

Creative commons : Paternité - Pas d'Utilisation Commerciale -  
Pas de Modification 2.0 France (CC BY-NC-ND 2.0)



<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/2.0/fr>

**UNIVERSITE CLAUDE BERNARD-LYON I**  
**U.F.R. D'ODONTOLOGIE**

Année 2013

THESE N° 2013 LYO 1D 077

**T H E S E**  
**POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN CHIRURGIE DENTAIRE**

**Présentée et soutenue publiquement le 6 décembre 2013**

**Par**

**M<sup>lle</sup> Kadiatou SY**

**Née le 9 novembre 1988 à Reims (51)**

---

**Ingénierie tissulaire du parodonte :  
apport des cellules souches du ligament alvéolo-dentaire**

---

**JURY**

**Mme GROSGOGEAT/BALAYRE Brigitte**

**Présidente**

**Mme GRITSCH Kerstin**

**Assesseur**

**Mme MOURA CAMPOS Doris**

**Assesseur**

**M. RODIER Philippe**

**Assesseur**

**Mme BOLLE Caroline**

**Assesseur**

# UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON I

Président de l'Université	M. le Professeur F-N. GILLY
Vice-Président du Conseil Scientifique	M. le Professeur P-G. GILLET
Vice-Président du Conseil des Etudes et de Vie Universitaire	M. le Professeur P. LALLE
Directeur Général des Services	M. A. HELLEU

## SECTEUR SANTE

Comité de Coordination des Etudes Médicales	Président : Mme la Professeure C. VINCIGUERRA
Faculté de Médecine Lyon Est	Directeur : M. le Professeur. J. ETIENNE
Faculté de Médecine et Maïeutique Lyon-Sud Charles Mérieux	Directeur : Mme la Professeure C. BURILLON
Faculté d'Odontologie	Directeur : M. le Professeur D. BOURGEOIS
Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques	Directeur : Mme la Professeure C. VINCIGUERRA
Institut des Sciences et Techniques de la Réadaptation	Directeur : M. le Professeur Y. MATILLON
Département de Formation et Centre de Recherche en Biologie Humaine	Directeur : Mme la Professeure A.M. SCHOTT

## SECTEUR SCIENCES ET TECHNOLOGIES

Faculté des Sciences et Technologies	Directeur : M. le Professeur F. DE MARCHI
UFR des Sciences et Techniques des Activités Physiques et Sportives	Directeur : M. le Professeur C. COLLIGNON
Institut Universitaire de Technologie Lyon 1	Directeur : M. C. VITON, Maître de Conférences
Ecole Polytechnique Universitaire de l'Université Lyon 1	Directeur : M. P. FOURNIER
Institut de Science Financière et d'Assurances	Directeur : Mme la Professeure V. MAUME DESCHAMPS
Institut Universitaire de Formation des Maîtres De l'Académie de Lyon (IUFM)	Directeur : M. A. MOUGNIOTTE
Observatoire de Lyon	Directeur : M. B. GUIDERDONI, Directeur de Recherche CNRS
Ecole Supérieure de Chimie Physique Electronique	Directeur : M. G. PIGNAULT

# FACULTE D'ODONTOLOGIE DE LYON

**Doyen** : M. Denis BOURGEOIS, Professeur des Universités

**Vice-Doyen** : Mme Dominique SEUX, Professeure des Universités

## **SOUS-SECTION 56-01:** PEDODONTIE

Professeur des Universités : M. Jean-Jacques MORRIER  
Maître de Conférences : M. Jean-Pierre DUPREZ

## **SOUS-SECTION 56-02 :** ORTHOPEDIE DENTO-FACIALE

Maîtres de Conférences : M. Jean-Jacques AKNIN, Mme Sarah GEBEILE-CHAUTY,  
Mme Claire PERNIER, Mme Monique RABERIN

## **SOUS-SECTION 56-03 :** PREVENTION - EPIDEMIOLOGIE ECONOMIE DE LA SANTE - ODONTOLOGIE LEGALE

Professeur des Universités : M. Denis BOURGEOIS  
Professeur des Universités Associé : M. Juan Carlos LLODRA CALVO  
Maître de Conférences : M. Bruno COMTE

## **SOUS-SECTION 57-01 :** PARODONTOLOGIE

Professeur des Universités Emérite : M. Jacques DOURY

Maîtres de Conférences : Mme Kerstin GRITSCH, M. Pierre-Yves HANACHOWICZ,  
M. Philippe RODIER,

## **SOUS-SECTION 57-02 :** CHIRURGIE BUCCALE - PATHOLOGIE ET THERAPEUTIQUE ANESTHESIOLOGIE ET REANIMATION

Maître de Conférences : Mme Anne-Gaëlle CHAUX-BODARD, M. Thomas FORTIN, M. Jean-Pierre FUSARI

## **SOUS-SECTION 57-03 :** SCIENCES BIOLOGIQUES

Professeur des Universités : M. J. Christophe FARGES  
Maîtres de Conférences : Mme Odile BARSOTTI, Mme Béatrice RICHARD,  
Mme Béatrice THIVICHON-PRINCE, M. François VIRARD

## **SOUS-SECTION 58-01 :** ODONTOLOGIE CONSERVATRICE - ENDODONTIE

Professeur des Universités : M. Pierre FARGE, M. Jean-Christophe MAURIN, Mme Dominique SEUX  
Maîtres de Conférences : Mme Marion LUCCHINI, M. Thierry SELLI, M. Cyril VILLAT

## **SOUS-SECTION 58-02 :** PROTHESE

Professeurs des Universités : M. Guillaume MALQUARTI, Mme Catherine MILLET  
Maîtres de Conférences : M. Christophe JEANNIN, M. Renaud NOHARET, M. Gilbert VIGUIE, M. Stéphane VIENNOT, M. Bernard VINCENT

**SOUS-SECTION 58-03 :**

**SCIENCES ANATOMIQUES ET PHYSIOLOGIQUES  
OCCLUSODONTIQUES, BIOMATERIAUX, BIOPHYSIQUE,  
RADIOLOGIE**

Professeur des Universités :  
Maîtres de Conférences :  
Maître de Conférences Associé :

Mme Brigitte GROSGOGEAT, M. Olivier ROBIN  
M. Patrick EXBRAYAT, Mme Sophie VEYRE-GOULET  
Mme Doris MOURA CAMPOS

# REMERCIEMENTS AUX MEMBRES DU JURY

A notre présidente du jury

**Madame le Professeur Brigitte GROSGOGEAT/ BALAYRE**

Professeur des Universités à l'UFR d'Odontologie de Lyon

Praticien-Hospitalier

Docteur en Chirurgie Dentaire

Docteur de l'Université Lyon I

Habilitée à Diriger des Recherches

*Nous vous remercions de l'honneur que vous nous faites en acceptant la présidence de ce jury.*

*Nous vous remercions pour les cours très précis que vous nous avez enseignés. Ils ont constitué une source d'inspiration pour traiter le sujet.*

*Nous vous remercions aussi de l'aide et du soutien que vous nous avez apporté durant notre cursus.*

*Veillez trouver dans ce travail l'expression de nos sincères remerciements.*

**A notre co-directeur de thèse**

**Madame le Docteur Kerstin Gritsch**

Maître de Conférences à l'UFR de Parodontologie de Lyon

Praticien-Hospitalier

Docteur en Chirurgie Dentaire

Docteur de l'Université de Lyon I

Habilité à Diriger des Recherches

*Nous vous sommes reconnaissants d'avoir accepté le suivi et la direction de notre thèse.*

*Nous vous remercions du temps que vous avez pris pour nous aider ainsi que de l'amabilité dont vous avez fait preuve durant tout notre cursus universitaire.*

*La qualité de votre écoute, de vos conseils et de vos enseignements durant toutes ces années d'études, nous ont été d'un grand soutien et le sont toujours.*

*Que cette thèse soit le témoignage de notre sincère considération et de notre profond respect.*

**A notre juge**

**Madame le Docteur Doris CAMPOS**

Maître de Conférences associée à l'UFR d'Odontologie de Lyon

Docteur en Biologie/Chimie et Sciences de Matériaux

Docteur de l'Université de Haute-Alsace et de l'Université Fédérale de Rio de Janeiro

*Nous vous remercions chaleureusement de l'honneur que vous nous faites en acceptant de siéger dans ce jury.*

*Nous vous remercions pour votre gentillesse et vos conseils avisés et éclairés durant l'élaboration de ce projet.*

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

*Veillez trouver ici le témoignage de notre plus profond respect et de notre gratitude.*

**A notre juge**

**Monsieur le Docteur Philippe RODIER**

Maître de Conférences à l'UFR d'Odontologie de Lyon

Praticien-Hospitalier

Docteur en Chirurgie Dentaire

Docteur de l'Université Lyon I

Responsable de la sous-section Parodontologie

*Nous vous sommes très reconnaissants de la confiance que vous nous avez témoignée en acceptant de siéger dans notre jury de thèse.*

*Nous vous remercions pour votre bienveillance et pour vos conseils au cours de notre formation.*

*Vos qualités de scientifique et de clinicien sont pour nous un privilège pour examiner et juger ce travail.*

*Veillez trouver ici le témoignage de notre plus vive reconnaissance et l'expression de nos sentiments les plus respectueux.*

**A notre co-directeur de thèse**

**Madame le Docteur Caroline BOLLE**

Ancien Assistant hospitalo-universitaire au CSERD de Lyon

Ancien Interne en Odontologie

Docteur en Chirurgie Dentaire

*Nous vous remercions d'avoir accepté si spontanément d'encadrer l'élaboration de notre thèse.*

*Nous vous sommes très reconnaissants du soutien, de la disponibilité et des encouragements dont vous nous avez témoignés. Vos conseils, votre implication et votre gentillesse nous ont grandement aidés pour mener à bien ce travail.*

*Nous vous remercions également de la pédagogie de votre enseignement en clinique comme en théorique.*

*Que cette thèse soit le témoignage de notre gratitude et de l'estime que nous vous portons.*

## **TABLE DES MATIERES**

LISTE DES FIGURES.....	2
LISTE DES ANNEXES.....	3
INTRODUCTION.....	4
<b>I. REGENERATION PARODONTALE.....</b>	<b>5</b>
A. <u>La cicatrisation parodontale</u> : régénération versus réparation.....	5
B. <u>Bases biologiques de la régénération parodontale</u> .....	9
C. <u>Biomatériaux de régénération parodontale</u> .....	12
<b>II. INGENIERIE TISSULAIRE ET PARODONTOLOGIE.....</b>	<b>26</b>
A. <u>Principe de l'ingénierie tissulaire</u> .....	26
B. <u>La matrice tridimensionnelle</u> .....	29
C. <u>Les facteurs de signalisation</u> .....	33
D. <u>Les cellules souches</u> .....	34
<b>III INTERET DES CELLULES SOUCHES DU LIGAMENT ALVEOLO-DENTAIRE EN INGENERIE TISSULAIRE.....</b>	<b>38</b>
A. <u>Les cellules souches du ligament alvéolo-dentaire</u> .....	38
B. <u>Techniques actuelles de régénération tissulaire avec les cellules souches du ligament     alvéolo-dentaire (valves cardiaques, tissu osseux)</u> .....	42
C. <u>La régénération du parodonte via l'ingénierie tissulaire et les cellules souches du     ligament alvéolo-dentaire est-elle possible?</u> .....	45
CONCLUSION.....	50
BIBLIOGRAPHIE.....	51

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1</b> : Colonisation de la surface radiculaire par les cellules .....	5
<b>Figure 2</b> : Types de cicatrisations parodontale.....	6
<b>Figure 3</b> : Photographie de la mise en place d'une membrane.....	13
<b>Figure 4</b> : Action de l'Emdogain®.....	22
<b>Figure 5</b> : Arbre décisionnel.....	24
<b>Figure 6</b> : Schéma de la triade de l'ingénierie tissulaire.....	27
<b>Figure 7</b> : Principe de «l'electropinning ».....	31
<b>Figure 8</b> : Autorenouvellement des cellules souches.....	34
<b>Figure 9</b> : Multi différenciation de cellules souches dentaires .....	35
<b>Figure 10</b> : Inter convertibilité des cellules souches.....	36
<b>Figure 11</b> : Régénération osseuse via les cellules souches du ligament alvéolo-dentaire...44	
<b>Figure 12</b> : Etapes et résultats des études cliniques animales.....	47

## LISTES DES ABREVIATIONS

ARNm	<i>Acide ribonucléique messenger</i>
ALPL	<i>phosphatase alcaline</i>
bFGF	<i>protéine mitogénique d'attache de l'héparine</i>
BMP	<i>protéine de morphogénèse osseuse</i>
CS	<i>cellules souches</i>
DFDBA	<i>os allogénique décalcifié lyophilisé</i>
EDTA	<i>acide éthylène diamide tétra-acétique</i>
EMD	<i>protéines dérivées de la matrice amélaire</i>
e-PTFE	<i>polytétrafluoroéthanol expansé</i>
FDBA	<i>os allogénique minéralisé lyophilisé</i>
FGF	<i>facteur de croissance de fibroblaste</i>
IGF	<i>facteur de croissance de l'insuline</i>
ITGBT1	<i>sous unité <math>\beta</math>1 de l'intégrine</i>
LAD	<i>ligament alvéolo-dentaire</i>
MEC	<i>matrice extra-cellulaire</i>
PDGF	<i>facteur de croissance dérivé des plaquettes :</i>
PGA	<i>acide polyglycolique</i>
PLA	<i>acide polylactique</i>
PLGA	<i>acide poly lactique-co-glycolique</i>
PLLA	<i>d'acide poly-l-lactique</i>
PRF	<i>plasma riche en fibrine</i>
PRP	<i>plasma riche en plaquette</i>
RTG	<i>régénération tissulaire guidée</i>
SDF-1	<i>facteur dérivé des cellules stromales</i>
SFPiO	<i>société française de parodontologie et d'implantologie</i>
SPP1	<i>Osteopontin</i>
STO-1	<i>marqueur des cellules souches de la moelle osseuse</i>
TGF- $\beta$	<i>facteur de croissance de transformation</i>
VEGF	<i>Facteur de croissance des cellules endothéliales</i>
$\beta$ -TCP	<i>triphosphate de calcium bêta</i>

## INTRODUCTION

La parodontite est une pathologie inflammatoire d'origine infectieuse qui atteint les tissus de soutien de la dent et aboutit à leur destruction. Si cette pathologie n'est pas stabilisée, elle entraîne la mobilité voire la perte de l'organe dentaire. Il s'agit donc d'une pathologie qui altère la qualité de vie de nos patients. Par ailleurs, elle augmente de façon significative le risque de développement ou d'aggravation de certaines pathologies générales (diabète, maladies cardio-vasculaires...). Sa prévalence était de 30% chez les adultes de 25 à 75 ans aux Etats-Unis en 1999 (Albandar et coll., 1999).

Si la thérapeutique visant à stabiliser cette pathologie est à présent bien connue, la régénération complète des tissus détruits reste encore un défi majeur. En effet, les techniques actuelles ne permettent d'obtenir qu'une régénération tissulaire partielle. C'est pourquoi, de nouveaux traitements sont envisagés en recherche.

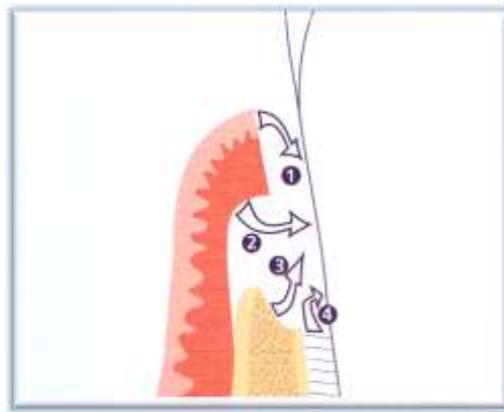
En ingénierie tissulaire, le recours aux cellules souches (CS) est fréquent du fait de leur potentiel de différenciation. Nous pouvons alors nous poser la question suivante : l'utilisation des CS du ligament alvéolo-dentaire (LAD) pourrait-elle être pertinente pour régénérer le parodonte ?

Pour répondre à cette problématique, nous définirons dans un premier temps la notion de régénération parodontale, tant au niveau biologique qu'au niveau des biomatériaux actuellement utilisés en clinique. Nous décrirons, dans un deuxième temps, le principe de l'ingénierie tissulaire. Enfin, nous aborderons plus spécifiquement l'utilisation de cellules souches du ligament alvéolo-dentaire en ingénierie tissulaire et tout particulièrement en ingénierie tissulaire parodontale.

## I. REGENERATION PARODONTALE

### A. La cicatrisation parodontale : régénération versus réparation

Après traitement parodontal, la racine surfacée peut être colonisée par 4 types de cellules : cellules épithéliales, cellules provenant du tissu conjonctif gingival, cellules osseuses, cellules du LAD (figure 1). Le type de cellule qui recolonise la surface dentaire détermine la nature de l'attache qui se forme (Melcher et coll., 1976) et le type de cicatrisation (réparation ou régénération).



*Figure 1 : Colonisation de la surface radiculaire par les cellules épithéliales (1), les cellules conjonctives (2), les cellules osseuses (3) ou les cellules du LAD (4) (Lindhe et coll., 2008).*

La **réparation** est le rétablissement de la continuité des tissus survenant grâce au processus de cicatrisation. Elle fait intervenir des néoformations tissulaires mais l'architecture et la fonction ne sont pas toujours restaurées de façon complète.

La **régénération**, est un processus biologique entraînant la reformation « *ad integrum* » de tous les composants du tissu lésé. Ainsi, l'architecture et la fonction du tissu concerné sont complètement restaurées (Hynes et coll., 2012).

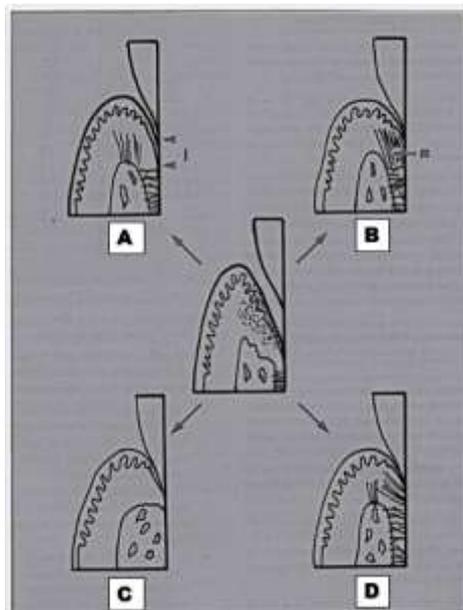
Il semblerait que les tissus obtenus par réparation soient plus sujets à une récurrence avec nouvelle perte d'attache que les tissus régénérés qui sont plus résistants et assurent une plus grande stabilité des résultats obtenus (Spahr et coll., 2005).

La cicatrisation parodontale peut se manifester par la formation d'une ré-attache ou d'une nouvelle attache.

La **ré-attache** est la réunion des tissus gingivaux aux surfaces radiculaires à la suite d'une séparation chirurgicale ou traumatique dans un contexte de santé parodontale.

La **nouvelle attache** est la réunion des tissus de soutien de la dent aux surfaces radiculaires préalablement exposées à l'environnement buccal par la pathologie parodontale. C'est la cicatrisation qui se produit après le traitement chirurgical d'une poche parodontale. Elle nécessite le nettoyage soigneux de la surface radiculaire.

Différents types de nouvelle attache peuvent se former en fonction du tissu qui assure la coaptation du parodonte avec la dent.



*Figure 2 : Types de cicatrisations parodontales ; A : long épithélium de jonction, B : manchon fibreux supracrestal, C : ankylose, D : régénération (Bercy et Tenenbaum, 1996).*

**La colonisation de la surface radulaire par les cellules épithéliales, conjonctives ou osseuses entraîne la formation d'une nouvelle attache de type « réparation » :**

**L'épithélium long de jonction** (cas A ; figure 2). Les résultats des études histologiques indiquent qu'après surfaçage radulaire ou chirurgie d'assainissement apparaît une cicatrisation de type réparation. Celle-ci est liée à la formation d'un épithélium long de jonction du fait de la prolifération et de la migration très rapide des cellules épithéliales sur la surface radulaire (Listgarden et coll., 1979 dans Melcher, 1976). La régénération de l'attache est inhibée par la migration des cellules épithéliales, qui n'ont pas de capacité de régénérer le parodonte (Melcher et coll., 1976).

**L'adaptation conjonctive** sans formation de fibres gingivo-dentaires (cas B ; figure 2). Dans ce cas ce sont les cellules conjonctives qui colonisent en premier le site. Les fibres de collagène du tissu conjonctif néo-formées sont parallèles à la surface radulaire. Elles ne sont pas insérées sur la surface radulaire. En effet, un manchon fibreux sous l'épithélium de jonction se forme : le manchon fibreux supracrestal empêchant l'insertion des fibres. En 1980, Nyman et coll. ont étudié les cellules du tissu conjonctif et la régénération parodontale. Ils ont conclu que les cellules conjonctives n'ont pas la capacité de régénérer le parodonte (Lindhe et coll., 2008).

**L'ankylose** (cas C ; figure 2) est liée à une colonisation de la surface radulaire par les cellules osseuses dont une des conséquences peut être la résorption radulaire. Une étude réalisée sur des chiens a conclu que les cellules osseuses n'ont pas la capacité de régénérer le parodonte (Karring et coll., 1980). Les tissus dérivés de l'os manqueraient de cellules ayant le potentiel de produire une nouvelle attache conjonctive

**La colonisation de la surface radiculaire par les cellules du LAD entraîne une nouvelle attache de type « régénération »** (cas D ; figure 2). Tout le système d'attache est restauré « ad integrum » : un nouveau ciment, un nouvel os, un nouveau LAD, une nouvelle attache épithélio-conjonctive avec insertion des fibres de collagène du tissu conjonctif sur la surface radiculaire. Au début des années 80, les travaux de l'équipe de Nymam ont montré que les cellules progénitrices du LAD ont la capacité de régénérer le parodonte en se différenciant en cémentoblastes et en ostéoblastes. Par la suite, une étude traitant les capacités de régénération du parodonte au niveau de racines a été réalisée sur des singes (Karring et coll., 1985). Les cellules conjonctives étaient à l'origine de la résorption observée. En revanche, les cellules du LAD seraient les seules cellules capables de régénérer le parodonte. Puis d'autres études ont confirmé ces propriétés des cellules souches du LAD. L'étude de l'incidence de la présence de cellules souches à proximité d'implant a notamment montré que contrairement aux témoins, les implants à proximité du LAD ont une régénération du parodonte avec les fibres de collagène orientées perpendiculairement à l'implant (Buser et coll., 1990).

Plus récemment, une étude réalisée sur des chiens avec des implants, a confirmé la présence de cellules progénitrices permettant la formation de l'attache parodontale dans le LAD (Parlar et coll., 2005).

## **B. Bases biologiques de la régénération parodontale**

Ces bases biologiques ont été posées dans les années 1980 afin d'orienter les recherches pour permettre la régénération parodontale. Ce sont des principes de base pour toutes les techniques de régénération de l'époque mais aussi pour les techniques actuelles et futures.

- **Histocompatibilité des surfaces**

La surface cémentaire doit être saine afin d'obtenir une nouvelle attache au niveau de la surface radiculaire avec régénération des fibres du LAD et leur insertion au ciment nouvellement formé à la surface de la racine. Il est nécessaire d'enlever les bactéries, la plaque et les endotoxines du ciment pour avoir une surface saine (Garrett, 1977).

- **Exclusion cellulaire**

Selon le principe de la sélection cellulaire décrite par Melcher dans son étude des cellules du parodonte, il est important de limiter la migration apicale de l'épithélium et d'éviter le contact du tissu conjonctif du lambeau avec la surface radiculaire (Melcher, 1976).

Les cellules épithéliales et les fibroblastes gingivaux ont la capacité de limiter la régénération parodontale du fait de leur rapidité de migration et de différenciation. Le but est donc de limiter leur migration afin de les exclure du site dans un premier temps.

- **Stabilité précoce du caillot**

La présence du caillot au niveau du site est indispensable. En effet, le sang contient un certain nombre de médiateurs qui vont favoriser la régénération des tissus, c'est le siège d'interactions cellulaires (Lallam-Laroye et coll., 2003).

Des membranes peuvent être utilisées afin de protéger l'intégrité de ce caillot sanguin (Nyman et coll., 1982).

- **Maintien de l'espace cicatriciel**

Le maintien de l'espace entre la surface radiculaire et le tissu de connexion est une étape primordiale. Un espace doit exister entre la surface radiculaire et le lambeau afin de permettre la formation d'un nouveau desmodonte et d'un nouvel os (Wikesjo et coll., 1992).

- **Adhésion du caillot**

Elle se manifeste par une modification du caillot sanguin. Le tissu de granulation va se former et devenir mature pour ensuite se transformer en matrice. Les plaquettes présentes dans le caillot accélèrent la régénération parodontale grâce à la libération de médiateurs cellulaires (Singer et Clark, 1999).

- **Induction cellulaire**

L'induction cellulaire permet la maturation de la matrice extra cellulaire (MEC), l'attachement des cellules entre elles, leur activité métabolique, leur croissance et leur différenciation. La stimulation des cellules ayant la capacité de régénérer le parodonte complète le principe d'exclusion cellulaire (Wikesjo et coll., 1992).

Dans ce principe, les acteurs primordiaux sont les facteurs de croissance dont les facteurs de différenciation tels que :

- PDGF : « platelet derived growth factor » : facteur de croissance dérivé des plaquettes
- IGF : « Insuline growth factor » : facteur de croissance de l'insuline
- TGF- $\beta$  : « transforming growth factor-bêta » : facteur de croissance de transformation.

Ils influencent la croissance et la fonction de diverses cellules et peuvent ainsi orienter la différenciation des cellules souches.

- **Cicatrisation primaire**

La cicatrisation primaire est la première étape de cicatrisation. Elle se définit par un rapprochement des berges de la plaie. Celle-ci se retrouve alors refermée, permettant une protection du caillot formé.

### C. Biomatériaux de régénération parodontale

Historiquement, l'élimination des poches parodontales profondes est réalisée par des lambeaux de Widman ou par des lambeaux positionnés apicalement (suppression des poches) associé à un recontourage osseux (suppression du défaut osseux). Ces techniques ont pour inconvénients d'entraîner l'apparition de récessions parodontales inesthétiques associées à des sensibilités dentinaires, ainsi que de diminuer le support parodontal fragilisé par la parodontite.

Durant ces 30 dernières années plusieurs types de thérapeutiques à visées régénératrices ont été développés. Les différents traitements principalement envisagés ont été décrit comme suit (Lindhe et coll., 2008) :

- la régénération tissulaire guidée (RTG)
- les matériaux de comblement osseux
- le conditionnement de surface
- les facteurs de croissance
- le plasma riche en fibrine (PRF) et le plasma riche en plaquette (PRP)
- les protéines issues de la matrice amélaire (EMD ou Emdogain®)
- les protocoles cliniques actuels

#### • Validation d'une technique de la régénération parodontale

D'après « The American Academy of Peridontology World Workshop » de 1996, seules les études histologiques permettent d'affirmer la présence d'une régénération parodontale avec formation d'une nouvelle attache. L'analyse histologique permet de vérifier la formation d'un

nouveau ciment, d'un nouveau ligament, d'une nouvelle attache conjonctive et une formation osseuse coronairement à la base du défaut osseux initial. Néanmoins, les techniques de régénération parodontale ayant montré dans les études histologiques, la possibilité biologique d'entraîner la formation d'une nouvelle attache avec régénération, doivent également permettre d'obtenir des résultats cliniques satisfaisants, stables et prédictibles chez l'homme. Ainsi, les études cliniques sont indispensables dans un second temps pour valider cliniquement l'efficacité d'une technique de régénération. Les paramètres évalués sont : la profondeur de poche, le gain d'attache, la mobilité et le saignement au sondage.

- **La régénération tissulaire guidée (RTG)**

Proposée par les chercheurs scandinaves Nyman et Karring, la régénération tissulaire guidée permet d'envisager la régénération du système d'attache et de l'os en se basant sur le principe mécanique d'exclusion cellulaire (Nyman et Karring, 1982).



Membrane mise en place pour une récession gingivale

*Figure 3 : Photographie de la mise en place d'une membrane (Patil et Patil, 2013).*

La mise en place d'une membrane entre la gencive et l'os (figure 3) constitue une barrière physique qui ménage un espace dans lequel la régénération peut se faire. Cela limite la

migration des cellules épithéliales le long de la surface radiculaire favorisant ainsi la prolifération des cellules progénitrices indifférenciées issues du LAD.

Idéalement, la membrane doit (Gottlow et coll., 1986 ; Lindhe et coll., 2008) :

- être biocompatible.
- avoir une bonne intégration tissulaire.
- être occlusive aux cellules épithéliales.
- permettre de former un espace (pour le caillot) entre la surface radiculaire et le lambeau.
- être facile d'utilisation clinique.

Les premières membranes désignées pour la régénération parodontale étaient en polytétrafluoroéthylène expansé (e-PTFE). Ce matériau non biorésorbable doit être retirés dans un second temps clinique (environ 4 à 6 semaines après).

L'utilisation de membranes synthétiques biodégradables a été proposée dans un deuxième temps. Elles peuvent être en collagène d'origine animale, en acide polylactique (PLA) ou fabriquées à base de copolymères d'acide polyglycolique (PGA) et d'acide polylactique.

Une des premières **études *in vivo*** a été réalisée sur le singe avec la mise en place d'une membrane (e-PTFE) qui a limité la migration des cellules épithéliales et conjonctives le long des surfaces radiculaires des dents. Cette étude histologique a mis en évidence la formation d'une nouvelle attache, avec une régénération sur les racines traitées par RTG (Gottlow et coll., 1984). Ces résultats ont été confirmés par d'autres études animales *in vivo* (Dahlin et coll., 1994). Toutes ces études ont montré une amélioration de la réduction verticale et horizontale du défaut osseux initial par rapport au traitement par un lambeau d'assainissement ou en cas d'absence de traitement.

Une **étude clinique** a été réalisée sur des dents humaines (Nyman et coll., 1982). Les études histologiques ont révélé la formation d'un nouveau ciment avec une insertion des fibres de collagène sur la racine. D'autres études ont aussi montré un succès de cette méthode pour les traitements des furcations de classe II mandibulaire (Bouchard et coll., 1993 ; Becker et coll., 1996). Les membranes résorbables sont actuellement plus fréquemment utilisées. Elles évitent le second temps chirurgical servant à retirer la membrane. Une étude réalisée chez l'homme avec une membrane biodégradable en collagène a montré leur capacité à stimuler la formation cémentaire et osseuse (Camelo et coll. 1998). Les résultats sont aussi satisfaisant qu'avec les membranes non résorbables et procurent un confort en limitant la seconde intervention chirurgicale (Lindhe et coll., 2008).

Enfin, **la RTG a fait ses preuves** *in vitro* et *in vivo* durant les trente dernières années. L'ensemble des études cliniques a montré les bénéfices de l'utilisation de la RTG dans la régénération parodontale. Elle permet d'obtenir :

- un gain d'attache clinique grâce à une régénération de l'attache parodontale.
- un gain osseux par une régénération osseuse en favorisant la néoformation du ciment dans lequel viennent s'insérer de nouvelles fibres de collagène.
- une réduction de la profondeur de poches.
- une augmentation de la densité osseuse accélérée (Tonetti et coll., 2004).

Les indications sont les lésions infra osseuses profondes, les récessions gingivales et les atteintes furcatoires de classe II mandibulaire essentiellement.

Cependant, cette technique a une mise en œuvre difficile et les résultats ne sont pas prévisibles du fait des complications post-opératoires de type infectieux lié à une exposition de la membrane, le plus souvent entre la deuxième et la troisième semaine post-opératoire. De ce fait une grande variabilité des résultats est observée. L'étude histologique de 5 cas sur

15

12 traités avec la RTG a montré une grande variabilité concernant la formation d'une nouvelle attache conjonctive. De plus, la formation osseuse était incomplète (Gottlow et coll., 1986). Ainsi, cette variabilité des résultats peut être liée à la morphologie du défaut traité, la difficulté de la technique, la récession gingivale, la contamination de la membrane (Lindhe et coll., 2008) et enfin elle est opérateur-dépendant.

- **Les matériaux osseux de comblement**

L'utilisation de ces matériaux repose sur l'idée qu'ils permettraient de combler les défauts infra-osseux et de former une nouvelle-attache par le biais de mécanismes d'ostéogénèse, d'ostéoconduction et d'ostéoinduction (Urist et coll., 1980 dans Lindhe ; Brunsvold et Mellonig, 1993 dans Lindhe). Les matériaux osseux de comblement peuvent être de différents types. Les propriétés d'ostéogénèse et ostéoinduction varient en fonction du type de matériau osseux utilisé. Lorsque l'os est prélevé et greffé chez le même individu (os autogène), le risque de transmission de maladies est supprimé.

Les études de **greffes autogéniques** ont montré que ce type de greffe, moins ostéoconducteur et ostéogéniteur a une faible capacité de régénération parodontale (Ellegaard et coll., 1971 ; Renvert et coll., 1985).

**L'os allogénique** qui peut être minéralisé lyophilisé (FDBA) serait censé favoriser la régénération osseuse du fait de sa minéralisation. Pourtant, une étude histologique réalisée sur l'homme a montré que la greffe n'entraînait pas de régénération parodontale des défauts intraosseux. Un long épithélium de jonction s'est formé le long de la racine (Dragoo et Kaldahl, 1983 dans Lindhe et coll., 2008).

L'os allogénique décalcifié lyophilisé (DFDBA) quant à lui permettrait l'exposition des protéines de morphogénèse osseuses, du fait de sa déminéralisation. Cela induirait la différenciation des cellules hôtes en cellules osseuses (Urist et Strates, 1970 dans Lindhe;

Melloning et coll., 1981). Selon une étude histologique réalisée chez l'homme, l'obtention d'une régénération parodontale est possible lors de l'utilisation de DFDBA mais en petite quantité et de manière imprévisible (Koylass et coll., 2012).

Cliniquement la greffe allogénique reste source de controverses.

**La xéno greffe** a été analysée par l'équipe de Nielsen en 1981. Leur étude ne montrait pas de gain d'attache mais les résultats n'étaient pas basés sur une étude histologique (Lindhe et coll., 2008). Afin de pallier le risque de contaminations virales, des nouvelles méthodes de purification ont permis de fabriquer un os d'origine bovine dont les composants organiques sont supprimés. L'un des plus connus est commercialisé sous le nom de Bio-Oss®. Ce matériau permettrait d'obtenir de bons résultats en ce qui concerne le gain d'attache, la formation d'une nouvelle attache conjonctive, d'un nouveau ciment et d'un nouvel os (Sculean et coll., 2003).

**La greffe alloplastique** a été étudiée chez l'animal (Barney et coll., 1986 ; Minabe et coll., 1988) ainsi que sur l'espèce humaine (Froum et coll., 1982 ; Sapkos, 1986). Les analyses histologiques ont montré que les capacités de régénération avec l'hydroxyapatite sont limitées. Les résultats obtenus avec le bêta phosphate tricalcique ( $\beta$ -TCP) et les polymères étaient semblables. L'analyse histologique pour des défauts infra-osseux comblés en utilisant du bio glass ; matériau de greffe alloplastique, a montré que sur cinq dents traitées, seule une a un nouveau ciment formé (Nevins et coll., 2000).

Finalement, plusieurs études cliniques ont montré que dans la plupart des cas, il y a formation d'un long épithélium de jonction plutôt qu'une nouvelle attache conjonctive suite à des greffes osseuses (Caton et Zander, 1976 ; Listgarten et Rosenberg, 1979, Moskow et coll., 1979). Durant « The American Academy of Peridontology World Workshop » de 1996, il a été conclu que ces matériaux de comblement servent à remplir le défaut osseux et sont utilisés en association avec d'autres techniques de régénération comme la RTG par exemple.

- **Le conditionnement de surface**

Ce principe de détoxification radiculaire a tout d'abord été suggéré par Stahl en 1977 (Lindhe et coll., 2008). Le traitement de surface à l'acide citrique ou à la tétracycline aurait pour conséquence de déminéraliser la dentine, d'exposer les fibres de collagène (Ivanovski et coll., 2009) et de favoriser la différenciation de cellules mésenchymateuses des tissus adjacents en cémentoblastes. Cela permettrait la formation de ciment sur lequel s'ancreraient des fibres de fibrine qui constituent l'armature du caillot pendant le stade précoce de la guérison (Crigger et coll., 1978 ; Polson et coll., 1982).

Ensuite des études cliniques sur l'acide citrique ont confirmé ces suggestions (Crigger et coll., 1978 ; Nilvéus et coll., 1980). Les auteurs ont montré que pour favoriser la régénération parodontale, il est important de préparer la surface radiculaire selon le principe de détoxification radiculaire. Ensuite, l'utilisation d'acide éthylène diamide tétra-acétique (EDTA) a été proposée (Lindhe et coll., 2008). Cependant, de nos jours, des études plus récentes considèrent comme étant suffisant de réaliser un simple surfaçage doux afin d'éliminer le biofilm déposé superficiellement sur la surface radiculaire (Ivanovski, 2009). En effet, il n'y aurait pas de réelle amélioration de la régénération suite à l'utilisation de ces agents au niveau de la surface radiculaire (Mariotti et coll., 2003).

- **Les facteurs de croissance**

Le principe est basé sur la capacité de ces facteurs à promouvoir des fonctions cellulaires variées (Ivanovsky, 2009). En effet, ils pourraient créer un environnement entraînant la formation d'un nouveau tissu en régulant des événements clés tels que la prolifération, la différenciation et la synthèse de matrice (Sculean et coll., 2010).

Parmi les facteurs de croissance les plus étudiés pour la régénération parodontale, nous trouvons : PDGF, IGF, TGF- $\beta$ , « fibroblast growth factor » : le facteur de croissance des fibroblastes (FGF), et la protéine de morphogénèse osseuse (BMP) (Sculean et coll., 2010).

À l'exception d'IGF, dont peu d'études confirment son action sur la régénération parodontale, les résultats des études *in vitro* menées avec les autres facteurs ont montré qu'ils favorisaient certains aspects de la régénération ou de la guérison parodontale (Sculean et coll., 2010).

Une étude a montré qu'après application de facteur de croissance sur des défauts osseux de furcation humain, une amélioration globale de la régénération parodontale est observée (Howeller coll., 1997). Les résultats sont généralement améliorés lorsque les facteurs sont couplés entre eux (PDGF avec TGF) ou à la RTG (Dennison et coll., 1994). Cependant, les résultats restent mitigés selon le type d'études prises en compte. Ainsi, d'autres voies de recherches se sont développées telles que l'utilisation de plasma riche en plaquette.

- **Le PRP et le PRF**

Le plasma riche en plaquettes (PRP) permet d'avoir une grande quantité de PDGF, le PDGF étant issus des plaquettes. (Pradeep et coll., 2012). C'est un concentré de plaquettes humaines autologues dans un petit volume de plasma. Il contient des protéines qui vont initier la guérison (Kumar et Shubhashini, 2013). Cependant, le PRP n'est pas autorisé par la réglementation concernant l'utilisation des produits sanguins en France.

Ainsi une deuxième génération de plasma a été développée en France ; le plasma riche en fibrine (PRF) utilisé pour accélérer la guérison des tissus mous et des tissus durs. Il ne contient pas d'anticoagulant et serait plus avantageux car plus facile d'utilisation, moins onéreux et ne nécessiterait pas de modifications chimiques.

Des études comparant l'utilisation de PRP et PRF pour les lésions infra osseuses ont été menées. Les auteurs ont observé, une accélération de la guérison des tissus mous et durs grâce au PRP et au PRF (Pradeep et coll., 2012). Cependant, la Société Française de Parodontologie et d'Implantologie (SFPIO) considère que « l'absence d'étude clinique

réalisée selon des critères internationalement recommandés ne permet [...] pas actuellement de supporter l'utilisation du PRF en chirurgie parodontale et implantaire ». Elle « ne peut, pour le moment, recommander l'utilisation du PRF ». D'autres études doivent être menées afin de connaître ses effets à long terme.

- **Régénération tissulaire induite avec les protéines dérivées de la matrice amélaire (EMD)**

Elle correspond à la deuxième génération de thérapies de régénération parodontale apparues dans les années 1990-2000. Cette technique se base sur l'utilisation de protéines dérivées de la matrice amélaire. Elles sont commercialisées sous le nom d'Emdogain®.

Le principe de régénération tissulaire induite par les amélogénines dérivées de la matrice amélaire repose sur le postulat selon lequel la formation de ciment permet d'induire la régénération de l'os et du système d'attache (Nanci, 2013). En effet, lors de l'édification radiculaire, des protéines de la matrice amélaire sont sécrétées à la surface de la racine et semblent induire la formation de ciment acellulaire en mimant les étapes de développement embryologique des tissus. La formation de néo-ciment acellulaire permettrait l'insertion des nouvelles fibres conjonctives formées. Ensuite, des événements cellulaires permettent la genèse de l'os alvéolaire et du ligament parodontal (Hammarström, 1997a).

Des **études *in vitro*** ont montré que la mise en place d'un gel contenant des dérivés de la matrice amélaire sur une racine surfacée permet la formation d'une matrice qui favorise la prolifération, la migration et l'attachement des cellules du LAD sur la surface radiculaire (Gestrelus et coll., 1997, Lyngstadaas et coll., 2001). De plus, cette matrice inhibe la prolifération des cellules épithéliales. En revanche, l'effet de cette matrice sur la différenciation des fibroblastes du LAD en cémentoblastes ou en ostéoblastes n'a pas été démontré.

Ces dérivés de la matrice amélaire auraient aussi la capacité d'augmenter le taux de production autocrine de facteurs de croissance (TGF- $\beta$ , PDGF) *in vitro*. Ceux-ci ont le potentiel de recruter les cellules souches pour la régénération, parmi les cellules des tissus adjacents (Lyngstadaas et coll., 2001).

L'application de l'Emgogain® *in vivo* chez le singe (Hammarström, 1997b) puis chez l'homme (Sculean et coll., 1999), a mis en évidence une régénération de l'attache parodontale grâce à une étude histologique.

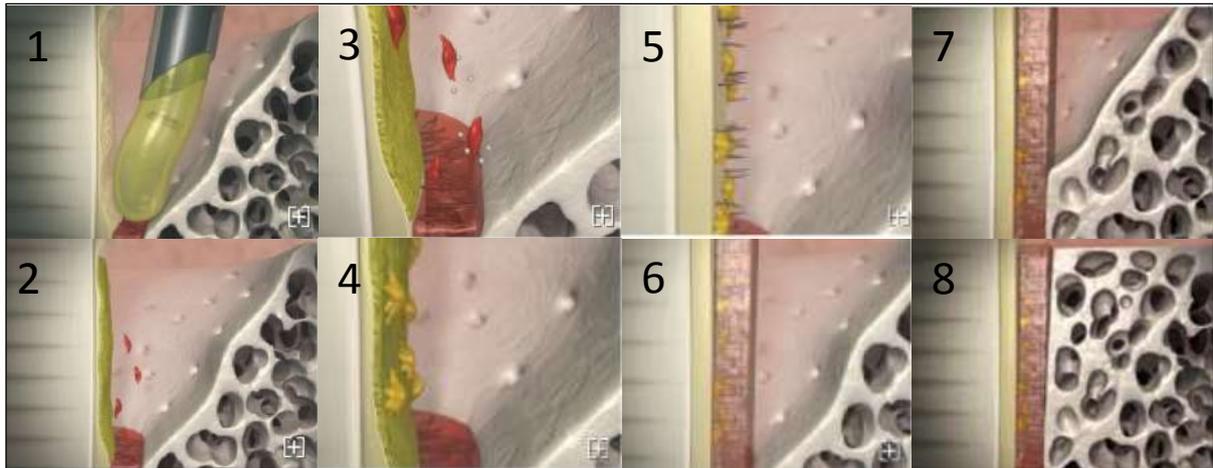
Les auteurs ont observé la présence de ciment, acellulaire, qui adhère à la dentine sous-jacente. De plus, de nouvelles fibres conjonctives fonctionnelles s'inséraient au niveau de ce néo-ciment et d'un os néoformé s'étendant sur les 2/3 de la hauteur de la lésion expérimentale (Lallam-Laroye et coll., 2003).

L'aspect histologique des éléments formés suite à l'utilisation d'EMD a été étudié sur des racines de dents humaines. Il y a eu formation d'un nouveau tissu dont la morphologie est identique sur toutes les racines des dents analysées (Bosshardt et coll., 2005). Contrairement à la RTG, nous avons une reproductibilité

Deux études traitant de l'utilisation de l'Emdogain® ont conclu à une amélioration de l'attachement et à une réduction des poches parodontales par rapport au débridement tissulaire seul et la RTG en cas de défaut infra-osseux (Esposito et coll., 2004 ; Venezia, 2004).

Une étude comparative a expliqué que concernant la régénération parodontale de défauts infra-osseux, les résultats étaient meilleurs avec l'utilisation de EMD qu'avec la RTG en cas de (Koop et coll., 2012). Cette technique est moins invasive (Cortellini et Tonetti., 2007).

## Les étapes



*Figure.4 : Action de l'Emdogain® : Application (1) et quelques jours après ; le dépôt de la matrice sur la surface des racines et l'établissement du contact avec les cellules du parodonte malade entraînent une accumulation et une prolifération des cellules mésenchymateuses du parodonte malade (2). Quelques semaines après l'application ; les cellules sécrètent des cytokines spécifiques et des substances autocrines qui vont favoriser la prolifération requise (3) puis nous avons une attraction et une différenciation en cémentoblaste avec un début de la formation de la matrice cémentaire sur laquelle les fibres desmodontales vont se fixer (4). Quelques mois après l'application ; les fibres desmodontales s'ancrent sur la surface radiculaire (5) puis nous observons un remplissage du défaut avec formation d'un nouveau tissu parodontal (6) et enfin un nouvel os alvéolaire grandit sur la surface radiculaire et dans la cavité du défaut (7). Quelques années après l'application ; une régénération du parodonte est observée : une nouvelle attache fonctionnelle a été formée (8) ([www.straumann.us/en/professionals/products-and-solutions/regeneration-solutions/tissue-regeneration.html](http://www.straumann.us/en/professionals/products-and-solutions/regeneration-solutions/tissue-regeneration.html)).*

Ces EMD possèdent donc un certain nombre d'avantages et les succès cliniques semblent maintenus pendant plusieurs années.

Cependant, les EMD ont une application qui reste limitée aux traitements des récessions et aux lésions étroites et profondes. Des études cliniques menées sur les atteintes furcatoires de classe III ont montré que l'utilisation de EMD ne permet ni de réduction probante des poches ni de gain d'attache, ni de niveau d'attachement osseux par rapport aux lambeaux de débridement (Sculean et coll., 2010). De même pour les défauts osseux larges et profonds le risque d'invagination du lambeau reste élevé.

- **Protocoles cliniques actuels**

L'ensemble des études histologiques et cliniques citées précédemment montre les bénéfices de l'utilisation de la RTG et de l'Emdogain® dans la régénération parodontale. Ainsi, une cicatrisation de type "régénération parodontale" est obtenue. Elle améliore les résultats cliniques en terme de gain d'attache et de gain osseux par rapport aux techniques traditionnelles.

Dans le cadre de la RTG, l'utilisation de membranes biodégradables semble donner de meilleurs résultats. Le risque d'exposition de la membrane reste minime, limitant ainsi le risque d'infection. Cependant, les membranes résorbables sont moins rigides et peuvent s'invaginer dans le défaut osseux s'ils sont larges et/ou non soutenus.

Lorsque les défauts sont larges et/ou non soutenus, des matériaux de comblement osseux sont donc utilisés sous les membranes résorbables comme adjuvant pour soutenir les tissus

**Actuellement, il n'existe donc aucune méthode de régénération qui puisse s'adapter à toutes les situations cliniques. D'où l'intérêt d'étudier la combinaison des différentes techniques existantes. Le paramètre primordial de choix est la configuration du défaut osseux.**

Un arbre décisionnel de choix du matériau à utiliser en fonction du défaut osseux (figure 5) a récemment été proposé (Cortellini et Tonetti dans Lindhe, 2008). L'étude clinique réalisée par Cortellini a permis de valider cet arbre décisionnel.

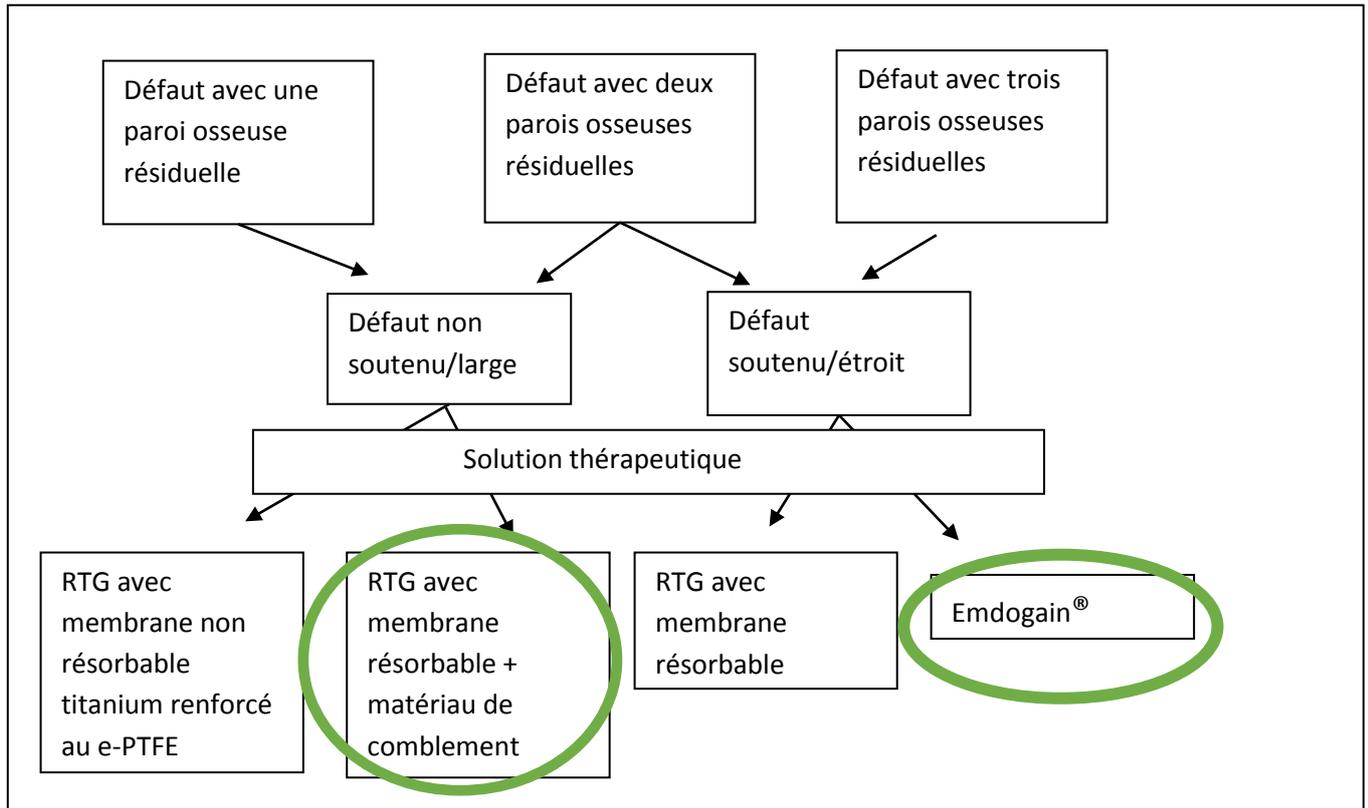


Figure.5 : Arbre décisionnel s'appuyant sur l'étude clinique de Cortellini et Tonetti (Lindhe et coll.2008).

Notons qu'il y a beaucoup plus de complication et de difficultés opératoires avec la RTG et notamment avec les membranes non résorbables. Cela joue cliniquement en faveur de l'utilisation de l'Emdogain® dans le cas de défauts soutenus étroits profonds à 3 parois, et en faveur de membranes résorbables combinées à un matériau de comblement osseux dans les défauts non soutenus.

Il est à noter qu'une étude clinique en cours de publication (Sculean et coll. in press, présenté lors du « First International Symposium in Regeneration and Esthetics in Periodontology and Implant Dentistry », 2013), a obtenu des résultats cliniques semblables lors de la comparaison RTG + Bio-oss® avec Emdogain® + Bio-oss® dans les défauts non soutenus (à une ou deux parois). Il s'agit de la première étude clinique dont les résultats indiquent que l'Emdogain® pourrait à terme remplacer la RTG et être utilisé dans toutes les

situations cliniques, associé ou non à un matériau de comblement en fonction de la morphologie du défaut osseux.

Enfin, il est important de rappeler que, même si cet arbre décisionnel cible le facteur «choix du matériau», d'autres facteurs peuvent influencer la réussite de la régénération parodontale. La phase préalable de traitement non chirurgical, les techniques chirurgicales utilisées, les techniques d'incisions employées (lambeaux de préservation papillaire), ainsi que la maintenance sont des éléments déterminant dans la réussite d'un traitement parodontal. Certains chirurgiens-dentistes peuvent ainsi être amené à utiliser la microchirurgie pour être le moins invasif possible et avoir une fermeture primaire du lambeau (Lindhe et coll., 2008). La description de ces facteurs clés dépasse néanmoins le cadre de ce travail.

Pour conclure sur cette première partie, il apparaît que les techniques conventionnelles de régénération demeurent insuffisantes pour obtenir une régénération complète et fonctionnelle du tissu parodontal. Les limitations sont liées au manque de stabilité des facteurs de croissance et de différenciation, utilisés dans le tissu en cours de cicatrisation, et au manque de contrôle du moment et de la durée de la stimulation des cellules cibles dans le tissu parodontal en cours de cicatrisation (Barthold et coll., 2000).

L'émergence de l'ingénierie tissulaire a ouvert une nouvelle voie de recherche pour la régénération parodontale ; elle pourrait représenter la solution aux limitations rencontrées avec les techniques conventionnelles.

## II. INGENIERIE TISSULAIRE ET PARODONTOLOGIE

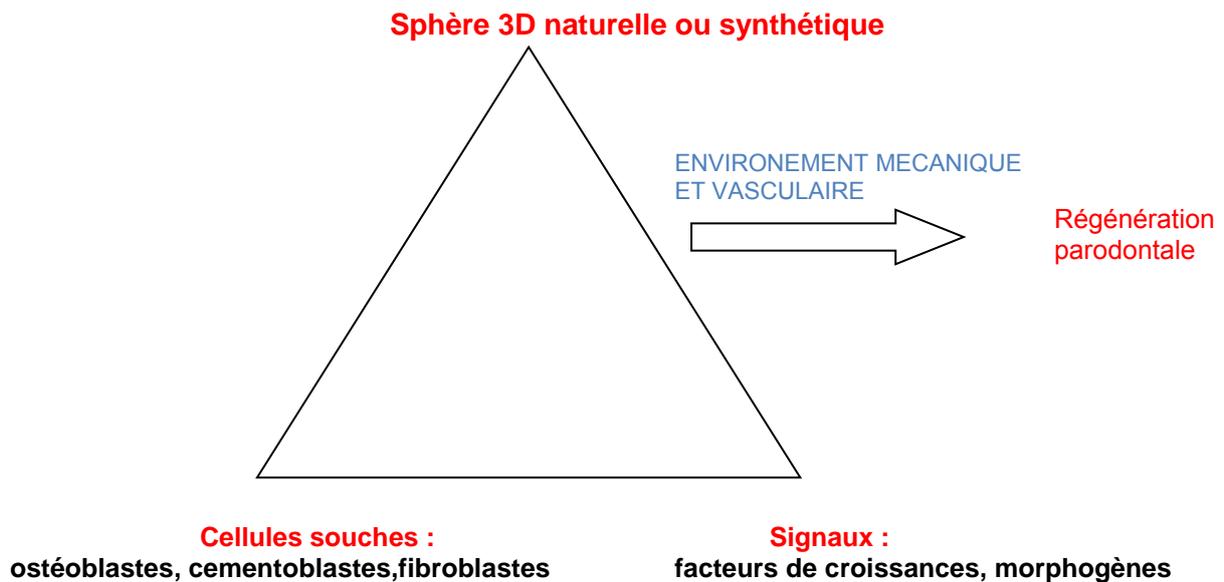
Les récents progrès en ingénierie tissulaire ont rendu possible la régénération de tissus. Le recours à l'ingénierie tissulaire en parodontologie afin de dépasser les limites des thérapies actuelles et développer une méthode fiable et prédictible de régénération est actuellement une voie de recherche prometteuse.

### A. Principe de l'ingénierie tissulaire

C'est une discipline qui consiste à renouveler des tissus ou des parties d'organe défectueux. Cette branche émergente de la science, est une filière interdisciplinaire qui applique les principes et méthodes d'ingénierie et de la science de la vie pour le développement de substituts biologiques afin qu'ils restaurent, maintiennent et améliorent le fonctionnement des tissus endommagés (Pandit et coll., 2011). L'ingénierie tissulaire, repose sur les principes biocellulaires, le développement biologique et la science des biomatériaux (Hynes et coll., 2012). Ce concept a été intégré dans les recherches et les applications de la régénération dentaire telle que les études de la régénération du LAD.

L'objectif de l'ingénierie tissulaire est de regrouper les cellules et les facteurs de régulations appropriés pour permettre des reconstructions tissulaires (Hynes et coll., 2012). Cette branche permet de reformer des tissus en causant le moins de complications (douleurs liées à une seconde intervention par exemple) au patient avec des biomatériaux. Trois principaux éléments (figure 6) constituent la base de l'ingénierie tissulaire (Langer et Vacanti, 1993) :

- Un échafaudage ; la **matrice** en 3 dimensions (3D),
- La présence de molécules de **signalisation** ou de signaux d'induction morphogénique,
- Une population de **cellules souches** multipotentes (ou pluripotentes).



*Figure.6 : Schéma de la triade de l'ingénierie tissulaire, les 3 éléments indispensables (Pandit et coll., 2011).*

Ces trois éléments de base jouent un rôle dans les processus de guérison et sont interconnectés avec la génération de nouveaux tissus. Leur rôle est bien défini (Benatti et coll., 2007) :

- la matrice 3D joue un rôle dans l'attachement cellulaire, la rétention spatiale, la détermination de la morphologie, le recrutement de l'oxygène et des nutriments.
- les facteurs de signalisation modulent l'activité cellulaire et fournissent un stimulus aux cellules pour les différencier et développer les tissus.
- les cellules souches fournissent la matière première pour le développement et la régénération du nouveau tissu.

Il existe différents types de matrice 3D, selon ce que l'on pourrait appeler leur « fonctionnalisation cellulaire » : des matrices non cellularisées, décellularisées et cellularisées.

Les matrices non cellularisées constituent des matrices biodégradables sur lesquelles aucune cellule n'a étéensemencée, seuls les facteurs de signalisations (protéines ou facteurs de croissance) sont présents. Ils participent à la régénération de la lésion en

stimulant les cellules résiduelles du patient. Elles représentent une alternative à la greffe (Matsumura et coll., 2013).

Les matrices constituent des dispositifs décellularisés lorsque tout le matériel cellulaire a été éliminé ; elles sont immunologiquement inertes (Girard et coll., 2013). Cela permet de fabriquer des matrices commercialisables à plus grande échelle, sans risque de transmission de maladie. Cependant, la colonisation par les cellules des tissus à régénérer est plus complexe avec ce type de matrice.

Actuellement, les dispositifs cellularisés sont mieux connus et donc plus facilement réalisables. Il s'agit de matrices sur lesquelles les cellules cibles autologues du patient sont mises en culture avant implantation du dispositif médical (Matsumura et coll., 2013). Dans ce travail, nous aborderons uniquement les dispositifs cellularisés.

## B. La Matrice tridimensionnelle

- **description**

Le « scaffold » (échafaudage) est une matrice 3D utilisée comme biomatériau en ingénierie, qui en mimant la matrice extra cellulaire permet la formation d'un néo-tissus et aboutit à la croissance tissulaire ; c'est le biomimétisme tissulaire. Dans l'idéal, cette matrice 3D doit permettre une prolifération et une différenciation 3D *in vitro* très similaire à celle obtenue *in vivo*. Elle facilite aussi l'agrégation cellulaire. Ainsi, l'utilisation de ces matrices, limite le besoin en cellules et en facteurs de croissance. Elle va guider la régénération et former une structure 3D grâce à l'obtention d'interactions cellule/cellule et cellule/matrice (Handschel et coll., 2007).

La durée de dégradation de la matrice doit être compatible avec le temps de régénération du tissu cible. Cependant, il y a des limites à ces matrices 3D quand elles se dégradent. En effet, des éléments persistent et peuvent attirer les bactéries. Les « scaffolds » polymériques qui sont très flexibles sont facilement positionnables au contact de la racine et leurs propriétés telles que la microstructure, et le taux de dégradation peuvent être contrôlés (Benatti et coll., 2007).

Les matrices 3D ont de nombreux rôles dans la régénération (Pandit et coll., 2011) :

- elles supportent la migration cellulaire.
- elles peuvent véhiculer les facteurs de croissance, les gènes.
- elles peuvent renforcer structurellement le défaut pour maintenir sa forme initiale.
- elles forment une barrière contre l'infiltration par des éléments qui empêcheraient la régénération.
- elles servent de matrice pour l'adhésion cellulaire avant absorption.

- **Choix des matériaux**

Le « scaffold » idéal doit (Lannutti et coll., 2007):

- mimer la structure du collagène naturel.
- avoir une porosité et une taille adaptées pour permettre la migration cellulaire.
- avoir un type de surface facilitant l'adhésion, la croissance, la migration et la différenciation cellulaire.
- avoir un taux de dégradation proche du taux de régénération du tissu naturel à régénérer.

Le choix de la matrice 3D va dépendre de propriétés importantes ; la porosité, la biocompatibilité, la conductivité tissulaire et le taux de résorption (Hynes et coll., 2012).

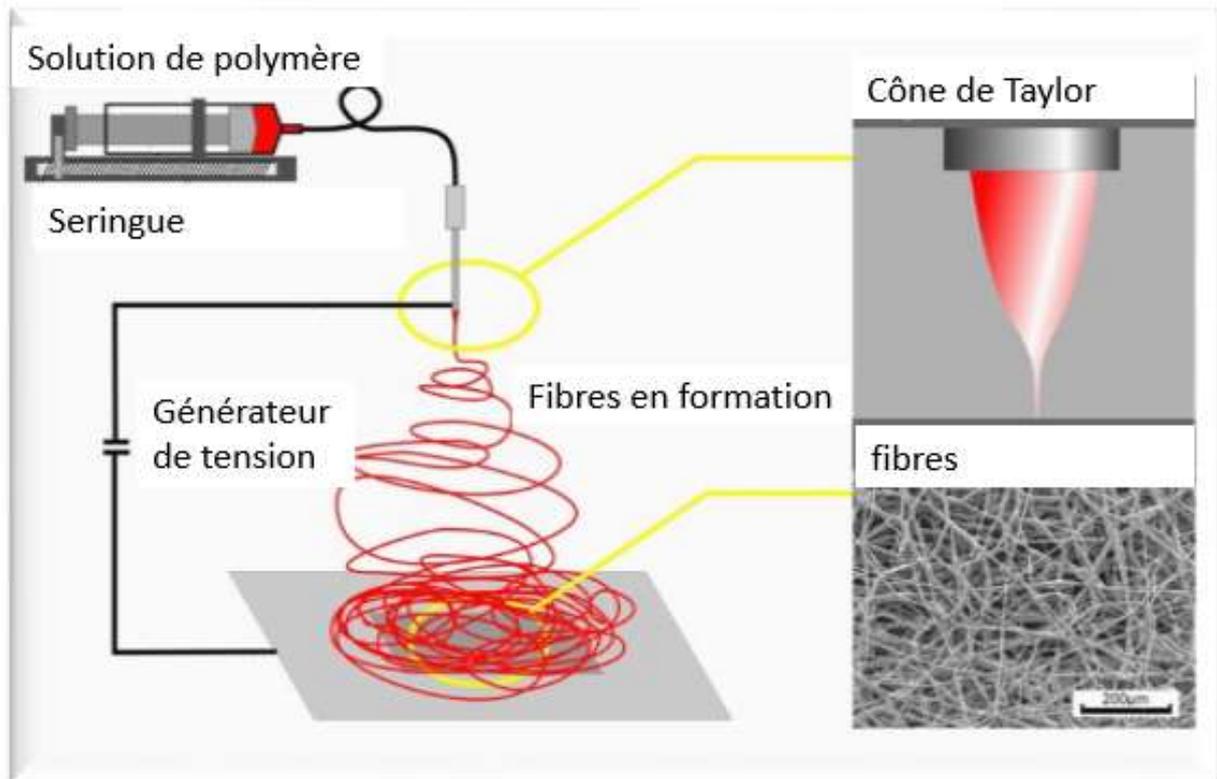
Certaines études ont montré qu'il était possible de réaliser de telles matrices à l'aide de polymères résorbables naturels tel que le collagène ou synthétiques tels que les polyesters (Ferrand, 2012). Ces derniers étant des biomatériaux faciles à manipuler et relativement peu coûteux, ils sont les plus utilisés. Parmi les polyesters utilisés, il y a le polycaprolactone (PCL), l'acide polylactique et l'acide poly lactique-co-glycolique(PLGA) (Bottino et coll., 2011 ; Lannutti et coll., 2007). Les membranes sont produites après la mise en solution, ont une bonne intégration tissulaire et sont facilement manipulables.

- **Fabrication**

Les méthodes de fabrication des matrices 3D ont bien évolué. Elles peuvent être fabriquées par filtre à particules, séparation de phase ou la technique d'impression 3D (Yang et coll., 2002). Parmi toutes ces méthodes, l'utilisation de « l'electrospinning » en ingénierie tissulaire, en vue d'une régénération parodontale, connaît un grand essor. C'est une méthode simple et versatile permettant de fabriquer des nano et microfibres afin de produire des matrices 3D dont le diamètre des fibres et la porosité sont contrôlés (Bottino et coll., 2011). Son application au « scaffold » a débuté pour des prothèses vasculaires élastomériques par l'équipe de Annis en 1978 (Lannutti et coll., 2007). « L'electrospinning »

fabrique des « scaffolds » qui simulent le microenvironnement cellulaire (Nisbet et coll., 2009). L'« electrospinning » permet de produire des mailles non tressées de diamètre compris entre dix nanomètres et dix micromètres. Cette technique est intéressante car elle est peu onéreuse et s'applique à une multitude de polymères ; elle peut être réalisée sur des polymères naturels ou synthétiques. Par ailleurs, « l'electrospinning » produit une matrice flexible qui constitue une barrière avec des pores de petite taille de l'ordre du micron ou inférieur. Cela offre la possibilité d'y intégrer des antibiotiques et des facteurs de croissances (Vaquette et coll., 2012).

Le principe de « l'electrospinning » (figure 7) consiste en l'application d'un potentiel électrique entre une solution de polymère en régime semi-dilué enchevêtré et un collecteur sur lequel les fibres viennent se déposer. La solution est contenue dans une seringue possédant une aiguille conductrice où l'accumulation de charge entraîne la formation d'un cône de Taylor. Lorsque le champ électrique formé a atteint une valeur seuil, un jet est éjecté de ce cône pour former des fibres au niveau du collecteur (Doshi et coll., 1995 dans Ferrand, 2012).



*Figure 7 : Principe de « l'electrospinning » (Fraiman, 2012).*

- ***Caractéristiques morphologiques***

Les facteurs influençant la morphologie des fibres sont (Ferrand, 2012) :

- la concentration du polymère
- la tension appliquée
- le débit de la solution sortant de l'aiguille
- le diamètre de l'aiguille
- la distance aiguille/collecteur
- la température ambiante
- l'humidité atmosphérique

La structure des fibres est proche de celle de la matrice extra cellulaire. L'orientation des fibres peut varier en fonction du type de collecteur utilisé. Ainsi, selon le tissu à régénérer, l'orientation des fibres peut être modulée. Un collecteur rotatif permet d'obtenir des fibres circonférentielles pour les vaisseaux par exemple, afin de faciliter la régénération endothéliale (Nisbet et coll., 2009).

Concernant la porosité, elle doit être suffisante pour laisser passer les cellules. Elle peut être augmentée par l'ajout de cristaux de sel pendant « l'électrospinning » puis leur dissolution ou l'utilisation d'un laser pour faire les cavités dans le « scaffold » (Lannutti et coll., 2007).

### C. Facteurs de signalisation

Les facteurs de signalisation sont des molécules telles que les facteurs de croissance, qui permettent la communication entre les cellules d'un individu. Ils disposent de diverses voies d'action : autocrine, paracrine, endocrine.

Certains facteurs sont indispensables à la régénération parodontale. Parmi ces facteurs, le plus important semble être la chimiokine SDF-1 « stromal cell derived factor ». En effet, le recrutement des CS du LAD s'effectue grâce à des chimiokines. Ce sont des cytokines chimiotactiques qui jouent un rôle dans l'activation, la différenciation et la survie cellulaire. Le SDF-1 entraîne l'augmentation de la synthèse de collagène I qui est le constituant majeur du LAD et de la matrice osseuse et diminue la phosphatase alcaline. Cela stimule la régénération tissulaire parodontale en guidant les CS du LAD. Par ailleurs, SDF-1 guide des CS du LAD vers le site déficient. Son action est dépendante de sa concentration ; le mieux est d'avoir une concentration de 200 ng/ml (Du et coll., 2012).

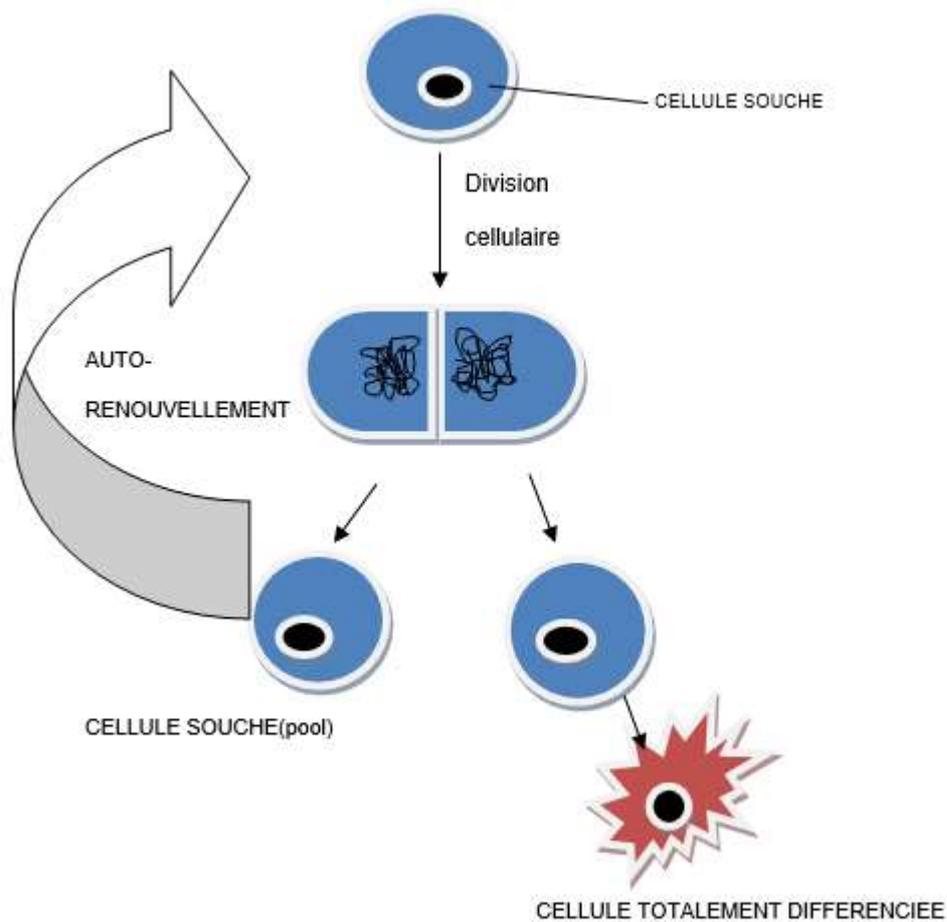
Notons par ailleurs l'importance des facteurs de croissance, notamment des protéines de la famille de FGF tel que bFGF (protéine mitogénique d'attache de l'héparine). Elle pourrait induire la prolifération et la différenciation des cellules mésenchymateuses (Sun et Qu, 2012). Les cellules du LAD sont sensibles à certains facteurs de croissance comme PDGF-BB et TGF- $\beta$ . Ils favorisent l'effet mitogénique qui est un mécanisme facilitant la régénération (Oates et coll., 1993). De même, la famille du facteur de croissance ostéogénique BMP serait un facteur primordial à la régénération parodontale. Il stimulerait fortement la croissance osseuse. Le « vascular endothelial growth factor » (VEGF) quant à lui est le facteur de croissance des cellules endothéliales. Son rôle est important à différents stades de la régénération, notamment durant la croissance vasculaire.

## D. Les cellules souches

- **Définition**

Une cellule souche est une cellule indifférenciée, capable de s'autorenouveler, de se différencier en d'autres types cellulaires et de proliférer en culture (figure 8).

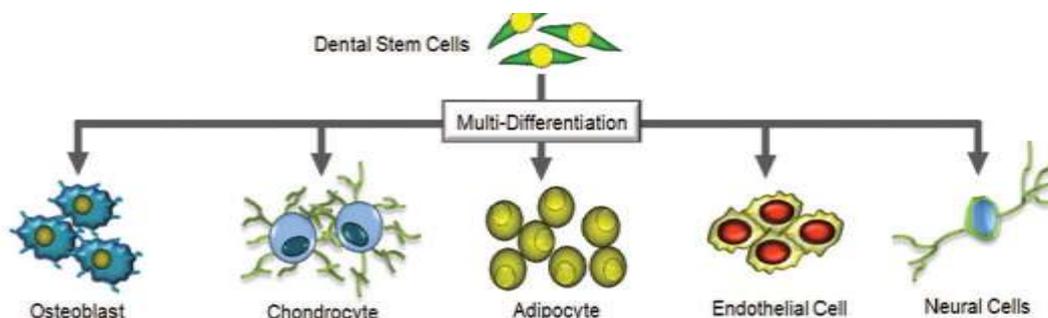
Elles peuvent se diviser indéfiniment sans différenciation ultime (Chen et coll., 2012). Leur particularité réside dans le fait que durant leur division, il y a toujours conservation d'un pool de cellules souches.



*Figure 8 : Autorenewement des cellules souches : chaque cellule fille issue de la division d'une cellule souche peut rester une cellule souche ou devenir totalement différenciée. Dans ce dernier cas, la cellule fille réalise en plus, des divisions avant sa différenciation terminale (Alberts et coll., 2004).*

- **Potentialité des cellules souches**

Les cellules souches ont la possibilité de se différencier en un grand nombre de types cellulaires différents (Figure 9).



*Figure 9 : Multi différenciation de cellules souches dentaires (Kim et coll., 2012).*

Elles ont la possibilité de différenciation chondrogénique, ostéogénique, adipogénique avec le milieu de culture approprié.

Toutes les cellules souches ne disposent pas du même potentiel de différenciation. Ainsi, elles peuvent être (Pandit et coll., 2011) :

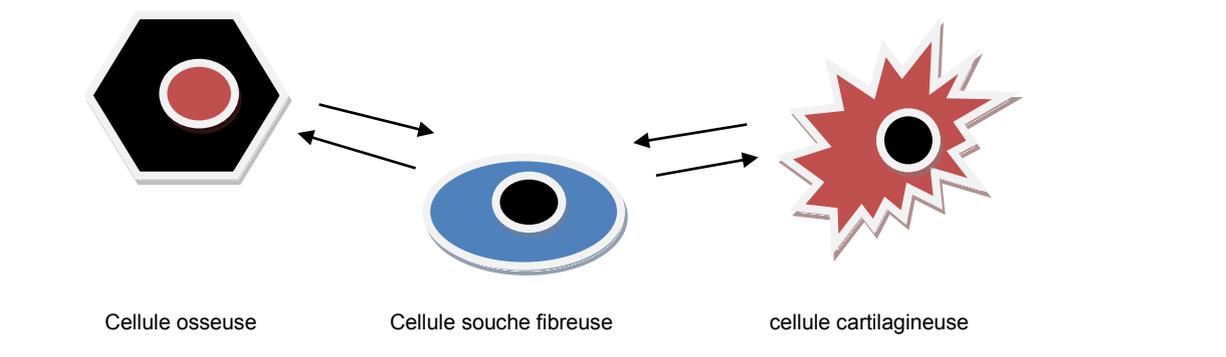
- **Totipotentes** : lorsqu'elles peuvent donner tous les tissus embryonnaires et le placenta. Elles correspondent aux cellules de l'embryon entre J1 et J3 après la fécondation. Si elles sont injectées dans un embryon précoce, elles peuvent donner naissance à n'importe quelle partie du corps.

- **Pluripotentes** : elles peuvent donner les trois types de tissus embryonnaires ; ectoderme, mésoderme et l'endoderme. Ce sont par exemple, les cellules du blastocyste entre J4 et J14.

- **Multipotentes** : quand elles ne donnent qu'un seul des trois types de tissu embryonnaire. Elles peuvent être par exemple, des cellules souches adultes comme les cellules hématopoïétiques et les cellules souches mésenchymateuses de la moelle osseuse. Ainsi, elles peuvent se diviser indéfiniment sans se différencier mais quand elles en ont la

possibilité, il y a différenciation et elles ne donneront qu'une catégorie étroite et restreinte de type cellulaire différencié (Alberts et coll., 2004).

Les cellules souches ont la particularité d'être « inter convertibles » entre elles. Dans le tissu conjonctif par exemple, les cellules souches fibroblastiques peuvent donner des cellules osseuses, fibreuses ou cartilagineuses (figure 10).



*Figure 10 : Inter convertibilité des cellules souches (Alberts et coll., 2004).*

- **Rôle des cellules souches**

Les cellules souches ont différentes fonctions dans les organismes.

À l'état fœtal ou dans les premières phases du développement embryonnaire, elles se multiplient pour générer peu à peu toutes les cellules du corps, qu'elles soient différenciées ou non.

Dans les tissus adultes, les cellules souches sont beaucoup plus rares et regroupées dans des régions particulières des organes. Elles contribuent au renouvellement naturel des tissus (un globule rouge vit en moyenne 120 jours et doit être remplacé, par exemple) ou à leur réparation en cas de lésion. Cependant, tous les organes n'en sont pas pourvus, comme le cœur et le pancréas (Alberts et coll., 2004).

- **Origine des cellules souches**

Il existe trois principales sources de cellules souches (CS) (Hynes et coll., 2012) :

- Les **manipulations génétiques** qui peuvent induire des cellules souches pluripotentes, découvertes en 2006 (cellules souches pluripotentes induites : Nobel de physique 2012). À l'origine, toutes les cellules sont totipotentes. Grâce à des manipulations génétiques elles peuvent être « reprogrammées » et donner naissance à n'importe quelle partie du corps adulte. Pourtant, elles ont un risque plus important de provoquer des tumeurs ; leur utilisation s'avère donc plus compliquée.

- **Embryologique** : prélevées sur l'embryon, elles sont pluripotentes. Ce sont les cellules observées dans la masse interne de l'embryon au cours de son développement ; la question éthique de leur utilisation constitue leur principale limite.

- Les **cellules souches adultes** qui sont multipotentes donc elles ne donnent qu'un seul type de tissu. Ce sont des cellules qui ont un rôle de maintenance, de renouvellement et de réparation des organes où elles résident. Elles sont plus restreintes dans leur capacité de différenciation par rapport aux cellules souches embryonnaires, mais présentent un avantage au niveau éthique.

Ces cellules souches adultes sont retrouvées dans de nombreux tissus. Les cellules souches mésenchymateuses en sont un exemple. Elles sont adhérentes, prolifératives et capables de se différencier en multiples types cellulaires (cartilage, os, muscle...). Elles possèdent donc un grand potentiel pour une possible transplantation autologue sans thérapie d'immunosuppression (Pandit et coll., 2012). Il y a aussi d'autres exemples de CS adultes telles que les CS de la moelle osseuse, les cellules souches adipeuses et les cellules souches du ligament alvéolo dentaire.

Les cellules souches possèdent donc de nombreuses propriétés qui nous permettent d'envisager leur utilisation dans les processus de régénération.

Ainsi, le développement de l'ingénierie tissulaire promet de grands progrès en matière de régénération tissulaire. Cette science est-elle applicable à la parodontologie ?

### III- INTERET DES CELLULES SOUCHES DU LIGAMENT ALVEOLO-DENTAIRE EN INGENIERIE TISSULAIRE

#### A. Les cellules souches du ligament alvéolo-dentaire

- **Caractéristiques**

Les cellules souches (CS) du ligament alvéolo-dentaire (LAD) sont des cellules souches adultes multipotentes. Elles jouent un rôle très important dans la maintenance, la formation mais aussi la réparation, le remodelage et la régénération du ciment (Scanlon et coll., 2011). Elles peuvent former des groupes de cellules clonales adhérentes et ont une capacité de prolifération élevée, qui permet un remaniement tissulaire après extraction (Wang et coll., 2011). Dès son stade immature, le tissu parodontal possède un pool de cellules souches du LAD avec une haute capacité de régénération (Kim et coll., 2012).

Leur morphologie est typique et semblable à celle des fibroblastes donc fusiforme (Pandit et coll., 2011). Ces cellules ont une double origine ; elles proviennent des cellules de la crête neurale et de l'ectoderme. Cela leur donne la possibilité de se différencier en cellules mésenchymateuses (ostéoblastes et cémentoblastes), en cellules nerveuses (Kim et coll., 2012) et en cellules desmodontales.

Contrairement aux CS de la moelle osseuse qui entrent en senescence au bout d'un certain nombre de proliférations, les CS du LAD maintiennent un grand taux de prolifération dans le temps.

Les CS du LAD sont différentes selon leur provenance, alvéolaire ou radiculaire. Les cellules issues des racines peuvent reconstituer une plus grande quantité de tissu parodontal mais leur rôle reste limité dans la régénération osseuse alvéolaire. La réparation semble donc supérieure avec les CS du LAD de l'os alvéolaire par rapport à celles de la racine (Wang et coll., 2011).

De plus, même si l'exposition immunologique et les propriétés mécaniques restent difficiles à contrôler l'utilisation de cellules autologues limite les risques de réponse immune contre les cellules donneuses.

Grâce à leurs multiples caractéristiques, les CS du LAD semblent être de bonnes candidates en vue de la régénération du LAD voir du complexe parodontal.

- ***Moyen d'obtention***

Le principal problème de l'obtention des cellules souches (CS) du ligament alvéolo-dentaire (LAD) réside dans leur isolation et leur culture. D'une part, l'obtention des CS en quantité suffisante est souvent compliquée. D'autre part, il est souvent difficile de cibler les cellules que nous voulons multiplier. C'est pourquoi, il est impératif d'avoir un support. Cela permet non seulement une culture en trois dimensions, mais aussi de cibler les tissus à régénérer.

Les CS du LAD peuvent être obtenues (Du et coll., 2012) :

- après extraction de dents souvent pour raison orthodontique,
- après extractions de dents de lait ou de dent de sagesse,
- après extraction dentaire suite à des parodontites,
- suite à une excision de gencive hyperplasique.

Les CS du LAD sont souvent prélevées au niveau des prémolaires ou des dents de sagesse qui sont souvent extraites pour des raisons orthodontiques (Kim et coll., 2012).

Ensuite, pour générer des **cellules en suspension**, les LAD vont être digérés par la collagénase de type I.

Puis, l'**isolement** des CS est réalisé grâce aux mêmes méthodes que pour les cellules souches de la moelle osseuse et de la pulpe. Le principe est basé sur l'adhérence des cellules. Cela est possible grâce à l'utilisation d'un marqueur unique et spécifique des CS du LAD qui les distingue des autres cellules du LAD : « the mesenchymal stem cell marker » (STRO-1) le marqueur de cellules souches mésenchymateuses.

Cela implique l'utilisation de différents marqueurs pendant le passage de cellules (Nomura et coll., 2012) :

- pour un marqueur de tissu conjonctif : la sous unité  $\beta 1$  de l'intégrine : « the  $\beta 1$  subunit of integrin » (ITGBT1) ou le collagène de type 1 alpha sont préconisés
- pour un marqueur ostéogénique : la phosphatase alcaline : « alkaline phosphatase » (ALPL) ou l'ostéopontin (SPP1) sont indiqués
- pour des protéines associées au LAD : « periodontal ligament-associated protein 1 » (PLAP-1) peut être utilisé.

Le marqueur STRO-1 semble être le plus approprié pour les CS du LAD qui expriment bien son récepteur du nom de « CXCR4 »; c'est pourquoi, il est actuellement utilisé pour isoler et identifier les CS du LAD. Les CS du LAD peuvent être isolés grâce à une méthode immunologique avec des anticorps anti-STRO-1 ; des colonies de cellules clonales adhérentes sont ainsi obtenues (Yamazaki et coll., 2007).

- **Culture**

La culture des CS doit être réalisée dans un milieu de culture contenant (Yi et coll., 2008) :

- 15 à 20% de serum de veau fœtal
- 100 à 200 U/mL de pénicilline
- 100 g/ml streptomycine
- 2 mmol/L de L-glutamate
- 100 microM de L ascorbate 2-Phosphate.

Le tout est incubé à 37°C avec atmosphère humidifiée de 5% de CO<sub>2</sub>.

La culture des CS du LAD reste très difficile. La cellule de culture primaire possède le meilleur potentiel. En effet, lorsque nous mettons des cellules isolées du corps en culture, certaines modifications peuvent avoir lieu même si la cellule doit normalement « conserver en mémoire l'historique de son développement ». Ces modifications semblent « limiter à son

destin spécialisé ». C'est pourquoi, il faut pouvoir reproduire les milieux de cultures de CS du LAD afin de maintenir leur pluripotence (Pandit et coll., 2011).

- ***Facteurs influençant l'utilisation et la culture des cellules souches***

La manière de manipuler les CS requiert une synergie entre tous les événements cellulaires et moléculaires. Il faut prendre toutes les précautions nécessaires afin d'éviter l'altération de protéines qui ont un rôle important dans la régénération (Chen et coll., 2012). De plus, l'âge de la personne influence la prolifération et la différenciation. Il y a une diminution de cellules souches ou progénitrices donc une diminution de la prolifération et de la différenciation avec l'âge (Kim et coll., 2012).

Le stade de développement, les forces mécaniques et l'occlusion des dents ont un impact significatif sur les propriétés des cellules du LAD telles que la morphologie et l'expression de protéines de ces cellules. Cela influence le développement de la cellule en culture. En effet, il a été constaté que les CS du LAD des dents de lait ont une conservation des fonctions et du phénotype plus importante. D'autre part, le passage du stade *in vivo* au stade *in vitro* et du stade *in vitro* au stade *in vivo* après culture peut être à l'origine de perte de l'expression des ARN messagers (ARNm). Ensuite, l'influence du milieu de culture et des conditions de cultures fait que des modulations sont possibles avec le microenvironnement extérieur (Marchesan et coll., 2011).

Enfin, le tabagisme (Ng et coll., 2013), l'histoire médicale du patient, le statut clinique des dents et les raisons de l'extraction (Scanlon et coll., 2011) constituent d'autres facteurs qui influencent la culture des CS.

## **B. Techniques actuelles de régénération tissulaire avec les cellules souches du ligament alvéolo-dentaire**

- ***Différentiation spécifique des cellules souches (CS) du ligament alvéolo-dentaire (LAD)***

Dans la littérature, certains chercheurs ont voulu exploiter la capacité de multi-différentiation des cellules souches du LAD afin d'obtenir un pool de cellules permettant la régénération de divers tissus. Il a ainsi été démontré qu'il est possible :

- d'induire la différenciation des CS du LAD en **cellules adipeuses** (Seo et coll., 2004 ; Jo et coll., 2007),
- d'obtenir une différenciation des CS du LAD en **chondrocytes** avec un milieu adapté (Balic et coll., 2010).
- d'induire une différenciation **neurale** (Ikeda et coll., 2006).

- ***Exemples de régénération de tissu avec des cellules souches (CS) du ligament alvéolo-dentaire (LAD)***

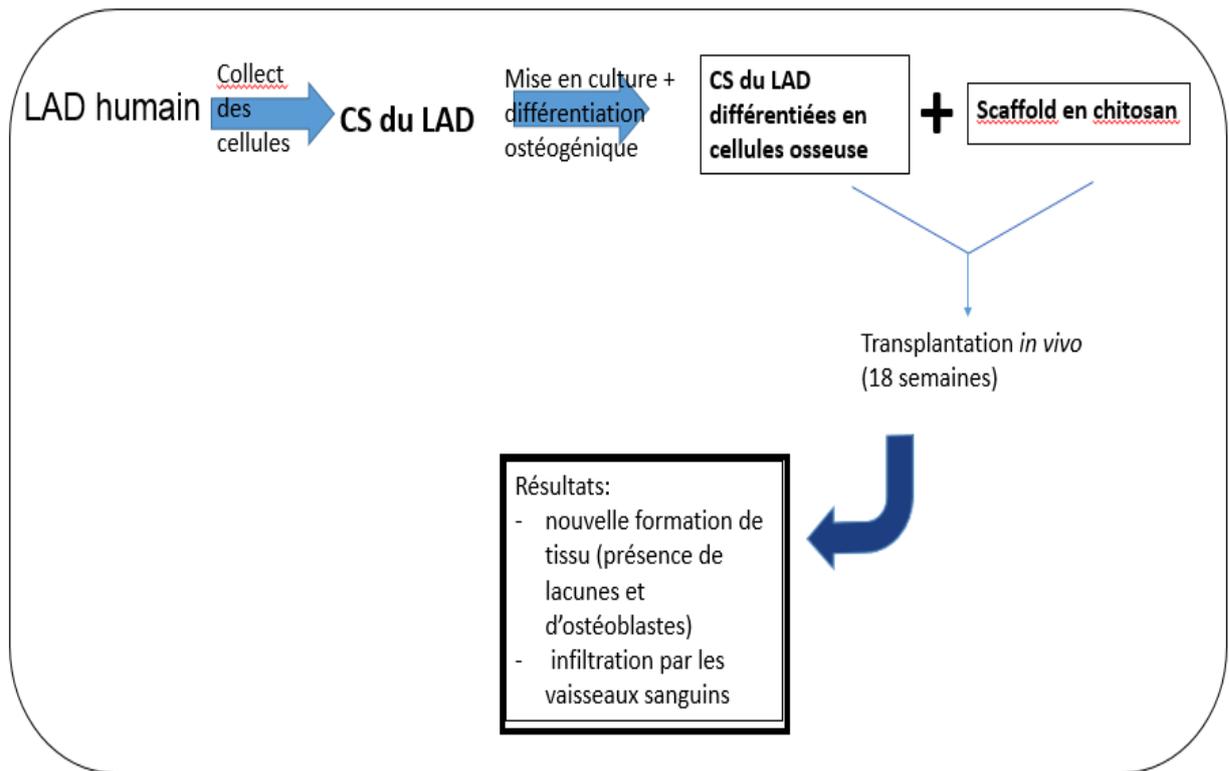
### ***Exemple de régénération des valves cardiaques in vitro avec des CS du LAD (Martinez et coll., 2012)***

Les auteurs ont cherché à montrer l'intérêt de l'utilisation des CS du LAD de dents de sagesse humaines pour la **régénération de valves cardiaques**. Les deux lignées cellulaires présentes dans le cœur sont les cellules endothéliales et les cellules musculaires lisses, l'équipe a donc induit la différenciation des CS du LAD en ces deux types cellulaires grâce à un milieu défini. Ensuite, les cellules ont été intégrées dans des « **scaffolds** » à base d'acide polyglycolique et d'acide poly-L-lactique (PLLA). Après **analyse histologique**, ils ont observé la formation d'un **collagène robuste** qui est l'un des composants des valves cardiaques.

Ainsi, les cellules du LAD ont non seulement été capables de se différencier en cellules endothéliales et en cellules musculaires lisses, mais elles ont aussi permis une fois intégrées dans une matrice, la synthèse d'éléments primordiaux dans la constitution des valves cardiaques. Elle pourrait ainsi aboutir à la régénération de valves cardiaques. Elles ont donc un grand potentiel de régénération du muscle cardiaque.

***Exemple de régénération osseuse (crâne de rat) in vivo : avec des CS du LAD de (Ge et coll., 2012) sur la réparation***

Dans cette étude, les auteurs ont cherché à **réparer la calvaria** (voûte crânienne) de rats à partir d'un scaffold à base de chitosane contenant des CS du LAD et un « scaffold » réalisé à partir de chitosan. C'est un biopolymère présentant des propriétés biologiques intéressantes, notamment pour la régénération osseuse. Les cellules du LAD ont été collectées à partir de LAD humain et mises en culture. Ensuite, leur différenciation ostéogénique a été induite et elles ont été intégrées aux matrices à base de chitosane, puis **transplantées in vivo** chez le rat pendant 18 semaines. D'après les **résultats** de l'implantation *in vivo*, une nouvelle formation de tissu osseux a été observée avec la présence de lacunes et d'ostéoblastes ainsi qu'une infiltration par les vaisseaux sanguins. Les CS du LAD peuvent donc induire une **réparation osseuse in vivo**.



*Figure 11 : Régénération osseuse via les CS du LAD.*

Les études *in vitro* et *in vivo* ont montré que les cellules souches du LAD pourraient être la clé de la régénération d'un grand nombre de tissus.

### C. La régénération du parodonte via l'ingénierie tissulaire et les cellules souches du ligament alvéolo-dentaire est-elle possible?

- **Régénération du parodonte avec des cellules souches (CS) du ligament alvéolo-dentaire (LAD)**

Le but ultime de la thérapie parodontale est de restaurer complètement l'attache parodontale épithélio-conjonctive. L'exclusion des cellules épithéliales permet d'éviter qu'elles interfèrent sur le phénomène de régénération en créant un épithélium de jonction. Cela favorise donc la régénération parodontale mais seules les cellules du LAD semblent avoir le potentiel de créer une nouvelle attache conjonctive. Elles peuvent former de l'os, du ciment, et des structures du LAD et permettraient ainsi la régénération parodontale totale.

- **Les études chez l'animal**

Plusieurs études ont cherché à démontrer la possibilité d'utiliser des **CS du LAD pour le traitement de la maladie parodontale** chez le mini porc (Yi et coll., 2008), le chien (Akizuki et coll., 2005), et le rat (Iwasaki et coll., 2013).

Tout d'abord, les auteurs ont **créé un défaut osseux** après élévation d'un lambeau, au niveau de premières molaires maxillaires (Iwasaki et coll., 2013), mandibulaires (Akizuki et coll., 2005) ou maxillaires et mandibulaires (Yi et coll., 2008).

Une parodontite expérimentale a été créée en supprimant chirurgicalement l'os alvéolaire ; du tissu ligamentaire a ensuite été suturé autour de la partie cervicale des premières molaires traitées (Yi et coll., 2008).

Dans les autres études un défaut parodontal est chirurgicalement créé grâce à des fraises (Akizuki et coll., 2005; Iwasaki et coll., 2013) et des curettes de Gracey (Akizuki et coll., 2005) en supprimant la totalité du ciment (Akizuki et coll., 2005) ou en retirant l'os alvéolaire, le LAD ainsi que le ciment (Iwasaki et coll., 2013).

Ensuite, les auteurs ont **transplanté les CS du LAD** au niveau du défaut créé.

L'équipe de Yi a réalisé une transplantation autologue des CS du LAD avec de l'hydroxyapatite (Yi et coll., 2008). En effet, la régénération osseuse est principalement liée à la combinaison de CS du LAD avec une nanohydroxyapatite. Celle-ci a un rôle considérable dans la régénération osseuse car elle a une composition proche de l'os natif (Wright et coll., 1996).

L'équipe d'Akizuki a positionné une feuille de polymère, le poly N-isopropylacrylamide contenant de l'acide hyaluronique et les CS du LAD obtenues à partir de prémolaires mandibulaires, au niveau du défaut (Akizuki et coll., 2005).

L'équipe de Iwasaki a quant à elle transplanté les CS du LAD de prémolaires sur une membrane amniotique décellularisée traitée avec du polyéthylène de glycol, dans des défauts parodontaux. L'avantage d'avoir une membrane amniotique flexible en tant que matrice 3D était qu'elle pouvait être manipulée toute en maintenant les cellules transplantées en place. Cela permettait aux CS du LAD de bien s'adapter à la surface radiculaire du défaut et ainsi favoriser la régénération parodontale (Iwasaki et coll., 2013).

Enfin, une **analyse histologique** a été réalisée. Elle a montré que le placement de CS du LAD au niveau de défauts parodontaux permettait d'obtenir une régénération des tissus osseux et cémentaires (Yi et coll., 2008).

L'analyse histologique de l'équipe d'Akizuki a montré que trois des défauts traités sur cinq obtenaient une régénération parodontale. Les faibles résultats de l'étude pourraient s'expliquer par le faible nombre d'échantillons. En effet, la formation osseuse et cémentaire était tout de même supérieure pour les modèles traités par les techniques d'ingénierie tissulaire avec des CS du LAD que ceux du groupe témoin traité uniquement à l'acide hyaluronique où seul un défaut a montré une formation osseuse (Akizuki et coll., 2005).

L'analyse histologique de l'équipe d'Iwasaki. a montré que les défauts traités par les CS du LAD et la membrane amniotique ont obtenu la formation d'un nouveau tissu parodontal.

Cependant, la membrane a freiné la régénération à partir d'un certain temps car elle n'était pas complètement dégradée ; elle a interféré sur l'orientation du LAD (Iwasaki et coll., 2013).

Étapes	Yi et coll., 2008	Akizuki et coll., 2005	Iwasaki et coll., 2013
Animaux	Mini-porc	Chien	rat
Dents traitées	Premières molaires maxillaires et mandibulaires	Premières molaires mandibulaires	Premières molaires maxillaires
Création du défaut parodontal	Suppression chirurgicale d'os alvéolaire + suture du LAD	Fraises + curettes de Gracey	Fraises
Transplantation des CS du LAD	Transplantation autologue seule avec de l'hydroxyapatite et le phosphate tricalcique.	Transplantation autologue avec une feuille de polymère, le poly N-isopropylacrylamide	Transplantation autologue avec membrane amniotique décellularisée
Résultats (analyse histologique)	Régénération des tissus osseux, cémentaire et ligamentaire	Régénération des tissus osseux, du ciment et du ligament alvéolo-dentaire pour 3/5 des défauts traités	régénération osseuse, nouveau ciment et ligament avec des fibres insérées perpendiculairement à la surface radiculaire

*Figure 12 : Étapes et résultats des études cliniques animales (Yi et coll., 2008 ; Akizuki et coll., 2005 ; Iwasaki et coll., 2013).*

Ces études ont montré l'intérêt d'utiliser les CS du LAD pour le traitement de défauts parodontaux chez l'animal. Il est nécessaire de faire des études à plus long terme afin de parfaire cette nouvelle voie de régénération et permettre son application clinique.

- ***Etude de la régénération parodontale sur l'homme avec des cellules du ligament alvéolo-dentaire (LAD) : deux études menées en 2010 par Feng et coll. et Gault et coll.***

Ces deux études menées sur l'homme n'ont pas utilisé des CS du LAD mais des cellules progénitrices du LAD et des cellules du LAD.

Dans l'étude de l'équipe de Feng, les patients sont trois hommes atteints de parodontite ayant en tout 16 dents à traiter. Les auteurs ont transplanté un « scaffold » à base de calcitite (un matériau minéral utilisé pour des greffes osseuses, qui par précipitation peut former une masse solide) et de **cellules progénitrices autologues du LAD** de leurs molaires. Ces cellules progénitrices ont été comparées aux CS du LAD grâce à une étude *in vitro*; elles ont les mêmes propriétés. L'analyse du défaut a montré qu'après ce traitement, les paramètres cliniques (profondeur de poche, indice de plaque) étaient améliorés. Cependant, il n'y avait pas de témoin dans cette étude et l'analyse n'était pas histologique mais seulement clinique (Feng et coll., 2010).

L'équipe de Gault a utilisé l'ingénierie tissulaire avec les cellules du LAD pour favoriser l'intégration d'un implant dentaire sur des sujets humains. Ils ont implanté un « ligaplant » : un implant couvert de cellules du LAD, au niveau de la dent à remplacer pour chaque sujet. Cliniquement, les auteurs ont décrit une absence d'inflammation et de perte osseuse. Le test de morbidité qui contrôlait la solidité des tissus autour de l'implant, a montré que le score des « ligaplants » était dans la gamme de celui des dents naturelles et différent de celui des implants ostéointégrés. Cinq « ligaplants » sur les huit sont restés en place plus d'un an dont trois plus de quatre ans. Les « ligaplants » n'étaient pas en contact avec le tissu osseux de la zone d'implantation donc une communication a eu lieu entre la surface de l'implant et le tissu osseux environnant. L'analyse histologique des « ligaplants » défectueux a montré des résultats encore incertains avec par exemple, la production d'un os alvéolaire déficient (Gault et coll., 2010).

Finalelement les CS du LAD, peuvent former *ex-vivo*, des fibres de collagène et générer un néo-cément ainsi que les structures du LAD. Elles auraient ainsi la possibilité de régénérer le parodonte. Les études réalisées chez l'animal sont prometteuses. Celles réalisées chez l'homme sont encore variables mais encourageantes. Elles prouvent que l'ingénierie tissulaire avec les CS du LAD apporte des bénéfices cliniques aux traitements de la parodontite (Han et coll., 2013).

## Conclusion

Dans ce rapport bibliographique, nous nous sommes intéressée à l'apport des cellules souches du ligament alvéolo-dentaire et de l'ingénierie tissulaire à des fins de régénération parodontale.

Les traitements de la parodontite sont en plein essor, depuis quelques années avec l'utilisation **de techniques de régénération qui sont préférées** aux traitements traditionnels qui entraînent une cicatrisation de type réparation.

Les techniques de régénération des années 1980 telles que la régénération tissulaire guidée sont encore d'actualité. Cependant, l'utilisation de l'ingénierie tissulaire avec les cellules souches du ligament alvéolo-dentaire a ouvert une **nouvelle voie de thérapie régénérative parodontale** avec un développement prometteur.

Nous avons mis en évidence que les cellules souches du ligament alvéolo-dentaire ont un grand potentiel de régénération qui peut être appliqué à la régénération parodontale. L'ingénierie tissulaire fournit un support aux cellules souches avec les facteurs nécessaires à la régénération.

Des études plus poussées doivent être envisagées pour développer cette thérapeutique. La difficulté réside dans la création de matrices sans risque immunologique, l'adhésion des cellules souches du ligament alvéolo-dentaire sur la matrice et la dégradation simultanée de la matrice avec la régénération du parodonte.

## BIBLIOGRAPHIE

- Albandar JM, Kingman A. Gingival recession, gingival bleeding and dental calculus in adults 30 years of age and older in United States, 1988-1994. *J Periodontol.* 1999 ; 70(1) : 30-43.
- Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. Développement des organismes multicellulaire et Histologie : Vie et mort des cellules dans les tissus. In : *Biologie moléculaire de la cellule.* Paris : Flammarion Médecine-Science ; 4ème éd. ; 2004.p1225-63.
- Akizuki T, Oda S, Komaki M, Tsuchioka H, Kawakatsu N, Kikuchi A et al. Application of periodontal ligament cell sheet for periodontal regeneration : a pilot study in beagle dogs. *J Periodontal Res.* 2005 ; 40(3) : 245-51.
- Balic A, Aguila HL, Caimano MJ, Francone VP, Mina M. Characterization of stem and progenitor cells in the dental pulp of erupted and unerupted murine molars. *Bone* 46. 2010 : 1639
- Barney VC, Levin MP, Adams DF. Bioceramic implants in surgical periodontal defects. A comparison study. *J Periodontol.* 1986 ; 57(12) : 764-70.
- Bartold PM, McCulloch CA, Narayanan AS, Pitaru S. Tissue engineering: a new paradigm for periodontal regeneration based on molecular and cell biology. *Periodontol* 2000. 2000 ; 24 : 253-69.
- Becker W, Becker BE, Mellonig J, Caffesse RG, Warrar K, Caton JG et al. Prospective multi-center study evaluating periodontal regeneration for Class II furcation invasions and intrabony defects after treatment with a bioabsorbable barrier membrane : 1-year results. *J Periodontol.* 1996 ; 67(7) : 641-9.
- Benatti BB, Silvério KG, Casati MZ, Sallum EA, Nociti FH Jr. Physiological features of periodontal regeneration and approaches for periodontal tissue engineering utilizing periodontal ligament cells. *J Biosci Bioeng.* 2007 ; 103(1) : 1-6.
- Bercy P, Tenenbaum H. *Parodontologie du Diagnostic à la pratique.* 1<sup>ère</sup> éd. Bruxelles : De Boeck et Larcier ; 1996.
- Bosshardt DD, Sculean A, Windisch P, Pjetursson BE, Lang NP. Effects of enamel matrix proteins on tissue formation along the roots of human teeth. *J Periodontal Res.* 2005; 40(2): 158-67.
- Bottino MC, Thomas V, Janowski GM. A novel spatially designed and functionally graded electrospun membrane for periodontal regeneration. *Acta Biomater.* 2011 ; 7(1) : 216-24.
- Bouchard P, Ouhayoun JP, Nilvéus RE. Expanded polytetrafluoroethylene membranes and connective tissue grafts support bone regeneration for closing mandibular Class II furcations. *J Periodontol.* 1993 ; 64(12) : 1193-8.
- Buser D, Warrar K, Karring T. Formation of a periodontal ligament around titanium implants. *J Periodontol.* 1990 ; 61(9) : 597-601.
- Camelo M, Nevins ML, Schenk RK, Simion M, Rasperini G, Lynch SE et al. Clinical, radiographic, and histologic evaluation of human periodontal defects treated with Bio-Oss and Bio-Gide. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 1998 ; 18(4) : 321-31.
- Casper C.L. , Stephens J.S. , Tassi N.G. , Chase D.B , and Rabolt J.F. Controlling Surface Morphology of Electrospun Polystyrene Fibers : Effect of Humidity and Molecular Weight in the Electrospinning Process. *Macromolecules.* 2004 ; 37 (2) : 573–578.
- Caton J, Zander HA. Osseous repair of an infrabony pocket without new attachment of connective tissue. *J Clin Periodontol.* 1976 ; 3(1) : 54-8.
- Chen FM, Sun HH, Lu H, Yu Q. Stem cell-delivery therapeutics for periodontal tissue regeneration. *Biomaterials.* 2012 ; 33(27) : 6320-44.

Cortellini P, Tonetti MS. Minimally invasive surgical technique and enamel matrix derivative in the regenerative treatment of intra-bony defects. A novel approach to limit morbidity. *J Clin Periodontol.* 2007 ; 34 : 87-93.

Cortellini P, Tonetti MS. Minimally invasive surgical technique and enamel matrix derivative in intra-bony defects. I : Clinical outcomes and morbidity. *J Clin Periodontol.* 2007 ; 34 : 1082-1088.

Crigger M, Bogle G, Nilveus R, Egelberg J, Selvig KA. The effect of topical citric acid application on the healing of experimental furcation defects in dogs. *J Periodontol.* 1978; 13: 538–549.

Dahlin C, Sandberg E, Alberius P, Linde A. Restoration of mandibular nonunion bone defects. An experimental study in rats using an osteopromotive membrane method. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 1994 ; 23(4) : 237-42.

Dennison DK, Vallone DR, Pinero GJ, Rittman B, Caffesse RG. Differential effect of TGF-beta 1 and PDGF on proliferation of periodontal ligament cells and gingival fibroblasts. *J Periodontol.* 1994 Jul;65(7):641-8.

Du L, Yang P, Ge S. Stromal cell-derived factor-1 significantly induces proliferation, migration, and collagen type I expression in a human periodontal ligament stem cell subpopulation. *J Periodontol.* 2012 ; 83(3) : 379-88.

Ellegaard B, Løe H. New attachment of periodontal tissues after treatment of intrabony lesions. *J Periodontol.* 1971 ; 42(10) : 648-52.

Esposito M, Coulthard P, Thomsen P, Worthington HV. Enamel matrix derivative for periodontal tissue regeneration in treatment of intrabony defects : a Cochrane systematic review. *J Dent Educ.* 2004 ; 68 : 834–844.

Ferrand. Développement de biomatériaux nanofibreux/microporeux actifs pour la régénération osseuse. Thèse de doctorat : Physique-chimie : Strasbourg ; 2012.

Feng F, Akiyama K, Liu Y, Yamaza T, Wang TM, Chen JH, Wang BB, Huang GT, Wang S, Shi S. Utility of PDL progenitors for in vivo tissue regeneration: a report of 3 cases. *Oral Dis.* 2010 ;16(1) : 20-8.

First International Symposium (2013 ; Berne) Regeneration and Esthetics in Periodontology and Implant Dentistry Sculean: 8-9 novembre ; 2013.

Fraiman S. Nanotecnologia aplicada à Engenharia Tecidual .  
<http://nanotec-ufrn.blogspot.fr/2012/11/nanotecnologia-e-medicina-regenerativa.html> (consulté le 14.11.2013).

Froum SJ, Kushner L, Scopp IW, Stahl SS. Human clinical and histologic responses to durapatite implants in intraosseous lesions. Case reports. *J Periodontol.* 1982 ; 53(12) : 719-25.

Garrett JS. Root planing : a perspective. *J Periodontol.* 1977 ; 48(9) : 553-7.

Gault P, Black A, Romette JL, Fuente F, Schroeder K, Thillou F, Brune T, Berdal A, Wurtz T. Tissue-engineered ligament : implant constructs for tooth replacement. *J Clin Periodontol.* 2010 ; 37(8) : 750-8.

Ge S, Zhao N, Wang L, Yu M, Liu H, Song A et al. Bone repair by periodontal ligament stem cell-seeded nanohydroxyapatite-chitosan scaffold. *Int J Nanomedicine.* 2012 ; 7 : 5405-14.

Gestrelius S, Andersson C, Lidström D, Hammarström L, Somerman M. In vitro studies on periodontal ligament cells and enamel matrix derivative. *J Clin Periodontol.* 1997 ; 24(9 Pt 2) : 685-92.

Girard ED, Jensen TJ, Vadasz SD, Blanchette AE, Zhang F, Moncada C et al. Automated procedure for biomimetic de-cellularized lung scaffold supporting alveolar epithelial transdifferentiation. *Biomaterials.* 2013 ; 34(38) : 10043-55 -1.

Gottlow J, Nyman S, Karring T, Lindhe J. New attachment formation as the result of controlled tissue regeneration. *J Clin Periodontol.* 1984 ; 11(8) : 494-503.

Gottlow J, Nyman S, Karring T, Lindhe J, Wennström J. New attachment formation in the human periodontium by guided tissue regeneration. Case reports. *J Clin Periodontol.* 1986 ; 13 : 604-616.

Hammarström L. Enamel matrix cementum development and regeneration. *J. Clin Periodontol* 1997 ; 24 : 658-668.

Han J, Menicanin D, Gronthos S, Bartold P. Stem cells, tissue engineering and periodontal regeneration. *Aust Dent J.* 2013 : 23.

Handschelel JG, Depprich RA, Kübler NR, Wiesmann HP, Ommerborn M, Meyer U. Prospects of micromass culture technology in tissue engineering. *Head Face Med.* 2007 ; 3 : 4.

Howell TH, Fiorellini JP, Paquette DW, Offenbacher S, Giannobile WV, Lynch SE. A phase I/II clinical trial to evaluate a combination of recombinant human platelet-derived growth factor-BB and recombinant human insulin-like growth factor-I in patients with periodontal disease. *J Periodontol.* 1997 ; 68(12) : 1186-93.

Hynes K, Menicanin D, Gronthos S, Bartold PM. Clinical utility of stem cells for periodontal regeneration. *Periodontol* 2000. 2012 ; 59(1) : 203-27.

Ikeda E, Hirose M, Kotobuki N, Shimaoka H, Tadokoro M, Maeda M, et al. Osteogenic differentiation of human dental papilla mesenchymal cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2006 ; 342 : 1257.

Ivanovski. Periodontal regeneration. *Australian dental journal.* 2009 ; 54(1 Suppl) : S118-S128.

Iwasaki K, Komaki M, Yokoyama N, Tanaka Y, Taki A, Honda I et al. Periodontal regeneration using periodontal ligament stem cell-transferred amnion. *Tissue Eng Part A.* 2013 : 15.

Jo YY, Lee HJ, Kook SY, Choung HW, Park JY, Chung JH et al. Isolation and characterization of postnatal stem cells from human dental tissues. *Tissue Eng* 13. 2007 : 767.

Karring T, Isidor F, Nyman S, Lindhe J. New attachment formation on teeth with a reduced but healthy periodontal ligament. *J Clin Periodontol.* 1985 ;12(1) :51-60.

Karring T, Nyman S, Lindhe J. Healing following implantation of periodontitis affected roots into bone tissue. *J Clin Periodontol.* 1980 ; 7(2) : 96-105.

Kim BC, Bae H, Kwon IK, Lee EJ, Park JH, Khademhosseini A, et al. Osteoblastic/cementoblastic and neural differentiation of dental stem cells and their applications to tissue engineering and regenerative medicine. *Tissue Eng Part B Rev.* 2012 ; 18(3) : 235-44.

Koop R, Merheb J, Quirynen M. Periodontal regeneration with Enamel Matrix Derivative in reconstructive periodontal therapy: A systematic review. *J Periodontol.* 2012 ; 83 : 707-720.

Koylass JM, Valderrama P, Mellonig JT. Histologic evaluation of an allogeneic mineralized bone matrix in the treatment of periodontal osseous defects. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2012 ; 32(4) : 405-11.

Kumar RV, Shubhashini N. Platelet rich fibrin : a new paradigm in periodontal regeneration. *Cell Tissue Bank.* 2013 ; 14(3) : 453-63.

Lallam-Laroy C, Colombier M-L, Blanc A. Cicatrisation des lésions intra-osseuses parodontales, quels concepts pour quelles thérapeutiques ? *Réalités clinique.* 2003 ; 14 (3)2003 : 335-346.

Langer R, Vacanti JP. Tissue engineering. *Science.* 1993 May 14 ; 260(5110) : 920-6.

Lannutti J, Reneker D, Ma T, Tomasko D, Farson D. Electrospinning for tissue engineering scaffolds. *Materials Science and engineering C.* 2007 ; 27 : 504-9.

Lindhe J, Karring T. Concepts in Periodontal Tissue Regeneration et Regenerative Periodontal Therapy. In : Clinical Periodontology and Implant Dentistry. Oxford : Blackwell ; 2008. p. 541-69 ; 901-54.

Listgarten MA, Rosenberg MM. Histological study of repair following new attachment procedures in human periodontal lesions. J Periodontol. 1979 ; 50(7) : 333-44.

Lyngstadaas SP, Lundberg E, Ek Dahl H, Andersson C, Gestrelus S. Autocrine growth factors in human periodontal ligament cells cultured on enamel matrix derivative. J Clin Periodontol. 2001 ; 28(2) : 181-8.

Marchesan JT, Scanlon CS, Soehren S, Matsuo M, Kapila YL. Implications of cultured periodontal ligament cells for the clinical and experimental setting: a review. Arch Oral Biol. 2011 ; 56(10) : 933-43.

Mariotti A. Efficacy of chemical root surface modifiers in the treatment of periodontal disease. A systematic review. Ann Periodontol. 2003 ; 8(1) : 205-26.

Martinez C, Rath S, Gulden SV. Periodontal ligament cells cultured under steady-flox environments periodontal potential for use in heart valve tissue engineering. Tissu ENG Part A. 2012 : 19.

Matsumura G, Nitta N, Matsuda S, Sakamoto Y, Isayama N, Yamazaki K et al. Long-Term Results of Cell-Free Biodegradable Scaffolds for in situ Tissue-Engineering Vasculature: In a Canine Inferior Vena Cava Model. Biomaterials. 2013 ; 34(27) : 6422-8.

Melcher AH. On the repair potential of periodontal tissues. J Periodontol. 1976 ; 47(5) : 256-60.

Mellonig JT, Bowers GM, Bailey RC. Comparison of bone graft materials. Part I. New bone formation with autografts and allografts determined by Strontium-85. J Periodontol. 1981 ; 52(6) : 291-6.

Minabe M, Sugaya A, Satou H, Tamura T, Ogawa Y, Hori T, Watanabe Y. Histological study of the hydroxyapatite-collagen complex implants in periodontal osseous defects in dogs. J Periodontol. 1988 ; 59(10) : 671-8.

Moskow BS, Karsh F, Stein SD. Histological assessment of autogenous bone graft. A case report and critical evaluation. J Periodontol. 1979 ; 50(6) : 291-300.

Nanci A. Repair and Regeneration of Oral Tissues. In: Ten Cate's Oral Histology. United States of America : Elsevier ; 2013. p.351-2.

Nevins ML, Camelo M, Nevins M, King CJ, Oringer RJ, Schenk RK, Fiorellini JP. Human histologic evaluation of bioactive ceramic in the treatment of periodontal osseous defects. Int J Periodontics Restorative Dent. 2000 ; 20(5) : 458-67.

Ng TK, Carballosa CM, Pelaez D, Wong HK, Choy KW, Pang CP et al. Nicotine alters MicroRNA expression and hinders human adult stem cell regenerative potential. Stem Cells Dev. 2013 ; 22(5) : 781-90.

Nielsen IM, Ellegaard B, Karring T. Kielbone in new attachment attempts in Humans. J Periodontol. 1981 Dec;52(12):723-8.

Nilvéus R, Egelberg J. The effect of topical citric acid application on the healing of experimental defects in dogs. III. The relative importance of coagulum support, flap design, and systemic antibiotics. J Periodont Res. 1980 ; 15 : 551-560.

Nisbet DR, Forsythe JS, Shen W, Finkelstein DI, Horne MK. Review paper : a review of the cellular response on electrospun nanofibers for tissue engineering. J Biomater Appl. 2009 ; 24(1) : 7-29.

Nomura Y, Ishikawa M, Yashiro Y, Sanggarnjanavanich S, Yamaguchi T, Arai C et al. Human periodontal ligament fibroblasts are the optimal cell source for induced pluripotent stem cells. Histochem Cell Biol. 2012 ; 137(6) : 719-32.

Nyman S, Karring T, Lindhe J, Plantén S. Healing following implantation of periodontitis-affected roots into gingival connective tissue. *J Clin Periodontol.* 1980 ; 7(5) : 394-401.

Nyman S, Lindhe J, Karring T, Rylander H. New attachment following surgical treatment of human periodontal disease. *J clin Periodontol* 1982 ; 9 : 290-296.

Oates TW, Rouse CA, Cochran DL. Mitogenic effects of growth factors on human periodontal ligament cells in vitro. *J Periodontol.* 1993 ; 64(2) : 142-8.

Pandit N, Malik R, Philips D. Tissue engineering: A new vista in periodontal regeneration. *J Indian Soc Periodontol.* 2011 ; 15(4) : 328-37.

Parlar A, Bosshardt DD, Unsal B, Cetiner D, Haytaç C, Lang NP. New formation of periodontal tissues around titanium implants in a novel dentin chamber model. *Clin Oral Implants Res.* 2005 ; 16(3) : 259-67.

Patil VA, Patil ST. A novel approach in root coverage. Coronally repositioned flap with GTR membrane and frenotomy. *J Indian Soc Periodontol* 2013 ; 17(2) : 261-4.

Polson AM, Proye MP. Effect of root surface alterations on periodontal healing. II. Citric acid treatment of the denuded root. *J Clin Periodontol.* 1982 ; 9 : 441-454.

Pradeep AR, Rao NS, Agarwal E, Bajaj P, Kumari M, Naik SB. Comparative evaluation of autologous platelet-rich fibrin and platelet-rich plasma in the treatment of 3-wall intrabony defects in chronic periodontitis : a randomized controlled clinical trial. *J Periodontol.* 2012 ; 83(12) : 1499-507.

Renvert S, Garrett S, Shallhorn RG, Egelberg J. Healing after treatment of periodontal intraosseous defects. III. Effect of osseous grafting and citric acid conditioning. *J Clin Periodontol.* 1985 ; 12(6) : 441-55.

Sapkos SW. The use of Periograf in periodontal defects. Histologic findings. *J Periodontol.* 1986 ; 57(1) : 7-13.

Scanlon CS, Marchesan JT, Soehren S, Matsuo M, Kapila YL. Capturing the Regenerative Potential of Periodontal Ligament Fibroblasts. *J Stem Cells Regen Med.* 2011 ; 7(1) : 54-56.

Sculean A. *Periodontal Regenerative Therapy.* London: Quintessence Publishing ; 2010.

Sculean A., Donos N., Windisch P. Healing of human intrabony defects following treatment with enamel matrix proteins or guided tissue regeneration. *J Periodont Res.* 1999 ; 34 : 310-322.

Sculean A, Windisch P, Keglevich T, Chiantella GC, Gera I, Donos N. Clinical and histologic evaluation of human intrabony defects treated with an enamel matrix protein derivative combined with a bovine-derived xenograft. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2003 ; 23(1) : 47-55.

Seo BM, Miura M, Gronthos S, Bartold PM, Batouli S, Brahim J et al. Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament. *Lancet* 364. 2004 : 149.

Singer AJ, Clark RA. Cutaneous wound healing. *N Engl J Med.* 1999 ; 341(10) : 738-46.

Société française de parodontologie et d'implantologie. Recommandation de la SFPIO ; Position de la SFPIO sur le PRF.  
<http://www.sfparo.org/espace-praticiens-et-membres/les-recommandations-de-la-sfpio.html> (consulté le 19.09.2013).

Spahr A, Haegewald S, Tsoulfidou F, Rompola E, Heijl L, Bernimoulin JP et al. Coverage of Miller class I and II recession defects using enamel matrix proteins versus coronally advanced flap technique: a 2-year report. *J Periodontol.* 2005 ; 76(11) : 1871-80.

Strauman. Tissue regeneration.  
<http://www.straumann.us/en/professionals/products-and-solutions/regeneration-solutions/tissue-regeneration.html> (consulté le 06.12.2012).

- Sun HH, Qu TJ, Zhang XH, Yu Q, Chen FM. Designing biomaterials for in situ periodontal tissue regeneration. *Biotechnol Prog.* 2012 ; 28(1) : 3-20.
- Tonetti MS, Cortellini P, Lang NP, Suvan JE, Adriaens P, Dubravec D et al. Clinical outcomes following treatment of human intrabony defects with GTR/bone replacement material or access flap alone. A multicenter randomized controlled clinical trial. *J Clin Periodontol.* 2004 ; 31(9) : 770-6.
- Vaquette C, Fan W, Xiao Y, Hamlet S, Hutmacher DW, Ivanovski S. A biphasic scaffold design combined with cell sheet technology for simultaneous regeneration of alveolar bone/periodontal ligament complex. *Biomaterials.* 2012 ; 33(22) : 5560-73.
- Venezia E, Goldstein M, Boyan BD, Schwartz Z. The use of enamel matrix derivative in the treatment of periodontal defects : a literature review and meta-analysis. *Crit Rev Oral Biol Med* 2004 ; 15 : 382–402.
- Wang L, Shen H, Zheng W, Tang L, Yang Z, Gao Y et al. Characterization of stem cells from alveolar periodontal ligament. *Tissue Eng Part A.* 2011 ; 17(7-8) : 1015-26.
- Wikesjö UM, Nilvéus RE, Selvig KA. Significance of early healing events on periodontal repair : a review. *J Periodontol.* 1992 ; 63(3) : 158-65.
- World workshop in periodontics. The American academy of perodontology. *Ann Periodontol.* 1996 ; 1 : 618-670.
- Wright WE, Piatyszek MA, Rainey WE, Byrd W, Shay JW. Telomerase activity in human germline and embryonic tissues and cells. *Dev Genet.* 1996 ; 18 : 173–9.
- Yamazaki H, Tsuneto M, Yoshino M, Yamamura K, Hayashi S. Potential of dental mesenchymal cells in developing teeth. *Stem Cells.* 2007 ; 25 : 78.
- Yang J, Shi G, Bei J, Wang S, Cao Y, Shang Q et al. Fabrication and surface modification of macroporous poly(L-lactic acid) and poly(L-lactic-co-glycolic acid) (70/30) cell scaffolds for human skin fibroblast cell culture. *J Biomed Mater Res.* 2002 ; 62(3) ; 438-46.
- Yi L, Ying Z, Gang D, Dianji F, Chunmei Z, Mark P et al. Periodontal Ligament Stem Cell-Mediated Treatment for Periodontitis in Miniature Swine Stem Cells. 2008 ; 26; 1065–1073.

**SY Kadiatou** – Ingénierie tissulaire du parodonte : apport des cellules souches du ligament alvéolo-dentaire.

(Thèse : Chir. Dent. : Lyon : 2013.077)

N°2013 LYO 1D 077

**Résumé :**

La parodontite est une pathologie inflammatoire entraînant la destruction des tissus de soutien de la dent. C'est actuellement un problème de santé publique. La régénération complète des tissus détruits constitue un défi majeur.

Dans cette thèse bibliographique, nous nous sommes intéressée à l'ingénierie tissulaire et à l'apport des cellules souches du ligament alvéolo-dentaire à des fins de régénération parodontale.

L'ingénierie tissulaire est une discipline qui consiste à renouveler des tissus défectueux. Le recours à cette technique en parodontologie fait actuellement l'objet d'études. L'objectif est de contrer les limites des thérapies conventionnelles actuelles qui s'avèrent insuffisantes pour obtenir une régénération complète et fonctionnelle du tissu parodontale. De plus, les cellules souches du ligament alvéolo-dentaires, grâce à leur capacité de multi-différentiation semblent avoir les propriétés adéquates pour favoriser la régénération parodontale.

Cette discipline a ouvert de nouvelles voies de recherche dans un but de régénération parodontale. Les études réalisées chez l'animal sont prometteuses. Celles réalisées chez l'homme sont encore variables mais encourageantes. Elles prouvent que l'ingénierie tissulaire avec les cellules souches du ligament alvéolo-dentaire mettent en évidence des bénéfices cliniques aux traitements contre la parodontite.

**Rubrique de classement :**

Parodontologie

**Mots clés :**

Régénération parodontale

Cellules souches du ligament alvéolo-dentaire

Ingénierie tissulaire

**Mots clés en anglais :**

Periodontal regeneration

Periodontal ligament stem cells

Tissue engineering

**Jury :**

**Président :**

**Assesseurs :**

Madame le Professeur Brigitte GROSGOGEAT

Madame le Docteur Kerstin GRITSCH

Madame le Docteur Doris MOURA CAMPOS

Monsieur le Docteur Philippe RODIER

Madame le Docteur Caroline BOLLE

**Adresse de l'auteur :**

Kadiatou SY  
80 cours Gambetta  
69007 Lyon



 06 01 99 75 70

[contact@imprimerie-mazenod.com](mailto:contact@imprimerie-mazenod.com)

[www.thesesmazenod.fr](http://www.thesesmazenod.fr)