et mise en place d'un coagulum de PRF sur le site opéré, mettent en avant une rémission complète du processus lésionnel. Mozzati *et al.*, (2012), affirment que le PRF améliore la vascularisation locale, optimise la régénération osseuse en luttant contre l'hypocellularité et favorise la cicatrisation muqueuse. L'apport du PRF et du laser basse énergie dans la cicatrisation osseuse et muqueuse des ONMBP étayent le principe d'une prise en charge médico-chirurgicale précoce (*figure 3.11*).



Figure 3.5 Traitement médico-chirurgical d'une ostéonécrose induite par les BP évoluant sous une muqueuse saine, ablation du foyer de nécrose, application de PRF, résultats à 1 mois.

A l'heure actuelle, il n'existe pas de consensus quant à la prise en charge et au traitement des ostéonécroses induites par les BP. L'abondance des propositions et des recommandations reflète d'une part l'implication des fabricants, des professionnels de santé et des pouvoirs publics dans la prise en charge et l'accompagnement des patients sous BP et d'autre part les divergences de point de vue entre divers groupes d'experts en particulier pour les traitements de l'ostéonécrose avérée. D'une manière globale les stratégies et les recommandations sont établies à partir de données empiriques ou d'études biaisées comportant des cohortes insuffisantes et sans suivi prolongé. Il convient alors de conserver un regard critique sur ces recommandations car elles comportent des inexactitudes et proposent des stratégies thérapeutiques pour le moins discutables.

3.6 Synthèse des indications

Les différentes indications sont résumées dans le tableau suivant :

Présentation du PRF	Utilisations
Matériau de comblement associé ou non à un substitut osseux	<ul style="list-style-type: none"> - comblement de sinus avec pose immédiate ou différée d'implants - comblement des ostéotomies après expansion osseuse - comblement de déficit osseux en implantologie post-extractionnelle - comblement d'alvéole après extraction pour conserver le volume osseux avant la pose d'implant - distraction osseuse alvéolaire
Membranes	<ul style="list-style-type: none"> - obstruer les perforations lors du décollement de la membrane sinusienne - fermer la fenêtre d'accès au sinus lors d'appositions endo-sinusiennes sous-muqueuses - augmentation / préservation des tissus mous péri-implantaires lors de la pose d'implant - servir de membrane résorbable dans les ROG - recouvrement de récessions et protection du site de prélèvement
Colle biologique	<ul style="list-style-type: none"> - prévention des ostéonécroses chez le patient recevant des bisphosphonates oraux - traitement chirurgical des ostéonécroses - hémostase

Chapitre 4 Efficacité du PRF les controverses

4.1 Des résultats cliniques spectaculaires

Des auteurs tels Choukroun *et al.*, (2006), vantent les mérites du PRF en le considérant comme un matériau bioactif. L'intérêt du PRF est basé sur l'incorporation intime des cytokines au sein des mailles de fibrine permettant leur largage progressif à mesure de la fibrinolyse. Les attentes à l'égard de la cicatrisation sont majeures, ainsi de nombreux cliniciens utilisent les concentrés plaquettaires pour optimiser les résultats des chirurgies et ce en l'absence d'études fiables. Des rapports de cas apparaissent dans la littérature où l'effet du PRF semble providentiel. Les résultats spectaculaires ne laissent jamais indifférent et sont à l'origine d'un vif débat entre les défenseurs et les détracteurs du PRF.

Le cas rapporté par Magremanne *et al.*, (2009) est assez représentatif : il s'agit d'une patiente de 13 ans qui présente une volumineuse lésion kystique de l'angle et de la branche montante gauches de la mandibule. Cette lésion, découverte de manière fortuite est asymptomatique, la vitalité des dents est préservée. Il est décidé de réaliser l'exérèse de la lésion sous anesthésie générale, macroscopiquement l'aspect per-opératoire est celui d'une cavité intra-osseuse vide remplie d'un liquide séro-hématique. Le diagnostic de kyste osseux solitaire est posé.

Un an après le curetage appuyé, aucune ossification n'est observée. Un second curetage a été complété par un comblement avec du PRF. Quelques mois après la reprise chirurgicale, le scanner de contrôle montre une régénération *ad integrum*. Selon les auteurs la réossification est incomplète dans 20 % des cas et l'apport de facteurs de croissance locaux est de nature à promouvoir la cicatrisation osseuse. Ainsi, la cavité kystique a totalement cicatrisé en deux mois au lieu de 10 à 12 mois habituellement. Ainsi, Magremanne *et al.*, (2009), attribuent ces résultats spectaculaires aux concentrés plaquettaires.

Le niveau de preuve scientifique d'un rapport de cas isolé est extrêmement faible. Il est donc difficile d'analyser ou commenter les résultats présentés. Malgré une cicatrisation favorable, nous pouvons émettre quelques réserves quant à l'apport du PRF :

Les kystes osseux solitaires maxillo-mandibulaires sont des lésions bénignes exceptionnelles. Ils affectent préférentiellement la mandibule des adolescents et des jeunes adultes. Un traumatisme ancien, dans 27 à 50 % des cas, participerait à la genèse du kyste solitaire par hémorragie intra-médullaire suivie d'une résorption. La rareté des lésions, au-delà de 25 ans, suggère l'existence de guérisons spontanées indépendamment d'une intervention quelconque.

La guérison du kyste osseux solitaire est obtenue dans la grande majorité des cas par l'organisation du caillot sanguin après exploration chirurgicale. Nous pouvons suspecter lors de la première intervention un curetage insuffisant de la cavité kystique. Ainsi, la reprise chirurgicale associée à l'utilisation d'un caillot de PRF a permis la stabilisation d'un caillot sanguin au sein de la cavité osseuse sans qu'il soit possible de tirer des conclusions sur le bénéfice des cytokines contenues dans le PRF au cours de la cicatrisation osseuse.

4.2 Des études fondamentales peu fiables

4.2.1. Dosage des cytokines dans le gel de PRF

L'insolubilité de la fibrine, entraîne des difficultés de dosage des cytokines contenues dans la membrane de PRF. La consistance du gel rend impossible le dosage de ces cytokines qui ne peut se faire que dans un liquide de faible viscosité. Ainsi, Dohan *et al.*, (2004) réalisent une première étude sur des prélèvements sanguins issus de 15 patients dont l'objectif est d'identifier la position et la nature (en solution ou incorporé dans les polymères de fibrine) de trois cytokines plaquettaires (PDGF-BB, TGF- β 1 et IGF-1) au sein de préparations de PRF.

A cette fin, ils étudient par test Elisa leur profil de sécrétion au sein du surnageant (PPP) et au sein de l'exsudat issu du caillot de PRF, l'exsudat est obtenu en laissant les caillots de PRF dans une cupule métallique stérile pendant 15 minutes afin de relâcher peu à peu tout le liquide ou exsudat contenu à l'intérieur, les résultats sont comparés à ceux obtenus avec différentes préparations de PRP.

Les résultats de cette étude indiquent une absence de différence significative entre les concentrations en cytokines présentes dans le surnageant PPP et celles issues de l'exsudat du PRF. En l'attente de techniques permettant de doser les cytokines présentes au sein du PRF, les concentrations sont appréciées au niveau du PPP ou de l'exsudat. L'ensemble des résultats se base sur des extrapolations.

Les quantités de PDGF-BB et de TGF- β 1 sont significativement supérieures dans les différentes préparations de PRP par rapport à celles retrouvées dans les surnageants PPP et dans les exsudats de PRF. Seul l'IGF- β 1 présente des taux significativement supérieurs dans les surnageants PPP et dans les exsudats de PRF. Le contenu en cytokines du surnageant et de l'exsudat est très faible. Dohan *et al.*, 2004, estiment donc que la majorité des cytokines ne s'y trouverait pas et serait incorporée aux polymères de fibrine. Cette hypothèse est à ce jour non vérifiée.

La seule conclusion qui peut donc être tirée de cette étude est que la concentration en facteurs de croissance dans le PRF est significativement inférieure à celle retrouvée dans le PRP (SFPIO, 2011). Gassling *et al.*, en 2009 confirment cette hypothèse.

4.2.2 Limites liées au modèle animal

La plupart des études réalisées chez l'animal sont faites sur le lapin, or ce modèle est contestable (Dohan *et al.*, 2010) :

- le prélèvement est difficile, donc lent, même par un vétérinaire spécialisé : les veines et la peau sont fragiles, ce qui entraîne un début de coagulation avant centrifugation.
- le prélèvement est limité : il ne faut pas prélever plus de 10% du volume sanguin total, qui met environ deux semaines à se régénérer.
- le prélèvement (surtout chez les lapins néo-zélandais) se fait souvent dans l'oreille mais avec une seringue en plastique, où là encore la coagulation débute avant centrifugation.
- le prélèvement intra-cardiaque permet d'obtenir une quantité importante de sang rapidement mais entraîne une morbidité et une mortalité importantes.
- les tubes utilisés pour le prélèvement sur modèle animal, ne sont pas les tubes requis pour la confection du PRF chez l'homme.
- la quantité obtenue pour un coagulum n'est pas suffisante pour être utilisée seule.

Espèces : poids	Volume total de sang (mL)	10% du volume total de sang (mL)
Souris (25g)	1,8	0,18
Rat (250g)	16	1,6
Lapin (4Kgs)	220	22
Chien (10Kgs)	850	85
Cochon (30Kgs)	1950	195

Tableau 4.1 Quantité maximale de sang à prélever chez l'animal (Dohan *et al.*, 2010).

4.3 Stimulation *in vitro* certes, mais quels effets *in vivo* ?

Les principales cytokines libérées par l'activation plaquettaire et présentes dans les concentrés autologues stimulent la colonisation et le remodelage du site lésé par les cellules endothéliales et les cellules mésenchymateuses (Dohan *et al.*, 2004). Cette hypothèse n'est pour le moment pas vérifiée et repose essentiellement sur des extrapolations et une vision simpliste de la cicatrisation. L'accélération

de la prolifération initiale constatée en présence de PRF *in vitro* ne suffit pas pour s'assurer d'effets cliniques significatifs (Choukroun et *al.*, 2007) :

- il semble qu'un certain nombre de cytokines inflammatoires et cicatricielles puissent être évacuées dans l'exsudat lors de la réalisation de membranes de PRF (SFPIO, 2011). Lors d'une utilisation clinique, plus le maintien des membranes au sein de compresses est long, plus la fuite des facteurs de croissance est importante.
- les cytokines libérées au niveau du site opératoire n'ont qu'une durée de vie très limitée dans le plasma, de même que dans un tissu en remodelage où elles sont phagocytées et souvent détruites après utilisation. D'après Marx, (2003) les plaquettes et les cytokines apportées artificiellement ont une période d'activité inférieure à cinq jours. Choukroun et *al.* (2006), basent principalement l'intérêt du PRF sur l'incorporation intime des cytokines au sein des mailles de fibrine contrairement à ce qui est décrit dans le cas du PRP, permettant leur largage progressif à mesure de la fibrinolyse à l'origine d'une action prolongée au cours de la cicatrisation. Cette hypothèse repose sur des évaluations *in vitro* où les mécanismes d'activation et la durée de la fibrinolyse sont totalement différents. En physiologie, la fibrinolyse correspond à la solubilisation du caillot en 48 à 72 heures. Elle est provoquée par différents stimuli aboutissant à la sécrétion du t-PA (activateur tissulaire du plasminogène) par les cellules endothéliales. Dès sa sécrétion une partie du t-PA est neutralisée par l'inhibiteur PAI (Plasminogen activator inhibitor), le reste se fixe au récepteur spécifique de la fibrine. Le PAI est produit par les cellules endothéliales, les monocytes, les fibroblastes, ... Il est circulant dans le plasma et peut être libéré à partir des plaquettes. Le t-PA n'active que le plasminogène fixé à la fibrine afin d'assurer une formation de plasmine strictement localisée au niveau du thrombus. Une seconde voie permet l'activation de la fibrinolyse, principalement dans le compartiment extravasculaire. Le deuxième activateur du plasminogène est l'u-PA ou urokinase, synthétisée par de nombreuses cellules : fibroblastes, cellules épithéliales. La pro-urokinase n'a pas d'affinité directe pour la fibrine, mais se fixe au plasminogène et devient active après sa transformation en urokinase. Une troisième voie accessoire est une activation de la fibrinolyse par le système contact de la coagulation. Le facteur XII participe à l'activation de la prékallikreine et du kininogène de haut poids moléculaire ce qui va permettre l'activation du plasminogène, précurseur de la plasmine. La kallicréine activerait également la pro-urokinase en kinase (Dalback, 2000). *In vitro* les études montrent, un relargage de facteurs de croissance du PRF jusqu'à 21 jours (Dohan et *al.*, 2009), la fibrinolyse ne reposant ici que sur les systèmes contacts nous pouvons alors considérer qu'elle est artificiellement ralentie. Le relargage lent et progressif des facteurs de croissance ne peut caractériser le comportement du PRF dans des conditions réelles d'utilisation.
- Une prolifération initiale accélérée n'implique pas forcément que le nombre total de cellules se différenciant et constituant le tissu final soit plus élevé. En effet, les populations cellulaires se

rééquilibrent *in vivo* en fonction de nombreux paramètres extérieurs (développement d'une néo-vascularisation adaptée, espace de développement suffisant, niveau de contraintes mécaniques sur les secteurs tissulaires néoformés,...). De plus, une accélération initiale peut tout à fait être suivie d'un ralentissement un peu plus tard au cours du développement, les cellules déjà différenciées ne pouvant réaliser qu'un nombre limité de cycles de division.

- Une prolifération importante ne garantit pas forcément la cohérence finale du tissu, en particulier si une différenciation importante est nécessaire.
- Une prolifération accélérée *in vitro* ne signifie pas que le phénomène aura la même ampleur *in vivo*. En effet, sur un site chirurgical, l'hémostase et la coagulation sont à l'origine d'un caillot de fibrine naturel, associé à une accumulation de plaquettes et de leucocytes. Si cette matrice initiale naturelle de la cicatrisation est moins structurée que le PRF, elle joue un rôle important et il est difficile de déterminer l'effet réel d'un apport supplémentaire de PRF par rapport au phénomène physiologique. Si le rôle de chaque cytokine au cours des études *in vitro* a été évalué sur des cultures cellulaires (kératinocytes, adipocytes, fibroblastes, ...), l'utilité d'un apport massif et brutal de ces cytokines *in vivo* est sujette à caution. En effet, les cytokines sont des molécules permettant la communication entre les cellules ; leur mode d'action est principalement autocrine (en agissant directement sur les cellules qui les libèrent) ou paracrine (en agissant sur des types cellulaires différents se trouvant à proximité). L'activité endocrine (par action à distance secondairement à un transport sanguin des cytokines plaquettaires) limitée. Si ces cytokines peuvent être assimilées aux mots du langage cellulaire, une coordination entre leurs actions semble indispensable (Maman et al., 2008). En effet, lorsqu'une cytokine stimule une cellule, elle peut l'orienter aussi bien vers la mitose que vers l'apoptose. Une arrivée massive de cytokine serait à l'origine d'un message incohérent ou contradictoire qui entrainerait les cellules à prendre leurs ordres dans la matrice qui les soutiennent. Leurs effets seraient donc annulés voire contraires ainsi la présence des plaquettes en forte concentration peut engendrer des effets inhibiteurs (Dohan et al., 2004). L'étude de Gurbuzer et al., en 2010, soutient l'hypothèse que l'action du PRF est nulle sur l'activité ostéoblastique dans des conditions réelles d'utilisation : cette étude évalue l'activité ostéoblastique post-extractionnelle, à 4 semaines, des sites d'extraction des troisièmes molaires après comblement au PRF par rapport à un groupe sans comblement. L'évaluation se fait par scintigraphie osseuse centrée sur la région céphalique, l'étalonnage est réalisé sur la voûte du crâne au niveau temporal (figure 4.2). Quatorze patients, sans antécédents, présentant des dents de sagesse mandibulaires à extraire en position verticale, sur arcade et situation identique à gauche et à droite, sont sélectionnés pour l'étude. Les extractions sont toutes réalisées par le même chirurgien, en dehors d'un contexte infectieux et/ou inflammatoire et selon la même procédure chirurgicale. Les patients faisant l'objet d'une alvéolectomie sont exclus. Le patient est son propre contrôle afin d'éliminer les

variations interindividuelles (qualité du prélèvement, cicatrisation, immunité, observance...). Le comblement avec un coagulum de PRF se fait uniquement à droite ou à gauche, le secteur controlatéral est laissé sans aucun complément. Les auteurs recueillent plusieurs tubes pour apprécier la concentration en cytokines au sein de l'exsudat de chaque prélèvement. Des sutures sont réalisées systématiquement. 4 semaines après l'intervention, les scintigraphies sont réalisées pour mesurer les différences d'imprégnation à droite et à gauche. L'hyperfixation reflète alors l'activité ostéoblastique, elle est censée être supérieure du côté comblé par le PRF. Cette évaluation est faite à l'aveugle par un médecin nucléaire. Malgré sa faible spécificité, les auteurs estiment que la scintigraphie est un examen fiable pour mesurer l'activité ostéoblastique sans recourir à une biopsie. Les auteurs confirment une libération continue, de facteurs de croissance impliqués dans l'ostéogénèse sur les prélèvements étudiés *in vitro* cependant il n'existe aucune différence en termes d'imprégnation entre les sites traités. Le métabolisme osseux est identique malgré l'utilisation du PRF, ainsi les effets du PRF sur l'activité ostéoblastique sont considérés comme nuls. Néanmoins les auteurs indiquent qu'aucune complication n'a été observée sur les sites traités par le PRF, la cicatrisation muqueuse est favorable sans évaluation objective. Le PRF présente alors toutes les caractéristiques d'une matrice de fibrine autologue qui sert de soutien au caillot sanguin mais dépourvue d'activité biologique propre.

-

4.4 Le PRF peut-il représenter un risque ?

4.4.1 Toxicité du PRF

Plusieurs arguments, concernant le danger des concentrés plaquettaires sont énumérés par Sean et O'Connel (2007) :

- Non-conformité à la norme ISO 10993 : cette norme est généralement utilisée pour la biocompatibilité des conteneurs de sang pour une utilisation clinique et comprend des études de cytotoxicité, mutagénicité, irritation cutanée, une hémolyse, et d'autres paramètres appropriés. Choukroun et Schleider (2000), utilisent un produit de diagnostic *in vitro* et non qualifié pour une utilisation clinique en vertu de la norme ISO 10993.

- Danger du contenant : la fiche signalétique du site Web de Becton Dickinson stipule clairement que le contenu du tube est un irritant et ne devrait pas être autorisé au contact des tissus humains. La société Becton Dickinson rappelle que la poussière de silice est un agent reconnu toxique, mais uniquement lorsqu'il est utilisé à des concentrations élevées et par inhalation.

- Contact de silice avec le patient : pour éviter de casser le tube, on utilise un tube en plastique avec des particules de silice. Les particules de silice utilisées sont suffisamment petites pour

rester en suspension colloïdale dans la couche leuco-plaquettaire, la fibrine, et les couches de plasma pauvre en plaquettes et ainsi contaminer toute application thérapeutique pour le patient. Ceci est confirmé par une étude de Gurbuzer *et al.*, (2010) qui met en évidence des particules de silice au contact des plaquettes en MEB .

Mais l'utilisation de membranes PRF ne peut pas être considérée comme une technique de transfusion, en contraste avec les colles de fibrine et autres concentrés qui nécessitent une modification biochimique. La norme ISO 10993 ne peut donc pas être adéquatement appliquée. En France et dans le reste de l'Europe, plus de 2000 cliniciens utilisent le PRF. D'après une enquête réalisée par les distributeurs de tubes pour PRF, plus de 80 000 tubes par an sont vendus en France. Ce qui signifie que le PRF a été utilisé dans au moins 100.000 protocoles chirurgicaux dans les 6 dernières années. À ce jour, aucune déclaration d'accident n'a été enregistrée (Allard, 2009).

4.4.2 PRF et processus tumoral

Malgré de récentes améliorations diagnostiques et thérapeutiques, le pronostic des patients présentant un carcinome épidermoïde buccal demeure sombre, probablement à cause de la différence de comportement biologique de ces tumeurs, qui montrent une agressivité variable indépendamment des paramètres clinico-pathologiques tels que T et le stade N et le grade histologique. Les facteurs de croissance et l'angiogénèse jouent un rôle clé dans l'agressivité du processus tumoral des cancers buccaux (Ascani *et al.*, 2005) :

Le développement des tumeurs requiert de l'oxygène et des nutriments. L'angiogénèse tumorale correspond à l'apparition de nouveaux vaisseaux destinés à répondre aux besoins métaboliques de la tumeur. Les mécanismes de l'angiogénèse sont intriqués avec ceux de la vasculogénèse, de la lymphangiogénèse et de la neurogénèse. Cependant contrairement à ce qui est observé dans ces phénomènes physiologiques, l'angiogénèse tumorale est caractérisé par une organisation et des dimensions vasculaires anarchiques ainsi qu'une perméabilité vasculaire accrue. L'étape la plus importante du phénomène d'angiogénèse tumorale est le « switch angiogénique ». L'angiogénèse est en effet un équilibre entre activation et l'inhibition. La cicatrisation constitue un exemple d'activation physiologique de l'angiogénèse. A un moment de la croissance tumorale, le déséquilibre de ce rapport aboutit à la prolifération des cellules vasculaires, leur migration puis leur agencement en vaisseaux fonctionnels par une stabilisation et un modelage des structures cellulaires. Les facteurs moléculaires pro et anti-angiogéniques ont été identifiés (Kim *et al.*, 2006). Cette implication est plus ou moins prépondérante selon le type de cancer. L'angiogénèse est particulièrement impliquée dans le cancer du rein et du sein. En effet, dans les cellules cancéreuses et le stroma tumoral la production de VEGF est

régulée par des facteurs environnementaux et des cytokines (hypoxie, EGF, PDGF...) via des voies de signalisations intracellulaires (Src, HIF, Akt...).

Le carcinome épidermoïde buccal n'est pas épargné, une plus grande densité en micro-vaisseaux a été démontrée dans les tumeurs orales avec un mauvais pronostic et à fort potentiel métastatique (Hannen *et al.*, 2004). Cette observation suggère que l'activité angiogénique pourrait exercer un rôle clé aussi dans les carcinomes oraux, avec un effet négatif sur l'évolution clinique (Ascani *et al.*, 2005)

L'action du PRF sur les cellules épithéliales n'est pas clairement établie et les résultats contradictoires. En effet, Brady *et al.*, (2008) montrent que l'IGF et l'EGF exprimé par les cellules épithéliales normales et les plaquettes prévient l'apoptose des kératinocytes oraux *in vitro*, la libération de ces facteurs de croissance seraient impliqués dans la cancérogénèse du carcinome épidermoïde buccal. Tandis que le TGF- β posséderait un effet inhibiteur sur des cultures de kératocytes issus d'un carcinome épidermoïde (Tsai *et al.*, 2009).

Malgré la faiblesse des études fondamentales et cliniques, si les facteurs de croissance contenus dans les concentrés plaquettaires stimulent l'angiogénèse et favorisent la prolifération cellulaire, l'application du PRF doit être évitée sur des sites d'exérèse tumorale et dans le cadre de lésions ou de terrains à risque de cancérisation. Le principe de précaution doit prévaloir.

4.5 PRF et conflits d'intérêts

La plupart des articles et des constatations émises sont faites par la même équipe de chercheurs qui disposent du monopole PRF et d'un droit de regard sur les différentes études menées. L'autorisation du prélèvement sanguin en cabinet dentaire dépend de la dispense de la formation par la Syfac, association dirigée par l'inventeur du procédé. 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, il est nécessaire de connaître les bases fondamentales biochimiques et les mécanismes cellulaires qui lui sont associés (Mercier *et al.*, 2011).

4.6 Fiabilité des études cliniques et synthèse des recommandations de la SFPIO (2011)

Les conclusions empiriques rapportées par les études cliniques ne permettent pas de valider l'apport du PRF tant sur la cicatrisation osseuse que sur la cicatrisation tissulaire.

L'absence d'études cliniques réalisées selon des critères internationalement recommandés ne permet donc pas actuellement de supporter l'utilisation du PRF en chirurgie parodontale et implantaire.

Malgré de récentes améliorations diagnostiques et thérapeutiques, le pronostic des patients présentant un carcinome épidermoïde buccal demeure sombre, probablement à cause de la différence de comportement biologique de ces tumeurs, qui montrent une agressivité variable indépendamment des paramètres clinico-pathologiques tels que T et le stade N et le grade histologique. Les facteurs de croissance et l'angiogénèse jouent un rôle clé dans l'agressivité du processus tumoral des cancers buccaux (Ascani et al., 2005) :

La croissance tumorale requière de l'oxygène et des nutriments apportés par la néo-vascularisation. L'angiogénèse tumorale correspond à l'apparition de nouveaux vaisseaux destinés à répondre aux besoins métaboliques de la tumeur. Les mécanismes de l'angiogénèse sont intriqués avec ceux de la vasculogénèse, de la lymphangiogénèse et de la neurogénèse. Cependant contrairement à ce qui est observé dans ces phénomènes physiologiques, l'angiogénèse tumorale est caractérisé par une organisation et des dimensions vasculaires anarchiques ainsi qu'une perméabilité vasculaire accrue. L'étape la plus importante du phénomène d'angiogénèse tumorale est le « switch angiogénique ». L'angiogénèse est en effet un équilibre entre activation et l'inhibition. La cicatrisation constitue un exemple d'activation physiologique de l'angiogénèse. A un moment de la croissance tumorale, le déséquilibre de ce rapport aboutit à la prolifération des cellules vasculaires, leur migration puis leur agencement en vaisseaux fonctionnels par une stabilisation et un modelage des structures cellulaires. Les facteurs moléculaires pro et anti-angiogéniques ont été identifiés (Kim *et al.*, 2006). Cette implication est plus ou moins prépondérante selon le type de cancer. L'angiogénèse est particulièrement impliquée dans le cancer du rein et du sein. En effet, dans les cellules cancéreuses et le stroma tumoral la production de VEGF est régulée par des facteurs environnementaux et des cytokines (hypoxie, EGF, PDGF...) via des voies de signalisations intracellulaires (Src, HIF, Akt...). Le carcinome épidermoïde buccal n'est pas épargné, une plus grande densité en micro-vaisseaux a été démontrée dans les tumeurs orales avec un mauvais pronostic et à fort potentiel métastatique (Hannen *et al.*, 2004). Cette observation suggère que l'activité angiogénique pourrait exercer un rôle clé aussi dans les carcinomes oraux, avec un effet négatif sur l'évolution clinique (Ascani *et al.*, 2005)

Malgré la faiblesse des études fondamentales et cliniques, si les facteurs de croissance contenus dans les concentrés plaquettaires stimulent l'angiogénèse et favorisent la prolifération cellulaire, l'application du PRF doit être évitée sur des sites d'exérèse tumorale et dans le cadre de lésions ou de terrains à risque de cancérisation. Le principe de précaution doit prévaloir.

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.

Conclusion

L'évolution vers de nouveaux biomatériaux potentialisant la cicatrisation a abouti à la création des concentrés plaquettaires autologues.

L'enthousiasme des praticiens pour le PRF provient de sa facilité d'emploi, son faible coût pour le patient, son origine autologue et sa composition supposée en facteurs de croissance.

A l'heure actuelle, peu d'études relatent la quantité en facteurs de croissance nécessaire pour obtenir les effets biologiques escomptés, mais les praticiens ont continué à utiliser ce biomatériau sans en connaître les réels effets.

Les applications cliniques de ce biomatériau sont donc en avance sur les investigations théoriques et scientifiques, mais s'il n'est pas possible pour l'instant d'en prouver la réelle efficacité, une chose est cependant certaine ; le PRF n'entraîne pas de préjudice pour le patient.

Devant ce manque de preuves scientifiques, la SFPIO ne peut actuellement pas recommander l'utilisation systématique du PRF. De nouveaux protocoles à la méthodologie stricte doivent être mis en place pour définir un cadre légal à l'utilisation du PRF.

« Le PRF n'a rien du produit miracle. Il ne s'agit que d'un biomatériau de cicatrisation, certes très efficace, mais dont la fonction est de potentialiser la cicatrisation à la seule condition que celle-ci soit possible. » (Dohan et Diss, 2005)

ANNEXES

Annexe 1 : guide de prévention des infections liées aux soins en chirurgie dentaire et en stomatologie (2006)

10. UTILISATION DU MATERIEL D'ORIGINE BIOLOGIQUE (P 60-61)

En chirurgie dentaire et stomatologie, des produits contenant des matières premières d'origine soit biologique, soit animale (substitut osseux, produit hémostatique ou régénérant tissulaire), soit humaine, peuvent être utilisés. Selon les cas, il s'agit de médicaments, de dispositifs médicaux voire de produits d'origine humaine à visée thérapeutique.

10.1 Médicaments

Des matières premières d'origine animale ou humaine peuvent entrer dans la composition d'un médicament. Tout médicament avant sa mise sur le marché est évalué et obtient une autorisation de mise sur le marché. Les risques de transmission des maladies infectieuses que peut représenter la matière première d'origine biologique sont donc pris en compte au moment de cette évaluation.

10.2 Dispositifs médicaux

Pour être mis sur le marché, les dispositifs médicaux doivent être marqués CE au titre de la directive 93/42/CE. Les dispositifs médicaux et leurs procédés de fabrication sont conçus de manière à éliminer ou réduire autant que possible le risque d'infection pour le patient, l'utilisateur et les tiers.

Les dispositifs médicaux fabriqués à partir de tissus d'origine animale ou de dérivés rendus non viables entrent dans la classe III des dispositifs médicaux sauf si ces dispositifs sont destinés à entrer en contact uniquement avec la peau saine intacte. Le certificat de marquage CE de ces dispositifs médicaux est effectué est délivré par un organisme habilité notifié et prend en compte l'origine animale de la matière première qui entre dans la composition du dispositif médical.

De plus, pour les dispositifs médicaux fabriqués à partir de tissu d'origine animale à risque de transmission d'EST (Encéphalopathies Spongiformes Transmissibles), la directive 2003/32/CE s'applique et introduit des spécifications détaillées qui renforcent les exigences prévues à la directive 93/42/CEE. En outre, en France, en application du décret n°2002-1221 du 30 septembre 2002, notamment pour les dispositifs médicaux de classe III, le fabricant doit signaler à l'Afssaps tout dispositif contenant un dérivé d'origine animale mis sur le marché en France.

Les dispositifs médicaux ne peuvent être fabriqués à partir d'un produit d'origine humaine ni en contenir. Les directives 2000/70/CE et 2001/104/CE du parlement européen et du conseil prévoient néanmoins la possibilité d'incorporer dans des dispositifs médicaux des dérivés stables du sang ou du

plasma humain. Dans ce cas, le risque lié à l'origine humaine de ces matières premières est pris en compte lors du marquage CE.

10.3 Produits d'origine humaine à visée thérapeutique

Même si la loi bioéthique en prévoit les modalités, en l'état actuel de nos connaissances, les protocoles faisant appel à des concentrés plaquettaires par transfusion autologue ne font pas l'objet de consensus, par contre il existe des textes de lois précis encadrant la transfusion sanguine.

La loi n°93-5 du 4 janvier 1993 relative à la sécurité en matière de transfusion sanguine et de médicament (modifiée par la loi n°2004-800 du 6 août 2004 relative à la bioéthique) précise à travers ses articles l'usage des concentrés plaquettaires :

- Article L. 1221-2 : La collecte du sang humain ou de ses composants en vue d'une utilisation thérapeutique ne peut être faite que par les établissements de transfusion sanguine.
- Article L. 1221-3 : Le prélèvement [en vue de préparer des produits dérivés du sang] ne peut être fait qu'avec le consentement du donneur par un médecin ou sous sa direction et sa responsabilité.
(...)
- Article L. 1221-4 : Le sang, ses composants et leurs dérivés ne peuvent être distribués ni utilisés sans qu'aient été faits des analyses biologiques et des tests de dépistages de maladies transmissibles (...).
- Article L. 1221-8 : Peuvent être préparés à partir du sang ou de ses composants : (...) des Produits Sanguins Labiles, comprenant notamment le sang total, le plasma et les cellules sanguines d'origine humaine (...).
- Article L. 1221-10 : Les Produits Sanguins Labiles destinés à une utilisation thérapeutique directe sont conservés dans les Etablissements de Transfusion Sanguine ou dans les Etablissements de Santé autorisés (...).

Ces articles de lois signifient que le prélèvement sanguin permettant d'obtenir les concentrés plaquettaires ne peut pas être fait dans un cabinet dentaire ou de stomatologie. La loi n'exclut pas spécifiquement les cabinets de chirurgie dentaire ou de stomatologie, mais tous les établissements autres que les structures de soins autorisées comme les établissements de Transfusion Sanguine. D'autre part cette loi indique, par exclusion, qu'un chirurgien-dentiste ne peut pas prélever ou faire prélever par une infirmière du sang à usage thérapeutique.

Annexe 2 : Recommandations de prise en charge bucco-dentaire des patients sous biphosphonates (AFSSAPS)

1. PATIENTS CANDIDATS A UN TRAITEMENT PAR BISPHOSPHONATE

a. Chez les patients devant recevoir un BP dans le cadre de pathologies malignes, il est indispensable :

- De réaliser un bilan bucco-dentaire : celui-ci sera pratiqué par un chirurgien dentiste ou un stomatologue.
- De réaliser un bilan radiologique : le panoramique dentaire devra être complété par des clichés rétroalvéolaires voire un dentalscanner en cas de doute concernant un foyer infectieux.

Il est préférable de ne débiter le traitement par BP, si l'état clinique du patient le permet, qu'une fois la situation dentaire assainie : il faut effectuer les soins dentaires nécessaires, éliminer tous les foyers infectieux, attendre la cicatrisation des muqueuses et, dans la mesure du possible, la cicatrisation osseuse complète (120 jours).

b. Chez les patients devant recevoir un BP dans le cadre d'une ostéoporose/maladie Paget, il est recommandé :

- D'effectuer un bilan bucco-dentaire, suivi des soins dentaires nécessaires. Ces soins ne doivent pas retarder l'instauration du traitement par BP chez les patients à risque élevé de fractures.

2. PATIENTS TRAITES PAR BISPHOSPHONATE SANS EVIDENCE D'OSTEONECROSE

a. Chez les patients recevant un bisphosphonate dans le cadre de pathologies malignes, il est indispensable de :

- Réaliser un suivi bucco-dentaire : celui-ci sera pratiqué par un spécialiste tous les 4 mois et au moindre symptôme bucco-dentaire, en collaboration avec l'oncologue.
- Dépister et traiter les foyers infectieux par des gestes aussi peu agressifs que possible pour l'os, le parodonte et la muqueuse. Il convient :

De limiter les extractions aux dents non conservables (mobilité de stade 3 ou présence de foyer infectieux actif) :

- . sans arrêter le traitement par BP,
- . sous anesthésie locale ou locorégionale, sans vasoconstricteur,
- . sous traitement antibiotique la veille de l'extraction puis jusqu'à cicatrisation complète (évaluée cliniquement et radiologiquement),
- . régulariser la crête alvéolaire et suturer les berges de façon hermétique

D'envisager de confectionner une attelle parodontale pour stabiliser les dents dont la mobilité est de stade 1 à 2, plutôt qu'une extraction ;

D'éviter l'extraction en présence d'une dent avec carie délabrante mais sans mobilité pathologique,

en réalisant un traitement de racine (en coupant la couronne de la dent au ras de la gencive), et en reconstituant la dent avec les techniques conventionnelles en prenant la précaution de ne pas altérer les tissus environnants ;

De contre-indiquer les traitements parodontaux chirurgicaux ;

De contre-indiquer l'implantologie. En revanche, la présence d'implants déjà intégrés dans la structure osseuse n'augmente pas le risque d'ONM ; ils doivent être conservés.

b. Chez les patients recevant un bisphosphonate dans le cadre d'une ostéoporose/maladie Paget, il est recommandé :

- de réaliser un suivi bucco-dentaire : celui-ci sera pratiqué par un chirurgien dentiste ou un stomatologue au moindre symptôme bucco-dentaire et, comme recommandé dans la population générale au minimum une fois par an

- D'effectuer les avulsions dentaires, lorsqu'elles sont nécessaires, sous traitement antibiotique et de la façon la moins traumatisante possible. La chirurgie nécessaire sera réalisée en évitant de lever un ou des lambeaux d'épaisseur totale ; s'il existe des problèmes de fermeture de la plaie on privilégiera un lambeau d'épaisseur partielle pour préserver au mieux la vascularisation de l'os sous-jacent.

Les données actuellement disponibles ne permettent pas de considérer que la prise de BP pour une ostéoporose est une contre-indication à la mise en place d'un implant dentaire.

Recommandations générales concernant les patients sans évidence d'ostéonécrose, avant ou pendant un traitement par bisphosphonate IV ou oral :

- Les soins dentaires peuvent être effectués en ville ou à l'hôpital.

- Le chirurgien dentiste est invité à questionner le patient afin de s'assurer que celui-ci a été correctement informé du

risque d'ONM et de la nécessité de maintenir une bonne hygiène dentaire.

- Le patient doit être informé de la nécessité de signaler toute mobilité dentaire ou toute douleur, gonflement, ou

inflammation de la muqueuse gingivale à son chirurgien dentiste ou à son (ses) médecin(s).

3. PATIENTS ATTEINTS D'UNE OSTÉONÉCROSE AVÉRÉE

a- Le patient doit être impérativement adressé à un service hospitalier de chirurgie maxillo-faciale, d'ORL ou d'odontologie. Dans l'attente de la prise en charge hospitalière, il est recommandé de :

. réaliser un bilan radiologique (panoramique dentaire) afin d'apprécier l'importance de la nécrose et la présence éventuelle d'un séquestre

. éviter tout geste chirurgical,

. traiter médicalement la douleur,

. poursuivre une hygiène bucco dentaire stricte.

b- Des rinçages quotidiens à l'aide d'une solution antiseptique (chlorhexidine aqueuse 0,1%) sont

recommandés en présence d'ulcérations avec zone d'os nécrotique visible en bouche.

c- Les traitements chirurgicaux ne doivent s'envisager qu'à minima. Il conviendra de préférer une chirurgie de propreté : régularisation des bords traumatisants les tissus mous environnant, élimination de séquestre mobile.

En cas de fractures et lorsque la nécrose osseuse envahit largement la mandibule, il faut éviter les reconstructions par greffes osseuses libres ou pédiculées. Après résection de l'os nécrotique au voisinage de la fracture, un fixateur externe peut être envisagé ou mieux, une plaque de reconstruction avec des ancrages vissés les plus éloignés possibles de la zone de nécrose.

d- Il est nécessaire d'informer le médecin prescripteur de la complication du traitement par biphosphonates. La poursuite du traitement par BP doit être décidée au cas par cas par le médecin prescripteur.

Définition d'une ONM due à un traitement par bisphosphonates (BP)

Une ONM due à un BP peut être définie par les 4 caractéristiques suivantes :

- a) Traitement par BP antérieur ou en cours.
- b) Lésion de la muqueuse au niveau de la région maxillo-faciale mettant à nu l'os nécrosé, et persistant depuis plus de 8 semaines.
- c) Absence d'antécédents de radiothérapie dans la région maxillaire.
- d) Absence de localisation métastatique au niveau de la zone d'ONM.

Incidence des ONM sous BP

Des données publiées concernant l'incidence des ONM chez les patients atteints de pathologie maligne traités par BP IV mentionnent des chiffres très variables (entre 0,8% et 12%). Cependant, il est important de noter qu'il s'agit d'études rétrospectives portant sur de petits effectifs.

Concernant l'ostéoporose et la maladie de Paget, l'incidence des ONM sous BP per os est très mal connue. Toutefois, des publications mentionnent que le risque de survenue d'une ONJ est bien plus faible que celui observé chez les patients traités par BP IV dans le cadre d'une pathologie maligne et serait estimée à 1 cas sur 100 000 patient-années.

Les facteurs de risque :

- liés au BP : puissance de l'action inhibitrice sur la résorption osseuse du BP, doses utilisées, rythmes d'administration et durée du traitement.
- liés au patient : chirurgie alvéolo-dentaire, antécédents de maladie dentaire inflammatoire.
- démographiques et systémiques : âge, race caucasienne, type de cancer (risque plus élevé dans le myélome multiple que dans le cancer du sein, et que dans les autres types de cancer, cancer associé à une ostéopénie/ostéoporose.
- autres: hygiène buccale médiocre, chimiothérapie et traitements par corticostéroïdes, alcool, tabac.

Annexe 3 Guide de prévention des infections liées aux soins réalisés en chirurgie dentaire et stomatologie (Direction Générale de Santé)

Produits d'origine humaine à visée thérapeutique

Parmi les produits d'origine humaine à visée thérapeutique utilisés en chirurgie dentaire, certains protocoles thérapeutiques font appel à des concentrés plaquettaires autologues

(fibrine riche en plaquettes ou « PRF »). En l'état actuel des connaissances scientifiques, ces protocoles restent encore à évaluer et des études complémentaires sont donc nécessaires.

Par ailleurs, la réglementation s'appliquant à ces produits est appelée à évoluer et le ministère en charge de la santé a entrepris de redéfinir l'encadrement juridique de l'utilisation péri-opératoire de tissus et cellules autologues, dont le « PRF ».

En attendant que ces deux questions (cadre juridique, évaluation scientifique) soient résolues, les praticiens médecins ou chirurgiens-dentistes qui utilisent ces concentrés plaquettaires doivent rigoureusement se conformer aux obligations déontologiques : être formés au prélèvement sanguin, à la préparation extemporanée et à l'utilisation du « PRF » ainsi obtenu ; ils doivent en outre respecter les règles de bonnes pratiques de soins, en particulier pour assurer la sécurité des patients vis à vis de risque infectieux.

Bibliographie

Abelli A, Menard P.

Traitement préventif et curatif des hémorragies opératoires.

Encycl Méd Chir, 1998 , 22 : 13P.

Abi Najm S.

Ostéonécrose des maxillaires et biphosphonates.

Thèse de Doctorat : Univ-Genève,2008,no.Méd.dent.664

American Academy of Periodontology, Committee on Research, Science and Therapy. The potential role of growth and differentiation factors in periodontal régénération.

J. Periodontol., 1996, 67, 545-553.

AFSSAPS

Transfusion de plaquettes: produits, indications, juin 2003.

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

Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé.

Lettre aux prescripteurs : acide zolédronique / pamidronate de sodium et ostéonécrose de la mâchoire, 7 Juillet 2005.

<http://agmed.santé.gouv.fr/hm/alertes/indreco.html>.

Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé.

Recommandations sur la prise en charge bucco-dentaire des patients traités par bisphosphonates.

Lettre aux professionnels de santé. Pharmacovigilance, 18 Décembre 2007.

American Association Council on Scientific Affairs.

Dental management of patients receiving oral bisphosphonates therapy. Expert panel recommendations. J Am Dent Assoc, 2006, 137 : 1144-1150.

American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons.

American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons position paper on bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws. J Oral Maxillofac Surg, 2007, 65 : 369-376.

Anilkumar K, Geetha A, Umasudhakar G, Ramakrishnan T, Vijayalakshmi R, Pameela E.

Platelet-rich-fibrin: A novel root coverage approach

J Indian Soc Periodontol. 2009; 13(1): 50–54.

Anitua E, Andia I, Ardanzab, Nurden P, Nurden AT..

Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration.

Thromb Haemost , 2004 , 91 : 4-15.

Anitua E. The use of plasma-rich in growth factors (PROF) in oral surgery. Pract. Proced. Aesthet.

Dent., 2001, 11, 6, 487-493.

Anitua E. Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of futures sites for implants. Int. J. Oral Maxillofac. Implants, 1999, 14,4,529-535.

Antosz ME, Bellows CO, Aubin JE.

Effects of transforming growth factor beta and epidermal growth factor on cell proliferation and the formation of bone nodules in isolated fetal rat calvaria cells. J. Cell. Physiol., 1989, 140,2,386-395.

- Araujo M. G, Sukeka VF., Wennstrom J.L, Lindhe J.
Ridge alterations following implant placement in fresh extraction sockets: an experimental study in the dog. *J Clin Periodont* 2005 ; 32(6):645-652.
- Arend WP, Malyak M, Guthridge CJ, Gabay C.
Interleukin-1 receptor antagonist: role in biology. *Annu Rev Immunol.* 1998;16:27-55.
- Ascani G, Balercia P, Messi M, Lupi L, Goteri G, Filosa A, Stramazotti D, Pieramici T, Rubini C.
Angiogenesis in oral squamous cell carcinoma. *Acta Otorhinolaryngol Ital.* 2005 February; 25(1): 13–17.
- Bamias A, Kastrisis E, Bamia C, Moulopoulos LA.
Osteonecrosis of the jaw in cancer after treatment with bisphosphonates : incidence and risk factors. *J Clin Oncol*, 2005, 23 : 8580-8587.
- Barrier A, Lescaille G, Rigolet A, Descroix V, Goudot P, Ruhin B
Jaw osteonecrosis induced by oral biphosphonates: 12 cases.
Rev Stomatol Chir Maxillofac. 2010 ;111(4):196-202
- Bettega G, Brun JP, Cracowski JL.
Utilisation de concentrés plaquettaires autologues dans la reconstruction pré-implantaire des maxillaires. *Rev Stomatol Chir Maxillofac.* 2005 , 106 : 189-191.
- Bert.
Les implants dentaires Cahiers de prothèse, 1986 - 296 p.
- Burnouf T, Tseng YH, Kuo YP, Su CY.
Solvent/detergent treatment of platelet concentrates enhances the release of growth factors. *Transfusion* 2008 ; 48 : 1090-8.
- Buser D, Bragger U, Lang N. P, Nyman S.
Regeneration and enlargement of jaw bone using guided tissue regeneration.
Clinical Oral Implant Research 1990, 1: 22-32.
- Cardaropoli G, Araujo M, Lindhe J.
Dynamics of bone tissue formation in tooth extraction sites an experimental study in dogs.
J Clin Periodontol. 2003 , 30 : 809-818.
- Cavaillon JM.
«Molecular mediators: cytokines
Encyclopedia of Molecular Cell Biology and Molecular Medicine, 2005 , 8 : 431-460.
- Chakroun T, Abdelkefi S, Bouslama M, Houissa B, Zaier M, Miled A, Kortas M, Yacoub.S.
Complexes leucoplaquettaires en tant que marqueur d'activation dans les concentrés plaquettaires standards. *Transfusion clinique et biologique.* 2008 . 15 - N° 4 : 148-153.
- Charon J, Mouton C.
Parodontie médicale. 339-340.
- Choi BH, Zhu SJ, Jung JH, Lee SH, Huh JY.
The use of autologous fibrin glue for closing sinus membrane perforations during sinus lifts.
Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2006 ; 101:150-4.
- Choukroun JI, 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 lipostucture (Coleman's technique) and tympanoplasty?. Rev Laryngol Otol Rhinol (Bord). 2007;128(1-2):27-32.

Choukroun J, Del Corso M.

Tissue response to platelet-rich fibrin: clinical evidences. Part 1: socket extractions
Implant dentistry today. 2011 , 20.

Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, Girard MO, Schoeffler C, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, Dohan DM. Plateled-rich fibrin (PRF) : A second-generation plateled concentrate. Part IV : Clinical effects on tissue healing. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2006 , 101 : 56-60.

Choukroun J, Diss A, Simompieri A, Girard MO, Schoeffler C, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, Dohan DM. Plateled-rich fibrin (PRF) : A second-generation plateled 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.

Choukroun J, Dohan D.

Droit de réponse. Rapport de la SPIO sur le PRF : une mise au point.
Inf Dent. 2009 , 91(3) : 138-139.

Dahlback B.

<http://www.hematoweb.org/Fibrinolyse-360-229-0-1.html>

Blood coagulation. Lancet 2000;355(9215):1627-32. L'immunopathologie pour le praticien 04/08 chapitre 11.

Dahlin C, Sennerby L, Lekholm U, Linde A, Nyman S. 1989

Generation of new bone around titanium implants : an experimental study in rabbits
International Journal of Oral and Maxillofacial Implants 1989 ; 4 : 19-25.

Danielsen PL, Agren MS, Jorgensen LN.

Platelet-rich fibrin versus albumin in surgical wound repair: a randomized trial with paired design.
Ann Surg. 2010 May;251(5) : 825-31.

Danielsen PL.

Platelet-rich fibrin in human acute wound models Faculty of Health Sciences
University of Copenhagen, 2008.

De Mello G, Gangloff P, Djiane P, Galaeazzi JM.

Recommandations pour la prise en charge des patients sous traitement anti-vitamines K en chirurgie bucco-dentaire : Société Francophone De Médecine Buccale Et Chirurgie Buccale médecine buccale chirurgie buccale 2006. (12) : 4

De Revel T, Doghmi K.

Physiologie de l'hémostase. EMC. 2004 , 22-009-D-20.

Dhoma D, Rasmusson L.

Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma to leucocyte and platelet-rich fibrin. Trends in Biotechnol. 2009 , 27 : 158-166.

Direction Générale de la Santé – Ministère de la Santé et des Solidarités.

Guide de prévention des infections liées aux soins en chirurgie buccale.
Deuxième Edition, juillet 2006.

Diss A, Dohan DM, 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 Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2008 , 105 : 572-579.

Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan JA, Mouhyi J, Gogly B.

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;101: 37-44.

Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan JA, Mouhyi J, Gogly B.

Platelet-Rich Fibrin (PRF): a new healing biomaterial. Part II: Platelets and cytokines. Implantodontie. 2004 , 13 : 99-108.

Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan JA, Mouhyi J, Gogly B.

Platelet-Rich Fibrin (PRF): a new healing biomaterial. Part III: Immune features. Implantologie. 2004, 13 : 109-115.

Dohan D, Diss A.

Compte-rendu du 2ème symposium international sur les facteurs de croissance (SyFac 2005).

Implantodontie 2005 , 14 : 116-125.

Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan JA, Mouhyi J, Gogly B.

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 , 101 : 37-44.

Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan JA, Mouhyi J, Gogly B.

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 , 101 : 45-50.

Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan JA, Mouhyi J, Gogly B.

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 : 51-55.

Dohan DM, Choukroun J.

PRP, cPRP, PRF, PRG, FC... How to find your way in the jungle of platelet concentrates ? Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2007 , 103 : 305-306.

Dohan DM, Dohan A, Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, Girard MO, Dohan D.

De l'usage des concentrés plaquettaires en application topique. Encycl Med Chir. Odontologie. 2005 , 30 : 23-33 ; 141-180.

Dohan DM, Del Corso M, Charrier JB.

Cytotoxicity analyses of Choukroun's platelet rich fibrin on a wide range of human cells : the answer to a commercial controversy.

Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2007 , 103 : 587-593.

Dohan DM, Del Corso M, Diss A.

Three-Dimensional Architecture and Cell Composition of a Choukroun's Platelet-Rich Fibrin Clot and Membrane. J Periodontol. 2010;81: 546-555.

Dohan D, Niksa Lemo N, Jimbo R, Sammartino G.

Selecting a relevant animal model for testing the in vivo effects of Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF): Rabbit tricks and traps. Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology. 2010. 110, 4 : 413-416.

- Dohan D, Doglioli P, De Peppo G.
Choukroun's platelet-rich fibrin stimulates in vitro proliferation and differentiation of human oral bone mesenchymal stem cell in a dose-dependent way. *Archives of Oral Biology*. 2010 , 55 : 185-194.
- Ellegard B. Implant therapy involving maxillary sinus lift in periodontally-compromised patients. *Clin Oral Implant Res* 1997, 8 : 305-315.
- Ellegaard B, Kølsen-petersen J, Baelum V. Implant therapy involving maxillary sinus lift in periodontally compromised patients. *Clinical Oral Implants Research*. 1997 ; 8(4) : 305–315.
- Esnault M.
Les cytokines. <http://gfme.free.fr/index.html>
- Feng X, Clark RA, Galanakis D, Tonnesen MG.
Fibrin and collagen differentially regulate human dermal microvascular endothelial cell integrins: stabilization of alpha_v/beta₃ mRNA by fibrin1. *J Invest Dermatol* 1999;113:913-9.
- Fletcher D.
Critères prédictifs de douleur postopératoire. Service d'Anesthésie Réanimation, Hôpital Raymond Poincaré.
- Freymler EG, Aghaloo T.
Platelet-Rich Plasma: Ready or Not? *J Oral Maxillofac Surg*. 2004 , 62 : 484-488.
- Fu-Mei H, Shun-Fa Y, Jiing-Huei Z, Chang YC.
Platelet-rich Fibrin Increases Proliferation and Differentiation of Human Dental Pulp cells
Basic Research-Biology. 2010 , 36 : 1626-1632.
- Gassling VLW, Acil Y, Springer IN.
Platelet-rich Plasma and Platelet-rich fibrin in human cell culture.
Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2009 , 108: 48-55.
- Gaudy JF, Ankri A, Tager F, El Haddioui A, Bravetti P, Lafont A, Gogly B.
Anticoagulants et extractions dentaires. *Arch Mal Cœur* 2005 ; 98 : 859-66.
- Gaultier F, Navarro G, Donsimoni JM, Dohan D.
Concentrés plaquettaires : technologies, biologie associée, applications cliniques, analyses histologiques. 3^{ème} partie : applications cliniques. *Implantodontie*. 2003 , 13 : 3-11
- Gomez-Brouchet A.
Remodelage osseux : aspects biologiques et moléculaires.
Service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques. Toulouse.
- Guibaud J-P, Forestier F, Janvier G.
Revue Médicale Suisse Hémocompatibilité et contrôle de l'activation sanguine
Sujet: Hématologie n° : 2344
- Gurbuzer B, Pıkdöken L, Tunali M, Urhan M, Küçükodacı Z, Ercan F.
Scintigraphic Evaluation of Osteoblastic Activity in Extraction Sockets Treated With Platelet-Rich Fibrin. *J Oral Maxillofac Surg*. 2010 , 1-10.
- Gurevich O, Vexler A, Marx G, Prigozhina T, Levdansky L, Slavin S.
Fibrin microbeads for isolating and growing bone marrow-derived progenitor cells capable of forming bone tissue. *Tissue Eng* 2002;8:661–72.

Haddad – Triqui.

Douleurs neuropathiques. Centre de traitement de la douleur.

<http://www.stmi.org.tn/docs/VIII%20congres/douleur/HTML/douleurneurop.html>

Hannen EJM, Riediger D.

La quantification de l'angiogenèse par rapport à des métastases dans le cancer par voie orale: un examen. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2004;33:2-7. *Int J Oral Surg Maxillofac* 2004; 33:2-7.

Hannen EJ, Van Der Laak Juge, Manni JJ, Freihofer HP, Sloopweg PJ, Koole R.

Computer assisted analysis of the microvasculature in metastasised and non metastasised squamous cell carcinoma of the tongue. L'analyse assistée par ordinateur de la microvascularisation dans métastasé et non carcinome épidermoïde métastasé de la langue.

Head Neck 2002;24:643-50. *Cou Chef* 2002;. 24:643-50.

Haute Autorité de Santé.

Prévention et traitement de la douleur post-opératoire en chirurgie buccale. 2005.

Harrison LB, Sessions RB, Hong WK.

Head and neck cancer: a multidisciplinary approach. *Cancer de la tête et du cou: une approche multidisciplinaire*. Lippincott-Raven Publ; 1999.

He Ling, Lin Y, Hu X, Zhang Y, Wu H.

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.

Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2009, 108 : 707-713.

Hiremath H, Saikalyan S, Kulkarni s, Hiremath v.

Second-generation platelet concentrate (PRF) as a pulpotomy medicament in a permanent molar with pulpitis: a case report. *International Endodontic Journal*, 2012, 45, 105–112.

Idelevich E, von Eiff C, Friedrich A.

In Vitro Activity against *Staphylococcus aureus* of a novel antimicrobial Agent, PRF-119, a recombinant chimeric bacteriophage endolysin.

American Society for Microbiology Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2011 : 55(9):4416-9.

Ismaili Z, Seffar M, Ennibi KO.

Application de la fibrine riche en plaquettes dans le traitement des récessions tissulaires marginales : rapport de 2 cas. *Journal de parodontologie et d'implantologie orale.* 2008, 27,3 : 191-200.

Jang E, Park JW, Kweon HY, Lee KG, Kang SW, Baek DH, Choi JY, Kim SG.

Restoration of peri-implant defects in immediate implant installations by Choukroun platelet-rich fibrin and silk fibroin powder combination graft.

Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2010 , 1-6.

Jankovic S, Aleksic Z, Klokkevold P, Lekovic V, Dimitrijevic B, Kenney EB, Camargo P.

Use of platelet-rich fibrin membrane following treatment of gingival recession: a randomized clinical trial. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2012 ; 32(2) : 41-50.

Jiing-Huei Z, Chung-Hung T, Yu-Chao C.

Clinical and histologic evaluations of healing in an extraction socket filled with platelet-rich fibrin.

Journal of Dental Sciences. 2011 , 24 : 1-7.

Kanno T, Takahashi T, Tsujisawa T, Ariyoshi W, Nishihara T.

Platelet-Rich Plasma Enhances Human Osteoblast-Like Cell Proliferation and Differentiation. *J Oral Maxillofac Surg.* 2005 , 362-369.

Kaux JF, Degrave N, Crielaard JM.

Platelet rich plasma : traitement des tendinopathies chroniques

Revue de la littérature. *Journal de Traumatologie du sport.* 2007 , 24 : 99-102.

Khoury.

Greffe osseuse en implantologie

Traduction et révision scientifique de la version française par P. Keller

Khoury, Antoun, Missika.

Bone augmentation in oral implantology 2007.

Khoury.

Gestion du volume. *Titane.* 2009 , Vol. 6 (4) : 254-259.

Kim WY, Kaelin WG.

Molecular pathways in renal cell carcinoma—rationale for targeted treatment.

Semin Oncol. 2006;33:588-95.

Koskievic R, Garel LM, Rouah Y.

Facteurs de croissance plaquettaires en implantologie orale: mythes ou réalités? Première partie: Aspects fondamentaux. *Implant,* 2003,2, 4, 263-281.

Kuntz JL. Maladie de Paget. *Faculté de Médecine de Strasbourg,* 2005, *Appareil locomoteur :* 4.

Lambert F, Lecloux G, Rompen E.

Augmentation osseuse sous-sinusienne : actualisation du concept du sinus lift.

Rev Odont Stomat 2008 ; 37 : 3-17

Lee, C.Y, David T, Nishime M.

Use of platelet-rich plasma in the management of oral bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw : a report of 2 cases. *J. Oral. Implantol.,* 2007, 33(6) : 371-382.

Leitner GC, Gruber R, Neumüller J, Wagner A, Kloimstein P, Höcker P, Körmöczi GF, Buchta C.

Platelet content and growth factor release in platelet-rich plasma: a comparison of four different systems. *Vox Sanguinis .* 2006, 91 : 135–139.

Lekovic V, Milinkovic I, Aleksic Z, Jankovic S, Stankovic P, Kenney EB.

Platelet-rich fibrin and bovine porous bone mineral vs. platelet-rich fibrin in the treatment of intrabony periodontal defects. *J Periodontal Res.* 2011 : 29.

Le Lievre J. *Mémoire de DESCB,* 2009.

Lind M, Deleuran B, Thestrup-Pedersen K, Søballe K, Eriksen EF, Bünger C.

Chemotaxis of human osteoblasts. Effects of osteotropic growth factors. *APMIS,* 1995, 103, 140-146.

Lucarelli E, Beretta R, Dozza B, Tazzari PL, O'Connell SM, Ricci F, Pierini M, Squarzone S, Pagliaro PP, Oprita EI, Donati D. A recently developed bifacial platelet-rich fibrin matrix. *European Cells and Materials.* 2010 , 20 : 1-23.

Lundgren S, Andersson S, Gualini F, Sennerby L. Bone reformation with sinus membrane elevation: a new surgical technique for maxillary sinus floor augmentation. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2004 ; 6 (3) : 165-73.

- Lundquist R, Dziegel MH, Agren MS.
Bioactivity and stability of endogenous fibrogenic factors in platelet-rich fibrin.
Wound Rep Reg. 2008 , 16 : 356-363.
- Maes JM, Vieillard M-H, Penel G, Raoul G, Ferri J.
Ostéonécroses des maxillaires sous bisphosphonates
EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Stomatologie, 22-062-D-30, 2007.
- Magremanne M, Baeyens W, Awada S, Vervaeck C.
Kyste osseux solitaire de la mandibule et fibrine riche en plaquettes. Rev Stomatol Chir Maxillofac.
2009 , 110 : 105-108.
- Martins M, Saraceni G, Cossolin I, Koga DH, Zardetto C, Christianini S, Feher O, Lopes Cardoso C, dos Santos MO.
Bisphosphonate-Related Osteonecrosis of the Jaws—An Initial Case Series Report of Treatment Combining Partial Bone Resection and Autologous Platelet-Rich Plasma Original Research Article
Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, 2011 69(9) : 2465-2472.
- Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR.
Platelet-rich plasma : Growth factor enhancement for bone grafts.
Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 1998 , 85 : 638-646.
- Marx RE.
Pamidronate (Aredia) and zolédronate (Zometa) induced avascular necrosis of the jaws: a growing epidemic. J Oral Maxillofac Surg, 2003, 61 : 1115-1117.
- Matras H, Osterr Z.
Effects of various fibrin preparations on reimplantations in the rat skins. Stomatol. 1970 , 67 : 338-359.
Mauricio G, Cleveson A, Oliveira A.
Ridge Preservation: rationale and outcome. Oral Health. 2010.
- Mc Gregor J.
Rôle de la sélectine P (CD62P) dans les interactions des cellules endothéliales et des plaquettes activées avec les leucocytes. Hématologie. 1995 , 2(1) :83-87.
- Maman L.
L'utilisation du plasma riche en plaquettes et de la fibrine riche en plaquettes dans le traitement des fractures chez le chien. Thèse école Nationale vétérinaire de Lyon.2008.
- Mazor Z, Horowitz RA, Del Corso M, Dohan DM.
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. 2009 Dec ; 80(12) : 2056-64.
- Mercier V.
Stimulation de la cicatrisation du tissu gingival et du tissu osseux par l'utilisation de concentrés plaquettaires. Thèse d'exercice en chirurgie-dentaire Université de Nancy 2011.
- Ministère de la Santé et des Solidarités.
Guides de prévention des infections liées aux soins en chirurgie dentaire et en stomatologie, 2^{ème} édition, juillet 2006. http://www.sante.gouv.fr/htm/dossiers/infect_chirdentaire/guide.pdf
- Mozzati M, Gallesio G, Arata V, Pol R, Scoletta M.

Platelet-rich therapies in the treatment of intravenous bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: A report of 32 cases. Turin, 2012.

Nehls V, Herrmann R.
The configuration of fibrin clots determines capillary morphogenesis and endothelial cell migration. *Microvas. Res.* 1996 ; 51: 347–364.

Nehls V, Herrmann R.
The configuration of fibrin clots determines capillary morphogenesis and endothelial cell migration. *Microvas Res* 1996;51:347-64.

Nisand D, Hamdam A, Borghetti A, Renouard F, Sautier JM, Tenenbaum H.
Rapport de la commission scientifique de la SFPIO : PRF et implantologie. ID. 2008 , 27/28 : 1510-1514.

NOVARTIS Pharmaceuticals (laboratoires).
Appendix 11: Expert panel recommendation for the prevention, diagnosis and treatment of ostéonécrose of the jaw: Zometa (zoledronic acid) injection and Aredia (pamidronate disodium) injection. Submitted as an appendix at the FDA Oncologic Drugs Advisory Committed Meeting, March, 2004.
http://www.fda.gov/ohrms/dockets/ac/05/briefing2005_4095B2_02_12-Novartis-Zometa_App611.html.

O'Connel, Sean M.
Safety issues associated with Platelet-Rich Fibrin Method. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007mai ; 103(5):587.

Oprea WE, Karp JM, Hosseini MM, Davies JE.
Effect of platelet releasate on bone cell migration and recruitment in vitro. *J Craniofac Surg* 2003; 14: 292-300.

Panel d'Experts.
Recommandations d'experts pour la prévention, le diagnostic et le traitement de l'ostéonécrose de la mâchoire. Novartis, 2004.

Payen JF.
Bases physiopathologiques et évaluation de la douleur. 2002.

Pradeep AR, Rao NS, Agarwal E, Bajaj P.
Comparative Evaluation of Autologous Platelet-Rich Fibrin and Platelet-Rich Plasma in the Treatment of Three-Wall Intra-bony Defects in Chronic Periodontitis: A Randomized Controlled Clinical Trial. *Journal of Periodontology.* 2012, 21.

Queiroz T.P, Hochuli-Vieira E, Gabrielli M.A., Cancian D.C.
Use of bovine bone graft and bone membrane in defects surgically created in the cranial vault of rabbits. Histologic comparative analysis. *Int. j. oral maxillofac. implants*, 2006, 21, p.29-35.

Ramousse R, Le Berre M, Le Guelte L.
Introduction aux statistiques. 1996.

Rasmusson L, Sennerby L, Lundgren D, Nyman S.
Morphological and dimensional changes after barrier removal in bone formed beyond

the skeletal borders at titanium implants. A kinetic study in the rabbit tibia. Clin. oral implants res., 1997, 8, p.103-116.

Richard A, Clark F, Kaustabh Ghosh, Marcia G Tonnesen.

Tissue Engineering for Cutaneous Wounds. Journal of Investigative Dermatology 2007 127 : 1018–1029.

1. Richter M.

Bisphosphonates et ostéonécrose maxilla-mandibulaire: une bombe à retardement.

Rev. Stomatol. Chir. Maxillofac., 2005, 106 : 265-266.

Robert E, Marx RE.

Platelet-Rich Plasma: Evidence to Support its use. J Oral Maxillofac Surg. 2004 , 62 : 489-496.

Rosenberg E. Utilisation des facteurs de croissance pour la régénération osseuse. J. Parodontol.

Implantol. Orale, 1999, 3, 301-311.

Sammartino G, Dohan Ehrenfest DM, Carile F, Tia M, Bucci P.

Prevention of hemorrhagic complications after dental extractions into open heart surgery patients under anticoagulant therapy: the use of leukocyte- and platelet-rich fibrin.

J Oral Implantol. 2011 . 37(6):681-90.

Samson J.

Le chirurgien-dentiste face au cancer Cahier de l'ADF 2008

Position de la SFPIO sur l'usage du PRF en odonto-stomatologie 2011.

Samson J, Mauprivez C, Alantar A, Perrin D, Tazi M.

Prise en charge des patients sous agents antiplaquettaires en odontostomatologie Recommandations

Société Francophone de Médecine Buccale et de Chirurgie Buccale.

Médecine buccale chirurgie buccale 2005 (2).

2. Sean M, O'Connell.

Safety Issues Associated With Platelet-Rich Fibrin Method. Letters to the editor. Cascade Medical Enterprises.

Simonpieri A, Choukroun J, Del Corso M, Sammartino G, Dohan Ehrenfest DM.

Simultaneous Sinus-Lift and Implantation Using Microthreaded Implants and Leukocyte and Platelet-Rich Fibrin as Sole Grafting Material: A Six-Year Experience. Implant Dentistry. 2011, 20 (1) : 2-12.

Seigneurin D.

Le tissu osseux, 2010.

http://umvf.biomedicale.univparis5.fr/wiki/docvideos/Grenoble_1011/seigneurin_daniel/seigneurin_daniel_p04/seigneurin_daniel_p04.pdf

Sharma A, Pradeep AR.

Autologous platelet-rich fibrin in the treatment of mandibular degree II furcation defects: a randomized clinical trial. J Periodontol. 2011 ;82(10):1396-403.

Shi-Jiang Z, Byung-Ho C, Jae-Hyung J, Seoung-Ho L, Jin-Young H, Tae-Min Y, Hyun-Jung L,

Jingxu L. A comparative histologic analysis of tissue-engineered bone using platelet-rich plasma and platelet-enriched fibrin glue.

Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endotology. 2006, 102(2) : 175-179.

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 to Ridge Preservation Procedures Employing Demineralized Freeze Dried Bone Allograft Material and Membrane. *The Open Dentistry Journal*. 2009 , 3 : 92-99.

Simonpieri A, Choukroun J, Girard M.O.
Implantation immédiate post-extractionnelle (IIPE) : l'intérêt du PRF®
Doi : 10.1016/j.implan.2004 (13) : 177-189.

Souiedan A, Hamel L.
Peut-on contrôler la résorption osseuse? En avons nous les moyens ?
Les cahiers de l'ADF. 2000 , 8 : 10-17.

Su Cy, Kuo YP, Tseng YH.
In vitro release of growth factors from platelet-rich fibrin (PRF) : a proposal to optimize the clinical application of PRF. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2009 , 108 : 56-61.

Sul SH, Choi BH, Li J, Jeong SM, Xuan F. Histologic changes in the maxillary sinus membrane after sinus membrane elevation and the simultaneous insertion of dental implants without the use of grafting materials. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2008;105.

Tarnow D. P, Wallace S. S, Froum S.J, Roher M.D, Cho S.C.
Histologic and clinical comparison of bilateral sinus floor elevations with and without barrier membrane placement in 12 patients: Part 3 of an ongoing prospective study.
Int J Periodontics Restorat Dent 2000 ; 20(2):117-125.

Tayapongsak P, O'Brien DA, Monteiro CB, Arceo-Diaz LY.
Autologous fibrin adhesive in mandibular reconstruction with particulate cancellous bone and marrow.
J Oral Maxillofac Surg. 1994 , 52 : 161-166.

Thorat M, Pradeep AR, Pallavi B.
Clinical effect of autologous platelet-rich fibrin in the treatment of intra-bony defects: a controlled clinical trial. *J Clin Periodontol*. 2011;38(10) : 925-32.

Thorn JJ, Sorensen H, Weis-Fogh U.
Autologous fibrin glue with growth factors in reconstructive maxillofacial surgery.
Int J Oral Maxillofac Surg. 2004 , 33 : 95-100.

Tsai CH, Shen SY, Zhao JH.
Platelet-rich fibrin modulates cell proliferation of human periodontally related cells in vitro.
J Dent Sci. 2009 , 4 : 130-135.

Umasudhakar, Anilkumar, Geetha. Platelet-rich-fibrin: A novel root coverage approach. *J Indian Soc Periodontol*. 2009 Jan-Apr; 13(1): 50-54.

Valentini P, Abensur D, Densari D, Graziani J.N, Hammerle C.
Histological evaluation of Bio-Oss in a 2-stage sinus floor elevation and implantation procedure. A human case report. *Clin Oral Implants Res* 1998;9(1):59-64.

Van Hinsbergh VW, Collen A, Koolwijk P.
Role of fibrin matrix in angiogenesis. *Ann N Y Acad Sci* 2001;936:426-37.

Vescovi P, Merigo E, Meleti M, Manfredi M.
Bisphosphonate-associated ostéonécroses (BON) of the jaws: a possible treatment?
J Oral Maxillofac Surg, 2006; 64(9) : 1460-1462.

- Volker L, Gabling W, Yahya A.
Platelet-rich Plasma and Platelet-rich fibrin in human cell culture.
Oral and maxillo facial implants. 2009 , 108(1) : 48-55.
- Wahl MJ. Dental surgery and anticoagulated patients. Arch Intern Med 1998 ; 158 : 1610-6.
- Wallace S. S, Froum S. J, Cho S.C, Elian N.,Monteiro D., Kim B.S.
Sinus augmentation utilizing anorganic bovine bone (Bio-Oss) with absorbable and nonabsorbable membranes placed over the lateral window: histomorphometric and clinical analyses.
Int J Periodont Restorat Dent 2005;25(6):551-559.
- Wennstrom. Periodontal conditions of adult regular dental care attendants. A 12-year longitudinal study. J Clin Periodontol. 1998;20(10):714-22.
- Whitman DH, Berry RL, Green DM.
Platelet gel : an autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery. J Oral Maxillofac Surg. 1997 , 55 : 1294-1299.
- Wutzl A, Einsenmeger G, Hoffman M, Czerny C.
Osteonecrosis of the jaws and bisphosphonates treatment in cancer patients.
Wien Klin Wochenschr, 2006, 118(15-16) : 473-478.
- Yang D, Chen J, Jing Z, Jin D.
Platelet-derived growth factor (PDGF)-AA : a self-imposed cytokine in the proliferation of human fetal osteoblasts. Cytokine, 2000,12,8, 1271-1274.
- Yang KC, Wang CH, Chang HH, Chan WP, Chi CH, Kuo TF.
Fibrin glue mixed with platelet-rich fibrin as a scaffold seeded with dental bud cells for tooth regeneration. J Tissue Eng Regen Med. 2011 . 28.
- Younai S, Venters G, Vu S.
Role of growth factors in scar contraction: an *in vitro* analysis. Ann. Plast. Surg., 1996, 36, 5, 485-501.
- Younis L, Taher A, Abu-Hassan MI, Tin O.
Evaluation of bone healing following immediate and delayed dental implant placement. J Contemp Dent Pract. 2009 , 10 : 35-42.
- Yu-Chao C, Kuo-Chin W, Jiing-Huei Z.
Clinical application of platelet-rich fibrin as the sole grafting material in periodontal intrabony defects. Journal of Dental Sciences. 2011 , 6 : 181-188.
- Zervas K, Verrou E, Teleouidis Z, Vahtsevanos K, Banti A.
Incidence, risk factors and management of osteonecrosis of the jaw with multiple myeloma: a single centre experience in 303 patients. British J of Haematology, 2006, 10 : 1365-2141.
- Zhang Y, Tangl S, Huber CD, Lin Y, Qiu L, Rausch-Fan X.
Effects of Choukroun's platelet-rich fibrin on bone regeneration in combination with deproteinized bovine bone mineral in maxillary sinus augmentation: A histological and histomorphometric study. J Craniomaxillofac Surg. 2011.

<p>NICOLET Clotilde</p> <p>TITRE : « Intérêt du PRF dans la qualité de la cicatrisation : état actuel des connaissances et controverses »</p>	
<p><u>RESUME :</u></p> <p>La recherche de nouveaux adjuvants cicatriciels est un objectif pour les praticiens. Leur usage nécessite de répondre à un cahier des charges précis : réduire et optimiser les temps de cicatrisation font partie de cette charte.</p> <p>La non autorisation de l'utilisation de produits dérivés sanguins en France a permis la création du PRF qui est l'adaptation à la loi française du PRP utilisé aux Etats-Unis. L'essor de ces concentrés plaquettaires a suscité un engouement important des praticiens, qui y voient des résultats prometteurs, un usage simple, et un faible coût pour les patients.</p> <p>Le PRF doit son action à sa polymérisation lente qui permettrait de capter les facteurs de croissance au sein des mailles de fibrine. Ces facteurs grâce à un relargage lent permettraient une stimulation locale de la cicatrisation, et ainsi réduire les délais cicatriciels.</p> <p>Cependant le dosage de ces facteurs au sein des mailles de fibrine n'a pas encore été effectué, car la viscosité du PRF empêche la réalisation de ces tests. Les scientifiques déduisent que si les facteurs ne sont ni dans l'exsudat ni dans le PPP, ils sont forcément stockés dans le coagulum. Les applications cliniques sont donc en avance sur les preuves scientifiques.</p> <p>Tant que ces preuves demeurent incertaines, il est difficile d'établir des recommandations sur l'usage du PRF.</p>	
<p><u>RUBRIQUE DE CLASSEMENT :</u></p> <p>Chirurgie Orale</p>	
<p><u>MOTS-CLÉS :</u></p> <p>Concentrés plaquettaires autologues, fibrine, cicatrisation, PRF.</p>	
<p><u>JURY :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Président : M. le Professeur Jacques Olivier PERS • Assesseurs : M. le Docteur Jérémie Santucci Mme le Docteur Sylvie Boisramé-Gastrin Mme le Docteur Valérie Nagot 	
<p><u>ADRESSE DE L'AUTEUR :</u></p> <p>NICOLET Clotilde 8 rue du goulet 29480 LE RELECQ KERHUON</p>	

