



HAL
open science

Les cellules souches du tissu adipeux : état de l'art et perspectives en odonto-stomatologie

Nathan Touret

► **To cite this version:**

Nathan Touret. Les cellules souches du tissu adipeux : état de l'art et perspectives en odonto-stomatologie. Médecine humaine et pathologie. 2015. dumas-01467126

HAL Id: dumas-01467126

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01467126>

Submitted on 21 Feb 2017

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.

UNIVERSITÉ NICE – SOPHIA-ANTIPOLIS
FACULTÉ DE CHIRURGIE DENTAIRE

24 Avenue des Diables Bleus,
06357 Nice Cedex 04

**LES CELLULES SOUCHES DU TISSU ADIPEUX
ETAT DE L'ART ET PERSPECTIVES
EN ODONTO-STOMATOLOGIE**

Année 2015

Thèse n° 42.57.15.14

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement devant
La Faculté de Chirurgie-Dentaire de Nice

Le mardi 9 juin 2015

Par

Monsieur Nathan TOURET

Né le 21 août 1989 à Nice

Pour obtenir le grade de :

DOCTEUR EN CHIRURGIE DENTAIRE

(Diplôme d'État)

EXAMINATEURS :

Monsieur le Professeur
Monsieur le Docteur
Madame le Docteur
Monsieur le Docteur
Monsieur le Docteur

Patrick MAHLER
Yves CHARBIT
Christine VOHA
Yordan BENHAMOU
Alex ASSOULINE

Président du jury
Assesseur
Assesseur
Directeur de thèse
Membre invité

CORPS ENSEIGNANT

56^{ème} section : DEVELOPPEMENT, CROISSANCE ET PREVENTION

Sous-section 01 : ODONTOLOGIE PEDIATRIQUE

Professeur des Universités : Mme MULLER-BOLLA Michèle
Maître de Conférences des Universités : Mme JOSEPH Clara
Assistant Hospitalier Universitaire : Mme CALLEJAS Gabrièle

Sous-section 02 : ORTHOPEDIE DENTO-FACIALE

Professeur des Universités : Mme MANIERE-EZVAN Armelle
Maître de Conférences des Universités : M. FAVOT Pierre
Assistant Hospitalier Universitaire : Mme TABET Caroline
Assistant Hospitalier Universitaire : Mme AUBRON Ngoc-Mai

Sous-section 03 : PREVENTION, EPIDEMIOLOGIE, ECONOMIE DE LA SANTE, ODONTOLOGIE LEGALE

Professeur des Universités : Mme LUPI-PEGURIER Laurence
Assistant Hospitalier Universitaire : Mme CUCCHI Céline

57^{ème} section : SCIENCES BIOLOGIQUES, MEDECINE ET CHIRURGIE BUCCALE

Sous-section 01 : PARODONTOLOGIE

Maître de Conférences des Universités : M. CHARBIT Yves
Maître de Conférences des Universités : Mme VINCENT-BUGNAS Séverine
Assistant Hospitalier Universitaire : M. SURMENIAN Jérôme
Assistant Hospitalier Universitaire : Mme LAMURE Julie

Sous-section 02 : CHIRURGIE BUCCALE, PATHOLOGIE ET THERAPEUTIQUE, ANESTHESIE ET REANIMATION

Maître de Conférences des Universités : M. COCHAIS Patrice
Maître de Conférences des Universités : M. HARNET Jean-Claude
Assistant Hospitalier Universitaire : M. BENHAMOU Yordan
Assistant Hospitalier Universitaire : M. SAVOLDELLI Charles

Sous-section 03 : SCIENCES BIOLOGIQUES

Professeur des Universités : Mme PRECHEUR Isabelle
Maître de Conférences des Universités : Mme RAYBAUD Hélène
Maître de Conférences des Universités : Mme VOHA Christine

58^{ème} section : SCIENCES PHYSIQUES ET PHYSIOLOGIQUES ENDODONTIQUES ET PROTHETIQUES

Sous-section 01 : ODONTOLOGIE CONSERVATRICE, ENDODONTIE

Professeur des Universités : Mme BERTRAND Marie-France
Professeur des Universités : M. ROCCA Jean-Paul
Professeur des Universités : M. MEDIONI Etienne
Maître de Conférences des Universités : Mme BRULAT-BOUCHARD Nathalie
Assistant Hospitalier Universitaire : Mme DESCHODT-TOQUE Delphine
Assistant Hospitalier Universitaire : M. SIONNEAU Rémi
Assistant Hospitalier Universitaire : M. CEINOS Romain

Sous-section 02 : PROTHESES

Professeur des Universités : Mme LASSAUZAY Claire
Maître de Conférences des Universités : M. ALLARD Yves
Maître de Conférences des Universités : Mme POUYSSEGUR-ROUGIER Valérie
Maître de Conférences des Universités : M. LAPLANCHE Olivier
Assistant Hospitalier Universitaire : Mme CERETTI Léonor
Assistant Hospitalier Universitaire : Mme LONGIN Laurence
Assistant Hospitalier Universitaire : M. OUDIN Antoine
Assistant Hospitalier Universitaire : M. SABOT Jean-Guy

Sous-section 03 : SCIENCES ANATOMIQUES ET PHYSIOLOGIQUES

Professeur des Universités : M. BOLLA Marc
Professeur des Universités : M. MAHLER Patrick
Maître de Conférences des Universités : M. LEFORESTIER Eric
Maître de Conférences des Universités : Mme EHRMANN Elodie
Assistant Hospitalier Universitaire : Mme CANCEL Bénédicte

REMERCIEMENTS

Au Président du Jury,

Monsieur le Professeur Patrick MAHLER,

Docteur en Chirurgie Dentaire,
Professeur des Universités – Praticien Hospitalier,
Sous-section des Sciences Anatomiques et Physiologiques,
Ancien Chef du Pôle d’Odontologie du C.H.U. de Nice

Vous m’avez fait l’immense honneur de présider ce jury de thèse. Sans vous, ce travail n’aurait pas été celui qu’il est aujourd’hui, et je vous remercie de la confiance que vous m’avez d’emblée accordée.

J’admire votre prodigieuse expérience, votre approche humaine et l’exercice de vos talents de professeur. Vous avez su donner à ce service toutes ses lettres de noblesse durant votre fonction de chef de Pôle, et encore à présent. Votre implication force l’admiration.

Je ne vous remercierai jamais assez pour tout ce que vous m’avez enseigné et appris au cours de cette dernière année passée à vos côtés.

Veillez trouver ici le témoignage de ma grande admiration, de mon immense reconnaissance et de ma profonde affection.

À mon Directeur de Thèse,

Monsieur le Docteur Yordan BENHAMOU,

Docteur en Chirurgie Dentaire,
Assistant Hospitalier Universitaire – Praticien Hospitalier,
Sous-section de Chirurgie Buccale, Pathologie et Thérapeutique, Anesthésie et Réanimation.

Je suis très sensible à l'honneur que vous m'avez fait en acceptant de diriger ce travail. L'excellence que vous recherchez constamment dans votre pratique quotidienne fait de vous un exemple à suivre. Tout au long de mon cursus, j'ai pu apprécier votre pédagogie et votre rigueur intellectuelle.

La confiance que vous m'avez accordée pour traiter ce sujet me touche et m'honore.

Merci pour votre regard à la fois critique et bienveillant qui m'a permis, je l'espère, de fournir un travail de qualité.

Soyez assuré de ma sincère considération et de mon profond respect.

Aux membres du jury,

À Monsieur le Docteur Yves CHARBIT,

Docteur en Chirurgie Dentaire,
Maître de Conférence des Universités – Praticien Hospitalier,
Responsable de la sous-section de Parodontologie

Je vous suis extrêmement reconnaissant d'avoir accepté si spontanément de juger ce travail.

Votre présence en ce jour si symbolique me tenait à cœur, d'abord parce que j'admire sincèrement l'enseignant passionné que vous êtes, ensuite parce que votre autorité et votre expérience reconnues forcent toute ma considération, enfin parce que votre humour et votre chaleur sont chers à la dimension conviviale que je souhaitais donner à la présentation de ce travail.

Veillez croire en ma profonde reconnaissance et y trouver le témoignage de toute mon estime.

À Madame le Docteur Christine VOHA,

Docteur en Chirurgie Dentaire,
Maître de Conférence des Universités – Praticien Hospitalier
Sous-section des Sciences Biologiques

Je suis très honoré que vous ayez accepté de siéger dans mon jury de thèse.

J'ai eu le privilège d'apprécier vos compétences, votre disponibilité et votre gentillesse au cours de ma formation. Vous m'avez fait part de votre savoir et de votre expérience dans la réhabilitation de la cavité orale, l'accompagnement et le suivi des patients ayant subi une chirurgie carcinologique cervico-faciale.

Soyez assurée de ma gratitude et de mon profond respect.

À Monsieur le Docteur Alex ASSOULINE,

*Ancien interne des Hôpitaux de Nice
Spécialiste en Chirurgie Plastique Reconstructrice et Esthétique
Centre de Chirurgie esthétique certifié « la Villa BLANCHE » - Nice*

C'est avec spontanéité et beaucoup d'intérêt que vous avez accepté de prendre part à ce travail. C'est pour moi un grand honneur de vous compter dans mon Jury de Thèse.

Vous êtes à la genèse de ce projet, le tissu adipeux est votre domaine de prédilection et ses applications sont infinies, ce travail puisse-t-il être à la hauteur de vos espérances.

Merci pour votre chaleureux accueil au sein de votre clinique, pour votre enseignement et pour le temps que vous nous avez consacré.

Je tiens à vous exprimer mes remerciements et ma grande considération.

À Mady,
Raide dingue.

À mes Parents, à mes Frères,
ma tétralogie du Bonheur, ce jour est le vôtre.

À mes Grand-parents, Alex et Lucette,
Papy Alex^{za''l} nous manque,
Vous êtes les piliers de ma vie, à jamais dans mon cœur.

À mes Grands-parents, Edmond et Marie,
avec toute ma tendresse et mon admiration.

À mes beaux-parents, à mes belles-sœurs,
qui d'emblée m'ont accueilli comme un fils et un frère.

À ma famille,
Avec tout mon amour.

À la Faculté, à mes maîtres,

Un grand merci pour vos compétences et la richesse de vos enseignements.

À ma promotion,

Merci pour tous ces moments.

À mes amis,
À tous ceux qui me sont chers.

LES CELLULES SOUCHES DU TISSU ADIPEUX

ÉTAT DE L'ART ET PERSPECTIVES EN ODONTO-STOMATOLOGIE

SOMMAIRE

REMERCIEMENTS	III
SOMMAIRE.....	15
AVANT-PROPOS	4
INTRODUCTION.....	5
I. PROBLEMATIQUE CLINIQUE	7
A. SPÉCIFICITÉS DU MASSIF CRANIO FACIAL.....	8
B. DE LA CICATRISATION À LA REGENERATION.....	9
C. CAHIER DES CHARGES D'UNE REGENERATION « AD INTEGRUM ».....	10
D. METHODOLOGIE	11
II. L'INGENIERIE TISSULAIRE.....	12
A. DEFINITIONS ET PRINCIPES	13
B. STRATÉGIES DE L'INGENIERIE TISSULAIRE.....	14
C. LES ACTEURS DE L'INGENIERIE TISSULAIRE.....	15
III. LE TISSU ADIPEUX, UNE SOURCE DE CELLULES SOUCHES	21
A. LES DIFFÉRENTS TYPES DE TISSUS ADIPEUX ET LEURS FONCTIONS.....	22
B. ORIGINE, DÉVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE DU TISSU ADIPEUX.....	24
C. POPULATIONS CELLULAIRES DU TISSU ADIPEUX	25
D. SITES DE PRELEVEMENT.....	25
E. TECHNIQUES DE PRELEVEMENTS ACTUELLES.....	26
F. LA BOULE DE BICHAT, UNE SOLUTION DE CHOIX EN ODONTOSTOMATOLOGIE :.....	29
IV. LES CELLULES SOUCHES DU TISSU ADIPEUX.....	31
A. PRESENTATION	32
B. LES DIFFERENTES FRACTIONS CELLULAIRES DU TISSU ADIPEUX.....	33
C. LA FRACTION DE STROMA-VACULAIRE (FSV)	33
D. CARACTERISATION DES CSTA	35
E. PROTOCOLES D'ISOLEMENT DES CSTA.....	36
F. COMPARAISON AVEC LES CELLULES SOUCHES DE LA MOELLE OSSEUSE.....	40
G. IMMUNOPHENOTYPAGE DES CSTA	41
H. LOCALISATION DES CSTA.....	42
I. LES CSTA SECRETENT DES FACTEURS DE CROISSANCE.....	43
J. POTENTIEL IMMUNOSUPPRESSEUR	44

V. ETUDE DE LA DIFFERENCIATION DES CSTA IN-VITRO	45
A. PRESENTATION	46
B. PLASTICITE DES CSTA : POTENTIEL DE DIFFERENCIATION	47
VI. ETUDE DE LA DIFFERENCIATION DES CSTA IN-VIVO.....	48
A. ETUDE DE LA REGENERATION OSSEUSE.....	50
B. ETUDE DE LA REGENERATION D'UN DEFAUT PARODONTAL.....	57
C. ETUDE DE LA REGENERATION D'UN DEFAUT GINGIVAL.....	61
D. ETUDE DE LA REGENERATION PULPAIRE	63
E. ETUDE DE LA REGENERATION DENTAIRE	65
F. ETUDE DE LA REGENERATION DES GLANDES SALIVAIRES.....	67
G. ETUDE DE LA REGENERATION ORALE POST-ULCERATION	69
H. ETUDE DE LA REGENERATION CHONDRALE	71
I. UTILISATION ACTUELLE DES CSTA EN MEDECINE REGENERATIVE	72
VII. PERSPECTIVES ET LIMITES EN ODONTOSTOMATOLOGIE.....	73
A. LES CSTA, UNE SOLUTION DE CHOIX EN DENTISTERIE REGENERATRICE.....	73
B. CREER UN PROTOCOLE CLINIQUE ADAPTE A CHAQUE SITUATION.....	74
C. ANALYSE DES EFFETS INDESIRABLES POTENTIELS	75
D. LEGISLATION ET CELLULES SOUCHES	75
E. ACCEPTATION DES PROTOCOLES	75
CONCLUSION.....	76
BIBLIOGRAPHIE	78
SERMENT D'HIPPOCRATE	89
APPROBATION.....	90

« Theory is when we know everything but nothing works.

Praxis is when everything works but we do not know why.

We always end up by combining theory with praxis : nothing works and we do not know why. »

Albert EINSTEIN

INTRODUCTION

Un alligator peut renouveler ses dents jusqu'à cinquante fois^{1,2}. Et mieux que la queue du lézard, la salamandre a la capacité de régénérer intégralement un membre amputé ou un organe partiellement détruit³ !

L'Homme, quant à lui, baigne dans la science fiction depuis bien longtemps en s'implantant des corps étrangers, qu'il qualifie de « biocompatibles », comme moyen de remplacement de ses organes défectueux. Nous devenons des créatures cyborg et les enfants de demain récolteront des coquillages ou des implants dentaires sur nos plages.

Cependant la régénération de l'organe perdu a toujours exercé une profonde fascination au point d'inspirer de nombreux mythes, parfois très anciens, tels que le foie de Prométhée (le prévoyant) qui repoussait chaque matin, puisque l'aigle du Caucase le lui dévorait toutes les nuits⁴. Derrière ce désir de régénération pourrait bien se dissimuler un espoir d'immortalité.

Avant d'atteindre l'immortalité, notre ambition, plus modeste, serait de proposer à M. Dupont, la régénération de ses défauts osseux, parodontaux et pulpaire par l'utilisation de matériaux tamponnés du label 100% M. Dupont !

Une telle approche est à la base de cette nouvelle perspective nommée médecine régénératrice ou ingénierie tissulaire.

La médecine régénératrice repose sur l'utilisation de cellules souches⁵. Ce sont des cellules capables de donner naissance à différents types de cellules spécialisées, qui pourront réparer des tissus endommagés ou malades, par un procédé que l'on appelle la différenciation.

Chez l'homme, les cellules souches mésenchymateuses les plus étudiées sont les cellules stromales de la moelle osseuse⁶. Leur utilisation est cependant contrariée par les difficultés de prélèvement et leur nombre qui diminue rapidement avec l'âge.

Il existe néanmoins des sites extra-squelettiques comme la peau, la pulpe dentaire, le ligament parodontal ou le tissu adipeux où l'on retrouve des cellules multipotentes⁷.

Longtemps considéré comme un tissu déplaisant et écarté de la recherche, le tissu adipeux est en phase de devenir l'étoile montante de la médecine régénératrice en raison de l'abondance de la source de tissu et de sa facilité de prélèvement. Les cellules souches mésenchymateuses du tissu adipeux (CSTA) qui résident dans son stroma ont une grande plasticité et leur nombre est important et constant durant la vie.

L'objectif de notre étude sera d'analyser l'apport des CSTA dans l'ingénierie tissulaire, et plus particulièrement dans la régénération de toutes les structures de la sphère orale⁸ : osseuse, parodontale, pulpaire, dentaire, gingivale, acineuse, chondrale ou encore post-tumorale afin d'établir un protocole clinique simple, performant et peu coûteux adapté l'odontostomatologie.

Ce qui paraissait fantaisiste et inimaginable aux yeux de certains, s'avère aujourd'hui tout à fait atteignable et pourrait révolutionner notre profession !

I. PROBLEMATIQUE CLINIQUE

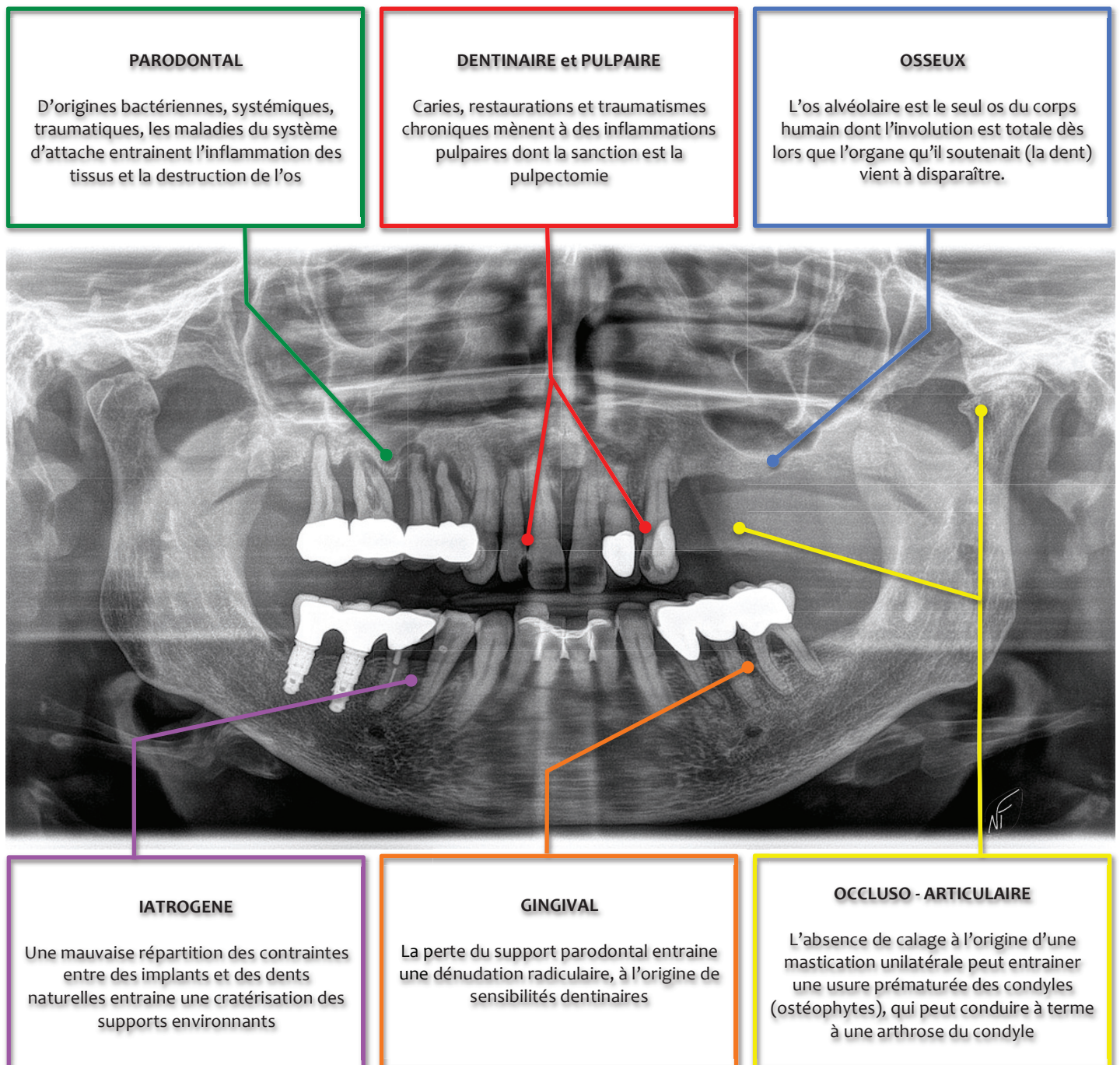
A. SPÉCIFICITÉS DU MASSIF CRANIO FACIAL

Dans la sphère orofaciale, de nombreux traumatismes, pathologies ou infections conduisent à des pertes de substance osseuses, dentaires dont la guérison n'est pas spontanée.

Le massif facial dispose d'une architecture très complexe, lui permettant à la fois d'assurer la vie sociale⁹ du patient à travers la phonation, l'esthétique du sourire et les expressions du visage ; la protection d'organes nobles comme le cerveau ou les yeux et des fonctions vitales comme la respiration, la mastication ou encore la déglutition.

Toute perte de substance intéressant ces espaces aura donc un retentissement important sur la vie du patient et nécessitera une thérapeutique adaptée.

FIG 1 : PRESENTATION DES DEFIS DE LA CAVITE ORALE



★ avez-vous trouvé l'apex résiduel ?

B. DE LA CICATRISATION À LA REGENERATION

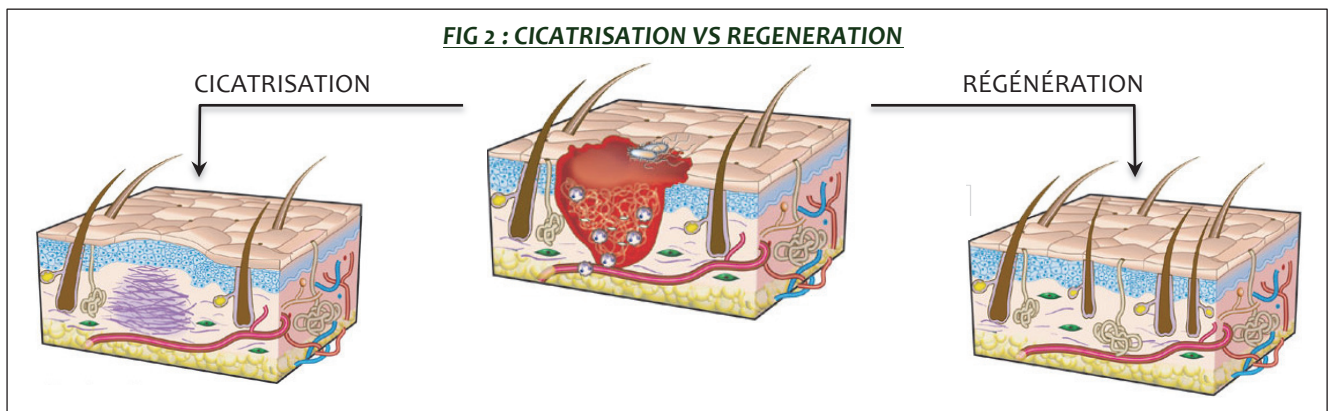
EVOLUTION DES CONCEPTS

Au fil des années, pour remédier aux pertes de substances, la dentisterie s'est basée sur les connaissances scientifiques dans les domaines de la biologie et des biomatériaux.

Les traitements dentaires se sont tout d'abord basés sur les principes de la **cicatrisation**¹⁰, c'est à dire restaurer la fonction des organes sans se soucier de l'architecture initiale du tissu. La cicatrisation est l'étape qui clôtur la réaction inflammatoire et correspond à une réparation des tissus endommagés. Cependant, elle est souvent incomplète et peut laisser une cicatrice.

Avec l'évolution des biomatériaux, **MURRAY ET AL.**¹¹ en 1957, ont pour la première fois mis en évidence le principe de régénération tissulaire guidée, par la mise en place d'une barrière contre l'invasion cellulaire, empêchant ainsi la compétition cellulaire et permettant la « reformation » du tissu.

On parlera donc de **régénération**, lorsque l'architecture normale et fonctionnelle des tissus sera rétablie **ad integrum**¹². Il s'agit d'un processus beaucoup plus complexe et difficile à obtenir en thérapeutique¹³. Certains auteurs estiment même que la régénération complète des lésions dans les tissus post-nataux est impossible sans cicatrice¹⁴.



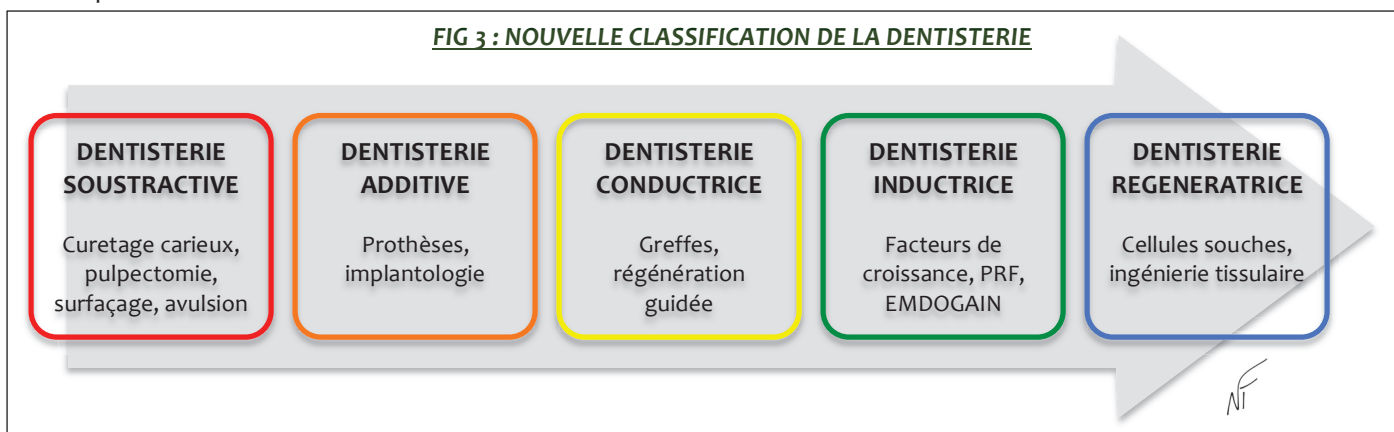
ETAT DES CONNAISSANCES ET CLASSIFICATION DE LA DENTISTERIE

La maladie carieuse ou les parodontopathies sont autant de processus pathologiques parfaitement connus dans notre profession mais que nous sommes encore **incapables de régénérer**. Malgré les avancées technologiques de la dentisterie et des biomatériaux, nos traitements consistent principalement à **stabiliser** les pertes de substances, ou bien par fatalité à dépulper, extraire, combler, implanter.

À ce jour, ces solutions ne donnent pas entière satisfaction, ni aux patients, ni aux praticiens.

Ainsi, nous pouvons classer la dentisterie moderne en 4 catégories : **soustractive, additive, conductrice** et **inductrice**. Le nombre de recherches en ingénierie tissulaire augmente de manière exponentielle et une **nouvelle dentisterie dite « régénératrice »**¹⁵ pourrait faire surface. Ces études se focalisent en particulier sur les cellules emblématiques de l'éternelle jeunesse à savoir les **cellules souches mésenchymateuses**¹⁶. Il s'agirait donc de réussir à allier leurs capacités à celles des biomatériaux, dans l'objectif de régénérer les tissus.

Nous pouvons résumer la dentisterie moderne et de demain selon une classification inédite :



C. CAHIER DES CHARGES D'UNE REGENERATION « AD INTEGRUM »

La médecine régénératrice a pour objectif de régénérer une lésion ou un organe malade voire absent grâce à l'utilisation de cellules souches. Pour ce faire, les greffons utilisés devront répondre à des critères bien spécifiques :

IMPERATIFS BIOLOGIQUES :

Il est capital de proposer au patient une thérapeutique présentant une **biocompatibilité optimale** en termes de toxicité et d'immunogénicité. Seul un **transplant autologue** définit cet idéal.

Le greffon implanté doit également être bioactif, autrement dit, il doit être l'acteur de la néoformation des tissus. Il doit donc se différencier des biomatériaux, qui par définition sont des « matériaux non vivants utilisés dans un dispositif médical destiné à interagir avec les systèmes biologiques » (Conférence Européenne de Consensus de Chester 1986)¹⁷. Cette néoformation doit obéir à la triade représentée par :

- **LA GENESE** : apport de **cellules vivantes** capables de régénérer le tissu cible,
- **L'INDUCTION** : le greffon doit être capable de produire et de recruter des **facteurs de croissance** et de différenciation afin d'orchestrer la régénération,
- **LA CONDUCTION** : il doit pouvoir agir comme un « **échafaudage** » pour guider la formation tissulaire, tout en permettant la colonisation du greffon par les vaisseaux et les cellules du lit receveur.

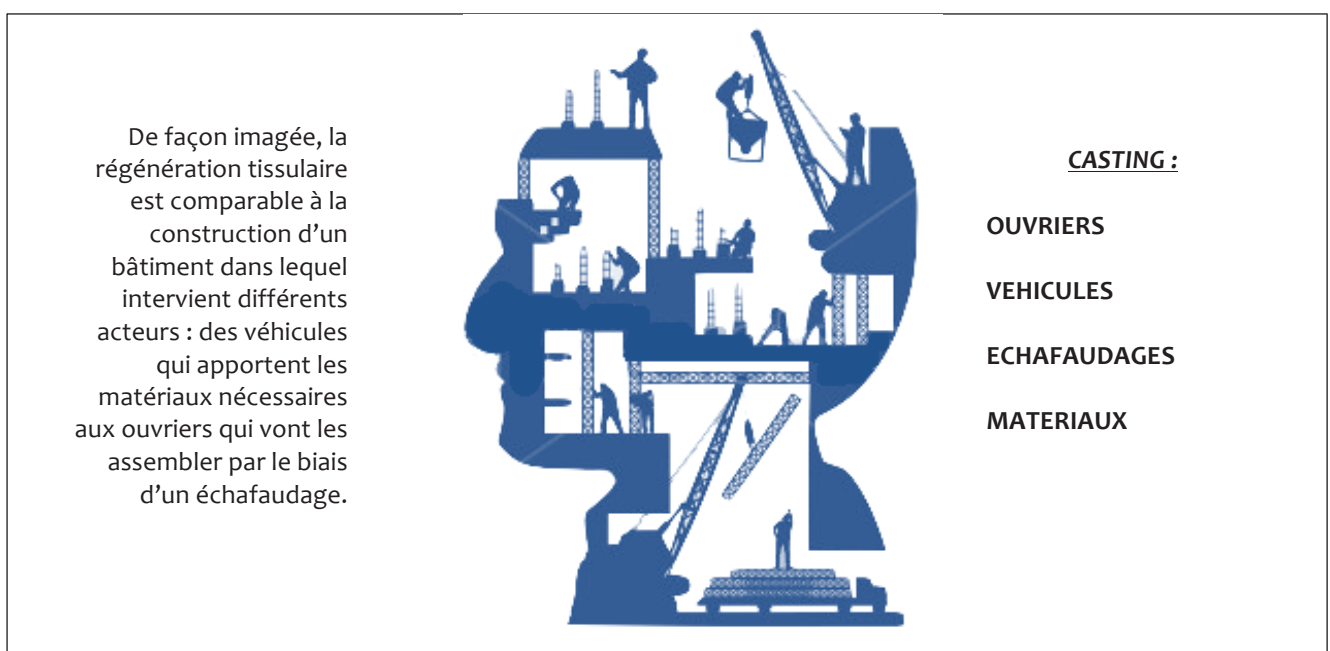
IMPERATIFS CLINIQUES :

- La mise en place du greffon devra être **aisée, reproductible et adaptée** à toutes les situations cliniques
- Le greffon doit être disponible en **quantité**, et **facilement accessible**,
- La thérapeutique devra **générer un minimum de douleur** (suites opératoires minimales),
- Son prélèvement, sa manipulation et sa réimplantation devront **respecter des temps opératoires** adaptés à notre exercice,
- Le **matériel** requis devra être **minimal** et facilement accessible par les praticiens,
- La thérapeutique devra être **peu onéreuse** pour le patient et le praticien.

IMPERATIFS BIOMECANIQUES :

La perte de substance se traduit par une déficience mécanique au niveau squelettique. La greffe (ou son substitut) devra offrir après maturation une **résistance mécanique adaptée au site et à la taille du défaut à réparer**. D'autre part, le greffon devra constituer une **barrière physique** contre le développement (par compétition cellulaire à l'intérieur du défaut) de tissus voisins dont la vitesse de cicatrisation serait plus rapide que celle du tissu cible¹⁸.

FIG 4 : PRINCIPES DE LA REGENERATION TISSULAIRE



D. METHODOLOGIE

POURQUOI CETTE REVUE DE LITTÉRATURE ?

Dépasser le domaine purement reconstructif de l'odontologie restauratrice, endodontique, parodontale, implantaire pour évoluer vers un concept de régénération cliniquement réalisable.

OBJECTIFS

- comprendre les principes de l'ingénierie tissulaire,
- découvrir le potentiel de croissance et la plasticité des cellules souches du tissu adipeux,
- analyser les premières applications cliniques,
- dégager des perspectives d'applications accessibles en odontostomatologie.

METHODE DE TRAVAIL

Pour remplir ces objectifs, notamment pour pouvoir analyser le potentiel de différenciation de ces cellules souches, le travail de recherche s'est porté sur des essais cliniques randomisés. Dans ce type d'étude, les sujets sont choisis au hasard pour recevoir un certain traitement ou un placebo. On évite ainsi les biais liés à la sélection des patients (situation personnelle, historique médical...).

L'essai clinique randomisé possède le plus haut niveau de preuve scientifique (Evidence Based Dentistry), sur lequel se basent les institutions, notamment la Haute Autorité de Santé, pour publier des recommandations et ainsi encadrer la profession.

CRITERES D'EXCLUSION

Les articles portant sur la manipulation de cellules souches embryonnaires ou d'autres souches de cellules mésenchymateuses (moelle osseuse, ligament parodontal, pulpaire...)

- Les articles portant sur la performance des différents types d'échafaudages synthétiques à visée commerciale,
- Les articles portant sur la chirurgie esthétique, qui utilisent le tissu adipeux comme matériau de comblement (lifting, plastie mammaire, chirurgie reconstructrice),
- Les articles portant sur la différenciation adipogénique des cellules souches du tissu adipeux,
- Les articles portant sur l'utilisation des cellules souches hors de la sphère orale (ex : reconstructions de fissure anale, ostéo-arthrose de la hanche).

LE TEMPS DES RECHERCHES

Les recherches ont eu lieu sur 4 mois et ont été effectuées sur la base de données PubMed, dans un premier temps, sans restriction de langue ou de date de publication.

Dans un premier temps les MeSH Terms : « adipose-derived stem cell » ou « stromal vascular fraction » ont été utilisés. 14 essais cliniques randomisés sont ressortis, portant sur les lipogreffes, ostéoarthrose articulaire, cardiopathies ischémiques et les fistules anales ont été exclus.

Pour pouvoir répondre aux objectifs fixés, la recherche a été élargie aux **essais cliniques contrôlés**, aux **revues systématiques** de la littérature et à des **rapports de cas**. Dans l'essai clinique contrôlé, un groupe de sujets est constitué pour servir de groupe contrôle et ne pas recevoir le traitement. Même si le niveau de preuves scientifiques de l'essai clinique contrôlé est moindre que celui de l'essai clinique randomisé, il possède un niveau de preuve suffisant pour étayer une thèse.

MeSH Terms utilisés :

- | | | | | |
|-----------------------------------|-------------------------|---------------------------|-----------------------|----------------------|
| • « tissue engineering » | • « bone regeneration » | • « gingival » | • « odontology » | • « PRF », « PRP » |
| • « adipose-derived stem cells », | • « bone graft » | • « mucogingival » | • « teeth » | • « scaffold » |
| • « buccal fat pad » | • « sinus lift » | • « odontogenic » | • « salivary » | • « centrifugation » |
| • « stromal vascular fraction » | • « chondrogenic » | • « dental regeneration » | • « oral ulcer » | • « IntelliCell » |
| • « osteogenic » | • « temporomandibular » | • « dental pulp » | • « dental » | |
| | • « periodontal » | • « odontoblast » | • « implantology » | |
| | | | • « coleman technic » | |

CONCLUSION

Il n'existe pas encore suffisamment de preuves scientifiques pour recommander une approche thérapeutique de l'utilisation des cellules souches du tissu adipeux par rapport à un autre procédé de régénération tissulaire. Mais d'importantes pistes sont en cours d'approfondissement et le nombre d'essais cliniques contrôlés chez l'Homme croît de façon exponentielle.

II. L'INGENIERIE TISSULAIRE

A. DEFINITIONS ET PRINCIPES

« Il est dès maintenant possible d'observer in-vitro, dans les bouteilles de verre du laboratoire, les premières étapes de la différenciation de cellules indifférenciées soumises aux inducteurs voulus. Il sera bientôt possible d'aller plus loin dans cette voie, d'obtenir des cellules, puis des organes hautement spécialisés, un foie, un cœur, un cartilage, un os »

Pr Jean BERNARD, 1973, Grandeurs et tentations de la médecine¹⁹.

Il fallait une grande audace intellectuelle pour entrevoir, il y a plus de quarante ans, le domaine de la reconstruction tissulaire que l'on nomme désormais le génie tissulaire. Ce qui illustre à quel point un esprit clairvoyant peut voir au loin des perspectives extraordinaires là où d'autres ne voient qu'une morne ligne d'horizon sans relief.

En médecine et en chirurgie, de nombreuses stratégies sont employées à des fins régénératives telles que les autogreffes et les allogreffes ainsi que l'utilisation de matériaux synthétiques. Cependant, leurs limites ont poussé les chercheurs à se poser la question de la thérapeutique idéale pour le remplacement des pertes tissulaires. C'est de l'idée de l'utilisation d'un tissu sain pour combler la perte tissulaire, qu'est né le concept d'ingénierie tissulaire ou régénération tissulaire²⁰.

En 1993, LANGER ET VACANTI^{21,22} définissent l'ingénierie tissulaire comme « un champ d'application interdisciplinaire de l'ingénierie et des sciences du vivant visant au développement de substituts biologiques pouvant restaurer, maintenir ou améliorer la fonction tissulaire ».

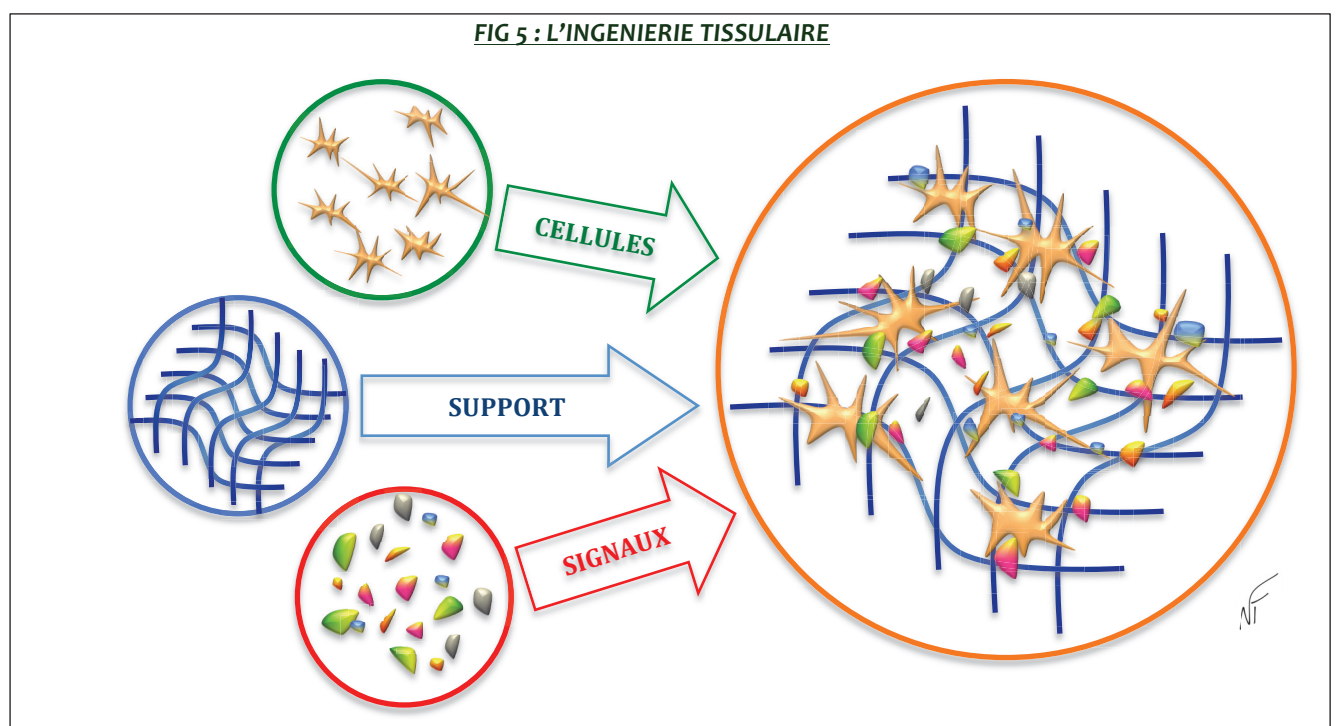
L'ingénierie tissulaire comme nouveau moyen thérapeutique est construite sur le biomimétisme et repose sur la compréhension de l'interaction de trois éléments²³ :

1. DES CELLULES,
2. DES SIGNAUX,
3. UN SUPPORT.

Le principe de l'ingénierie tissulaire est d'associer un **biomatériau biocompatible (SUPPORT)** ensemencé par des **CELLULES SOUCHES** appropriées munies de **molécules biologiquement actives (SIGNAUX)** afin de favoriser la différenciation et la maturation cellulaire vers le tissu à régénérer.

C'est la combinaison des différents outils de l'ingénierie tissulaire qui permet d'induire une régénération tissulaire optimale^{24,25}.

Cette triade d'éléments constituant l'ingénierie tissulaire n'est pas sans rappeler la composition propre de nos tissus et organes qui sont essentiellement constitués de cellules avec leur matrice extracellulaire (scaffold) et du système de signalisation intercellulaire.



B. STRATÉGIES DE L'INGENIERIE TISSULAIRE

Chacun des composants de l'ingénierie tissulaire cités ci-dessus représente une approche différente, respectivement: la transplantation cellulaire, la conduction et l'induction. Elles peuvent être employées individuellement ou en combinaison, afin d'améliorer la régénération du néo-tissu fonctionnel²⁶.

APPROCHE CONDUCTRICE

Elle fait appel à des biomatériaux utilisés de façon passive. Leur rôle est de faciliter la croissance ou la régénération d'un tissu déjà existant.

Dans l'exemple de la régénération tissulaire guidée (RTG), c'est l'utilisation de la membrane, afin de protéger le caillot sanguin, source de cellules intervenant dans la cicatrisation parodontale, qui constitue le mécanisme d'ostéoconduction^{27,28}.

APPROCHE INDUCTRICE

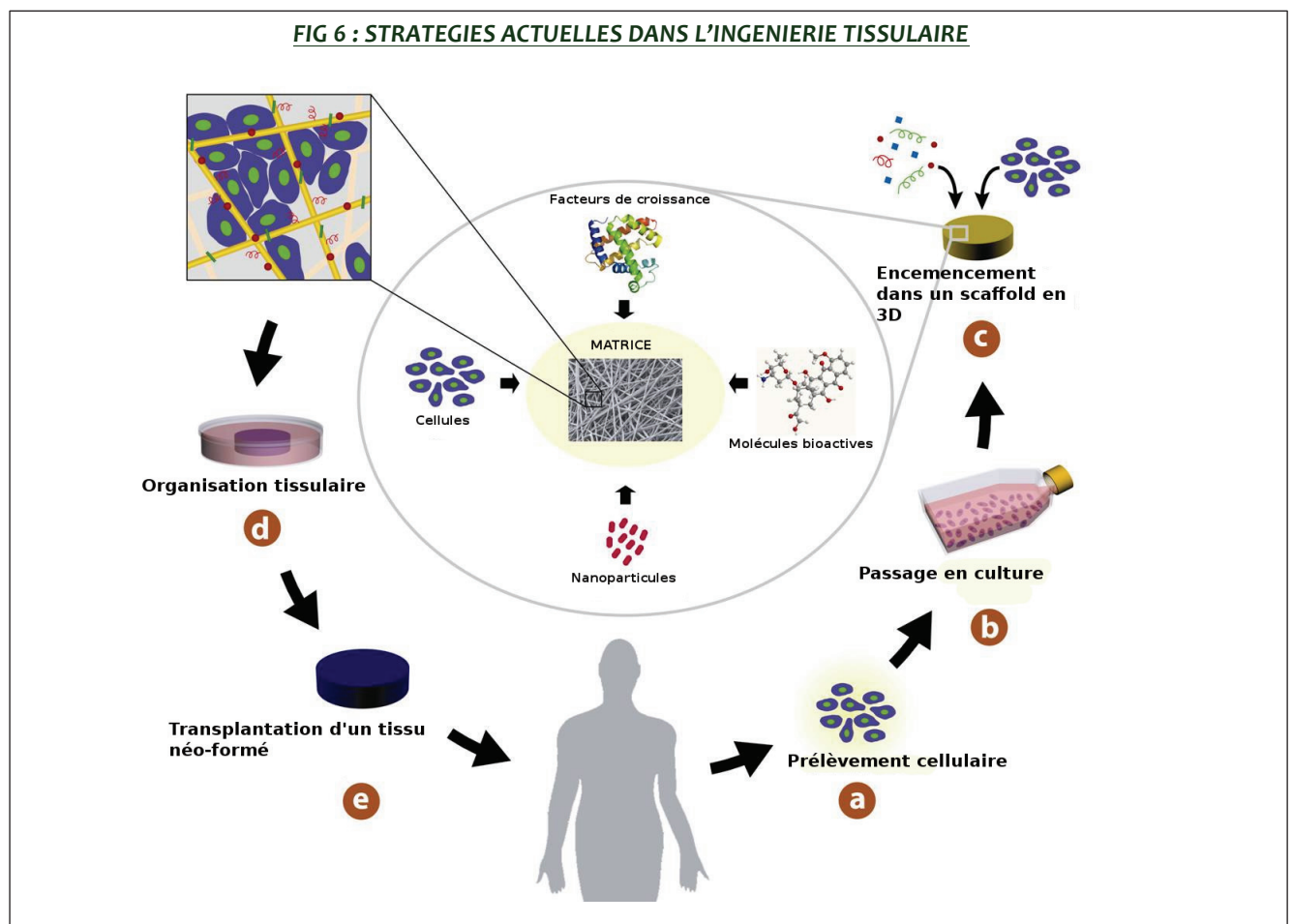
Cette approche consiste à recruter et activer des cellules compétentes à proximité du déficit tissulaire par l'utilisation de signaux biologiques spécifiques. L'origine de ce mécanisme vient de la découverte des Bone Morphogenic Proteins (BMPs) et de leur effet « ostéoinducteur » permettant la formation d'os dans des sites ectopiques à partir de poudre d'os déminéralisée. (URIST 1965^{29,30}).

TRANSPLANTATION CELLULAIRE

Deux choix s'offrent à nous :

- **en 1 temps** : les cellules sont prélevées et directement transplantées dans le tissu cible
- **en 2 temps** : après avoir été prélevées, les cellules sont multipliées selon les principes de la biologie cellulaire, puis ensemencées sur un support afin de les réimplanter.

C'est la multipotentialité des cellules souches utilisées qui rend possible et efficace la transplantation cellulaire. Cette approche reflète bien le caractère multidisciplinaire de l'ingénierie tissulaire³¹.



C. LES ACTEURS DE L'INGENIERIE TISSULAIRE

1. THERAPIE CELLULAIRE ET CELLULES SOUCHES :

LES CELLULES SOUCHES : DEFINITION ET PERSPECTIVES

Les cellules souches ont deux propriétés principales : l'**autorenewement** (elles se multiplient en donnant de nouvelles cellules souches) et la **différenciation** (soumises à certains milieux, elles produisent des cellules spécialisées, par exemple de foie, de pancréas, de peau, de muscle, etc.).

Après la fécondation de l'ovocyte, issu de l'ovaire, par un spermatozoïde, les premières cellules embryonnaires qui se divisent sont toutes identiques et dites « **totipotentes** ». Elles vont former l'embryon et le placenta.

Les cellules embryonnaires qui suivent ces premières divisions cellulaires ne sont pas encore différenciées ; elles sont « **pluripotentes** » car capables de se multiplier en n'importe quel tissu de l'organisme.

Ce n'est qu'au fur et à mesure du développement de l'embryon qu'elles deviennent de plus en plus spécialisées pour former les différents tissus des organes.

Les cellules « **multipotentes** » peuvent former plusieurs types de cellules mais seulement dans un type de tissu donné (par exemple les cellules du sang, cellules osseuses, épithéliales, adipeuses).

Les cellules souches « **unipotentes** » sont limitées à une lignée cellulaire (par exemple les cellules germinales, ovocytes pour la femme et spermatozoïdes pour les hommes).

L'utilisation des cellules souches embryonnaires est totalement interdite en France par les lois de Bioéthique³², car leur obtention nécessite de détruire un embryon ou de réaliser un clonage thérapeutique, ce qui soulève un dilemme éthique. Rajoutons à cela tous les risques de rejet en raison de l'incompatibilité immunologique entre le donneur et le receveur.

C'est en tentant de contourner ces limites, qu'en 2006 une dernière population de cellules souches a été découverte, ou plutôt « induite », par un japonais **Shinya YAMANAKA**³³ : la **cellule « iPS »** (pour *Induced Pluripotent Stem cell*). Au sens strict, ce n'est pas une cellule souche : c'est une cellule adulte qui, modifiée génétiquement sur quatre de ses gènes, remet son horloge à zéro : elle redevient presque une cellule souche embryonnaire.

Malgré les premiers essais infructueux, car l'un des quatre gènes pouvait initier un processus cancéreux, ce chercheur reçu le Prix Nobel de Médecine 2012 et l'autorisation d'effectuer des essais humains. A l'heure actuelle, l'utilisation des cellules iPS est encore interdite en France par les lois de bioéthiques, mais elles représentent tout de même une avancée majeure de la biotechnologie. Le chemin est long.

CAHIER DES CHARGES DES CELLULES SOUCHES IDEALES EN ODONTOSTOMATOLOGIE

Ces cellules souches devront répondre à différents critères^{34,35} :

- être faciles à **récolter** : selon un acte simple, codifié, rapide, indolore et sans morbidité,
- être faciles à **préparer** : isolement rapide, sans adjuvants étrangers,
- être faciles à **transplanter** : acte maîtrisé, reproductible, indolore,
- avoir le plus large éventail de différenciation (**plasticité**) notamment ostéogénique, parodontale et odontogénique,
- être **100% compatibles** avec le site receveur pour éviter les risques de rejet,
- être **maîtrisables** : écarter tout risque de prolifération non contrôlée (type cancérisation),
- être en mesure de faire la différence entre le tissu cible et l'organe.

Et en bonus, si ces cellules possédaient des **propriétés immunomodulatrices** (effet « antirejet » naturel), ce serait l'apothéose !

LES CELLULES SOUCHES CANDIDATES A LA REGENERATION INTRA-ORALE

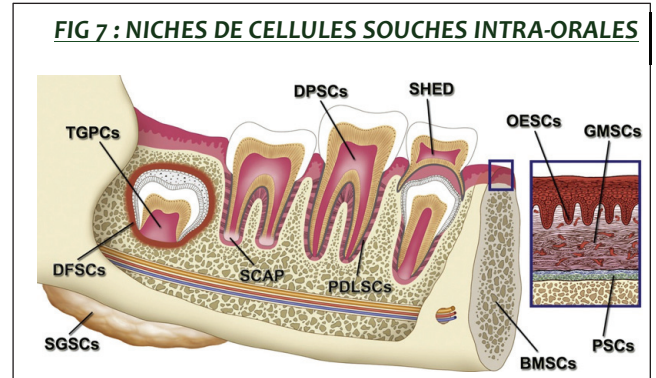
Afin d'assurer la sécurité du patient, « primum non nocere », les cellules souches appropriées à la dentisterie régénérative devront être soumises à un contrôle total depuis leur administration jusqu'à leur différenciation.

A cet égard, seules les cellules souches adultes, répondent à ce potentiel de contrôle. **Les cellules souches mésenchymateuses** sont parmi les cellules souches adultes les plus prometteuses pour les applications cliniques.

Elles sont localisées dans des **microenvironnements spécialisés**, appelés **niches**, qui régulent leur balance entre quiescence, autorenouvellement, mobilisation et différenciation.

La niche la plus connue est la moelle osseuse présente dans les os longs. Cependant, nous retrouvons des sous-ensembles similaires de cellules souches mésenchymateuses dans d'autres tissus adultes, y compris le derme, le tissu adipeux et divers tissus dentaires^{36,37}.

Dans ce tableau sont répertoriées les différentes niches, ainsi que leur potentiel de différenciation in-vitro et in-vivo^{36,37} :



CS : CELLULES SOUCHES	ABREVIATION ANGLOPHONE	CAPACITE DE DIFFERENCIATION IN-VITRO	STRUCTURES FORMEES IN-VIVO
CS DE LA MOELLE OSSEUSE	BMSC	Ostéoblaste, chondroblaste, myoblaste, adipocyte	Os, muscles, cartilage, graisse
CS DE LA PULPE DENTAIRE	DPSC	Odontoblaste, ostéoblaste, adipocyte, chondrocyte, myoblaste, neuronale	Dentine, pulpe, graisse, muscle
CS DES DENTS LACTEALES EXFOLIEES	SHED	Odontoblaste, ostéoblaste, adipocyte, chondrocyte, myoblaste, endothéliale, neuronale	Dentine, Os, microvaisseaux
CS DU LIGAMENT PARODONTAL	PDLSC	Cementoblaste, ostéoblaste, adipocyte, chondrocyte, neuronale	Cément, Ligament parodontal, Os alvéolaire
CS DU FOLLICULE DENTAIRE	DFSC	Cementoblaste, ostéoblaste, adipocyte, chondrocyte, neuronale	Cément, ligament parodontal, os alvéolaire
CS DU GERME DE LA DENT DE SAGESSE	TGPC	Ostéoblaste, adipocyte, endothéliale, neuronale, hépatocyte	Os, dent
CS DE LA PAPILLE APICALE DE LA RACINE EN FORMATION	SCAP	Adipocyte, neuronale	Dentine, Pulpe
CS DES MUQUEUSES ORALES	GMSC ou OESC	Ostéoblaste, adipocyte, chondroblaste, neuronale, gliale, endothéliale (intestinale, hépatique, pancréatique)	Os, Cartilage, Graisse, Epithélium, tissu neural
CS DU PERIOSTE	PSC	Ostéoblaste, adipocytes, chondrocytes, myocytes	Os cortical
CS DES GLANDES SALIVAIRES	SFSC	Acini, adipocyte, ostéoblaste, chondrocyte	Glande salivaire, canaux collecteurs
CS DU TISSU ADIPEUX	CSTA	Ostéoblaste, cémentoblaste, chondrocyte, hépatocyte, myocyte, odontoblaste, fibroblaste	Graisse, os, cartilage, muscle, foie, cœur, dent quasi intégrale (ligament parodontal, cément, dentine, pulpe)

Avec leur potentiel parodontal et ostéogénique, les cellules souches du tissu adipeux sont d'excellentes candidates à la régénération intra-orale³⁸.

CONCLUSION

L'utilisation de la thérapie cellulaire en ingénierie tissulaire, pour la régénération des déficits osseux intra-buccaux consisterait donc à prélever des cellules souches mésenchymateuses (CSM) depuis la moelle osseuse, les germes dentaires, ou mieux encore la graisse pour les ensemercer sur un « échafaudage » et induire leur croissance et différenciation vers le tissu à régénérer avant de les réimplanter sur le site déficitaire³⁹.

2. LES SUPPORTS, ECHAFAUDAGES : « SCAFFOLDS »

Quelle que soit la stratégie utilisée, l'ingénierie tissulaire fait quasiment toujours appel à des biomatériaux.

CAHIERS DES CHARGES D'UN PARFAIT ECHAFAUDAGE EN ODONTOSTOMATOLOGIE

Les supports correspondent à un réseau tridimensionnel rappelant la matrice extracellulaire. Il s'agit donc de structures poreuses résorbables servant de « base » (matrice) à la régénération des lésions tissulaires. Ils constituent un réservoir d'eau, de nutriments, et de facteurs de croissance pour la prolifération cellulaire. Pour cela, les scaffolds doivent satisfaire à des exigences particulières ^{40, 41, 42, 43}:

- **La biocompatibilité** : ils doivent être non carcinogènes, non immunogènes, et entièrement résorbables par des processus biologiques dans le cas de biomatériaux résorbables,
- Avoir une **structure interne** (porosité et taille des pores) compatible avec l'attachement et colonisation des cellules, leur prolifération (conductivité) ; ainsi que la production d'une nouvelle matrice extracellulaire par ces mêmes cellules,
- La capacité à **intégrer des facteurs inducteurs** pour favoriser et diriger la croissance du néo-tissu (ostéoinduction) sans perdre ses qualités architecturales,
- Le support doit pouvoir **transporter et délivrer** ces morphogènes sans les dénaturer,
- L'architecture et la composition du scaffold doivent **permettre l'apport d'une néo-vascularisation** pour le transport de l'oxygène et des biomolécules,
- Avoir une **forme adaptée au défaut** et une **résistance suffisante** pour soutenir les tissus dans le but de mimer au plus près les propriétés physiques et biologiques du tissu remplacé,
- Permettre le **contrôle, la prévisibilité et la reproductibilité du taux de dégradation**. La vitesse de résorption, les substances libérées lors de la dégradation du scaffold, leurs influences sur le milieu sont à prendre en considération,
- Enfin, le biomatériau doit être fabriqué avec des **matériaux agréés** par les organismes nationaux et internationaux de normalisation.

La grande difficulté de conception de ces supports réside dans la tentative d'intégration de l'ensemble de ces exigences. Par exemple, l'apport de cellules et de biomolécules est maximisé en augmentant la porosité. Par contre cette augmentation du nombre de pores peut diminuer les propriétés mécaniques de l'échafaudage.

GALENIQUE DES ECHAFAUDAGES

Comblement osseux, perte de tissus mous, atteinte pulpaire, fibrose d'une glande salivaire : en fonction de la taille et du type de défaut, nous avons besoin d'échafaudages différents.

Voici quelques galéniques :

FIG 8 : GALENIQUE DES ECHAFAUDAGES

GALENIQUE	INJECTABLE	GELIFIEE	EPONGE	POUDRE	BLOC
					
EX :	Acide hyaluronique Solution Saline (PBS)	PRP PRF	Collagène Pangen	Bio-Oss Particules Corail	Os allogénique HA-BTCP

Voici résumés les différents types de supports utilisés à ce jour ^{44, 45}:

CATEGORIE	MATERIAUX	ORIGINE	AVANTAGES	INCONVENIENTS	COUT*	EXEMPLES
MATRICE OSSEUSE : SUPPORTS ORGANIQUES	Os Autogénique	Autogénique	<ul style="list-style-type: none"> Autogénique Ostéoinducteur Ostéoconducteur 	Morbidité site préleveur	∅	∅
	Os Allogénique	Humaine (têtes fémur)	<ul style="list-style-type: none"> Ostéoinducteur Ostéoconducteur 	<ul style="list-style-type: none"> Coût Risque de contamination pathogène 	+++ +	Ostéopure
	Os Xénogénique	Bovin	<ul style="list-style-type: none"> Ostéoconducteurs 		+++	Bio-Oss
CERAMIQUES A BASE DE PHOSPHATE DE CALCIUM / BIOVERRES	HydroxyApatite HA	Minérale	<ul style="list-style-type: none"> Biocompatibilité Bioactif 	<ul style="list-style-type: none"> Non malléables 	++	Cerapatite
	β-Phosphate TriCalcique : β-TCP	Minérale	<ul style="list-style-type: none"> Biomimétique Ostéoconducteurs Composition chimique proche de la phase minérale de l'os 	<ul style="list-style-type: none"> Parfois non résorbables Faible résistance mécanique (os spongieux) 	++	IngeniOs (Zimmer)
	Biphasée : HA-TCP	Minérale			++	Easygraft Ceraform
	Bioverres	Minérale	<ul style="list-style-type: none"> Prop tensioactives Très bioactifs : chimiotactisme ++ 	<ul style="list-style-type: none"> Résultats souvent inconstants 	++	Perioglass
POLYMERES NATURELS	Corail : carbonate de calcium	Exosquelettes minéraux	<ul style="list-style-type: none"> Biocompatible Porosité similaire à l'os spongieux Résorbable Bonne résistance à la compression 	<ul style="list-style-type: none"> Fragile dans des grandes restauration Cinétique de résorption variable en fonction du site 	+	Biocoral
	Collagènes	Derme bovin	<ul style="list-style-type: none"> Biocompatibilité 	<ul style="list-style-type: none"> Risque de contamination pathogène 	+	Pangen
	Acide hyaluronique	Crêtes de coq ou non animale	<ul style="list-style-type: none"> Bioactif Biodégradables Possibilité d'affinité naturelle pour les facteurs de croissance Bonne adhésion cellulaire 	<ul style="list-style-type: none"> Non ostéoconducteurs 	+++	Juvederm
	Colles/Gel de fibrine : PRF	Autogénique		<ul style="list-style-type: none"> Non ostéoconducteur 	∅	aPRF
	Chitosan	Animale	<ul style="list-style-type: none"> Impression 3D Biocompatible Biodégradable 	<ul style="list-style-type: none"> Faible résistance Dégradation lente Dissolution imprévisible in vivo 	++	Koyo Chem
	AlginateAgarose	Végétale	<ul style="list-style-type: none"> Capacité de chélation Hydrophile Activité hémostatique Bactériostatique 		+	Algopore
	Plâtre : plâtre de Paris	Minérale	<ul style="list-style-type: none"> Bonne résorbabilité (1-2 mois) 	<ul style="list-style-type: none"> Non ostéoconducteur 	+	Lifecore
POLYMERES SYNTHETIQUES	Ciments Polyméthyméta crylates PMMA	Synthétique	<ul style="list-style-type: none"> Ostéoconducteurs Ostéophile Hydrophile Bon support de molécules comme ATB 	<ul style="list-style-type: none"> Non résorbable ou très lentement 	+	Bioplant, HTR
	Acides polylactique PLLA	Fermentation synthétique	<ul style="list-style-type: none"> Synthèses reproductibles Non immunogènes 	<ul style="list-style-type: none"> Hydrophobes Réactions inflammatoire due à certains produits de dégradation 	+	Sigma
	Acide polyglycolique PGA	Synthétique	<ul style="list-style-type: none"> Biocompatibles Malléables Stérilisation facile 	<ul style="list-style-type: none"> Solvant ou agent de réticulation pouvant dénaturer les protéines 	+	Sigma
	Polyéthylène-glycol PEG	Synthétique	<ul style="list-style-type: none"> Modifiable chimiquement (fonctionnalisation) 		+	Sigma
MATERIAUX COMPOSITES : MIXTES	Collagène-TCP	Mixte	<ul style="list-style-type: none"> Avantage de chacun des constituants Biocompatibles Bonnes propriétés biomécaniques 	<ul style="list-style-type: none"> Synthèse plus complexe Risque de contamination faible mais non nul 	++	BioOssCollagen, Biostite, Pepsen
	Collagène-hydroxyapatite	Mixte			++	
	TCP-cellulose	Mixte			++	

- * Cout approximatif € : + (1-50), ++ (50-100), +++ (100-200), ++++ (300-500)

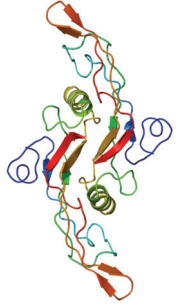

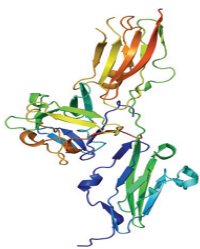
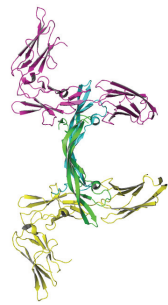
3. LES SIGNAUX, FACTEURS DE CROISSANCE


GENERALITES :

Troisième acteur de l'ingénierie tissulaire : les facteurs de croissance et de différenciation cellulaires ont été utilisés pour favoriser l'intégration tissulaire des matériaux implantés.

Leur rôle est de permettre le recrutement, la prolifération et la différenciation des cellules souches environnantes. Une des principales limites de l'utilisation de ces facteurs de croissance est qu'ils pourraient entraîner une prolifération cellulaire non contrôlée si leur diffusion n'était pas limitée⁴⁶. Pour éviter cet inconvénient, des systèmes de couplage et de libération contrôlée ont ainsi été mis au point⁴⁷.

Parmi les facteurs de croissance, nous citerons :

FACTEUR	DOMAINE D'ACTION	STRUCTURE
TRANSFORMING GROWTH FACTORS BETA OU TGF-β⁴⁸⁻⁵⁰	<ul style="list-style-type: none"> • Puissant promoteur de MEC • Pouvoir mitogène modeste • Stimule : <ul style="list-style-type: none"> ○ le collagène type 1, ○ la biosynthèse de fibronectine et d'ostéonectine ○ la dépose de matrice osseuse • Pouvoir de chimiotactisme • Diminue la destruction de la matrice du tissu conjonctif en régulant à la baisse la synthèse d'activateur de métalloprotéinase et de plasminogène • Inhibe la formation d'ostéoclastes mais favorise la résorption osseuse par un mécanisme induit par la prostaglandine 	
BONE MORPHOGENETIC PROTEINS OU BMP⁵¹⁻⁵⁹	<ul style="list-style-type: none"> • Mitogénique de : <ul style="list-style-type: none"> ○ MSC, précurseurs ostéoblastiques, précurseurs chondrocytaires • Induit l'expression du phénotype : <ul style="list-style-type: none"> ○ ostéoblastique en augmentant l'activité de la phosphatase alcaline (ALP) dans les cellules osseuses ○ chondrocytaire dans le cadre d'une ossification endochondrale • Régule : <ul style="list-style-type: none"> ○ l'attache cellulaire ancrage-dépendant (fibronectine) ○ la différenciation ostéoblastique ○ l'activité ALP, la synthèse ostéocalcine/minéralisation ○ l'apoptose cellulaire • Serait responsable de l'initiation de la cémentogénèse et de la régulation de l'assemblage fonctionnel du ligament alvéolodentaire • Rôle dans la morphogénèse dentaire : <ul style="list-style-type: none"> ○ BMP-2, -7, -4 sont exprimés dans l'épithélium dentaire ○ BMP-3, -7 sont exprimés dans le développement ligamentaire ○ BMP-2 est exprimé lors de la morphogénèse de la racine ○ BMP-3 aurait un rôle dans la lignée cémentoblastique 	
FIBROBLAST GROWTH FACTORS OU FGF^{60,61}	<ul style="list-style-type: none"> • FGF2 : Puissant mitogène des MSC • Dans les phases précoces de la cicatrisation : <ul style="list-style-type: none"> ○ il favorise la prolifération, la migration, la différenciation du ligament ○ il diminue la différenciation cémentoblastique et ostéoblastique limitant la formation de tissu dur • Dans les phases tardives de la cicatrisation : <ul style="list-style-type: none"> ○ il contribue à la formation de la matrice extracellulaire et l'angiogénèse, facilitant la formation de ligament parodontal ○ Rôle dans la morphogénèse embryonnaire 	
PLATELET DERIVED GROWTH FACTORS OU PDGF⁵⁸	<ul style="list-style-type: none"> • Homodimère au grand pouvoir <ul style="list-style-type: none"> ○ Mitogène ○ de chimiotactisme envers les cellules ligamentaires ○ de biosynthèse de la matrice extra-cellulaire ○ promoteur de l'angiogénèse • Stimule : <ul style="list-style-type: none"> ○ la formation de tissu conjonctif : il agit à un stade précoce de la réparation, en remplissant et en stabilisant la plaie. ○ La synthèse des fibroblastes gingivaux : un prérequis pour la formation de larges agrégats de protéoglycanes qui fournissent la trame nécessaire pour la MEC. 	

<p style="text-align: center;">LES INSULIN-LIKE GROWTH FACTORS OU IGF :^{62,63}</p>	<ul style="list-style-type: none"> • IGF1 : <ul style="list-style-type: none"> ○ Synthétisé par les ostéoblastes, il jouerait un rôle autocrine dans la formation osseuse ○ il stimule : <ul style="list-style-type: none"> ▪ la mitogénèse ▪ la biosynthèse des matrices de cartilage, d'os, de tendon et de cellules musculaires ▪ la prolifération des cellules ostéoclastiques multinucléées • IGF-2 : <ul style="list-style-type: none"> ○ Le plus abondant facteur de croissance dans la matrice osseuse ○ Produit par les ostéoblastes, il stimule la formation osseuse en induisant : <ul style="list-style-type: none"> ▪ la prolifération et la différenciation des cellules osseuses ▪ la biosynthèse de collagène type 1 	
<p style="text-align: center;">EPIDERMAL GROWTH FACTOR OU EGF^{64,65}</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Semble avoir très peu d'effets sur : la prolifération des cellules ligamentaires, leur mitogénèse, le chimiotactisme, la synthèse de la matrice ligamentaire • Cependant, il jouerait un rôle de stabilisateur du phénotype fibroblastique, sa diminution entraîne la différenciation des cellules en ostéoblastes ou cémentoblastes. 	
<p style="text-align: center;">PLATELET RICH PLASMA / PLATELET RICH FIBRIN^{66,67}</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Source de molécules signalantes • Contient : <ul style="list-style-type: none"> ○ une variété de facteurs de croissance: PDGF, TGF, ILG, FGF, EGF, VEGF ○ des fibrinogènes qui sont scindés en fibrine pour accélérer la cicatrisation de la plaie • Augmente le recrutement, la prolifération et la différenciation des cellules impliquées dans la régénération tissulaire 	
<p style="text-align: center;">ENAMEL MATRIX DERIVATIVE OU EMD⁶⁸⁻⁷⁰</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Extrait de la matrice d'émail porcine • Elle est composée : <ul style="list-style-type: none"> ○ d'amélogénine, protéine de la matrice de la GEH, qui joue un rôle dans la cémentogénèse ○ d'autres protéines de la matrice, de facteurs de croissance tels que BMP-2,-4, TGF-β ainsi que de molécules toujours inconnues. • Régule : la prolifération, la migration, l'adhésion, l'expression génique et la production de cytokines, de pré-ostéoblastes, de fibroblastes parodontaux et de fibroblastes gingivaux • Des études in vitro récentes ont tenté de recenser les activités biologiques de EMD essentielles à la régénération parodontale à savoir : <ul style="list-style-type: none"> ○ la stimulation du chimiotactisme, de la prolifération et de la différenciation des cémentoblastes, des ostéoblastes et des cellules ligamentaires ○ l'induction de l'angiogénèse. 	

STRATEGIES D'UTILISATION

L'effet de tous ces facteurs de croissance sur la formation et la réparation osseuse dépend de plusieurs critères : **le choix de la protéine, la dose appliquée, et le mode d'application.**

Ces facteurs de croissance étant rapidement éliminés par l'organisme, ils nécessitent la mise en œuvre d'un système de libération qui permettrait de potentialiser leur activité biologique de façon locale, contrôlée et durable au niveau du site de réparation. Ce système de libération doit également permettre de limiter la quantité de protéine implantée, réduisant ainsi sa diffusion systémique et les risques d'effets indésirables. On distingue 2 modes d'application^{71,72} :

- **l'injection in-situ** de facteurs de croissance sur le site
- **la thérapie génique** : elle consiste à insérer un gène dans les cellules souches pour augmenter leur efficacité face à un environnement hostile et pour sécréter un nombre important de facteurs trophiques.
 - In-vivo lorsque le gène est délivré directement sur le site,
 - Ex-vivo, lorsque les cellules sont modifiées génétiquement lors d'une étape laboratoire.

4. CONCLUSIONS :

La combinaison de l'ensemble de ces techniques pourrait répondre au désir de créer des solutions plus biologiques à l'implantation permanente de biomatériaux inertes.

Ces techniques permettent, par la compréhension et le contrôle des interactions entre les molécules de la matrice extracellulaire et des cellules souches compétentes, modifiées génétiquement ou non pour favoriser l'expression de certains gènes tels que les BMPs, et amenées sur le site via un support adapté, d'aboutir à la différenciation et la croissance du néo-tissu désiré dans le but de régénérer une lésion osseuse.

III. LE TISSU ADIPEUX, UNE SOURCE DE CELLULES SOUCHES

Longtemps considéré comme un simple tissu de stockage, puis impliqué dans les dysrégulations endocriniennes et métaboliques, le tissu adipeux gagne actuellement une image beaucoup plus positive comme réservoir abondant de cellules pour la thérapie régénératrice. Présentons ce tissu « trésor » de l'ingénierie tissulaire.

A. LES DIFFÉRENTS TYPES DE TISSU ADIPEUX ET LEURS FONCTIONS

Chez les mammifères, nous retrouvons deux types de tissu adipeux distincts dont les rôles métaboliques sont distincts et complémentaires⁷³.

TISSU ADIPEUX BLANC

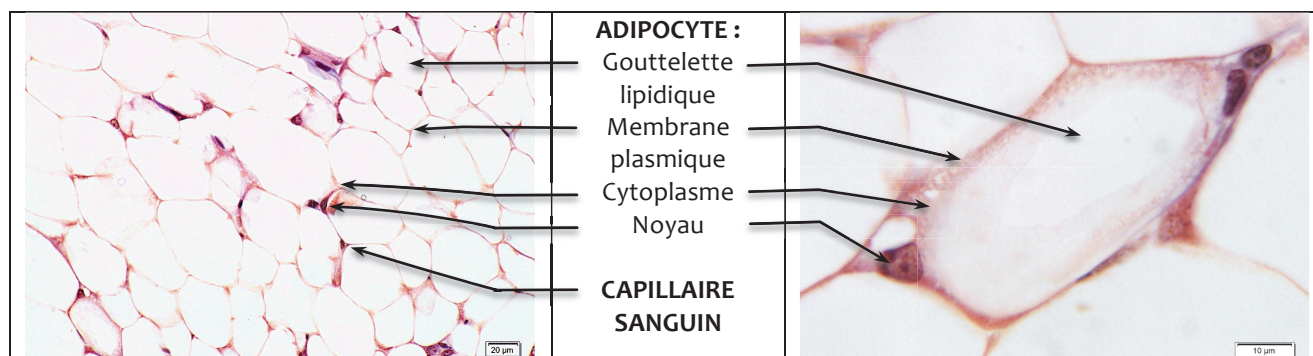
Deux types pour deux fonctions :

- **Tissu adipeux sous-cutané** : réparti en 2 couches superficielle et profonde
 - o Rôle de stockage/structure
- **Tissu adipeux viscéral** : intrapéritonéal (omental, mésentérique, périgonadal) et rétropéritonéal
 - o Rôle endocrinien

Le tissu adipeux blanc assure plusieurs fonctions. Tout d'abord, la **fonction métabolique : l'homéostasie énergétique**. Il représente la principale réserve énergétique de l'organisme. Il est capable de stocker l'énergie sous forme de triglycérides durant les périodes d'excès calorique et de la libérer sous forme d'acides gras libres en période de jeûne ou lorsque les dépenses énergétiques sont supérieures aux apports. Les adipocytes possèdent les voies métaboliques et les protéines de régulation associées aux processus de synthèse des triglycérides (synthèse de novo à partir de glucose, la lipogenèse, ou bien à partir d'acides gras captés dans la circulation sanguine) et de lipolyse⁷⁴. Ces processus sont régulés par des hormones, des cytokines et d'autres facteurs impliqués dans le métabolisme énergétique.

Le tissu adipeux a aussi une **fonction sécrétoire et endocrine** qui participe de manière très active au maintien de plusieurs fonctions vitales de l'organisme. Le tissu adipeux sécrète avant tout des acides gras en quantité majeure, qui sont des substrats énergétiques pour divers organes. Il sécrète également des peptides bioactifs, appelés adipokines, qui vont agir au niveau local par une action autocrine et/ou paracrine (cytokines, facteurs de croissance) ou au niveau systémique par une action endocrine (libération d'hormones, la leptine par exemple). Par ses propriétés sécrétoires, le tissu adipeux blanc participe activement à l'homéostasie énergétique de l'organisme, mais il est aussi impliqué dans d'autres fonctions comme les fonctions neuroendocrines, l'immunité⁷⁵⁻⁷⁷ et l'inflammation.

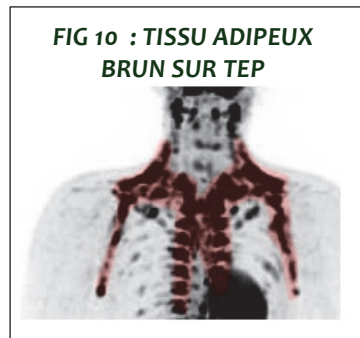
FIG 9 : COUPE TRANSVERSALE DU TISSU ADIPEUX BLANC EN MICROSCOPIE OPTIQUE, COLORATION HES



TISSU ADIPEUX BRUN

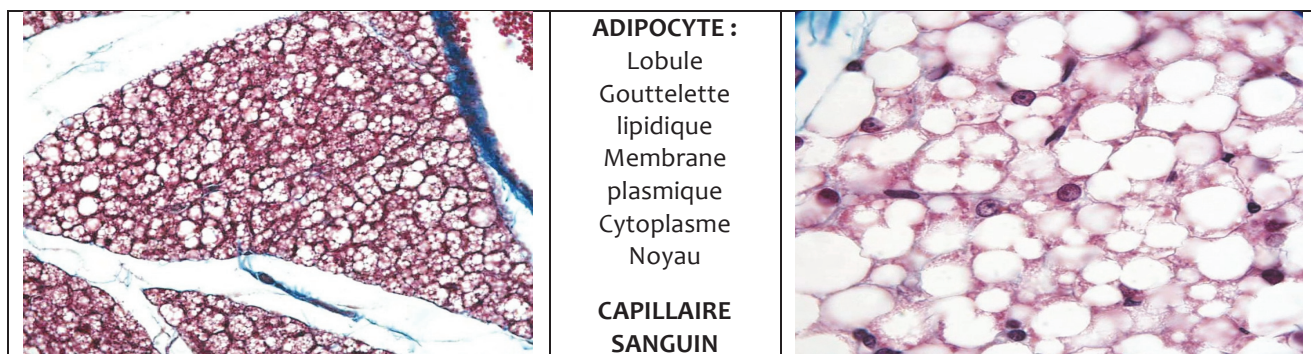
Sa principale fonction est d'assurer, grâce à la lipolyse de ses adipocytes, la **thermogenèse** chez les animaux qui hibernent⁷⁸⁻⁸⁰ et les nouveau-nés car ils ne sont pas encore capables de frissonner⁸⁰⁻⁸³. Cependant sa présence chez l'homme adulte a suscité de nombreux débats.

En 2007, l'équipe suédoise du **Dr. NEDERGAARD**⁸⁴ s'est penchée sur de mystérieuses taches apparues sur certains clichés d'imagerie par tomographie à émission de positons. Destinés à visualiser des tumeurs, métaboliquement plus actives que les tissus sains, ils montraient parfois des zones actives là où, pourtant, n'existait aucune tumeur. En compilant ces données et ils ont suggéré que ces zones correspondraient à du tissu adipeux brun. Après marquage de la protéine UCP-1⁷⁷ caractéristique de cette graisse, trois équipes leur ont donné raison et ont montré clairement la présence de tissu adipeux brun le long de la colonne vertébrale et sous les clavicules.



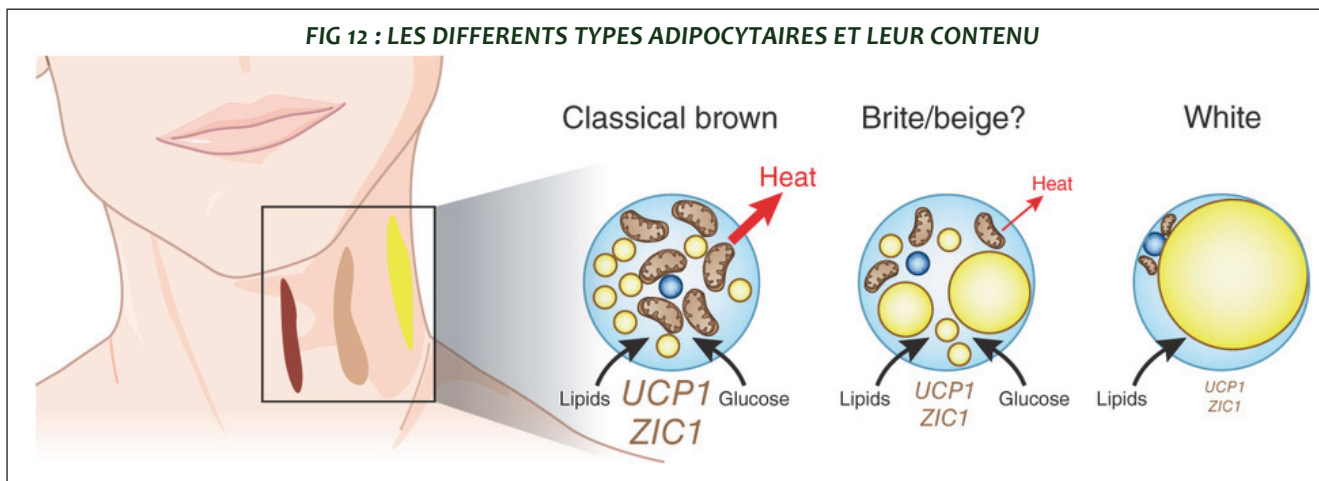
Contrairement aux adipocytes blancs qui contiennent une gouttelette lipidique unique, les adipocytes bruns contiennent de nombreuses gouttelettes plus petites et un nombre beaucoup plus élevé de mitochondries, donnant au tissu sa couleur brune. Ces mitochondries sont caractérisées par la présence d'une protéine UCP-1 (UnCoupling Protein) encore appelée thermogénine. Enfin, ce tissu contient plus de capillaires que la graisse blanche car il a un besoin d'oxygène plus important que la plupart des tissus.

FIG 11 : COUPE TRANSVERSALE DU TISSU ADIPEUX BRUN EN MICROSCOPIE OPTIQUE, COLORATION HES



TISSU ADIPEUX BEIGE ?

Récemment, des adipocytes beiges⁸⁵⁻⁸⁷ ont été découverts dans le tissu adipeux blanc en particulier inguinal. Les adipocytes beiges ont les caractéristiques des deux adipocytes bruns et blancs. Ils contiennent à la fois de grandes et multiples petites vacuoles lipidiques uniloculaires. Ils assurent la thermogenèse adaptative : en réponse à l'exposition au froid, les cellules beiges se transforment en cellules qui ont des caractéristiques communes avec les adipocytes bruns, comme l'expression de UCP-1 et de petites vacuoles lipidiques. L'origine de ces adipocytes beiges est encore controversée : résultent-ils de la transdifférenciation des adipocytes blancs de novo ou de l'adipogenèse d'un sous-groupe de cellules précurseurs⁸⁹ ?



B. ORIGINE, DÉVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE DU TISSU ADIPEUX

ORIGINE

WASSERMAN⁸⁹, en 1964, introduit le concept d' « organe adipeux », sur la base de l'observation anatomique de son développement embryonnaire. Le tissu adipeux, comme les muscles et les os, est généralement décrit comme étant dérivé de cellules souches mésenchymateuses issues du feuillet mésodermique de l'embryon.

Jusque là, il était admis que les adipocytes bruns et blancs provenaient du même progéniteur mésenchymateux puisque la différenciation de ces deux types cellulaires nécessitait l'intervention du même facteur de transcription PPAR- γ ⁹⁰.

Cependant, les fonctions distinctes du TA brun et blanc suggèrent que ces deux tissus pourraient provenir de précurseurs différents. C'est ce que l'équipe du **Dr. CHRISTIAN DANI**^{91,92} (iBV INSERM Nice) a démontré en 2008 dans une étude sur la génèse des adipocytes en utilisant des cellules souches embryonnaires génétiquement modifiées. Ainsi, ils ont observé que dans la région céphalique, les cellules précurseurs proviennent des crêtes neurales (neurectoderme) alors que dans le tronc, ils dérivent du mésoderme. De ce fait, le tissu adipeux du segment céphalique, dériverait du même feuillet neurectodermique que les os du crâne, de la face, les cartilages et le derme facial !

Cette information est cruciale dans le domaine de la reconstruction dento-faciale, les cellules souches du segment céphalique représentent la clé de voûte de la reconstruction dento-faciale.

Les différences d'origine et de développement du tissu adipeux pourraient ainsi expliquer les variations fonctionnelles qui existent entre⁹³ :

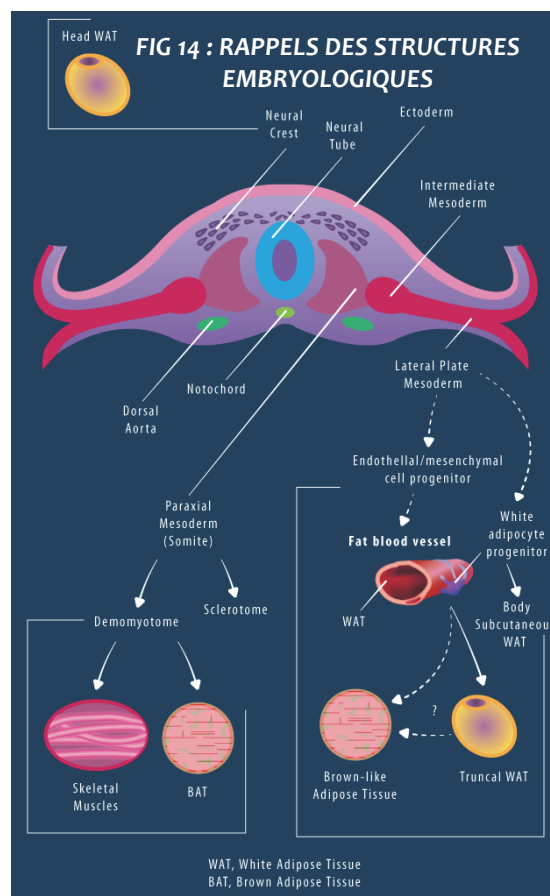
TISSU ADIPEUX	ORIGINE EMBRYOLOGIQUE
Tissu adipeux blanc de la tête	Crêtes neurales
Tissu adipeux brun	Mésoderme para-axial : somites
Tissu adipeux blanc du corps	Mésoderme latéral

DEVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE

Le corps adipeux buccal (Boule de Bichat) est la première structure grasseuse à apparaître chez le fœtus dès la 11^{ème} semaine in utero sous forme indifférenciée jusqu'à la 20^{ème} semaine, alors que la graisse n'apparaît en moyenne qu'entre la 22^{ème} et la 30^{ème} semaine.

Au même titre que d'autres organes, **POISSONNET et AI**⁹⁴ décrivent 5 stades dans la morphogénèse du tissu adipeux :

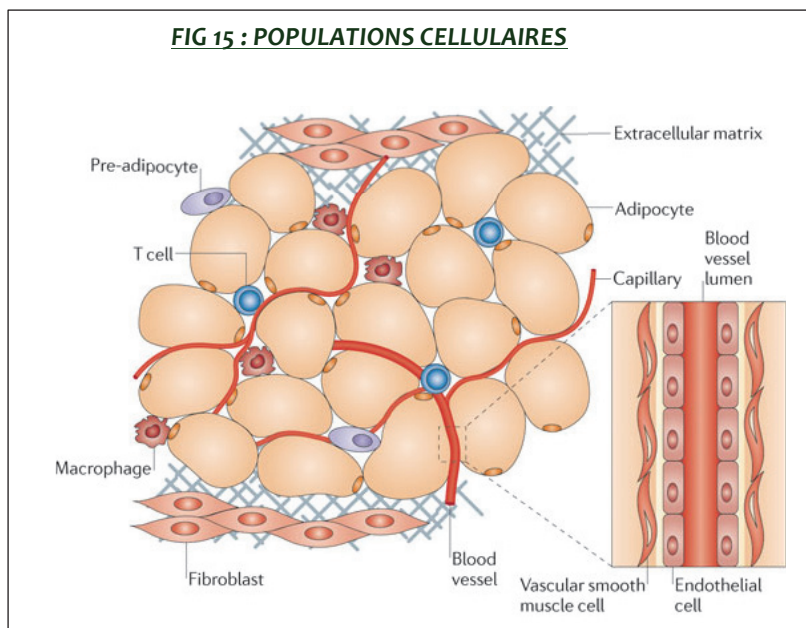
- **STADE 1** : les tissus adipeux émergent de groupes cellulaires primitifs clairement individualisés et localisés dans les sites des futurs dépôts adipeux.
- **STADE 2** : Des cellules mésenchymateuses prolifèrent autour d'un bourgeon vasculaire. Les capillaires se développent pendant que certaines cellules mésenchymateuses se détachent de ces capillaires pour donner naissance à des pré-adipocytes étoilés. Ceux-ci commencent alors à accumuler des lipides. Les cellules les plus avancées dans la différenciation sont celles qui sont les plus éloignées des capillaires. La vascularisation joue un rôle primordial dans le développement du tissu adipeux : la densité des adipocytes est corrélée à la densité des capillaires sanguins.
- **STADE 3** : développement des lobules mésenchymateux, contenant une constellation de cellules mésenchymateuses appelée pré-adipocytes sans goutellette lipidique.
- **STADE 4** : apparition de lobules de graisse primitive. Le stockage de graisse devient visible.
- **STADE 5** : apparition des lobules graisseux définitifs séparés entre eux par les septas du tissu conjonctif.



C. POPULATIONS CELLULAIRES DU TISSU ADIPEUX

Un dépôt de tissu adipeux contient :

- les **adipocytes**, cellules différenciées qui accumulent au sein de leur cytoplasme une énorme gouttelette lipidique,
- des **cellules précurseurs** : pré-adipocytes, cellules souches d'aspect fibroblastique,
- des **capillaires sanguins** : cellules endothéliales, péricytes, cellules musculaires,
- des **macrophages**,
- des **terminaisons nerveuses**,
- du **tissu conjonctif**, **matrice extracellulaire**.



D. SITES DE PRELEVEMENT

Le tissu adipeux sous-cutané est retrouvé dans l'ensemble de l'organisme, ubiquitaire, sauf au niveau des extrémités du scalp, du pavillon de l'oreille, des narines, des paupières⁹⁵, des organes génitaux externes et du mamelon. Chaque localisation adipeuse se singularise par son développement et sa capacité de réponse à des stimuli nutritionnels ou hormonaux.

En général, on distingue deux grands types de localisations adipeuses⁹⁶ : **sous-cutanées** (superficielles ou sus-fasciales) ou **profondes** (sous-fasciales), qui diffèrent de façon notable par leurs capacités métaboliques.

Cette distinction entre les deux couches du tissu adipeux peut avoir de l'importance dans le choix du site de prélèvement de la graisse :

SITES SOUS-CUTANES	FIG 16 : SITES DE PRELEVEMENT	SITES PROFONDS
<ul style="list-style-type: none"> • Région abdominale • Région périmammaire • Région de la face postérieure du bras en regard du triceps • Région cervicale sous-mentonnière • Région sus-pubienne chez la femme • Région pelvienne postéro-laterale • Face antérieure des cuisses • Région inguinale • Région du genou et de la jambe • Nuque • Joues 		<ul style="list-style-type: none"> • aires périrénales et retro-péritonéal • médiastin, mesos, épiploons • espaces peri-vasculaires profonds du tronc, du cou, de la tête et des membres • loges orbitaires • moelle des os longs, canal vertébral • Boule de Bichat

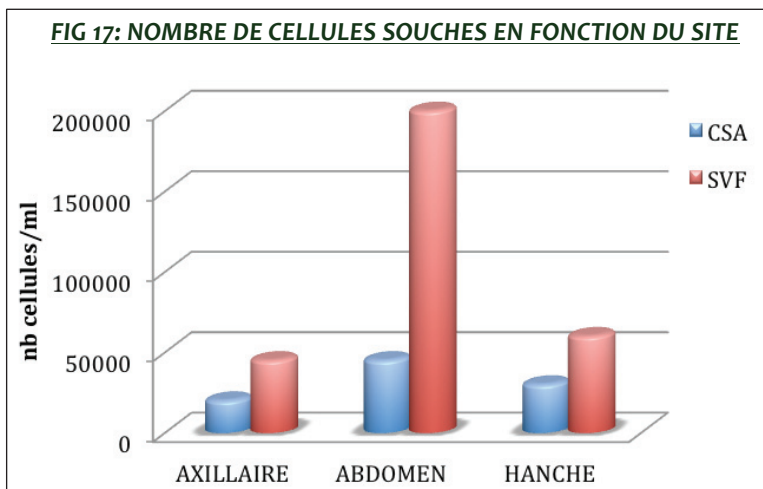
RICHESSA EN CELLULES SOUCHES

De nombreux auteurs ont étudié le nombre de ces cellules en fonction de leur localisation anatomique.

- JURGENS⁹⁷ et AL. ne trouvent aucune différence,
- PADOIN⁹⁸ et AL. trouvent un nombre plus élevé en région abdominale et dans l'intérieur de la cuisse.

De plus, BAKKER⁹⁹ et AL. ont montré qu'aucune différence n'existe dans le nombre de cellules souches en fonction de l'âge et de l'index de masse corporelle.

Très récemment, en mars 2015, une étude publiée dans l'Aesthetic Surgery Journal par l'équipe américaine du Dr. IYYANKI¹⁰⁰, compare la quantité de cellules souches et la fraction de stroma-vasculaire obtenue à partir de 3 régions : axillaire, abdominale et des hanches. Le résultat est sans appel : la région abdominale permet de récolter significativement plus de cellules souches et de précurseurs mésenchymateux.



E. TECHNIQUES DE PRELEVEMENTS ACTUELLES

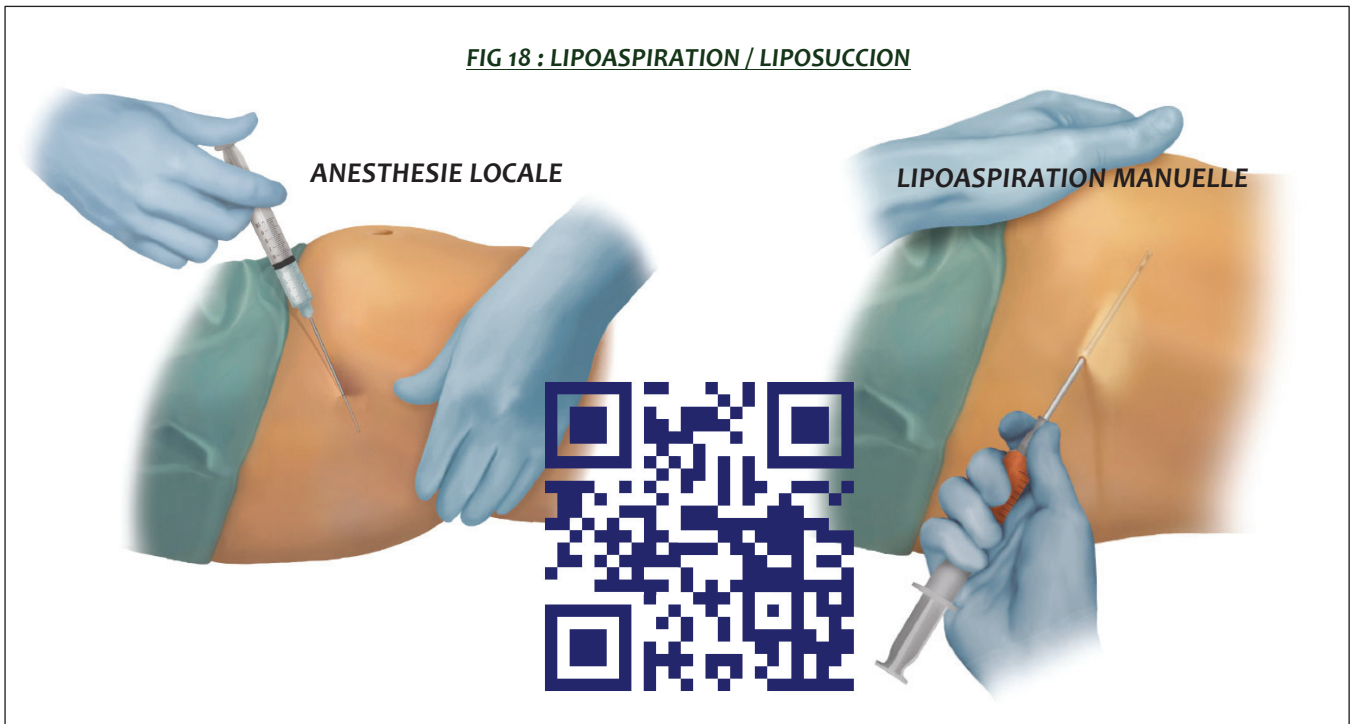
De nombreuses études démontrent que la quantité et la viabilité des cellules prélevées dépend fortement de la méthode de récolte. Il est largement admis que les méthodes moins traumatiques entraînent une désorganisation moindre des agencements cellulaires.

AU FIL DES SIECLES, NOUS AVONS VU APPARAÎTRE 3 TECHNIQUES :

	TECHNIQUE	MATERIEL	PROTOCOLE	AVANTAGES	INCONVENIENTS
1889-1977	EXCISION CHIRURGICALE	<ul style="list-style-type: none"> • Antiseptique local • Lidocaine 1 % non adréalinée • Bistouri lame 15 • Pince, ciseau de dissection • Matériel de suture et fil résorbable 	<ul style="list-style-type: none"> • Asepsie stricte • Anesthésie intradermique¹⁰¹ • Incision cutanée de 1,5 cm de long • Exposition de la graisse et section au ciseau • Hémostase soignée et sutures 2 points 	<ul style="list-style-type: none"> • Conservation de l'architecture du tissu • Collecte de tous les éléments 	<ul style="list-style-type: none"> • Geste invasif • Délicat • Une légère hémorragie peut gêner la biopsie • Cicatrice possible
1977-1994	LIPOSUCCION par le vide mécanique ou ultrasonique instaurée par Dr. Yves-Gerard ILLOUZ ^{102,103}	<ul style="list-style-type: none"> • Antiseptique local • Lidocaine 1 % non adréalinée • Seringue assistée par vide - 750mmHg et 100% pression négative à bout mousse et ouverture latérale 	<ul style="list-style-type: none"> • Désinfection cutanée • Anesthésie intradermique¹⁰¹ • Aspiration mécanique en transcutané suivant des mouvements de va-et-vient selon un trajet tangentiel 	<ul style="list-style-type: none"> • Automatisation • Indolore • Peu traumatique • Aucune cicatrice 	<ul style="list-style-type: none"> • Risque de léser des structures nobles • Matériel couteux • Ne préserve pas l'architecture du tissu
Depuis 1994	LIPOASPIRATION établie par Sydney COLEMAN ^{104,106}	<ul style="list-style-type: none"> • Antiseptique local • Lidocaine 1 % non adréalinée • Seringue vissée LuerLock de 20mL munie d'un bloqueur • Aiguille Ø2-3 mm, longueur 4-15 cm à bout mousse et ouverture latérale 	<ul style="list-style-type: none"> • Désinfection cutanée • Anesthésie intradermique¹⁰¹ • Aspiration manuelle par insertion de l'aiguille¹⁰⁵ en transcutané suivant un trajet tangentiel 	<ul style="list-style-type: none"> • Simple • Matériel minime • Asepsie totale du prélèvement • Indolore • Peu traumatique • Aucune cicatrice 	<ul style="list-style-type: none"> • L'architecture du tissu n'est pas conservée • Destruction des fibres de la matrice extracellulaire

De nos jours, la technique de Coleman est la plus utilisée¹⁰⁶ par le corps médical notamment en chirurgie esthétique. Accessible, rapide et efficace, elle permet de récolter de 0,2 à 2,0 g de tissu adipeux par minute et permet d'éviter toute exposition des cellules à l'air¹⁰⁷.

FIG 18 : LIPOASPIRATION / LIPOSUCCION



PURIFICATION

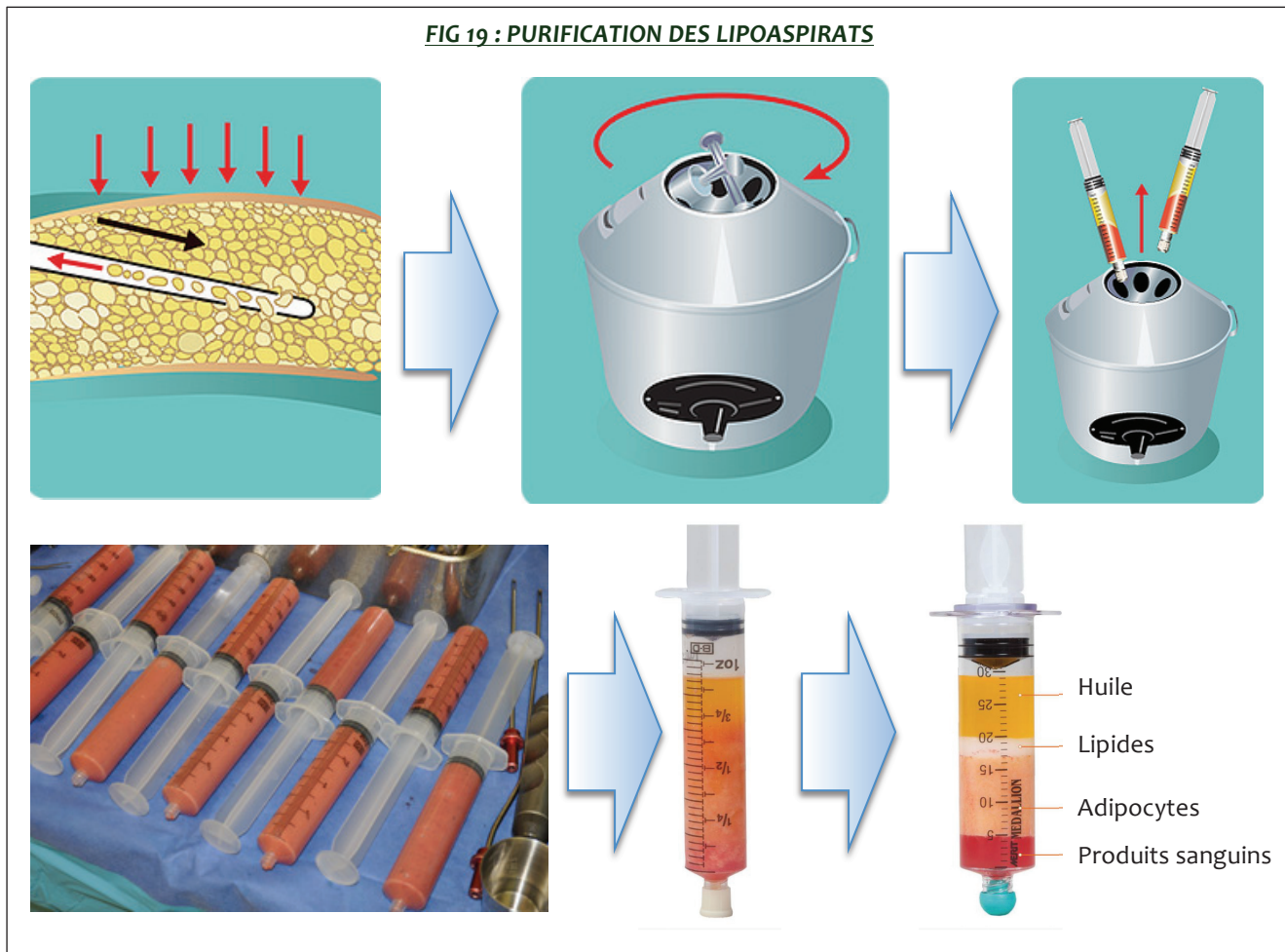
De nombreux auteurs ont tenté d'améliorer cette technique en y ajoutant des étapes de purification, par lavage, décantation ou de centrifugation.

- **LAVAGE** : Certains auteurs^{108,109} lavent leur prélèvement au sérum physiologique, pour débarrasser celui-ci du sang résiduel. En effet, la présence de sang pourrait stimuler une réaction macrophagique importante, délétère pour le greffon¹¹⁰. D'autres^{111,112} utilisent le lavage au Ringer-lactate®. **CHAJCHIR ET BENZAKEN**¹¹³, au contraire, pensent que le lavage change la morphologie des adipocytes et entraîne une perte de fibrine. Cette dernière améliorerait, d'après eux, l'adhésion du tissu greffé. D'autres estiment que ce sont les traumatismes mécaniques et osmotiques qui sont délétères aux adipocytes.
- **DECANTATION**^{111,113,114} : Le but de la décantation est de séparer les débris cellulaires : l'huile issue de la destruction de certains adipocytes, le sang et le tissu adipeux purifié. Ce dernier est la partie utile pour le transfert. La décantation permet de réaliser cette séparation sans traumatiser les adipocytes. Cependant, elle allonge considérablement le temps de l'intervention. De plus, elle augmente le risque d'oxydation des adipocytes par contact avec l'air ambiant.
- **CENTRIFUGATION** : Les seringues de 10 ou 20 ml sont obturées à l'aide de bouchons, le piston est retiré et les seringues sont entreposées dans un rack stérile avant que leurs contenus soient introduits dans la centrifugeuse. Elle constitue un point important pour **Sydney COLEMAN**¹¹⁵. Il a repris la description d'**ASKEN**¹¹⁶ qui a été le premier à avoir utilisé la centrifugation dans le but d'obtenir une graisse purifiée. Plusieurs auteurs ont étudié la centrifugation afin de trouver le meilleur compromis entre temps, vitesse de centrifugation, et survie des adipocytes. **BOSCHERT**¹¹⁷ estime que le meilleur compromis est une centrifugation à 50 g pendant deux minutes. Cependant, en 2004, **ROHRICH**¹¹⁸, ne retrouve pas de bénéfice à la centrifugation, en terme de viabilité des adipocytes.

À l'issue de cette centrifugation, le contenu de la seringue est séparé en trois phases :

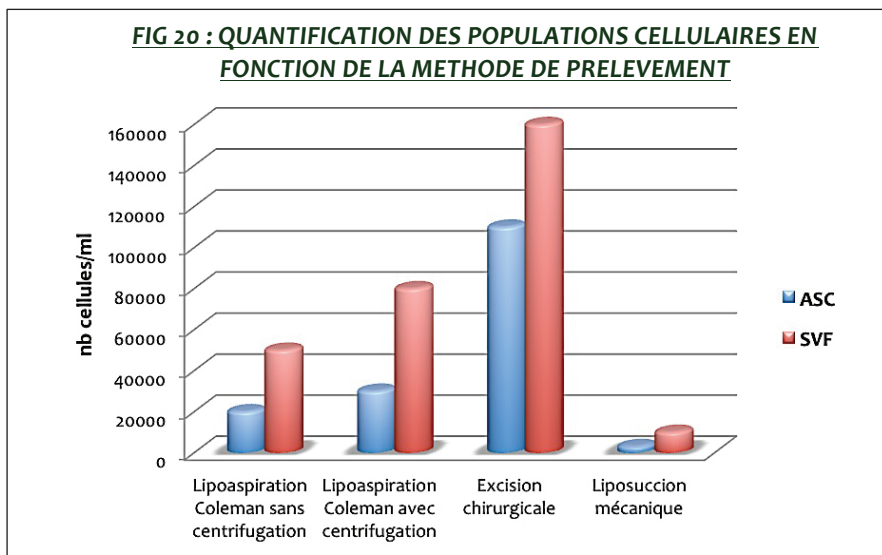
- **le surnageant**, huileux, est fait de triglycérides issus des adipocytes abîmés et constitue la partie la moins dense,
- **la partie intermédiaire** : c'est dans cette partie que l'on trouve les adipocytes,
- **la partie basse de la seringue** contient essentiellement les produits sanguins et les débris d'origine hématique avec le reste du produit d'infiltration.

FIG 19 : PURIFICATION DES LIPOASPIRATS



QUELLE TECHNIQUE CHOISIR ?

Voici une étude récapitulative menée par le **Dr. IYYANKI¹¹⁹** qui analyse de façon quantitative la fraction stomavasculaire (FSV) et les cellules souches du tissu adipeux (ASC) récoltées au niveau de la hanche en fonction de la méthode de prélèvement :



De cette étude, nous tirons 3 enseignements :

- L'excision chirurgicale permet d'obtenir significativement 2 à 3 fois plus de précurseurs et de cellules souches,
- La lipoaspiration par technique de Coleman a donné significativement plus de cellules que la liposuccion mécanique,
- La purification par centrifugation permet d'obtenir plus de précurseurs, mais pas de façon significative.

F. LA BOULE DE BICHAT, UNE SOLUTION DE CHOIX EN ODONTO-STOMATOLOGIE :

PRESENTATION

HEISTER^{120,121} en 1732 n'y voyait qu'une glande salivaire. En 1801, **BICHAT**¹²² a remarqué que le développement de ces sites profonds se faisait plus tard que celui de la graisse sous-cutanée chez l'enfant. Il décrit au niveau de la joue un site profond placé entre le masseter et le buccinateur. De plus, il remarqua que ce tissu adipeux résistait aux grandes périodes de jeûnes, contrairement au tissu adipeux sous-cutané de la joue. Cette localisation est depuis connue sous le nom de Boule de Bichat.

PARTICULARITES

Le coussinet adipeux buccal ou « Buccal fat pad » est la première structure grasseuse à apparaître chez le fœtus dès la 11^{ème} semaine in utéro.

Tissu adipeux blanc ou brun ? Ce n'est qu'en 2014 qu'une équipe américaine¹²³ a tranché sur le sujet, en affirmant qu'à la naissance la boule de Bichat est constituée de tissu adipeux brun, mais qu'après quelques semaines, il se convertit en tissu adipeux blanc.

Sa particularité réside dans son **origine embryologique**. En effet, contrairement aux autres masses grasseuses, la boule de Bichat a une origine **neurectodermique** (crêtes neurales) et non mésodermique.

ANATOMIE

Localisée dans la loge manducatrice, entre le tendon du muscle temporal et le processus coronoïde, elle pèse en moyenne 9,7 grammes et correspond à un volume de 10 cm³.

Constituée d'un corps se prolongeant par 4 extensions :

- extension ptérygopalatine
- extension temporelle
- extension ptérygoïde
- extension buccale (la plus superficielle, située sous le canal de la parotide).

FONCTION

Deux fois plus grande chez le nourrisson, la boule de Bichat a pour fonction de **faciliter la succion chez le fœtus** et le nourrisson et de renforcer les capacités du muscle buccinateur et des autres muscles de la mastication. Plus tard, sa fonction sera d'augmenter le **mouvement intermusculaire**^{124,125} durant la mastication et de contribuer aux contours des tissus mous du visage.

UTILISATION ACTUELLE EN CHIRURGIE

L'utilisation du coussinet adipeux buccal a gagné en popularité au cours des dernières années en raison de sa fiabilité, facilité de récolte, et de faible taux de complications.

Il a été utilisé comme :

- Greffon pédiculé dans les procédures d'augmentation/reconstruction du visage¹²⁶⁻¹²⁹
- Réparation des fistules oro-antrales persistantes après extractions dentaires¹³⁰⁻¹³²,
- Traitement des fibroses oraux sous-muqueux^{133,134},
- Greffon pédiculé pour reconstruire des défauts maxillaires après résection d'une tumeur^{135,136}
- Membrane de fermeture après élévation sinusienne par voie latérale, ou directement au contact de la membrane sinusienne en cas de perforation
- Recouvrement de récessions classe IV Miller¹³⁷
- Traitement atteinte furcation de classe II

FIG 21 : ANATOMIE DE LA BOULE DE BICHAT

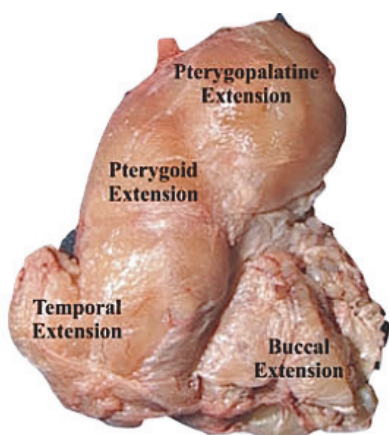
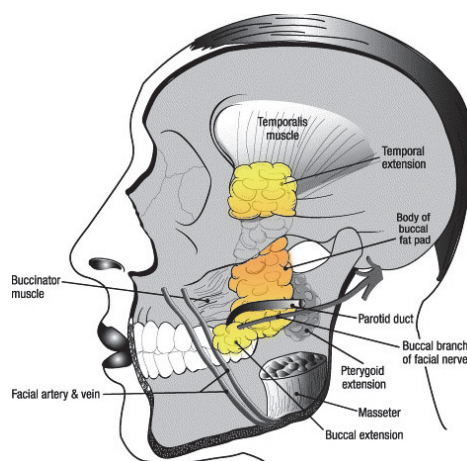


FIG 22 : LOCALISATION DE LA BOULE DE BICHAT



AVANTAGES DE LA BOULE DE BICHAT PAR RAPPORT AU TISSU ADIPEUX SOUS-CUTANE

- Facilement **accessible** : procédure micro-invasive, prélèvement directement dans la cavité orale au cours de la séance,
- **Sécuritaire** : Indolore et sans suite opératoire,
- **Tissu adipeux constant au cours de la vie**, peu importe la corpulence de la personne, il résiste même au jeûne,
- **Capacité d'adhérence aux structures** osseuses, au ligament parodontal, aux membranes de collagène, au titane qui induisent la différenciation des cellules souches (sans stimuli chimique),
- **Excellent potentiel de différenciation** des cellules souches : ostéogénique, chondroblastique, parodontale comparable au tissu adipeux sous-cutané.

De plus, les cellules souches du corps adipeux de la joue présentent une **interaction avec les amélogénines** ¹³⁸ (**protéines dérivées de la matrice de l'émail – Emdogain Straumann**) qui semblent agir comme un puissant facteur ostéo-inducteur. Ce qui le rend très intéressant pour une **régénération parodontale**.

Cet effet a été démontré in-vitro par **Dr. BROCCAIOLI**^{139,140} **et AL.** qui ont ensemencé des cellules stromales de la boule de Bichat avec des amélogénines et ont observé au 7^{ème} jour, une augmentation de la sécrétion de la protéine ALP de 220%, et donc une élévation de la production de collagène de 32,5%.

Ainsi, le corps adipeux de la joue remplit tous les critères du **greffon idéal**, promettant des résultats très encourageants en odontostomatologie.

TECHNIQUE DE PRELEVEMENT

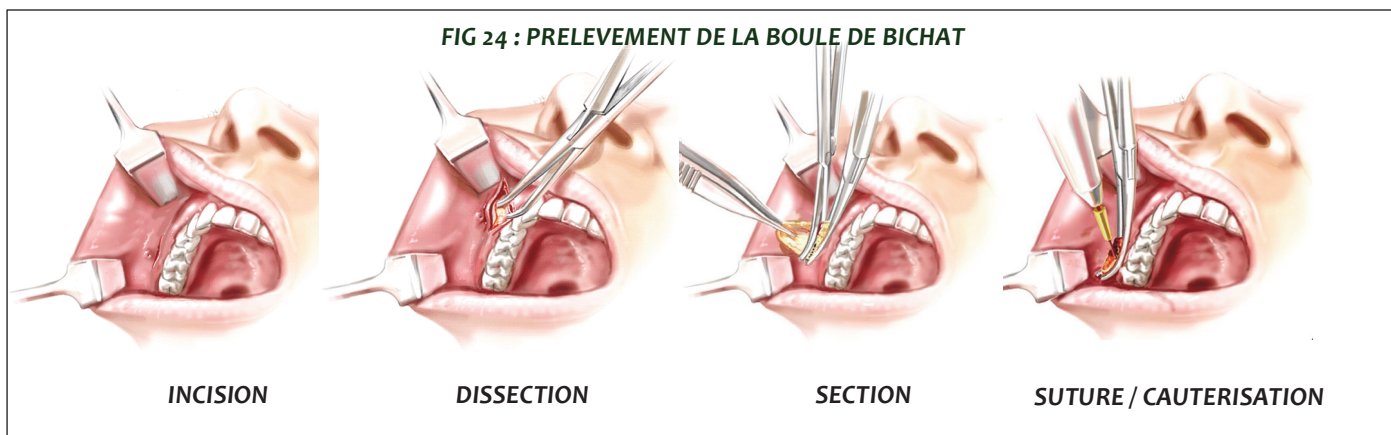
- **Désinfection** de la cavité buccale
- **Anesthésie** par infiltration locale dans le fond du vestibule en regard des molaires maxillaires
- **Incision** dans le sillon gingivobuccal sur 2 cm (au dessous de l'orifice de la parotide)
- Passer à travers les fibres du buccinateur à l'aide des ciseaux de Metzenbaum
- **Disséquer** sans crainte jusqu'à découverte de la graisse jaune-orange
- Inciser la capsule mince de la boule graisseuse
- **Tirer la boule graisseuse** à l'aide d'une précelle
- **Clamper** la boule graisseuse au delà de 2 cm
- **Sectionner** la boule à l'aide de ciseaux
- **Si besoin, cautériser** la partie graisseuse restante
- **Suturer** le fond du vestibule par une série de points simples résorbables.

FIG 23 : PRELEVEMENT VIDEO



Suivi post op : antibiothérapie et autres conseils : ne pas souffler, cracher, se moucher trop fort, ni boire à la paille, ne pas monter en altitude, ni plonger, ne pas fumer.

FIG 24 : PRELEVEMENT DE LA BOULE DE BICHAT



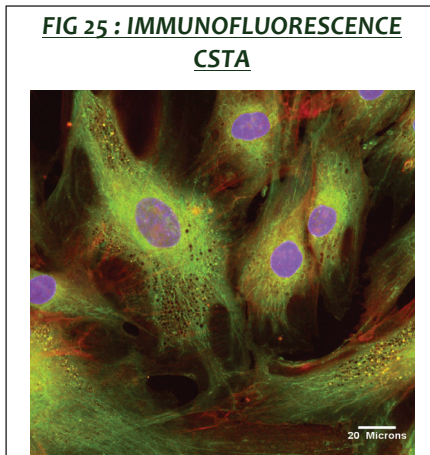
IV. LES CELLULES SOUCHES DU TISSU ADIPEUX

A. PRESENTATION

En 2001, l'équipe américaine dirigée par le **Dr.PATRICIA ZUK**^{141,142} a été la première à découvrir que les préadipocytes étaient en fait des précurseurs multipotents capables de se différencier non seulement en adipocytes mais aussi en une multitude de populations cellulaires. Les préadipocytes ont alors été rebaptisés cellules souches du tissu adipeux : CSTA (ou ASCs pour Adipose-Derived Stem Cells) puis cellules stromales du tissu adipeux.

CELLULE SOUCHE OU STROMALE ?

Une cellule souche est définie par deux critères : une capacité à engendrer des cellules spécialisées par différenciation cellulaire et une capacité à se maintenir dans l'organisme : l'auto-renouvellement. Dans le cadre du tissu adipeux, la capacité d'auto-renouvellement n'a pas été définitivement établie. Ainsi, en accord avec l'International Federation for Adipose Therapeutics and Science (IFATS)¹⁴³, il semble actuellement préférable d'utiliser le terme de « cellule stromale » au lieu de souche. Cependant, dans la rédaction de cette thèse d'exercice, les termes « cellules souches » semblaient plus accessibles, et accrocheurs pour les chirurgiens dentistes.



UNE TERMINOLOGIE ALAMBIQUEE

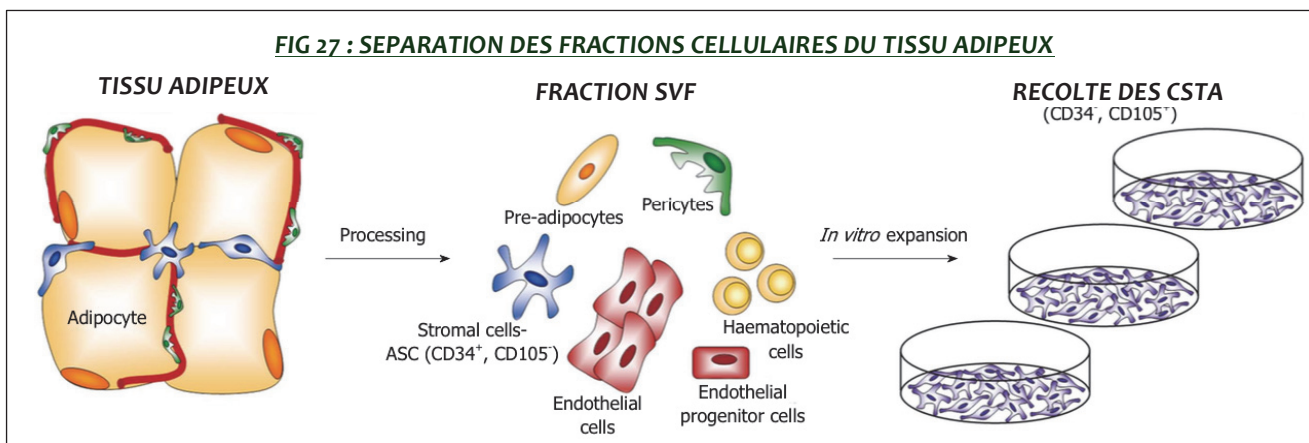
Pour compliquer les recherches, nous avons recensé près de dix termes différents pour caractériser ces cellules :

<ul style="list-style-type: none"> • adipose-derived adult stem (ADAS) cells • adipose-derived adult stromal cells • adipose-derived stromal cells (ADSC) • adipose stromal cells (ASC) • adipose mesenchymal stem cells (AdMSC) 	<ul style="list-style-type: none"> • préadipocytes • processed lipoaspirate (PLA) cells • adipose-derived stromal/stem cells (ASCs) • lipoblast • péricyte
---	---

De plus, une autre difficulté réside dans le fait que le terme CSTA est aussi utilisé dans la littérature pour la fraction stromale vasculaire brute. Cette fraction est fortement hétérogène et contient plusieurs sous-populations cellulaires incluant les CSTA natives, des cellules endothéliales et des cellules hématopoïétiques, ces dernières représentant une grande partie de la fraction. De notre point de vue, le terme CSTA devrait être limité aux cellules stromales multipotentes purifiées.

Pour résumer¹⁴⁴ :

FRACTION STROMA VASculaire (FSV)	Fraction cellulaire fraîchement isolée par centrifugation	Fraction hétérogène	Directement isolée par excision, lipoaspiration ou liposuction.
CELLULES SOUCHES / STROMALES DU TISSU ADIPEUX (CSTA)	Population issue de la culture de cellules adhérentes	Fraction homogène	Dérivées de la FSV propagée dans la culture.



B. LES DIFFERENTES FRACTIONS CELLULAIRES DU TISSU ADIPEUX

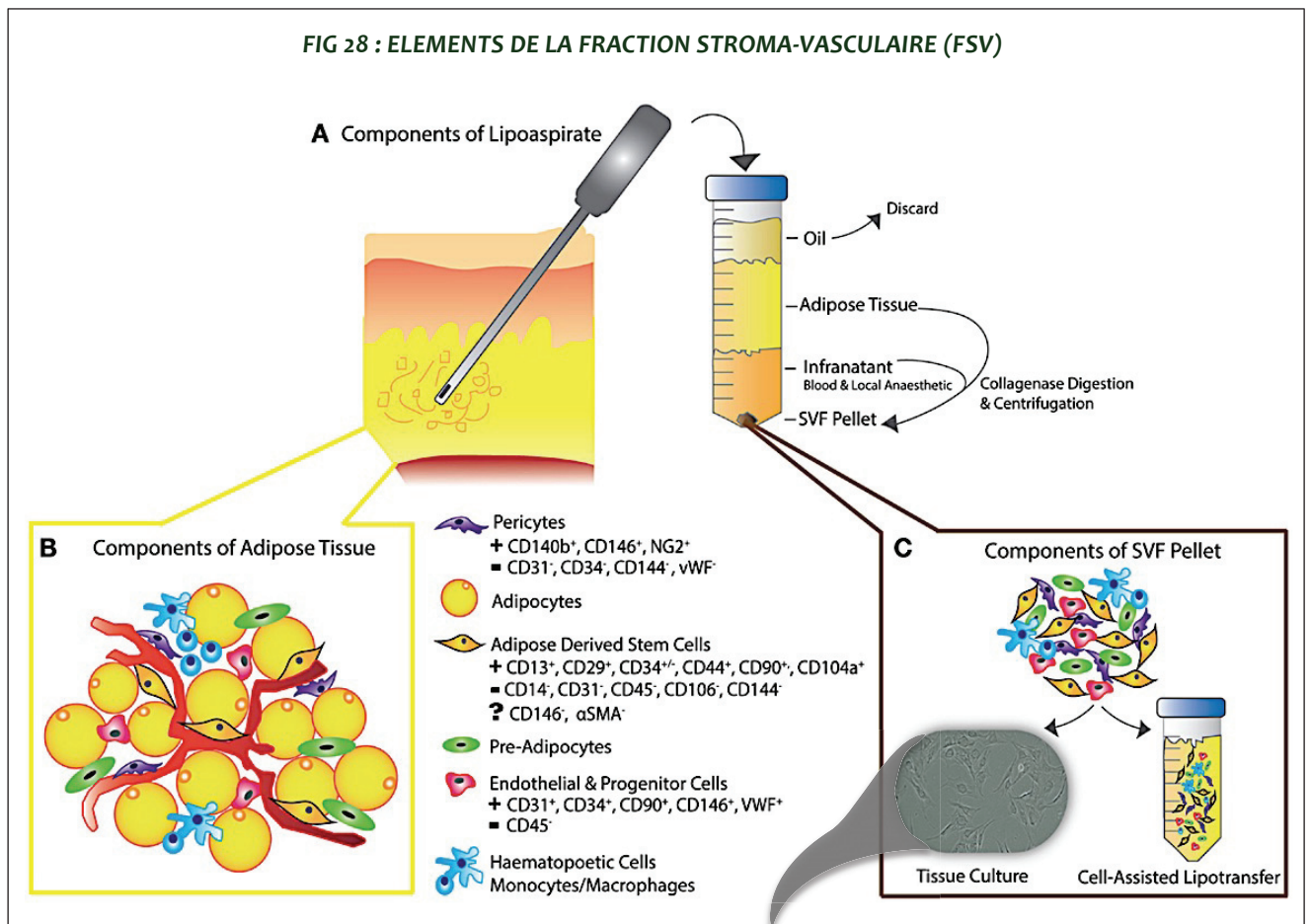
Le tissu adipeux présente une grande hétérogénéité cellulaire. Outre les adipocytes matures qui sont la composante cellulaire majeure, le tissu adipeux renferme une fraction non-adipocytaire nommée la fraction stroma-vasculaire (FSV). La FSV correspond à la population cellulaire très hétérogène entourant les adipocytes dans le tissu gras.

Ces deux fractions peuvent être séparées, après digestion à la collagénase (1%) et centrifugation à 1000 tours/min, grâce à la différence de densité entre les adipocytes qui sont gorgés de lipides et remontent à la surface et les autres types cellulaires qui sédimentent, notamment des cellules souches du tissu adipeux : CSTA.

C. LA FRACTION DE STROMA-VACULAIRE (FSV)

POPULATION CELLULAIRE RESIDANT DANS LA FSV :

		% Total des cellules nucléées	
CELLULES HEMATOPOIETIQUES	Cellules progénitrices	< 0,1 %	25-45%
	Granulocytes	10-15 %	
	Monocytes	5-15 %	
	Lymphocytes	10-15 %	
CELLULES ENDOTHELIALES		10-20%	
PERICYTES		3-5 %	
CELLULES SOUCHES		15-30 %	



FSV ET REGENERATION, PREMIERS ESSAIS CLINIQUES

La fraction stroma-vasculaire a été isolée pour la première fois par **RODBELL** in 1964 en utilisant des enzymes protéolytiques et une centrifugation.

Contrairement au prélèvement de moelle osseuse, la possibilité d'obtenir de manière extemporanée cette fraction « au lit du patient » présente un avantage considérable, de par sa souplesse d'utilisation et sa rapidité de mise en œuvre. Un autre intérêt vient des effets synergiques existant entre les différentes populations cellulaires de cette fraction. Ces avantages sont cependant contrebalancés par l'hétérogénéité de cette fraction et l'impossibilité, dans le bref temps imparti, de définir des contrôles qualité pour évaluer réellement ce qui est injecté. La composition cellulaire pouvant varier de manière considérable selon les patients (effets de l'âge, du sexe, de l'état métabolique, etc.).

En 2003, au CHU de Toulouse dirigé par le **Dr. COUSIN**¹⁴⁵, la première expérience de régénération in-vivo fructueuse fut réalisée sur une souris irradiée, dans le but d'une reconstitution hématopoïétique. De manière spectaculaire, l'injection intraveineuse de la fraction stromale s'est avérée aussi efficace qu'une greffe de moelle osseuse. Cette régénération pourrait être due à une population de cellules souches hématopoïétiques présente dans le tissu adipeux et reconstituant le compartiment hématopoïétique détruit, mais aussi à un effet stimulateur des CSTA sur l'hématopoïèse endogène des souris irradiées.

Chez l'homme, la première étude réalisée par le **Dr.LENDECKEL**¹⁴⁶ a décrit l'utilisation de cette fraction cellulaire pour traiter un défaut osseux massif au niveau crânien. Trois mois après l'application de la fraction stromale brute mélangée avec une colle constituée de fibrine, une néoformation osseuse et une reconstitution presque complète de la voûte crânienne étaient observées. Malheureusement, aucune autre publication n'a suivi ce rapport.

En outre, une étude chez l'Homme réalisée par le **Dr. GÜVEN**¹⁴⁷ et **AL.** note l'efficacité des cellules de la FSV à générer des constructions 3D ostéogéniques, par rapport aux CSTA, soutenant l'idée que les progéniteurs vasculaires dérivés des cellules de la FSV humains accélèrent la prise de la greffe, ce qui aboutit à l'amélioration de l'efficacité et de l'uniformité de la formation de tissu osseux.

COMPARAISON FSV ET CSTA CULTIVEES

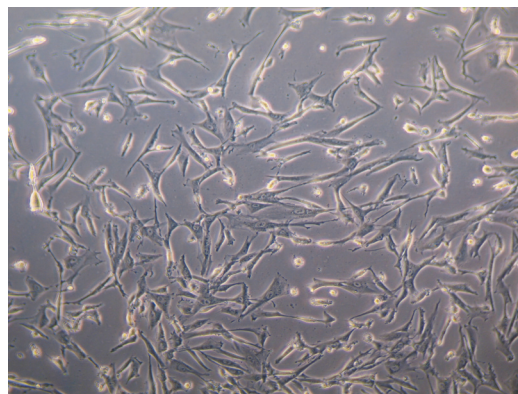
	FRACTION STROMALE BRUTE	CSTA CULTIVEES
TEMPS DE PREPARATION	Extemporane à quelques heures	In vitro : Plusieurs jours
TAILLE DU PRELEVEMENT	Dépendance stricte du nombre de cellules nécessaires	Plus réduit car expansion possible par la culture
QUANTITE DE CELLULES	Fonction de la taille du prélèvement	Fonction de la taille du prélèvement et des temps de culture
HETEROGENEITE	Forte	Limitée
CARACTERISATION PHENOTYPIQUE	Impossible à faire dans les délais de la préparation	Facile à effectuer
EFFET DE LA CULTURE	Absent	D'autant plus important que la culture est longue
PRECONDITIONNEMENT	Limité	Possible
CONTROLES DE QUALITE	Limités	Fortement facilités
REGLEMENTATION	Actuellement, pas d'agrément nécessaire si la préparation des cellules s'effectue dans le bloc opératoire	Agrément obligatoire, tous les produits de culture doivent être validés comme produit annexe de thérapie cellulaire (norme PTA)

D. CARACTERISATION DES CSTA

Les travaux du **Dr. Patricia ZUK**¹⁴² sont semblables à la pierre de Rosette de la médecine régénérative. Ils ont été publiés en 2001 au moment où la communauté scientifique se passionnait pour les cellules souches adultes et leur possible plasticité. Ces résultats furent d'autant plus remarquables que le tissu adipeux est abondant, facile à prélever et permet en quelques passages de culture d'obtenir de grandes quantités de cellules stromales.

Placées en milieu de culture liquide, certaines cellules de la fraction stroma-vasculaire (FSV) vont adhérer au support de culture, proliférer et donner lieu en quelques jours à une population cellulaire plus homogène appelée Adipose-Derived Stromal Cells ou cellules stromales du tissu adipeux (CSTA).

FIG 29 : CSTA EN M.O.



Une fois une culture primaire établie, les CSTA sont facilement et rapidement cultivées ex-vivo¹⁴⁸. La fréquence moyenne des CSTA dans un lipoaspirat traité est de 2% de cellules nucléées. Le rendement des CSTA est d'environ 5.000 fibroblastes unités par gramme de tissu adipeux formant des colonies (CFU-F). Par rapport aux estimations d'environ 100-1000 CFU-F par millilitre de moelle osseuse, cela en fait un excellent candidat pour la thérapie régénérative.

FIG 30 : EXPANSION D'UN LIPOASPIRAT (LIPOGEMS) SUR UN MILIEU DE CULTURE

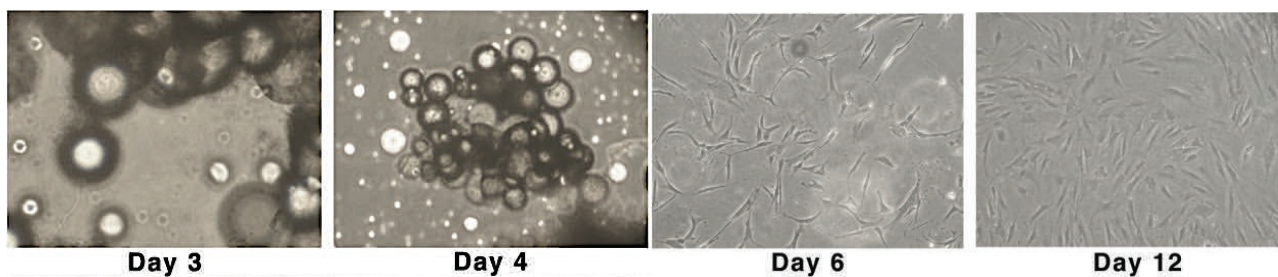
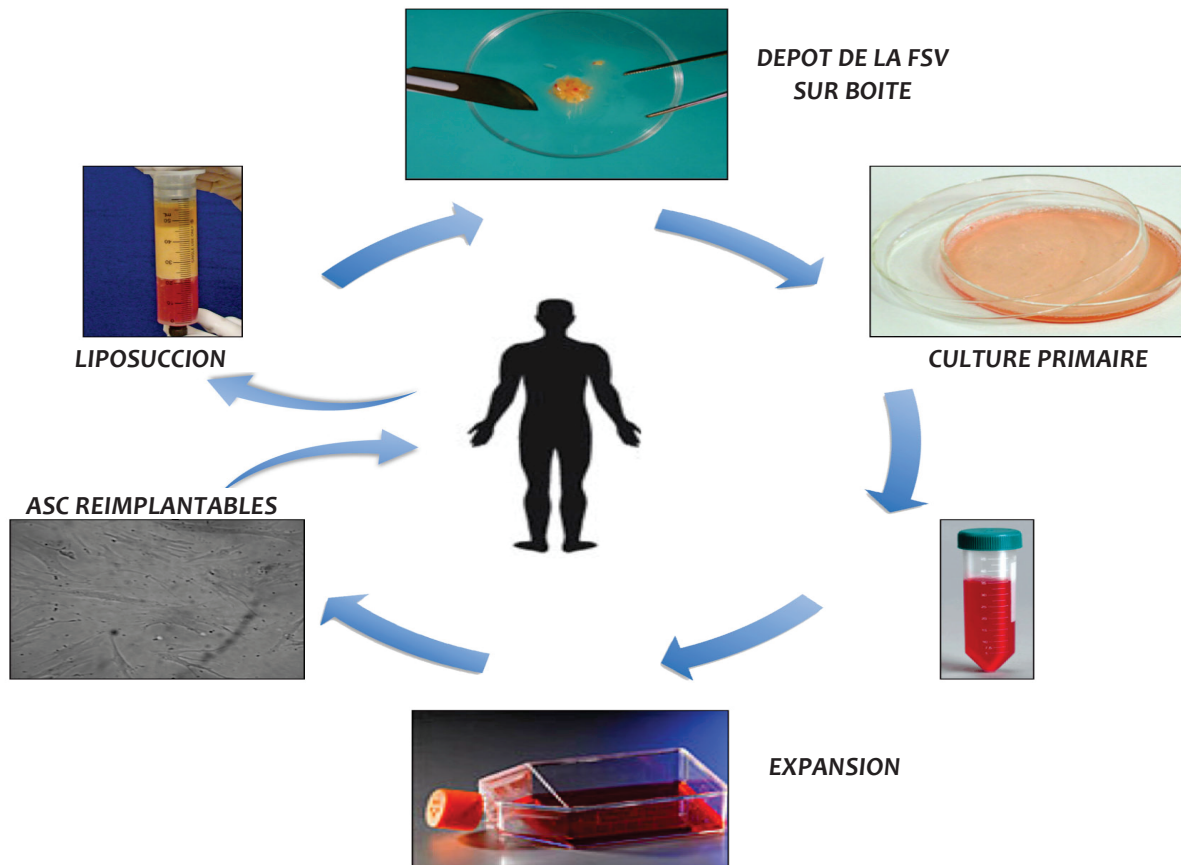


FIG 31 : DU PRELEVEMENT A LA REIMPLANTATION, ISOLEMENT DES CSTA



E. PROTOCOLES D'ISOLEMENT DES CSTA

Depuis la description de **RODBELL**¹⁴⁹ des pré-adipocytes isolés du tissu adipeux, une variété de méthodes ont été développées¹⁵⁰.

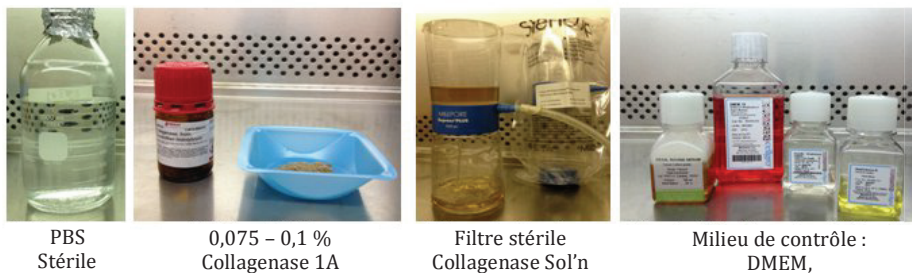
ISOLEMENT ENZYMATIQUE DES CSTA

Aujourd'hui, la plupart des laboratoires utilisent plusieurs étapes communes pour traiter les cellules du tissu adipeux. Voici le protocole opératoire d'isolation manuelle en 4 étapes décrit par **Patricia ZUK**¹⁵¹ en 2001 :

- **Lavage** : Les lipoaspirates sont lavés avec une solution de PBS (Phosphate-buffered saline) pour éliminer les cellules sanguines contaminantes et les anesthésiques locaux.
- **Digestion enzymatique** : les aliquotes sont digérées par voie enzymatique à 37°C pendant 30 minutes avec 0,075% de collagénase type IA comme la trypsine (Sigma, St. Louis, MO, USA) dans du PBS en agitant constamment. Puis filtrées par une membrane Nylon 0.2 µm.
- **Lyse des globules rouges** : par une solution de NH₄Cl, KCO₃, EDTA. Pour réduire le temps d'isolement, cette étape peut être omise car elle semble avoir une influence négative sur la croissance de CSTA.
- **Centrifugation** : Les lipoaspirates digérés sont centrifugés à 1 200-1500 g pendant 5 à 10 minutes, et le culot peut être remis en suspension et passé à travers un filtre à mailles de 100 µm (tamis cellulaire, Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ, USA) pour enlever les débris.

FIG 32 : PROTOCOLE D'EXTRACTION ENZYMATIQUE

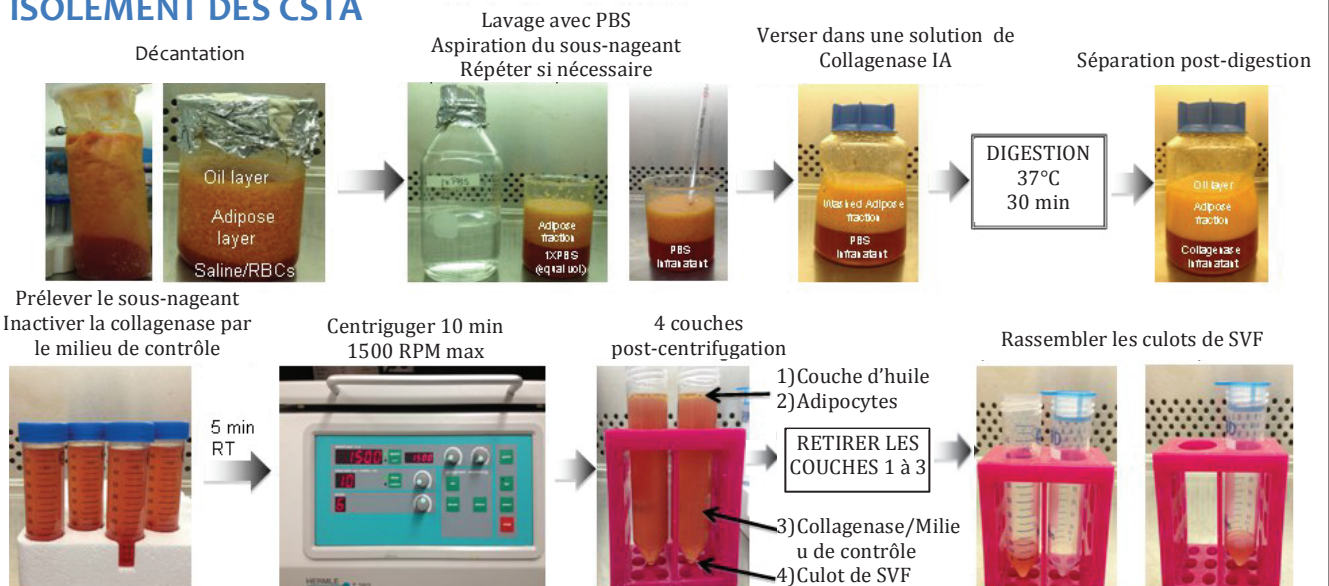
MATERIEL



PROTOCOLE VIDEO



ISOLEMENT DES CSTA



ISOLEMENT MECANIQUE DES CSTA :

La technique décrite par **Leandra BAPTISTA**^{152,153} en 2011 est composée de 2 étapes :

- **dissociation mécanique** du tissu adipeux et **lyse** concomittante des cellules rouges du sang
- **centrifugation à 900g pendant 15 minutes**

Le lipoaspirat est transféré dans un tube avec une solution de lyse des érythrocytes	Le tube est agité au moins 60 secondes, à trois reprises par un équipement vortex	Incubation à 37°C pendant 15 minutes	Centrifugation à 900g pendant 15 minutes
--	---	--------------------------------------	--

ISOLEMENT PAR PROCEDURE LIPOGEMS® :

La méthode LIPOGEMS®¹⁵⁴ mise au point par l'équipe italienne des **Drs. TREMOLADA et VENTURA**¹⁵⁵ se compose d'un kit à usage unique pour la lipoaspiration, le traitement et l'isolement des CSTA. Elle présente de nombreux avantages :

- L'ensemble du processus s'effectue en une **seule étape opératoire directement au bloc opératoire**,
- Technique **non enzymatique, aucun risque de transmission**,
- **100% autologue**, aucun additif,
- **Manipulation minime, sans centrifugation, non traumatique**¹⁵⁶ : l'ensemble du processus est effectué par immersion dans une solution saline qui permet de minimiser tout traumatisme des produits cellulaires,
- Conserve l'ensemble des **niches stromales vasculaires** contenant les cellules mésenchymateuses et les péricytes,
- **Dispositif stérile fermé**, aucun contact des lipoaspirats avec l'air ambiant,
- **Procédé facile, rapide (5 min), peu coûteux, matériel minime.**

FIG 33 : KIT LIPOGEMS

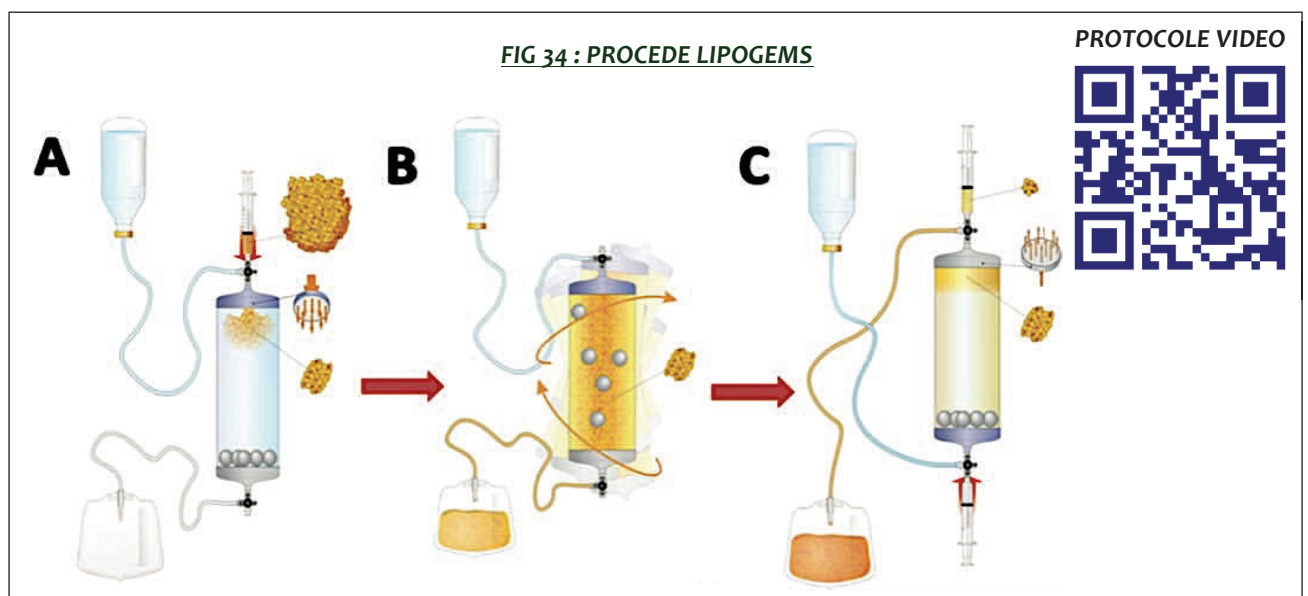


Présentation du dispositif : Il s'agit d'un dispositif médical de classe II à usage unique composé d'un cylindre en plastique transparent muni de 2 filtres (bleu et gris) et de 5 billes d'acier. Les filtres sont équipés de connecteurs Luerlock pour y fixer les seringues et les lipoaspirats récoltés. Un tube d'entrée sert à remplir le cylindre d'eau saline et l'autre permet l'élimination des déchets dans une poche. La solution saline doit être fixée à un gras et la poche au sol afin de profiter de la gravité.

Protocole opératoire¹⁵⁷ :

- 1) Lipoaspiration classique type Coleman
- 2) Transfert des lipoaspirats dans l'enceinte par le filtre large (bleu)
- 3) Agiter l'enceinte, les billes d'acier vont induire des micro-fractures du tissu adipeux jusqu'à obtention d'une solution claire. Les traces de sang, d'huile et de solution saline se déversent dans la poche par la gravité.
- 4) Connecter une seringue 10 ml et transférer le substrat

FIG 34 : PROCEDURE LIPOGEMS

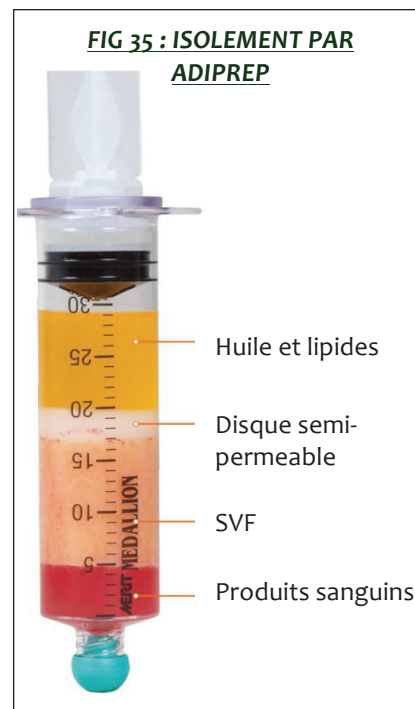


ISOLEMENT PAR PROCÉDE ADIPREP®

La société américaine HARVERST propose une solution simple et rapide pour l'isolement des fractions cellulaires des lipoaspirats. Les lipoaspirats prélevés sont transférés dans une seringue munie d'un « disque de barrière lipidique » jouant le rôle de membrane semi-perméable qui isole proprement la fraction lipidique.

Avantages :

- Identiques au procédé Lipogems : **seule étape opératoire directement au bloc opératoire**, technique **non enzymatique**, **aucun risque de transmission**, **100% autologue**, aucun additif, **manipulation minimale**, **sans centrifugation**, **non traumatique**, conserve l'ensemble des niches **stromales vasculaires** contenant les cellules mésenchymateuses et péricytes, **dispositif stérile fermé**, **procédé facile**, **rapide (4 min)**, **peu coûteux**, **matériel minime**
- **Élimination facile du surnageant** par le disque semi-perméable
- **Maintien de la fraction stromavasculaire dans son intégrité** (matrice + cellules) qui garantit la viabilité cellulaire de 78 à 95% selon les données du fabricant¹⁵⁸.
- **Composants du FSV isolé :**
 - 444 000 cellules nucléées par ml
 - 160 000 CSTA par ml.



Voici le protocole :

1 	2 	3 	4 	5 
Lipoaspiration	Transfert dans la seringue munie du disque	Placer la seringue dans la centrifugeuse	Centrifuger 4 minutes à 1000g	Recolter le culot dans une seringue

ISOLEMENT PAR PROCÉDE INTELLICELL® :


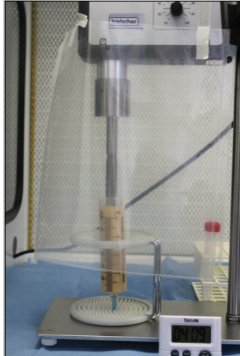


Système d'extraction de la FSV mis au point par l'entreprise BIOSCIENCES utilisant les ultrasons pour séparer le réseau de capillaires des adipocytes. Durée de l'isolement : 1h.

Protocole :


- lipoaspiration classique et lavage avec solution stérile
- **cavitation ultrasonique : casse les liaisons entre les adipocytes par création de bulles d'air**
- filtration puis centrifugation à faible vitesse
- recueil du culot de FSV

Les premiers essais cliniques employant ce procédé sont apparus dans des études sur l'ostéoarthrose, les blessures sportives, le traitement des brûlures profondes de la peau, la chute capillaire, ou encore les récessions gingivales¹⁵⁹ ! (Détailé dans le chapitre VI.C).

FIG 36 : PROCÉDE INTELLICELL

PROTOCOLE INTELLICELL



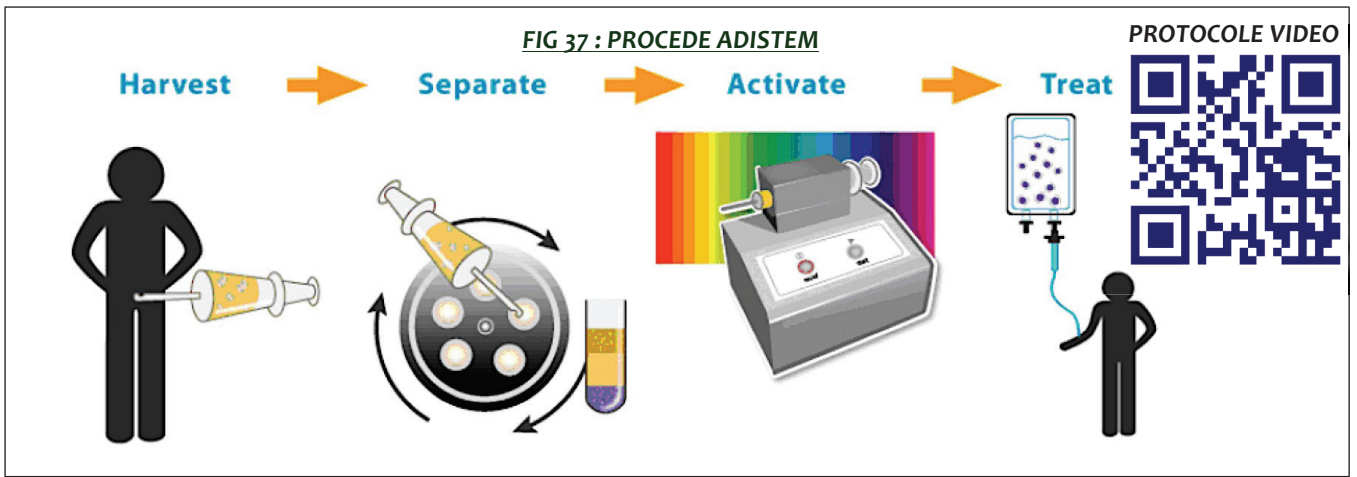
ISOLEMENT PAR PROCEDE ADISTEM® :

La firme ADISTEM a développé une méthode d'isolement et d'activation des cellules souches du tissu adipeux en 2 étapes : centrifugation et photo-activation¹⁶⁰.

Une philosophie en 3 concepts :

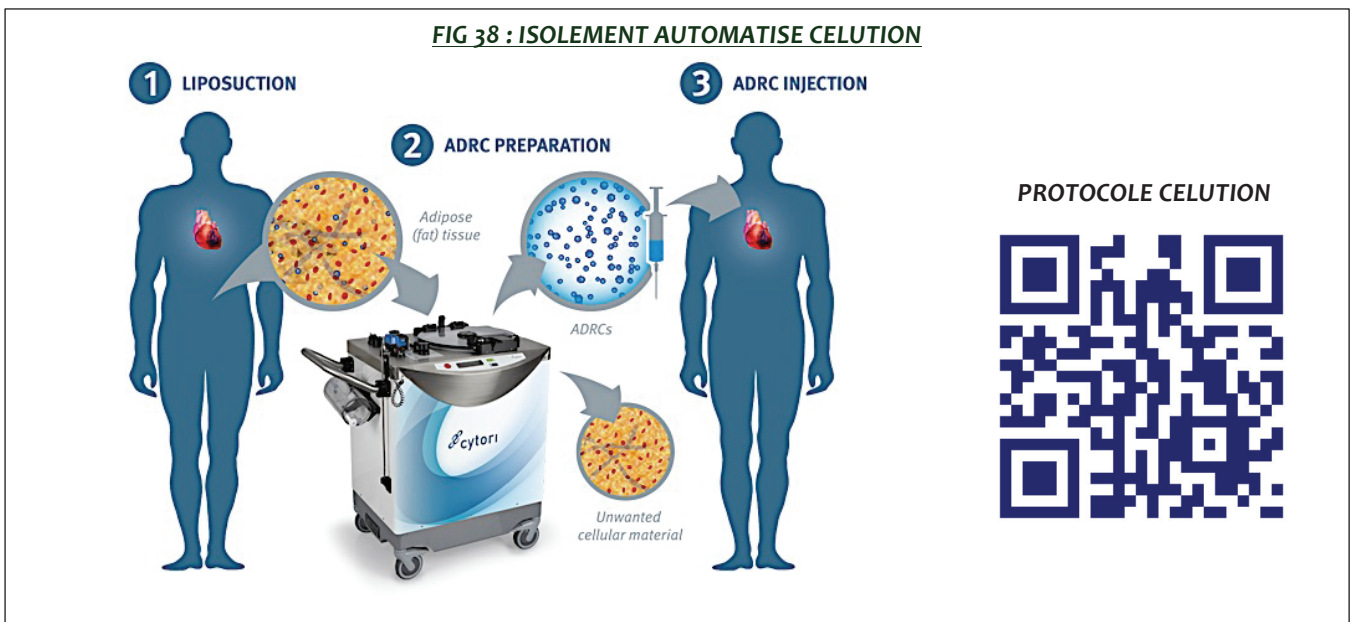
- les cellules n'ont pas besoin d'être expansées¹⁶¹
- le lipoaspirat est mélangé avec du PRP (plasma riche en plaquettes) qui apporte de nombreux facteurs de croissance
- une étape de photoactivation par lumière monochromatique¹⁶² (LED Technology Adilight2) augmente la fonctionnalité des cellules souches.

Nous avons très peu de détails sur le procédé de photoactivation, encore mis sous silence par la firme. Cependant, des résultats prometteurs sont annoncés par des essais cliniques de phase I et II dans les domaines du diabète de type II, de la reconstruction mammaire post-tumorale, de la fibrose pulmonaire idiopathique, de l'ostéoarthrose, du choc emphysème, des problèmes cardiaques, de la maladie de Parkinson, de la régénération capillaire, etc.



ISOLEMENT AUTOMATISE CELUTION® :

Les CSTA ont été de plus en plus utilisées dans la chirurgie réparatrice (cicatrices¹⁶³, cardiovasculaire, reconstructions mammaires¹⁶⁴, lifting¹⁶⁵) mais le protocole de séparation enzymatique devenaient trop long et trop rigoureux. C'est pour cela que la société Cytori Therapeutics Inc. a développé un système fermé appelé **CELUTION**^{166,167} pour isoler et concentrer automatiquement les cellules souches et les cellules régénératives du tissu adipeux. La séparation des CSTA peut être réalisée en 1h30, ce qui représente un avantage énorme lors de chirurgies. Le système Celution est le premier appareil médical validé et approuvé par les autorités réglementaires internationales. Mais évidemment, derrière toute technologie de pointe se cache un coût pharaonique de l'appareil et un coût non négligeable de 1950\$ pour chaque kit d'utilisation à usage unique. Ce qui limite son utilisation dans le domaine dentaire.



QUEL PROCÉDE UTILISER EN ODONTOSTOMATOLOGIE ?

Bien que majoritairement représentée dans la littérature, la technique d'isolement enzymatique présente de nombreux inconvénients :



- nécessite une **phase laboratoire longue et coûteuse**
- culture dans un **milieu non stérile** : le lipoaspirat est au contact de l'air
- **risque de transmission allergénique** : elle utilise des enzymes collagénases d'origine animale et un milieu de sérum foetal bovin (FBS).
- **difficulté à maintenir les cellules souches mésenchymateuses (CSM) en culture** car il contient des facteurs de croissance qui poussent les cellules à se différencier. Le développement d'anticorps au FBS s'est déjà produit et a entraîné la mort cellulaire après transplantation in-vivo. Ainsi, il serait essentiel de développer un système de culture xéno-libre. L'utilisation de sérum allogène humain (HS) ou d'une culture sérum free (SF) résoudrait ce problème.

De ce fait, nous orienterons notre choix vers **les procédés LIPOGEMS® ou ADIPREP®** en raison de leur simplicité et de leur rapidité d'exécution, de leur matériel et de leur coût moindre. Une étude du **Dr. Francesca BIANCHI**¹⁶⁸ (2013), analyse le potentiel des lipoaspirats issus d'une digestion enzymatique et du système LIPOGEMS, voici ses conclusions :

	LIPOGEMS	DIGESTION ENZYMATIQUE
Architecture du FSV	Préservée intégralement	Désorganisée
Nombre de péricytes et CSTA	Haut rendement	Rendement plus faible
Détections des marqueurs	Très importante	Moins importante
Possibilité de prélèvement post-mortem pour étude	Oui	Rare
Possibilité d'utilisation allogénique par cryopréservation	Oui	Non
Réponse aux facteurs de croissance	Remarquable	Plus faible comparativement
Risque de transmission d'allergènes	Non	Oui
Coût	Minime	Elevé : cliniquement inconcevable
Durée	5 minutes directement après le prélèvement au bloc	Plusieurs heures, au laboratoire nécessité de différer l'opération

F. COMPARAISON AVEC LES CELLULES SOUCHES DE LA MOELLE OSSEUSE

Bien que proches, les CSTA et les BMSC présentent un certain nombre d'avantages par rapport aux BMSC quant à leur éventuelle utilisation clinique.

	CSTA	CSMO
SITE DE PRELEVEMENT	Graisse sous-cutanée	Moelle osseuse : os iliaque
TYPE D'ANESTHESIE	Anesthésie locale	Anesthésie générale
CARACTERE INVASIF	Léger : aspiration sous-cutanée	Très invasif : forage osseux
MORBIDITE DU SITE PRELEVEUR	Se comble facilement (Gimble 2003)	Se régénère difficilement
DOULEURS POST-OPERATOIRES	Rares	Importantes (antalgique palier 2)
COMPLICATIONS EVENTUELLES	Rares	Nombreuses
NOMBRE DE CELLULES / 30cm ³	12.10 ⁶	10 ⁵
PLASTICITE	+++++	+++
QUANTITE SUFFISANTE POUR APPLICATION CLINIQUE	Oui toujours	Pas toujours, nécessite parfois de réintervenir
PLATEAU TECHNIQUE	Ambulatoire : Seringue d'anesthésie, seringue de prélèvement, pansement	Hospitalier : Bloc opératoire, matériel de chirurgie, trépan osseux, matériel de réanimation
COÛT DE L'OPERATION	+	++++
DURÉE DE L'OPERATION	+	++++
TECHNIQUE DE PRELEVEMENT		

G. IMMUNOPHENOTYPAGE DES CSTA

Après leur isolation, les cellules sont étalées dans des boîtes de culture de 10 cm de diamètre, à une densité de 5×10^6 cellules, dans un milieu essentiel minimal de Dulbecco (DMEM) avec une faible concentration de glucose, contenant 10% de sérum bovin fœtal (FBS) et des antibiotiques (100 U / ml de pénicilline G et 100 ug / ml de streptomycine). Tous les deux jours, le milieu est changé pour éliminer les cellules non adhérentes. Les cellules adhérentes sont ainsi cultivées pendant sept jours, puis trypsinisées, comptées et analysées.

Le typage cellulaire ou immunophénotypage repose sur l'existence, à la surface des cellules ou dans leur cytoplasme, de molécules spécifiques appelées **antigènes de différenciation**. Ces molécules sont identifiées par le biais d'anticorps monoclonaux regroupés en classes (ou clusters) de différenciation, les CD.

La caractérisation de l'immunophénotype correct des CSTA a été controversé pendant une longue période. De nombreuses études ont tenté de caractériser les CSTA par **un marqueur cellulaire unique**, mais sans succès pour l'heure. Dans cette incertitude la Fédération Internationale des Thérapeutiques adipeux et de la Science (IFATS) et la Société Internationale de Thérapie Cellulaire (ISCT) ont tenté de clarifier la situation en définissant les critères minimaux pour l'identification des CSTA¹⁶⁹ :

FIG 39 : IMMUNOPHENOTYPAGE

MARQUEURS	NOM COMPLET	ROLE DE L'ANTIGENE	FVS				CSTA en culture (4 passages)	BMSC	MSC
			CSTA non mis en culture	Cell dérivées du sang	Cell endothéliales	Péricytes			
MARQUEURS DE LA LIGNEE HEMATOPOÏETIQUE	CD34	Mucosialine	Adhère cellule et contrôle de la différenciation des cellules hématopoïétiques	+	—	+	—	—	—
	CD31	PECAM : platelet endothelial cell adhesion	Migration transendothéliale	—	—	+	—	—	—
	CD45	PTPRC : Protein Tyrosine Phosphatase Receptor Type C	Régule la croissance cellulaire, la différenciation et la transformation oncogénique	—	+	—	—	—	—
MARQUEURS TYPIQUES DES CELLULES MESENCHYMATEUSES	CD13	Aminopeptidase N	Présentation des antigènes à la surface des cellules, se lie au zinc	+	NR*	NR*	NR*	+	+
	CD73	5'-NT : 5'-nucléotidase	Régulation de la fonction endothéliale par les lymphocytes	+	NR*	NR*	NR*	+	+
	CD90	Thy-1 : THymocyte differentiation antigen 1	Contrôle de l'apoptose, suppression tumeur, adhésion, extravasation migration	+	NR*	+	+	+	+
	CD105	Endoglin	Angiogénèse, modulation de la réponse aux TGF- β , BMP2, BMP7	+/-	+/-	+/-	—	+	+
AUTRES MARQUEURS	CD10	Nesprilysine ou CALLA : Common acute lymphoblastic leukemia antigen	Marquage des lymphocytes tumeur-spécifique	+	NR*	NR*	NR*	+/-	+
	CD36	FAT : Fatty Acid Translocase	Différenciation des adipocytes, thermogénèse des adipocytes brun	+	NR*	NR*	NR*	+	—
	CD106	VCAM-1 : Vascular Cell Adhesion Molecule -1	Adhésion cellulaire, transduction du signal	+/-	NR*	+	NR*	—	+

*NR : non référencé

De nombreuses études ont tenté de caractériser le contenu en cellules souches des lipoaspirats par des approches biochimiques et moléculaires. Toutes ont démontré que les molécules de surface exprimées par les CSTA sont nombreuses et que leur nombre évolue dans le temps, en fonction du nombre de passages et de l'adhérence du plastique.

GIMBLE ET GUILAK¹⁷⁰ ont révélé que les CSTA et les CSMO ont un profil immunophénotypique quasiment identique (à 90%). Les deux populations présentent la même adhérence, une matrice extracellulaire (MEC), des récepteurs, des enzymes, des protéines cytosquelettiques, une histocompatibilité et des antigènes dans leur stroma.

Ce tableau révèle donc l'hétérogénéité des résultats de la fraction de stroma en raison de sa richesse cellulaire. Nous pouvons remarquer qu'en comparaison aux CSM, les CSTA sont positives au CD36 et négatives au CD106. Les résultats du cluster CD34 sont encourageants car ils révèlent une grande capacité de prolifération (CD34+) ainsi qu'une grande plasticité (CD34-)¹⁷¹.

H. LOCALISATION DES CSTA

Les similitudes entre les CSTA et les CSMO peuvent amener certains à conjecturer que les CSTA sont des CSMO de la circulation qui se seraient infiltrées dans le compartiment adipeux à travers la paroi des vaisseaux. Une autre étude affirme que ces cellules souches sont en réalité des péricytes à la surface des micro-vaisseaux.

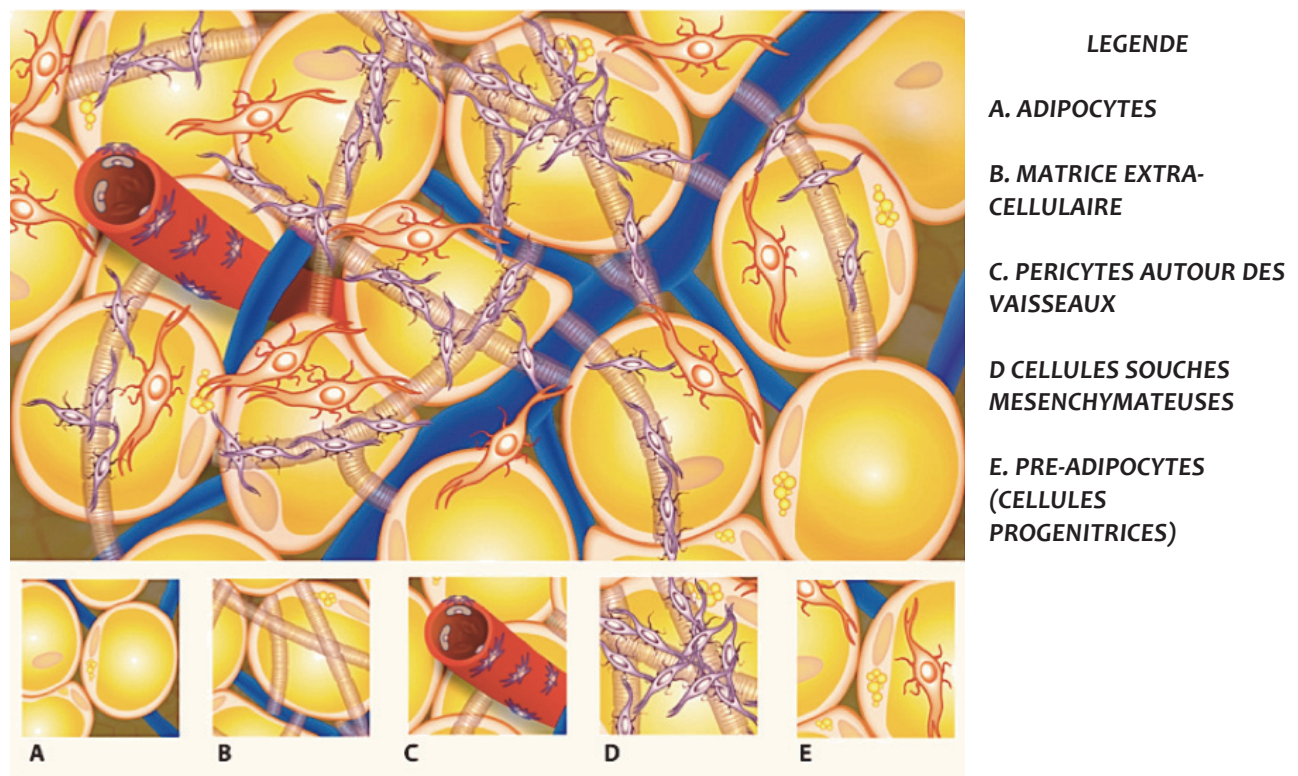
Enfin, **LI et AL.** en 2008 qui n'arrivent pas à localiser les mêmes marqueurs des CSTA sur les péricytes, affirment que les CSTA sont issues de la même niche que les péricytes mais représentent une entité bien distincte.

La localisation des CSTA dans le tissu adipeux n'est pas encore totalement clarifiée,

- l'immunophénotype localise les CSTA dans le système vasculaire du tissu adipeux¹⁷¹,
- l'analyse histologique¹⁷² a également suggéré que les CSTA résident dans les tissus adipeux dans un endroit périvasculaire.

TRAKTUEV et AL.¹⁷³ ont conclu que l'emplacement des CSTA dans le tissu est à l'interface entre l'endothélium et les adipocytes. Les CSTA ont une capacité à la fois de structuration du support vasculaire et de génération des adipocytes.

FIG 40 : LOCALISATION DES CELLULES SOUCHES DU TISSU ADIPEUX



I. LES CSTA SECRETENT DES FACTEURS DE CROISSANCE

Peu après la transplantation, à cause de la privation du système vasculaire initial, les tissus et les organes transplantés sont exposés à une hypoxie et peuvent rapidement se nécroser¹⁷⁴.

Les CSTA sont considérées comme un médiateur de la régénération des tissus par la sécrétion de facteurs solubles spécifiques. Elles sécrètent plusieurs facteurs de croissance¹⁷⁵, y compris :

	NOM COMPLET	ROLE
bFGF	facteur de croissance basique des fibroblastes	Stimule l'angiogenèse, interaction avec les ostéoblastes par liaison avec BMP4, rôle de conservateur des cellules souches (niches), favorise la formation du ligament parodontal
VEGF	facteur de croissance de l'endothélium vasculaire	Stimule la vasculogénèse (système vasculaire chez l'embryon) et l'angiogenèse (réparation, nouveaux vaisseaux) Il induit la migration et la prolifération des cellules endothéliales : apport vasculaire sur le lit de la plaie
IGF-1	insuline-like growth factor 1 ou somatomédine C	Stimule la croissance du cartilage des os longs, prolifération des chondrocytes, allongement des os, limite la perte osseuse liée à l'âge
HGF	facteur de croissance des hépatocytes,	Régule la croissance, la mobilité et la morphogénèse des hépatocytes Facteur capital de l'angiogénèse car son action est paracrine, son inhibition réduit les capacités des CSTA et ralentit l'angiogénèse
TGF-β1	facteur de croissance transformant	Hématopoïèse, différenciation endothéliale, contrôle du système immunitaire, stimule les ostéoblastes, chimiotactisme prolifération et différenciation : induction du remodelage osseux
TNF- α	facteur de nécrose tumorale	Stimulation de la phase de réponse aiguë (rubor, calor, dolor, tumor), chimiotactisme et adhérence des neutrophiles, activation des macrophages : stimulation de la phagocytose, production d'IL1, d'oxydants, lipides pro-inflammatoire, prostaglandine
GM-CSF	Facteur de stimulation des colonies de granulocytes/macrophages	Stimule les cellules souches pour produire des granulocytes (neutrophiles, éosinophiles, basophiles) et monocytes/macrophages
PGE2	Prostaglandine 2	Peut inhiber la réaction immunologique cellulaire et réduire l'immunogénicité des CSTA
IL-6, 7, 8, 11	Interleukine 6, 7, 8, 11	IL6 : Rôle anti-inflammatoire, en relation avec le TGF-B : différenciation des LT naifs en LTh17 IL7 : survie, développement, homéostasie des cellules B, T, NK IL 8 : chimiotactisme des neutrophiles IL11 : induit la phase de réaction aiguë
LEPTINE	Leptine	Contrôle de la satiété, induit une lipolyse, et puissant inhibiteur de la formation osseuse : stimule la résorption
AdipoQ	Adiponectine	Anti-diabétique magique : Effets anti-athérogéniques (inhibe la formation de plaque d'athérome, supprime le LDL) et effets insulino-sensibilisateurs (diminue la glycémie en captant le glucose dans le muscle et le foie)
ANGIOTENSINE	AG I ou II	Vasoconstriction : maintient de la pression artérielle via la volémie plasmatique
CTSD	CathepsineD	Présentation de l'antigène aux cellules compétentes du système immunitaire (histocompatibilité type II)
PENTRAXIN	Pentraxine	Défense de l'hôte contre les bactéries pathogènes, contrôle de l'immunité
PZP	Protéine de zone de grossesse	Composant du sérum en fin de grossesse
RBP	Protéine de liaison au rétinol	Modulation de l'expression génétique et développement de l'embryon
CXCL12 / SDF-1	Stromal Cell-derived factor 1	Régule avec une capacité inégalée le recrutement et la survie des cellules progénitrices, assure l'orientation, la migration des cellules circulantes et l'infiltration des cellules inflammatoires dans les tissus en régénération
COX-2	Cyclooxygénase-2	Angiogenèse : facteur pro-inflammatoire, convertit l'acide arachidonique en prostaglandine H2
MMP-2	Matrice métalloprotéinase-2	Angiogenèse, réparation tissulaire, embryogenèse ou encore cicatrisation cutanée

L'expression de ces cytokines fait des CSTA une thérapie prometteuse pour la transplantation, l'intégration de greffons et le contrôle de l'ischémie chez les patients.

REHMAN ET AL.¹⁷⁶ ont rapporté une guérison totale de l'ischémie des membres postérieurs chez la souris par la sécrétion de VEGF et HGF issus des CSTA. Thérapeutique qui sera transférée chez l'homme par LEE ET AL.¹⁷⁷ en 2012.

En plus de la sécrétion de facteurs de croissance, les CSTA réagissent à d'autres facteurs de croissance, le bFGF qui renforce la prolifération ou le facteur de croissance dérivé des plaquettes (PDGF). Le bFGF est libéré d'une matrice extracellulaire blessée¹⁷⁸. Le PDGF est libéré par des plaquettes activées sur le lieu du saignement. Lorsque les CSTA sont exposées aux facteurs de croissance, les tissus peuvent être régénérés de façon plus efficace.

Les CSTA possèdent des caractéristiques paracrines uniques. Elles sécrètent des facteurs de croissance qui stimulent la réparation des tissus endommagés. En outre, les CSTA expriment plusieurs types de récepteurs de facteurs de croissance et subissent leurs influences.

Nous pouvons donc conclure que les CSTA entraînent la régénération tissulaire.

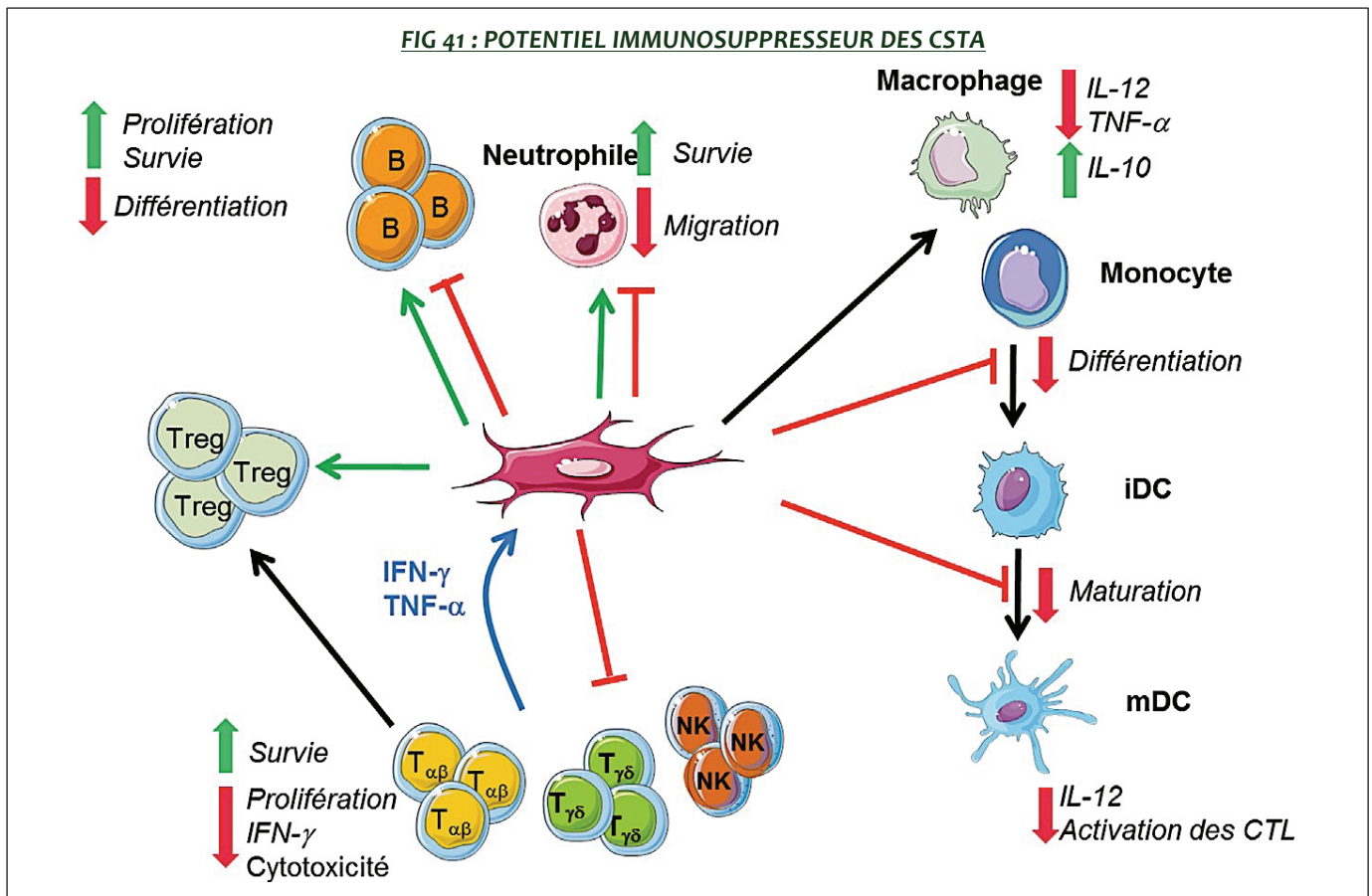
J. POTENTIEL IMMUNOSUPPRESSEUR

Il apparaît désormais évident que l'efficacité de l'injection de CSTA dans différents modèles de lésions tissulaires et de maladies dysimmunitaires serait essentiellement due à un effet paracrine au cours duquel les cellules souches mésenchymateuses produiraient pendant une période courte des molécules anti-inflammatoires et immunosuppressives favorisant, en lien avec des facteurs trophiques, la régénération du tissu de l'hôte.

Les CSTA se sont révélées être un site immunitaire privilégié, afin de prévenir la réponse de l'hôte contre le greffon après des procédures de transplantation. Plusieurs études ont montré que les CSTA pouvaient améliorer la prise de différentes greffes, limitant le recours à des médicaments immunosuppresseurs.

En outre, les CSTA semblent agir également en tant que modulateurs du système immunitaire. Cependant, les cellules souches mésenchymateuses ne sont pas constitutivement immunosuppressives mais acquièrent ces propriétés après stimulation par des signaux inflammatoires du microenvironnement tels que les cytokines inflammatoires IFN-g ou TNF-a.

Nous avons ainsi résumé les effets immunosuppresseurs des CSTA¹⁷⁹ :



V. ETUDE DE LA DIFFERENCIATION DES CSTA IN-VITRO

MATERIEL ET METHODE

MESH TERMS MOTS-CLES	CRITERES D'INCLUSION	CRITERES D'EXCLUSION	NOMBRE DE PUBLICATIONS	ARTICLES RETENUS
« adipose derived stem cells » « ex vivo differentiation »	Os, parodontal, pulpaire, odontogénique	Etudes commerciales	2038	181

A. PRESENTATION

Les CSTA, comme les cellules souches mésenchymateuses de la moelle osseuse, ont la capacité de se différencier en cellules mésodermiques, telles que les fibroblastes, les adipocytes, les myocytes, les chondrocytes et les ostéocytes, dans un processus appelé **différenciation spécifique de lignée**.

La preuve croissante de la capacité des CSTA à se différencier en cellules d'origine non mésodermique telles que des neurones, des cellules endocrines pancréatiques, des hépatocytes, des cellules endothéliales et des myocytes cardiaques, est surprenante. Ce processus est appelé « **cross-différenciation** » : différenciation croisée.

La différenciation spécifique de lignée peut être suivie au niveau moléculaire par l'expression de facteurs de transcription essentiels des tissus matures. Les premiers stades de la différenciation, nommés « **attribution** » ou « **engagement** », affectant les CSTA dans une lignée spécialisée ne sont pas encore complètement connus.

In-vitro, la différenciation des cellules multipotentes en un phénotype cellulaire souhaité peut être obtenue par leur stimulation au moyen d'agents de différenciation et par l'utilisation de conditions de culture appropriées ou d'un support : un « échafaudage » simulant ainsi un « micro-environnement ».

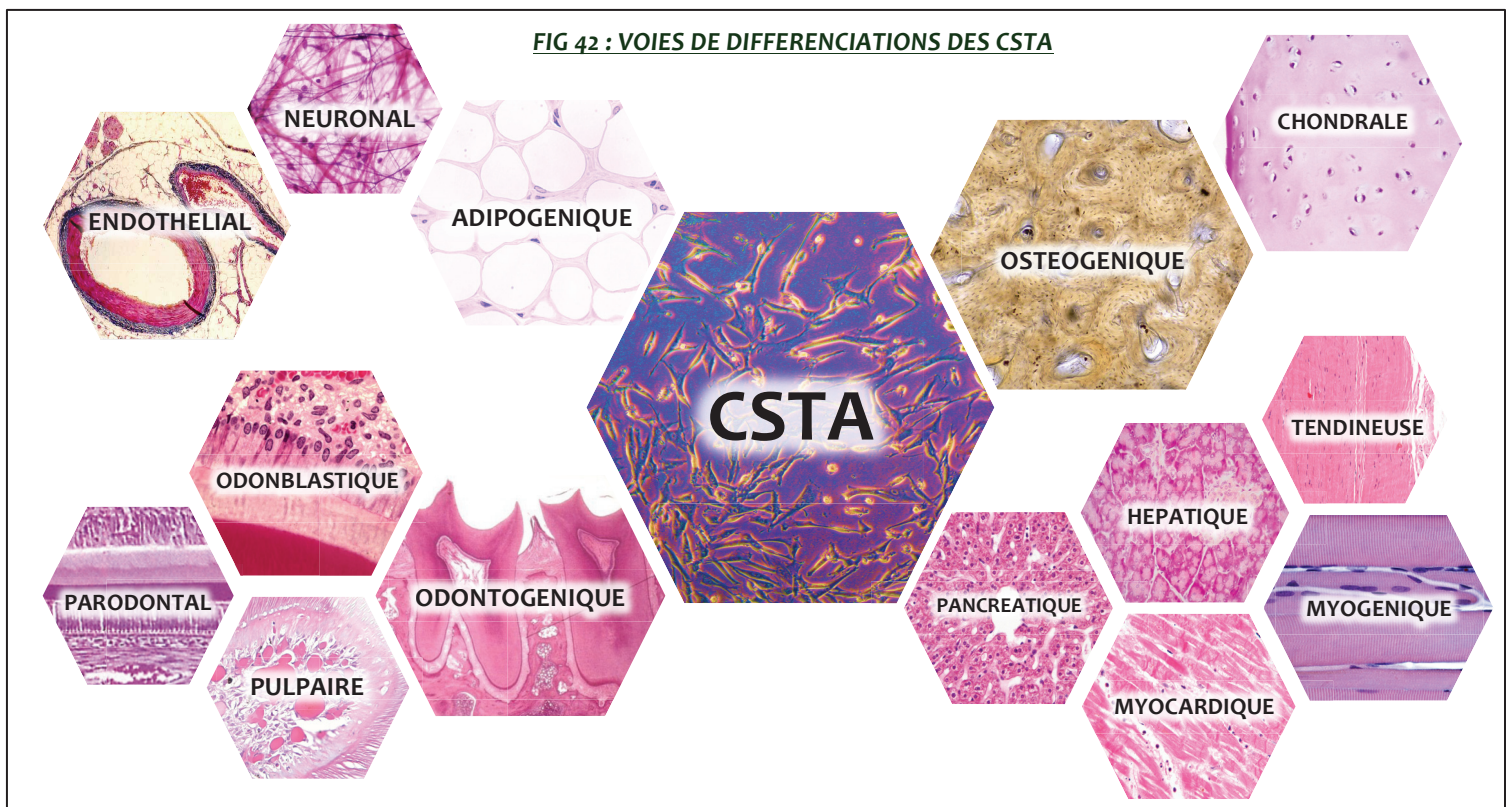
CONDITIONS DE CULTURE

De façon générale, les CSTA sont maintenues dans un milieu contenant :

- **une solution de DMEM** (Dulbecco's Modified Eagle Medium) : acides aminés, sels, glucose, vitamines
- 10% de FBS : sérum bovin fœtal
- 1 × pénicilline / streptomycine (GibcoBRL, Rockville, MD, USA)

Le mélange est déposé dans une boîte type plastique maintenue dans un incubateur humidifié à 37°C / 5% de CO₂.

Le milieu a été changé deux fois par semaine et les cellules ont été passées avec 0,25% de trypsine / EDTA à 0,1% (Gibco BRL) après avoir atteint 90% de confluence.



B. PLASTICITE DES CSTA : POTENTIEL DE DIFFERENCIATION

VOIE DE DIFFERENCIATION	MILIEU DE CULTURE	FACTEURS DE DIFFERENCIATION		GENES EXPRIMES
ADIPOGENIQUE ¹⁸⁰	<ul style="list-style-type: none"> HG-DMEM (high glucose) 10% FBS 	<ul style="list-style-type: none"> Isobutylméthylxanthine Dexamethasone Indométhacine Insuline 		<ul style="list-style-type: none"> Pparγ2, Leptine, AP2, Glucose, Transporteur de type 4
OSTEOGENIQUE ¹⁴¹	<ul style="list-style-type: none"> LG-DMEM (low glucose) 10% FBS 	<ul style="list-style-type: none"> 1,25-dihydroxyvitamine D₃ Ascorbate-2-phosphate BMP-2 <p>Ou</p> <ul style="list-style-type: none"> Dexamethasone B-glycérolphosphate Ascorbate-2-phosphate 		<ul style="list-style-type: none"> Phosphatase alcaline, Collagène de type I, Osteoponin, Ostéocalcine, Sialoprotéine osseuse, Runx-2, BMP-2, BMP-4, Récepteur de l'hormone parathyroïdienne, Récepteur de BMP 1 et 2
CHONDRO-GENIQUE ¹⁸¹	<ul style="list-style-type: none"> Scaffold : PGA 3D HG DMEM 1% ITS + Premix 	<ul style="list-style-type: none"> TGF-β1 Insuline Dexaméthasone, Mg L-Ascorbate-2-phosphate BMP-6 		<ul style="list-style-type: none"> Collagène de type II, Collagène de type IV, Aggrécane, prolylendopeptidase-like, Sulfate protéoglycanes
PARODONTALE	<ul style="list-style-type: none"> DMEM 	<ul style="list-style-type: none"> PRP 		
PULPAIRE	<ul style="list-style-type: none"> DMEM HEPES 3D pellet 	<ul style="list-style-type: none"> BMP-2 L-ascorbic acid-2 phosphate Penicilline-streptomycine 		<ul style="list-style-type: none"> DSPP Enamelysin SMP1 Col-alpha-1
ODONTO-GENIQUE	<ul style="list-style-type: none"> DMEM HEPES NaHCO₃ CaCl₂, NaOH 	<ul style="list-style-type: none"> BMP-2 Glycérophosphate Acide ascorbique-2-phosphate MIP-3-alpha 		<ul style="list-style-type: none"> DSPP Enamelysin SMP1 Col-alpha-1
MYOGENIQUE ¹⁸²	<ul style="list-style-type: none"> LG-DMEM FBS 	<ul style="list-style-type: none"> LG-DMEM 5-azacytidine FGF-2 Amphotericin B 		<ul style="list-style-type: none"> N.R.
VASCULAIRE ENDOTHELIALE	<ul style="list-style-type: none"> DMEM - FBS methylcellulose 	<ul style="list-style-type: none"> L-glutamine (VEGF) 		<ul style="list-style-type: none"> VEGF PDGF
CANALAIRE ACINEUSE	PBS	CSTA directement		<ul style="list-style-type: none"> HGF VEGF Cox-2 MM-2
TENDINEUSE	<ul style="list-style-type: none"> N.R. 	<ul style="list-style-type: none"> FGF PDGF-BB EGF 	<ul style="list-style-type: none"> TGF-B IGF-1 BMPs 	<ul style="list-style-type: none"> N.R.
NEURONALE ¹⁸³	<ul style="list-style-type: none"> HG-DMEM 20%FBS 	<ul style="list-style-type: none"> Acide butyl BHA Acide valproïque Forskolin Hydrocortisone Insuline 		<ul style="list-style-type: none"> Nestine-positives Marqueurs de cellules de Schwann S100 Protéine acide fibrillaire gliale Récepteur du NGF p75
PANCREATIQUE	<ul style="list-style-type: none"> N.R. 	<ul style="list-style-type: none"> Activine A Exendine4 	<ul style="list-style-type: none"> HGF Pentagastrine 	<ul style="list-style-type: none"> Insuline
CARDIAQUE ¹⁸⁴	<ul style="list-style-type: none"> N.R. 	<ul style="list-style-type: none"> Transferine IL3-6 VEGF TGFB 		<ul style="list-style-type: none"> N.R.
HEPATIQUE ¹⁸⁵	<ul style="list-style-type: none"> N.R. 	<ul style="list-style-type: none"> Hgf Oncostatine m Diméthylsulfoxyde 		<ul style="list-style-type: none"> L'albumine et alpha-fetoprotéine expression et la production d'urée
EPITHELIALE	<ul style="list-style-type: none"> N.R. 	<ul style="list-style-type: none"> N.R. 		<ul style="list-style-type: none"> N.R.

VI. ETUDE DE LA DIFFERENCIATION DES CSTA IN-VIVO

Au fil des années, la recherche a adopté les CSTA dans de vastes domaines. Des essais cliniques ont été proposés afin d'étudier le potentiel thérapeutique et la pertinence de ces cellules en fonction de l'induction de leurs propriétés afin de les comparer aux cellules souches de la moelle osseuse. De grandes connaissances concernant la récolte, la caractérisation et la transplantation de CSTA ont été développées.

Cependant, la littérature actuelle ne dispose pas encore de preuves solides sur leur potentiel clinique. Cela peut être dû au caractère hétérogène des fractions stromales affectant leur pureté et leur phénotype moléculaire rendant ainsi de nombreux rapports et résultats incertains.

- Le manque de normalisation dans la définition des CSTA, puisque les deux FSV et CSTA peuvent être utilisées, ce qui limite l'interprétation clinique¹⁸⁶,
- La régénération tissulaire par transplantation de CSTA est-elle le résultat de leur mécanisme de transdifférenciation ou de leurs effets paracrines en sécrétant de nombreuses cytokines et facteurs de croissance ?

Ainsi, la standardisation d'une méthode et l'amélioration des données précliniques actuelles pourraient permettre une comparaison directe des différents résultats ainsi qu'une meilleure définition du potentiel clinique des CSTA.

PRINCIPES DE LA MANIPULATION MINIMALE

Lors d'une tentative de traduire des preuves précliniques dans le domaine clinique, la manipulation des tissus humains, tels que les CSTA ou la FSV doit être considérée comme un dispositif thérapeutique soumis aux Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF).

Les organismes nationaux de réglementation (par exemple, la Food and Drug Administration aux Etats-Unis et l'Agence européenne des médicaments dans l'UE) fournissent les règles officielles et les lignes directrices qui garantissent des procédures sûres et contrôlées¹⁸⁷.

Par exemple, la fraction stoma-vasculaire ne subit qu'un nombre de manipulations minimales¹⁸⁸, et son **isolement ne nécessite pas d'ensemencement et de culture**. Inversement, toutes les procédures impliquant des cultures de cellules mésenchymateuses sont des thérapies cellulaires avancées et doivent se conformer aux règles de BPF institutionnelles pour les manipulations des cellules, qui doivent être réalisées dans une « usine de cellules » d'un établissement certifié.

RECUEIL DES DONNEES

La stratégie de recherches d'études cliniques a été réalisée par l'intermédiaire de la base de donnée électronique PubMed (Medline), en voici les critères généraux :

MOTS-CLES	CRITERES D'INCLUSION	CRITERES D'EXCLUSION	NOMBRE DE PUBLICATIONS	ARTICLES RETENUS
<ul style="list-style-type: none"> « adipose derived stem cells » « stroma vascular fraction » « in vivo » « differentiation » 	<ul style="list-style-type: none"> mise en place in vivo nombre de spécimes clairement indiqué études de l'utilisation des CSTA avec ou sans biomatériaux évaluation histo et/ou radiologique Etudes sur le potentiel de réparation de structures du massif facial 	<ul style="list-style-type: none"> Etudes commerciales Bone marrow stem cell Regeneration du tissu adipeux Etudes dont p>0,05 (non significatifs) Utilisation de facteurs de croissance seuls Utilisation de biomateriaux seuls Etudes sur les régénérations en dehors du massif facial 	625	235

Pour chaque domaine d'étude suivant, des mots-clés spécifiques (« bone regeneration », « periodontal regeneration » ...) ont été ajoutés afin d'orienter les résultats vers le site à régénérer.

A. ETUDE DE LA REGENERATION OSSEUSE

MOTS-CLES AJOUTES	NOMBRE DE PUBLICATIONS	ARTICLES RETENUS
« bone regeneration », « osteogenic », « osteogenesis »	154	76

Avec plus de 3 millions de greffes osseuses dans le monde chaque année, l'os est bien le tissu le plus souvent transplanté.

ETAT ACTUEL DES CONNAISSANCES

- **La greffe osseuse autologue** a depuis toujours été considérée comme le « gold standard » car elle combine tous les composants essentiels à la croissance osseuse et à la régénération : des cellules ostéogéniques, des facteurs de croissance et une matrice osseuse de support. Cependant, la disponibilité limitée des sites donateurs et les morbidités associées (hématome, douleurs, injections) contre-indiquent souvent ce type de greffe.
- **Les greffes osseuses allogéniques et xénogéniques** contournent ces complications mais n'ont aucun potentiel ostéogénique, ce sont de bons matériaux ostéoconducteurs mais rarement ostéoinducteurs. De plus, elles présentent de nombreuses zones d'ombre : la compatibilité tissulaire, le risque de transmission de germes, la variabilité du lot, le risque de rejet.
- L'industrie a également mis sur le marché des **matériaux alloplastiques : synthétiques ou naturels**. Ce sont des matériaux sûrs et immunologiquement inertes, mais souvent très fragiles et purement ostéoconducteurs.

POTENTIEL	OSTEOGENIQUE	OSTEOINDUCTEUR	OSTEOCONDUCTEUR
Autogreffes	+	+	+
Allogreffes	-	± ¹	+
Xénogreffes	-	-	+
Substituts Alloplastiques	-	-	+

Les limites des greffes osseuses peuvent être surmontées par les moyens de l'ingénierie tissulaire. Dans cette approche, un **apport de cellules souches** à potentialité ostéogénique apporterait le chaînon manquant à ces structures inertes. De plus, de part leur potentiel sécréteur-ostéo-vasoinducteur, la **triade** est assurée : **ostéogénèse <> ostéoinduction <> ostéoconduction**.

Contrairement aux matériaux d'échafaudages purement ostéoconducteurs, le principal mécanisme de la régénération osseuse n'est pas par interposition de cellules résidentes, mais par la formation d'os « de novo » par les cellules ostéogéniques implantées.

CAHIER DES CHARGES DU GREFFON IDEAL

Le matériau implanté devrait être ostéoactif, autrement dit, permettre la néoformation osseuse au sein du greffon.

L'ostéoactivité doit répondre à plusieurs critères :

- **OSTEOGENIQUE** : apport de cellules souches capable de se différencier en ostéoblastes fonctionnels,
- **OSTEOCONDUCTEUR** : un échafaudage stable capable de fixer les cellules et de guider leur différenciation. Structure poreuse tridimensionnelle munie de tunnels interconnectés capable de résister aux contraintes mécaniques et masticatoires. Il devra être résorbable afin d'être remplacé par de l'os nouvellement formé,
- **OSTEOINDUCTEUR** : apport ou production de cytokines pouvant améliorer la prolifération cellulaire et le recrutement des facteurs nécessaires à leur différenciation et à la production d'une matrice osseuse,
- **ANGIOGENIQUE** : élément clé, production et/ou activation de la formation d'un réseau vasculaire,
- **BIOCOMPATIBLE** : non toxique et non immunogène, dégradable à souhait pour assurer le remodelage osseux,
- **CLINIQUE** : facile à prélever, facile à manipuler, reproductible et peu onéreux.
- **BIOMECHANIQUE** : adaptée à l'environnement buccal, aux contraintes masticatoires.

¹ Un **potentiel inducteur** existerait pour les allogreffes, mais ceci est **très discuté**. Il peut varier en fonction des différents grades, des différentes banques d'os, de l'âge du donneur et de la technique de préparation et de stérilisation. Pour le DFDBA, la partie minérale est enlevée, provoquant l'exposition du collagène et probablement des BMPs ce qui amènerait à un potentiel inducteur. Il dépendrait de la quantité et de la qualité de la matrice osseuse de la greffe et de la banque. Avec les nouvelles techniques de stérilisation, les protéines morphogénétiques seraient préservées. Pour d'autres auteurs ce potentiel **ne concerne pas** les allogreffes. **SIMPSON ET AL**, démontrent *in-vitro* qu'il y a croissance des cellules osseuses dans les échantillons prélevés après une quarantaine de six mois.

UNE APPROCHE OSTEOGENIQUE ET ANGIOGENIQUE

Depuis la dernière décennie, d'importantes recherches ont été menées sur l'utilisation des cellules stromales du tissu adipeux dans la régénération osseuse.

Leur potentiel de cicatrisation osseuse a été démontré in-vitro par la **différenciation en ostéoblastes matures** et l'observation des **effets paracrines** qui facilitent la migration et la différenciation des précurseurs ostéogéniques et angiogéniques. À ces effets, nous pouvons ajouter l'importance des **facteurs endocriniens** contenus dans la FSV^{189,190} et les CSTA^{191,192} couplant ainsi une **activité angiogénique** au remodelage osseux¹⁹³⁻¹⁹⁵.

Plus précisément, le facteur de croissance endothélial vasculaire (VEGF), joue un rôle important dans la réparation de fractures ou défauts osseux. Le VEGF est capable d'activer la formation d'un nouveau réseau de capillaires sanguins, jouant ainsi un rôle direct dans le recrutement de cellules souches hématopoïétiques conduisant à la formation d'un nouvel os^{196,197}.

UNE APPROCHE OSTEOINDUCTIVE

L'une des tâches les plus difficiles pour le développement de substituts de greffe osseuse est de produire des échafaudages possédant des propriétés ostéoinductives. Ce potentiel fait appel à l'application de molécules biologiquement actives.

La formation osseuse est un processus de développement cellulaire orchestré et contrôlé par des facteurs de croissance¹⁹⁸. Leur utilisation dans les échafaudages d'ingénierie tissulaire est évidente lorsque l'intégrité de l'os est compromise et que le tissu osseux doit être réparé^{199,200}. Cela vise à accroître la présence locale d'ostéoblastes, en attirant les cellules sur le site de réparation ou en induisant la prolifération des cellules précurseurs indifférenciées locales, suivie par la transformation de cellules précurseurs dans un phénotype ostéoblastique²⁰¹.

L'introduction de biomolécules spécifiques a été montrée dans des modèles animaux afin d'améliorer les difficultés de cicatrisation osseuse, comme une fracture qui ne guérit pas par elle-même après plusieurs mois.

Les BMP sont les facteurs ostéo-inducteurs les plus étudiés²⁰²⁻²⁰⁶, car ils sont de puissants inducteurs de la mitogénèse et de la différenciation des cellules souches mésenchymateuses et autres ostéoprogéniteurs. Ce sont des candidats très prometteurs pour le traitement des maladies osseuses et des défauts. De plus un certain nombre d'essais expérimentaux et cliniques démontrent leur innocuité et leur efficacité²⁰⁷⁻²⁰⁹.

Dernièrement, plusieurs nouveaux facteurs de transcription impliqués dans le processus ostéogénique ont été signalés, y compris Runx2, facteur de croissance vasculaire endothéliale (VEGF), la protéine de minéralisation LIM (LMP), Sonic Hedgehog (SHH), et Nell-1²¹⁰⁻²¹³.

- Dans une étude réalisée par **LEE ET AL.**²¹⁴, les protéines BMP-2 et RunX2 ont été co-exprimées dans des CSTA, démontrant une augmentation significative de la formation de l'os en comparant CSTA et BMP2-CSTA.
- Récemment, **ZHANG ET AL.**²¹⁵ ont étudié la différenciation ostéogénique des CSTA en présence de VEGF, BMP-6, ou VEGF + BMP-6, qui montre que la combinaison de VEGF et BMP-6 améliore significativement l'expression de gènes ostéospecifiques comme Dlx5 et Osterix et suggérant des similitudes entre VEGF et voies de signalisation BMP-6 au cours de la différenciation ostéogénique des CSTA.
- Enfin, deux cytokines pro-ostéogéniques, Sonic Hedgehog (SHH) et Nell-1, ont été étudiées par **JAMES ET AL.**²¹⁶, révélant les effets additifs de SHH et NELL-1 sur la différenciation ostéogénique des CSTA.

UNE APPROCHE OSTEOCONDUCTIVE

L'os est constitué de cristaux d'hydroxyapatite $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ répartis dans une matrice organique ; la porosité et le pourcentage de minéralisation varient selon les différents types d'os. Les échafaudages utilisés comme support de l'ostéogenèse doivent **imiter la morphologie osseuse** afin de fournir un microenvironnement approprié pour l'adhérence des cellules, leur prolifération et leur différenciation.

De multiples études décrivent la combinaison des CSTA avec des autogreffes, xélogreffes, des **échafaudages céramiques** (1ère génération), ou encore des **échafaudages composites** (2-3ème génération).

Il est généralement convenu que les biomatériaux céramiques utilisés dans ce contexte devraient imiter le plus fidèlement possible l'architecture de l'os naturel pour assurer la fixation des cellules et leur migration dans les porosités.

Récemment, plusieurs études in-vitro et in-vivo ont mis en évidence le rôle ostéoinducteur des matrices biomimétiques sur les CSTA. En particulier, l'étude réalisée par **MARINO ET AL.**²¹⁷ révèle que la matrice β -TCP seule est suffisante pour déclencher la différenciation des CSTA vers un phénotype ostéoblastique, indépendamment du fait que les cellules sont cultivées dans un milieu de prolifération ou de différenciation.

Aussi, **LIAO ET AL.**²¹⁸ ont comparé le potentiel ostéogénique des CSTA porcines parmi trois échafaudages afin de trouver l'échafaudage optimal pour l'ingénierie tissulaire osseuse :

1) Polycaprolactone : PCL

2) PCL- β TCP

3) PCL- β TCP-COLLAGENE

L'étude in-vitro a démontré que les CSTA affichent le meilleur taux de différenciation ostéogénique sur l'échafaudage PCL- β TCP-COL, comme en témoignent l'activité de l'alkaline phosphate et l'expression de l'ostéocalcine (marqueur de la minéralisation).

Ce résultat a été confirmé in-vivo sur une population de souris nudes, l'os obtenu sur la matrice de PCL-TCP-COL présentait une meilleure architecture et une vascularisation accrue par rapport au groupe PCL. Ainsi la présence de collagène augmente le potentiel inducteur ostéogénique.

Par ailleurs, **ARRIGONI ET AL.**²¹⁹ ont comparé les tissus osseux néoformés obtenus par le traitement de défauts du tibia critiques avec un échafaudage d'hydroxyapatite (HA) ensemencé de CSTA autologues par rapport à un échafaudage d'hydroxyapatite seul en comparant leurs propriétés histomorphométrique, immunohistochimique, et les propriétés biomécaniques. L'étude montre que les défauts du tibia traités avec des échafaudages de CSTAontHA a montré un processus de guérison améliorée par rapport à ceux traités avec des échafaudages nus.

L'akermanite $\text{Ca}_2\text{MgSi}_2\text{O}_7$, est une matrice assemblée qui montre de meilleures propriétés mécaniques et des taux de dégradation supérieurs aux autres biocéramiques²²⁰⁻²²³. Elle renforcerait l'engagement ostéogénique des cellules souches mésenchymateuses. **LIU ET AL.**²²⁴ ont montré in-vitro que la fixation des CSTA sur l'akermanite présentait la même cinétique que sur le β -TCP, cependant l'akermanite permettait une meilleure différenciation ostéogénique après 10 jours de culture.

Récemment, **ZANETTI ET AL.**²²¹ (2015) ont observé que les CSTA cultivées pendant 21 jours dans un milieu ostéogénique avant d'être ensemencées sur des échafaudages d'akermanite produisaient plus de dépôts de calcium et présentaient des taux d'ostéocalcine plus élevés par rapport aux cellules ensemencées sur β -TCP et PCL.

Les progrès de l'ingénierie tissulaire au cours de la dernière décennie ont fourni une pléthore de matériaux qui peuvent être appropriés pour la guérison des défauts cranio-faciaux.

ANALYSE DES ETUDES PRE-CLINIQUES

Une grande quantité de données dans la littérature démontrent l'efficacité des approches fondées sur CSTA pour induire la régénération osseuse / guérison in-vivo.

À l'heure actuelle, les études d'ingénierie tissulaire combinées avec des CSTA peuvent généralement être divisées en deux catégories :

- **DES ETUDES IN-VITRO** de caractérisation du potentiel ostéogénique des CSTA sur de nouveaux échafaudages ou des échafaudages disponibles dans le commerce.
- **DES ETUDES IN-VIVO** chez les rongeurs qui analysent le potentiel de régénération osseuse sur des défauts fémoraux, crâniens ou sur la formation d'os ectopique sous-cutané.

RESUME DES ETUDES PRECLINIQUES SUR LE POTENTIEL CSTA OSTEOREGENERATIVE

MODELE D'EXPERIMENTATION	ESPECE	ECHAFAUDAGE	ADDITIONNELS	REFERENCE
CALVARIA	Rat	PLGA	Alendronate	225
	Lapin	HA-PLGA, éponge collagene	BV-BMP2/TGF B3	226
	Souris	PLGA	Dura mater	227
	Rat	B-TCP	Lenti-miR31	228
	Souris	« Custom scaffold »	NOGGIN shRNA-Knockout	229
	Dog	HA-PLGA	Aucun	230
	Souris	Injection systémique	Aucun	231
	Souris	Injection locale	Aucun	232
	Rat	DBM, PLA	Aucun	233
	Rat	MAP-coated CL/PLGA	Aucun	234
	Rat	HA-B-TCP	Aucun	235
	Rat	PLGA	Aucun/milieu ostéogénique	236
	Chien	Corail	Induction ostéogénique	237
	Chien	Corail	Induction ostéogénique	238
	Cochon	Eponge collagène	Induction ostéogénique	239
	Rat	DBX	Induction ostéogénique	240
	Rat	PCL-PLGA-B-TCP	Induction ostéogénique + HUVEC	241
	Souris	pDA-PLGA	rhBMP2	242
	Lapin	Eponge collagène	rhBMP2	243
	Souris	HA-PLGA	SonicHedgehog signaling induction	244
Rat	Injection locale	VEGFa	245	
FORMATION D'OS ECTOPIQUE	Souris	PLGA	BMP2/RUNX2 bicistronic vector	246
	Souris	PRP + alginate microsphère	Aucun	247
	Souris	B-TCP	Aucun	248
	Rat	HA	Aucun	249
	Rat	Matrigel	Induction ostéogénique	250
	Rat	DBM	Induction ostéogénique	251
	Souris	Nanotubes de carbone	rhBMP2	252
	Rat	PLDA	rhBMP2	253
DEFAUT SEGMENTAIRE	Lapin	Injection locale	BMP bovines	254
	Rat	Matrice Fibrine	rhBMP2	255
	Rat	B-TCP	Lenti-BMP2/7	256
	Lapin	PLA/PCL + vascularisation périostée	Ad-Cbfa1	257
	Lapin	HA-PLA-COL	Ad-hBMP2	258
	Souris	Injection systémique	Aucun	246
	Rat	Gel collagène	Aucun	259
	Lapin	PLGA	Aucun / Milieu ostéogénique	260
	Chien	B-TCP	Aucun	261
	Lapin	HA	Aucun	262
	Lapin	Céramique, matériau biphasique	Aucun	263
DEFAUT VERTEBRAL/ FUSION	Souris	Injection locale	rhBMP6 nucléofection	264
	Rat	Lyophilized human cancellous bone	Gal-KO + induction ostéogénique	265
	Rat	Gel fibrine	rhBMP6 nucléofection	266
DEFAUT MANDIBULAIRE	Cochon	Injection locale	Aucun	267
	Rat	HA/COL	Aucun	268

INTERPRETATION DES RESULTATS : DEUX ASPECTS SE DEMARQUENT

D'un point de vue général, le nombre de données publiées obtenues à partir de modèles animaux utilisés pour étudier les propriétés curatives de CSTA sur la régénération osseuse est en constante augmentation.

Cependant, l'interprétation des résultats est laborieuse. En cause : un **manque de standardisation des techniques appliquées** (population cellulaire, type d'échafaudage, prélèvement, culture cellulaire, technique de transplantation, préparation chirurgicale...). La multiplicité des paramètres complexifie la catégorisation exhaustive et systématique de toutes les publications. Ce manque de lignes directrices engendre des problèmes de sécurité, ce qui ralentit les essais cliniques et la traduction clinique de l'utilisation des CSTA.

- **CHOIX DE L'ECHAFAUDAGE** : les **échafaudages composites** se sont révélés avoir de meilleures propriétés mécaniques et biologiques que les échafaudages céramiques. Et leur **totale innocuité**, retire tout risque de transmission immunogénique attribuée aux matrices allogéniques et xénogéniques.
- **CHOIX DE LA POPULATION CELLULAIRE** : Il est à noter que de bons résultats, en terme de cicatrization osseuse, sont obtenus dans différents modèles animaux, en utilisant soit des **CSTA non différenciées**^{231,232,234,236,242,247,249,257,259,261,262,267-269} (par exemple, en l'absence d'une induction in-vitro ostéogénique) ou **directement la fraction stroma-vasculaire FSV**^{233,240}. L'isolement des CSTA ou leur différenciation in-vitro ne serait pas indispensable. Grâce aux cellules de la FSV, plusieurs études ont présenté une vascularisation accrue et une meilleure répartition de l'os nouvellement formé dans les échafaudages. Par conséquent, en raison de la facilité de traitement, des coûts moindres et des résultats des études pré-cliniques, **la fraction FSV représente l'avenir de l'ingénierie tissulaire osseuse.**

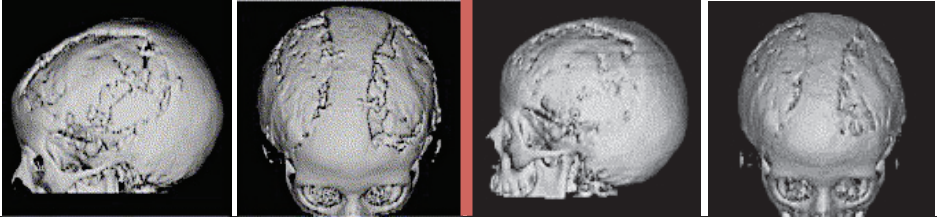
ANALYSE DES ETUDES CLINIQUES EN ODONTOSTOMATOLOGIE

Malgré la quantité croissante de données scientifiques sur les CSTA et un nombre très large d'études précliniques confirmant leur potentiel de régénération osseuse in-vivo, peu d'essais cliniques contrôlés ont été conclus et publiés. Ils visent dans un premier temps à évaluer l'efficacité et la sécurité des CSTA chez les patients souffrant de troubles d'origine osseuse^{270,271}.

Les divers essais cliniques en cours sont consultables sur le site de l'US National Institutes of Health, <http://www.clinicaltrials.gov>. De bons résultats ont été obtenus dans des essais distincts utilisant des CSTA autologues pour la reconstruction osseuse cranio-faciale²⁷²⁻²⁷⁵.

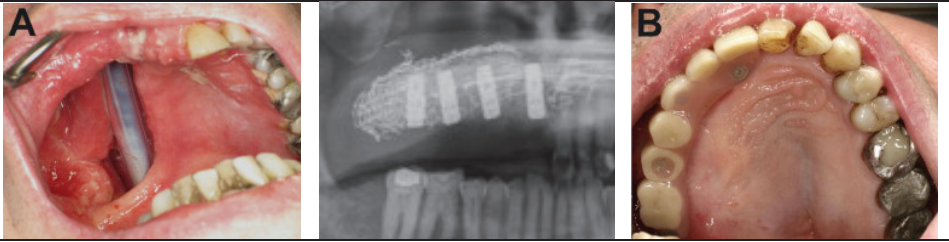
Parmi ces études, nous en avons sélectionné quelques unes :

- **LENDECKEL ET AL.**²⁷⁴ (2004) ont utilisé les CSTA pour la reconstruction d'un **grand défaut pédiatrique** de la voûte crânienne post-traumatique. Les reconstructions crâniennes sont très rares, il n'existe aucune méthode optimale. Dans ce cas, l'équipe chirurgicale pluridisciplinaire a implanté un feuillet macroporeux résorbable en tant qu'échafaudage des CSTA combiné d'une autogreffe d'os spongieux. Ces procédures complexes ont donné une greffe ostéo-stable qui a montré une ossification marquée au 3^{ème} mois.

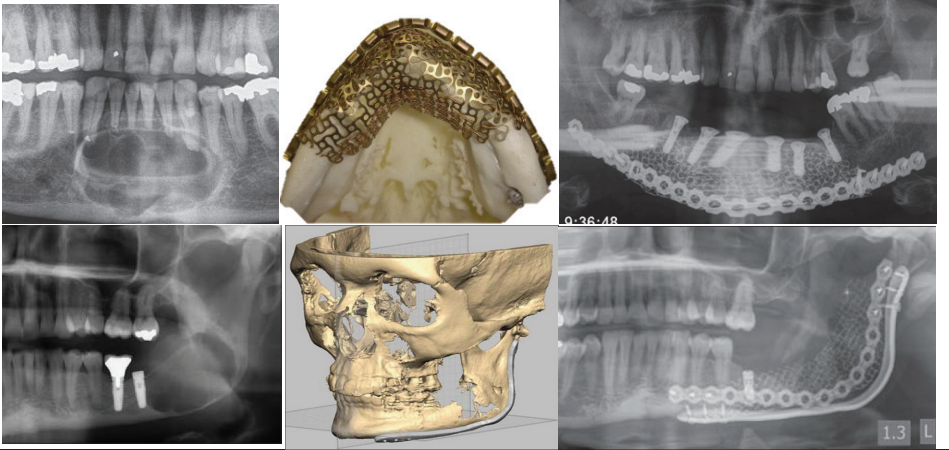
OBJECTIF DE L'ETUDE		PREMIER CAS DE RECONSTRUCTION D'UN GRAND DEFAUT DE LA VOUTE CRANIENNE POST-TRAUMATIQUE			
PROTOCOLE	Détail sur la patiente	Fille âgée de 7 ans			
	Prélèvement adipeux	Technique : excision , Site de prélèvement : Région fessière			
	Préparation, isolement des CSTA	Préparation type « Patricia Zuk » (durée : 2h directement au bloc opératoire) : hachage, digestion enzymatique, filtration, centrifugation, mise en culture, récupération des CSTA adhérentes			
	Choix de l'échafaudage	Mélange des CSTA avec une colle de fibrine et de l' os autogénique (iliaque) + membrane résorbable Macropore			
	Transplantation	Injection des CSTA au sein du magma d'os, recouvert de la membrane pinsée			
RESULTATS	FIG 43 Radiographiques préop puis à 3 mois				
	Conclusion	Formation d' os spongieux à 3 mois, suites opératoire simples			

- **THESLEFF ET AL.**²⁷³ (2011) renouvellent l'expérience sur 4 patients adultes en compilant des CSTA avec un échafaudage alloplastique de **β-TCP** et ont obtenu une bonne reconstruction de la voûte crânienne.

- **MESIMÄKI ET AL.**²⁷⁵ (2009) ont utilisé des CSTA autologues ensemencées sur un échafaudage de β -TCP dopé de BMP-2 pour traiter un grand défaut maxillaire résultant d'une résection de tumeur bénigne chez un patient adulte. Ils ont obtenu des résultats satisfaisants : huit mois après la chirurgie, il ont constaté l'acquisition d'un nouvel os, stable, mature, vital, et vascularisé, possédant une bonne ostéo-intégration.

OBJECTIF DE L'ETUDE		PREMIER CAS DE RECONSTRUCTION D'UN GRAND DEFAUT HEMI-MAXILLAIRE PAR GREFFE ECTOPIQUE MICRO-VASCULAIRE	
PROTOCOLE	Détail sur le patient	Homme de 65 ans ayant subi une hémimaxillectomie suite à un kératocyste, traité par prothèse maxillofaciale avec un obturateur	
	Prélèvement adipeux	Technique : excision , Site de prélèvement : abdominal sous cutané	
	Préparation, isolement des CSTA	Préparation type « Patricia Zuk » (3 semaine ex vivo) : hachage, digestion enzymatique, filtration, centrifugation, mise en culture sur BTCP puis différenciation à l'aide de rhBMP2 et récupération des CSTA adhérentes	
	Echafaudage	B-TCP + CSTA enchâssés dans une cage de titane façonnée à la taille du défaut	
	Mise en nourrice	Implantation dans le muscle rectus abdominis du patient 8 mois avant l'opération et perfusion par une branche de l'artère épigastrique	
	Transplantation	Transplantation de la greffe au sein du maxillaire et anastomose à l'artère et veine faciale	
	Suivi	Suivi et implantation 4 implants à 4 mois (excellente stabilité primaire)	
RESULTATS	FIG 44 Radiographiques préop puis à 3 mois		
	Conclusion	Succès de l'ostéointégration , de la vascularisation et de la cicatrisation gingivale . Les analyses histologiques et immunohistochimiques confirment la différenciation ostéoblastique des CSTA	

- **SANDOR, WOLFF ET AL.**^{272,276} ont publié la reconstruction réussie de grands défauts antérieurs mandibulaires en utilisant des CSTA ensemencées sur β -TCP prémoulées par une armature titane.

OBJECTIF DE L'ETUDE		RECONSTRUCTION GRAND DEFAUT MANDIBULAIRE PAR GREFFE ARMEE TITANE	
PROTOCOLE	Population cible	Hommes de 43-55 ans possédant un défaut de type améloblastome de 10 cm	
	Prélèvement adipeux	Technique : excision , Site de prélèvement : abdominal sous cutané	
	Préparation, isolement des CSTA	Préparation type « Patricia Zuk » (3 semaines ex vivo) : hachage, digestion enzymatique, filtration, centrifugation, mise en culture sur BTCP puis différenciation à l'aide de rhBMP2 et récupération des CSTA adhérentes	
	Echafaudage	B-TCP + CSTA enchâssées dans une cage de titane façonnée sur un modèle	
	Transplantation	Transplantation de la greffe au sein de la symphyse mentonnière	
	Suivi	Suivi et implantation 6 implants à 10 mois	
RESULTATS	FIG 45 Radiographiques préop puis à 10 mois		
	Conclusion	CSTA en combinaison avec des β-TCP et BMP-2 offrent un produit d'assemblage prometteur sans la nécessité de la formation d'os ectopique et permettant la réhabilitation par des implants dentaires sans modifier le profil du patient	

Les inconvénients des procédés expérimentaux de reconstruction partielle de l'os à partir des CSTA sont représentés par la nécessité de **développer des cellules ex-vivo pendant deux à trois semaines** afin d'atteindre le rendement cellulaire approprié pour l'implantation. De plus ils impliquent des interventions chirurgicales multiples.

ANALYSE D'UNE ETUDE PARALLELE

Dans l'attente de la publication d'autres études concernant les cellules souches adipeuses, nous pouvons étendre notre recherche sur d'autres cellules mésenchymateuses afin d'observer leur utilisation in-vivo et de dégager les possibles domaines d'utilisation.

Nous avons vu précédemment que les cellules souches mésenchymateuses issues de la moelle osseuse présentaient une plasticité comparable aux cellules souches adipeuses, voici une étude parallèle :

- **FARRE GAUSCH ET AL.**²⁷⁷ réalisent des élévations du plancher sinusien en combinant des cellules mésenchymateuses issues de la moelle osseuse pelvienne à de l'os xénogénique type Bio-Oss, l'étude a été réalisée en Split-Mouse Randomisée chez 12 patients :
 - **Coté test : cellules mésenchymateuses + Bio-Oss**
 - **Coté témoin : Bio-Oss + os autogène (région tubérositaire)**

OBJECTIF DE L'ETUDE		SINUS LIFT EN COMBINANT CSTA ET BIO-OS
PROTOCOLE	Population cible	12 patients de 48 à 69 ans
	Prélèvement adipeux	Technique : aspiration , Site de prélèvement : os pelvien
	Isolement des CS	Concentration et sélection des cellules souches mésenchymateuses ²⁷⁸
	Echafaudage	Bio Oss 0,25-1 mm : origine xénogénique (bovine) et membrane collagène BioGuide
	Transplantation	Ostéotomie par abord latéral sinusien , mise en place du matériau de comblement enrichi des cellules mésenchymateuses
	Suivi	Suivi et implantation entre 2 et 3 mois (excellente stabilité primaire)
RESULTATS	Radiographiques préop puis à 3 mois	Augmentation significative de la hauteur et de la largeur d'os : Coté test : augmentation de 17,7 % ±7,3 Coté témoin : augmentation de 12,0 % ±6,6
	Conclusion	Les cellules souches mésenchymateuses ensemencées sur des particules de BioOss induisent un volume suffisant d'os dans un laps de temps comparable aux greffes autogéniques, cette technique pourrait être une alternative à l'utilisation des autogreffes.

CONCLUSIONS

Plus de **3000 publications** s'interrogent sur l'efficacité et la sécurité de l'utilisation des CSTA en médecine régénérative. La régénération osseuse est actuellement le domaine le plus prometteur pour l'application clinique de ces protocoles expérimentaux. Cependant, une **nécessité de standardisation des protocoles est nécessaire**.

De plus, il faut **privilégier les applications directes des lipoaspirats, en minimisant les manipulations** (procédés Lipogems, Adiprep...).

Des recherches sont conduites dans le but de développer des dispositifs ad-hoc afin d'isoler rapidement la fraction stoma-vasculaire des lipoaspirats de tissu adipeux dans l'optique d'effectuer des **greffes sans culture ni manipulation préalable**¹⁵⁷. Le développement de ces dispositifs peut permettre de surmonter les risques et de mettre en œuvre la récolte de graisse pour l'isolement des CSTA visant à une chirurgie reconstructive.

B. ETUDE DE LA REGENERATION D'UN DEFAUT PARODONTAL

MOT-CLE AJOUTE	NOMBRE DE PUBLICATIONS	ARTICLES RETENUS
• « periodontal regeneration »	17	15

ETUDE DU POTENTIEL DE REGENERATION PARODONTALE

Le système d'attache de la dent est constitué de deux tissus minéralisés : le **cément et l'os alvéolaire**. Entre ces tissus s'interpose un tissu conjonctif vasculaire de composante fibreuse et cellulaire, appelé **ligament alvéolo-dentaire**. La **maladie parodontale** peut conduire à la destruction du parodonte, y compris l'os alvéolaire, le cément, le ligament parodontal et la gencive. Les tissus parodontaux se régénèrent de façon naturelle, cependant en cas de maladie parodontale la vitesse de destruction est supérieure à la vitesse de régénération, et le système est dépassé. Il est donc nécessaire de développer des thérapeutiques pour **aider ce système à se régénérer**²⁷⁹.

Plusieurs méthodes, telles que la **régénération tissulaire guidée**²⁸⁰⁻²⁸³, les **greffes osseuses et les protéines de matrice de l'émail**²⁸⁴⁻²⁸⁷, ont été étudiées pour la régénération du tissu parodontal dans un contexte clinique. Cependant, l'efficacité de ces traitements reste limitée²⁸⁸⁻²⁹², car ils ne possèdent pas les facteurs clés pour recruter les bonnes cellules sur le site de la lésion. Ce **recrutement** est l'étape critique qui garantit la réussite de la régénération du système d'attache.

Pour surmonter ces limites, les cellules souches mésenchymateuses ont été adaptées pour la régénération de structures complexes, tels que les tissus parodontaux, et ont donné des résultats prometteurs²⁹³⁻²⁹⁶.

Plusieurs cellules sont candidates dans la régénération parodontale :

	CELLULE SOUCHE EMBRYONNAIRE	CS DU LIGAMENT PARODONTAL	CS DE LA MOELLE OSSEUSE	CS DU TISSU ADIPEUX
AUTORISATION ETHIQUE	✘	✓	✓	✓
ACCESSIBILITE	✘	✘	✓	✓✓✓
PROTOCOLE INVASIF	✓	✘	✘	✓
POTENTIEL PARODONTAL	✓✓✓	✓✓✓	✓	✓

Légende : ✘ défavorable, ✓ favorable, ✓✓✓ très favorable

Une fois de plus, les **cellules souches du tissu adipeux** se placent en tête des sondages pour la régénération des défauts parodontaux, dans ce chapitre nous observerons leur capacité de différenciation in-vivo.

CAHIER DES CHARGES DU BIOMATERIAU IDEAL

La régénération du tissu parodontal est un défi très audacieux car elle nécessite la régénération simultanée de **4 éléments clés qui sont interconnectés** : l'os alvéolaire, le cément, le ligament parodontal et la gencive.

Le but est de retrouver :

- Un **système solide** d'ancrage de la dent à l'os,
- Un **système de jonction dento-gingivale hermétique** (barrière de défense efficace),
- Un **système de rupture des forces** (amortissement des pressions et des chocs entre les arcades),
- Un **système assurant la nutrition du parodonte** (vaisseaux sanguins et lymphatiques),
- Un **système proprioceptif de régulation et de coordination** des mouvements mandibulaires par les terminaisons nerveuses (arc réflexe),
- Un **système dynamique** capable de se remanier et de se régénérer (fibroblastes).

ANALYSE D'UNE ETUDE TYPE

La régénération du tissu parodontal a été expérimentée dans plusieurs modèles animaux, tels que le rat, le chien, le singe et le porc. Le modèle du chien est particulièrement bien adapté pour étudier les capacités des CSTA à régénérer les tissus parodontaux.

Voici l'étude réalisée par **TOBITA et MIZUNO**²⁹⁷, plasticiens de Tokyo (2013) :

OBJECTIF DE L'ETUDE		REGENERER UNE ATTEINTE DE FURCATION DE TYPE III DE 5 MM		
METHODE	Population cible	Chien		
	Préparation : création du défaut de classe III	Anesthésie, incision sulculaire, lambeau de pleine épaisseur, excision du cément, os alvéolaire, ligament parodontal à la fraise boule : recréer une atteinte de furcation de 5 mm		
	Prélèvement adipeux	Technique : excision , Lieu : coussinet adipeux inguinal		
	Isolement	Préparation type « Patricia Zuk » : hachage, digestion enzymatique, filtration, centrifugation, mise en culture, récupération des CSTA adhérentes		
	Choix de l'échafaudage	Mélange des CSTA avec un gel de PRP		
	Transplantation	Implantation du gel + CSTA directement dans le défaut parodontal avec des precelles, sutures 6-0 résorbable		
RESULTATS	Radiographiques à 2 mois		% d'os néoformé	% de cément néoformé
		Groupe CSTA + PRP	63,9	84,7
		Groupe PRP seul	53,7	62,5
		Groupe témoin	40,3	61,7
	Histologiques	<ul style="list-style-type: none"> • Arrangement des cellules le long de la surface dentaire et dépôt d'un nouveau cément (coloration Azan-positive) • Apparition d'ostéoblastes : nouvel os (coloration de l'ostéocalcine) • Attachement des fibres perpendiculairement entre l'os et la racine : ligament parodontal (coloration Elastica van Gieson) 		
	Conclusion	A 2 mois, le groupe CSTA + PRP présente une structure similaire à l'architecture d'origine : formation d'os alvéolaire, ligament parodontal et cément		

Après 4 semaines, les CSTA et PRP ont empêché l'invasion épithéliale dans la zone de défaut.

Après 8 semaines, l'os nouvellement formé a été observé au niveau du site d'implantation.

Cette étude a démontré l'efficacité d'une combinaison des CSTA et PRP dans la régénération des défauts parodontaux.

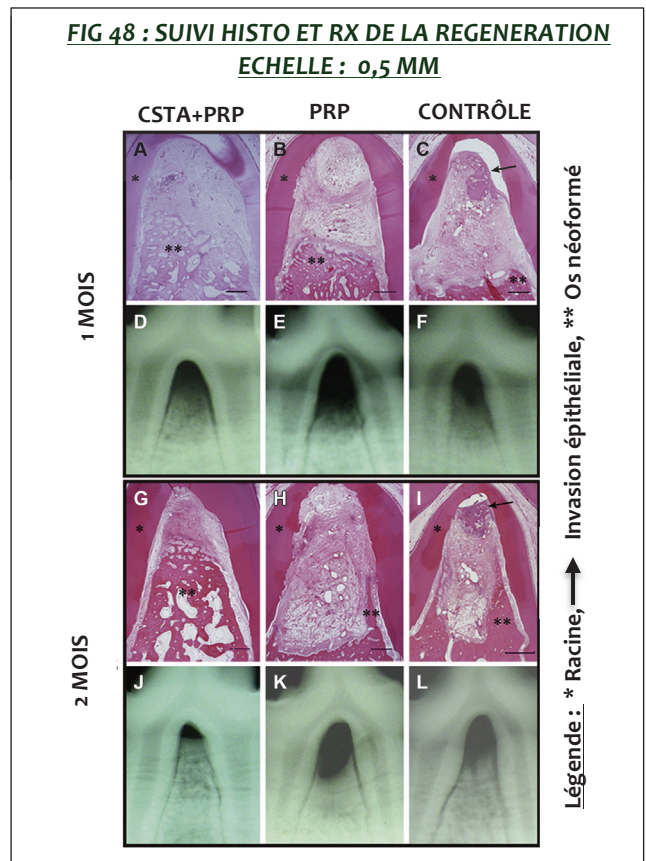
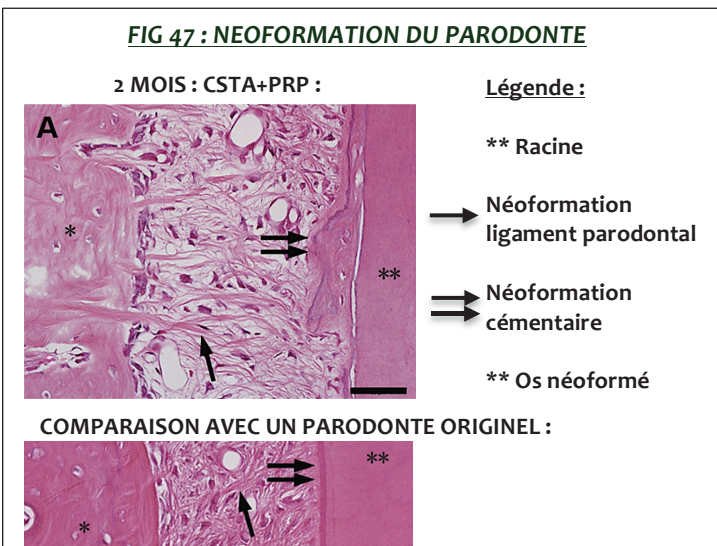
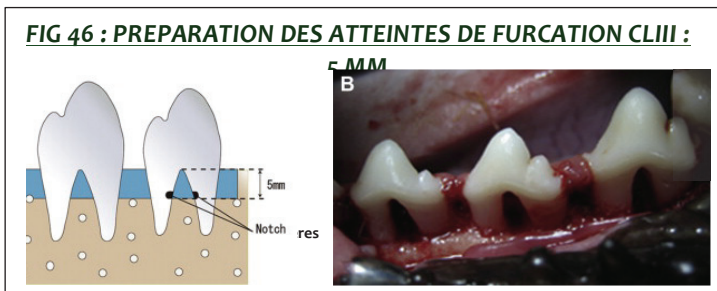
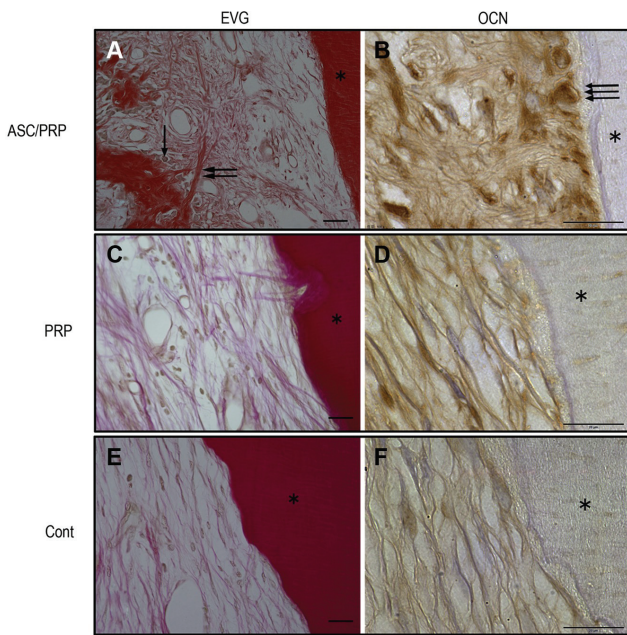


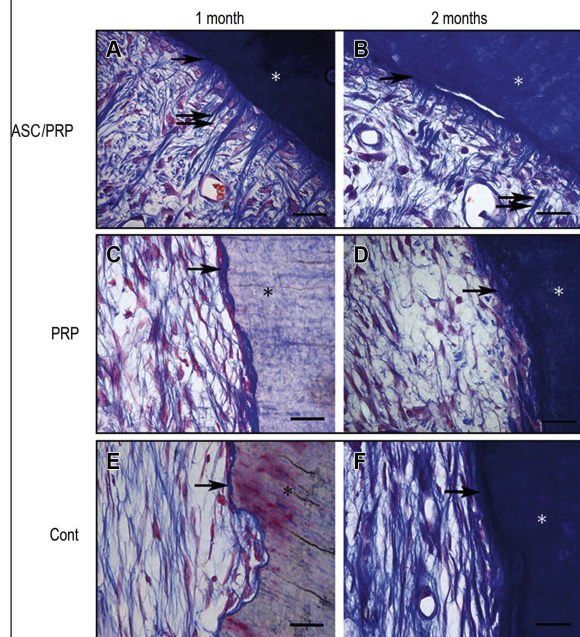
FIG 48 : COLORATION ELASTICA VAN GESON (EVG) ET OSTEOCALCIN (OCN) ECHELLE : 20 MM



Légende :

- ostéoblaste,
- ⇒ fibre de collagène,
- ⇒⇒ cellules ostéoclastine-positives
- * racine dentaire

FIG 49 : DEFAUT PARODONTAL : COLORATION AZAN ECHELLE : 25 MM



Légende :

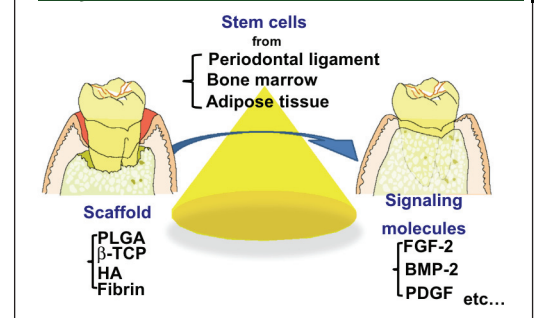
- néoformation cémentaire,
- ⇒⇒ néoformation ligament parodontal,
- * racine dentaire

LES ACTEURS DE LA REGENERATION PARODONTALE

Le succès de la régénération des tissus parodontaux nécessite :

- la **différenciation des cellules souches** lors de leur implantation dans les tissus parodontaux
- la **promotion de l'angiogenèse et de la vascularisation** pour permettre la survie, la croissance et la différenciation des cellules souches
- l'**utilisation d'échafaudages de biomatériaux** efficaces pour prévenir l'invasion de l'épithélium gingival.

FIG 50 : LES ACTEURS DE LA REGENERATION



LE POTENTIEL CELLULAIRE

Pour comprendre le devenir des CSTA dans le défaut parodontal, **HASEGAWA ET AL.**²⁹⁸ ont marqué les cellules souches par la protéine fluorescente verte GFP avant leur transplantation. Quatre semaines après leur insertion, les défauts parodontaux étaient quasiment régénérés. Après sacrifice des animaux, l'analyse immunohistochimique a révélé la présence de la protéine GFP au sein des cémentoblastes, ostéoblastes, ostéocytes et fibroblastes du sein du tissu parodontal. Cette étude appuie avec force le potentiel de différenciation in-vivo des cellules souches du tissu adipeux dans les défauts parodontaux.

L'IMPORTANCE DE L'ANGIOGENESE

Les divers facteurs de croissance sécrétés par les CSTA peuvent également jouer un rôle important dans la régénération des tissus (21). Pour régénérer le tissu fonctionnel dans une zone endommagée, l'angiogenèse est aussi extrêmement importante. Parmi les facteurs de croissance, les CSTA sécrètent **VEGF, HGF, IGF, TGFβ, GM-CSF, IL-6-8-11, TNF-α, MMP 1, 9.**

LE PRP/PRF : UN ECHAFAUDAGE DE CHOIX

Les colles de fibrine sont de plus en plus utilisées dans les régénérations tissulaires et constituent un support de qualité pour les cellules souches destinées à la thérapie cellulaire.

Nous différencions le PRP du PRF selon les critères suivants²⁹⁹ :

	PRP : Platelet Rich Plasma	PRF : Platelet Rich Fibrin
HISTORIQUE	Robert E. MARX 1998	Joseph CHOUKROUN 2001
PROTOCOLE	Double centrifugation 10min à 2400 tours/min puis 15 min à 3600 tours/min	Simple centrifugation 10 min – 3000 tours/min
TUBE	Facteur anticoagulant : CaCl ₂	Aucun ajout de facteur
ORIGINE	Autologue + thrombine bovine ou humaine	100% autologue
COAGULATION	Provoquée par adjonction de thrombine	Physiologique
LIBERATION DE FACTEURS DE CROISSANCE PLAQUETTAIRES	Massive, durant 1 heure	Prolongée, jusqu'à 1 semaine
STRUCTURE BIOCHIMIQUE DE LA FIBRINE	Macromolécule à jonction tétramoléculaire : rigide	Molécule à jonction trimoléculaire ; structure naturelle et physiologique
REPRESENTATION :	<p>FIG 51</p> <p> ■ Culot d'hématies ■ Plasma acellulaire (PPP) ■ * Buffy coat* (cPRP) </p> <p> ■ Hématies résiduelles ■ Plasma acellulaire (PPP) ■ cPRP </p>	<p> ■ Culot d'hématies ■ Plasma acellulaire ■ Caillot de fibrine (PRF) </p>

Le PRF semble donc emporter la bataille des colles biologiques. Son utilisation en tant que support de cellules souches est motivée par :

- La **simplicité** et la **rapidité** de la procédure : prise de sang - centrifugation
- La **consistance gélifiée tridimensionnelle de la matrice** : utilisable comme une membrane
- La **capacité d'emprisonnement des cellules et des facteurs de croissance** au sein des mailles de fibrine assurant une libération lente et prolongée²⁹⁹
- Sa **capacité d'adhésion** forte aux racines dentaires³⁰⁰
- Son origine **100% autologue**, ce qui élimine les problèmes concernant les réactions immunogènes et transmission de la maladie³⁰¹.
 - Son **contenu riche en facteurs de croissances bioactifs** impliqués dans la guérison des tissus : **VEGF, TGFB, PDGF A/B, HGF, IGF.**
 - Sa **richesse en protéines** qui agissent comme des molécules d'adhésion cellulaire, importantes pour la migration des fibroblastes, des ostéoblastes et des cellules épithéliales : **fibrine, fibronectine, vitronectine, thrombospondine.**

Ainsi, le PRF constitue un support de choix tant par son rôle physique de support cellulaire mais également son action sur la prolifération des cellules souches humaines³⁰².

DE NOUVELLES PERSPECTIVES

La recherche teste de nouvelles injections de fractions stoma-vasculaire (FSV) fraîchement isolées, sans expansion des cellules directement au sein du cœur ou des tissus mous³⁰³.

En raison de l'immense quantité de CSTA présentes dans le tissu adipeux, une telle injection devrait contenir une bonne quantité de cellules souches.

Cette approche simple serait particulièrement adaptée à la pratique dentaire.

C. ETUDE DE LA REGENERATION D'UN DEFAUT GINGIVAL

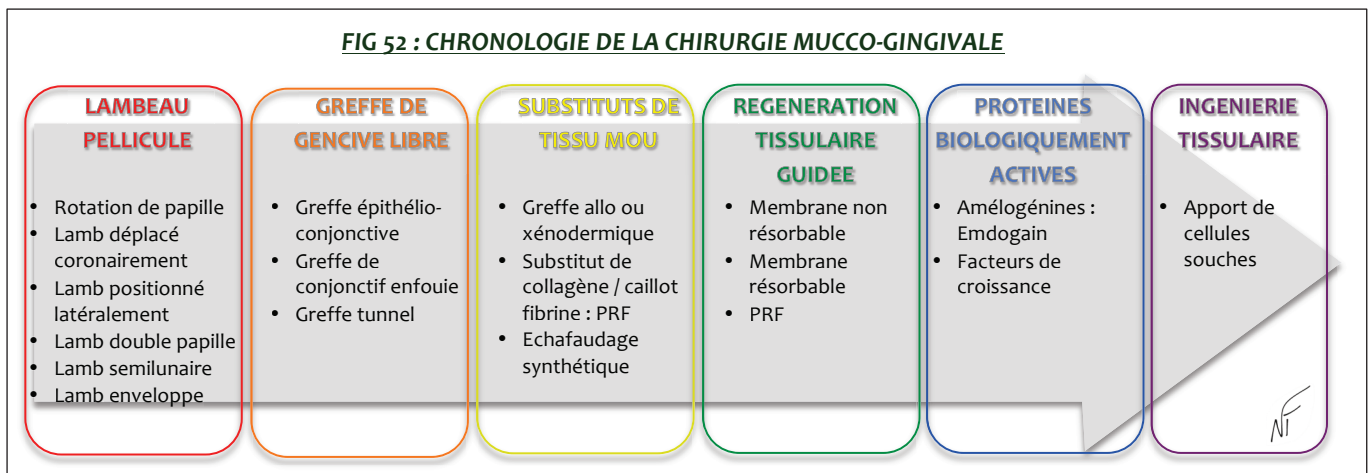
MOT-CLE AJOUTE	NOMBRE DE PUBLICATIONS	ARTICLES RETENUS
« gingival regeneration »	6	5

ETAT DES CONNAISSANCES ACTUELLES

Du haut de ses 3500 articles, la Medline place les récessions gingivales au cœur des débats de la dentisterie moderne. Véritable défi pour les praticiens, elles sont fréquemment associées chez les patients à des préoccupations esthétiques, la peur de la perte des dents, des caries profondes, à une hypersensibilité dentinaire qui peuvent se poursuivre par la perte d'attache parodontale.

Classifiées par **Preston Dallas MILLER Junior**³⁰⁴ en 1985, la récession gingivale est définie comme le déplacement de la gencive marginale apicalement à la jonction amélo-cémentaire (American academy of Periodontology 1992).

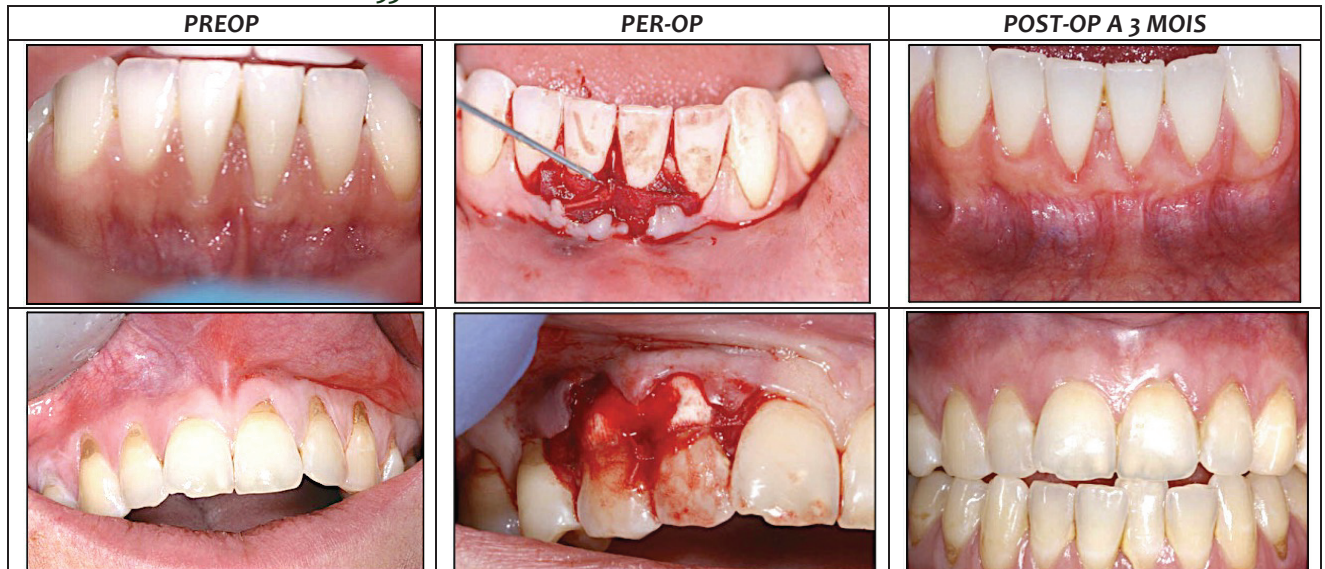
Pierre angulaire de la chirurgie mucogingivale, nous rappelons les nombreuses procédures chirurgicales qui permettent la création d'une zone stable de gencive attachée :



La **greffe conjonctive enfouie** (associée ou non à un déplacement coronaire) est depuis longtemps enracinée comme la thérapeutique de référence. Cependant, la quantité de tissu obtenu reste limitée, le risque de nécrose de la greffe n'est pas négligeable et elle entraîne une morbidité du site donneur.

L'ingénierie tissulaire vient une fois de plus apporter sa pierre à l'édifice dans la recherche du greffon idéal. Dans une étude menée par **Nicholas TOSCANO**³⁰⁵ (USA 2001), nous analyserons la régénération d'une récession de classe II de Miller par l'application des cellules souches contenues dans la fraction stroma-vasculaire en combinaison avec une membrane de collagène bicouche porcine : **Mucograft** (Geistlich).

FIG 53 : REGENERATION GINGIVALE PAR INJECTION DE CSTA



DETAILS DE L'ETUDE

OBJECTIF DE L'ETUDE		REGENERER UNE RECESSION DE CLASSE II
METHODE	Population cible	7 Femmes, 1 Homme : 23-45 ans
	Description du défaut gingival	Récession de classe II, de 2 à 8mm, et d'une moyenne de 3,79mm de profondeur. Présence d'1 mm de gencive kératinisée marginale
	Prélèvement adipeux	Technique : liposuction le jour de la chirurgie , Lieu : abdominal
	Protocole de préparation	Procédé IntelliCell : 60 cc soumis à cavitation ultrasonique, filtration, centrifugation 3250tours/min : culot de faction stroma-vasculaire
	Choix de l'échafaudage	Mucograft : membrane collagénique porcine bicouche
	Préparation du lit receveur	Anesthésie locale, incision intrasulculaire biseau interne sans incision de décharge, décollement en pleine épaisseur puis en demi épaisseur, assainissement des surfaces radiculaires (odontoplasties : fraise, ultrasons), décontamination (pâte tétracycline retire la boue dentinaire), désépithélialisation des papilles, ajustement-découpage de la matrice
	Transplantation des cellules souches	Positionner de la matrice dans le lit receveur, ensemencer et saturer la matrice à l'aide de la seringue de FSV , repositionner le volet sans tension et suture 5-0 Vicryl comme pour un lambeau à repositionnement coronaire. Injecter le reste de la seringue dans la matrice puis autour de la zone chirurgicale.
RESULTATS	Post opératoire : Pour le patient	Aucun événement indésirable, aucune marque d'inflammation, d'inconfort ni d'œdème post opératoire.
	Clinique à 6 mois	<ul style="list-style-type: none"> • Gain moyen en hauteur : 3 mm : 86,83 % de recouvrement • Gain en épaisseur : 0,79 mm • 66% des patients ont atteint 100% de recouvrement
	Aspect de la gencive	La couleur, la texture, l'épaisseur de la régénération se confondent avec la gencive native.

Ainsi, par les résultats cliniques, l'absence de mutilation d'un site donneur et l'absence de douleur post-opératoire, l'utilisation de la FSV représente une alternative fiable et reproductible dans le traitement des récessions.

Afin d'affirmer la place de l'ingénierie tissulaire dans la chirurgie mucco-gingivale, **McGUIRE ET AL.**³⁰⁶ renouvellent l'expérience en comparant une greffe de cellules souches fibroblastiques (dérivées des kératinocytes) à une greffe épithélioconjonctive. L'étude a été randomisée sur 25 cas et un questionnaire a permis de déterminer le ressenti des patients face à cette chirurgie. Voici les résultats cliniques :

	GREFFE DE CELLULES SOUCHES	GREFFE GINGIVALE LIBRE
Quantité de tissu kératinisé obtenue	4,5 ± 0,80 mm	2,4 ± 1,02 mm
Niveau d'attache clinique	Bonne attache	Bonne attache
Douleurs post-opératoires	+	+++++
Aspect physique : couleur, texture	Excellente	Perfectible (aspect de rustine)
Reproductibilité	+++++	+++

Nous pouvons donc observer que malgré la présence de cellules souches, la quantité de tissu kératinisé obtenue est inférieure à la greffe gingivale libre. Une amélioration de la récession est toutefois constatée dans 24 cas sur 25. Cependant, la greffe de cellules souches n'entraîne aucune comorbidité/mutilation d'un site donneur et la **qualité de la gencive obtenue est supérieure**. C'est donc un traitement **fiable et reproductible**.

La bataille contre les récessions gingivales n'est pas encore terminée mais nous pouvons affirmer que l'ingénierie tissulaire représente une **alternative prometteuse**.

D. ETUDE DE LA REGENERATION PULPAIRE

MOT-CLE AJOUTE	NOMBRE DE PUBLICATIONS	ARTICLES RETENUS
« pulp regeneration »	4	4

PHILIPP PFAFF, en 1756, dentiste de la cour royale de Prusse publie ses travaux sur les premières tentatives de pulpectomies par utilisation de feuilles d'or comme matériau d'obturation. En 1847, **EDWIN TRUMAN**³⁰⁷ introduit la gutta percha comme matériau d'obturation. 168 années plus tard, nous notons que d'innombrables moyens et techniques ont vu le jour, cependant le traitement et les matériaux restent toujours primitifs et inchangés.

Malgré un succès clinique rapporté, les études évaluant les traitements endodontiques montrent des taux d'échecs très importants, avec environ **70% de traitements insatisfaisants** par manque d'étanchéité, contamination bactérienne ou persistance des pathologies infectieuses ou inflammatoires de la pulpe.

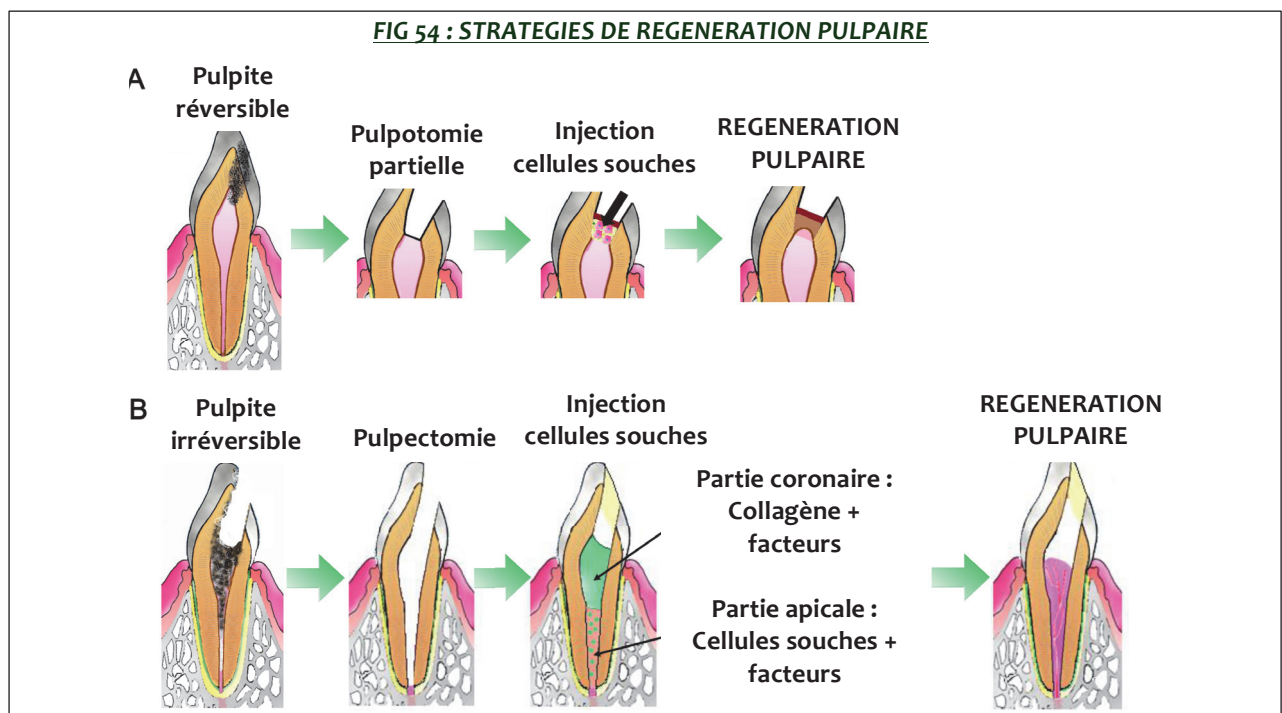
C'est à partir de 1970 et les études de **NYGAARD-OSTBY**³⁰⁸ qu'est né le concept de l'endodontie régénérative, comme nouvelle modalité de traitement ayant pour but le rétablissement de la vitalité pulpaire et le développement radiculaire.

La recherche actuelle en endodontie travaille sur la mise au point d'une méthode alternative, efficace, fiable et sûre. De nombreuses techniques de **revascularisation** ont vu le jour en 2001 par **IWAYA et AL.**^{309,310} proposant l'idée d'induire l'apexification des dents permanentes immatures par désinfection du canal puis en induisant un saignement apical qui coloniserait le canal. Cependant, cette technique s'apparente plus à un processus de réparation plutôt qu'à une régénération³¹¹.

La notion de régénération pulpaire par l'ingénierie tissulaire a toujours été considérée comme ambitieuse car la pulpe est enfermée dans la dentine et isolée de la circulation générale par l'apex. Le but ultime de ce traitement vise à apporter une alternative biologique au traitement endodontique afin de pouvoir « revitaliser » les dents.

Les **premiers essais cliniques**^{312,313} ont démontré en 2011, que la transplantation autologue d'une population de cellules souches pulpaires est capable d'induire une régénération complète de la pulpe. Cependant, elle nécessite la dépulpage d'une dent donneuse (type « dent de sagesse »), de plus, la disponibilité du tissu pulpaire diminue avec l'âge.

La recherche d'une source de cellules mésenchymateuses nous conduit une fois de plus au tissu adipeux, voici un protocole établi par une équipe japonaise dirigée par les **Drs ISHIZAKA et IOHARA**^{314,315}. En fonction de l'atteinte pulpaire, deux situations sont envisageables :

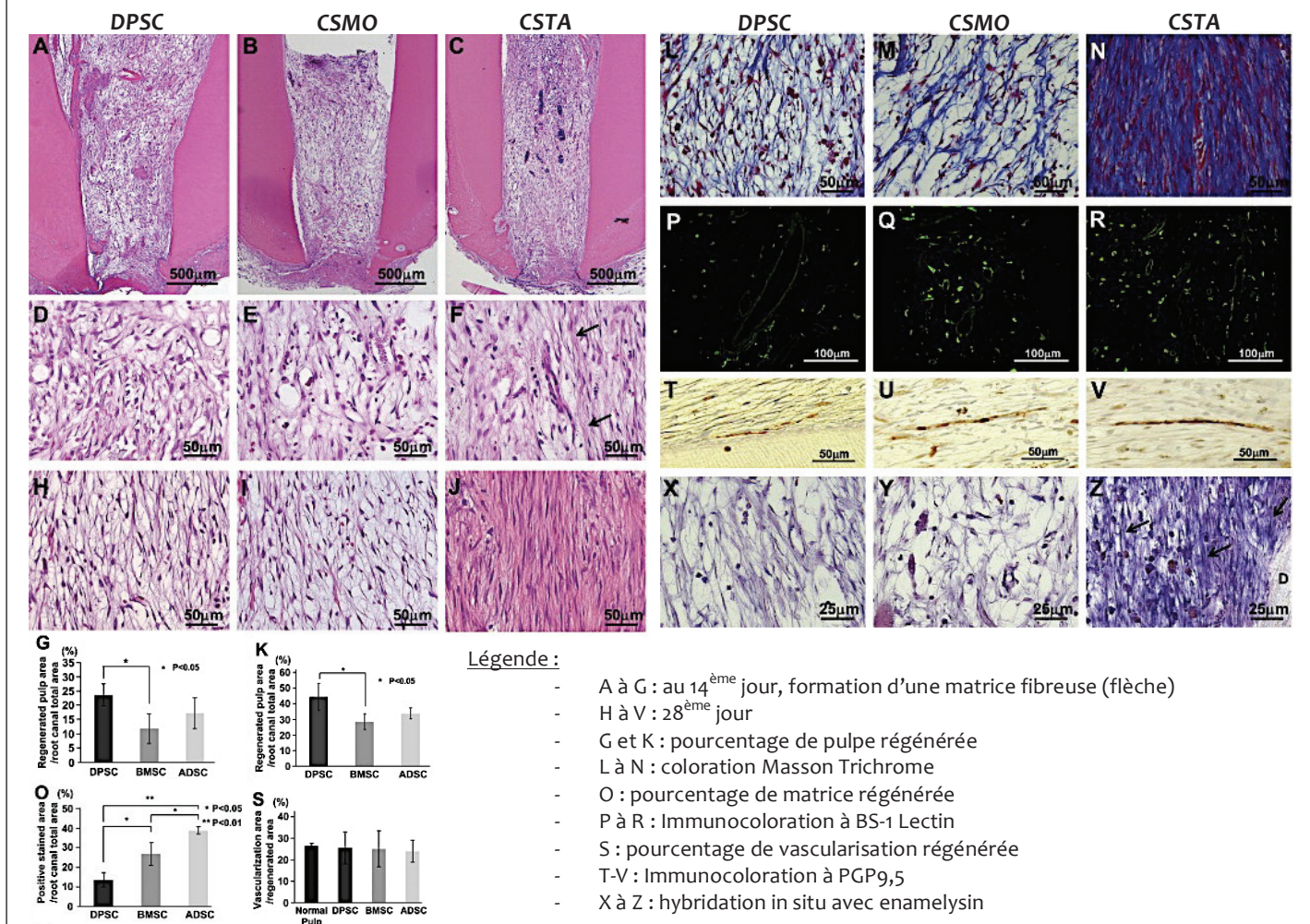


ANALYSE DE LA REGENERATION PULPAIRE

OBJECTIF DE L'ETUDE		REGENERER UNE DENT DEPULPEE
METHODE	Population cible	Chien
	Préparation de la dent	Anesthésie, retrait de l'ensemble de la pulpe sur des incisives et élargissement du foramen apical à 0,7 mm par lime K-File 70.
	Prélèvement adipeux	Technique : excision ; Site : sous-cutané abdominal
	Isolement	Préparation type « Patricia Zuk » : hachage, digestion enzymatique, filtration, centrifugation, mise en culture, récupération des CSTA adhérentes
	Choix de l'échafaudage	Collagène type I (Nitta Gelatin)
	Transplantation	Transplantation dans la partie apicale du canal puis recouverte par du collagène et obturation de la cavité par un ciment phosphate de zinc et une résine composite.
RESULTATS	Analyse Immunohistologique	<ul style="list-style-type: none"> • Formation d'un tissu morphologiquement similaire à la pulpe • Taux d'expressions de marqueurs similaires à la pulpe dont le cluster CD105 (endogline) caractéristique de la pulpe • Augmentation du flux sanguin, et de la densité des capillaires • Expression d'éléments neurogéniques : fibres nerveuses • Excellents taux de migration cellulaire • Effet trophique de libération de facteurs de croissance • Expression de ENAMELYSIN : Formation d'une matrice solide et différenciation en odontoblaste • Régénération d'un fragment de dentine
	Conclusion	Le tissu régénéré par les cellules souches du tissu adipeux est similaire en tout point à une pulpe fonctionnelle.

Bien qu'étant réalisés chez l'animal, ces résultats mettent en évidence le potentiel des cellules souches adipeuses comme élément clé des traitements endodontiques de demain.

FIG 55 : REGENERATION D'UNE PULPE DENTAIRE : ETUDE COMPARATIVE



E. ETUDE DE LA REGENERATION DENTAIRE

MOT-CLE AJOUTE « tooth regeneration »	NOMBRE DE PUBLICATIONS 3	ARTICLES RETENUS 3
---	------------------------------------	------------------------------

Nous avons vu précédemment le potentiel de régénération osseuse, parodontale, pulpaire des CSTA. Pourquoi ne pas associer ces domaines et conjecturer la régénération d'une dent entière ?

De nombreuses études³¹⁶⁻³²¹ ont mis en avant le potentiel odontoblastique des cellules souches pulpaire, cependant la régénération d'une dent structurellement et physiologiquement identique à une dent naturelle n'a pas encore été atteinte.

C'est le défi lancé par le **Dr. HUNG et AL.**³²¹ (2011) qui a testé le potentiel de régénération d'une dent à partir de cellules souches du tissu adipeux :

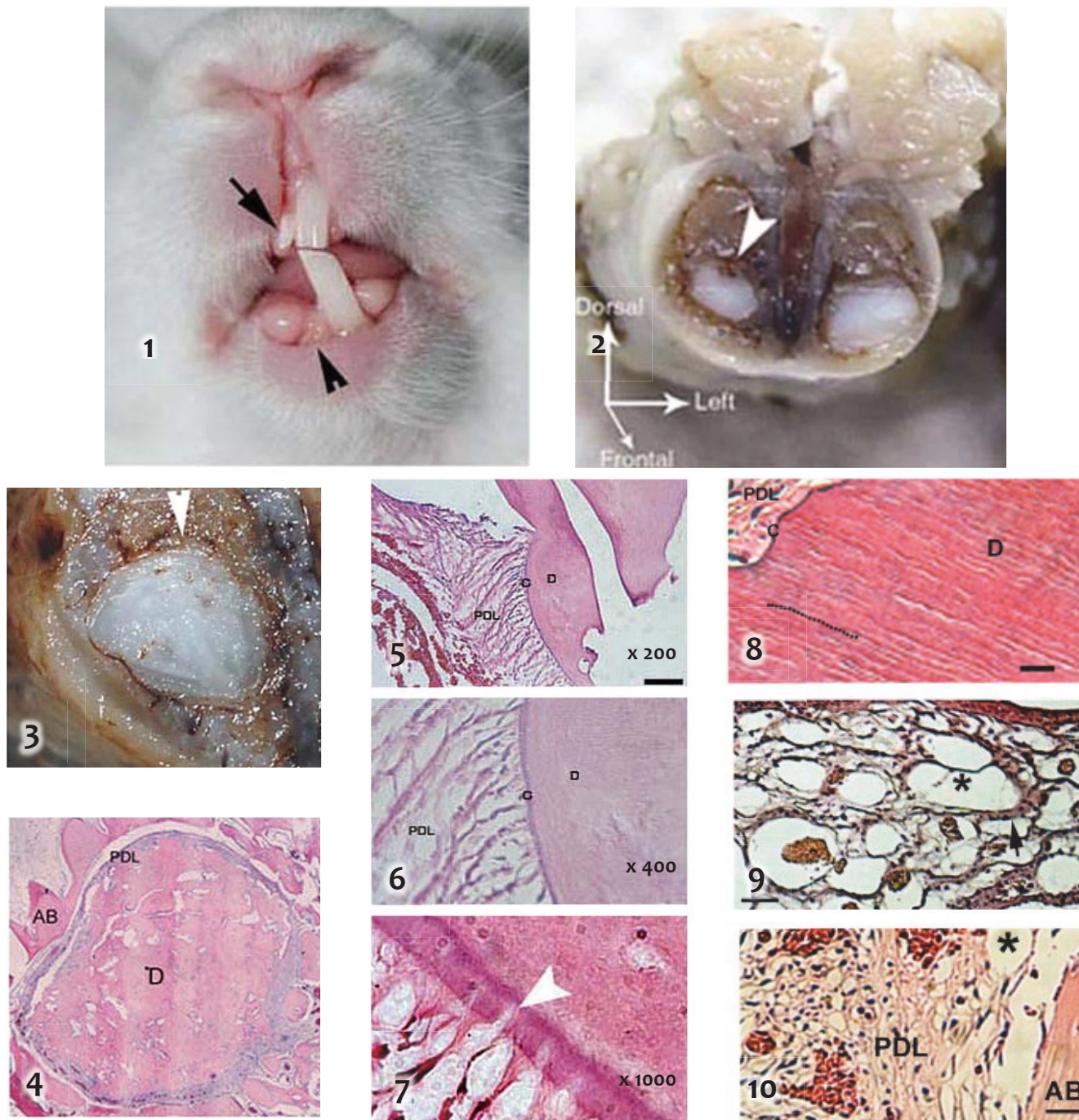
OBJECTIF DE L'ETUDE		REGENERER UNE DENT APRES AVULSION
METHODE	Population cible	Lapins de Nouvelle-Zélande de 2-6 mois
	Préparation du site	Anesthésie, avulsion d'une incisive maxillaire (test) et d'une incisive mandibulaire (contrôle), curetage profondi
	Prélèvement adipeux	Technique : excision , Site : sous-cutané abdominal
	Isolement	Préparation type « Patricia Zuk » : hachage, digestion enzymatique, filtration, centrifugation 1200g, mise en culture, récupération des CSTA adhérentes
	Différenciation	DMEM + HEPES + NaHCO ₃ + CaCl ₂ , NaOH
	Choix de l'échafaudage	Gel de collagène (porcin) contenant du BMP2
	Transplantation	Insertion du gel de collagène contenant les cellule souches + BMP2 et suture 5-0
RESULTATS A 15 sem	Analyse morphologique	<ul style="list-style-type: none"> • Formation d'une entité blanche minéralisée au sein de l'os alvéolaire • Régénération d'une structure définie semblable à des dents naturelles • Aucune éruption visible au bout de 15 semaines
	Analyse histologique et immunologique	<ul style="list-style-type: none"> • Formation d'une dentine organisée en tubules parallèles • Formation d'un cément qui recouvre la dentine • Formation d'un ligament parodontal qui pénètre le cément et ancre la dentine à l'os par des fibres obliques et horizontales (identique aux fibres de Sharpey) • Formation d'une pulpe vivante composée de vaisseaux et de nerfs • Réseau vasculaire présent dans la pulpe et dans le ligament parodontal : continué de gros vaisseaux entourés par un plexus capillaire de petits vaisseaux • Réseau de fibres nerveuses myéliniques (emballées dans du périnerve) et amyéliniques (fibres C)
	Conclusion	Formation d'une structure organisée ressemblant en tout point à une dent naturelle

En 15 semaines, un organe dentaire vivant a été régénéré ! Possédant une structure organisée, vascularisée et innervée, qui serait capable de réagir à des stimuli thermiques, proprioceptifs et nociceptifs.

Les auteurs estiment qu'une éruption de la dent aurait pu être réalisée par une ouverture chirurgicale car une épaisseur d'os a recouvert la partie superficielle de l'alvéole.

Le chemin est encore long et des études complémentaires telles que la dureté de la dentine, sa réponse aux stress mécaniques (mastication) seraient encore nécessaires, mais cette étude caractérise le potentiel odontogénique des cellules souches adultes du tissu adipeux.

FIG 56 : REGENERATION DENTAIRE A 15 SEMAINES, VUE ENDOBUCCALE, DISSECTION ET HISTOLOGIE



Légende :

- 1) Vue endobuccale de la dent régénérée
- 2) Coupe transversale de dissection
- 3) Coupe longitudinale de la structure régénérée
- 4) Analyse histologique du germe
- 5-7) Agrandissement des structures :
 - PDL : ligament parodontal
 - C : cément
 - D : dentine
 - AB : Os alvéolaire
 - Flèche : fibres de Sharpey
- 8) Visualisation de la dentine : canalicules qui s'insèrent perpendiculairement au ligament parodontal
- 9) Visualisation de la pulpe : matrice, *vaisseaux, flèche : nerfs
- 10) Visualisation du ligament parodontal : *vaisseaux

F. ETUDE DE LA REGENERATION DES GLANDES SALIVAIRES

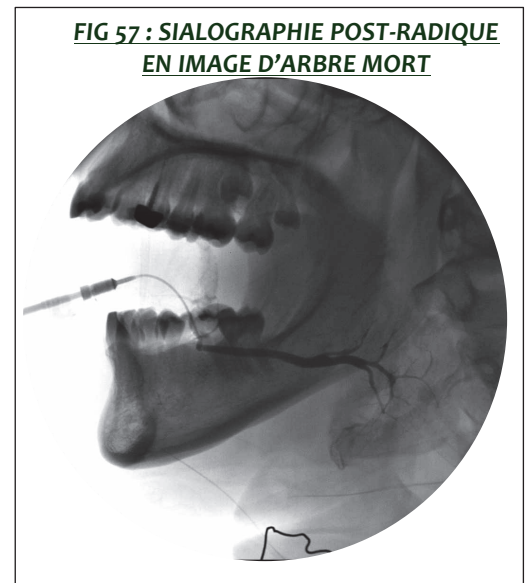
MOT-CLE AJOUTE	NOMBRE DE PUBLICATIONS	ARTICLES RETENUS
<ul style="list-style-type: none"> « salivary gland » 	9	3

LA XEROSTOMIE, UN FLEAU SOUVENT IATROGENE

Chaque année dans le monde, plus de 500 000 patients sont diagnostiqués d'un cancer des voies aéro-digestives supérieures. Un grand nombre de patients sont traités par radiothérapie, seule ou en combinaison avec la chirurgie ou encore de la chimiothérapie.

Malheureusement, à l'heure actuelle, la plupart des patients qui ont subi une radiothérapie souffrent de xérostomie (sécheresse buccale) en raison d'un dysfonctionnement de la glande salivaire induite par le rayonnement.

Le patient peut récupérer totalement sa fonction à condition que la dose totale reçue par les glandes salivaires soit inférieure à 26 grays, ce qui n'est jamais le cas pour la radiothérapie curative ORL. Dès 40 grays, l'atteinte est souvent irréversible. **L'hyposialie est souvent définitive dès 50-60 Gy.** À la sialographie, on obtient une image d'arbre mort. Les changements dégénératifs progressent, **la glande s'atrophie et devient fibrotique : nécrose intraglandulaire, atrophie des acini, dégénérescence graisseuse.** Il en résulte une perte du stock des cellules acineuses qui n'est pas réapprovisionné par les cellules de la couche basale, dont un grand nombre a subi une apoptose.



Gommes à mâcher, sialogogues, substituts salivaires, transplantation de glande salivaire, poudre de perlimpinpin... D'innombrables thérapeutiques ont été proposées dans le traitement de ces xérostomies post-radique, sans un réel succès.

Pourquoi ne pas utiliser la thérapie cellulaire dans le traitement de ces xérostomies ? C'est le pari lancé en 2011 par l'équipe du **Dr. Tsuyoshi KOJIMA**³²² au sein du département de chirurgie ORL de l'hôpital de Kyoto (Japon).

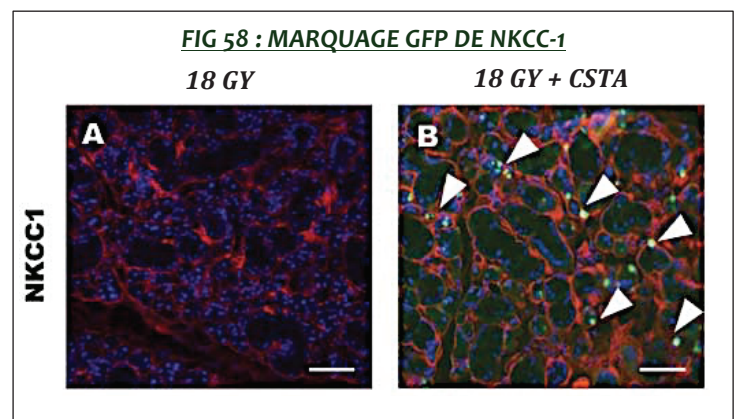
DESIGN DE L'ETUDE :

Les CSTA sont connues pour leur capacité angiogéniques par la sécrétion de multiples facteurs de croissance et de cytokines. Le but de cette étude est de déterminer si la transplantation de CSTA permet de remédier à l'hyposialivation induite par le rayonnement. Pour ce faire, des CSTA ont été injectées dans les glandes sous-maxillaires 10 semaines après irradiation.

Pour quantifier les effets, la morphologie et le flux salivaire de la glande sous-maxillaire ont été évalués juste avant la transplantation et à 5 et 10 semaines après la transplantation. Les effets angiogéniques et paracrines des CSTA ont également été évalués.

En 2014, une équipe chinoise dirigée par **Xiong XUEYAN**³²³, renouvelle d'expérience et parvient à identifier l'expression de **NKCC-1**, caractéristique d'une **transdifférenciation des CSTA en cellules acineuses**.

Ces études dévoilent donc une nouvelle voie de régénération des tissus endommagés par l'irradiation médicale, démontrant, une fois de plus le potentiel de réparation et de régénération des CSTA.

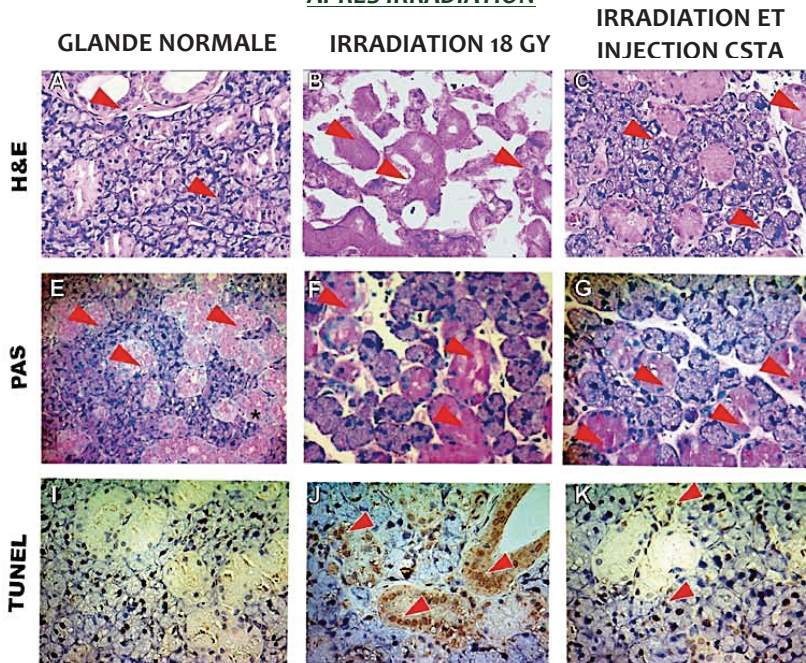


RESUME DES ETUDES DE KOJIMA ET AL³²² (2011) ET XIONG ET AL³²³ (2014) :

OBJECTIF DE L'ETUDE		REGENERER UNE GLANDE SALIVAIRE FONCTIONNELLE INITIALEMENT DETRUITE PAR UNE SOURCE D'IRRADIATION
METHODE	Population cible	Souris
	Préparation : irradiation	10-18Gy : dysfonctionnement salivaire irréversible après 2 mois
	Prélèvement adipeux	Technique : excision , Site : coussinet adipeux inguinal
	Isolement des CSTA	Préparation type « Patricia Zuk » : hachage, digestion enzymatique, filtration, centrifugation, mise en culture, récupération des CSTA adhérentes
	Transplantation	CSTA dans une solution PBS administrées par voie percutanée directement au sein de la glande salivaire
	Prélèvement de la salive	Injection d'un sialagogue et mesure de la quantité de salive sécrétée
RESULTATS	Physiologiques	Groupe CSTA : récupération de 75% de la production de salive Groupe Test : réduction de 50%
	Histologiques	<ul style="list-style-type: none"> • Expression CD31-positive : marqueur d'une angiogénèse accrue • Effet paracrine des CSTA : sécrétion de facteur de croissance, hépatocytes (HGF), facteur vasculaire endothélial (VEGF), Cox2 et MMP2
	Interprétation	<ul style="list-style-type: none"> • CD31 marque une différenciation des CSTA en cellules endothéliales vasculaires, mais également en cellules canalaire • HGF : résolution de la fibrose • Cox2 et MMP2 : augmentent l'angiogénèse

Il semble donc que la principale amélioration du débit salivaire induite par les CSTA soit le résultat d'une augmentation du flux sanguin par sécrétion des facteurs angiogéniques. Deuxième fait marquant : les CSTA ont la **capacité de se différencier en cellules endothéliales** ainsi qu'en **cellules canalaire**. Les cellules canalaire sont responsables de la collection de la salive produite par les acini.

FIG 59 : REGENERATION DE LA GLANDE SALIVAIRE SOUS MAXILLAIRE APRES IRRADIATION



Légende :

Coloration H&E :

- plages de nécrose, vacuoles cytoplasmiques et atypie des noyaux

Coloration PAS : spécifique des acini

Coloration TUNEL : marqueur des cellules apoptotiques

- forte activité apoptotique dans la glande irradiée
- résolution après injection de CSTA

FIG 60 : MESURE DU DEBIT SALIVAIRE

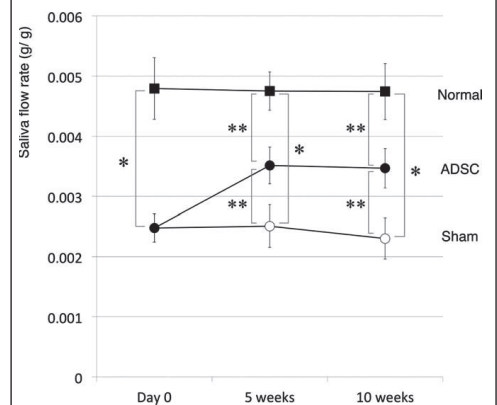
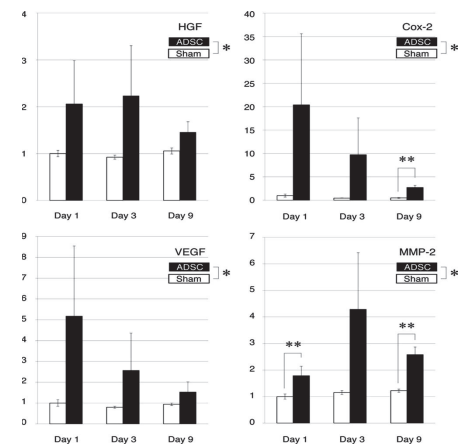


FIG 61 : SECRETION DE FACTEURS DE CROISSANCE ET CYTOKINES



G. ETUDE DE LA REGENERATION ORALE POST-ULCERATION

MOT-CLE AJOUTE « oral ulcer »	NOMBRE DE PUBLICATIONS 21	ARTICLES RETENUS 10
---	-------------------------------------	-------------------------------

La **cavité orale** joue un rôle essentiel dans de nombreuses fonctions corporelles clés, y compris la mastication, la digestion, la déglutition, la respiration et la communication. Les **étiologies des ulcérations muqueuses** sont multiples : traumatismes (chimique, thermique, physique), stomatites aphteuses récurrentes, infections microbiennes, maladies cutanéomuqueuses, troubles systémiques, thérapies médicamenteuses, lichen plan ou encore le carcinome à cellules squameuses.

En raison de la riche innervation de la muqueuse buccale, les ulcérations sont invariablement douloureuses à l'exception du carcinome qui évolue à bas bruit. Ces douleurs prolongées affectent grandement le quotidien des patients : difficulté à l'alimentation, lors de la parole, de la déglutition.

Le **traitement de ces ulcérations** demeure une énigme pour les praticiens. La plupart du temps, une corticothérapie à base de stéroïdes est prescrite aux patients. Cependant, ces traitements présentent de nombreux effets indésirables lors des prises à long terme (glycémie, décalcification, anémie, etc.).

Une fois de plus, la **médecine régénérative** vient apporter une nouvelle solution dans le traitement des ulcérations. De nombreuses recherches commencent à apparaître quant à l'utilisation des cellules souches pour soutenir le potentiel de cicatrisation des tissus³²⁴.

En 2009, **GRANERO-MOLTO et AL.**³²⁵ ont été les premiers à déclarer que les cellules souches mésenchymateuses pourraient aider la cicatrisation des ulcères de deux façons : en se différenciant en cellules du tissu et en sécrétant un large éventail de facteurs bioactifs.

EL-MENOUFY³²⁶ en 2010, a rapporté les premières utilisations des CSMO de la moelle osseuse pour accélérer la guérison des ulcères oraux.

Une récente étude datant de 2014, dirigée par le **Dr. ALAMOUDI et AL.**³²⁷ instaure l'utilisation des cellules souches du tissu adipeux dans le traitement des ulcères oraux. Elle compare l'efficacité des CSTA par rapport aux traitements par corticoïdes (dexaméthasone).

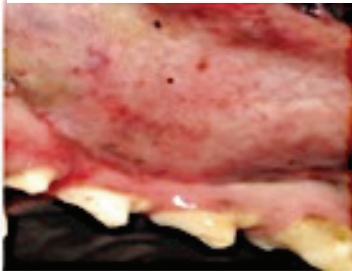
OBJECTIF DE L'ETUDE		TRAITEMENT D'UN ULCERE ORAL	
METHODE	Population cible	18 chiens de 1-3 ans	
	inuction des ulcères	Par application topique de formocrésol pendant 3 jours sur la muqueuse orale	
	Prélèvement adipeux	Technique : excision , Site : épiploon et coussinet adipeux inguinal	
	Isolement des CSTA	Préparation type « Patricia Zuk » : hachage, digestion enzymatique, filtration, centrifugation, mise en culture, récupération des CSTA adhérentes	
	Transplantation	Groupe A : injection intra-lésionnelle de CSTA en dans solution PBS Groupe B : injection de corticoïdes (dexaméthasone) Groupe C : injection d'une solution saline de PBS (groupe test)	
RESULTATS	Physiologiques	Groupe A : meilleure amélioration : diminution des saignements et érythèmes Groupe B : formation de croûtes et septicémie	
	Histologiques à 2 semaines	GROUPE A : meilleure amélioration • épithélialisation complète de l'épithélium de surface • néovascularisation • réduction de l'inflammation • tissu fibreux mature • architecture normale	GROUPE B : • épithélialisation incomplète, fine • parakératose et invasion du nouvel épithélium par des cellules inflammatoires • tissu fibreux désorganisé, collagène atrophique • architecture distordue et atrophique
	Interprétation	Groupe c : propagation de l'ulcération et le l'inflammation • Réparation du tissu directement par différenciation des CSTA • Et indirectement par sécrétion des facteurs angiogéniques : VEGF, TGFB, FGF2, angiopoïétin et des gènes de collagène • Réponse immunitaire améliorée dans le groupe A	

FIG 62 : REGENERATION ORALE POST ULCERATION, ETUDE DR. ALAMOUDI ET AL.


PRE-OP : MUQUEUSE NORMALE DE CHIEN	ULCERE INDUIT SUR LA MUQUEUSE	INJECTION INTRA-LESIONNELLE DE CSTA
		

PRESENTATION DES RESULTATS

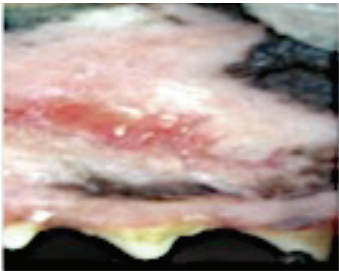
INJECTION DE CSTA



Ulçère oral après 3 jours

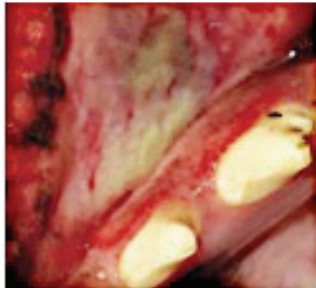


Ulçère oral après 1 semaine

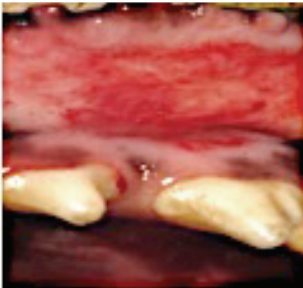


Ulçère oral après 2 semaines

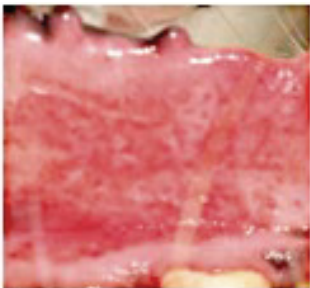
GROUPE INJECTION DE DEXAMETHASONE



3 jours

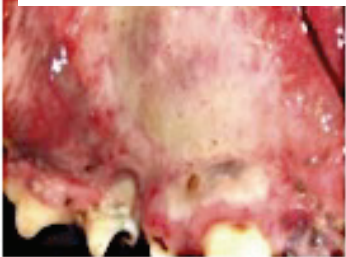


1 semaine

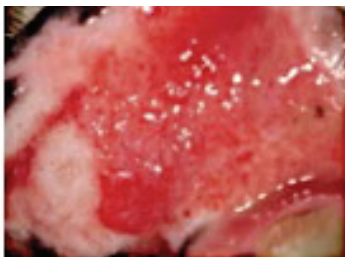


2 semaines

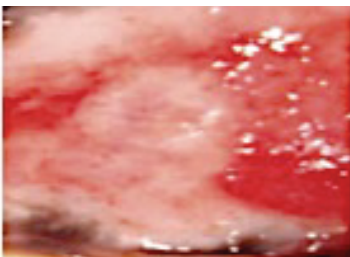
GROUPE CONTROLE INJECTION DE PBS (PHOSPHATE-BUFFERED SALINE)



3 jours



1 semaine



2 semaines

CONCLUSION

Les résultats apportent la preuve que le tissu adipeux peut-être une source alternative prometteuse de cellules souches pour une thérapie. L'injection locale de CSTA semble être bénéfique dans la régénération des tissus et le traitement des ulcères buccaux résistants et remplace le traitement par corticostéroïdes.

Les CSTA influencent l'expression des gènes de facteurs de croissance locaux au niveau du site de la lésion ce qui facilite le processus de guérison.

Par ailleurs, cette étude montre du doigt les effets néfastes des traitements médicamenteux tels que les corticoïdes qui suppriment les réponses immunitaires et rendent le sujet vulnérable à de nouvelles infections (bactériennes, virales, fongiques).

L'utilisation de ce protocole mérite d'être approfondie en laboratoire et en clinique pour voir prochainement le jour dans de nombreuses applications orales et dentaires.

H. ETUDE DE LA REGENERATION CHONDRALE

MOT-CLE AJOUTE	NOMBRE DE PUBLICATIONS	ARTICLES RETENUS
« temporomandibular », « chondrogenesis »	57	9

Les troubles de l'articulation temporo-mandibulaire se manifestent par des douleurs, des myalgies, des maux de tête, conduisant à une usure des condyles, maladie articulaire dégénérative appelée arthrose ou ostéoarthrite³²⁸.

Il s'agit d'un processus d'adaptation dans lequel les cellules sécrètent des enzymes, des inhibiteurs de protéase, des cytokines dans la capsule articulaire pour lutter contre la destruction, pouvant nécessiter le remplacement chirurgical du condyle.

De nombreuses approches ont été proposées au fil des années : plan de libération occlusal, physiothérapie, pharmacothérapie, injection d'acide hyaluronique. Cependant, elles représentent des solutions palliatives et de courte durée.

Les cellules souches du tissu adipeux représentent une voie d'avenir dans la régénération chondrale, on distingue 2 thérapeutiques :

- **Non chirurgical** : thérapeutique appelée « prolothérapie » : traitement médical par injection de cellules souches directement dans la capsule articulaire
- **Chirurgical** : remplacement du condyle ou du disque articulaire par un produit de l'ingénierie tissulaire.

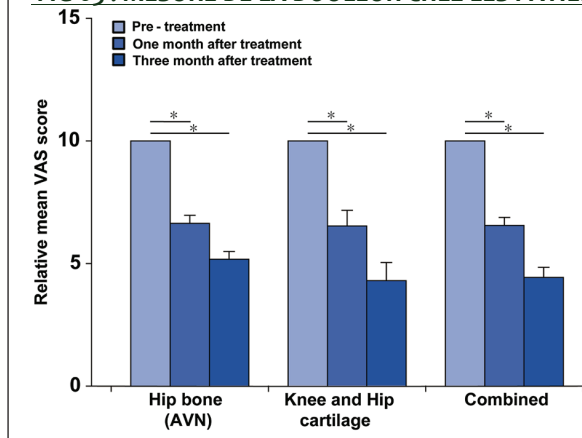
Aucune étude n'est à ce jour répertoriée dans le domaine de la régénération de l'articulation temporo-mandibulaire par injection, cependant la prolothérapie est de plus en plus présente chez les chirurgiens orthopédistes³²⁹.

TRAITEMENT NON CHIRURGICAL DE L'OSTEOARTHRITE PAR INJECTION DE CSTA + PRP

JAEWOO PAK et AL.^{330,331}

OBJECTIF DE L'ETUDE		TRAITEMENT PAR INJECTION DE CSTA+PRP DANS LA CAPSULE ARTICULAIRE
METHODE	Population cible	Humains, 100 cas, chez 91 patients souffrants de douleurs articulaires : genoux, hanches, lombaires, chevilles
	Prélèvement adipeux	Technique : liposuction , Site : tissu adipeux abdominal
	Isolement des CSTA	Séparation par gravitation, centrifugation 1000g pendant 5 min, digestion collagénase 30 min, centrifugation 100g pendant 3 min.
	Transplantation	Ajout de 2 ml de PRP sur 10 ml de CSTA avec 1ml d'acide hyaluronique (échafaudage) et injection dans la capsule articulaire
	Méthode d'analyse	IRM à 3 mois et questionnaires de satisfaction tous les 6 mois (douleur EVA, amélioration, effets indésirables) pendant une durée moyenne de 26 mois
RESULTATS	Evolution de la douleur	<ul style="list-style-type: none"> • Score initial : 10 sur l'échelle visuelle analogique • A 1 mois : moyenne de 6,55 ± 0,32 • A 3 mois : 4,43 ± 0,41
	IRM	<ul style="list-style-type: none"> • Aucune formation maligne déclarée
	Interprétation	<ul style="list-style-type: none"> • Diminution significative de la douleur à long terme (3 mois) • Aucune complication néoplasique • Traitement 100% autologue • Thérapie sûre et concluante

FIG 63 : MESURE DE LA DOULEUR CHEZ LES PATIENTS :



VIDEO : PROLOTHERAPIE A BASE DE CSTA + PRP



I. UTILISATION ACTUELLE DES CSTA EN MEDECINE REGENERATIVE

MeSH terms : « Adipose derived stem cell » « randomized trial clinic »

Ici, nous avons sélectionné uniquement les études possédant un niveau de preuve élevée (A ou B).

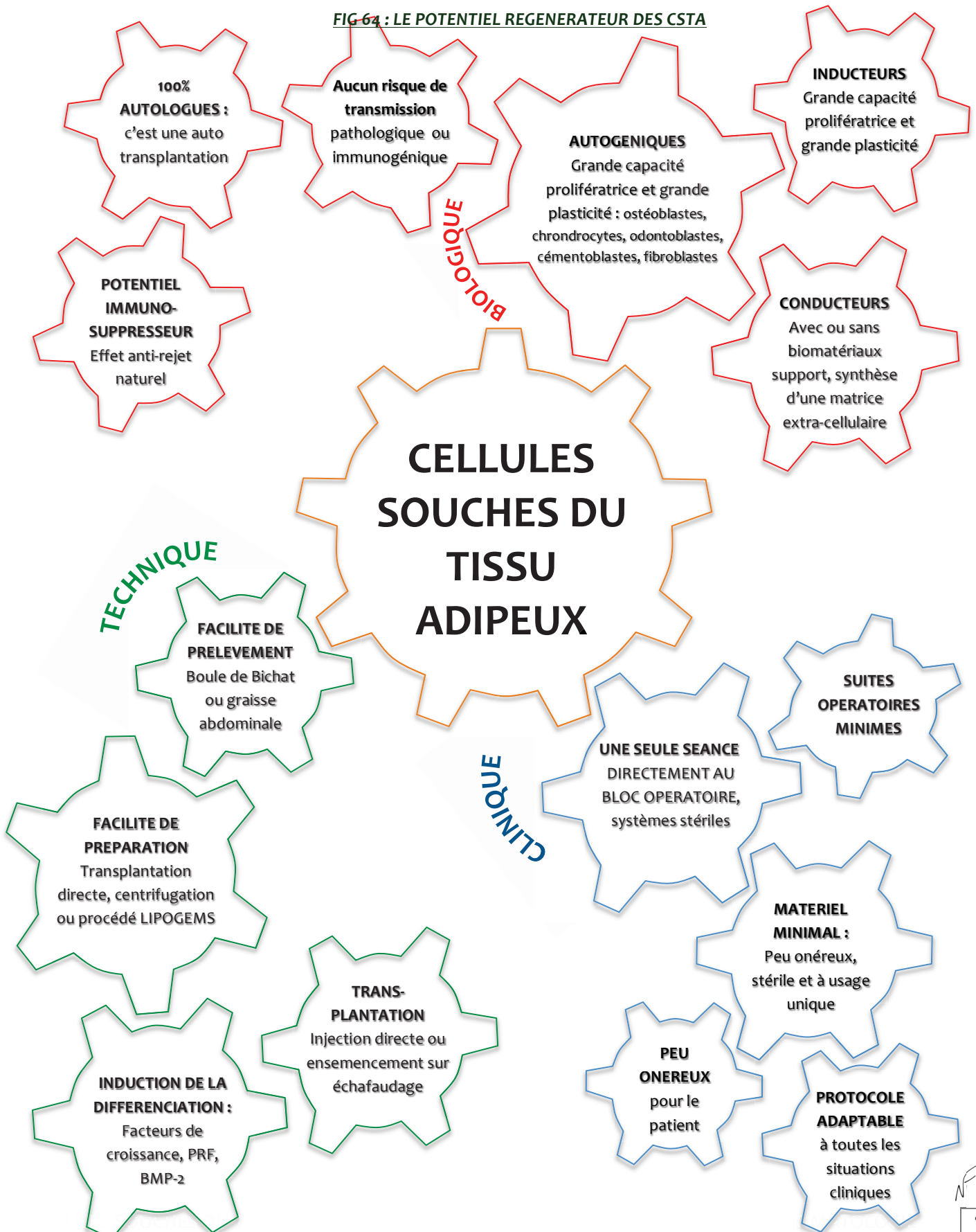
- **CHIRURGIE PLASTIQUE ET RECONSTRUCTRICE³³²** : La première utilisation de graisse remonte à 1889. Des fragments de tissus adipeux autologues étaient transplantés pour servir de matériau de comblement afin de reconstituer des volumes. Profitant pleinement des nouvelles techniques de lipoaspiration du **DR. COLEMAN³³³**, les domaines de reconstruction sont très vastes : chirurgie mammaire, rajeunissement des mains, lèvres, comblement des rides, poches, vergetures, rhinoplastie, traitement des malformations³³⁴, asymétries, augmentation péniennne, lipoatrophie, séquelles de chirurgie cancéreuse. Ces travaux antérieurs fournissent des résultats intéressants avec un suivi sur plusieurs années des patients. Alors que la greffe de fragments de tissus adipeux tend à se résorber dans le temps, la greffe de fractions issues de la lipoaspiration présente une meilleure survie à plus long terme avec revascularisation de la greffe. À ce jour, ces pratiques restent associées à une absence de tumorigénicité.
- **TRAITEMENT DE LA MALADIE DE DUCHENNE** : Depuis ces premières greffes d'adipocytes, des injections de préadipocytes (cellules de la FSV) ont été décrites de même que celles de cellules adipocytaires préalablement cultivées³³⁵⁻³³⁷. Transplantées in-vivo dans des souris mdx, un modèle de dystrophie musculaire de Duchenne, elles permettent une expression de dystrophine humaine dans ces animaux déficients pour cette protéine, suggérant des perspectives intéressantes d'utilisation de cellules du tissu adipeux pour la médecine régénératrice^{338,339}.
- **TRAITEMENT DE LA MALADIE DE CROHN** : Dans des indications liées à la cicatrisation, la seule étude menée dans ce domaine par l'équipe du **DR. LUIS GARCIA-SANCHO³⁴⁰** (Espagne) rapporte l'utilisation clinique de cellules dérivées des tissus adipeux avec succès. Neuf patients adultes atteints de maladie de Crohn et porteurs de fistules recto-vaginales et/ou entéro-cutanées ne répondant pas au traitement médical et ayant déjà été traités par deux cures chirurgicales ont subi une injection de CSTA dans le site de fermeture chirurgicale de la fistule. Dans 67% (6/9) des cas une guérison sans récurrence est obtenue huit semaines après l'injection.
- **TRAITEMENT DES CARDIOMYOPATHIES ISCHEMIQUES** : **PERIN et AL.³⁴¹** présentent une étude randomisée en double aveugle par injection transendocardique de CSTA chez 21 patients. A 6 mois, on obtient une amélioration significative de la masse ventriculaire gauche et des mouvements de la paroi sur l'IRM. A 18 mois, une réduction de l'ischémie est visible.
- **TRAITEMENT DE L'OSTEOARTHROSE DU GENOU** : **KOH et AL.³⁴²** mènent une étude cas-témoin thérapeutique (niveau de preuve III) par prélèvement de tissu adipeux provenant du coussinet de graisse infrapatellaire chez 25 patients. Les cellules souches sont combinées avec des débridements arthroscopique et du PRP afin d'être injectées dans le genou. Les résultats à court terme sont encourageants, démontrent l'inocuité de la thérapeutique et réduisent la douleur tout en améliorant la fonction chez les patients atteints d'arthrose du genou.
- **TRAITEMENT DU SYNDROME DE DETRESSE RESPIRATOIRE AIGUE** : les cellules souches adipeuses ont la capacité de moduler la réponse immunitaire et réduisent les lésions pulmonaires. **ZHENG et AL.³⁴³** présentent une étude randomisée en double aveugle sur 12 patients adultes par injection intraveineuse de 10^6 cellules/kg de poids corporel. Il en résulte une diminution significative du taux sérique au bout de 5 jours, ce qui représente une stratégie sûre et encourageante pour le traitement de ce syndrome.

VII. PERSPECTIVES ET LIMITES EN ODONTOSTOMATOLOGIE

A. LES CSTA, UNE SOLUTION DE CHOIX EN DENTISTERIE REGENERATRICE

La régénération ad integrum des structures de la sphère orale est la stratégie thérapeutique la plus prometteuse pour la dentisterie. L'analyse de la littérature appuie l'utilisation des CSTA dans notre exercice. Nous vous résumons ainsi les rouages de leur potentiel régénérateur :

FIG 64 : LE POTENTIEL REGENERATEUR DES CSTA



B. CREER UN PROTOCOLE CLINIQUE ADAPTE A CHAQUE SITUATION

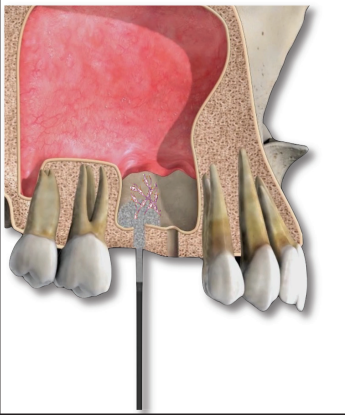
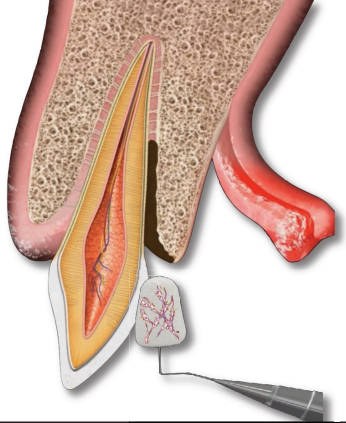

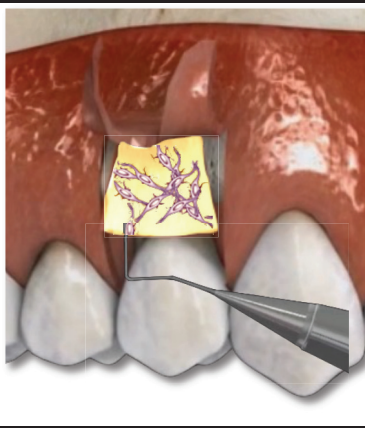
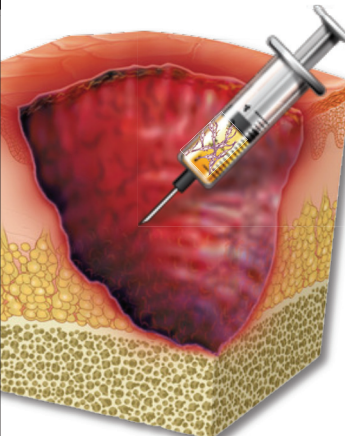


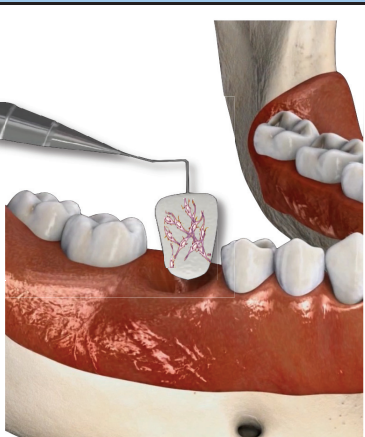
REGENERATION OSSEUSE			REGENERATION PARODONTALE		
SUPPORT	HA B-TCP AKERMANITE		SUPPORT	PRF/PRP Collagène (Gel - Eponge)	
FACTEURS DE CROISSANCE	BMP-2 PRF/PRP		FACTEURS DE CROISSANCE	PRF/PRP	
REGENERATION PULPAIRE			REGENERATION GINGIVALE		
SUPPORT	Collagène (Gel)		SUPPORT	COLLAGENE MEMBRANE (PRF)	
FACTEURS DE CROISSANCE	BMP-2 PRF/PRP		FACTEURS DE CROISSANCE	BMP-2 PRF/PRP	
REGENERATION POSTULCERAT°			REGENERATION GL SALIVAIRE		
SUPPORT	A.Hyaluronique Solution saline (PBS)		SUPPORT	A.Hyaluronique Solution saline (PBS)	
FACTEURS DE CROISSANCE	PRF/PRP		FACTEURS DE CROISSANCE	BMP-2 PRF/PRP	
REGENERATION CHONDRALE			REGENERATION DENTAIRE		
SUPPORT	A.Hyaluronique PRF/PRP		SUPPORT	Collagène (Gel ou éponge)	
FACTEURS DE CROISSANCE	PRF/PRP		FACTEURS DE CROISSANCE	BMP-2 PRF/PRP	

FIG 66 : UN PROTOCOLE POUR CHAQUE SITUATION CLINIQUE

C. ANALYSE DES EFFETS INDESIRABLES POTENTIELS

À la vue de l'incroyable plasticité et de la rapidité de croissance des CSTA, le système peut-il perdre pied et engendrer une prolifération inconsidérée ? De nombreux auteurs s'interrogent sur le risque de carcinogénèse³⁴⁴.

Chez les sujets sains, le corps possède un mécanisme interne qui supervise le bon nombre de cellules souches pour se prémunir contre la perte de contrôle de la croissance, qui se produit malheureusement, après transplantation de cellules adultes souches.

LEBEDEV³⁴⁵ a montré que les patients immunodéprimés ayant besoin de toute transplantation de cellules souches adultes avaient un risque plus élevé de développer une tumeur maligne que les individus sains. Au début, ces observations ont été considérées comme une suite naturelle de leur maladie, mais il a par la suite démontré que les cellules tumorales appartenaient à la descendance des cellules souches transplantées. En effet, celles-ci s'étaient développées plus vite et avaient métastasé de façon agressive dans le cadre de l'inflammation chronique ou d'une infection.

Ainsi, les essais cliniques doivent tenir compte de la balance bénéfices-risques. Très peu d'études dénombrent les éventuels effets négatifs à court terme secondaires à une transplantation de CSTA. De plus, en raison de la rareté des études, aucun effet indésirable n'a été rapporté à long terme.

Il faut motiver la recherche et multiplier les études cliniques sur des modèles animaux et humains pour que la reconnaissance de ces cellules soit pleinement réalisée. Pour l'heure, en raison de la nature innovante de ces études et de l'expérience limitée chez les humains, des précautions sont nécessaires³⁴⁶.

D. LEGISLATION ET CELLULES SOUCHES

Les textes législatifs et réglementaires français actuels, et en particulier **la loi du 7 juillet 2011** relative à la bioéthique prennent en considération spécifiquement l'utilisation des cellules souches embryonnaires et les cellules souches hématopoïétiques.

Cependant l'utilisation d'autres populations de cellules souches, comme les cellules souches mésenchymateuses par exemple, ne se retrouve pas, pour l'instant, de façon précise, dans les textes législatifs et réglementaires. Elle est régie par l'ensemble des dispositions, couvrant l'utilisation des éléments et produits du corps humain à des fins de recherches cliniques ou scientifiques.

Actuellement, le statut réglementaire des cellules souches mésenchymateuses est tel, qu'il permet de mener, assez librement, de nombreuses recherches. Les perspectives prometteuses de l'utilisation de ces cellules dans de nombreuses pathologies encore incurables aujourd'hui ainsi que de nombreuses avancées dans les domaines éthiques, médicaux, économiques et financiers, etc. devraient faire naître dans les années à venir, un encadrement juridique spécifique de ces populations cellulaires.

E. ACCEPTATION DES PROTOCOLES

Chaque année, de nombreux protocoles d'études sont proposés à l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé (ANSM) et soumis à son appréciation. Par ailleurs, d'autres organismes tel que l'Agence de Biomédecine, le Comité de Protection des Personnes, et l'Office Parlementaire d'Evaluation des Choix Scientifiques et des Technologies (OPECST), jouent également un rôle dans l'autorisation des recherches cliniques. Une fois acceptés, ces protocoles de recherches peuvent être mis en place, et de nombreuses études sont publiées.

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

CONCLUSION

Avec un tel accroissement des technologies liées à l'utilisation des cellules stromales du tissu adipeux, nous pouvons imaginer un futur où la profession de chirurgien dentiste évoluerait vers une pratique où le praticien aurait à sa disposition tous les moyens pour pouvoir régénérer les organes dentaires et les structures de la sphère orale. Ces nouvelles pratiques rendraient obsolètes nos thérapeutiques actuelles : plus question de dévitalisation, de prothèses, de racines artificielles, ou d'interventions mutilantes.

Plus performantes et plus accessibles que les cellules de la moelle osseuse, les cellules souches du tissu adipeux ont fait leurs preuves dans les domaines de la régénération, en raison de leur facilité d'obtention et de leur incroyable potentiel de différenciation, de néoangiogénèse et d'immunomodulation.

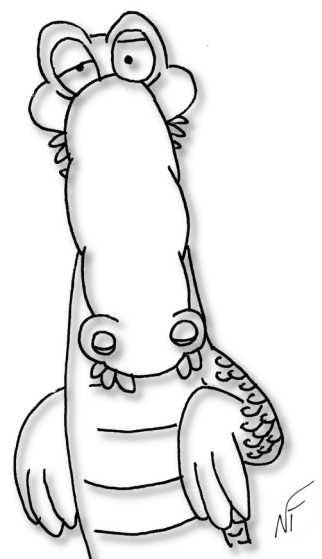
Régénération osseuse, parodontale, pulpaire, dentaire, gingivale, acineuse, chondrale ou post-tumorale, ces études pré-cliniques révèlent des résultats surprenants et très encourageants pour la recherche.

Comment alors changerait la perception collective de notre métier et l'image que tout un chacun se fait de ses dents ? Le patient serait-il alors plus sensible à la prévention ou au contraire, encore plus négligeant, ayant la garantie de la régénération de l'organe perdu ?

D'autres investigations sont nécessaires afin de normaliser les procédures de récolte, d'isolement, de choix du support, des signaux et des techniques de transplantation des CSTA. L'établissement de lignes directrices et de recommandations de bonnes pratiques permettrait d'harmoniser les protocoles d'études et d'accélérer les essais cliniques prospectifs randomisés.

Les avancées dans le domaine de la dentisterie régénératrice, basées sur une approche multidisciplinaire combinant biologie, médecine et ingénierie, vont indéniablement révolutionner le monde médical, inversant les lois de la nature et offrant à l'être humain la possibilité d'une éternelle jeunesse !

... et nous aurons bientôt
notre revanche sur les alligators !



BIBLIOGRAPHIE

1. Poole, D. F. G. Notes on Tooth Replacement in the Nile Crocodile *Crocodylus Niloticus*. *Proc. Zool. Soc. Lond.* **136**, 131–140 (1961).
2. Wu, P. et al. Specialized stem cell niche enables repetitive renewal of alligator teeth. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **110**, E2009–E2018 (2013).
3. Fior, J. Salamander regeneration as a model for developing novel regenerative and anticancer therapies. *J. Cancer* **5**, 715–719 (2014).
4. Jacques, S. Jacqueline Duchemin, ~Prométhée. Histoire du Mythe, de ses Origines orientales à ses Incarnations modernes~. *Antiq. Class.* **44**, 773–776 (1975).
5. Sensebé, L. & Bourin, P. [Mesenchymal stem cells - The challenge of a good therapeutic product]. *Médecine Sci. MS* **27**, 297–302 (2011).
6. Méndez-Ferrer, S., Scadden, D. T. & Sánchez-Aguilera, A. Bone marrow stem cells: current and emerging concepts. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1335**, 32–44 (2015).
7. Li, L. & Xie, T. Stem cell niche: structure and function. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **21**, 605–631 (2005).
8. Catalano, E. et al. Adipose-derived adult stem cells: available technologies for potential clinical regenerative applications in dentistry. *Crit. Rev. Biomed. Eng.* **41**, 483–493 (2013).
9. Georgiades, J. A. Oral cavity gate of an entry into the communication network. *Biotherapy Dordr. Neth.* **11**, 39–51 (1998).
10. Hämmerle, C. H. F., Giannobile, W. V. & Working Group 1 of the European Workshop on Periodontology. Biology of soft tissue wound healing and regeneration—consensus report of Group 1 of the 10th European Workshop on Periodontology. *J. Clin. Periodontol.* **41 Suppl 15**, S1–5 (2014).
11. Murray, G., Holden, R. & Roschlau, W. Experimental and clinical study of new growth of bone in a cavity. *Am. J. Surg.* **93**, 385–387 (1957).
12. Goligorsky, M. S. Restitutio ad integrum: a dream or a real possibility? *Nephrol. Dial. Transplant. Off. Publ. Eur. Dial. Transpl. Assoc. - Eur. Ren. Assoc.* **28**, 2682–2687 (2013).
13. Lin, L. M. & Rosenberg, P. A. Repair and regeneration in endodontics. *Int. Endod. J.* **44**, 889–906 (2011).
14. Bullard, K. M., Longaker, M. T. & Lorenz, H. P. Fetal wound healing: current biology. *World J. Surg.* **27**, 54–61 (2003).
15. Ricci, J. L. & Terracio, L. Where is dentistry in regenerative medicine? *Int. Dent. J.* **61 Suppl 1**, 2–10 (2011).
16. Rodríguez-Lozano, F.-J. et al. Mesenchymal dental stem cells in regenerative dentistry. *Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal* **17**, e1062–1067 (2012).
17. Donaruma, L. G. Definitions in biomaterials, D. F. Williams, Ed., Elsevier, Amsterdam, 1987, 72 pp. *J. Polym. Sci. Part C Polym. Lett.* **26**, 414–414 (1988).
18. Gagnon, K. & Morand, M. A. [Guided tissue regeneration in endodontics (2)]. *J. Can. Dent. Assoc.* **65**, 440–443 (1999).
19. Grandeur et tentations de la médecine par Jean Bernard: France Loisirs 9782724218237 Couverture rigide - Librairie Thé à la page. at <<http://www.abebooks.fr/servlet/BookDetailsPL?bi=1387054070&searchurl=tn%3Dgrandeurs+et+tentations+de+la+medecine%26an%3Dbarnard>>
20. Bluteau, G., Luder, H. U., De Bari, C. & Mitsiadis, T. A. Stem cells for tooth engineering. *Eur. Cell. Mater.* **16**, 1–9 (2008).
21. Langer, R. & Vacanti, J. P. Tissue engineering. *Science* **260**, 920–926 (1993).
22. Khademhosseini, A., Vacanti, J. P. & Langer, R. Progress in tissue engineering. *Sci. Am.* **300**, 64–71 (2009).
23. Zippel, N., Schulze, M. & Tobiasch, E. Biomaterials and mesenchymal stem cells for regenerative medicine. *Recent Pat. Biotechnol.* **4**, 1–22 (2010).
24. Merceron, C. et al. Adipose-derived mesenchymal stem cells and biomaterials for cartilage tissue engineering. *Jt. Bone Spine Rev. Rhum.* **75**, 672–674 (2008).
25. L. Monfoulet, M. D. Optimisation des matériaux hybrides à base de cellules souches pour la réparation de grands défauts osseux. *IRBM* **33**, 73–77 (2012).
26. Scheller, E. L., Krebsbach, P. H. & Kohn, D. H. Tissue engineering: state of the art in oral rehabilitation. *J. Oral Rehabil.* **36**, 368–389 (2009).
27. Fischer, J. et al. Future of local bone regeneration - Protein versus gene therapy. *J. Cranio-Maxillo-fac. Surg. Off. Publ. Eur. Assoc. Cranio-Maxillo-fac. Surg.* **39**, 54–64 (2011).
28. Alsberg, E., Hill, E. E. & Mooney, D. J. Craniofacial tissue engineering. *Crit. Rev. Oral Biol. Med. Off. Publ. Am. Assoc. Oral Biol.* **12**, 64–75 (2001).
29. Urist, M. R. Bone: formation by autoinduction. *Science* **150**, 893–899 (1965).
30. Urist, M. R. Bone: formation by autoinduction. 1965. *Clin. Orthop.* 4–10 (2002).
31. Dvir, T., Timko, B. P., Kohane, D. S. & Langer, R. Nanotechnological strategies for engineering complex tissues. *Nat. Nanotechnol.* **6**, 13–22 (2011).
32. Loi n° 2004-800 du 6 août 2004 relative à la bioéthique.
33. Takahashi, K. & Yamanaka, S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* **126**, 663–676 (2006).
34. Huang, G. T.-J., Gronthos, S. & Shi, S. Mesenchymal stem cells derived from dental tissues vs. those from other sources: their biology and role in regenerative medicine. *J. Dent. Res.* **88**, 792–806 (2009).
35. Kolf, C. M., Cho, E. & Tuan, R. S. Mesenchymal stromal cells. Biology of adult mesenchymal stem cells: regulation of niche, self-renewal and differentiation. *Arthritis Res. Ther.* **9**, 204 (2007).
36. Egusa, H., Sonoyama, W., Nishimura, M., Atsuta, I. & Akiyama, K. Stem cells in dentistry—part I: stem cell sources. *J. Prosthodont. Res.* **56**, 151–165 (2012).
37. Egusa, H., Sonoyama, W., Nishimura, M., Atsuta, I. & Akiyama, K. Stem cells in dentistry—Part II: Clinical applications. *J. Prosthodont. Res.* **56**, 229–248 (2012).
38. Gimble, J. M., Zvonic, S., Floyd, Z. E., Kassem, M. & Nuttall, M. E. Playing with bone and fat. *J. Cell. Biochem.* **98**, 251–266 (2006).
39. Krebsbach, P. H. & Robey, P. G. Dental and skeletal stem cells: potential cellular therapeutics for craniofacial regeneration. *J. Dent. Educ.* **66**, 766–773 (2002).
40. Myon, L., Ferri, J., Chai, F., Blanchemain, N. & Raoul, G. [Oro-maxillofacial bone tissue engineering combining biomaterials, stem cells, and gene therapy]. *Rev. Stomatol. Chir. Maxillofac.* **112**, 201–211 (2011).

41. Scheller, E. L., Krebsbach, P. H. & Kohn, D. H. Tissue engineering: state of the art in oral rehabilitation. *J. Oral Rehabil.* **36**, 368–389 (2009).
42. Scheller, E. L., Krebsbach, P. H. & Kohn, D. H. Tissue engineering: state of the art in oral rehabilitation. *J. Oral Rehabil.* **36**, 368–389 (2009).
43. Zhu, J., Tang, C., Kottke-Marchant, K. & Marchant, R. E. Design and synthesis of biomimetic hydrogel scaffolds with controlled organization of cyclic RGD peptides. *Bioconjug. Chem.* **20**, 333–339 (2009).
44. Sculean, A. et al. Biomaterials for promoting periodontal regeneration in human intrabony defects: a systematic review. *Periodontol.* **2000** **68**, 182–216 (2015).
45. Marsden, A.-C., Xavier, S., Nantes, U. de & d' Odontologie, U. de N. U. de F. et de R. *Biomatériaux de régénération parodontale et cellules souches mésenchymateuses état de la question.* ([s.n.], 2014).
46. Saito, A., Suzuki, Y., Ogata, S.-I., Ohtsuki, C. & Tanihara, M. Prolonged ectopic calcification induced by BMP-2-derived synthetic peptide. *J. Biomed. Mater. Res. A* **70**, 115–121 (2004).
47. Phillippi, J. A. et al. Microenvironments engineered by inkjet bioprinting spatially direct adult stem cells toward muscle- and bone-like subpopulations. *Stem Cells Dayt. Ohio* **26**, 127–134 (2008).
48. Kingsley, D. M. The TGF-beta superfamily: new members, new receptors, and new genetic tests of function in different organisms. *Genes Dev.* **8**, 133–146 (1994).
49. Nielsen, H. M., Andreassen, T. T., Ledet, T. & Oxlund, H. Local injection of TGF-beta increases the strength of tibial fractures in the rat. *Acta Orthop. Scand.* **65**, 37–41 (1994).
50. Lind, M. et al. Transforming growth factor-beta enhances fracture healing in rabbit tibiae. *Acta Orthop. Scand.* **64**, 553–556 (1993).
51. Wozney, J. M. The bone morphogenetic protein family: multifunctional cellular regulators in the embryo and adult. *Eur. J. Oral Sci.* **106 Suppl 1**, 160–166 (1998).
52. Urist, M. R. et al. Bone morphogenesis in implants of insoluble bone gelatin. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **70**, 3511–3515 (1973).
53. Urist, M. R. Bone: formation by autoinduction. 1965. *Clin. Orthop.* 4–10 (2002).
54. Kirker-Head, C. A. Potential applications and delivery strategies for bone morphogenetic proteins. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **43**, 65–92 (2000).
55. Sandhu, H. S. & Khan, S. N. Recombinant human bone morphogenetic protein-2: use in spinal fusion applications. *J. Bone Joint Surg. Am.* **85-A Suppl 3**, 89–95 (2003).
56. Khan, S. N. & Lane, J. M. The use of recombinant human bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2) in orthopaedic applications. *Expert Opin. Biol. Ther.* **4**, 741–748 (2004).
57. Hollinger, null, Uludag, null & Winn, null. Sustained release emphasizing recombinant human bone morphogenetic protein-2. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **31**, 303–318 (1998).
58. Degat, M.-C., Ferreira, E. & Logeart-Avramoglou, D. [Use of growth factors in the repair of bone]. *Pathol. Biol. (Paris)* **53**, 131–141 (2005).
59. Cochran, D. L., Schenk, R., Buser, D., Wozney, J. M. & Jones, A. A. Recombinant human bone morphogenetic protein-2 stimulation of bone formation around endosseous dental implants. *J. Periodontol.* **70**, 139–150 (1999).
60. Radmsky, M. L. et al. Novel formulation of fibroblast growth factor-2 in a hyaluronan gel accelerates fracture healing in nonhuman primates. *J. Orthop. Res. Off. Publ. Orthop. Res. Soc.* **17**, 607–614 (1999).
61. Nakamura, T. et al. Recombinant human basic fibroblast growth factor accelerates fracture healing by enhancing callus remodeling in experimental dog tibial fracture. *J. Bone Miner. Res. Off. J. Am. Soc. Bone Miner. Res.* **13**, 942–949 (1998).
62. Schmidmaier, G. et al. Improvement of fracture healing by systemic administration of growth hormone and local application of insulin-like growth factor-1 and transforming growth factor-beta1. *Bone* **31**, 165–172 (2002).
63. Raschke, M. J. et al. [Recombinant growth hormone accelerates regenerate consolidation in distraction osteosynthesis]. *Chir. Z. Für Alle Geb. Oper. Medizin* **71**, 1009–1015 (2000).
64. Cho, M. I., Lin, W. L. & Garant, P. R. Occurrence of epidermal growth factor-binding sites during differentiation of cementoblasts and periodontal ligament fibroblasts of the young rat: a light and electron microscopic radioautographic study. *Anat. Rec.* **231**, 14–24 (1991).
65. Matsuda, N. et al. Evidence for up-regulation of epidermal growth-factor receptors on rat periodontal ligament fibroblastic cells associated with stabilization of phenotype in vitro. *Arch. Oral Biol.* **38**, 559–569 (1993).
66. Wang, Z. et al. Osteoblastic mesenchymal stem cell sheet combined with Choukroun platelet-rich fibrin induces bone formation at an ectopic site. *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.* (2014). doi:10.1002/jbm.b.33288
67. Ghanaati, S. et al. Advanced platelet-rich fibrin: a new concept for cell-based tissue engineering by means of inflammatory cells. *J. Oral Implantol.* **40**, 679–689 (2014).
68. Laaksonen, M., Sorsa, T. & Salo, T. Emodogain in carcinogenesis: a systematic review of in vitro studies. *J. Oral Sci.* **52**, 1–11 (2010).
69. Sonoyama, W. et al. Mesenchymal stem cell-mediated functional tooth regeneration in swine. *PLoS One* **1**, e79 (2006).
70. Kémoun, P. et al. Human dental follicle cells acquire cementoblast features under stimulation by BMP-2/-7 and enamel matrix derivatives (EMD) in vitro. *Cell Tissue Res.* **329**, 283–294 (2007).
71. Soto-Gutierrez, A. et al. Cell delivery: from cell transplantation to organ engineering. *Cell Transplant.* **19**, 655–665 (2010).
72. Lu, H., Xie, C., Zhao, Y.-M. & Chen, F.-M. Translational research and therapeutic applications of stem cell transplantation in periodontal regenerative medicine. *Cell Transplant.* **22**, 205–229 (2013).
73. fonction sécrétoire et endocrine qui participe de manière très active au maintien de plusieurs fonctions vitales de l'organisme. Le tissu adipeux sécrète avant tout des acides gras en quantité majeure, qui sont des substrats énergétiques pour divers organes - Recherche Google. at <<https://www.google.fr/search?client=safari&rls=en&q=fonction+se%CC%81cre%CC%81toire+et+endocrine+qui+participe+de+manie%CC%80re+tre%CC%80s+active+au+maintien+de+plusieurs+fonctions+vital+de+l%27organisme.+Le+tissu+adipeux+se%CC%81cre%CC%80te+avant+tout+>

- des+acides+gras+en+quantite%CC%81+majeure,+qui+sont+des+substrats+e%CC%81nerge%CC%81tiques+pour+divers+organes&ie=UTF-8&oe=UTF-8&gfe_rd=cr&ei=XapMVYmjLOWs8wflpICIBg>
74. Kersten, S. Mechanisms of nutritional and hormonal regulation of lipogenesis. *EMBO Rep.* **2**, 282–286 (2001).
 75. Frühbeck, G., Gómez-Ambrosi, J., Muruzábal, F. J. & Burrell, M. A. The adipocyte: a model for integration of endocrine and metabolic signaling in energy metabolism regulation. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **280**, E827–847 (2001).
 76. Lyon, C. J., Law, R. E. & Hsueh, W. A. Minireview: adiposity, inflammation, and atherogenesis. *Endocrinology* **144**, 2195–2200 (2003).
 77. Nicholls, D. G. & Rial, E. A history of the first uncoupling protein, UCP1. *J. Bioenerg. Biomembr.* **31**, 399–406 (1999).
 78. Loncar, D. Convertible adipose tissue in mice. *Cell Tissue Res.* **266**, 149–161 (1991).
 79. Cousin, B. et al. Occurrence of brown adipocytes in rat white adipose tissue: molecular and morphological characterization. *J. Cell Sci.* **103 (Pt 4)**, 931–942 (1992).
 80. Huttunen, P., Hirvonen, J. & Kinnula, V. The occurrence of brown adipose tissue in outdoor workers. *Eur. J. Appl. Physiol.* **46**, 339–345 (1981).
 81. Gemmell, R. T., Bell, A. W. & Alexander, G. Morphology of adipose cells in lambs at birth and during subsequent transition of brown to white adipose tissue in cold and in warm conditions. *Am. J. Anat.* **133**, 143–164 (1972).
 82. Vatnick, I., Tyzbit, R. S., Welch, J. G. & Hooper, A. P. Regression of brown adipose tissue mitochondrial function and structure in neonatal goats. *Am. J. Physiol.* **252**, E391–395 (1987).
 83. Casteilla, L., Champigny, O., Bouillaud, F., Robelin, J. & Ricquier, D. Sequential changes in the expression of mitochondrial protein mRNA during the development of brown adipose tissue in bovine and ovine species. Sudden occurrence of uncoupling protein mRNA during embryogenesis and its disappearance after birth. *Biochem. J.* **257**, 665–671 (1989).
 84. Nedergaard, J., Bengtsson, T. & Cannon, B. Unexpected evidence for active brown adipose tissue in adult humans. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **293**, E444–452 (2007).
 85. Petrovic, N. et al. Chronic peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARgamma) activation of epididymally derived white adipocyte cultures reveals a population of thermogenically competent, UCP1-containing adipocytes molecularly distinct from classic brown adipocytes. *J. Biol. Chem.* **285**, 7153–7164 (2010).
 86. Sidossis, L. & Kajimura, S. Brown and beige fat in humans: thermogenic adipocytes that control energy and glucose homeostasis. *J. Clin. Invest.* **125**, 478–486 (2015).
 87. Waldén, T. B., Hansen, I. R., Timmons, J. A., Cannon, B. & Nedergaard, J. Recruited vs. nonrecruited molecular signatures of brown, 'brite,' and white adipose tissues. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **302**, E19–31 (2012).
 88. Wang, Q. A., Tao, C., Gupta, R. K. & Scherer, P. E. Tracking adipogenesis during white adipose tissue development, expansion and regeneration. *Nat. Med.* **19**, 1338–1344 (2013).
 89. Wasserman, F. The concept of the 'fat organ'. In *Fat as a tissue*. K Roddahl Blssekutz Ed. 1964 McGraw-Hill Inc N. Y. 22–40. (1964).
 90. Distinct developmental origins contribute to white adipose tissue (WAT) and brown adipose tissue (BAT) in mice. - Recherche Google. at <[https://www.google.fr/search?client=safari&rls=en&q=Distinct+developmental+origins+contribute+to+white+adipose+tissue+\(WAT\)+and+brown+adipose+tissue+\(BAT\)+in+mice.&ie=UTF-8&oe=UTF-8&gfe_rd=cr&ei=dL1MVcyRDMKbb5C5glgM](https://www.google.fr/search?client=safari&rls=en&q=Distinct+developmental+origins+contribute+to+white+adipose+tissue+(WAT)+and+brown+adipose+tissue+(BAT)+in+mice.&ie=UTF-8&oe=UTF-8&gfe_rd=cr&ei=dL1MVcyRDMKbb5C5glgM)>
 91. Billon, N. et al. The generation of adipocytes by the neural crest. *Dev. Camb. Engl.* **134**, 2283–2292 (2007).
 92. Billon, N., Monteiro, M. C. & Dani, C. Developmental origin of adipocytes: new insights into a pending question. *Biol. Cell Auspices Eur. Cell Biol. Organ.* **100**, 563–575 (2008).
 93. Berry, D. C., Stenesen, D., Zeve, D. & Graff, J. M. The developmental origins of adipose tissue. *Dev. Camb. Engl.* **140**, 3939–3949 (2013).
 94. Poissonnet, C. M., LaVelle, M. & Burdi, A. R. Growth and development of adipose tissue. *J. Pediatr.* **113**, 1–9 (1988).
 95. Ryan, T. J. & Curri, S. B. The structure of fat. *Clin. Dermatol.* **7**, 37–47 (1989).
 96. Illouz, Y. G. Study of subcutaneous fat. *Aesthetic Plast. Surg.* **14**, 165–177 (1990).
 97. Jurgens, W. J. F. M. et al. Effect of tissue-harvesting site on yield of stem cells derived from adipose tissue: implications for cell-based therapies. *Cell Tissue Res.* **332**, 415–426 (2008).
 98. Padoin, A. V. et al. Sources of processed lipoaspirate cells: influence of donor site on cell concentration. *Plast. Reconstr. Surg.* **122**, 614–618 (2008).
 99. Bakker, A. H. F., Van Dielen, F. M. H., Greve, J. W. M., Adam, J. A. & Buurman, W. A. Preadipocyte number in omental and subcutaneous adipose tissue of obese individuals. *Obes. Res.* **12**, 488–498 (2004).
 100. Iyyanki, T. et al. Harvesting technique affects adipose-derived stem cell yield. *Aesthetic Surg. J. Am. Soc. Aesthetic Plast. Surg.* **35**, 467–476 (2015).
 101. Abdessalem, K. Anesthésie pour une liposuction. *Prat. En Anesth. Réanimation* **14**, 178–183 (2010).
 102. Illouz, Y. G. Present results of fat injection. *Aesthetic Plast. Surg.* **12**, 175–181 (1988).
 103. Sterodimas, A. et al. Thirtyfour years of liposuction: past, present and future. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* **16**, 393–406 (2012).
 104. Coleman, W. P. Autologous fat transplantation. *Plast. Reconstr. Surg.* **88**, 736 (1991).
 105. Alexander, R. W. & Harrell, D. B. Autologous fat grafting: use of closed syringe microcannula system for enhanced autologous structural grafting. *Clin. Cosmet. Investig. Dermatol.* **6**, 91–102 (2013).
 106. Pu, L. L. Q., Coleman, S. R., Cui, X., Ferguson, R. E. H. & Vasconez, H. C. Autologous fat grafts harvested and refined by the Coleman technique: a comparative study. *Plast. Reconstr. Surg.* **122**, 932–937 (2008).
 107. Oedayrajsingh-Varma, M. J. et al. Adipose tissue-derived mesenchymal stem cell yield and growth characteristics are affected by the tissue-harvesting procedure. *Cytotherapy* **8**, 166–177 (2006).
 108. Illouz, Y. G. The fat cell 'graft': a new technique to fill depressions. *Plast. Reconstr. Surg.* **78**, 122–123 (1986).
 109. Lewis, C. M. The current status of autologous fat grafting. *Aesthetic Plast. Surg.* **17**, 109–112 (1993).
 110. Boschert, M. T., Beckert, B. W., Puckett, C. L. & Concannon, M. J. Analysis of lipocyte viability after liposuction. *Plast. Reconstr. Surg.* **109**, 761–765; discussion

- 766–767 (2002).
111. Ersek, R. A., Chang, P. & Salisbury, M. A. Lipo layering of autologous fat: an improved technique with promising results. *Plast. Reconstr. Surg.* **101**, 820–826 (1998).
 112. Fulton JE. Stabilization of transfer to the breast with autologous platelet gel. *Shiffman MA, editor. Autologous fat transplantation. New York: Marcel Dekker, Inc; 2001* 207
 113. Chajchir, A. & Benzaquen, I. Fat-grafting injection for soft-tissue augmentation. *Plast. Reconstr. Surg.* **84**, 921–934; discussion 935 (1989).
 114. Coleman, W. P. Fat transplantation. *Dermatol. Clin.* **17**, 891–898, viii (1999).
 115. Coleman, S. R. Facial recontouring with lipostructure. *Clin. Plast. Surg.* **24**, 347–367 (1997).
 116. Shiffman, M. A. *Autologous Fat Transfer: Art, Science, and Clinical Practice.* (Springer Science & Business Media, 2009).
 117. Boschert, M. T., Beckert, B. W., Puckett, C. L. & Concannon, M. J. Analysis of lipocyte viability after liposuction. *Plast. Reconstr. Surg.* **109**, 761–765; discussion 766–767 (2002).
 118. Rohrich, R. J., Sorokin, E. S. & Brown, S. A. In search of improved fat transfer viability: a quantitative analysis of the role of centrifugation and harvest site. *Plast. Reconstr. Surg.* **113**, 391–395; discussion 396–397 (2004).
 119. Iyyanki, T. et al. Harvesting technique affects adipose-derived stem cell yield. *Aesthetic Surg. J. Am. Soc. Aesthetic Plast. Surg.* **35**, 467–476 (2015).
 120. Marzano, U. G. Lorenz Heister's 'molar gland'. *Plast. Reconstr. Surg.* **115**, 1389–1393 (2005).
 121. Heister L. Compendium Anatomicum. Norimburgae. Cited *Tharanon W Stella JP Epker BN Appl. Surg. Anat. Buccal Fat Pad Oral Maxillofac Surg Clin North Am* 19902377 (1732).
 122. Bichat, F. Anatomie générale appliquée à la physiologie et à la médecine. *Grosson Gabon Cie* 1802
 123. Ponrartana, S. et al. Brown Adipose Tissue in the Buccal Fat Pad during Infancy. *PLoS ONE* **9**, (2014).
 124. Mohan, S., Kankariya, H. & Harjani, B. The Use of the Buccal Fat Pad for Reconstruction of Oral Defects: Review of the Literature and Report of Cases. *J. Maxillofac. Oral Surg.* **11**, 128–131 (2012).
 125. Rácz, L., Maros, T. N. & Seres-Sturm, L. Structural characteristics and functional significance of the buccal fat pad (corpus adiposum buccae). *Morphol. Embryol. (Bucur.)* **35**, 73–77 (1989).
 126. Levi, B., Kasten, S. J. & Buchman, S. R. Utilization of the buccal fat pad flap for congenital cleft palate repair. *Plast. Reconstr. Surg.* **123**, 1018–1021 (2009).
 127. Egyedi, P. Utilization of the buccal fat pad for closure of oro-antral and/or oro-nasal communications. *J. Maxillofac. Surg.* **5**, 241–244 (1977).
 128. Holton, L. H. et al. The buccal fat pad flap for periorbital reconstruction: a cadaver dissection and report of two cases. *Plast. Reconstr. Surg.* **114**, 1529–1533 (2004).
 129. Zhong, L.-P., Chen, G.-F., Fan, L.-J. & Zhao, S.-F. Immediate reconstruction of maxilla with bone grafts supported by pedicled buccal fat pad graft. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.* **97**, 147–154 (2004).
 130. Dolanmaz, D. et al. Use of pedicled buccal fat pad in the closure of oroantral communication: analysis of 75 cases. *Quintessence Int. Berl. Ger.* 1985 **35**, 241–246 (2004).
 131. Alkan, A. & Inal, S. Closure of palatal defects following excision of palatal pleomorphic adenomas. *J. Contemp. Dent. Pract.* **9**, 99–107 (2008).
 132. Bither, S., Halli, R. & Kini, Y. Buccal Fat Pad in Intraoral Defect Reconstruction. *J. Maxillofac. Oral Surg.* **12**, 451–455 (2013).
 133. Surej, K. L. K., Kurien, N. M. & Sakkir, N. Buccal fat pad reconstruction for oral submucous fibrosis. *Natl. J. Maxillofac. Surg.* **1**, 164–167 (2010).
 134. Saravanan, K. & Narayanan, V. The Use of Buccal Fat Pad in the Treatment of Oral Submucous Fibrosis: A Newer Method. *Int. J. Dent.* **2012**, (2012).
 135. Chakrabarti, J., Tekriwal, R., Ganguli, A., Ghosh, S. & Mishra, P. K. Pedicled buccal fat pad flap for intraoral malignant defects: A series of 29 cases. *Indian J. Plast. Surg. Off. Publ. Assoc. Plast. Surg. India* **42**, 36–42 (2009).
 136. Ferrari, S. et al. A novel technique for cheek mucosa defect reconstruction using a pedicled buccal fat pad and buccinator myomucosal island flap. *Oral Oncol.* **45**, 59–62 (2009).
 137. El Haddad, S. A., Abd El Razzak, M. Y. & El Shall, M. Use of pedicled buccal fat pad in root coverage of severe gingival recession defect. *J. Periodontol.* **79**, 1271–1279 (2008).
 138. Broccaioli, E. et al. Mesenchymal Stem Cells from Bichat's Fat Pad: In Vitro Comparison with Adipose-Derived Stem Cells from Subcutaneous Tissue. *BioResearch Open Access* **2**, 107–117 (2013).
 139. Broccaioli, E. et al. Mesenchymal Stem Cells from Bichat's Fat Pad: In Vitro Comparison with Adipose-Derived Stem Cells from Subcutaneous Tissue. *BioResearch Open Access* **2**, 107–117 (2013).
 140. Niada, S. et al. Porcine adipose-derived stem cells from buccal fat pad and subcutaneous adipose tissue for future preclinical studies in oral surgery. *Stem Cell Res. Ther.* **4**, 148 (2013).
 141. Zuk, P. A. et al. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Mol. Biol. Cell* **13**, 4279–4295 (2002).
 142. Zuk, P. A. et al. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. *Tissue Eng.* **7**, 211–228 (2001).
 143. ADSC International Federation for Adipose Therapeutics and Science (IFATS) - Recherche Google. at <[https://www.google.fr/search?rls=en&q=ADSC+International+Federation+for+Adipose+Therapeutics+and+Science+\(IFATS\)&ei=79pMVfz8E8HkUo7tgeAI](https://www.google.fr/search?rls=en&q=ADSC+International+Federation+for+Adipose+Therapeutics+and+Science+(IFATS)&ei=79pMVfz8E8HkUo7tgeAI)>
 144. Scherberich, A., Di Maggio, N. D. & McNagny, K. M. A familiar stranger: CD34 expression and putative functions in SVF cells of adipose tissue. *World J. Stem Cells* **5**, 1–8 (2013).
 145. Cousin, B., André, M., Arnaud, E., Pénicaud, L. & Casteilla, L. Reconstitution of lethally irradiated mice by cells isolated from adipose tissue. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **301**, 1016–1022 (2003).
 146. Lendeckel, S. et al. Autologous stem cells (adipose) and fibrin glue used to treat widespread traumatic calvarial defects: case report. *J. Cranio-Maxillo-fac. Surg. Off. Publ. Eur. Assoc. Cranio-Maxillo-fac. Surg.* **32**, 370–373 (2004).
 147. Güven, S. et al. Engineering of large osteogenic grafts with rapid engraftment capacity using mesenchymal and endothelial progenitors from human adipose tissue. *Biomaterials* **32**, 5801–5809 (2011).
 148. Bianchi, F. et al. A new nonenzymatic method and device to obtain a fat tissue derivative highly enriched in pericyte-like elements by mild mechanical forces from

- human lipoaspirates. *Cell Transplant.* **22**, 2063–2077 (2013).
149. Rodbell, M. The metabolism of isolated fat cells. IV. Regulation of release of protein by lipolytic hormones and insulin. *J. Biol. Chem.* **241**, 3909–3917 (1966).
 150. Fisher, C. et al. Comparison of harvest and processing techniques for fat grafting and adipose stem cell isolation. *Plast. Reconstr. Surg.* **132**, 351–361 (2013).
 151. Zhu, M., Heydarkhan-Hagvall, S., Hedrick, M., Benhaim, P. & Zuk, P. Manual isolation of adipose-derived stem cells from human lipoaspirates. *J. Vis. Exp. JoVE* e50585 (2013). doi:10.3791/50585
 152. Baptista, L. S. et al. An alternative method for the isolation of mesenchymal stromal cells derived from lipoaspirate samples. *Cytotherapy* **11**, 706–715 (2009).
 153. Leandra Baptista, Karina Silva, Carolina Pedrosa & Radovan Borojevic. in *Advanced Techniques in Liposuction and Fat Transfer* (N1 19141 UR <http://www.intechopen.com/books/export/citation/Zoter/advanced-techniques-in-liposuction-and-fat-transfer/processing-of-lipoaspirate-samples-for-optimal-mesenchymal-stem-cells-isolation>).
 154. lipogems - Recherche Google. at <https://www.google.fr/search?client=safari&rls=en&q=lipogems&ie=UTF-8&oe=UTF-8&gfe_rd=cr&ei=kTIPVawNxsZU3suAyA8>
 155. Tremolada, C., Palmieri, G. & Ricordi, C. Adipocyte transplantation and stem cells: plastic surgery meets regenerative medicine. *Cell Transplant.* **19**, 1217–1223 (2010).
 156. Maioli, M. et al. Radioelectric asymmetric conveyed fields and human adipose-derived stem cells obtained with a nonenzymatic method and device: a novel approach to multipotency. *Cell Transplant.* **23**, 1489–1500 (2014).
 157. Bianchi, F. et al. A new nonenzymatic method and device to obtain a fat tissue derivative highly enriched in pericyte-like elements by mild mechanical forces from human lipoaspirates. *Cell Transplant.* **22**, 2063–2077 (2013).
 158. Alexander, R. W. & Harrell, D. B. Autologous fat grafting: use of closed syringe microcannula system for enhanced autologous structural grafting. *Clin. Cosmet. Investig. Dermatol.* **6**, 91–102 (2013).
 159. stomal vascular miller class II and II gingival recession defects - Recherche Google. at <https://www.google.fr/search?client=safari&rls=en&q=stomal+vascular+miller+class+II+and+II+gingival+recession+defects&ie=UTF-8&oe=UTF-8&gfe_rd=cr&ei=yztPVduLH46t8wfbk4GICg>
 160. Van Pham, P., Hong-Thien Bui, K., Quoc Ngo, D., Tan Khuat, L. & Kim Phan, N. Transplantation of Nonexpanded Adipose Stromal Vascular Fraction and Platelet-Rich Plasma for Articular Cartilage Injury Treatment in Mice Model. *J. Med. Eng.* **2013**, e832396 (2013).
 161. Miranville, A. et al. Improvement of postnatal neovascularization by human adipose tissue-derived stem cells. *Circulation* **110**, 349–355 (2004).
 162. Hong, S. J., Traktuev, D. O. & March, K. L. Therapeutic potential of adipose-derived stem cells in vascular growth and tissue repair. *Curr. Opin. Organ Transplant.* **15**, 86–91 (2010).
 163. Gentile, P. et al. Adipose-derived stromal vascular fraction cells and platelet-rich plasma: basic and clinical evaluation for cell-based therapies in patients with scars on the face. *J. Craniofac. Surg.* **25**, 267–272 (2014).
 164. Kamakura, T. & Ito, K. Autologous cell-enriched fat grafting for breast augmentation. *Aesthetic Plast. Surg.* **35**, 1022–1030 (2011).
 165. Peltoniemi, H. H. et al. Stem cell enrichment does not warrant a higher graft survival in lipofilling of the breast: a prospective comparative study. *J. Plast. Reconstr. Aesthetic Surg. JPRAS* **66**, 1494–1503 (2013).
 166. Lin, K. et al. Characterization of adipose tissue-derived cells isolated with the Celution system. *Cytotherapy* **10**, 417–426 (2008).
 167. Fraser, J. K. et al. The Celution® System: Automated Processing of Adipose-Derived Regenerative Cells in a Functionally Closed System. *Adv. Wound Care* **3**, 38–45 (2014).
 168. Bianchi, F. et al. A new nonenzymatic method and device to obtain a fat tissue derivative highly enriched in pericyte-like elements by mild mechanical forces from human lipoaspirates. *Cell Transplant.* **22**, 2063–2077 (2013).
 169. Mizuno, H., Tobita, M. & Uysal, A. C. Concise review: Adipose-derived stem cells as a novel tool for future regenerative medicine. *Stem Cells Dayt. Ohio* **30**, 804–810 (2012).
 170. Gimble, J. & Guilak, F. Adipose-derived adult stem cells: isolation, characterization, and differentiation potential. *Cytotherapy* **5**, 362–369 (2003).
 171. Bourin, P. et al. Stromal cells from the adipose tissue-derived stromal vascular fraction and culture expanded adipose tissue-derived stromal/stem cells: a joint statement of the International Federation for Adipose Therapeutics and Science (IFATS) and the International Society for Cellular Therapy (ISCT). *Cytotherapy* **15**, 641–648 (2013).
 172. Zannettino, A. C. W. et al. Multipotential human adipose-derived stromal stem cells exhibit a perivascular phenotype in vitro and in vivo. *J. Cell. Physiol.* **214**, 413–421 (2008).
 173. Traktuev, D. O. et al. A population of multipotent CD34-positive adipose stromal cells share pericyte and mesenchymal surface markers, reside in a periendothelial location, and stabilize endothelial networks. *Circ. Res.* **102**, 77–85 (2008).
 174. Bhang, S. H. et al. Locally delivered growth factor enhances the angiogenic efficacy of adipose-derived stromal cells transplanted to ischemic limbs. *Stem Cells Dayt. Ohio* **27**, 1976–1986 (2009).
 175. Salgado, A. J. B. O. G., Reis, R. L. G., Sousa, N. J. C. & Gimble, J. M. Adipose tissue derived stem cells secretome: soluble factors and their roles in regenerative medicine. *Curr. Stem Cell Res. Ther.* **5**, 103–110 (2010).
 176. Rehman, J. et al. Secretion of angiogenic and antiapoptotic factors by human adipose stromal cells. *Circulation* **109**, 1292–1298 (2004).
 177. Lee, H. C. et al. Safety and effect of adipose tissue-derived stem cell implantation in patients with critical limb ischemia: a pilot study. *Circ. J. Off. J. Jpn. Circ. Soc.* **76**, 1750–1760 (2012).
 178. Muthukrishnan, L., Warder, E. & McNeil, P. L. Basic fibroblast growth factor is efficiently released from a cytosolic storage site through plasma membrane disruptions of endothelial cells. *J. Cell. Physiol.* **148**, 1–16 (1991).
 179. Bertheuil, N. et al. [Adipose-derived stromal cells: History, isolation, immunomodulatory properties and clinical

- perspectives]. *Ann. Chir. Plast. Esthét.* **60**, 94–102 (2015).
180. Brayfield, C. A., Marra, K. G. & Rubin, J. P. Adipose tissue regeneration. *Curr. Stem Cell Res. Ther.* **5**, 116–121 (2010).
 181. Dragoo, J. L. et al. Tissue-engineered cartilage and bone using stem cells from human infrapatellar fat pads. *J. Bone Joint Surg. Br.* **85**, 740–747 (2003).
 182. Mizuno, H. et al. Myogenic differentiation by human processed lipoaspirate cells. *Plast. Reconstr. Surg.* **109**, 199–209; discussion 210–211 (2002).
 183. Kokai, L. E., Rubin, J. P. & Marra, K. G. The potential of adipose-derived adult stem cells as a source of neuronal progenitor cells. *Plast. Reconstr. Surg.* **116**, 1453–1460 (2005).
 184. Cai, L. et al. IFATS collection: Human adipose tissue-derived stem cells induce angiogenesis and nerve sprouting following myocardial infarction, in conjunction with potent preservation of cardiac function. *Stem Cells Dayt. Ohio* **27**, 230–237 (2009).
 185. Seo, M. J., Suh, S. Y., Bae, Y. C. & Jung, J. S. Differentiation of human adipose stromal cells into hepatic lineage in vitro and in vivo. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **328**, 258–264 (2005).
 186. Casteilla, L., Planat-Benard, V., Laharrague, P. & Cousin, B. Adipose-derived stromal cells: Their identity and uses in clinical trials, an update. *World J. Stem Cells* **3**, 25–33 (2011).
 187. Gimble, J. M., Guilak, F. & Bunnell, B. A. Clinical and preclinical translation of cell-based therapies using adipose tissue-derived cells. *Stem Cell Res. Ther.* **1**, 19 (2010).
 188. the cells have not been subjected to a substantial manipulation - Recherche Google. at <https://www.google.fr/search?client=safari&rls=en&q=the+cells+have+not+been+subjected+to+a+substantial+manipulation&ie=UTF-8&oe=UTF-8&gfe_rd=cr&ei=p_NPVdy6Ac3GoAf2woGQDQ>
 189. He, J. et al. Participation of CD34-enriched mouse adipose cells in hair morphogenesis. *Mol. Med. Rep.* **7**, 1111–1116 (2013).
 190. De Francesco, F. et al. Human CD34/CD90 ASCs are capable of growing as sphere clusters, producing high levels of VEGF and forming capillaries. *PLoS One* **4**, e6537 (2009).
 191. Kapur, S. K. & Katz, A. J. Review of the adipose derived stem cell secretome. *Biochimie* **95**, 2222–2228 (2013).
 192. Kilroy, G. E. et al. Cytokine profile of human adipose-derived stem cells: expression of angiogenic, hematopoietic, and pro-inflammatory factors. *J. Cell. Physiol.* **212**, 702–709 (2007).
 193. Reid, I. R. Relationships between fat and bone. *Osteoporos. Int. J. Establ. Result Coop. Eur. Found. Osteoporos. Natl. Osteoporos. Found. USA* **19**, 595–606 (2008).
 194. Gómez-Ambrosi, J., Rodríguez, A., Catalán, V. & Frühbeck, G. The bone-adipose axis in obesity and weight loss. *Obes. Surg.* **18**, 1134–1143 (2008).
 195. Ducy, P. The role of osteocalcin in the endocrine cross-talk between bone remodelling and energy metabolism. *Diabetologia* **54**, 1291–1297 (2011).
 196. Ferrara, N. Vascular endothelial growth factor: basic science and clinical progress. *Endocr. Rev.* **25**, 581–611 (2004).
 197. Peng, H. et al. VEGF improves, whereas sFlt1 inhibits, BMP2-induced bone formation and bone healing through modulation of angiogenesis. *J. Bone Miner. Res. Off. J. Am. Soc. Bone Miner. Res.* **20**, 2017–2027 (2005).
 198. Janicki, P. & Schmidmaier, G. What should be the characteristics of the ideal bone graft substitute? Combining scaffolds with growth factors and/or stem cells. *Injury* **42 Suppl 2**, S77–81 (2011).
 199. Li, J. et al. Repair of rat cranial bone defects with nHAC/PLLA and BMP-2-related peptide or rhBMP-2. *J. Orthop. Res. Off. Publ. Orthop. Res. Soc.* **29**, 1745–1752 (2011).
 200. Varkey, M., Gittens, S. A. & Uludag, H. Growth factor delivery for bone tissue repair: an update. *Expert Opin. Drug Deliv.* **1**, 19–36 (2004).
 201. Gittens, S. A. & Uludag, H. Growth factor delivery for bone tissue engineering. *J. Drug Target.* **9**, 407–429 (2001).
 202. Wei, G., Jin, Q., Giannobile, W. V. & Ma, P. X. Nano-fibrous scaffold for controlled delivery of recombinant human PDGF-BB. *J. Control. Release Off. J. Control. Release Soc.* **112**, 103–110 (2006).
 203. Hernández, A. et al. In vivo osteogenic response to different ratios of BMP-2 and VEGF released from a biodegradable porous system. *J. Biomed. Mater. Res. A* **100**, 2382–2391 (2012).
 204. Luginbuehl, V. et al. Insulin-like growth factor I-releasing alginate-tricalciumphosphate composites for bone regeneration. *Pharm. Res.* **22**, 940–950 (2005).
 205. Solheim, E. Growth factors in bone. *Int. Orthop.* **22**, 410–416 (1998).
 206. Lieberman, J. R., Daluiski, A. & Einhorn, T. A. The role of growth factors in the repair of bone. Biology and clinical applications. *J. Bone Joint Surg. Am.* **84-A**, 1032–1044 (2002).
 207. Rauch, F. et al. Temporal and spatial expression of bone morphogenetic protein-2, -4, and -7 during distraction osteogenesis in rabbits. *Bone* **27**, 453–459 (2000).
 208. Canalis, E., Economides, A. N. & Gazzerro, E. Bone morphogenetic proteins, their antagonists, and the skeleton. *Endocr. Rev.* **24**, 218–235 (2003).
 209. Wan, M. & Cao, X. BMP signaling in skeletal development. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **328**, 651–657 (2005).
 210. Lattanzi, W. et al. Ex vivo-transduced autologous skin fibroblasts expressing human Lim mineralization protein-3 efficiently form new bone in animal models. *Gene Ther.* **15**, 1330–1343 (2008).
 211. Boden, S. D. et al. Lumbar spine fusion by local gene therapy with a cDNA encoding a novel osteoinductive protein (LMP-1). *Spine* **23**, 2486–2492 (1998).
 212. James, A. W. et al. Additive effects of sonic hedgehog and Nell-1 signaling in osteogenic versus adipogenic differentiation of human adipose-derived stromal cells. *Stem Cells Dev.* **21**, 2170–2178 (2012).
 213. Lee, S.-J. et al. Enhancement of bone regeneration by gene delivery of BMP2/Runx2 bicistronic vector into adipose-derived stromal cells. *Biomaterials* **31**, 5652–5659 (2010).
 214. Lee, S.-J. et al. Enhancement of bone regeneration by gene delivery of BMP2/Runx2 bicistronic vector into adipose-derived stromal cells. *Biomaterials* **31**, 5652–5659 (2010).
 215. Zhang, Y., Madhu, V., Dighe, A. S., Irvine, J. N. & Cui, Q. Osteogenic response of human adipose-derived stem cells to BMP-6, VEGF, and combined VEGF plus BMP-6 in vitro.

- Growth Factors *Chur Switz*. **30**, 333–343 (2012).
216. James, A. W. et al. Additive effects of sonic hedgehog and Nell-1 signaling in osteogenic versus adipogenic differentiation of human adipose-derived stromal cells. *Stem Cells Dev.* **21**, 2170–2178 (2012).
 217. Marino, G. et al. Beta-tricalcium phosphate 3D scaffold promote alone osteogenic differentiation of human adipose stem cells: in vitro study. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **21**, 353–363 (2010).
 218. Liao, H.-T., Lee, M.-Y., Tsai, W.-W., Wang, H.-C. & Lu, W.-C. Osteogenesis of adipose-derived stem cells on polycaprolactone- β -tricalcium phosphate scaffold fabricated via selective laser sintering and surface coating with collagen type I. *J. Tissue Eng. Regen. Med.* (2013). doi:10.1002/term.1811
 219. Arrigoni, E. et al. Adipose-derived stem cells and rabbit bone regeneration: histomorphometric, immunohistochemical and mechanical characterization. *J. Orthop. Sci. Off. J. Jpn. Orthop. Assoc.* **18**, 331–339 (2013).
 220. Hing, K. A., Wilson, L. F. & Buckland, T. Comparative performance of three ceramic bone graft substitutes. *Spine J. Off. J. North Am. Spine Soc.* **7**, 475–490 (2007).
 221. Zanetti, A. S., McCandless, G. T., Chan, J. Y., Gimble, J. M. & Hayes, D. J. Characterization of novel akermanite:poly- ϵ -caprolactone scaffolds for human adipose-derived stem cells bone tissue engineering. *J. Tissue Eng. Regen. Med.* **9**, 389–404 (2015).
 222. Gu, H. et al. The stimulation of osteogenic differentiation of human adipose-derived stem cells by ionic products from akermanite dissolution via activation of the ERK pathway. *Biomaterials* **32**, 7023–7033 (2011).
 223. Zanetti, A. S., McCandless, G. T., Chan, J. Y., Gimble, J. M. & Hayes, D. J. In vitro human adipose-derived stromal/stem cells osteogenesis in akermanite:poly- ϵ -caprolactone scaffolds. *J. Biomater. Appl.* **28**, 998–1007 (2014).
 224. Liu, Q. et al. A comparative study of proliferation and osteogenic differentiation of adipose-derived stem cells on akermanite and beta-TCP ceramics. *Biomaterials* **29**, 4792–4799 (2008).
 225. Wang, C.-Z. et al. The effect of the local delivery of alendronate on human adipose-derived stem cell-based bone regeneration. *Biomaterials* **31**, 8674–8683 (2010).
 226. Lin, C.-Y. et al. The use of ASCs engineered to express BMP2 or TGF- β 3 within scaffold constructs to promote calvarial bone repair. *Biomaterials* **34**, 9401–9412 (2013).
 227. Levi, B. et al. Dura mater stimulates human adipose-derived stromal cells to undergo bone formation in mouse calvarial defects. *Stem Cells Dayt. Ohio* **29**, 1241–1255 (2011).
 228. Deng, Y. et al. The role of miR-31-modified adipose tissue-derived stem cells in repairing rat critical-sized calvarial defects. *Biomaterials* **34**, 6717–6728 (2013).
 229. Levi, B. et al. Nonintegrating knockdown and customized scaffold design enhances human adipose-derived stem cells in skeletal repair. *Stem Cells Dayt. Ohio* **29**, 2018–2029 (2011).
 230. Lo, D. D. et al. Repair of a critical-sized calvarial defect model using adipose-derived stromal cells harvested from lipoaspirate. *J. Vis. Exp. JoVE* (2012). doi:10.3791/4221
 231. Levi, B. et al. Studies in adipose-derived stromal cells: migration and participation in repair of cranial injury after systemic injection. *Plast. Reconstr. Surg.* **127**, 1130–1140 (2011).
 232. Levi, B. et al. Acute skeletal injury is necessary for human adipose-derived stromal cell-mediated calvarial regeneration. *Plast. Reconstr. Surg.* **127**, 1118–1129 (2011).
 233. Rhee, S. C. et al. In vivo evaluation of mixtures of uncultured freshly isolated adipose-derived stem cells and demineralized bone matrix for bone regeneration in a rat critically sized calvarial defect model. *Stem Cells Dev.* **20**, 233–242 (2011).
 234. Hong, J. M. et al. Enhancement of bone regeneration through facile surface functionalization of solid freeform fabrication-based three-dimensional scaffolds using mussel adhesive proteins. *Acta Biomater.* **8**, 2578–2586 (2012).
 235. Jo, C. H., Yoon, P. W., Kim, H., Kang, K. S. & Yoon, K. S. Comparative evaluation of in vivo osteogenic differentiation of fetal and adult mesenchymal stem cell in rat critical-sized femoral defect model. *Cell Tissue Res.* **353**, 41–52 (2013).
 236. Yoon, E., Dhar, S., Chun, D. E., Gharibjanian, N. A. & Evans, G. R. D. In vivo osteogenic potential of human adipose-derived stem cells/poly lactide-co-glycolic acid constructs for bone regeneration in a rat critical-sized calvarial defect model. *Tissue Eng.* **13**, 619–627 (2007).
 237. Cui, L. et al. Repair of cranial bone defects with adipose derived stem cells and coral scaffold in a canine model. *Biomaterials* **28**, 5477–5486 (2007).
 238. Liu, G. et al. Bone regeneration in a canine cranial model using allogeneic adipose derived stem cells and coral scaffold. *Biomaterials* **34**, 2655–2664 (2013).
 239. Stockmann, P. et al. Guided bone regeneration in pig calvarial bone defects using autologous mesenchymal stem/progenitor cells - a comparison of different tissue sources. *J. Cranio-Maxillo-fac. Surg. Off. Publ. Eur. Assoc. Cranio-Maxillo-fac. Surg.* **40**, 310–320 (2012).
 240. Kim, H. P. et al. Enhancement of bone regeneration using osteogenic-induced adipose-derived stem cells combined with demineralized bone matrix in a rat critically-sized calvarial defect model. *Curr. Stem Cell Res. Ther.* **7**, 165–172 (2012).
 241. Kim, J. Y. et al. Evaluation of solid free-form fabrication-based scaffolds seeded with osteoblasts and human umbilical vein endothelial cells for use in vivo osteogenesis. *Tissue Eng. Part A* **16**, 2229–2236 (2010).
 242. Ko, E., Yang, K., Shin, J. & Cho, S.-W. Polydopamine-assisted osteoinductive peptide immobilization of polymer scaffolds for enhanced bone regeneration by human adipose-derived stem cells. *Biomacromolecules* **14**, 3202–3213 (2013).
 243. Smith, D. M. et al. Regenerative surgery in cranioplasty revisited: the role of adipose-derived stem cells and BMP-2. *Plast. Reconstr. Surg.* **128**, 1053–1060 (2011).
 244. Levi, B. et al. Human adipose-derived stromal cells stimulate autogenous skeletal repair via paracrine Hedgehog signaling with calvarial osteoblasts. *Stem Cells Dev.* **20**, 243–257 (2011).
 245. Behr, B., Tang, C., Germann, G., Longaker, M. T. & Quarto, N. Locally applied vascular endothelial growth factor A increases the osteogenic healing capacity of human adipose-derived stem cells by promoting osteogenic and endothelial differentiation. *Stem Cells Dayt. Ohio* **29**, 286–296 (2011).
 246. Lee, S.-J. et al. Enhancement of bone regeneration by

- gene delivery of BMP2/Runx2 bicistronic vector into adipose-derived stromal cells. *Biomaterials* **31**, 5652–5659 (2010).
247. Man, Y. et al. Angiogenic and osteogenic potential of platelet-rich plasma and adipose-derived stem cell laden alginate microspheres. *Biomaterials* **33**, 8802–8811 (2012).
248. Liu, G. et al. Bone regeneration in a canine cranial model using allogeneic adipose derived stem cells and coral scaffold. *Biomaterials* **34**, 2655–2664 (2013).
249. Choi, J. W. et al. In vivo differentiation of undifferentiated human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells in critical-sized calvarial bone defects. *Ann. Plast. Surg.* **72**, 225–233 (2014).
250. Shen, F. H. et al. Implications of adipose-derived stromal cells in a 3D culture system for osteogenic differentiation: an in vitro and in vivo investigation. *Spine J. Off. J. North Am. Spine Soc.* **13**, 32–43 (2013).
251. Schubert, T. et al. The enhanced performance of bone allografts using osteogenic-differentiated adipose-derived mesenchymal stem cells. *Biomaterials* **32**, 8880–8891 (2011).
252. Li, X. et al. The use of carbon nanotubes to induce osteogenic differentiation of human adipose-derived MSCs in vitro and ectopic bone formation in vivo. *Biomaterials* **33**, 4818–4827 (2012).
253. Chou, Y.-F., Zuk, P. A., Chang, T.-L., Benhaim, P. & Wu, B. M. Adipose-derived stem cells and BMP2: part 1. BMP2-treated adipose-derived stem cells do not improve repair of segmental femoral defects. *Connect. Tissue Res.* **52**, 109–118 (2011).
254. Cao, Z., Hou, S., Sun, D., Wang, X. & Tang, J. Osteochondral regeneration by a bilayered construct in a cell-free or cell-based approach. *Biotechnol. Lett.* **34**, 1151–1157 (2012).
255. Keibl, C. et al. Human adipose derived stem cells reduce callus volume upon BMP-2 administration in bone regeneration. *Injury* **42**, 814–820 (2011).
256. Qing, W., Guang-Xing, C., Lin, G. & Liu, Y. The osteogenic study of tissue engineering bone with BMP2 and BMP7 gene-modified rat adipose-derived stem cell. *J. Biomed. Biotechnol.* **2012**, 410879 (2012).
257. Lee, S.-W. et al. Stem cell-mediated accelerated bone healing observed with in vivo molecular and small animal imaging technologies in a model of skeletal injury. *J. Orthop. Res. Off. Publ. Orthop. Res. Soc.* **27**, 295–302 (2009).
258. Hao, W. et al. Enhanced bone formation in large segmental radial defects by combining adipose-derived stem cells expressing bone morphogenetic protein 2 with nHA/RHLC/PLA scaffold. *Int. Orthop.* **34**, 1341–1349 (2010).
259. Shoji, T. et al. Local transplantation of human multipotent adipose-derived stem cells accelerates fracture healing via enhanced osteogenesis and angiogenesis. *Lab. Investig. J. Tech. Methods Pathol.* **90**, 637–649 (2010).
260. Kim, H. P. et al. Enhancement of bone regeneration using osteogenic-induced adipose-derived stem cells combined with demineralized bone matrix in a rat critically-sized calvarial defect model. *Curr. Stem Cell Res. Ther.* **7**, 165–172 (2012).
261. Kang, B.-J. et al. Comparing the osteogenic potential of canine mesenchymal stem cells derived from adipose tissues, bone marrow, umbilical cord blood, and Wharton's jelly for treating bone defects. *J. Vet. Sci.* **13**, 299–310 (2012).
262. Arrigoni, E. et al. Adipose-derived stem cells and rabbit bone regeneration: histomorphometric, immunohistochemical and mechanical characterization. *J. Orthop. Sci. Off. J. Jpn. Orthop. Assoc.* **18**, 331–339 (2013).
263. Fernandez, F. B., Shenoy, S., Suresh Babu, S., Varma, H. K. & John, A. Short-term studies using ceramic scaffolds in lapine model for osteochondral defect amelioration. *Biomed. Mater. Bristol Engl.* **7**, 035005 (2012).
264. Sheyn, D. et al. Nonvirally engineered porcine adipose tissue-derived stem cells: use in posterior spinal fusion. *Stem Cells Dayt. Ohio* **26**, 1056–1064 (2008).
265. Schubert, T., Poilvache, H., Galli, C., Gianello, P. & Dufrane, D. Galactosyl-knock-out engineered pig as a xenogenic donor source of adipose MSCs for bone regeneration. *Biomaterials* **34**, 3279–3289 (2013).
266. Sheyn, D. et al. Gene-modified adult stem cells regenerate vertebral bone defect in a rat model. *Mol. Pharm.* **8**, 1592–1601 (2011).
267. Wilson, S. M. et al. Adipose-derived mesenchymal stem cells enhance healing of mandibular defects in the ramus of swine. *J. Oral Maxillofac. Surg. Off. J. Am. Assoc. Oral Maxillofac. Surg.* **70**, e193–203 (2012).
268. Parrilla, C. et al. Undifferentiated human adipose tissue-derived stromal cells induce mandibular bone healing in rats. *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.* **137**, 463–470 (2011).
269. Fernandez, F. B., Shenoy, S., Suresh Babu, S., Varma, H. K. & John, A. Short-term studies using ceramic scaffolds in lapine model for osteochondral defect amelioration. *Biomed. Mater. Bristol Engl.* **7**, 035005 (2012).
270. Gimble, J. M., Guilak, F. & Bunnell, B. A. Clinical and preclinical translation of cell-based therapies using adipose tissue-derived cells. *Stem Cell Res. Ther.* **1**, 19 (2010).
271. Casteilla, L., Planat-Benard, V., Laharrague, P. & Cousin, B. Adipose-derived stromal cells: Their identity and uses in clinical trials, an update. *World J. Stem Cells* **3**, 25–33 (2011).
272. Sándor, G. K. et al. Adipose stem cell tissue-engineered construct used to treat large anterior mandibular defect: a case report and review of the clinical application of good manufacturing practice-level adipose stem cells for bone regeneration. *J. Oral Maxillofac. Surg. Off. J. Am. Assoc. Oral Maxillofac. Surg.* **71**, 938–950 (2013).
273. Thesleff, T. et al. Cranioplasty with adipose-derived stem cells and biomaterial: a novel method for cranial reconstruction. *Neurosurgery* **68**, 1535–1540 (2011).
274. Lendeckel, S. et al. Autologous stem cells (adipose) and fibrin glue used to treat widespread traumatic calvarial defects: case report. *J. Cranio-Maxillo-fac. Surg. Off. Publ. Eur. Assoc. Cranio-Maxillo-fac. Surg.* **32**, 370–373 (2004).
275. Mesimäki, K. et al. Novel maxillary reconstruction with ectopic bone formation by GMP adipose stem cells. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* **38**, 201–209 (2009).
276. Wolff, J. et al. GMP-level adipose stem cells combined with computer-aided manufacturing to reconstruct mandibular ameloblastoma resection defects: Experience with three cases. *Ann. Maxillofac. Surg.* **3**, 114–125 (2013).
277. Farré-Guasch, E. et al. Human maxillary sinus floor elevation as a model for bone regeneration enabling the application of one-step surgical procedures. *Tissue Eng. Part B Rev.* **19**, 69–82 (2013).

278. Gutwald, R. et al. Mesenchymal stem cells and inorganic bovine bone mineral in sinus augmentation: comparison with augmentation by autologous bone in adult sheep. *Br. J. Oral Maxillofac. Surg.* **48**, 285–290 (2010).
279. Bosshardt, D. D. & Sculean, A. Does periodontal tissue regeneration really work? *Periodontol.* **51**, 208–219 (2009).
280. Nyman, S., Lindhe, J., Karring, T. & Rylander, H. New attachment following surgical treatment of human periodontal disease. *J. Clin. Periodontol.* **9**, 290–296 (1982).
281. Lindhe, J., Pontoriero, R., Berglundh, T. & Araujo, M. The effect of flap management and bioresorbable occlusive devices in GTR treatment of degree III furcation defects. An experimental study in dogs. *J. Clin. Periodontol.* **22**, 276–283 (1995).
282. Pihlstrom, B. L., Michalowicz, B. S. & Johnson, N. W. Periodontal diseases. *Lancet* **366**, 1809–1820 (2005).
283. Tobita, M. & Mizuno, H. Periodontal disease and periodontal tissue regeneration. *Curr. Stem Cell Res. Ther.* **5**, 168–174 (2010).
284. Hammarström, L. Enamel matrix, cementum development and regeneration. *J. Clin. Periodontol.* **24**, 658–668 (1997).
285. Sakallioğlu, U., Açıkgoz, G., Ayas, B., Kirtiloğlu, T. & Sakallioğlu, E. Healing of periodontal defects treated with enamel matrix proteins and root surface conditioning—an experimental study in dogs. *Biomaterials* **25**, 1831–1840 (2004).
286. Bartold, P. M., Shi, S. & Gronthos, S. Stem cells and periodontal regeneration. *Periodontol.* **40**, 164–172 (2006).
287. Laurell, L. & Gottlow, J. Guided tissue regeneration update. *Int. Dent. J.* **48**, 386–398 (1998).
288. Herberg, S. et al. Development of an injectable composite as a carrier for growth factor-enhanced periodontal regeneration. *J. Clin. Periodontol.* **35**, 976–984 (2008).
289. Vouros, I., Aristodimou, E. & Konstantinidis, A. Guided tissue regeneration in intrabony periodontal defects following treatment with two bioabsorbable membranes in combination with bovine bone mineral graft. A clinical and radiographic study. *J. Clin. Periodontol.* **31**, 908–917 (2004).
290. Von Arx, T. & AlSaeed, M. The use of regenerative techniques in apical surgery: A literature review. *Saudi Dent. J.* **23**, 113–127 (2011).
291. Lopez, R. & Baelum, V. Is grafting biomaterials or biological agents more effective than open-flap debridement in treating deep intraosseous defects? *Evid. Based Dent.* **4**, 64–65 (2003).
292. Baelum, V. & Lopez, R. Weak evidence for a benefit of Emdogain in the treatment of intrabony defects. *Evid. Based Dent.* **4**, 66–66 (2003).
293. Tobita, M., Uysal, A. C., Ogawa, R., Hyakusoku, H. & Mizuno, H. Periodontal tissue regeneration with adipose-derived stem cells. *Tissue Eng. Part A* **14**, 945–953 (2008).
294. Sculean, A., Windisch, P., Keglevich, T. & Gera, I. Clinical and histologic evaluation of an enamel matrix protein derivative combined with a bioactive glass for the treatment of intrabony periodontal defects in humans. *Int. J. Periodontics Restorative Dent.* **25**, 139–147 (2005).
295. Yamada, Y., Ueda, M., Hibi, H. & Baba, S. A novel approach to periodontal tissue regeneration with mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma using tissue engineering technology: A clinical case report. *Int. J. Periodontics Restorative Dent.* **26**, 363–369 (2006).
296. Kawaguchi, H. et al. Enhancement of periodontal tissue regeneration by transplantation of bone marrow mesenchymal stem cells. *J. Periodontol.* **75**, 1281–1287 (2004).
297. Tobita, M., Uysal, C. A., Guo, X., Hyakusoku, H. & Mizuno, H. Periodontal tissue regeneration by combined implantation of adipose tissue-derived stem cells and platelet-rich plasma in a canine model. *Cytotherapy* **15**, 1517–1526 (2013).
298. Hasegawa, N. et al. Behavior of transplanted bone marrow-derived mesenchymal stem cells in periodontal defects. *J. Periodontol.* **77**, 1003–1007 (2006).
299. He, L., 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.* **108**, 707–713 (2009).
300. Polson, A. M. & Proye, M. P. Fibrin linkage: a precursor for new attachment. *J. Periodontol.* **54**, 141–147 (1983).
301. Alsousou, J., Thompson, M., Hulley, P., Noble, A. & Willett, K. The biology of platelet-rich plasma and its application in trauma and orthopaedic surgery: a review of the literature. *J. Bone Joint Surg. Br.* **91**, 987–996 (2009).
302. Lucarelli, E. et al. Stromal stem cells and platelet-rich plasma improve bone allograft integration. *Clin. Orthop.* **62–68** (2005).
303. [https://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=Recherche Google](https://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=Recherche+Google). at https://www.google.fr/search?client=safari&rls=en&q=https://clinicaltrials.gov/ct2/results%3Fterm=adipose%2Bderived%2Bcells&ie=UTF-8&oe=UTF-8&gfe_rd=cr&ei=kIBTVyfzHlzf8gf__IGgBg
304. Miller, P. D. A classification of marginal tissue recession. *Int. J. Periodontics Restorative Dent.* **5**, 8–13 (1985).
305. http://www.nxtbook.com/nxtbooks/specops/jiacd_201110/index.php?startid=23%23/24&ie=UTF-8&oe=UTF-8&gfe_rd=cr&ei=TIFTVcymI4zf8gf__IGgBg. at https://www.google.fr/search?client=safari&rls=en&q=http://www.nxtbook.com/nxtbooks/specops/jiacd_201110/index.php%3Fstartid=23%23/24&ie=UTF-8&oe=UTF-8&gfe_rd=cr&ei=TIFTVcymI4zf8gf__IGgBg
306. McGuire, M. K., Scheyer, E. T., Nunn, M. E. & Lavin, P. T. A pilot study to evaluate a tissue-engineered bilayered cell therapy as an alternative to tissue from the palate. *J. Periodontol.* **79**, 1847–1856 (2008).
307. Dr. R. Prakash* & Dr. V. Gopikrishna** Dr. D. Kandaswamy. GUTTA-PERCHA – AN UNTOLD STORY. *Endodontology Dec 2005* 17232-36
308. Nygaard-Ostby, B. & Hjortdal, O. Tissue formation in the root canal following pulp removal. *Scand. J. Dent. Res.* **79**, 333–349 (1971).
309. Iwaya, S. I., Ikawa, M. & Kubota, M. Revascularization of an immature permanent tooth with apical periodontitis and sinus tract. *Dent. Traumatol. Off. Publ. Int. Assoc. Dent. Traumatol.* **17**, 185–187 (2001).
310. Banchs, F. & Trope, M. Revascularization of immature permanent teeth with apical periodontitis: new treatment protocol? *J. Endod.* **30**, 196–200 (2004).
311. Simon, S. La revascularisation en endodontie : réparation ou régénération. *Entret. Bichat* (2013).
312. Zhu, X. et al. Transplantation of dental pulp stem cells and

- platelet-rich plasma for pulp regeneration. *J. Endod.* **38**, 1604–1609 (2012).
313. Iohara, K. et al. Complete pulp regeneration after pulpectomy by transplantation of CD105+ stem cells with stromal cell-derived factor-1. *Tissue Eng. Part A* **17**, 1911–1920 (2011).
314. Iohara, K. et al. Side Population Cells Isolated from Porcine Dental Pulp Tissue with Self-Renewal and Multipotency for Dentinogenesis, Chondrogenesis, Adipogenesis, and Neurogenesis. *STEM CELLS* **24**, 2493–2503 (2006).
315. Ishizaka, R., Iohara, K., Murakami, M., Fukuta, O. & Nakashima, M. Regeneration of dental pulp following pulpectomy by fractionated stem/progenitor cells from bone marrow and adipose tissue. *Biomaterials* **33**, 2109–2118 (2012).
316. Huang, G. T.-J. et al. Stem/progenitor cell-mediated de novo regeneration of dental pulp with newly deposited continuous layer of dentin in an in vivo model. *Tissue Eng. Part A* **16**, 605–615 (2010).
317. Prescott, R. S. et al. In-vivo Generation of Dental Pulp-Like Tissue Using Human Pulpal Stem Cells, a Collagen Scaffold and Dentin Matrix Protein 1 Following Subcutaneous Transplantation in Mice. *J. Endod.* **34**, 421–426 (2008).
318. Murray, P. E., Garcia-Godoy, F. & Hargreaves, K. M. Regenerative endodontics: a review of current status and a call for action. *J. Endod.* **33**, 377–390 (2007).
319. Gronthos, S. et al. Stem cell properties of human dental pulp stem cells. *J. Dent. Res.* **81**, 531–535 (2002).
320. Gronthos, S., Mankani, M., Brahimi, J., Robey, P. G. & Shi, S. Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **97**, 13625–13630 (2000).
321. Hung, C.-N. et al. A comparison between adipose tissue and dental pulp as sources of MSCs for tooth regeneration. *Biomaterials* **32**, 6995–7005 (2011).
322. Kojima, T. et al. Regeneration of radiation damaged salivary glands with adipose-derived stromal cells. *The Laryngoscope* **121**, 1864–1869 (2011).
323. XIONG, X., SHI, X. & CHEN, F. Human adipose tissue-derived stem cells alleviate radiation-induced xerostomia. *Int. J. Mol. Med.* **34**, 749–755 (2014).
324. Biehl, J. K. & Russell, B. Introduction to stem cell therapy. *J. Cardiovasc. Nurs.* **24**, 98–103; quiz 104–105 (2009).
325. Granero-Moltó, F. et al. Regenerative Effects of Transplanted Mesenchymal Stem Cells in Fracture Healing. *STEM CELLS* **27**, 1887–1898 (2009).
326. El-Menoufy, H. et al. The role of bone marrow-derived mesenchymal stem cells in treating formocresol induced oral ulcers in dogs. *J. Oral Pathol. Med. Off. Publ. Int. Assoc. Oral Pathol. Am. Acad. Oral Pathol.* **39**, 281–289 (2010).
327. Alamoudi, N. M., El Ashiry, E. A., Farsi, N. M., El Derwi, D. A. & Atta, H. M. Treatment of oral ulcers in dogs using adipose tissue-derived mesenchymal stem cells. *J. Clin. Pediatr. Dent.* **38**, 215–222 (2014).
328. Okeson, J. P. & de Kanter, R. J. Temporomandibular disorders in the medical practice. *J. Fam. Pract.* **43**, 347–356 (1996).
329. Pak, J. Regeneration of human bones in hip osteonecrosis and human cartilage in knee osteoarthritis with autologous adipose-tissue-derived stem cells: a case series. *J. Med. Case Reports* **5**, 296 (2011).
330. Pak, J. Regeneration of human bones in hip osteonecrosis and human cartilage in knee osteoarthritis with autologous adipose-tissue-derived stem cells: a case series. *J. Med. Case Reports* **5**, 296 (2011).
331. Pak, J., Chang, J.-J., Lee, J. H. & Lee, S. H. Safety reporting on implantation of autologous adipose tissue-derived stem cells with platelet-rich plasma into human articular joints. *BMC Musculoskelet. Disord.* **14**, 337 (2013).
332. Mojallal, A. & Foyatier, J.-L. [Historical review of the use of adipose tissue transfer in plastic and reconstructive surgery]. *Ann. Chir. Plast. Esthét.* **49**, 419–425 (2004).
333. Coleman, S. R. Long-term survival of fat transplants: controlled demonstrations. *Aesthetic Plast. Surg.* **19**, 421–425 (1995).
334. Tanikawa, D. Y. S., Agüena, M., Bueno, D. F., Passos-Bueno, M. R. & Alonso, N. Fat grafts supplemented with adipose-derived stromal cells in the rehabilitation of patients with craniofacial microsomia. *Plast. Reconstr. Surg.* **132**, 141–152 (2013).
335. Patrick, C. W. Tissue engineering strategies for adipose tissue repair. *Anat. Rec.* **263**, 361–366 (2001).
336. Huss, F. R. M. & Kratz, G. Adipose tissue processed for lipoinjection shows increased cellular survival in vitro when tissue engineering principles are applied. *Scand. J. Plast. Reconstr. Surg. Hand Surg. Nord. Plast. Foren. Nord. Klubb Handkirurgi* **36**, 166–171 (2002).
337. Van, R. L. & Roncari, D. A. Complete differentiation in vivo of implanted cultured adipocyte precursors from adult rats. *Cell Tissue Res.* **225**, 557–566 (1982).
338. Rodriguez, A.-M., Elabd, C., Amri, E.-Z., Ailhaud, G. & Dani, C. The human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Biochimie* **87**, 125–128 (2005).
339. Rodriguez, A.-M. et al. Transplantation of a multipotent cell population from human adipose tissue induces dystrophin expression in the immunocompetent mdx mouse. *J. Exp. Med.* **201**, 1397–1405 (2005).
340. García-Olmo, D. et al. A phase I clinical trial of the treatment of Crohn's fistula by adipose mesenchymal stem cell transplantation. *Dis. Colon Rectum* **48**, 1416–1423 (2005).
341. Perin, E. C. et al. Adipose-derived regenerative cells in patients with ischemic cardiomyopathy: The PRECISE Trial. *Am. Heart J.* **168**, 88–95.e2 (2014).
342. Koh, Y.-G. & Choi, Y.-J. Infrapatellar fat pad-derived mesenchymal stem cell therapy for knee osteoarthritis. *The Knee* **19**, 902–907 (2012).
343. Zheng, G. et al. Treatment of acute respiratory distress syndrome with allogeneic adipose-derived mesenchymal stem cells: a randomized, placebo-controlled pilot study. *Respir. Res.* **15**, 39 (2014).
344. Wei, H.-J. et al. Adipose-derived stem cells promote tumor initiation and accelerate tumor growth by interleukin-6 production. *Oncotarget* **6**, 7713–7726 (2015).
345. Lebedev, K. A. Homeostasis of adult human stem cells and carcinogenesis. *Hum. Physiol.* **36**, 621–628 (2010).
346. Wang, J. The application prospects of adipose-derived stem cell in periodontal tissue reconstruction. (2013).

SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des Maîtres de cette Faculté, de mes chers condisciples, devant l'effigie d'Hippocrate,

Je promets et je jure, au nom de l'Être Suprême, d'être fidèle aux lois de l'Honneur et de la probité dans l'exercice de La Médecine Dentaire.

Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail, je ne participerai à aucun partage clandestin d'honoraires.

Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui se passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Je ne permettrai pas que des considérations de religion, de nation, de race, de parti ou de classe sociale viennent s'interposer entre mon Devoir et mon patient.

Je garderai le respect absolu de la vie humaine dès sa conception.

Même sous la menace, je n'admettrai pas de faire usage de mes connaissances médicales contre les lois de l'Humanité.

Respectueux et reconnaissant envers les Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses,

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.



APPROBATION – IMPROBATION

Les opinions émises par les dissertations présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, sans aucune approbation ou improbation de la Faculté de Chirurgie dentaire (1).

Lu et approuvé,

Vu,
Nice, le

Le Président du jury,

Le Doyen de la Faculté de
Chirurgie Dentaire de l'UNS

Professeur

Professeur Armelle MANIERE

(1) Les exemplaires destinés à la bibliothèque doivent être obligatoirement signés par le Doyen et par le Président du Jury.

LES CELLULES SOUCHES DU TISSU ADIPEUX ETAT DE L'ART ET PERSPECTIVES EN ODONTOSTOMATOLOGIE

THÈSE *Chirurgie Dentaire, Nice, 2015, n°42.57.15.14*

**DIRECTEURS
DE THÈSE** *Dr. Yordan BENHAMOU - Pr. Patrick MAHLER*

MOTS-CLÉS *Cellules souches, Tissu adipeux, Régénération, Ingénierie tissulaire
Facteurs de croissance, Echafaudages, Fraction stroma-vasculaire*

RÉSUMÉ Plus performantes et plus accessibles que les cellules de la moelle osseuse, les cellules souches du tissu adipeux ont fait leurs preuves dans les domaines de la régénération, en raison de leur facilité d'obtention et de leur incroyable potentiel de différenciation, de néoangiogénèse et d'immunomodulation.

Régénération osseuse, parodontale, pulpaire, dentaire, gingivale, acineuse, chondrale ou post-tumorale, les études pré-cliniques révèlent des résultats surprenants et très encourageants pour la recherche.

Avec un tel accroissement des technologies liées à l'utilisation des cellules stromales du tissu adipeux, nous pouvons imaginer un futur où la profession de chirurgien dentiste évoluerait vers une pratique où le praticien aurait à sa disposition tous les moyens pour pouvoir régénérer les organes dentaires et les structures de la sphère orale. Ces nouvelles pratiques rendraient obsolètes nos thérapeutiques actuelles : plus question de dévitalisation, de prothèses, de racines artificielles, ou d'interventions mutilantes !

D'autres investigations sont nécessaires afin de normaliser les procédures de récolte, d'isolement, de choix du support, des signaux et des techniques de transplantation des CSTA. L'établissement de lignes directrices et de recommandations de bonnes pratiques permettrait d'harmoniser les protocoles d'études et d'accélérer les essais cliniques prospectifs randomisés.

Les avancées dans le domaine de la dentisterie régénératrice, basées sur une approche multidisciplinaire combinant biologie, médecine et ingénierie, vont indéniablement révolutionner le monde médical, inversant les lois de la nature et offrant à l'être humain la possibilité d'une éternelle jeunesse !
