

Année 2012

Thèse n° 2012 –TOU3-3068

THESE

Pour le

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

Présentée et soutenue publiquement

par

VIDAL Laurie

Le 12 décembre 2012

**L'APPORT DE L'INGENIERIE TISSULAIRE EN
REGENERATION OSSEUSE PRE-IMPLANTAIRE**

Directeur de thèse : DOCTEUR Sara LAURENCIN

JURY

Président :	Professeur Serge ARMAND
1 ^{er} Assesseur :	Docteur Philippe KEMOUN
2 ^{ème} Assesseur :	Docteur Christophe LAFFORQUE
3 ^{ème} Assesseur :	Docteur Sara LAURENCIN



FACULTÉ DE CHIRURGIE DENTAIRE

➔ DIRECTION

DOYEN

Mr SIXOU Michel

ASSESEURS DU DOYEN

• ENSEIGNANTS :

Mme GRÉGOIRE Geneviève
Mr CHAMPION Jean
Mr HAMEL Olivier
Mr POMAR Philippe

• PRÉSIDENTE DU COMITÉ SCIENTIFIQUE

Mme GRIMOUD Anne-Marie

• ÉTUDIANT :

Mr HAURET-CLOS Mathieu

CHARGÉS DE MISSION

Mr PALOUDIER Gérard
Mr AUTHER Alain

RESPONSABLE ADMINISTRATIF

Mme GRAPELOUP Claude

➔ HONORARIAT

DOYENS HONORAIRES

Mr LAGARRIGUE Jean †
Mr LODTER Jean-Philippe
Mr PALOUDIER Gérard
Mr SOULET Henri

➔ ÉMÉRITAT

Mr PALOUDIER Gérard

➔ PERSONNEL ENSEIGNANT

56.01 PÉDODONTIE

Chef de la sous-section :

Professeur d'Université :

Maîtres de Conférences :

Assistants :

Chargé d'Enseignement :

Mr VAYSSE

Mme BAILLEUL-FORESTIER

Mme NOIRRIT-ESCLASSAN, Mr VAYSSE

Mr DOMINÉ, Mme GÖTTLE

Mme BACQUÉ, Mme PRINCE-AGBODJAN, Mr TOULOUSE

56.02 ORTHOPÉDIE DENTO-FACIALE

Chef de la sous-section :

Maîtres de Conférences :

Assistants :

Chargés d'Enseignement :

Mr BARON

Mr BARON, Mme LODTER, Mme MARCHAL-SIXOU, Mr ROTENBERG,

Mme ELICEGUI, Mme OBACH-DEJEAN, Mr PUJOL

Mr GARNAULT, Mme MECHRAOUI, Mr MIQUEL

56.03 PRÉVENTION, ÉPIDÉMIOLOGIE, ÉCONOMIE DE LA SANTÉ, ODONTOLOGIE LÉGALE

Chef de la sous-section :

Professeur d'Université :

Maître de Conférences :

Assistant :

Chargés d'Enseignement :

Mr HAMEL

Mme NABET, Mr PALOUDIER, Mr SIXOU

Mr HAMEL

Mr MONSARRAT

Mr DURAND, Mr PARAYRE, Mr VERGNES

57.01 PARODONTOLOGIE

Chef de la sous-section : *Mr BARTHET*

Maîtres de Conférences : Mr BARTHET
Assistants : Mr MOURGUES, Mme VINEL
Chargés d'Enseignement : Mr. CALVO, Mme DALICIEUX-LAURENCIN, Mr LAFFORGUE, Mr PIOTROWSKI,
Mr SANCIER

57.02 CHIRURGIE BUCCALE, PATHOLOGIE ET THÉRAPEUTIQUE, ANESTHÉSIOLOGIE ET RÉANIMATION

Chef de la sous-section : *Mr CAMPAN*

Professeur d'Université : Mr DURAN
Maîtres de Conférences : Mr CAMPAN, Mr COURTOIS, Mme COUSTY
Assistants : Mme BOULANGER, Mr FAUXPOINT, Mme FERNET-MAGNAVAL
Chargés d'Enseignement : Mr GANTE, Mr L'HOMME, Mme LABADIE, Mr PLANCHAND, Mr SALEFRANQUE

57.03 SCIENCES BIOLOGIQUES (BIOCHIMIE, IMMUNOLOGIE, HISTOLOGIE, EMBRYOLOGIE, GÉNÉTIQUE, ANATOMIE PATHOLOGIQUE, BACTÉRIOLOGIE, PHARMACOLOGIE

Chef de la sous-section : *Mr KÉMOUN*

Professeurs d'Université : Mme DUFFAUT
Maîtres de Conférences : Mme GRIMOUD, Mr KEMOUN, Mr POULET
Assistants : Mr BLASCO-BAQUE, Mme GAROBY-SALOM, Mme SOUBIELLE, Mme VALERA
Chargés d'Enseignement : Mr BARRÉ, Mme DJOUADI-ARAMA, Mr SIGNAT

58.01 ODONTOLOGIE CONSERVATRICE, ENDODONTIE

Chef de la sous-section : *Mr GUIGNES*

Maîtres de Conférences : Mr DIEMER, Mr GUIGNES, Mme GURGEL-GEORGELIN, Mme MARET-COMTESSE
Assistants : Mr ARCAUTE, Mlle DARDÉ, Mme DEDIEU, Mr ELBEZE, Mme FOURQUET, Mr MICHETTI
Chargés d'Enseignement : Mr BALGUERIE, Mr BELAID, Mlle BORIES, Mr ELBEZE, Mr MALLET, Mlle PRATS,
Mlle VALLAEYS

58.02 PROTHÈSES (PROTHÈSE CONJOINTE, PROTHÈSE ADJOINTE PARTIELLE, PROTHÈSE COMPLÈTE, PROTHÈSE MAXILLO-FACIALE)

Chef de la sous-section : *Mr CHAMPION*

Professeurs d'Université : Mr ARMAND, Mr POMAR
Maîtres de Conférences : Mr BLANDIN, Mr CHAMPION, Mr ESCLASSAN
Assistants : Mr DESTRUHAUT, Mr GALIBOURG, Mr LUCAS, Mr RAYNALDY, Mme SOULES
Chargés d'Enseignement : Mr ABGRALL, Mr DEILHES, Mr FARRÉ, Mr FLORENTIN, Mr FOLCH, Mr
GHRENASSIA,
Mr KAHIL, Mme LACOSTE-FERRE, Mme LASMOLLES, Mr LUCAS, Mr MIR, Mr
POGEANT,
Mr RAYNALDY

58.03 SCIENCES ANATOMIQUES ET PHYSIOLOGIQUES, OCCLUSODONTIQUES, BIOMATÉRIAUX, BIOPHYSIQUE, RADIOLOGIE

Chef de la sous-section : *Mme GRÉGOIRE*

Professeur d'Université : Mme GRÉGOIRE
Maîtres de Conférences : Mme JONJOT, Mr NASR
Assistants : Mr AHMED, Mr CANIVET, Mr DELANNÉE
Chargés d'Enseignement : Mme BAYLE-DELANNÉE, Mme MAGNE, Mr MOUNET, Mr TREIL, Mr VERGÉ

*L'université Paul Sabatier déclare n'être pas responsable des opinions émises par les candidats.
(Délibération en date du 12 Mai 1891).*

Mise à jour au 1^{er} novembre 2012

A mes chers parents,

A mes parents, pour qui je n'aurai jamais suffisamment de mots pour témoigner mon amour et ma reconnaissance. Vous m'avez toujours soutenue et accompagnée dans chacun de mes actes.

Papa, aimant, passionné, sage et perfectionniste, j'espère que tu seras fier de mon travail et fier de moi comme je suis tellement fière d'être ta fille.

Maman, la meilleure des mamans, tantôt confidente, tantôt admiratrice, parfois ferme mais toujours complice. Je suis heureuse de notre relation si particulière qui fait que tu sais toujours quand et comment me redonner le sourire.

A Alex, pour ton amour et pour la nouvelle vie à deux qui s'annonce : quelle soit longue et heureuse.

A mon frère, pour avoir toujours veillé sur moi entre chatouilles et fou-rires, continues ainsi car tu resteras toujours mon grand frère, et à sa grande famille pour continuer à rassembler de grandes tablées animées.

A ma sœur, Nicolas et nos petits américains, loin des yeux mais près du cœur. Il y a des jours où la distance est particulièrement difficile à supporter, pour les autres jours nous sommes heureux de voyager pour vous rendre visite. Ne tardez pas trop à rentrer quand même.

A tous mes neveux et nièces, en vous souhaitant d'aimer les études autant que j'ai apprécié les miennes.

A Yacine, notre petit « *chat* », parfois mieux que les liens du sang, nous avons grandi ensemble. Tu deviendras une grande et belle personne.

A toute ma famille, j'ai toujours dit que j'écrirai un livre sur vous tellement chacun est unique ! Après la rédaction de ce travail et une courte pose pour que l'ordinateur refroidisse, je m'occupe de vous !

A Pierre MONIER, pour m'avoir prise sous son aile, pour sa gentillesse, sa patience et son extrême disponibilité au cabinet. C'est un plaisir de continuer à apprendre à ses côtés.

A Laura et Laurine, mes compères de chaque minute et de chaque fou-rires. Pensez bien que passer la première peut constituer un incroyable avantage ... ;-)

et à mes camarades de promo, merci d'avoir rendu nos études encore plus agréables à chaque congrès, week-end, voyages et soirées en tout genre. C'est la fin des études mais pas du reste j'espère !

A Loic CALVO, Sara LAURENCIN et toute l'équipe de paro, pour leur enseignement, investissement et bonne humeur mais également pour m'avoir donné envie de faire ce travail.

A NOTRE PRESIDENT DU JURY**Monsieur le Professeur Serge ARMAND**

Professeur des Universités, Praticien Hospitalier d'Odontologie,
Docteur en Chirurgie Dentaire,
Docteur en Sciences Odontologiques,
Docteur d'État en Odontologie,
Responsable du Diplôme d'Université d'Implantologie,
Lauréat de l'Université Paul Sabatier.

*Vous nous faites l'honneur de présider ce jury.
Veuillez trouver dans ce travail notre
reconnaissance pour la qualité de votre
enseignement pratique et théorique, votre rigueur,
vos conseils et votre sympathie tout au long de
notre cursus.*

A NOTRE JURY DE THESE**Monsieur le Docteur Christophe LAFFORGUE**

Assistant Hospitalo-universitaire d'Odontologie,

Docteur en Chirurgie Dentaire,

Certificat d'Études Supérieures de Chirurgie Dentaire : Parodontologie
(CES B)

Certificat d'Études Supérieures de Technologie des Matériaux Employés
en Art Dentaire (CES A)

Diplôme Universitaire de Parodontologie.

*Vous nous avez fait l'honneur d'accepter de siéger
parmi nos juges. Nous tenons particulièrement à vous
remercier pour votre patience, gentillesse, bonne
humeur et disponibilité auprès des étudiants que vous
accompagnez depuis plusieurs années. Veuillez trouver
ici l'expression de notre gratitude et profonde
considération.*

A NOTRE JURY DE THESE**Monsieur le Docteur Philippe KEMOUN**

Maître de Conférences des Universités, Praticien Hospitalier d'Odontologie,
Responsable de la sous-section des Sciences Biologiques,
Docteur en Chirurgie Dentaire,
Docteur de l'Université Paul Sabatier.

C'est avec spontanéité et intérêt que vous avez accepté de prendre part à ce jury. Merci pour vos conseils avisés lors du démarrage de ce travail, nous vous en sommes très reconnaissants.

A NOTRE DIRECTRICE DE THESE**Madame le Docteur Sara LAURENCIN**

Chargé d'Enseignement à la Faculté de Chirurgie Dentaire de Toulouse,
Ex Assistante hospitalo-universitaire d'Odontologie,
Docteur en Chirurgie Dentaire
Docteur de l'Université Paul Sabatier,
Diplôme Universitaire de Parodontologie.

Vous avez très aimablement accepté de diriger ce travail. Merci de nous avoir guidés dans nos recherches et pour le temps que vous nous avez consacré. Nous tenons à vous exprimer nos remerciements et notre profond respect.

TABLE DES MATIERES

<i>INTRODUCTION</i>	15
I: TECHNIQUES ACTUELLES ET LEURS LIMITES :.....	16
I.1 : Les déficits osseux :.....	17
I.1.1 : Généralités :.....	17
I.1.1.1 : les défauts osseux verticaux :.....	18
I.1.1.2 : les défauts osseux horizontaux :.....	19
I.1.1.3 : les défauts osseux mixtes :.....	20
I.1.2 : Classifications :.....	20
I.1.2.1 : En fonction de la densité osseuse :.....	20
I.1.2.2 : En fonction du volume d'os :.....	22
I.1.3 : Implications cliniques :.....	22
I.2 : Régénération osseuse : techniques actuelles :.....	23
I.2.1 : Régénération osseuse guidée ou ROG:.....	25
I.B.1.1 : Principes :.....	25
I.B.1.2 : Limites :.....	25
I.2.2 : Greffes et matériaux greffés :.....	26
I.2.2.1 : Autogreffes :	27
I.2.2.1.1 : <i>Principes</i> :.....	27
I.2.2.1.2 : <i>Avantages et inconvénients</i> :	30
I.2.2.2 : Allogreffes :.....	30
I.2.2.2.1 : <i>Principes</i> :.....	30
I.2.2.2.2 : <i>Avantages et inconvénients</i> :.....	31
I.2.2.3 : Xéno greffes :.....	31
I.2.2.3.1 : <i>Principes</i> :.....	31
I.2.2.3.2 : <i>Avantages et inconvénients</i> :.....	32
I.2.2.4 : Matériaux synthétiques :.....	32
I.2.2.4.1 : <i>Principes</i> :.....	32
I.2.2.4.2 : <i>Avantages et inconvénients</i> :.....	33
I.3 : Conclusion :.....	34

II : L' INGENIERIE TISSULAIRE :.....	35
II.1 : Définition- Principes :.....	36
II.2 : Stratégies de l'ingénierie tissulaire :.....	39
II.2.1 : Approche conductive :.....	39
II.2.2 : Approche inductive :	39
II.2.3 : Transplantation cellulaire :.....	40
II.3 : Les outils de l'ingénierie tissulaire :	41
II.3.1 : Thérapie cellulaire et cellules souches :.....	41
II.3.1.1 : Les cellules souches :.....	41
II.3.1.2 : La thérapie cellulaire et l'ingénierie tissulaire :.....	45
II.3.2 : Les supports, <i>scaffolds</i> ou « échafaudages » :.....	46
II.3.2.1 : Cahiers des charges :.....	46
II.3.2.2 : Les supports organiques :.....	47
II.3.2.3 : Les supports inorganiques :.....	48
II.3.3 : Les signaux :.....	50
II.3.3.1 : Généralités :.....	50
II.3.3.2 : Les Transforming Growth Factors Beta ou TGF- β :.....	50
II.3.3.3 : Les Bone Morphogenetic Proteins ou BMP :.....	51
II.3.3.4 : Les Fibroblast Growth Factors ou FGF :.....	53
II.3.3.5 : Les Insulin-like Growth Factors ou IGF :.....	53
II.3.3.6 : Le Platelet Derived Growth Factors ou PDGF :.....	53
II.3.3.7 : Stratégies d'utilisation :.....	53
II.3.4 : La thérapie génique :.....	55
II.3.4 .1 : Définition – Principes :.....	55
II.3.4 .2 : Les stratégies de la thérapie génique :.....	56
II.3.4 .2.1 : <i>La thérapie génique in vivo</i> :.....	56
II.3.4 .2.2 : <i>La thérapie génique ex vivo</i> :.....	57
II.3.4 .3 : Les vecteurs de la thérapie génique :.....	57
II.3.4 .3.1 : <i>Les vecteurs viraux</i> :.....	58
II.3.4 .3.1.1 : <i>Les rétrovirus</i> :.....	58
II.3.4 .3.1.2 : <i>Les adénovirus</i> :.....	59
II.3.4 .3.1.3 : <i>Les Adeno-Associated Virus ou AAV</i> :.....	59
II.3.4 .3.2. <i>Les vecteurs non viraux</i> :	59
II.3.5 :Conclusion.....	60

**III : INGENIERIE TISSULAIRE EN REGENERATION OSSEUSE PRE-
IMPLANTAIRE : QUELLES PERSPECTIVES D'AVENIR ?.....61**

III.1:Expérimentations :.....62

III.2: Les risques assujettis aux stratégies de l'ingénierie tissulaire osseuse.....66

III.2.1 : Généralités - Définitions :.....66

III.2.2 : Les facteurs de risques intrinsèques et les risques associés67

III.2.3 : Les facteurs de risques extrinsèques de fabrication et de manipulation :
risque de transmission d'agents pathogènes :.....68

III.2.4 : Les caractéristiques cliniques et la réponse immunitaire :.....69

III.3 : Éthique et législation :.....70

III.3.1 : Les lois de bioéthique :71

III.3.2 : Les directives européennes :.....73

III.3.3 : Exemples d'organismes de contrôles :.....75

III.3.4 : Les biobanques autorisées :76

III.4 : Acceptabilité par le patient (bénéfices/risques).....77

CONCLUSION :.....79

BIBLIOGRAPHIE.....80

BIBLIOGRAPHIE DES SCHEMAS ET TABLEAUX.....91

INTRODUCTION

Le remplacement de tissus ou d'organes défaillants représente un champ important de la chirurgie actuelle. Depuis longtemps le recours à des « corps étrangers » biocompatibles a été le moyen de remplacement le plus largement utilisé engendrant des créatures « cyborg » avec une partie synthétique. Puis, l'utilisation de greffes fut pendant un temps la solution à bien des problèmes.

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

Avant d'atteindre l'immortalité, notre ambition, plus modeste, serait d'améliorer le quotidien de patients édentés avec des déficits osseux importants par la pose d'implants dentaires. Cette proposition de réhabilitation implantaire était jusqu' alors permise par différentes techniques de greffes osseuses ou autres stratégies de régénération osseuse. Ces techniques parfois difficiles de réalisation, praticien et patient-dépendantes présentent de réels résultats qui restent cependant peu prévisibles et reproductibles.

Les avancées réalisées actuellement dans le domaine de la médecine régénérative et notamment dans l'ingénierie tissulaire ouvrent la porte à de nouveaux espoirs de régénération. Avant de pouvoir réimplanter une dent créée in vitro à partir des cellules souches du patient ; notre idée serait « d'appliquer les principes des sciences de la vie et de l'ingénierie pour développer des substituts tissulaires afin de remplacer ou maintenir le fonctionnement du tissu osseux ». C'est le principe de l'ingénierie tissulaire.

Ce concept fut approché dès les années 1970 par les travaux de Green et Ferguson qui cherchaient à régénérer le tissu cartilagineux. C'est ensuite les travaux de Langer et Vancanti en 1993 qui ont permis de révéler au monde médical le fabuleux potentiel de ces techniques. Ainsi est né le terme d'ingénierie tissulaire osseuse. Ce travail tâchera de mettre en évidence l'application des techniques d'ingénierie tissulaire pour la régénération osseuse pré-implantaire, mais également de discuter de leur faisabilité à court, ou moyen terme en pratique odontologique courante.

PARTIE I :

**TECHNIQUES ACTUELLES ET LEURS
LIMITES**

I.1: Les déficits osseux :

I.1.1: Généralités :

La perte de substance osseuse porte sur la zone alvéolaire et s'étend plus ou moins à l'os basal. Son importance est fonction de l'espace qu'occupaient les racines dentaires. « L'os alvéolaire naît et meurt avec les dents ».

Dans les secteurs molaires maxillaires, elle est souvent totale. Il ne reste alors que l'os basal, réduit à une fine corticale sous sinusienne.

En antérieur, la perte des dents monoradiculées altère principalement la table externe. En effet les parois linguales et palatines sont généralement plus épaisses et donc plus résistantes. Il en résulte une ostéolyse à prédominance horizontale pour la zone incisivo-canine, et verticale pour les secteurs postérieurs.

D'après Harris (1997), la résorption osseuse peut avoir quatre origines principales⁽¹⁾⁽²⁾:

- Pathologiques (maladies parodontales, kystes...).
- Chirurgicales
- Congénitales (micrognathie, oligodontie, fentes...).
- Physiologiques (pertes dentaires, âge, ancienneté de l'édentement...)

De grandes variations existent d'un individu à l'autre et il est impossible de porter un pronostic sur le devenir de l'os alvéolaire après extraction, à moins d'avoir constaté d'emblée un délabrement osseux important⁽²⁾⁽³⁾.

Selon la morphologie alvéolaire, des déficits osseux verticaux, horizontaux ou mixtes sont distingués ; ces derniers étant les plus fréquents. L'examen clinique peut orienter le diagnostic en évaluant l'espace occlusal résiduel et l'aspect de la crête alvéolaire. Mais c'est seulement la radiographie et plus précisément la tomographie par scanner qui permettent de connaître avec exactitude l'importance et le type de résorption de l'os alvéolaire.

Ces pertes de substance osseuse rendent irréalisable une mise en place d'implants tant d'un point de vue fonctionnel qu'esthétique. La correction des déficits osseux maxillaires ou mandibulaires est nécessaire pour rétablir la morphologie osseuse.

I.1.1.1: Les défauts osseux verticaux :

Ils se caractérisent par un affaissement de la crête alvéolaire par rapport à la ligne du collet des dents voisines.

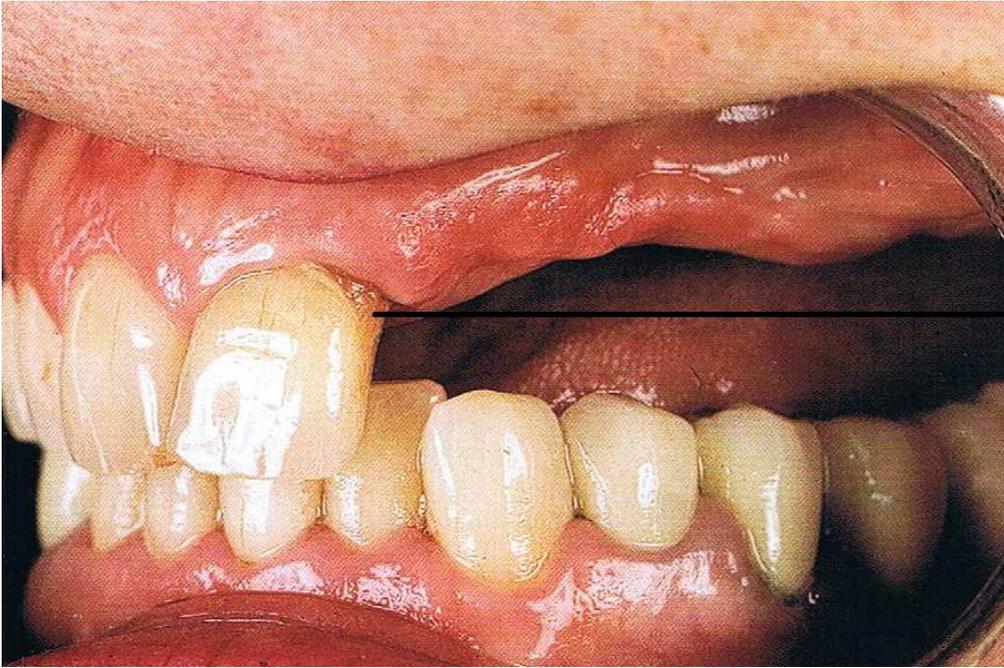


Figure 1 : Hypoplasie alvéolaire verticale, forme mineure.

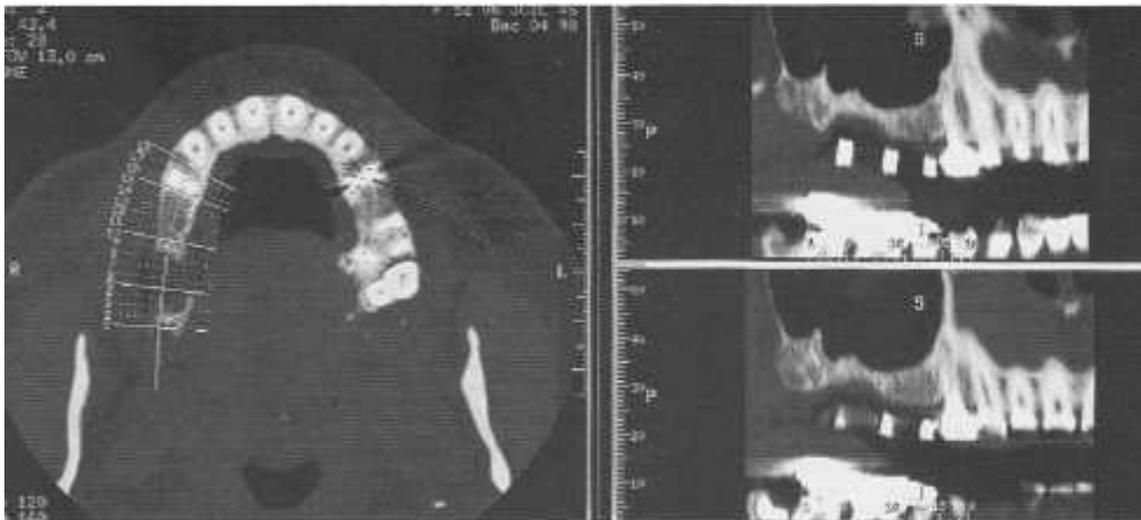


Figure 2 : Reconstructions panoramiques par Dentascan (avec guide radiologique en place) où l'on peut objectiver la perte de hauteur osseuse verticale sous le secteur sinusien.

Les déficits osseux verticaux pourront être traités par régénération osseuse guidée par :

- Greffe d'apposition :
 - autogène
 - allogène
- Distraction osseuse ou ostéotomie segmentaire
- Comblement du sinus maxillaire avec des :
 - blocs osseux autogènes ou allogéniques
 - particules osseuses autogènes ou allogéniques
 - xénogreffes
 - substituts osseux synthétiques

I.1.1.2: Les défauts osseux horizontaux :

Ils se caractérisent par un amincissement du rempart alvéolaire avec une dépression vestibulaire appréciable à la palpation (concavité vestibulaire).

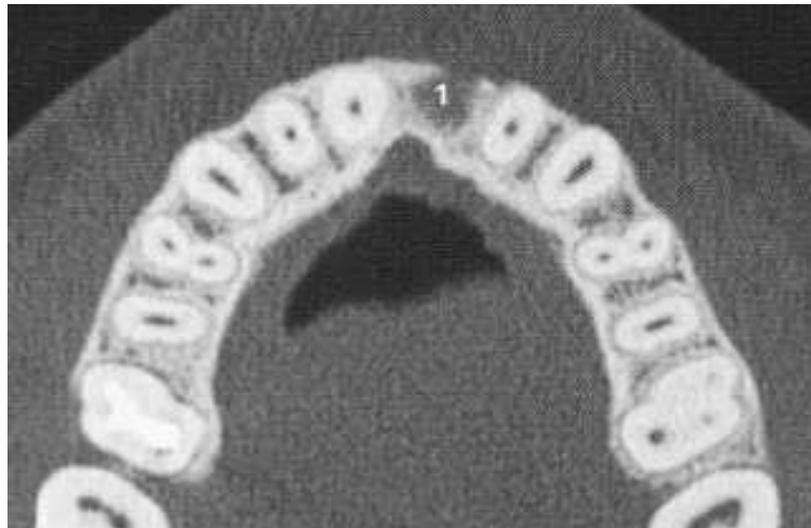


Figure 3 : Coupe axiale montrant la disparition d'une partie de la table vestibulaire après l'avulsion de l'incise centrale.

Différentes formes d'hypoplasies sont décrites, la plus avancée étant celle dite en « lame de couteau ».

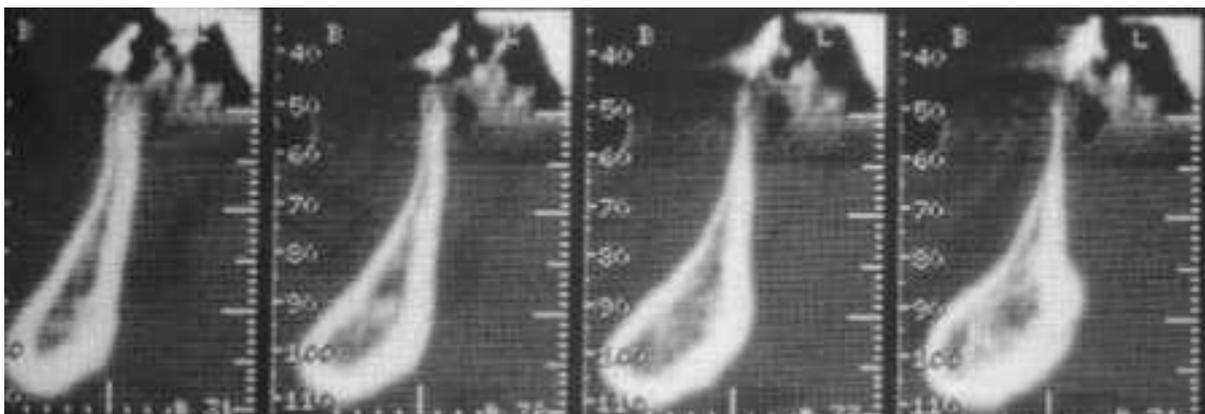


Figure 4 : Coupes sagittales objectivant une hypoplasie horizontale majeure (crête en lame de couteau) due à une agénésie des incisives.

L'hypoplasie horizontale sera d'autant plus importante que le nombre de dents manquantes est élevé.

Les déficits osseux transversaux peuvent être corrigés par :

- Greffe d'apposition :
 - autogène
 - allogène
- Régénération osseuse guidée

I.1.1.3 : Les défauts osseux mixtes :

Il s'agit d'une perte osseuse dans les deux dimensions combinant un déficit osseux horizontal et vertical.

I.1.2: Classifications :

I.A.2.1: En fonction de la densité osseuse :

La densité osseuse peut s'évaluer à l'aide de radiographies conventionnelles ou de tomographies. Selon Misch, le seul moyen d'évaluation fiable reste le scanner (ou, à l'heure actuelle, le cone beam)⁽⁵⁾⁽⁶⁾.

Une première classification de la qualité/densité osseuse (fondée sur l'histologie) a été donnée par Lekholm et Zarb en 1985.

Cette classification a ensuite été reprise par Misch en 1993. Il a également classifié en quatre types l'os des maxillaires⁽⁷⁾.

Densité 1 : os à corticale compacte dense.

- cet os est très dense.
- il est fortement minéralisé et peut donc supporter des pressions importantes. La stabilité osseuse est bonne.

La rareté des vaisseaux sanguins dans ce type d'os entraîne une vascularisation par le périoste, ce qui demande lors de l'intervention une préservation maximale de celui-ci.

Densité 2 : os à corticale épaisse et trabéculations lâches.

- cet os est une combinaison d'os cortical compact poreux à l'extérieur et d'os trabéculaire lâche à l'intérieur.
- c'est l'os le plus favorable à l'implantation car l'os cortical compact et l'os trabéculaire lâche assurent un support et un apport vasculaire adéquats.
- il est principalement retrouvé au niveau de la symphyse mentonnière et de la partie postérieure de la mandibule.

Densité 3 : os à corticale poreuse compacte et à trabéculations fines.

- la corticale, assez fine, est associée à de l'os spongieux à trabéculations fines.
- il est localisé au niveau antérieur et postérieur du maxillaire ainsi que, parfois, dans les zones postérieures de la mandibule.
- c'est l'indication de comblement sinusien maxillaire afin d'augmenter la surface de contact osseux avec l'implant prévu. L'os spongieux assure une bonne vascularisation.

Densité 4 : os sans corticale à trabéculations fines.

- cet os se rencontre fréquemment dans les zones postérieures des maxillaires édentés de longue date.
- généralement les crêtes sont larges mais de hauteur réduite.
- il s'agit également d'une indication d'augmentation du plancher sinusien afin d'accroître la hauteur osseuse sous-sinusienne et donc la surface de contact os/implant.

I.1.2.2 : En fonction du volume d'os :

Seibert (1983) distingue trois catégories de résorption osseuse des crêtes d'après leur morphologie et leurs composantes verticales et horizontales ^{(5) (8)} :

classe I : perte d'épaisseur des tissus osseux, hauteur normale ;

classe II : perte de hauteur des tissus osseux, épaisseur normale ;

classe III : combinaison de perte de hauteur et d'épaisseur des tissus.

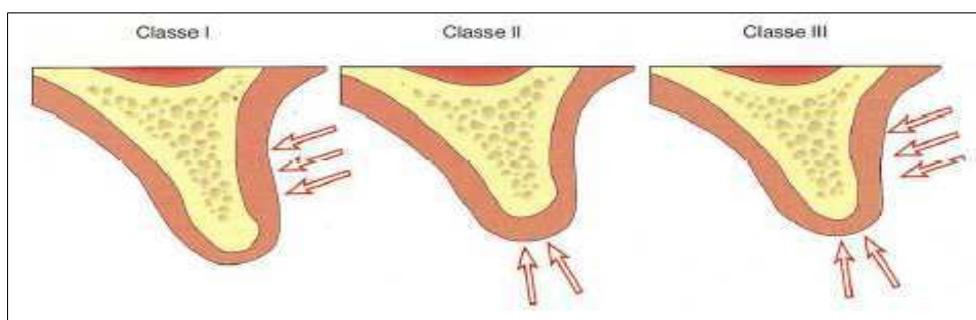


Figure 5 : Classification des défauts osseux selon Seibert

Allen et coll. (1985) ont quant à eux proposé une classification faisant intervenir la sévérité de la résorption alvéolaire sans tenir compte de la morphologie ⁽⁹⁾

- légère (< 3mm),
- modérée (3 à 6mm)
- ou sévère (> 6mm).

Le pronostic semblerait meilleur en cas de résorption horizontale (comparé à un défaut vertical ou mixte), et moins bon si plusieurs dents sont absentes ou si la perte d'attache est importante au niveau des dents adjacentes. ⁽⁸⁾

I.1.3 : Implications cliniques :

Aux différentes densités osseuses correspondent différentes forces exercées sur les maxillaires. Lorsqu'une dent disparaît, et donc ne transmet plus aucune force à l'os sous-jacent, le procès alvéolaire se remodèle et l'absence de contraintes entraîne une perte de masse osseuse (en volume comme en densité). Une insuffisance osseuse, une mauvaise densité ou qualité de l'os peut compromettre la stabilité primaire et donc la pérennité d'un implant ^{(6) (10) (11)}.

L'étude de Jaffin et Berman en 1991 rapporte un fort taux d'échecs rencontré avec des implants posés dans cet os de type 4⁽⁷⁾ (12).

I.2 : Régénération osseuse : techniques actuelles :

Rappels : L'os présente une excellente capacité de régénération répondant à un processus complexe associant ⁽¹³⁾ (14).

- des ostéoblastes (prolifération et maturation)
- la synthèse de la matrice et la minéralisation
- l'angiogenèse (indispensable pour la vascularisation et l'apport sanguin des cellules compétentes)
- la stimulation biologique, biochimique (BMP...)
- la stimulation mécanique (cas de la distraction osseuse)

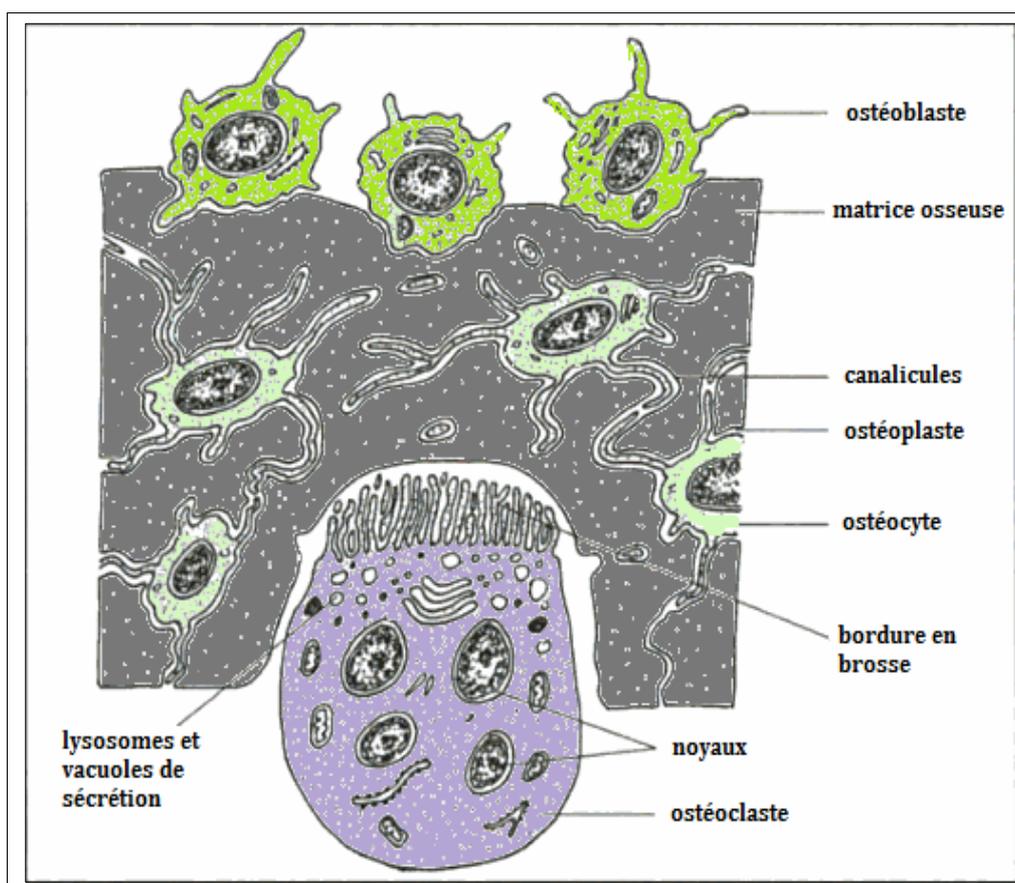


Figure 6 : Schématisation du tissu osseux.

Différentes techniques favorisant la régénération de l'os alvéolaire ont été développées ; tous ces procédés reposent sur les trois possibilités fondamentales de néoformation osseuse : ⁽³⁾

- **Ostéo-induction** : c'est la possibilité de néoformation osseuse à partir de cellules mésenchymateuses différenciées en cellules ostéocompétentes sous l'influence d'agents présents dans la matrice osseuse.

Cette propriété est possible grâce à la présence de facteurs ostéoinducteurs au sein de la matrice osseuse, ces facteurs étant communément appelés protéines morphogénétiques osseuses (=Bone Morphogenetic Protein, BMP) ⁽³⁾⁽¹⁵⁾.

Un matériau ostéo-inducteur est, par conséquent, un matériau contenant des facteurs (BMP) pouvant recruter et provoquer la différenciation de cellules mésenchymateuses pluripotentes en cellules ostéocompétentes (ostéoblastes), induisant de cette façon une néoformation osseuse. Ainsi, placé dans un site ectopique en absence d'os, un matériau ostéo-inducteur est capable d'induire une néoformation osseuse ⁽⁴⁾⁽¹⁶⁾.

- **Ostéo-conduction** : c'est la croissance osseuse à la surface d'un matériau ostéo-conducteur, à partir de l'os environnant. Selon Khoury et Günzl (2006), il s'agit de la repopulation de la partie minérale, du greffon qui va servir de support aux ostéoblastes provenant du site receveur de la greffe ⁽⁴⁾⁽¹⁴⁾⁽¹⁵⁾.

Un matériau est donc ostéo-conducteur lorsqu'il se comporte comme un support passif pour la formation osseuse en favorisant l'apposition d'un néo-os sur ses surfaces, c'est-à-dire lorsqu'il facilite l'invasion du greffon par des bourgeons vasculaires et par des cellules mésenchymateuses indifférenciées qui produiront un tissu ostéoïde (lequel sera ultérieurement remplacé par de l'os mature) ⁽¹⁵⁾⁽¹⁷⁾.

- **Ostéogénèse** : il s'agit de la croissance osseuse à partir des cellules vivantes et présentes au sein du greffon ⁽⁴⁾⁽¹³⁾.

Un matériau ostéogénique est donc un matériau possédant des cellules ostéocompétentes capables de former un tissu osseux. Autrement dit, un tel matériau fournit lui-même les ostéoblastes viables pour la néoformation du tissu ostéoïde et son remplacement ultérieur par du tissu osseux. Sont ainsi ostéogéniques les cellules vivantes d'un greffon autogène capables de former directement de l'os ⁽¹⁶⁾⁽¹⁷⁾.

L'os autogène est le seul matériau capable d'induire une ostéogénèse.

I.2.1 : Régénération osseuse guidée ou ROG:

I.2.1.1 : Principes :

La ROG est un processus biologique par lequel l'architecture et la fonction d'un tissu osseux lésé sont entièrement restaurées. Cette technique repose sur la compréhension de la cinétique de la migration cellulaire au cours de la cicatrisation des différents tissus. Les cellules épithéliales migrent plus rapidement que les cellules du tissu conjonctif et du tissu osseux. Le concept de régénération osseuse guidée est fondé sur l'interposition d'une membrane qui permet de sélectionner et de guider les cellules osseuses pendant la période de cicatrisation.

L'os se forme à partir du caillot sanguin par l'activation des ostéoblastes et des cellules ostéoprogenitrices. La membrane permet de protéger ce caillot^{(18) (19)}.

Les membranes peuvent être classées en deux grandes catégories : les résorbables (en collagène bovin ou porcin, ou en polymère de polyglycolC, ou encore en matériau synthétiques) ; et les membranes non résorbables (polytétrafluoroéthylène expansé, renforcées ou non en titane, ou des membranes en titane pur)^{(20) (21)}.

La régénération osseuse provient alors exclusivement des cellules de l'os alvéolaire avoisinant et du caillot sanguin. De ce fait, la formation d'un espace à trois dimensions avec des murs osseux est primordiale pour le succès de la greffe^{(20) (21)}.

I.2.1.2 : Limites :

Pour la réussite de cette technique avec membrane, trois conditions doivent être scrupuleusement respectées :

- le maintien d'un espace entre la membrane et le site à traiter
- le recouvrement intégral de la membrane par le lambeau
- l'immobilisation parfaite de la membrane par suture au lambeau ou par des vis de fixation^{(20) (21)}.

L'absence de stabilité de la membrane, son plissement sous le lambeau ou son contact avec des dents adjacentes entraînent l'apparition de lésions inflammatoires qui peuvent aboutir à un échec et à une contamination bactérienne du site greffé^{(20) (21)}.

L'inconvénient de cette technique membranaire, outre la dextérité de l'opérateur, est un délai de cicatrisation supérieur à celui d'une transplantation d'os autologue sans membrane. En effet, en raison de l'absence de nutrition par les vaisseaux du périoste, les greffons osseux recouverts d'une membrane sont moins revascularisés en surface et ont plus de risque de résorption par la suite, notamment lors de la ré-intervention pour la mise en place des implants⁽¹⁴⁾.

I.2.2 : Greffes et matériaux greffés :

Faire une greffe, en général, consiste à transférer, sur une personne à qui il manque, un tissu emprunté soit:

- à soi-même : autogreffe
- à un autre individu de la même espèce mais de formule génétique différente : allo ou homogreffe
- à un individu d'une autre espèce : xéno ou hétéro-greffe

Il peut également s'agir d'un matériau de substitution synthétique⁽⁴⁾.

En chirurgie pré-implantaire, l'apport osseux au maxillaire ou à la mandibule poursuit deux objectifs principaux :

- la réalisation d'un contour et d'un volume osseux satisfaisant,
- la création d'un support mécanique de manière à faciliter la mise en place d'implants dans des conditions permettant leur ostéo-intégration⁽²⁰⁾.

Il faut que le greffon, quel qu'il soit, ait des propriétés/capacités particulières ostéo-induction ou ostéo-conduction, ou d'ostéogénèse afin de rendre possible la néoformation osseuse.

I.2.2.1 : Autogreffes :

I.2.2.1.1 : Principes :

Un greffon autogène est un matériau vivant composé d'un squelette minéralisé qui emprisonne la matrice organique et la moelle osseuse vascularisée⁽⁴⁾. C'est la partie organique du greffon qui contient les protéines (collagène et BMP ...) et les cellules spécialisées dans la formation osseuse. La présence de cellules ostéo-inductrices et de facteurs de croissance va stimuler la prolifération des ostéoblastes et l'apposition osseuse. De ce fait, le greffon autogène est le seul à avoir les trois propriétés : ostéo-induction, ostéo-conduction et ostéogénèse. Au final, c'est de par ses nombreuses propriétés que la greffe osseuse autogène, parmi les différents matériaux pouvant être utilisés pour les comblements et les greffes, s'impose comme la technique de choix^{(12) (22) (23)}.

Le maxillaire et la mandibule sont souvent utilisés comme sites donneurs. Des prélèvements peuvent aussi être réalisés en extra-oral au niveau de la calvaria et de la crête iliaque.⁽⁴⁾

- *Les sites intra-oraux :*

Leurs greffons, d'origine membraneuse, sont essentiellement spongieux au maxillaire et corticaux à la mandibule. Les quantités disponibles dépendent du développement de la symphyse et des régions angulaires^{(4) (24) (25)}.

Que le prélèvement soit au niveau de la tubérosité, du ramus ou de la symphyse mentonnière l'inconvénient majeur reste la quantité d'os prélevée^{(4) (24) (25)}.

- *Les sites extra-oraux :*

En ce qui concerne les prélèvements au niveau extra-oral, si la quantité osseuse prélevée est supérieure, le type d'os n'est pas identique et les suites opératoires sont plus lourdes pour le patient⁽⁴⁾.

Différentes techniques existent :

- La greffe d'apposition de blocs osseux autogènes.

L'os peut être greffé sous forme de blocs corticaux (très solides) ou cortico-spongieux. Ces derniers sont intéressants car ils connaissent une revascularisation plus rapide et plus dense ; la revascularisation est la clef du succès de la greffe^{(3) (26) (27) (31)}.

Après la transplantation du greffon, deux phénomènes se produisent en alternance :^{(14) (15)}

- le bloc est d'abord reconnu comme élément étranger qui doit être détruit par l'activité macrophagique.

- ensuite un processus d'inflammation apparaît faisant suite au traumatisme généré par la chirurgie elle-même : libération de *Platelet-Derived Growth Factor (PDGF)* par les plaquettes stimulées pour induire la prolifération cellulaire et l'angiogenèse et du *Transforming Growth Factor α (TGF α)* qui stimule, la différenciation du tissu conjonctif. Cette alternance d'activité entre les macrophages et PDGF et TGF α ne s'achève que lorsque la revascularisation est terminée car c'est la diminution de l'hypoxie qui inhibe l'activité macrophagique. Cette revascularisation peut provenir du lit osseux receveur ou des tissus mous adjacents^{(14) (15)}.

- Le soulevé de sinus :

En fonction du déficit osseux à corriger il est réalisé soit de façon interne (à partir du site de forage de l'implant) ou externe par un accès vestibulaire^{(14) (28)}.

Les différentes études montrent des résultats variables en fonction du type et de la quantité de matériaux alloplastiques utilisés pour combler le sinus. Elles permettent aussi de monter que^{(29) (30)}:

- la régénération osseuse se déroule plus vite quand de l'os autogène est utilisé,
- plus la part de matériau alloplastique est importante, plus le délai est long jusqu'à la pose et la mise en charge implantaire.

- Greffes d'apposition d'os particulaire et techniques membranaires :

Il est possible de créer un espace à l'aide d'une membrane qui sera alors comblé par de l'os autogène broyé après son prélèvement, ou des substituts osseux sous forme de granulés⁽³¹⁾. Ces substituts servent alors de trame pour la colonisation par les cellules ostéogéniques provenant du sang du lit receveur (puisque'il y a alors une exclusion des vaisseaux de périoste). De la même façon que pour la Régénération Tissulaire Guidée

(RTG), la membrane doit être parfaitement adaptée et immobile, elle permet alors d'isoler le comblement osseux des tissus mous, afin de permettre une ossification plus dense^{(4) (32)}.

- ***Cas particulier : La distraction osseuse :***

Il s'agit d'un processus de néoformation osseuse entre 2 segments résultant d'une ostéotomie, en réponse à l'application progressive d'une tension au travers du cal régénéré. La distraction osseuse (DO) est une technique utilisée depuis le début du XX^{ème} siècle⁽³⁴⁾⁽³⁵⁾⁽³⁶⁾, mais qui est réellement devenue révolutionnaire dans les années 50 grâce aux travaux du célèbre orthopédiste russe ILLIZAROV, qui travaille alors sur les os longs des membres. C'est Mc CARTHY qui a été le premier à transposer les grands principes d'Ilizarov au niveau de la sphère oro-faciale notamment pour le traitement des grands syndromes polymalformatifs à partir de 1989⁽³⁷⁾⁽³⁸⁾. Les premières applications buccales concernaient alors l'allongement de la branche hypoplasique de la mandibule. C'est à partir de la réussite des travaux de CHIN et TOTH en 1996, et grâce aux distracteurs de TRACK en 1997, que la distraction verticale du rebord alvéolaire, permettant l'augmentation pré-implantaire, est devenue possible. Aujourd'hui, la distraction osseuse est reconnue mondialement^{(39) (40) (41)}.

La DO se déroule en deux phases : la première dite *de différenciation et de prolifération* ; et la seconde dite *de consolidation*, pendant laquelle, la minéralisation du tissu créé (lors de la première phase) s'achève. De cette façon, la réunification des fragments séparés, par ostéotomie, est alors possible.

Pour que la DO soit un succès, il faut respecter certains principes^{(34) (37)}:

- Respect de la vascularisation du cal de distraction par préservation maximale du périoste. En effet, la formation du cal conjonctif est fonction de la vascularisation et de l'apport en oxygène.
- Stabilité du cal car son instabilité entraînerait la dégénérescence des tissus en croissance en fibrose cicatricielle.
- Maintenir une fréquence de distraction adaptée ; les tissus croissent et cicatrisent proportionnellement à une stimulation élevée et constante.
- respect d'une vitesse de distraction régulée.

De nombreuses études ont montré qu'une vitesse trop élevée génère du tissu fibreux, et à contrario une vitesse trop faible aboutit à une consolidation prématurée du cal osseux. L'activation de 1 mm/jour moyennant 2 à 3 distractions dans la journée représente, selon les résultats des différentes études l'idéal pour la distraction verticale.^{(34) (37) (42) (43) (44) (45)}

Le principal avantage de cette technique de régénération osseuse par distraction est qu'elle concerne tous les tissus histologiques adjacents : vaisseaux, nerfs, muscles, peau, muqueuse, ligaments, cartilage et périoste. Cependant la durée des protocoles actuels et le matériel utilisé peuvent être améliorés selon deux axes de recherche : l'allègement des matériels, et surtout par l'association aux procédés d'ingénierie tissulaire.

I.2.2.1.2: Avantages et inconvénients :

L'avantage majeur est l'origine du greffon cependant, la disponibilité de cet os autogène peut constituer un inconvénient lors de reconstructions importantes. Il faut dans ces cas envisager de lourdes interventions (prélèvement crânien, iliaque) nécessitant l'intervention d'un chirurgien maxillo-facial (ou ORL ou neurochirurgien...) et la disponibilité d'infrastructures compatibles à la réalisation d'anesthésies générales. Ces techniques sont aussi très opérateur dépendantes^{(20) (33)}.

Dans le cas de la distraction osseuse il existe encore d'autres inconvénients comme l'encombrement du distracteur, la mise en place de celui-ci et le risque infectieux^{(20) (33)}.

I.2.2.2: Allogreffes :

I.2.2.2.1 : Principes :

Les allogreffes : sont des tissus d'origine humaine issus d'os longs (généralement des têtes fémorales congelées à -197°C dans de l'azote liquide), prélevés sur cadavres ou sur donneurs vivants (allogreffe fraîche, dans le cadre de la mise en place de prothèses orthopédiques) et subissant un certain nombre de traitements.

Après traitement la matrice osseuse est dépécifiée, acellulaire, mais des facteurs de croissance et protéines matricielles sont encore emprisonnés dans la fraction minérale. Ils seront libérés lors du processus de remodelage osseux physiologique ou par nouveau traitement chimique de déminéralisation (*Deminaralized Freeze Dried Bone Allograft*,

DFDBA) conférant alors à ces biomatériaux une propriété encore discutée d'ostéoinduction^{(46) (47) (48)}.

I.2.2.2.2 : Avantages et inconvénients :

• Avantages :

- Greffon disponible en quantité non limitée.
- Logettes intertrabéculaires libres facilitant l'ostéoconduction.
- Facilité de conservation.
- Un seul site opératoire.
- Totalement résorbable après néoformation osseuse.
- Forme et taille standardisées des blocs corticospongieux et des particules.
- Manipulation aisée pour obtenir une configuration prédéfinie pour les blocs corticospongieux.

• Inconvénients :

- Risque minime de transmission d'agents pathogènes (aucun cas relaté à ce jour après sécurisation microbiologique)
- Risque minime d'une réaction immunologique.
- Propriétés mécaniques variables selon le traitement et l'origine^{(46) (47) (48)}.

I.2.2.3 : Xénogreffes :

I.2.2.3.1 : Principes :

Les greffons sont prélevés chez une espèce et implantés chez une espèce différente. En général le greffon correspond à un prélèvement animal, le plus souvent bovidé. Après traitements thermiques et chimiques, ils contiennent une matrice inorganique minéralisée despecifiée, acellulaire et sans facteurs de croissance. Il s'agit donc d'un simple échafaudage conduisant la migration vasculaire et cellulaire. Propriété uniquement ostéoconductive.

Aujourd'hui, et en l'absence de tout risque de contamination, les biomatériaux d'origine animale, type Bio-Oss® sont les plus couramment utilisés^{(3) (46)}.

I.B.2.3.2: Avantages et inconvénients:

• Avantages :

- Greffon disponible en quantité non limitée.
- Structure poreuse facilitant l'ostéo-induction taille granulométrie.
- Facilité de conservation.
- Un seul site opératoire.

• Inconvénients :

- Risque minime de transmission d'agents non conventionnels.
- Partiellement résorbable après néoformation osseuse.
- Risque minime d'une réaction immunologique (les procédés de purification tendant à faire disparaître toute antigénicité)^{(46) (49)}.

I.2.2.4 : Matériaux synthétiques :

I.2.2.4.1 : Principes :

Les matériaux synthétiques: La greffe alloplastique correspond à la greffe d'un matériau d'origine chimique ou synthétique. Les matériaux alloplastiques sont donc des matériaux synthétiques, ou désorganifiés, obtenus à partir de différentes sources possibles et considérés comme des céramiques bioactives à base de phosphate ou de carbonate de calcium. Ils peuvent également être constitués de silicate, comme les bioverres, avec des proportions de calcium et de phosphate identiques à celles du tissu osseux. Ces matériaux synthétiques sont soit anorganiques, soit organiques. Ils doivent être biocompatibles, bioréactifs, autrement dit capables d'établir des liaisons chimiques avec le tissu osseux et ne pas induire de contamination infectieuse ou de risque immunologique ⁽¹⁵⁾. Les matériaux alloplastiques n'ont pas de propriétés ostéo-inductrices par eux-mêmes, ni de propriétés ostéogéniques. Ces biomatériaux de comblement sont biologiquement inertes et ne servent que de support passif à la réparation osseuse. Ils ne sont qu' ostéo-conducteurs.

(46) (49) (50) (51).

Ce sont :

- Les hydroxyapatites d'origine naturelle ou synthétique (Cerapatite®)⁽⁵²⁾⁽⁵³⁾.
- Les phosphates tricalciques (Ceros®, Cerasorb®, RTR®)⁽⁵⁴⁾⁽⁵⁵⁾.
- Les polymères⁽⁵¹⁾⁽⁵⁶⁾.
- Les carbonates de calcium, le corail : Biocorail®⁽⁵⁷⁾.
- Les céramiques biphasées (Calciresorb 35®).
- Les composites (Calciresorb-collagen®, Biostit®...etc)⁽⁶⁰⁾.
- Les bioverres (Perioglas®, Biogran®)⁽⁵⁹⁾.

I.2.2.4.2 : Avantages et inconvénients :

• Avantages :

- Greffon disponible en quantité non limitée
- Un seul site opératoire
- Aucun risque de transmission d'agents pathogènes non conventionnels
- Pas de risque immunologique
- Les matériaux à base de phosphate tricalcique sont :
 - bio-actifs (leurs macroporosités facilitent l'ostéoconduction)
 - biodégradables

• Inconvénients :

- Nombreuses variétés avec des propriétés mécaniques et biologiques très diverses :
 - les matériaux tricalcium phosphate présentent une biodégradation variable (résorption lente ou non résorbable) selon leurs compositions
 - les matériaux à base d'alumine sont : bioinertes (aucune conduction de la formation osseuse) et non résorbables
- Fragilité des blocs alloplastiques en zone de contrainte ⁽⁴⁶⁾⁽⁴⁹⁾⁽⁵¹⁾⁽⁶⁰⁾

Les greffons, qu'ils soient d'os cortical ou spongieux, ont gardé les structures architecturales de l'os en bénéficiant de techniques de conservation très élaborées. Des banques tissulaires assurent la conservation, la transformation et la distribution de greffons humains en garantissant :

1. une biocompatibilité par élimination des éléments pouvant entraîner une réaction immunologique (sang, moelle, composants cellulaires)
2. l'absence de transmission d'agents pathogènes après traitement actif contre les virus, bactéries et prions⁽²⁰⁾⁽⁴⁶⁾⁽⁴⁹⁾.

Les matériaux de substitution peuvent être résorbables ou non, avec des temps de résorption très variables.

I.3 : Conclusion :

L'autogreffe reste le « gold standard » de la reconstruction osseuse⁽²²⁾⁽²⁹⁾⁽³¹⁾. En effet, elle est la seule capable de fournir des facteurs de croissance ostéo-inducteurs, des cellules ostéogéniques et un « échafaudage » ostéo-conducteur et la compatibilité immunitaire. Mais la quantité d'os disponible est souvent limitée et la morbidité du site donneur n'est pas négligeable.

Le recours à l'allogreffe représente une alternative intéressante aux autogreffes. Cependant, et malgré des préparations élaborées, le risque de transmission de maladies du donneur ne peut être complètement évité. Les substituts synthétiques quant à eux manquent de propriétés ostéo-inductrices ou ostéogéniques.

Les limites des autogreffes, allogreffes, hétérogreffes et des différents matériaux synthétiques ont motivé la recherche d'alternatives.

L'ingénierie tissulaire actuelle, pourrait constituer un espoir rationnel de simplification des techniques de greffes ainsi que de leur démocratisation.

PARTIE II :

L' INGENIERIE TISSULAIRE

II.1 : Définition- Principes :

Après une blessure, un tissu lésé tente de revenir à son état physiologique antérieur.

Il peut alors se produire trois phénomènes :

- Réparation : le processus de « cicatrisation » qui permet de restaurer la fonction mais pas l'architecture initiale du tissu
- Régénération : c'est un processus conduisant à la restitution de la fonction du tissu lésé avec une architecture semblable à celle de l'état initial.
- La cicatrisation *ad integrum* est le cas idéal : il s'agit d'un retour à l'état initial permettant la restitution parfaite de l'architecture et de la fonction du tissu lésé. Elle est à différencier de la cicatrisation excessive qui aboutit à une fibrose tissulaire pouvant laisser une cicatrice.

Cette capacité de régénération ou de cicatrisation *ad integrum* est présente chez certaines espèces animales telles que les salamandres ; ce qui laisse présager que nous en étions également pourvu mais que nous l'avons certainement perdu au cours de l'évolution ⁽⁶¹⁾.

En médecine et en chirurgie, de nombreuses stratégies sont employées à des fins régénératives telles que les autogreffes et les allogreffes ainsi que l'utilisation de matériaux synthétiques. Cependant leurs limites ont poussé les chercheurs à se poser la question de la thérapeutique idéale pour le remplacement des pertes tissulaires.

C'est de l'idée que, l'utilisation du même tissu sain pour combler la perte tissulaire, qu'est né le concept d'ingénierie tissulaire ou régénération tissulaire.

L'ingénierie tissulaire se traduit comme « *l'application des principes et des méthodes de l'ingénierie et des sciences du vivant à travers les connaissances fondamentales des structures et des fonctions des tissus normaux et pathologiques et le développement des substituts biologiques pour restaurer, maintenir ou améliorer des fonctions.* » (National Science Foundation)

Autrement dit, l'ingénierie tissulaire est l'ensemble des techniques utilisées pour régénérer un tissu ou un organe détruit ou perdu⁽⁶²⁾. Elle s'attache à « recréer » l'agencement histologique et fonctionnel de l'organe ou du fragment de tissu manquant ou défaillant⁽⁶³⁾ soit par confection in vitro d'organes ou tissus bio-artificiels, ou directement la régénération in situ par apport de cellules compétentes ou de facteurs bioactifs.

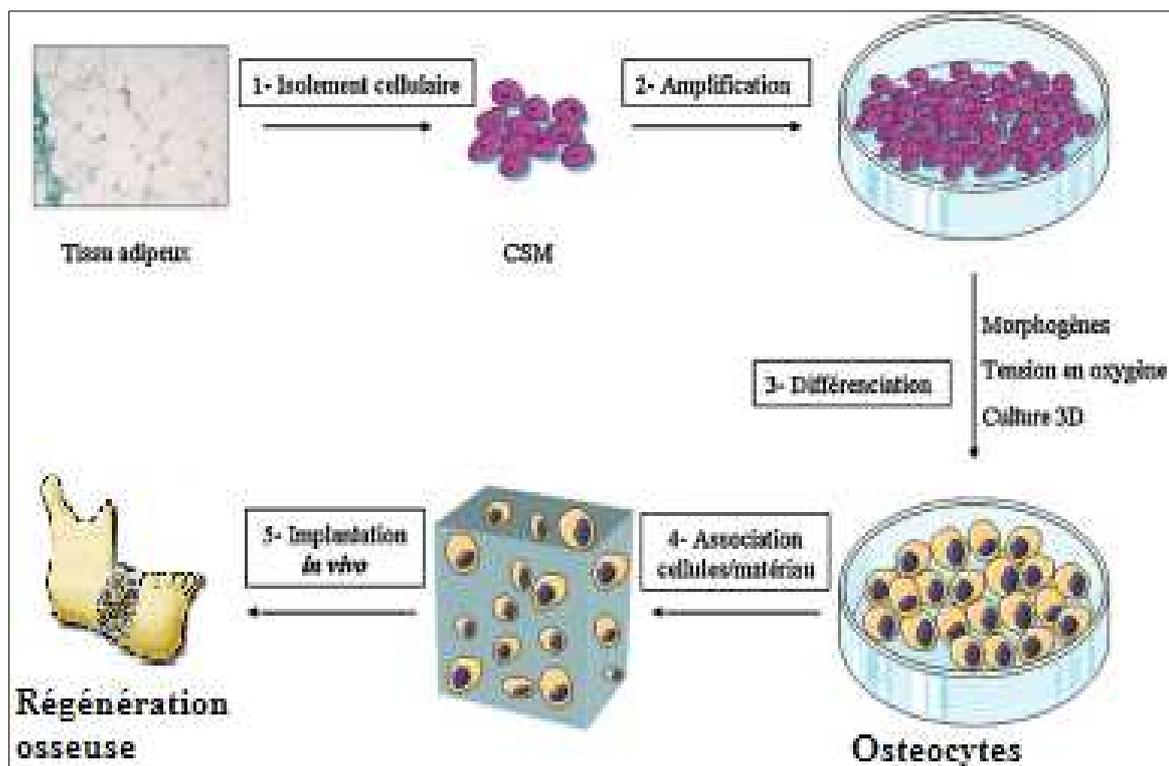


Figure 7 : Principe de l'ingénierie tissulaire en médecine régénérative : des cellules compétentes sont prélevées chez le patient lui-même, puis mises en culture. Elles sont ensuite disposées sur un support tridimensionnel reconstituant leur matrice extracellulaire. Elles sont alors soumises à des stimuli mécaniques et biochimiques permettant leur différenciation. L'ensemble (cellules + scaffold + signaux) est enfin réimplanté chez le patient dans le but de régénérer l'organe perdu.

Cette nouvelle discipline, à la pointe des avancées technologiques, se trouve au carrefour de l'essor des biomatériaux, des progrès de la biologie cellulaire notamment de la thérapie cellulaire du fait de la multi-potentialité des cellules souches, de l'amélioration du génie des procédés et de la thérapie génique, et, enfin, l'utilisation des facteurs de croissance.

L'ingénierie tissulaire et la stimulation de la régénération tissulaire sont en plein développement sur le plan expérimental et industriel, et les applications cliniques sont déjà nombreuses^{(64) (65) (66)}.

L'ingénierie tissulaire comme nouveau moyen thérapeutique est construite sur le biomimétisme et repose sur la compréhension de l'interaction de trois éléments : des cellules, des signaux et un support (ou scaffold). Ce dernier possède des propriétés physico-chimiques qui favorisent sa colonisation par des cellules, qui guident leur différenciation et autorisent la transmission de signaux^{(66) (67)}.

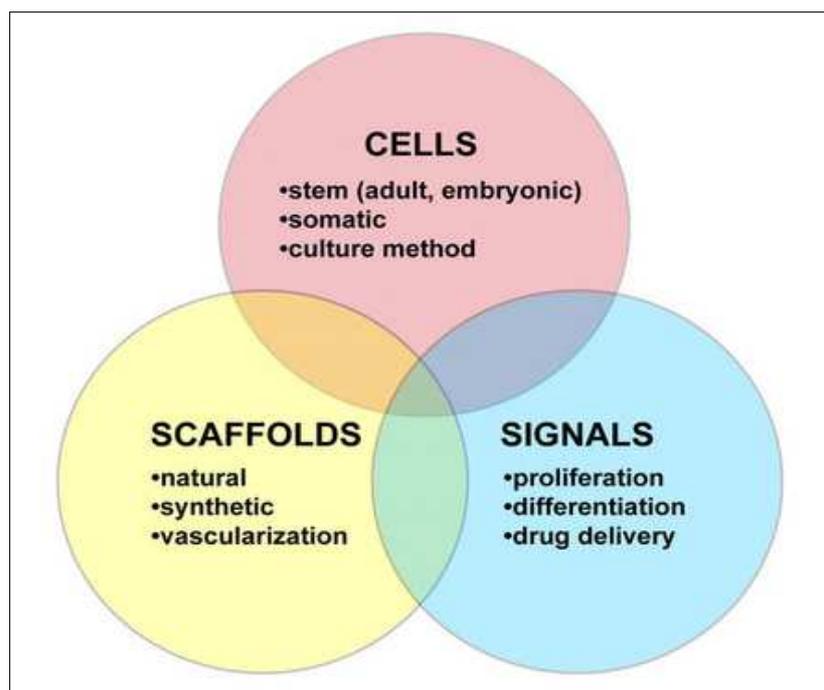


Figure 8 : Schéma représentant la Triade de l'ingénierie tissulaire.

Cette triade d'éléments constituant l'ingénierie tissulaire n'est pas sans rappeler la composition propre de nos tissus et organes qui sont essentiellement faits de cellules avec leur matrice extracellulaire (scaffold) et du système de signalisation intercellulaire.^{(68) (69)}.

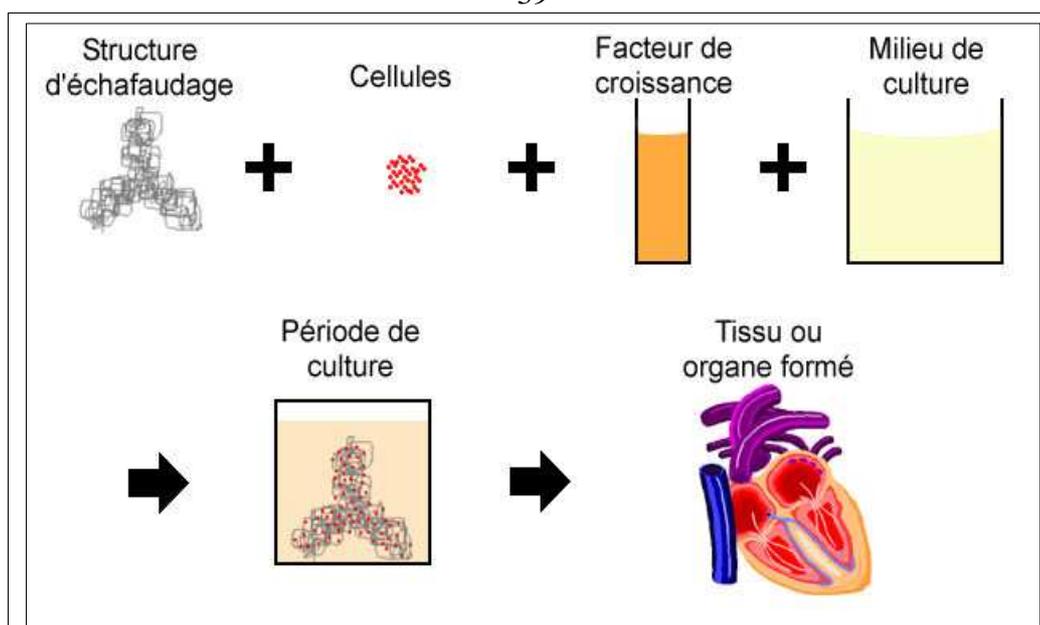


Figure 9 : Principe de néoformation d'organe par ingénierie tissulaire.

II.2 : Stratégies de l'ingénierie tissulaire :

Chacun des composants de l'ingénierie tissulaire cités au-dessus représente une des différentes approches de l'ingénierie tissulaire : respectivement la transplantation cellulaire, la conduction et l'induction. Elles peuvent être employées individuellement ou en combinaison, afin d'améliorer la régénération du néo tissu fonctionnel⁽⁶⁹⁾.

II.2.1 : Approche conductive :

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

Dans l'exemple de la régénération tissulaire guidée (RTG), c'est l'utilisation de la membrane, afin de protéger le caillot sanguin source de cellules intervenant dans la cicatrisation parodontale, qui constitue le mécanisme d'ostéoconduction^{(69) (70) (71)}.

II.2.2 : Approche inductive :

Cette approche consiste à recruter et activer des cellules compétentes à proximité du déficit tissulaire par l'utilisation de signaux biologiques spécifiques. L'origine de ce mécanisme vient de la découverte des Bone Morphogenic Proteins (BMPs) et de leur effet « ostéoinducteur » permettant la formation d'os dans des sites ectopiques à partir de poudre d'os déminéralisée. (Urist 1965)^{(69) (70) (71) (72)}.

II.2.3 : Transplantation cellulaire :

Elle consiste à transplanter directement des cellules ayant été cultivées et amplifiées in vitro, au laboratoire. Après avoir été prélevées, les cellules sont multipliées selon les principes de la biologie cellulaire, puis ensemencées sur un support afin de les réimplanter. C'est la multipotentialité des cellules souches utilisées qui rend possible et efficace la transplantation cellulaire^{(69) (70) (71)}.

Cette approche reflète bien le caractère multidisciplinaire de l'ingénierie tissulaire.

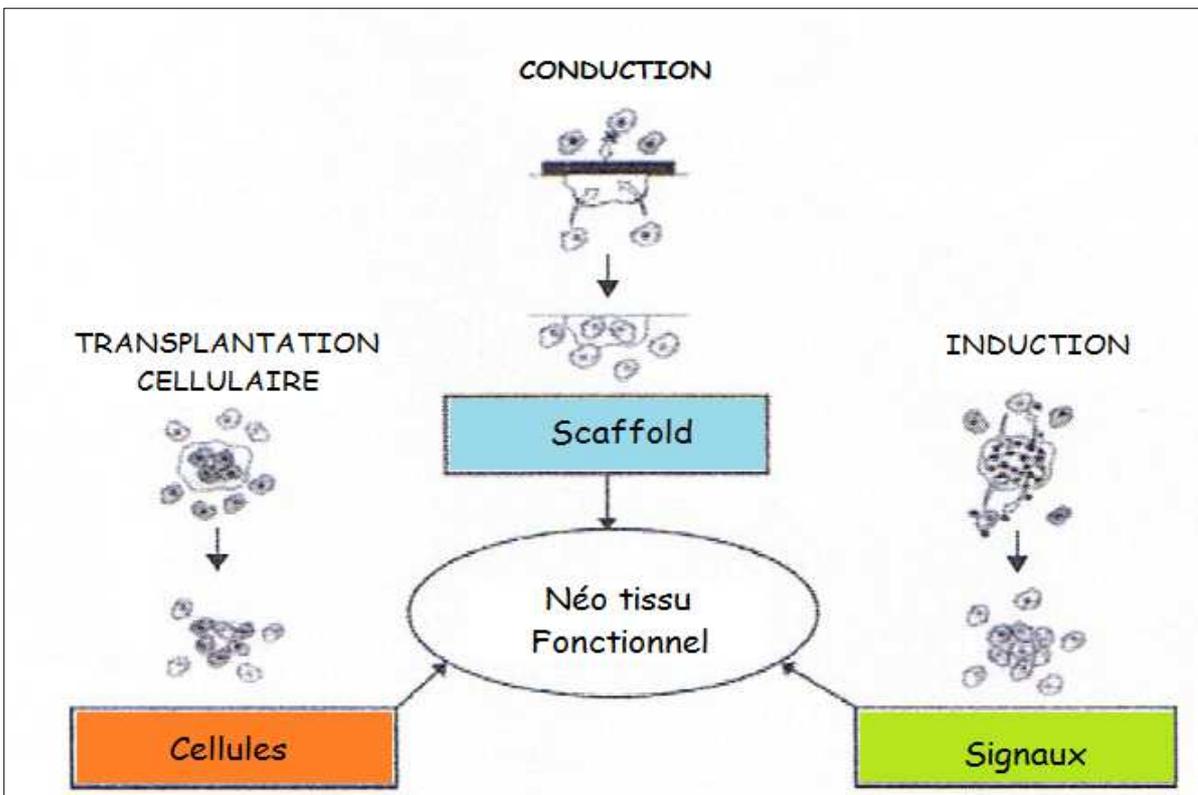


Figure 10 : Schéma représentant les trois éléments essentiels de l'ingénierie tissulaire et les stratégies auxquelles ils conduisent.

Approche conductive par interposition d'une membrane passive permettant la croissance des cellules sélectionnées. Approche inductive par activation des cellules directement présentes à l'aide de signaux spécifiques. Transplantation cellulaire par apport direct de cellules compétentes.

II.3 : Les outils de l'ingénierie tissulaire :

Comme nous venons de le voir, le principe de l'ingénierie tissulaire est d'associer un biomatériau biocompatible ensemencé avec des cellules appropriées ou chargé de molécules biologiquement actives afin de favoriser la différenciation et la maturation cellulaire vers le tissu à régénérer. C'est la combinaison des différents outils de l'ingénierie tissulaire qui permet d'induire une régénération tissulaire optimale⁽⁷³⁾⁽⁷⁴⁾.

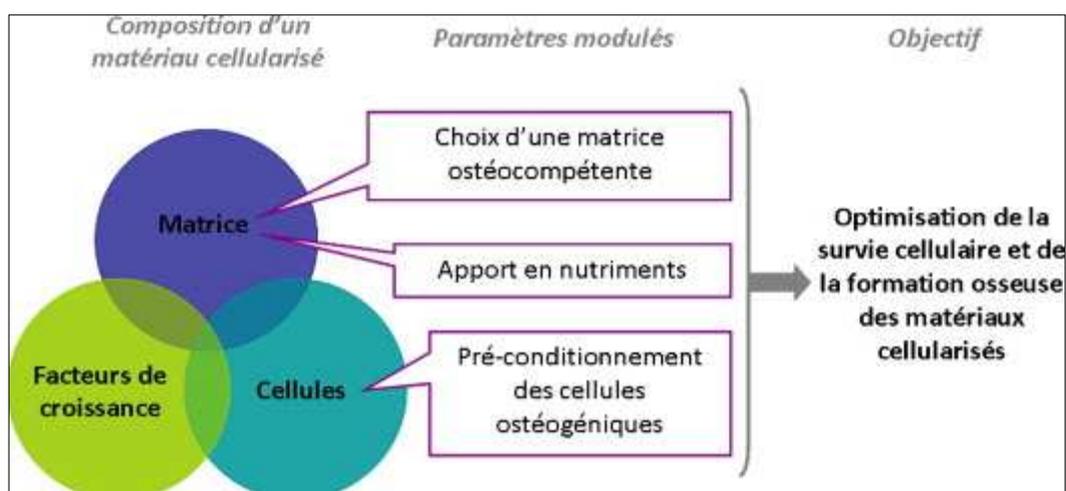


Figure 11 : Cahier des charges des éléments de l'ingénierie tissulaire.

II.3.1 : Thérapie cellulaire et cellules souches :

II.3.1.1 : Les cellules souches :

L'ensemble de l'organisme est constitué de cellules provenant toutes d'une unique cellule-œuf elle-même issue de la fécondation de l'ovule par un spermatozoïde. C'est cette première cellule qui, par de multiples divisions, donnera vie à n'importe quel type cellulaire⁽⁷⁷⁾.

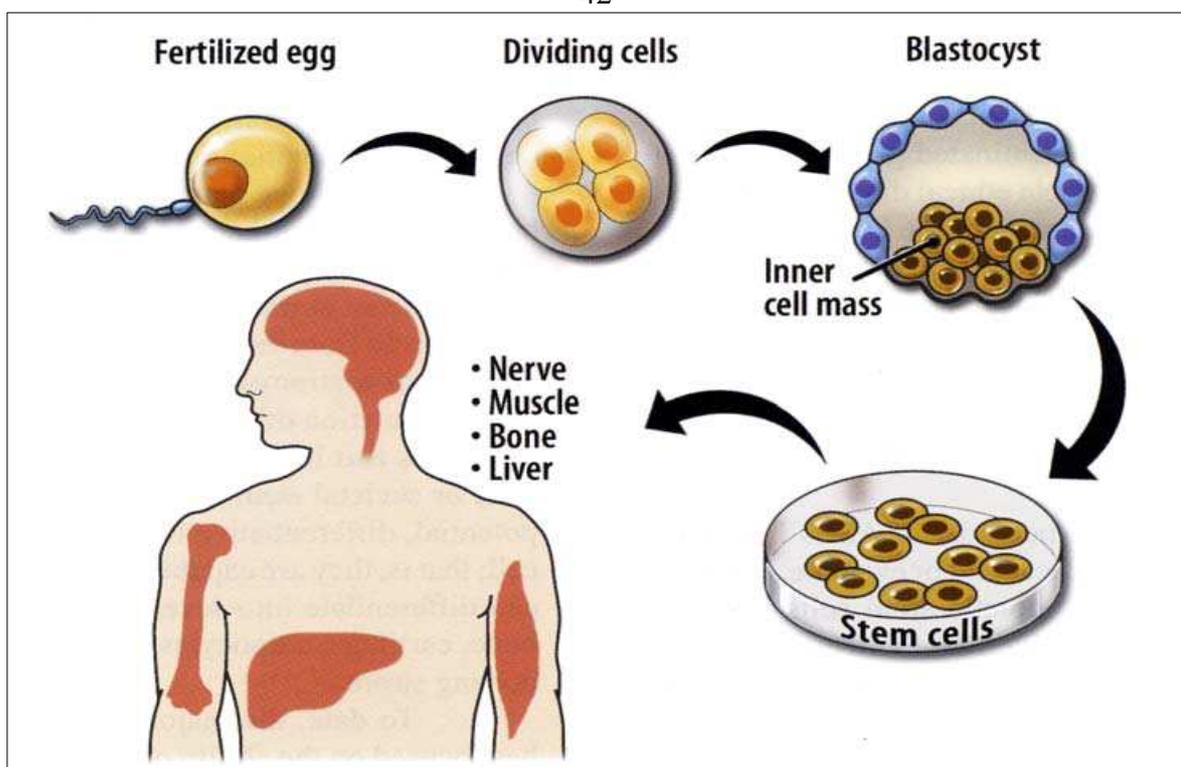


Figure 12 : Multipotentialité des cellules souches embryonnaires.

Une cellule souche est une cellule caractérisée par ses capacités d'auto-renouvellement, de différenciation et de prolifération. C'est-à-dire ses capacités de multiplication à l'identique d'un côté pour produire d'autres cellules souches et sa différenciation pour engendrer des cellules spécialisées constituant les différents tissus de l'organisme.

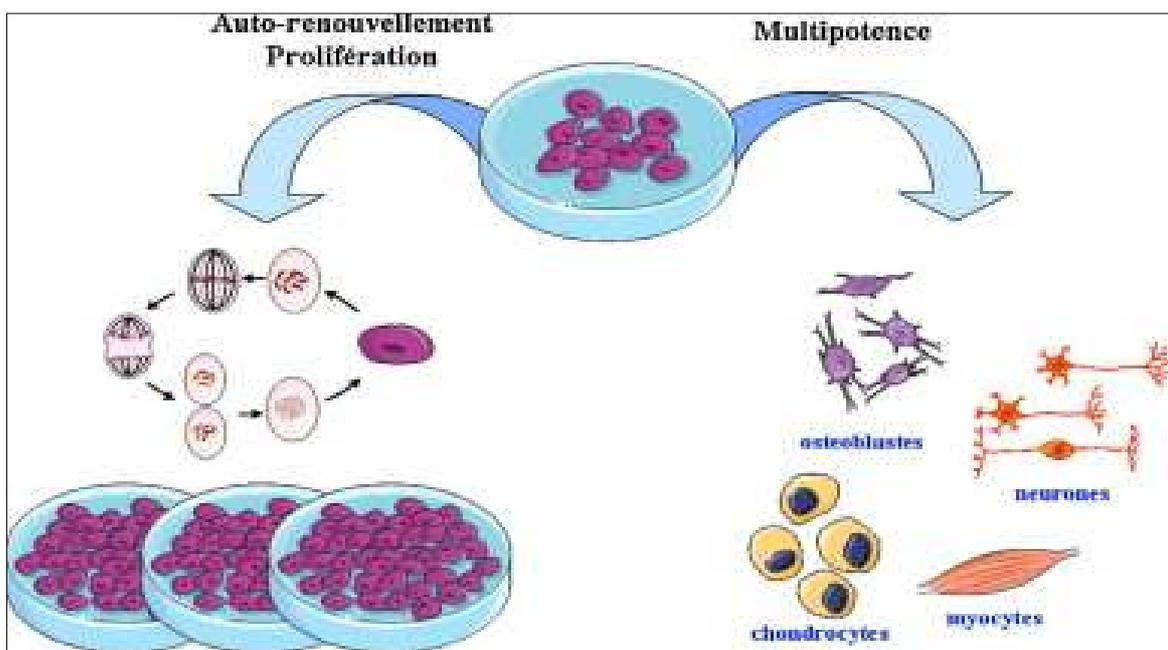


Figure 13: Caractéristiques des cellules souches mésenchymateuses (CSM).

Les CSM sont définies par leurs capacités d'autorenouvellement/prolifération et de différenciation.

L'idée de l'existence des cellules souches chez l'embryon, le fœtus et le jeune enfant indispensables à son développement n'étonne personne. Cependant leur existence dans les tissus adultes est plus surprenante.

Il existe quatre types de cellules souches :

- Les cellules souches **TOTIPOTENTES** (« tous pouvoirs ») : ce sont les cellules capables de former un être humain dans son ensemble. Ces cellules forment l'embryon dans les quatre premiers jours de son développement.
- Les cellules souches **PLURIPOTENTES** : ou cellules souches **EMBRYONNAIRES** : elles sont issues de la partie interne du blastocyste (fœtus au stade de quarante cellules), elles peuvent engendrer tous les tissus de l'organisme sauf les tissus embryonnaires annexes tels que le placenta ou le cordon ombilical. Elles ne peuvent donc pas engendrer un individu humain dans son entier⁽⁶⁵⁾.
- Les cellules souches **MULTIPOTENTES** sont à l'origine de plusieurs types de cellules différenciées appartenant à la même grande lignée dérivée d'un des trois feuilletts embryonnaires (ectoderme, mésoderme, endoderme).
- Les cellules souches **UNIPOTENTES** ne peuvent former qu'une seule sorte de cellule différenciée.

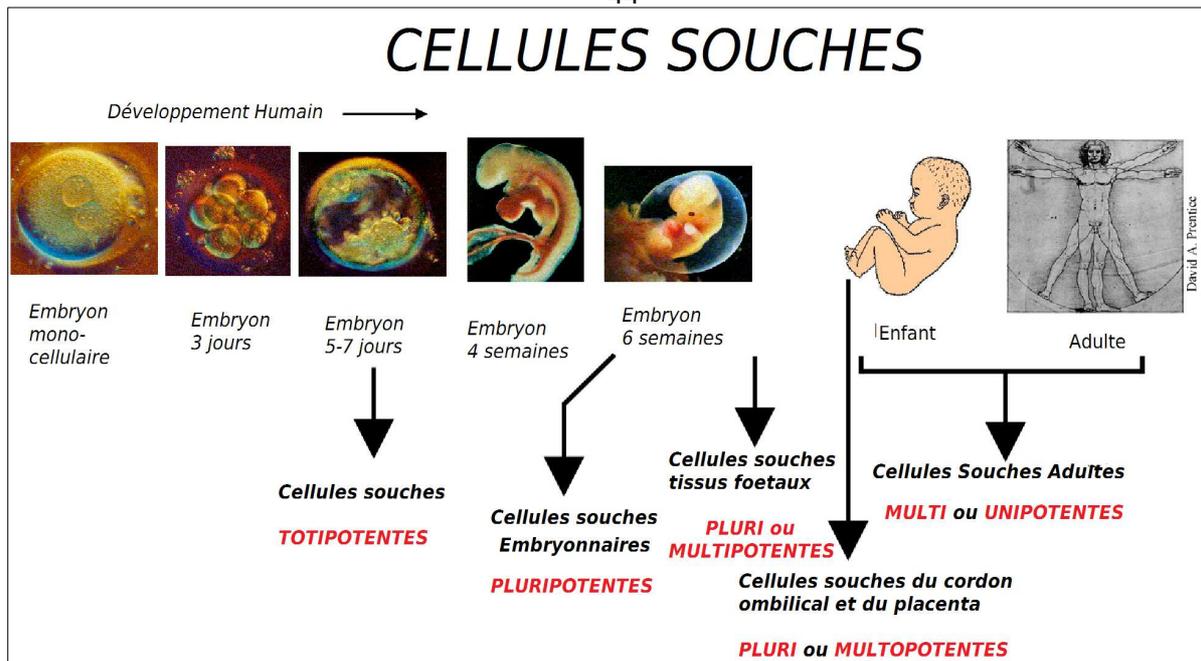


Figure 14 : Schéma récapitulatif des différents types de cellules souches humaines.

Les principales sources de cellules souches adultes sont essentiellement représentées par les cellules issues de la moelle osseuse (*human mesenchymal stem cells (hMSC)*) - les plus connues -, du tissu adipeux (*human multipotent adipose derived stem cells (hMADSC)*), des muscles et des germes dentaires...^{(65) (67) (72)}.

Pour des questions d'éthique évidentes, les études actuellement menées utilisent des cellules souches mésenchymateuses (CSM) prélevées dans du tissu adipeux plutôt que sur les embryons issus de fécondation in vitro ou interruptions volontaires de grossesse, voire même de cordons ombilicaux après une naissance^{(67) (75)}.

De nombreux espoirs se tournent vers les cellules souches adipeuses (CSA) pour la régénération osseuse. Cela ne devrait pas être surprenant du fait de l'interdépendance qu'il existe entre adipogénèse et ostéogénèse⁽⁷⁶⁾⁽⁷⁷⁾. De plus, la récolte du tissu adipeux source de cellules souches représente une faible morbidité se révélant parfois même avantageux pour des patients bénéficiant de liposuction^{(64) (67) (77)}.

Les cellules adipeuses (CSA) ainsi prélevées sont capables de se différencier en cellules de plusieurs lignées notamment les adipocytes, chondrocytes, et les ostéoblastes.

II.3.1.2 : La thérapie cellulaire et l'ingénierie tissulaire :

La thérapie cellulaire peut être définie comme « l'administration de cellules autologues, allogéniques, voire xénogéniques, à l'homme dans le but de prévenir, de traiter ou d'atténuer une maladie »^{(63) (78)}.

La thérapie cellulaire couvre de larges domaines thérapeutiques et s'applique à de nombreux types cellulaires : des cellules les moins différenciées (cellules embryonnaires pluripotentes) aux cellules adultes spécialisées à fonction métabolique (hépatocytes, cellules de pancréas) ou à fonction mécanique (chondrocytes, fibroblastes, myoblastes, cellules endothéliales, etc.) en passant par les cellules souches hématopoïétiques (CSH) à l'origine des lignées sanguines et par les autres cellules sanguines mononucléées. Ces domaines sont en évolution constante et, régulièrement, de nouvelles applications thérapeutiques sont envisagées.

La thérapie cellulaire se déroule en trois étapes successives : le prélèvement d'éléments du corps humain, la préparation et la transformation des cellules, l'administration du produit au patient.

Sa mise en œuvre doit respecter un certain nombre d'étapes spécifiques visant à assurer la qualité, la sécurité et l'efficacité des procédés et des produits qui seront administrés au patient.

L'utilisation de la thérapie cellulaire en ingénierie tissulaire, pour la régénération des déficits osseux intra-buccaux consisterait donc à prélever des cellules souches mésenchymateuses (CSM) depuis la moelle osseuse, les germes dentaires, ou mieux encore la graisse abdominale pour les ensemercer sur un échafaudage et induire leur croissance et différenciation vers le tissu à reconstruire avant de les réimplanter sur le site déficitaire⁽⁷⁾
(75).

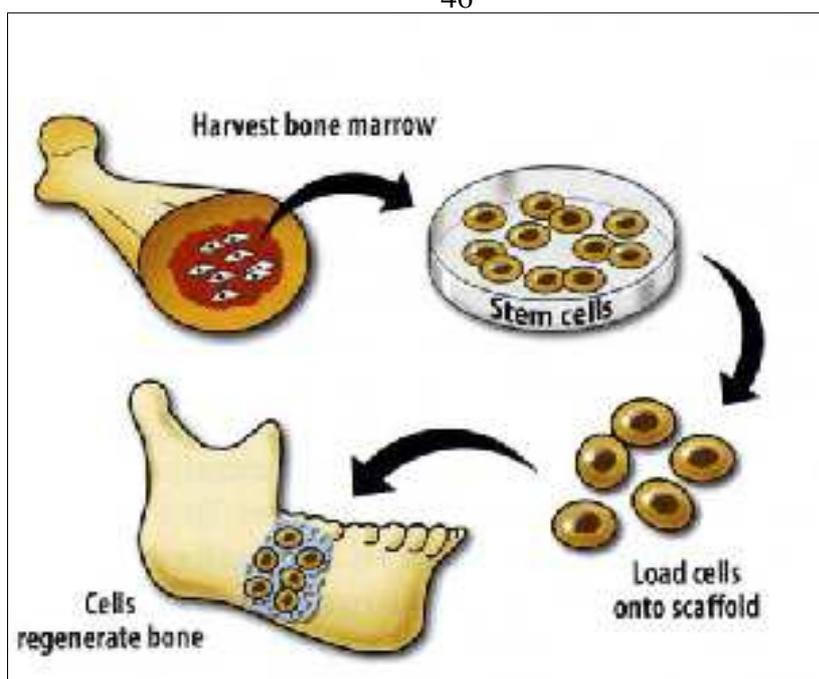


Figure 15 : Application des cellules souches mésenchymateuses en ingénierie tissulaire pour la régénération osseuse.

II.3.2 : Les supports, *scaffolds* ou « échafaudages » :

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

II.3.2.1 : Cahiers des charges :

Les supports correspondent à un réseau tri-dimensionnel rappelant la matrice extra-cellulaire. Il s'agit donc de structures poreuses résorbables servant de « base » (matrice) à la régénération des lésions tissulaires.

Ils constituent un réservoir d'eau, de nutriments, et de facteurs de croissance pour la prolifération cellulaire. Pour cela, les scaffolds doivent satisfaire à des exigences de particulières :

- La biocompatibilité : ils doivent être non carcinogènes, non immunogènes, et entièrement résorbables par des processus biologiques dans le cas de biomatériaux résorbables.
- Avoir une structure interne (porosité et taille des pores) compatible avec l'attachement et colonisation des cellules, leur prolifération (conductivité) ; ainsi que la production d'une nouvelle matrice extra-cellulaire par ces mêmes cellules.

- La capacité à intégrer des facteurs inducteurs pour favoriser et diriger la croissance du néo-tissu (ostéo-induction) sans perdre ses qualités architecturales.
- Le support doit pouvoir transporter et délivrer ces morphogènes sans les dénaturer.
- L'architecture et la composition du scaffold doivent permettre l'apport d'une néo-vascularisation pour le transport de l'oxygène et des biomolécules.
- Avoir une forme adaptée au défaut et une résistance suffisante pour soutenir les tissus dans le but de mimer au plus près les propriétés physiques et biologiques du tissu remplacé.
- Permettre le contrôle, la prévisibilité et la reproductibilité du taux de dégradation. La vitesse de résorption, les substances libérées lors de la dégradation du scaffold, leurs influences sur le milieu sont à prendre en considérations.
- Enfin, le biomatériau doit être fabriqué avec des matériaux agréés par les organismes nationaux et internationaux de normalisation^{(65) (69) (79) (80)}.

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

Les supports utilisés en ingénierie tissulaire osseuse sont organiques ou inorganiques.

II.3.2.2 : Les supports organiques :

Il s'agit d'une allogreffe osseuse composée d'une matrice osseuse déminéralisée ne contenant plus que les protéines non collagéniques et collagéniques de type I, ainsi que de nombreux facteurs de croissances tels que les *Bone Morphogenic Proteins* (BMP) dont le taux influence les propriétés d'ostéo-induction et ostéo-conduction.

Il existe un risque de transmission de pathologies infectieuses inhérent aux allogreffes.

II.3.2.3 : Les supports inorganiques :

Les plus fréquemment utilisés sont :

– Biocéramiques phosphocalciques et les bio-verres : avec les phosphates tricalciques (β -TCP), les hydroxyapatites synthétiques. Ils sont caractérisés par leurs excellentes propriétés ostéo-conductives et d'adhésion avec les tissus périphériques. Cependant leur utilisation en charge est limitée du fait de leurs faibles propriétés mécaniques et de résistance aux fractures.

– Les polymères organiques ou synthétiques :

- organique : collagène

- synthétique : polyester, poly lactic acid (PLA), poly glycolic acid (PLGA), polycaprolactone (PCL)

Cependant les produits de dégradation des polymères synthétiques engendrent des réactions d'hypersensibilité ainsi que des modifications physico-chimiques de l'environnement (acidification)^{(65) (69) (81)}
(83).

Catégorie	Matériaux	Avantages	Inconvénients
<u>Céramiques à base de phosphate/ carbonate de calcium</u>	* Hydroxyapatite	* Ostéoconducteurs	
	* Phosphate tri calcique	* Structures chimiques proches de l'os	* Non malléables
	* Corail		
<u>Polymères naturels</u>	* Collagènes	* Biocompatibilité	
	* Acide hyaluronique	* Biodégradables	* Risque de contamination pathogène
	* Colles de fibrine	* Possibilité d'affinité naturelle pour les facteurs de croissance * Bonne adhésion cellulaire	
<u>Polymères synthétiques</u>	* Acide polylactique (PLA)	* Synthèses reproductibles	* Réaction inflammatoire due à certains produits de dégradation
	* Acide polyglycolique (PGA)	* Malléables	* Solvant ou agent de réticulation pouvant dénaturer les protéines
	* Polyéthylène-glycol	* Stérilisation facile	
		* Modifiable chimiquement (fonctionnalisation)	
<u>Matériaux mixtes</u>	* Collagène -TCP		
	* Collagène -hydroxyapatite	* Avantage de chacun des constituants	* Synthèse plus complexe
	* TCP-cellulose		

Figure 15 : Tableau récapitulatif des différents supports avec leurs avantages/inconvénients.

Pour tenter d'améliorer ces supports, les recherches se tournent vers l'utilisation des micro- ou nano-technologies. Il s'agit de techniques qui permettent d'agencer les répartitions cellulaires sur le support, d'intégrer de nouveaux traitements de surface, d'augmenter l'adhésion des cellules au support par le biais de molécules de liaison intercellulaire (intégrines) ^{(65) (79) (80) (82)}.

II.3.3 : Les signaux :

II.3.3.1 : Généralités :

La néoformation osseuse est médiée par de nombreux facteurs de croissance provenant de la matrice osseuse ou des tissus environnants. Ces signaux spatiotemporels jouent un rôle central lors de réparations osseuses. Ils peuvent agir sur le recrutement des cellules mésenchymateuses non différenciées vers le site de la lésion, sur leur prolifération et leur différenciation en cellules osseuses.

Ils stimulent également la synthèse de protéines matricielles spécifiques de l'ostéogenèse et induisent l'angiogenèse.

Ces facteurs de croissance comprennent les *Transforming Growth Factors Beta* (*TGF- β*), les *Bone Morphogenetic Proteins* (*BMP*), *Fibroblast Growth Factors* (*FGF*), *Platelet Derived Growth Factors* (*PDGF*) et *Insulin-like Growth Factors* (*IGF*). ^{(84) (85) (86)}

II.3.3.2 : Les *Transforming Growth Factors Beta* ou *TGF- β* :

Ils font partie de la superfamille des *TGF- β* (dont les composants sont les *TGF- β* de 1 à 5, les *BMP*, les *GDF* (*Growth Differentiation Factors*), les activines, les inhibines et les substances mûllériennes). Il existe 5 isoformes des *TGF- β* numérotés de 1 à 5 ⁽⁸⁶⁾.

Le *TGF- β* est stocké dans de nombreux tissus mais plus particulièrement dans les plaquettes, l'os et le cartilage. De même que le *PDGF*, le *TGF- β* est libéré par les plaquettes après la formation du caillot suite à une fracture osseuse. Il s'agit d'un facteur local important dans le contrôle de l'ostéogenèse.

De nombreuses études sur l'effet du *TGF- β* dans la réparation osseuse de fractures ou de défauts de taille critique ont permis de révéler que le *TGF- β* augmente fortement la prolifération cellulaire, même si son potentiel ostéo-inducteur est limité. Il faut de fortes doses de *TGF- β* pour obtenir une augmentation de la formation osseuse ^{(87) (88) (89)}.

II.3.3.3 : Les *Bone Morphogenetic Proteins* ou BMP:

Ces glycoprotéines produites par les ostéoblastes sont les seuls facteurs de croissance réellement ostéo-inducteurs connus à ce jour. Ils jouent donc un rôle fondamental dans la croissance du cartilage et de l'os ainsi que pendant le développement embryonnaire et la formation précoce du squelette^{(85) (89) (90)}.

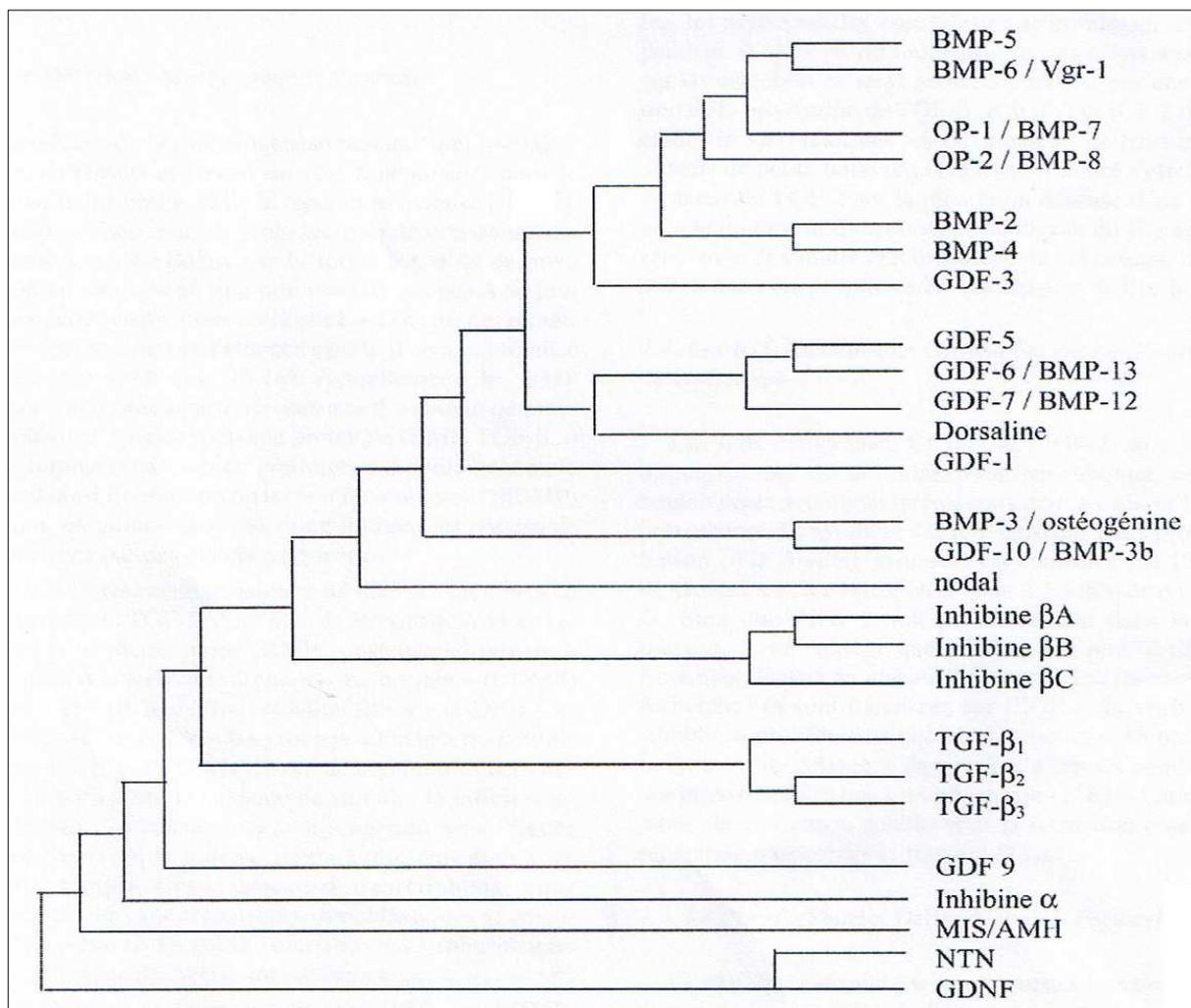


Figure 17 : Représentation schématisée des relations phylogéniques entre les membres de la famille des BMP.

Mises en évidence par URIST en 1965, les BMP appartiennent à la super famille des TGF-β. Les BMP ont de nombreuses activités in vitro, notamment la capacité de stimuler la différenciation des cellules mésenchymateuses progénitrices en lignée ostéochondroblastique^{(72) (91)}.

In vivo, elles sont efficaces sur la préparation de grands défauts osseux et sur l'accélération de la réparation de fractures sur de nombreux modèles animaux expérimentaux. ^{(92) (93) (94) (95)}

BMP	Fonctions connues
BMP1	<i>BMP1 n'appartient pas à la famille du TGF-β. Il s'agit d'une métalloprotéase qui agit sur le procollagène I, II, et III. Il est impliqué dans le développement du cartilage.</i>
<u>BMP 2</u>	Appartient à la TGF- β superfamille des protéines. Il joue un rôle important dans le développement des os et du cartilage en induisant la différenciation des ostéoblastes.. Il est impliqué dans la voie hedgehog , dans la voie de signalisation des TGF bêta, et dans l' interaction récepteur-cytokine. Il est également impliqué dans la différenciation cellulaire cardiaque et transition épithélio-mésenchymateuse.
BMP 3	Induit la formation osseuse.
BMP 4	Régule, entre autres, la formation des dents et des os. Elle joue également un rôle dans la réparation des fractures.
BMP 5	Exerce ses fonctions dans le développement du cartilage.
BMP 6	Joue un rôle dans l'intégrité des articulations chez les adultes. Contrôle l'homéostasie du fer via la régulation de l'hepcidine.
<u>BMP 7</u>	Joue un rôle clé dans la différenciation des ostéoblastes. Il induit aussi la production de SMAD1. Il s'agit également d' un autre élément clé dans le développement et la réparation rénale.
BMP8a	Impliqué dans le développement des os et du cartilage.
BMP 10	Peuvent jouer un rôle dans la trabéculatation du cœur embryonnaire.
BMP 15	Peuvent jouer un rôle dans la trabéculatation du cœur embryonnaire.

Figure 18 : Tableau récapitulatif des principales BMP et de leurs fonctions.

Depuis quelques années, des BMP recombinantes (rhBMP-2 et rhBMP-7) ont été mises au point grâce à la thérapie génique. L'une d'elles, la recombinante d'os humain rhBMP-2 fait l'objet de différents essais et montre une activité ostéogène très élevée ^{(94) (95)} ⁽¹¹³⁾.

II.3.3.4 : Les *Fibroblast Growth Factors* ou FGF :

Les plus abondants sont les FGF-1 et FGF-2, ils ont tous la capacité à se lier avec l'héparine. L'effet anabolisant des FGF sur les ostéoblastes est indirect car ils agissent par stimulation dès la production des TGF- β , IGF-1 et IGF-2 qui eux stimulent la croissance et la différenciation des cellules mésenchymateuses en ostéoblastes. Plusieurs études, in vivo réalisées sur des modèles de fractures ou de défauts de petite taille ont clairement montré l'effet potentialisateur du FGF-2 sur la réparation osseuse. Une injection unique de facteur de croissance au niveau du site accélère la réparation et stimule le remodelage du cal osseux^{(92) (96) (97)}.

II.3.3.5 : Les *Insulin-like Growth Factors* ou IGF :

Les IGF 1 et 2 sont fortement impliqués dans le développement squelettique ce qui les rend potentiellement intéressants pour accélérer la réparation osseuse. IGF-2 est plus abondant qu' IGF-1 qui est plus actif. Un certain nombre d'études in vivo montre que l'administration d' IGF-1 améliorerait la formation osseuse et la réparation osseuse après fracture^{(84) (89) (98)(99)}.

II.3.3.6 : Le *Platelet Derived Growth Factors* ou PDGF :

Il est sécrété par les plaquettes lors des premières phases de la réparation de fracture et est fortement exprimé au niveau du site lésé. Les études in vivo, ont montré son effet mitogénique sur les ostéoblastes^{(89) (92)}.

II.3.3.7 : Stratégies d'utilisation :

L'effet de tous ces facteurs de croissance sur la formation et la réparation osseuse dépend de plusieurs critères :

- le choix de la protéine,
- la dose appliquée
- et le mode d'application.

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

Trois stratégies sont alors possibles pour induire *in situ* une néoformation osseuse :

- par l'apport de biomatériaux ostéo-inducteurs transportés par des matrices adaptées
- ou par thérapie génique *in vivo*,
- et thérapie génique *ex vivo*.

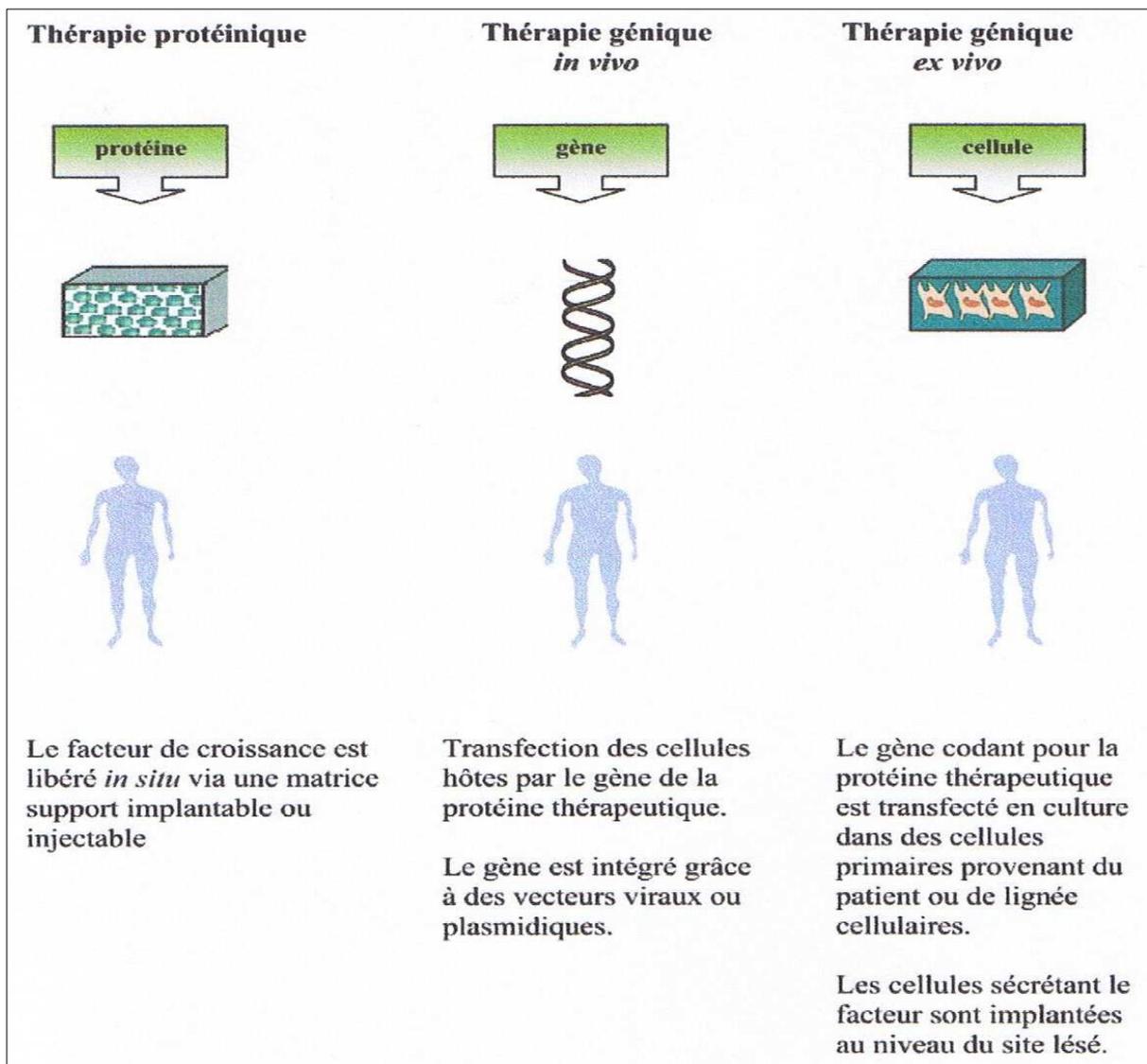


Figure 19 : Stratégies de libération des facteurs de croissance in situ.

II.3.4 : La thérapie génique :

II.3.4 .1 : Définition – Principe :

La thérapie génique, qui est une branche de la thérapie cellulaire, a pour but d'induire chez un individu un gène à des fins thérapeutiques.

Le principe est d'insérer le gène codant pour une protéine aux cellules du patient qui serviront elles mêmes de système de libération en exprimant le gène et en produisant de façon continue la protéine correspondante. Ce principe repose donc sur le transfert d'une séquence d'ADN (gène) dans des cellules cibles. Cette séquence transférée, incorporée ou non à l'ADN des cellules cibles permet de suppléer à la séquence native déficiente (mutée ou déléetée...) ou encore d'introduire une nouvelle séquence codante^{(65) (66) (70) (92)}.

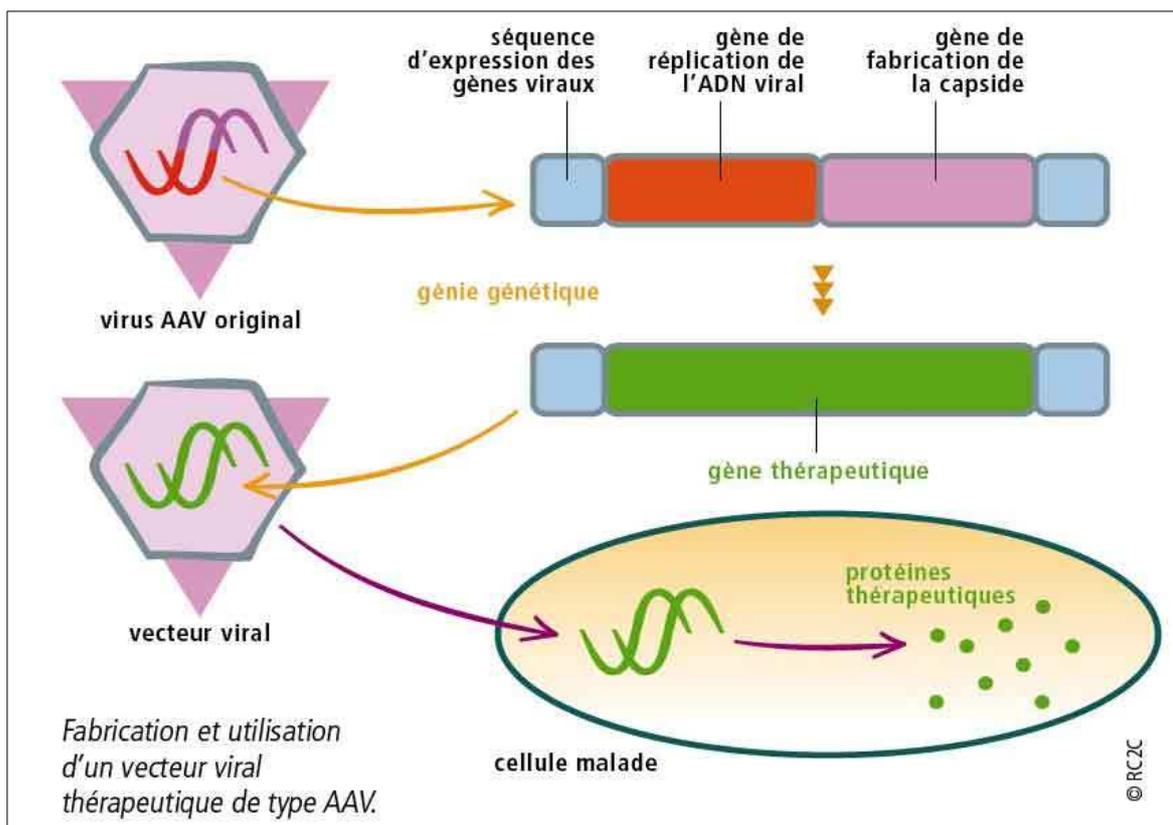


Figure 20 : Principe de la thérapie génique.

La réussite de la thérapie génique dépend de trois étapes :

- la transduction ou transfection : c'est-à-dire l'introduction du vecteur et du génome dans la cellule cible
- la transcription de l'ADN en ARN messager
- la traduction de l'ARN messager en protéine.

Elle permet ainsi produire des molécules intervenant dans la régénération du tissu sélectionné.

L'intérêt se porte sur les gènes codant les facteurs de croissance et de différenciation osseuse (FGF, IGF) mais surtout sur les BMP qui sont les seuls facteurs réellement ostéo-inducteurs.

Cette technique présente l'avantage d'utiliser une molécule (l'ADN) relativement stable par rapport aux protéines (et donc moins coûteuse). De plus, les facteurs de croissance, libérés au niveau du site par thérapie génique, le sont à des doses plus faibles que celles provenant d'un système de libération protéique traditionnel^{(65) (66) (70) (92)}.

La transfection des gènes utilise des vecteurs, des « transporteurs ». Bien que le vecteur idéal n'ait pas encore été décrit, un vecteur doit répondre à certains critères :

- il ne doit pas entraîner de réaction inflammatoire, ni de risque sanitaire chez le patient,
- il doit être stable et facilement produit à un coût raisonnable,
- il doit se lier préférentiellement aux cellules cibles,
- il doit permettre une intégration facile du gène d'intérêt dans l'ADN de l'hôte,
- enfin, il doit permettre un contrôle externe de l'expression de la protéine.

Les vecteurs utilisés en thérapie génique se divisent en deux grands types : les vecteurs viraux et les vecteurs non viraux. Le choix du vecteur dépend de la stratégie choisie^{(70) (92) (100)}.

II.3.4.2 : Les stratégies de la thérapie génique :

II.3.4.2.1: La thérapie génique in vivo :

In vivo, le gène est délivré sur le site directement dans la zone d'intérêt. Puis, l'ADN est transfecté dans les cellules du tissu cible. Dans ce cas, les cellules transfectées sont localisées au site d'injection^{(70) (80) (101) (102)}.

II.3.4.2.2: La thérapie génique ex vivo :

Ex vivo, des cellules sélectionnées, issues du patient, sont prélevées, cultivées, transfectées puis réimplantées chez le même donneur. Ce procédé est plus long que l'approche in vivo, mais autorise un contrôle rigoureux des cellules cibles sélectionnées. Cette approche a aussi l'avantage de limiter la diffusion des cellules aux tissus environnants^{(70) (80) (101) (102)}.

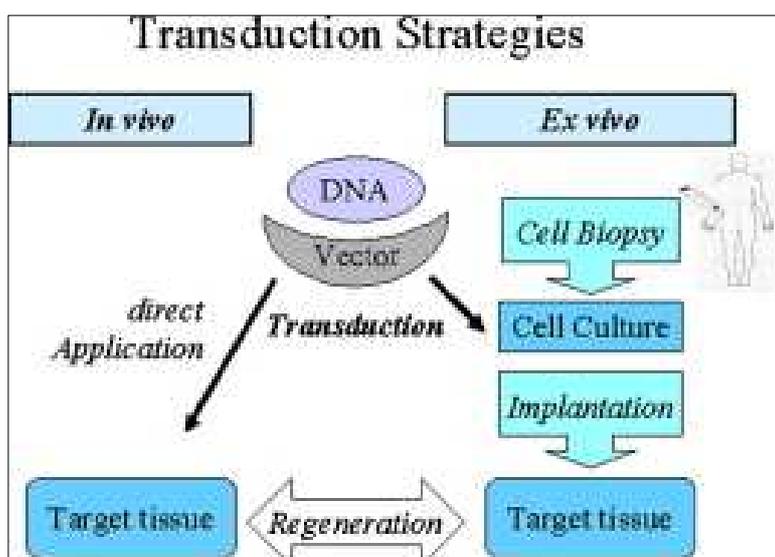


Figure 21 : Stratégies thérapeutiques: dans la transduction in vivo, le gène est directement transféré aux cellules cibles. Dans l'approche ex vivo, les cellules sont récoltées, développées en culture, transfectées in vitro, et réimplantées dans le site cible. Le transfert du gène peut être réalisé par des vecteurs viraux ou non viraux.

II.3.4.3 : Les vecteurs de la thérapie génique :

Comme nous l'avons vu, le vecteur doit répondre à un certain nombre de critères. Les vecteurs utilisés actuellement les remplissent partiellement : le vecteur idéal n'a pas encore été décrit⁽⁷⁰⁾.

Le choix du vecteur dépend :

- de la durée d'expression de la protéine souhaitée,
- de la localisation anatomique et de l'affection à traiter,
- de la stratégie employée (in ou ex vivo)^{(103) (104)}.

II.3.4.3.1: Les vecteurs viraux :

Différents virus ont été introduits comme vecteurs d'administration des gènes. L'avantage majeur des vecteurs viraux est la haute fréquence de transduction en raison de leur tropisme naturel pour les cellules vivantes⁽¹⁰⁴⁾.

L'inconvénient des vecteurs viraux est leur potentiel immunogène^{(105) (106)}.

Dans ces vecteurs viraux, le gène de la réplication virale a été supprimé et celui de la protéine voulue inséré (exemple de la protéine BMP). Les vecteurs viraux les plus couramment utilisés sont les rétrovirus, les adénovirus, les *Adeno-Associated Virus* (AAV), le virus de l'herpès et les lentivirus^{(107) (108) (109)}.

II.3.4.3.1.1: Les rétrovirus :

Ce sont de petites particules à ARN qui infectent seulement des cellules capables de se diviser. Ils intègrent au hasard et de manière stable le génome de la cellule hôte. Cette intégration au hasard dans le génome de la cellule hôte peut provoquer des risques de mutations insertionnelles, limitant de ce fait leur utilisation. De plus, ces vecteurs permettent une expression à long terme du transgène BMP. Or, cette surexpression de BMP peut entraîner des effets secondaires néfastes⁽¹¹⁰⁾.

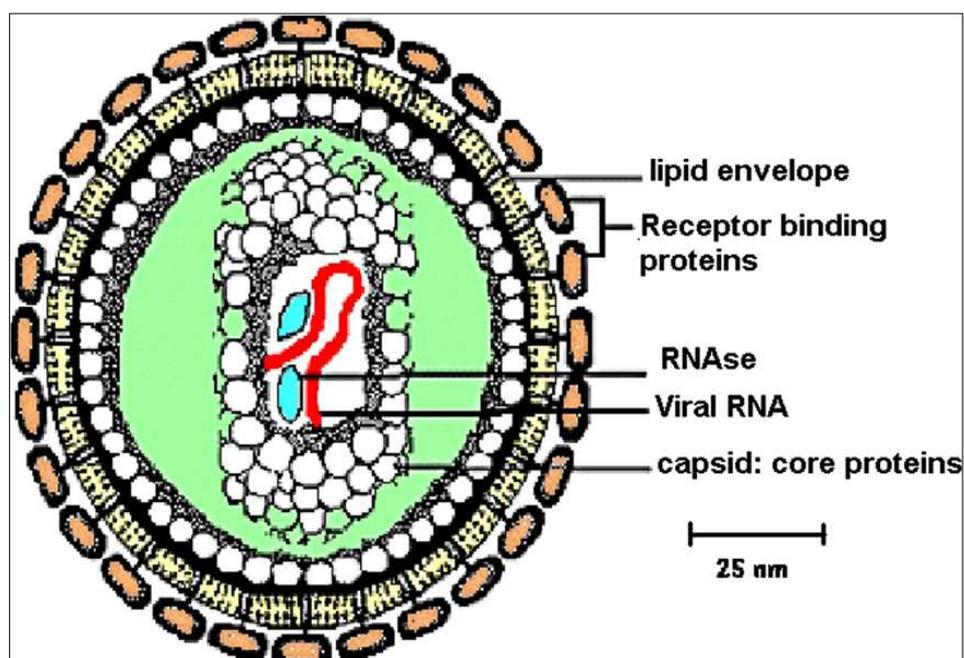


Figure 22 : Schéma d'un rétrovirus avec la bicouche lipidique qui entoure la capsid virale contenant l'ARN viral et l'ARN transcriptase.

II.3.4.3.1.2: Les adénovirus :

Il s'agit de molécules d'ADN double brin linéaire, s'intégrant dans des cellules en division ou non. Le virus recombinant pour le gène thérapeutique se perd donc au fur et à mesure des divisions cellulaires. Cette expression transitoire de l'agent thérapeutique semble être plus adaptée à la réparation osseuse qui ne dure que quelques semaines^{(109) (111) (112)}.

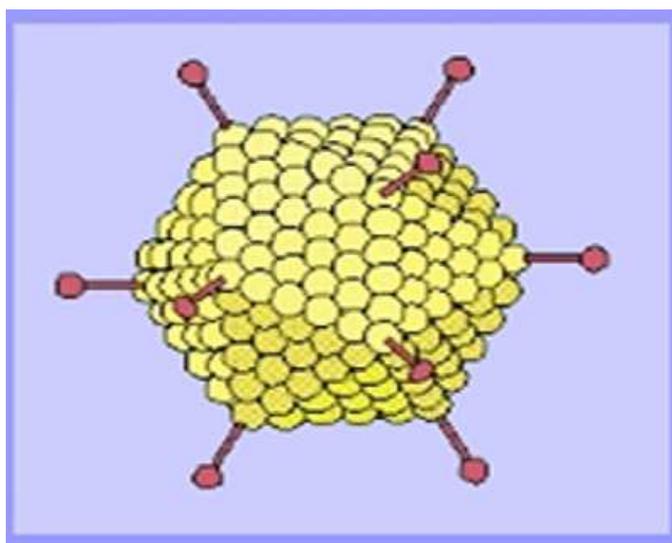


Figure 23: Schéma d'un adénovirus

II.3.4.3.1.3: Les Adeno-Associated Virus ou AAV :

Ce sont des ADN simples brins qui s'intègrent, comme les rétrovirus, dans l'ADN cellulaire hôte mais avec moins de risques d'insertions mutagènes. Ils favorisent ainsi l'expression à long terme de l'agent thérapeutique^{(109) (111) (112)}.

II.3.4.3.2 : Les vecteurs non viraux :

Pour palier ces inconvénients des vecteurs viraux (risques d'insertions mutationnelles et leur toxicité) des vecteurs non viraux ont également été testés pour libérer les BMP. Ils ne s'intègrent pas à l'ADN cellulaire et permettent une expression transitoire du gène BMP.

Le gène des BMP peut être introduit dans les cellules du patient par :

- des liposomes cationiques,
- bombardement de particules d'or chargées d'ADN,
- sous forme d'ADN plasmidique,
- par électroporation.

Les deux dernières techniques sont utilisées pour la thérapie génique *in situ*^{(109) (112)}. Le point faible de ces vecteurs non viraux est une mauvaise efficacité de transfection du gène thérapeutique^{(100) (108)}.

Après l'insertion du gène, se pose la question du contrôle de son expression au cours du temps. Des systèmes de régulation modulant la transcription du gène permettent ce contrôle. Enfin, pour obtenir une réponse fiable des cellules transfectées, il faut qu'elles soient de bonne qualité. Et qu'elles bénéficient d'une bonne vascularisation.

II.3.5 : Conclusion :

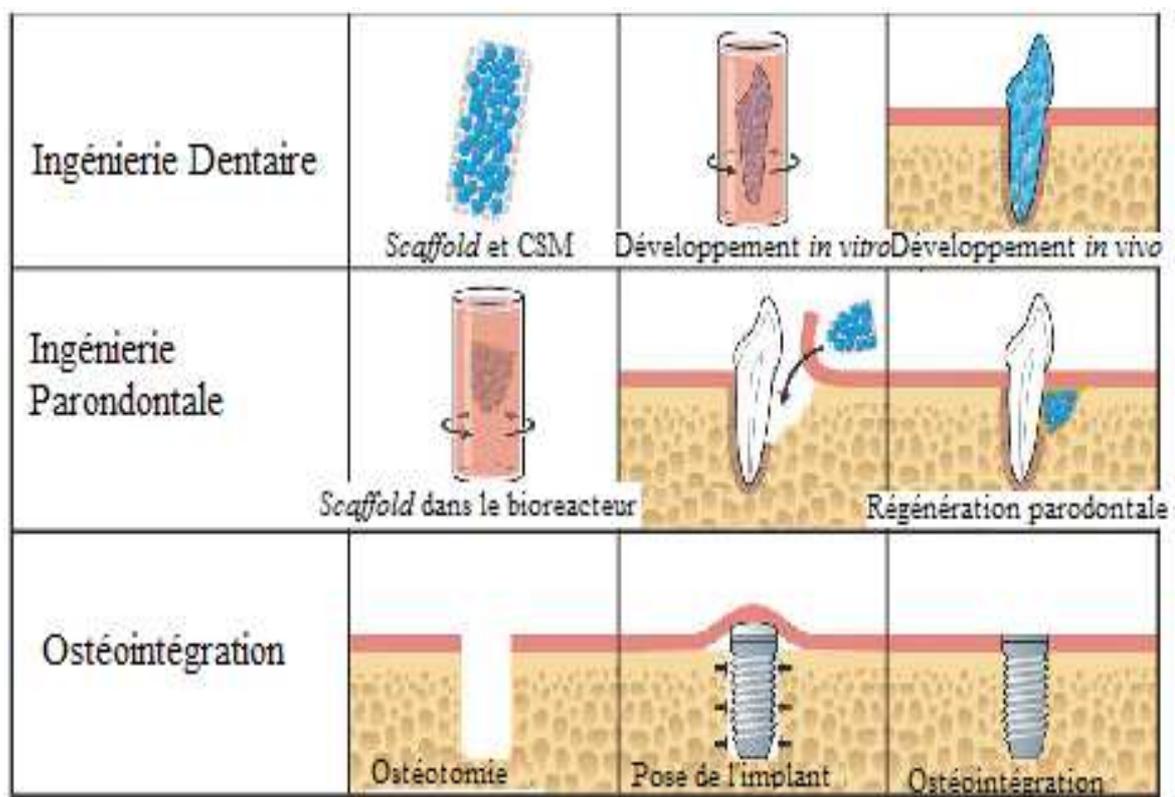


Figure 24 : Tableau représentant les différents champs d'application des procédés de l'ingénierie tissulaire en odontologie.

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

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

PARTIE III

**L'INGENIERIE TISSULAIRE EN
REGENERATION OSSEUSE PRE-
IMPLANTAIRE : QUELLES PERSPECTIVES
D'AVENIR ?**

III.1 : Expérimentations :

Les différents outils de l'ingénierie tissulaire, ensemble ou indépendamment les uns des autres, ont été testés sur l'animal dans de nombreuses études.

Il en ressort, par exemple, une amélioration de l'ostéogenèse et de l'angiogenèse lors de la transfection du gène β FGF, (ou autres facteurs de croissance tels que la rhBMP-2...) dans des cellules souches de la moelle osseuse, elles-mêmes cultivées sur un support de nano-hydroxyapatites et de polyamine puis réimplantées chez le rat^{(70) (115)}.

Il a également été observé que la livraison locale des facteurs de croissance tels que les BMP-2 et BMP-7 recombinantes, approuvées par la *US Food and Drug Administration* pour une utilisation clinique en 2004⁽¹¹⁶⁾, le PDGF, l'IGF-1 et le FGF, améliorera considérablement la réparation des défauts osseux alvéolaires. La rhBMP-2 augmente la réparation en hauteur d'un défaut osseux alvéolaire dans 25% des cas et rend la réparation totale dans 75% des cas chez le chien. Il s'agit de résultats équivalents voire supérieurs à ceux de l'autogreffe^{(117) (118)}.

Cependant les succès d'une stratégie d'ingénierie tissulaire dans un modèle animal de petite taille ne se reproduisent pas nécessairement sur les modèles animaux de grande taille ou les humains. En effet, le remplissage des défauts osseux d'un rongeur est plus facilement atteint que chez un animal plus gros car quand la taille d'un défaut devient plus importante et la capacité de construire un apport vasculaire devient plus difficile (les cellules doivent être à moins de 100 μ m d'une source d'oxygène pour survivre)^{(119) (120) (121)}.

S'il existe des études permettant de tester l'efficacité des outils de l'ingénierie tissulaire chez les animaux, il n'existe pas ou peu d'études testant l'ensemble de ces outils pour l'ingénierie tissulaire osseuse chez l'Homme. Par exemple, en 2001, il n'y avait, dans la littérature, que deux articles rapportant l'utilisation des cellules souches stromales génétiquement modifiées chez l'Homme. Par ailleurs, Il existe plus d'études sur l'ingénierie tissulaire des os longs que des os de la sphère craniofaciale^{(122) (123) (124)}.

Une étude a été réalisée, en 2012, sur 23 patients ayant des déficits osseux de taille critique dont la graisse abdominale a été prélevée afin de récupérer des cellules souches adipeuses. Le bioimplant constitué des cellules souches adipeuses peuplant les échafaudages résorbables (β -TCP) combinés avec rhBMP-2 a été réimplanté avec succès dans la mâchoire de tous les patients. Bien que les cellules souches adipeuses puissent être

utilisées seules pour la reconstruction des tissus osseux, cette étude révèle l'effet synergique dans environ 85% des cas de ces cellules combinées aux échafaudages β -TCP ou verre bioactif et les facteurs de croissance rhBMP-2. Les résultats indiquent une incidence de 4,3% de défaillance due à une infection et d'environ 9% en raison d'une formation osseuse insuffisante⁽⁶⁷⁾.

Cependant, le succès à long terme de cette procédure doit être vérifié à l'aide d'un plus large échantillon de patients.

Chez l'Homme, il a également été observé que l'ajout de rhBMP-2 à un substitut osseux d'origine xénogénique de type Bio-oss® lors de la réparation d'un défaut de crête alvéolaire améliorait significativement de la réduction des défauts verticaux par rapport à l'utilisation de Bio-oss® seul⁽¹²⁵⁾.

Rapport de cas d'un patient de 42 ans traité pour un déficit osseux vertical situé dans le secteur 3 avec une allogreffe mélangée à ces cellules souches adipeuses et la protéine recombinante rhBMP-2⁽¹²⁶⁾.

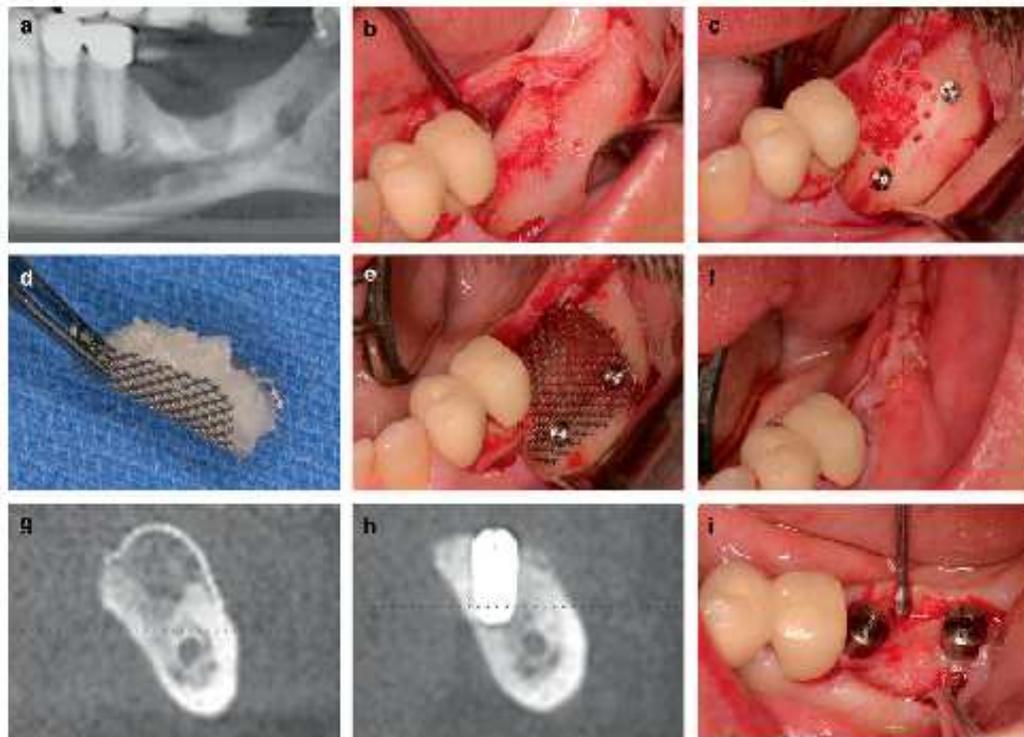


Figure 25 : Rapport de cas.

- a) Radiographie préopératoire révélant le déficit osseux vertical siégeant au niveau postérieur de la mandibule gauche.
- b) Réalisation d'un lambeau pour exposer le défaut.
- c) La corticale osseuse est perforée sur le site afin de permettre l'accès aux cellule souches mésenchymateuses.
- d) La membrane en titane remplie du mélange allogreffe osseuse minéralisée + rhBMP-2 +cellules souches adipeuses est mise en place sur le site.
- e) La membrane est maintenue en place par des vis de fixation trans-corticales.
- f) Sutures du site sans tension.
- g) Vue en coupe transversale de la tomodensitométrie de la mandibule révélant l'os régénéré sous la membrane en titane.
- h) Vue en coupe transversale de la tomodensitométrie après la pose de l'implant après 6 mois de latence.
- i) Exposition des implants pour le placement des piliers de cicatrisation après 2 mois de cicatrisation

Rapport de cas d'une patiente de 37 ans, traitée pour la régénération osseuse des cavités alvéolaires des dents numéros 11, 21 et 22. Il existe sur ces dents, un antécédent de traumatisme, de traitements endodontiques et d'infections chroniques récurrentes.⁽¹²⁶⁾

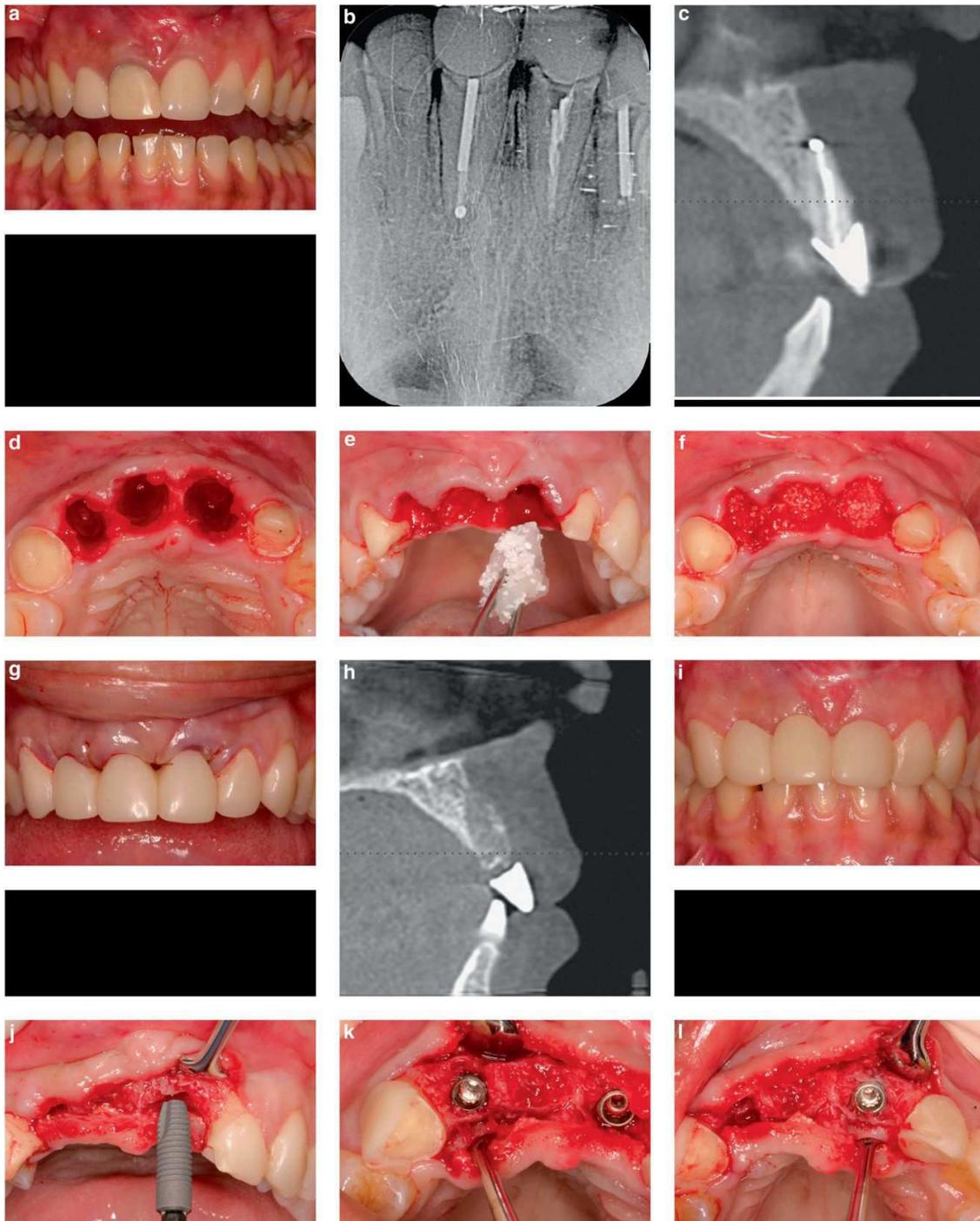


Figure 26 : Rapport de cas numéro 2

- a) *Vue préopératoire des restaurations sur les dents antérieures. La patiente présente des fistules chroniques au niveau de la muqueuse alvéolaire.*
- b) *Radiographie rétroalvéolaire préopératoire des restaurations des incisives antérieures maxillaires.*
- c) *Coupe transversale de l'imagerie tomodensitométrie permettant de mettre en*

évidence l'absence d'os sur la face vestibulaire des racines des dents.

- d) Vue des alvéoles après extraction avec l'absence de corticale osseuse vestibulaire.*
- e) Le mélange substitut osseux + cellules souches adipeuses + rhBMP-2 est placé dans les alvéoles.*
- f) Le niveau du mélange greffé est placé à hauteur de la corticale osseuse palatine.*
- g) Un bridge provisoire est mis en place pendant la période de cicatrisation.*
- h) Coupe transversale du scanner après 5 mois de cicatrisation.*
- i) Vue préopératoire avant la pose des implants.*
- j) Mise en place de deux implants dans le maxillaire régénéré.*
- k) Vue occlusale de l'implant remplaçant l'incisive latéral gauche. Notez la régénération de la corticale vestibulaire.*
- l) Vue occlusale de l'implant remplaçant l'incisive centrale droite. Notez la régénération de la corticale vestibulaire.*

Il semblerait donc que les stratégies de l'ingénierie tissulaire osseuse apportent une réponse avantageuse dans la régénération osseuse alvéolaire par rapport aux techniques conventionnelles. Compte tenu du faible nombre d'études réalisées à ce jour et du manque de recul sur du long terme, une question persiste au sujet des effets secondaires et indésirables pouvant apparaître.

III.2 : Les risques assujettis aux stratégies de l'ingénierie tissulaire osseuse.

III.2.1 : Généralités - Définitions :

Les risques associés aux protocoles d'ingénierie tissulaire osseuse, notamment liés à l'emploi des cellules souches, sont nombreux.

Un risque est défini comme une combinaison de probabilité d'occurrence d'un dommage et de sa gravité^{(127) (128)}.

Un facteur de risque est défini comme une source potentielle de dommage. Ils peuvent être, par exemple, le type de cellules souches utilisées, leur moyen d'acquisition, et leur site d'injection, etc...^{(127) (129)}. Pour une bonne analyse du rapport Bénéfice/Risque tous les risques importants doivent être identifiés (risques ou évènements indésirables identifiés dans l'expérience clinique) ainsi que les risques potentiels ou théoriques c'est-à-dire les problèmes de sécurité non clinique qui n'ont pas encore été observés dans l'expérience clinique⁽¹²⁹⁾.

Il existe différentes catégories de facteurs de risques :

- les facteurs de risques associés aux propriétés cellulaires intrinsèques du type de cellules souches utilisées,
- les facteurs de risque extrinsèques correspondant à la méthode de manipulation, de culture et de stockage des cellules,
- les facteurs de risques associés aux caractéristiques cliniques telles que les interventions chirurgicales, le mode de prélèvement et/ou d'administration ainsi que les comorbidités associées⁽¹³⁰⁾.

III.2.2 : Les facteurs de risques intrinsèques et les risques associés :

	Les facteurs de risque	Les risques identifiés
<u>Les facteurs intrinsèques :</u>	- Origine des cellules (autologue vs allogènes, donneur malade vs donneur sain)	- Rejet de cellules
Caractéristiques des cellules	- L'état de différenciation	- Susceptibilité accrue aux maladies
	- Potentiel tumorigène	- Toxicité
	- Capacité de prolifération	- Formation tumeur (bénigne ou maligne)
	- Durée de vie	- Effets indésirables biologiques (par exemple, dans la différenciation in vivo d'un type cellulaire indésirable)
	- La viabilité à long terme	
	- Rythmes de sécrétion (facteurs de croissance, cytokines, chimiokines)	

Figure 27 : Tableau présentant les facteurs de risques intrinsèques et les risques identifiés associés.

Les facteurs de risques intrinsèques dépendent directement des caractéristiques des cellules souches utilisées. Il peut s'agir de leur origine (autologues ou issues d'un prélèvement allogénique, issues d'un donneur sain ou malade, etc...) ou de leurs propriétés. En effet leurs caractéristiques telles que leur longue durée de vie, leur résistance relative à l'apoptose et leur capacité à se répliquer pendant de longues périodes rappellent fortement les caractéristiques des cellules cancéreuses^{(131) (132)}.

Par conséquent les cellules souches peuvent être considérées comme de parfaits candidats à la transformation maligne. La pluri ou multipotence des cellules souches est un facteur

essentiel qui contribue au risque de formation de tumeurs. Cependant, le potentiel tumorigène des cellules souches utilisées à des fins thérapeutiques dépend aussi d'autres facteurs intrinsèques et extrinsèques tels que le site d'administration (c'est-à-dire l'environnement local de la cellule souche chez le receveur), la culture in vitro, et leur manipulation génétique^{(130) (133) (134) (135) (136)}.

III.2.3 : Les facteurs de risques extrinsèques de fabrication et de manipulation : risque de transmission d'agents pathogènes :

	Les facteurs de Risque	Les risques identifiés
<u>Les facteurs extrinsèques de fabrication et de manipulation</u>	<ul style="list-style-type: none"> - Le manque de renseignements sur les antécédents du donneur - Matières premières - Matériaux dérivés du plasma - La contamination par des agents pathogènes non conventionnels (virus / bactéries / mycoplasmes / champignons, prions, parasites) - Les procédures de manipulation de cellules - Durée et conditions de la culture - Potentiel tumorigène (par exemple la transformation induite par la culture, l'élimination incomplète des cellules indifférenciées) - Les composants non cellulaire - Mise en commun des populations de cellules allogéniques - Conservation (cryoconservateurs, par exemple) - Conditions de stockage (par exemple, l'échec de la traçabilité, l'étiquetage du matériel humain) - Les conditions de transport 	<ul style="list-style-type: none"> - La transmission de maladies - La réactivation de virus latents - La contamination de lignées cellulaires - Mix-up de matériel autologue du patient - Formation tumeur (bénigne ou maligne)

Figure 28 : Tableau présentant les facteurs de risques extrinsèques et

les risques identifiés associés.

La fabrication de produits thérapeutiques à base de cellules souches ne permet pas forcément la stérilisation, la purification et l'inactivation virale parfaite. Par conséquent, la sécurité virale et microbienne est un facteur risque associé à l'utilisation de cellules non-autologues, des cellules de culture et des cellules souches⁽¹³⁰⁾.

III.2.4 : Les caractéristiques cliniques et la réponse immunitaire :

	Les facteurs de risque	Les risques identifiés
<u>Les caractéristiques cliniques</u>	<ul style="list-style-type: none"> - Indication - Utilisation thérapeutique (homologue ou non homologue) - Voie d'administration - Initiation des réponses immunitaires - Durée d'exposition - La maladie sous-jacente - Utilisation d'agents régulateurs immunitaires - L'irréversibilité du traitement 	<ul style="list-style-type: none"> - La réponse immunitaire indésirable - Conséquences physiologiques et anatomiques inattendues (par exemple, arythmie) - Prise de greffe ectopique - Toxicité - Manque d'efficacité - Formation tumeur (bénigne ou maligne)

Figure 29 : Tableau présentant les risques identifiés associés aux caractéristiques cliniques.

L'administration de cellules souches peut affecter le système immunitaire de l'hôte soit par induction directe d'une réponse immunitaire soit par un effet modulateur sur le système immunitaire^{(130) (137)}.

La quantité de données et la connaissance des risques associés à l'utilisation des cellules souches sont en pleine expansion même s'il existe une grande variation dans les études réalisées (protocoles, moment et lieu d'ingestion, population cellulaire utilisée) qui rend difficile l'extrapolation des résultats. Dans la plus part des cas, les traitements à base de cellules souches semblent relativement sûrs. Cependant, étant donné le manque de temps de suivi, le faible nombre de patients, la variation des préparations cellulaires, et le mode de livraison, d'autres études sur la sécurité sont encore nécessaires notamment sur les effets à long terme tels que la tumorigénicité. La transplantation de cellules souches

autologues est perçue comme non dangereuse mais cela n'est valable que pour les cellules non modifiées génétiquement⁽¹³⁸⁾⁽¹³⁹⁾.

Les principaux risques liés aux stratégies de l'ingénierie tissulaires sont donc la formation de tumeurs, les risques associés à la réponse immunitaire, et les risques de transmission d'agents pathogènes. Il est clair que l'ensemble des risques encourus doivent être soigneusement analysés et comparés au bénéfice escompté avant de se lancer dans tout traitement d'ingénierie tissulaire osseuse.

III.3 : Éthique et législation :

La bioéthique est une partie de l'éthique qui est apparue, en tant que « champ » ou « discipline » nouvelle, dans le courant des années 1960. Elle pose des interrogations au sujet du développement de la biomédecine et des technosciences.

Si les interrogations éthiques concernant la médecine ne sont pas neuves, la bioéthique se distingue de la déontologie médicale classique, en ce que celle-ci constitue davantage un code éthique fondé par les médecins pour les médecins. La bioéthique, au contraire, fait intervenir une pluralité d'acteurs et de disciplines : médecins, biologistes, généticiens, philosophes, juristes, sociologues, théologiens, etc.

Deux orientations principales de la bioéthique se distinguent: l'une, davantage descriptive, s'appuyant sur la philosophie morale, vise à éclaircir les choix éthiques et les valeurs présumées par ceux-ci, en écartant les arguments contradictoires ; l'autre est davantage prescriptive : elle recherche les normes morales qui sont applicables aux sciences du vivant, y compris la médecine, et propose certaines règles et postures face à d'éventuels dilemmes.

L'éthique médicale, qui remonte au serment d'Hippocrate, fait partie intégrante de l'exercice de la médecine. Toutefois, elle est formulée par les corporations, s'incarnant parfois dans des codes déontologiques quasi-juridiques. Dès lors, elle relaie nécessairement les valeurs inhérentes à la recherche médicale elle-même. Au XX^e siècle, la déontologie médicale a pris en compte l'importance croissante des droits de l'homme, et les organisations internationales (L'Association Médicale Mondiale (AMM) ou l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS)) se situaient ainsi au confluent de ces deux traditions. Cette

convergence s'est concrétisée dans le Code de Nuremberg de 1947, rédigé à la suite des expérimentations perpétrées par les nazis sur des cobayes humains. Elle conduit à légitimer l'opposition et la résistance des médecins envers des pratiques autoritaires ou des États non démocratiques^{(140) (141)}.

La loi est une disposition prise par une délibération du Parlement. C'est une norme juridique adoptée par le pouvoir législatif, dont l'application est précisée par des décrets d'application puis par l'interprétation des tribunaux.

III.3.1 : Les lois de bioéthique :

- Loi n°94-548 du 1er juillet 1994, relative au traitement de données nominatives ayant pour fin la recherche dans le domaine de la Santé et modifiant la loi n° 78-17 du 6 janvier 1978 relative à l'informatique, aux fichiers et aux libertés.

Elle impose, pour chaque demande d'expérimentation, la constitution d'un comité afin de juger de la méthodologie de l'étude et de la nécessité du recours à des données nominatives, codées par la suite^{(142) (143)}.

- La loi Huriot-Sérusclat (loi n°88-1138 du 20/12/1988) relative à la protection des personnes se prêtant à des recherches biomédicales modifiée par la loi 94-630 du 25 juillet 1994.

Cette loi impose d'identifier clairement le promoteur de la recherche afin de pouvoir définir les responsabilités de celui-ci. Ensuite, elle oblige les laboratoires à définir les objectifs ainsi que les risques des expérimentations. En dernier, la loi stipule que : « préalablement à la réalisation d'une recherche biomédicale sur une personne, le consentement libre, éclairé et exprès de celle-ci doit être recueilli après que l'investigateur ou médecin qui le représente, lui a fait connaître : l'objectif de la recherche, sa méthodologie et sa durée ; contraintes et les risques prévisibles » et l'avis du CCPPRB (comité consultatif de protection des personnes qui se prêtent à la recherche biomédicale) actuel CPP (comité de protection des personnes). De plus, cette personne a le droit de refuser de participer à la recherche et celui de s'en retirer. Enfin, un document écrit doit être remis à la personne avant qu'elle ne consente à la recherche^{(142) (143)}.

– La loi du 29 juillet 1994 relative au respect du corps humain.

Deux articles retiennent l'attention :

1 L'article 16-3 : « il ne peut être porté atteinte à l'intégrité du corps humain qu'en cas de nécessité thérapeutique pour la personne [...]. »

1 L'article 16-4 : « nul ne peut porter atteinte à l'intégrité de l'espèce humaine. Toute pratique eugénique tendant à l'organisation de la sélection des personnes est interdite. Sans préjudice des recherches tendant à la prévention et aux traitements des maladies génétiques, aucune transformation ne peut être apportée aux caractères génétiques dans le but de modifier la descendance de la personne »⁽¹⁴²⁾
(143).

– Loi n°96-452 du 28 mai 1996 portant diverses mesures d'ordre sanitaire, social et statutaire

Elle concerne le statut et le développement des produits de thérapies géniques et cellulaires. Ces produits sont rangés dans une nouvelle classe de produits thérapeutiques. Ils ne sont pas qualifiés de médicaments en tant que tels mais ils sont soumis, à quelques points près, aux mêmes droits. Les établissements sont agréés soit par l'Agence du médicament soit par le ministre chargé de la santé selon que ces produits sont ou non des spécialités pharmaceutiques. Il en va de même pour la procédure d'autorisation. En plus des questions de préparation et de distribution des produits de thérapies géniques, ce texte stipule que « la décision thérapeutique préparatoire à une thérapie génique et cellulaire, le prélèvement de cellules et l'administration de produits de thérapies géniques et cellulaires » nécessite des dispositions particulières^{(142) (143)}.

– Loi n°2004-800 de bioéthique du 6 août 2004

La loi n° 2004-800 du 6 Août 2004 (révision des lois du 29 Juillet 1994) relative à la bioéthique a réorganisé la législation des tissus et cellules.

i) Autorisation d'établissement :

Art. L. 1243-2. - Peuvent assurer la préparation, la conservation, la distribution et la cession, à des fins thérapeutiques autologues ou allogéniques, des tissus et de leurs dérivés et des préparations de thérapie cellulaire, les établissements et les organismes autorisés à cet effet, après avis de l'Agence de la biomédecine, par l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé qui s'assure du respect

des dispositions du titre Ier du présent livre.

L'autorisation est accordée pour une durée de cinq ans. Elle est renouvelable.

ii) Autorisation de procédés :

Art. L. 1243-5. - Les tissus ainsi que leurs dérivés utilisés à des fins thérapeutiques et les préparations de thérapie cellulaire font l'objet d'une autorisation de l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé après évaluation de leurs procédés de préparation et de conservation ainsi que de leurs indications thérapeutiques aient été bien définis.

iii) Bonnes pratiques :

Art. L. 1245-6. - Les règles de bonnes pratiques qui s'appliquent au prélèvement, à la préparation, à la conservation, au transport et à l'utilisation des tissus, des cellules et des préparations de thérapie cellulaire ainsi que des produits du corps humain utilisés à des fins thérapeutiques sont élaborées par l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé après avis de l'Agence de la biomédecine. Ces règles sont approuvées par arrêté du ministre chargé de la santé^{(142) (143)}.

- Décret n° 2008-968 du 16 septembre 2008, relatif aux conditions d'autorisation des activités portant sur les tissus et leurs dérivés, les préparations de thérapie cellulaire, de thérapie génique et de thérapie cellulaire xénogénique, et aux conditions d'autorisation de ces produits^{(142) (143)}.

Face à la complexité de sa législation, pouvant parfois expliquer son retard dans les recherches en cours au niveau mondial, la France a dû s'adapter aux directives européennes.

III.3.2 : Les directives européennes :

Directive 2004/23/CE

Directive 2004/23/CE du Parlement européen et du Conseil du 31 mars 2004 relative à l'établissement de normes de qualité et de sécurité pour le don, l'obtention, le contrôle, la transformation, la conservation, le stockage et la distribution des tissus et cellules humains

⁽¹¹⁴⁾.

Directive 2004/23/CE

La thérapie tissulaire et cellulaire étant un secteur dans lequel les échanges à l'échelle mondiale sont intenses, il convient de se doter de normes mondiales. C'est pourquoi la Communauté devrait s'efforcer de promouvoir un niveau de protection aussi élevé que possible afin de sauvegarder la santé publique en ce qui concerne la qualité et la sécurité des tissus et des cellules. La Commission devrait inclure dans son rapport au Parlement européen et au Conseil des informations sur les progrès réalisés en ce domaine ⁽¹⁴⁴⁾.

Directive 2006/86/CE

Directive 2006/86/CE de la commission du 24 octobre 2006 portant application de la directive 2004/23/CE du Parlement européen et du Conseil en ce qui concerne les exigences de traçabilité, la notification des réactions et incidents indésirables graves, ainsi que certaines exigences techniques relatives à la codification, à la transformation, à la conservation, au stockage et à la distribution des tissus et cellules d'origine humaine ⁽¹⁴⁵⁾.

Le don, l'obtention, le contrôle, la transformation, la conservation, le stockage et la distribution de tissus et cellules humaines destinées à des applications humaines devraient répondre à des normes élevées de qualité et de sécurité, afin d'assurer un niveau élevé de protection de la santé dans la Communauté.

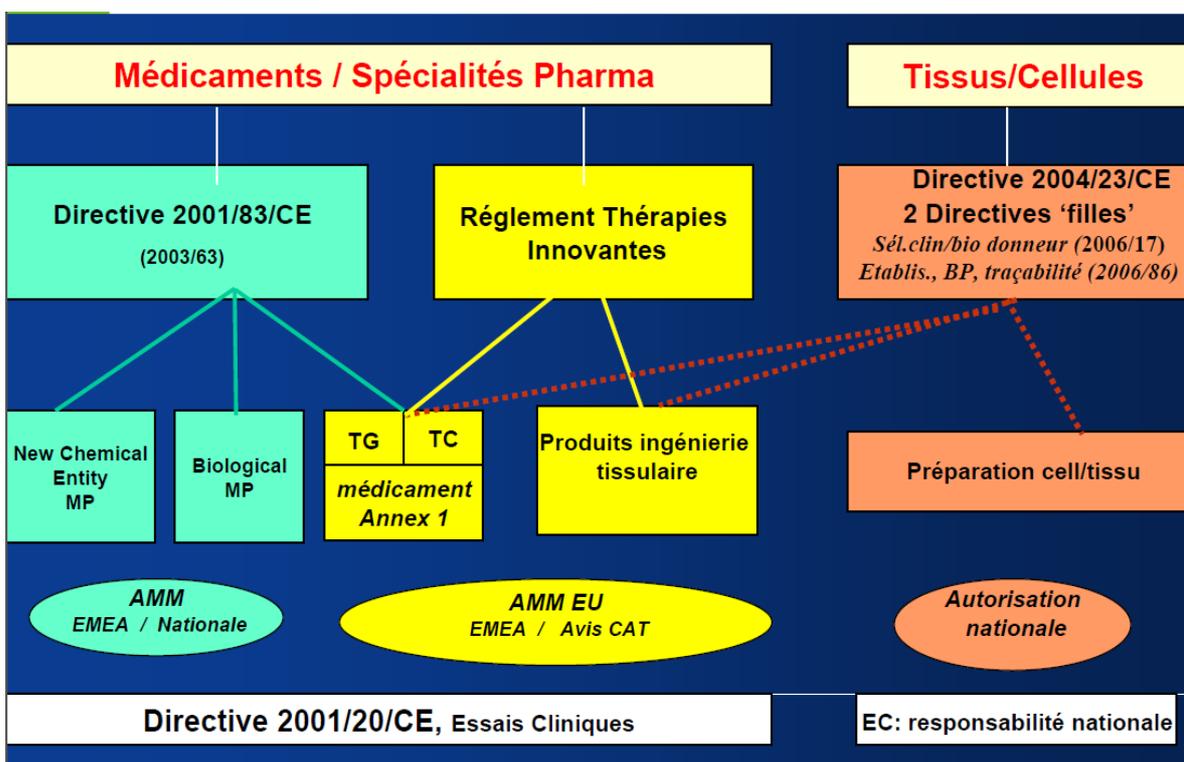


Figure 30 : Encadrement juridique en Europe.

Il convient de mettre en place un système adéquat pour garantir la traçabilité des tissus et cellules humaines. Cela permettrait aussi de s'assurer du respect des normes de qualité et de sécurité. La traçabilité devrait être assurée par des procédures précises d'identification des substances, des donneurs, des receveurs, des établissements de tissus et des laboratoires, par l'archivage des dossiers et par un système d'étiquetage approprié.

III.3.3 : Exemples d'organismes de contrôles :

La CNIL est la Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés. C'est une autorité administrative indépendante française qui est chargée de veiller à ce que l'informatique soit au service du citoyen et qu'elle ne porte atteinte ni à l'identité humaine, ni aux droits de l'homme, ni à la vie privée, ni aux libertés individuelles ou publiques. Elle exerce ses missions conformément à la loi n°78-17 du 6 janvier 1978 modifiée le 6 Aout 2004⁽¹⁴¹⁾.

L'ANSM (anciennement AFSSAPS) est l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des Produits de Santé. Il s'agit d'un établissement public français dont la mission principale, est d'évaluer les risques sanitaires présentés par les médicaments et plus généralement tous les produits de santé destinés à l'Homme. Elle est aussi l'autorité unique en matière de régulation des recherches biomédicales⁽¹⁴¹⁾.

Les Bonnes Pratiques Cliniques (B.P.C.) ou *Good Clinical Practices* (GCP) sont définies par l'ensemble des dispositions à mettre en place pour assurer à des essais la qualité et l'authenticité de leurs données scientifiques d'une part, et le respect de l'éthique d'autre part. Il s'agit de l'ensemble des normes de qualité éthique et scientifique à appliquer lors de la conception, de la réalisation et de l'analyse d'études cliniques et de la rédaction du rapport. Le respect de ces normes assure la protection des droits, de la sécurité et du bien-être des personnes recrutées pour l'étude, ainsi que la crédibilité des résultats de celle-ci.

Ce sont des recommandations de nature évolutive. Elles précisent les responsabilités respectives du promoteur et de l'investigateur, et supposent la mise en place d'un ensemble de contrôles adaptés.

Les Bonnes Pratiques Cliniques s'intègrent dans le système d'assurance de la qualité du médicament, système qui recouvre les phases de développement, de production et de

dispensation. Elles visent à renforcer la maîtrise de la qualité des essais cliniques réalisés en France sur le médicament. Elles ne visent pas à apprécier la valeur scientifique intrinsèque d'une étude⁽¹⁴¹⁾.

Les Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF), est une notion d'assurance de la qualité. Établies par des États ou la Commission Européenne dans le cadre du développement des "démarches qualité", les BPF sont la traduction française de *Good Manufacturing Practice* (GMP) et s'appliquent à la fabrication de médicaments à usage humain ou vétérinaire⁽¹⁴¹⁾.

III.3.4 : Les biobanques autorisées :

Selon la définition des l'ANSM, les biobanques sont des collections systématiques d'échantillons de substances corporelles humaines (sang, urine, ADN, tissus, cellules, etc.) et des données personnelles qui y sont associées.

La législation actuelle (loi du 6 Aout 2004 révisée en 2010) n'autorisant pas l'utilisation des cellules souches embryonnaires à des fins thérapeutiques ou de recherches, certains établissements se proposent de cryoconserver les dents avulsées pour des raisons orthodontiques ou dents de sagesse afin d'y prélever un jours les cellules souches mésenchymateuses présentes à leur surface.

La direction de la biobanque doit s'assurer du respect des présentes directives prévues par la loi française voire européenne. A cet égard, les points suivants doivent tout particulièrement être observés:

- la biobanque doit disposer de personnel qualifié, de structures et de matériel appropriés;
- elle doit être assortie d'un système de contrôle de qualité adéquat pour la conservation et l'utilisation des échantillons;
- elle doit garantir la protection des droits des donneurs, en particulier en matière de protection des données;
- la transmission des échantillons doit se dérouler dans le respect des droits de la personnalité du donneur;
- les points principaux doivent être formulés dans un règlement.

La complexité de la législation française au sujet de la bioéthique peut souvent rendre trop difficile l'accès à la recherche ou aux nouveaux traitements, conduisant parfois les patients au « tourisme de cellules souches ». Les patients voyagent à l'étranger (notamment l'Inde, le Mexique, la Thaïlande, Israël, l'Allemagne, l'Amérique latine et la République dominicaine) afin de recevoir des traitements aux cellules souches inaccessibles dans leur propre pays et en grande partie non éprouvés. Certains « fournisseurs » expliquent à leur « clients » qu'ils participent à des traitements « expérimentaux ». Cependant, payer pour recevoir ces traitements non éprouvés n'est pas la même chose que participer à une étude clinique. Il n'y a habituellement pas de données précliniques établissant la sécurité et l'efficacité, ni d'examen indépendant sur le plan de l'éthique assurant un juste équilibre entre les risques et les bienfaits. Cela aboutissant la plupart du temps à des échecs thérapeutiques voire même de graves complications (des tumeurs, la méningite, des incapacités et même des décès)^{(146) (147) (148)}.

III.4 : Acceptabilité par le patient (bénéfices/risques) :

Depuis plus d'une décennie, une prise de conscience de la part des patients quant à leur état santé bucco-dentaire semble émerger. Cela peut être attribué aux différentes actions de prévention de la Sécurité Sociale avec des programmes tels que « M'T dents » pour les enfants (créé en 2007), ou des actions d'éducation favorisées par les médias et autres moyens de communication...

Les patients sont aujourd'hui conscients que santé générale rime souvent avec santé bucco-dentaire. Au delà de l'esthétique, les patients veulent pouvoir manger correctement afin d'éviter, entre autres, des problèmes digestifs. Ils ont également compris l'importance de prendre soin de leur bouche pour l'intégration dans la société actuelle que ce soit dans la recherche d'un emploi ou pour leur propre épanouissement social.

Cependant, après avoir énoncé les principales difficultés législatives et les principaux risques associés à ces thérapeutiques régénératives, une question persiste. Jusqu'où peut aller l'acceptabilité des patients face à ces nouvelles possibilités de régénération osseuse. Pour chaque cas les patients devront analyser rigoureusement les bénéfices et les risques encourus. Seront-ils prêts à se laisser prélever des cellules souches dans la graisse abdominale voire dans la moelle osseuse ? Seront-ils prêts à payer pour faire cryoconserver des cellules souches prélevées, par exemple sur le cordon ombilical de

leur nouveau-né, pour éventuellement un jour les utiliser à des fins thérapeutiques ? Comment les patients vont-ils se projeter vers ces nouvelles possibilités médicales ? Sont-ils prêts à sauter le pas vers la recherche de l'immortalité... ?

CONCLUSION

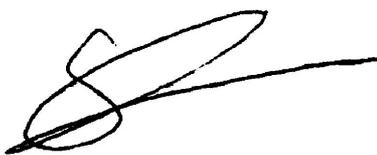
La fonte de l'os alvéolaire, phénomène qui accompagne systématiquement la perte des dents, est une des principales difficultés à prendre en compte lors d'un projet de réhabilitation prothétique implantaire. Dans de nombreux cas, il est nécessaire de reconstruire ces pertes osseuses. Les méthodes actuelles, couramment utilisées, présentent des résultats peu prévisibles et reproductibles qui dépendent de la technique de greffe choisie, du matériau employé, et de ses propriétés ainsi que du praticien et du patient. Ainsi les greffes d'os autogène, encore considérées comme le *gold standard* pourraient être supplantées par les nouvelles techniques issues de l'ingénierie tissulaire.

Les perspectives de cette médecine régénérative sont bien réelles. Les résultats sont prometteurs en ce qui concerne la régénération osseuse mais nous devons nous armer de patience. Bien des voies, sans conteste novatrices et spectaculaires, nécessitent de longues et méticuleuses vérifications et d'indispensables approfondissements du fait du manque de recherches chez l'Homme et de suivi à long terme.

Quant aux rêves d'immortalité ou ceux d'un monde débarrassé du fardeau des maladies, ils devront rester des mythes. En effet, l'espoir permis grâce à ces recherches ouvre la porte aux grands débats éthiques et moraux, à des confrontations intellectuelles entre craintes de dérives et quête d'espoir pour d'autres. C'est pour cela qu'aujourd'hui, en France, les lois de bioéthique interdisent les travaux sur les cellules souches embryonnaires et le clonage des embryons humains pour en faire des « bébé-médicaments ». Jusqu'où ira donc la légitimité de la médecine régénérative d'un point de vue éthique ?

Vu le directeur de thèse, le 06/11/2012

Docteur LAURENCIN Sara



Vu le président du jury, le 06/11/2012

Professeur ARMAND Serge



BIBLIOGRAPHIE

- (1) Harris D ; Advanced surgical procedures : Bone augmentation. Dent Update. ;1997, 24:332-37
- (2) Poblete-Michel MG, Michel J-F, Williams RC. Les applications chirurgicales des ultrasons. Quintessence International; Paris ; Berlin ; Chicago, 2008.
- (3) Tulasne J-F, Andréani J-F. Les greffes osseuses en implantologie. Quintessence international; 2004.
- (4) Tulasne J-F, Andreani J-F, Colombier M-L, Valentini P, Giovannoli J-L. Les greffes osseuses en implantologie, Paris: Quintessence international; 2004
- (5) Seibert JS. Reconstruction of deformed, partially edentulous ridges, using full thickness onlay grafts. Part I. Technique and wound healing. Compend Contin Educ Dent. 1983;4(5):437–53.
- (6) Misch CM. Use of the mandibular ramus as a donor site for onlay bone grafting. J Oral Implantol. 2000;26(1):42–9.
- (7) Martinez H, Renault P, Georges-Renault G, Pierrisnard L. Les implants: chirurgie et prothèse. Wolters Kluwer France; 2008.
- (8) Pini Prato G.P., Cairo F., Déformations des crêtes alvéolaires ; prévention et reconstructions : Revue des techniques chirurgicales, Paront. Dent . Restaur ; 2004
- (9) Allen EP, Gainza CS, Farthing GG, Newbold DA. Improved technique for localized ridge augmentation. A report of 21 cases. J. Periodontol. 1985 Apr;56(4):195–9.
- (10) Davarpanah M. , Matinez H., Manuel d'implantologie clinique, Rueil-Malmaison: CdP, 1999
- (11) Davarpanah M. , Szmukler-Moncler S., Khoury P.M., Jakubowiczohen B., Martinez H., Manuel d'implantologie clinique, concepts, protocoles et innovations récentes. 2Ème édition, Rueil-Malmaison : CdP, 2008
- (12) Jaffin RA, Berman CL. The excessive loss of Branemark fixtures in type IV bone: a 5-year analysis. J Periodontol. 1991;62:2-4
- (13) Buchmann R, Khoury F, Faust C, Lange DE. Peri-implant conditions in periodontally compromised patients following maxillary sinus augmentation A long-term post-therapy trial. Clinical Oral Implants Research. 1999;10(2):103–10.
- (14) Khoury F., Greffe osseuse en implantologie, Quintessence International

- (15) Colombier M-L, Lesclous P, Tulasne J-F. Bone graft healing. *Rev Stomatol Chir Maxillofac*. 2005 Jun;106(3):157–65.
- (16) Tulasne J.F., Greffe de sinus : os autogène ou substitut osseux?; *Titane*, 2005,2, 1
- (17) Sebbarg P., Missika P., Les matériaux de comblement : classification et propriétés, *Implant*, 1995, 1, 3
- (18) Dana M., Zenou S., Guez B., *Implantologie dans le plan de traitement parodontale*, Elsevier Masson,2008
- (19) Rompen EH, Biewer R, Vanheusden A, Zahedi S, Nusgens B. The influence of cortical perforations and of space filling with peripheral blood on the kinetics Of guided bone generation. A comparative histometric study in the rat. *Clinical Oral Implants Research*. 1999;10(2):85–94.
- (20) Seban A. *Greffes osseuses et implants*. Elsevier Masson; 2011.
- (21) Misch C.M., Resorbable or non-resorbable membranes: where, why, and how., *Dent Implants Update* ; 1993;4(6):49-51.
- (22) Misch CM., Autogenous bone: is it still the gold standard?; *Implant Dent*. 2010;19(5):361.
- (23) Mattout P, Mattout C. Les thérapeutiques parodontales et implantairees. *Quintessence international*; 2003.
- (24) Misch C.M.,Comparison of intraoral donor sites for onlay grafting prior to implant placement ; *Int. J. Oral Maxillofacial Implants* ; 1997;12(6):767-76.
- (25) Misch CM., Use of the mandibular ramus as a donor site for onlay bone grafting. ;*J Oral Implantol*. 2000;26(1):42-9.
- (26) Misch CM.,Maxillary autogenous bone grafting ;*Oral Maxillofac Surg Clin North Am*. 2011 May;23(2):229-38,
- (27) Peleg M, Garg AK, Misch CM, Mazor Z. Maxillary sinus and ridge augmentations using a surface-derived autogenous bone graft ; *J Oral Maxillofac Surg*, 2004;62(12):1535-44
- (28) Lambert F, G Lecloux, Rompen E., Sinus floor bone augmentation: implementation of the concept of sinus-lift ; *Rev Med Dent Belge*; 2009, 64 (4) :173-84
- (29) Jemt T, Lekholm U. Measurements of buccal tissue volumes at single-implant restorations after local bone grafting in maxillas: a 3-year clinical prospective study case series. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2003;5(2):63–70.

- (30) Khoury F, Happe A, Hoppe A. Soft tissue management in oral implantology: a review of surgical techniques.
- (31) Khoury .F, Khoury.CH., Les greffes osseuse mandibulaires en bloc : instrumentation, techniques de prélèvement et usage chirurgical,; J. Parodontol. Implantol. Orale., 2006, 25, 1
- (32) Khoury .F, Antouch .H, Missika .P., Bone augmentation in oral implantology,; Chicago : Quintessence publishing, 2007
- (33) Gaudy .JF., Atlas d'anatomie implantaire, :Paris : Masson, 2006
- (34) Wojcik T, Touzet S, Ferri J, Schouman T, Raoul G ; Improvement of maxillofacial bone distraction osteogenesis: future prospects ; Rev Stomatol Chir Maxillofac. 2011 ; 112(4):229–32.
- (35) Ilizarov GA. The tension-stress effect on the genesis and growth of tissues. Part I. The influence of stability of fixation and soft-tissue preservation. Clin. Orthop. Relat. Res. 1989;(238):249–81.
- (36) Ilizarov GA. The tension-stress effect on the genesis and growth of tissues: part II. The influence of the rate and frequency of distraction Clin Orthop Relat Res 1989 ; 239 : 263-285
- (37) McCarthy JG, Schreiber J, Karp N, Thorne CH, Grayson BH. ; Lengthening the human mandible by gradual distraction. Plast. Reconstr. Surg. 1992; 89(1):1–10.
- (38) Shand J.M., Smith K.S., Heggie A.A.; The role of distraction osteogenesis in the management of craniofacial syndr A.Aomes ; Oral and Maxillofacial Surgery Clinics ; 2004 ; 16 (4) :525-540
- (39) Rachmiel A, Aizenbud D, Peled M. ; Application of Ilizarov method in maxillofacial treatment ; Harefuah. 2003;142(5):359–63, 397.
- (40) Sailhan F. Bone lengthening (distraction osteogenesis): a literature review. Osteoporos Int. 2011; 22(6):2011–5.
- (41) Batal H.S., Cottrell D.A. ; Alveolar distraction osteogenesis for implant site development ; Oral and Maxillofacial Surgery Clinics ; 2004 ; 16 (1) : 91-109
- (42) Paccione M.F., Mehrara B.J., Warren S.M., Greenwald J.A., Spector J.A., Luchs J.S. , et al. Rat mandibular distraction osteogenesis: latency, rate, and rhythm determine the adaptive response J Craniofac Surg 2001 ; 12 : 175-182
- (43) Loba E.G, Fang T.D., Warren S.M., Lindsey D.P., Fong K.D., Longaker M.T. , et al. Mechanobiology of mandibular distraction osteogenesis: experimental analyses with a rat model Bone 2004 ; 34 : 336-343

- (44) Boccaccio A., Pappalettere C., Kelly D.J. The influence of expansion rates on mandibular distraction osteogenesis: a computational analysis *Ann Biomed Eng* 2007 ; 35 : 1940-1960
- (45) Reina-Romo E., Gomez-Benito M.J., Garcia-Aznar J.M., Dominguez J., Doblare M. Modelling distraction osteogenesis: analysis of the distraction rate *Biomech Model Mechanobiol* 2009 ; 8 : 323-335
- (46) Seban A, Bonnaud P. *Pratique clinique des greffes osseuses et implants: Modalités thérapeutiques et prise en charge des complications.* Elsevier Masson; 2012.
- (47) Katz J.M., Nataraj C., Deigl E., Bursac P., Demineralised bone matrix as an osteoinductive biomaterial and in vitro predictor of its biological potential., *J. Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 2009;89:127-34
- (48) Tuli S.M., Singh A.D., The osteoconductive property of decalcified bone matrix. An experimental study, *J Bone Joint Surg Br*, 1978 ;60:116-23
- (49) Rocher P.H., Veron C., Vert M., Chanavaz M., Donazzan M., Hildebrand H.F., Hazards and legislation relative to materials used for implantology and maxillofacial surgery, *Revue de Stomatologie et de Chirurgie Maxillo-faciale*, 1995,96, 4 :. 281-292)
- (50) Yousfi M, .La résorption des greffons et matériaux de comblement/régénération, *Titane*, 2005, 2, 4
- (51) Laurencin C. , Khan Y., El-Amin S.F.; Bone graft substitutes ; *Expert Rev Med Devices*, 2006, 3 : 49–57
- (52) Ghosh S.K. , Nandi S.K., Kundu B., Datta S., De D.K., Roy S.K.*et al.* In vivo response of porous hydroxyapatite and beta-tricalcium phosphate prepared by aqueous solution combustion method and comparison with bioglass scaffolds, *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 2008, 86 : 217–227
- (53) Nandi S.K., Kundu B., Ghosh S.K., De D.K, Basu D. ; Efficacy of nano-hydroxyapatite prepared by an aqueous solution combustion technique in healing bone defects of goat, *J Vet Sci*, 2008, 9 : 183–191
- (54) Daculsi G., LeGeros R.Z, Heughebaert M., Barbieux I. ; Formation of carbonate-apatite crystals after implantation of calcium phosphate ceramics ; *Calcif Tissue Int*, 1990, 46 :. 20–27
- (55) Nandi S.K, S.K. Ghosh, Kundu B., De D.K., Basu D. ; Evaluation of new porous beta-tricalcium phosphate ceramic as bone substitute in goat model ; *Small Rumin Res*, 2008 ;75 :144–153)

- (56) Hak D.J., The use of osteoconductive bone graft substitutes in orthopaedic trauma ; J Am Acad Orthop Surg, 2007, 15 : 525–536
- (57) Chiroff R.T., White E.W., Weber K.N., Roy D.M. ; Tissue ingrowth of Replamineform implants ; J Biomed Mater Res, 1975, 9 : 29–45
- (58) Zhang H., Ye X.J., Li J.S. ; Preparation and biocompatibility evaluation of apatite/wollastonite-derived porous bioactive glass ceramic scaffolds ; Biomed Mater, 2009, 4 : 045007
- (59) Hench L.L., Splinter R.J., Allen W.C., Greenlee T.K. ; Bonding mechanisms at the interface of ceramic prosthetic materials ; J Biomed Mater Res, 1971, 5 : 117–141
- (60) Chai F., Raoul G., Wiss A. Ferri J., Hildebrand H.F., Les biomatériaux de substitution osseuse: classification et interet; Rev Stomatol Chir Maxillofac, 2001;112:212-221
- (61) Kahn A., Papillon F., le secret de la salamandre : la médecine en quête d'immortalité, ed Nil, Paris 2005.
- (62) Langer R, Vancant JP, Tissue engineering. Science 1993 ; 260:920-92.
- (63) Raoul G, Myon L., Chai F. , Blanchemain N., Ferri J., Ingénierie d'un lambeau osseux vascularisé à destinées maxillofaciale : les limites techniques. Revue de Stomatologie et de Chirurgie Maxillo-Faciale, 2011, 112 (4) : 249-261.
- (64) Pittenger B, Mackay AM, Beck SC, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem celles. Science 1999;248:143-7
- (65) Raoul G, Myon L., Chai F. , Blanchemain N., Ferri J. Ingénierie du tissu osseux oro-maxillofacial par combinaison de biomatériaux, cellules souches, thérapie génique. Revue de Stomatologie et de Chirurgie Maxillo-Faciale. 2011 ? Volume 112, numéro 4.pages 201-211.
- (66) Hardouin P., Anselme K., Flautre B., Bianchi F., Bascoulergue G., Bouxin B., Ingénierie tissulaire et maladies du squelette. Revue de Rhumatologie, 2000 ; 67:498-504
- (67) Sandor G.K.B, Tissue engineering of bone : Clinical observations with adipose-derived stem cells, resorbable scaffolds, and growth factors. Ann Maxillofac Surg, 2012 ;2:8-11
- (68) Shinsuke Ohba, Fumiko Yano, Ung-il Chung. Tissue engineering of bone and cartilage ; IBMS BoneKEY ,2009 ; 6 :405–419
- (69) Scheller L., Krebsbach P.H., Kohn D.H. Tissue engineering: state of the art in oral rehabilitation. Journal of Oral Rehabilitation. 2009;36:368-389

- (70) Fischer J., Kolk A., Wolfart St., Pautke C., Warnke P.H., Plank C., Smeets R., Future of local bone regeneration – Protein versus gene therapy. *Journal of Cranio-Maxillo-Facial Surgery* ; 2011 ; 39:54-64.
- (71) Alsberg E., Hill E.E., Mooney D.J. ; Craniofacial tissue engineering. *Critical reviews in oral biology and medicine, CROBM* 2001;12:64
- (72) Urist, Marshall R. ; Bone : formation by autoinduction ; *Science* ; 1965 12:150 (698) : 893 -899.
- (73) Merceron Ch., Vinatier C., Clouet J., Collic-Jouault S. ; Adipose-derived mesenchymal stem cells and biomaterials for cartilage tissue engineering ; *Joint Bonne Spine*, 2008,(6).
- (74) Monfoulet L., Deschepper M., Vandamme K., Manassero M., Becquart P., Bensidhoum M., Petite H., Pacard E., Viateau V., Logeart-Avramoglou D. ; Optimisation des matériaux hybrides à base de cellules souches pour la réparation de grands défauts osseux. *IRBM*, 33 :73-77
- (75) Kerbsbach P.H, Gehro, Robey P., Dental ans skeletal Stem cells : potential cellular therapeutics for craniofacial regeneration. *Journal of Dental Education*, 2002;66:6:766-771
- (76) Grinnemo KH, Syven C, Hovatta O, Dellgren G, Corbascio M. Immunogenicity of human embryonic stem cells. *Cell Tissue Res* 2008;331:67-78
- (77) Gimble JM, Zvonic S, Floyd ZE, Kassem M, Nuttall M. Playing with bone and fat. *J Cell Biochem* 2006;98:251-66.
- (78) Moussaoui S., Lucas S., Zorzi P., L Saulnier C., Trouvin J.H., Cadre réglementaire de la thérapie cellulaire, *Bulletin du Cancer*, 2003;90:(8):779-88.
- (79) Rodrigues M.T., Martins A. ; Dias I.R., Viegas C.A., Neves N.M., Gomes M.E., Reis R.L., Synergistic effect of scaffold composition and dynamic culturing environment in multilayered systems for bone tissue engineering. *J Tissue Eng Regn Med*, 2012;27:10:1002:499
- (80) Zhu J., Tang T., Kottle-Marchant K., Marchant R.E., Design and Synthesis of Biomimetic Hydrogel Scaffolds with Controlled Organization of Cyclic RGD Peptides. *Bioconjugate Chem.*, 2009 , 20 (2): 333-339
- (81) Delustro F, Dasch J, Keefe J, Ellingsworth L.. Immune responses to allogenic and exogenic implants of collagen and collagen derivatives. *Clin orthop reall res* : 1990;263-79

- (82) Rios H.F., Jin Q., Bland M.E., Flanagan C.L., Hollister H.J., Giannobile W.V., Biomimetic Hybrid Scaffolds for Engineering Human Tooth-Ligament Interfaces. *Biomaterials*, 2003;31(23):5945-5952.
- (83) Chai F., Raoul G., Wiss A., Ferri J., Hildebrand H.F., Les biomatériaux de substitution osseuse : classification et intérêt. *Rev Stomatol Chir Maxillofac*, 2011;112:2012-221
- (84) Depprich R.A. Biomolecule use in tissue engineering *Fundamentals of tissue engineering and regenerative medicine* : Springer ; 2009 ;121-135
- (85) Wozney J.M. The bone morphogenetic protein family: multifunctional cellular regulators in the embryo and adult. *Eur J Oral Sci* ; 1998 ; 106: 160-166
- (86) Kingsley D.M. The TGF-beta superfamily: new members, new receptors, and new genetic tests of function in different organisms. *Genes Dev* ;1994;8(2) : 133-146
- (87) Lind M., Schumacker B., Soballe K., Keller J., Melsen F., Bunger C. Transforming growth factor-beta enhances fracture healing in rabbit tibiae. *Acta Orthop Scand* 1993 ; 64 (5): 553-556
- (88) Nielsen H.M., Andreassen T.T., Ledet T., Oxlund H. Local injection of TGF-beta increases the strength of tibial fractures in the rat. *Acta Orthop Scand* ;1994 ; 65 (1) : 37-41
- (89) Zerath E., Facteurs de croissance, thérapie génique et os ; *J. Traumatol.Sport* ; 2000;17:157-162
- (90) Wozney J.M., Rosen V., Byrne M., Celeste A.J., Moutsatsos I., Wang E.A. Growth factors influencing bone development. *J Cell Sci Suppl* ; 1990 ; 13 : 149-156
- (91) Urist M.R., Iwata H., Ceccotti P.L., Dorfman R.L., Boyd S.D., McDowell R.M. , et al. Bone morphogenesis in implants of insoluble bone gelatin. *Proc Natl Acad Sci* ; 1973 ; 70 (12) : 3511-3515
- (92) Degat M.C., Ferreira E., Logeart-Avramoglou D., Use of growth factors in the repair of bone ; *Pathologie Biologie*, 2004;53:131-141
- (93) Hollinger J.O., Uludag H., Winn S.R. Sustained release emphasizing recombinant human bone morphogenetic protein-2. *Adv Drug Deliv Rev* ; 1998 ; 31 (3) : 303-318
- (94) McKay B., Sandhu H.S. Use of recombinant human bone morphogenetic protein-2 in spinal fusion applications. *Spine* 2002 ; 27: S66-S85

- (95) Kirker-Head C.A. Potential applications and delivery strategies for bone morphogenetic proteins. *Adv Drug Deliv Rev* ; 2000;43 : 65-92
- (96) Nakamura T., Hara Y., Tagawa M., Tamura M., Yuge T., Fukuda H., et al. Recombinant human basic fibroblast growth factor accelerates fracture healing by enhancing callus remodeling in experimental dog tibial fracture. *J Bone Miner Res* ; 1998 ; 13 (6) : 942-949
- (97) Radomsky M.L., Aufdemorte T.B., Swain L.D., Fox W.C., Spiro R.C., Poser J.W. Novel formulation of fibroblast growth factor-2 in a hyaluronan gel accelerates fracture healing in nonhuman primates. *J Orthop Res* ; 1999 ; 17 (4):607-614
- (98) Raschke M.J., Bail H., Windhagen H.J., Kolbeck S.F., Weiler A., Raun K., et al. Recombinant growth hormone accelerates bone regenerate consolidation in distraction osteogenesis. *Bone* ; 1999 ; 24 (2): 81-88
- (99) Wildemann B., Heeger J., Gabelein T., Flyvbjerg A., Bail H.J., et al. Improvement of fracture healing by systemic administration of growth hormone and local application of insulin-like growth factor-1 and transforming growth factor-beta1. *Bone* ; 2002 ; 31 (1) :165-172
- (100) Winn S.R., Hu Y., Sfeir C., Hollinger J.O. Gene therapy approaches for modulating bone regeneration. *Adv Drug Deliv Rev* ; 2000 ; 42 (1-2) :121-138
- (101) Franceschi R.T., Yang S., Rutherford R.B., Krebsbach P.H., Zhao M., Wang D. Gene therapy approaches for bone regeneration ; *Cells Tissues Organs*. 2004 ; 176 : 95-108
- (102) Scaduto A.A., Lieberman J.R. Gene therapy for osteoinduction. *Orthop Clin North Am*. 1999 30 :625-633
- (103) Oakes DA, Lieberman JR: Osteoinductive applications of regional gene therapy: ex vivo gene transfer. *Clin Orthop Relat Res*, S101eS112, 2000
- (104) Jenkins DD, Yang GP, Lorenz HP, Longaker MT, Sylvester KG: Tissue engineering and regenerative medicine. *Clin Plast Surg*, 2003 ; 30: 581e588
- (105) Mahr JA, Gooding LR: Immune evasion by adenoviruses. *Immunol Rev* ; 1999;168:121e130.
- (106) Noguchi P: Risks and benefits of gene therapy. *N Engl J Med* , 2003; 348: 193e194
- (107) Anderson WF: Human gene therapy. *Nature*, 1998 ; 392: 25e30
- (108) Asahara T, Kalka C, Isner JM: Stem cell therapy and gene transfer for regeneration. *Gene Ther*, 2000 ; 7: 451-457

- (109) Franceschi RT, Yang S, Rutherford RB, Krebsbach PH, Zhao M, Wang D: Gene therapy approaches for bone regeneration. *Cells Tissues Organs*, 2004 ; 176: 95e108
- (110) Mason J.M., Grande D.A., Barcia M., Grant R., Pergolizzi R.G., Breitbart A.S. Expression of human bone morphogenic protein 7 in primary rabbit periosteal cells: potential utility in gene therapy for osteochondral repair. *Gene Ther*, 1998 ; 5 (8):1098-1104
- (111) Levy R.J., Goldstein S.A., Bonadio J. Gene therapy for tissue repair and regeneration. *Adv Drug Deliv Rev*, 1998 ; 33 (1-2): 53-69
- (112) Bonadio J. Tissue engineering via local gene delivery. *J Mol Med*, 2000 ; 78 (6):303-311
- (113) Cochran D.L., Schank R., Buser D., Wozney J.M., Jones A.A., Recombinant human bone morphogenic protein-2 stimulation of bone formation around endosseous dental implant ; *J. Periodontol.* ; 1999 ; 70 : 139-150)
- (114) Giannobile WV. Getting to the root of dental implant tissue engineering. *J Clin Periodontol* 2010;37:747-749.
- (115) Qu D., Li J., Li Y., Gao Y., Zuo Y., Hsu Y. , et al. Angiogenesis and osteogenesis enhanced by bFGF ex vivo gene therapy for bone tissue engineering in reconstruction of calvarial defects *J Biomed Mater Res A* 2011 ; 96 : 543-551
- (116) Bessa PC, Casal M, Reis RL. Bone morphogenetic proteins in tissue engineering: the road from laboratory to clinic, part II (BMP delivery). *J Tissue Eng Regen Med*. 2008;2:81–96
- (117) Wikesjo UM, Xiropaidis AV, Thomson RC, Cook AD, Selvig KA, Hardwick WR. Periodontal repair in dogs: rhBMP-2 significantly enhances bone formation under provisions for guided tissue regeneration. *J Clin Periodontol*. 2003;30:705–714
- (118) Kawakatsu N, Oda S, Kinoshita A, Kikuchi S, Tsuchioka H, Akizuki T et al. Effect of rhBMP-2 with PLGA/gelatin sponge type (PGS) carrier on alveolar ridge augmentation in dogs. *J Oral Rehabil*. 2008;35:647–655.
- (119) Lightfoot E. The roles of mass transport in tissue function. In: Bronzino JD, ed. *CRC handbook of biomedical engineering*. Boca Raton, FL: CRC Press; 1995:1656–1670.
- (120) Giannobile WV. Periodontal tissue engineering by growth factors. *Bone*. 1996;19:23S–37S.

- (121) Kaigler D, Cirelli JA, Giannobile WV. Growth factor delivery for oral and periodontal tissue engineering. *Expert Opin Drug Deliv.* 2006;3:647–662.
- (122) Trojani C., Balaguer T., Boukhechba F., Carle G-F, Boileau P., Rochet N., Inventaire des stratégies cellulaires en ingénierie tissulaire de reconstruction osseuse ; *Revue de Chirurgie Orthopédique et Traumatologique*, 2008, 94 : 1 :1-11
- (123) Quarto R., Mastrogiacomo M., Cancedda R., Kutepov S.M., Mukhachev V., Lavroukov A. , et al. Repair of large bone defects with the use of autologous bone marrow stromal cells *N Engl J Med* 2001 ; 344 : 385-386
- (124) Vacanti C.A., Bonassar L.J., Vacanti M.P., Shufflebarger J. Brief report: replacement of an avulsed phalanx with tissue engineered bone *N Engl J Med* 2001 ; 344 : 1511-1514
- (125) Jung RE, Glauser R, Scharer P, Hammerle CH, Sailer HF, Weber FE. Effect of rhBMP-2 on guided bone regeneration in humans. *Clin Oral Implant Res.* 2003;14:556–568.
- (126) Misch C. and Wang H.L., Clinical Applications of Recombinant Human Bone Morphogenetic Protein-2 or Bone Augmentation Before Dental Implant Placement ; *Clinical Advances in Periodontics*, 2011;1:2:50-61.
- (127) ISO/IEC Guide 51:1999 [http://www.iso.org/iso/iso_catalogue.htm]
- (128) ISO 14971:2007 [http://www.iso.org/iso/iso_catalogue.htm]
- (129) ICH Q9: Quality Risk Management
[<http://www.ich.org/products/guidelines.html>]
- (130) Herberts C.A., Kwa M.S.G. , Hermsen H.P.H.; Risk factors in the development of stem cell therapy ; *Journal of Translational Medicine* 2011, 9:29
- (131) Li HC, Soticov C, Rogers AB, Houghton JM: Stem cells and cancer: Evidence for bone marrow stem cells in epithelial cancers. *World Journal of Gastroenterology*, 2006, 12:363-371.
- (132) Werbowetski-Ogilvie TE, Bosse M, Stewart M, Schnerch A, Ramos-Mejia V, Rouleau A, Wynder T, Smith MJ, Dingwall S, Carter T, et al.: Characterization of human embryonic stem cells with features of neoplastic progression ; *Nature Biotechnology* 2009, 27:91-97.
- (133) Janin A, Murata H, Leboeuf C, Cayuela JM, Gluckman E, Legres L, Desveaux A, Varna M, Ratajczak P, Soulier J, et al.: Donor-derived oral squamous cell carcinoma after allogeneic bone marrow transplantation. *Blood* 2009, 113:1834-1840

- (134) Tarte K, Gaillard J, Lataillade JJ, Fouillard L, Becker M, Mossafa H, Tchirkov A, Rouard H, Henry C, Spingard M, et al.: Clinical-grade production of human mesenchymal stromal cells: Occurrence of aneuploidy without transformation. *Blood* 2010, 115:1549-1553
- (135) Esteban MA, Gan Y, Qin D, Pei D: Induced pluripotent stem cell (iPS) technology: Promises and challenges. *Chinese Science Bulletin* 2009, 54:2-8)
- (136) Yamanaka S: A Fresh Look at iPS Cells. *Cell* 2009, 137:13-17.
- (137) Nussbaum J, Minami E, Laflamme MA, Virag JAI, Ware CB, Masino A, Muskheli V, Pabon L, Reinecke H, Murry CE: Transplantation of undifferentiated murine embryonic stem cells in the heart: Teratoma formation and immune response. *FASEB Journal* 2007, 21:1345-1357
- (138) Tendera M, Wojakowski W: Cell therapy - Success does not come easy. *European Heart Journal* 2009, 30:640-641
- (139) Giordano A, Galderisi U, Marino IR: From the laboratory bench to the patient's bedside: An update on clinical trials with Mesenchymal Stem Cells. *Journal of Cellular Physiology*, 2007, 211:27-35.
- (140) www.ccne-ethique.fr/
- (141) <http://fr.wikipedia.org>
- (142) http://www.inapg.inra.fr/ens_rech/bio/biotech/textes/societe/droit/therapge/droitgen.htm
- (143) <http://www.recherche.gouv.fr/discours/2000/dethique.htm>
- (144) <http://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2004:102:0048:0058:fr:PDF>
- (145) <http://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2006:294:0032:0050:FR:PDF>
- (146) Amariglio N, Hirshberg A, Scheithauer BW, Cohen Y, Loewenthal R, Trakhtenbrot L, et al Donor-derived brain tumour following neural stem cell transplantation in an ataxia telangiectasia patient. *PLoS Med* 2009;6(2):e1000029
- (147) Lindvall O, Hyun I; Medical innovation versus stem cell tourism. *Science* 2009;324(5935):1664-5.
- (148)** Leibing A.; Tournay V., *Les technologies de l'espoir. La fabrique d'une Histoire à accomplir, Ed PADIE, 2010.*

BIBLIOGRAPHIE DES SCHEMAS ET TABLEAUX

- Figure 1 : Tulasne J-F, Andreani J-F, Colombier M-L, Valentini P, Giovannoli J-L.
Les greffes osseuses en implantologie, Paris: Quintessence international; 2004
- Figure 2 : Cavezian R., Pasquet G., Bel G., Baller G., Imagerie dento-maxillaire.
Approche radio-clinique. 3ème édition, , Masson, 2006
- Figure 3: Gaudy J.F., Atlas d'anatomie implantaire, ed MASSON, 2006
- Figure 4 : Tulasne J-F, Andréani J-F. Les greffes osseuses en implantologie.
Quintessence international; 2004.
- Figure 5 : Classification des défauts osseux selon Siebert, schéma *de* Palacci, 2011
- Figure 6 : Prugnolle H., Thoreau F., Histologie, Paris: Estem, 1996, p. 70
- Figure 7: Schéma réalisé à partir d'un schéma de Merceron Ch., Vinatier C., Clouet J., Collic-Jouault S. ; Adipose-derived mesenchymal stem cells and biomaterials for cartilage tissue engineering ; Joint Bone Spine, 2008,(6).
- Figure 8 : Shinsuke Ohba, Fumiko Yano, Ung-il Chung. Tissue engineering of bone and cartilage ; IBMS BoneKEY ,2009 ; 6 :405–419
- Figure 9 : <http://glamorous-green-seahorses.webs.com/>
- Figure 10 : Scheller L., Krebsbach P.H., Kohn D.H. Tissue engineering: state of the art in oral rehabilitation. Journal of Oral Rehabilitation. 2009;36:368-389
- Figure 11 : Monfoulet L. , Deschepper M., Vandamme K., Manassero M., Becquart P., Bensidhoum M., Petite H., Pacard E., Viateau V., Logeart-Avramoglou D. ; Optimisation des matériaux hybrides à base de cellules souches pour la réparation de grands défauts osseux. IRBM, 33 :73-77
- Figure 12 : Gimble JM, Zvonic S, Floyd ZE, Kassem M, Nuttall M. Playing with bone and fat. J Cell Biochem 2006;98:251-66.
- Figure 13 :Merceron Ch., Vinatier C., Clouet J., Collic-Jouault S. ; Adipose-derived mesenchymal stem cells and biomaterials for cartilage tissue engineering ; Joint Bone Spine, 2008,(6).
- Figure 14 : www.stemcellresearch.org/
- Figure 15 : Gimble JM, Zvonic S, Floyd ZE, Kassem M, Nuttall M. Playing with bone and fat. J Cell Biochem 2006;98:251-66.
- Figure 16 : tableau realize à partir de Degat M.C., Ferreira E., Logeart-Avramoglou D., Use of growth factors in the repair of bone ; Pathologie Biologie, 2004;53:131-141

Figure 17 : Degat M.C., Ferreira E., Logeart-Avramoglou D., Use of growth factors in the repair of bone ; Pathologie Biologie, 2004;53:131-141

Figure 18: Degat M.C., Ferreira E., Logeart-Avramoglou D., Use of growth factors in the repair of bone ; Pathologie Biologie, 2004;53:131-141

Figure 19: Scaduto A.A., Lieberman J.R. Gene therapy for osteoinduction. Orthop Clin North Am.1999 30 :625-633

Figure 20 : www.vectors.nantes.inserm.fr

Figure 21: Fischer J., Kolk A., Wolfart ,St., Pautke C., Warnke P.H., Plank C., Smeets R., Future of local bone regeneration – Protein versus gene therapy. Journal of Cranio-Maxillo-Facial Surgery ; 2011 ; 39:54-64.

Figure 22: http://www.biologyjunction.com/virus_model_instructions.htm

Figure 23 : <http://web.uct.ac.za/depts/mmi/stannard/adeno.html>

Figure 24: réalisée à partir d'un schéma issu de Giannobile WV. Getting to the root of dental implant tissue engineering.J Clin Periodontol 2010;37:747-749.

Figure 25: Misch C. and Wang H.L., Clinical Applications of Recombinant Human Bone Morphogenetic Protein-2 or Bone Augmentation Before Dental Implant Placement ; Clinical Advances in Periodontics, 2011;1:2:50-61.

Figure 26 : Misch C. and Wang H.L., Clinical Applications of Recombinant Human Bone Morphogenetic Protein-2 or Bone Augmentation Before Dental Implant Placement ; Clinical Advances in Periodontics, 2011;1:2:50-61.

Figure 27 : Tableau réaliser à partir de Herberts C.A.,Kwa M.S.G. , Hermsen H.P.H.; Risk factors in the development of stem cell therapy ; Journal of Translational Medicine 2011, 9:29

Figure 28 :Tableau réaliser à partir de Herberts C.A.,Kwa M.S.G. , Hermsen H.P.H.; Risk factors in the development of stem cell therapy ; Journal of Translational Medicine 2011, 9:29

Figure 29 : Tableau réaliser à partir de Herberts C.A.,Kwa M.S.G. , Hermsen H.P.H.; Risk factors in the development of stem cell therapy ; Journal of Translational Medicine 2011, 9:29

Figure 30 :http://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/2fa599e344453250fb59278599680809.pdf

APPORT DE L' INGENIERIE TISSULAIRE EN REGENERATION OSSEUSE PRE-IMPLANTAIRE

RESUME EN FRANCAIS :

La réhabilitation des déficits osseux alvéolaires fait partie intégrante du traitement prothétique pré-implantaire. Alors que les méthodes actuelles de régénération osseuse, constituées de greffes osseuses autologues, ou d'allo-, xéno-greffes, ou encore l'utilisation de substituts osseux synthétiques, atteignent leur apogée freinées par leurs différentes limites, l'intérêt se porte sur les procédés d'ingénierie tissulaire pour aboutir à la régénération osseuse. En plein essor, ces méthodes prometteuses pourraient être utilisées en pratique courante dans un avenir relativement proche. Pour l'heure, il convient de rester prudent et critiques face au peu d'études réalisées à ce jour.

RESUME EN ANGLAIS : CONTRIBUTION OF TISSU ENGINEERING IN ALVEOLAR BONE REGENERATION BEFORE IMPLANT PROSTHETIC TREATMENT.

Alveolar bone defect rehabilitation of is part of the implant prosthetic treatment. While current bone regeneration methods, consisting of autologous bone grafts or allo and xeno transplantation, and the use of synthetic bone substitutes, reach their peak constrained by their different limits, focus is set on tissue engineering for bone regeneration. These promising methods could be used, a relatively close future, in everyday clinical practice. However, for now, we should remain cautious and critical of the few studies conducted to date.

DISCIPLINE ADMINISTRATIVE: Chirurgie Dentaire

MOTS CLES:

- INGENIERIE TISSULAIRE
- REGENERATION OSSEUSE
- DEFICIT OSSEUX

INTITULE ET ADRESSE DE L'U.F.R OU DU LABORATOIRE :

FACULTE DE CHIRURGIE DENTAIRE

3, Chemin des Maraichers

31062 Toulouse Cedex 9

DIRECTEUR DE THESE : Docteur LAURENCIN Sara