

UNIVERSITE TOULOUSE III – PAUL SABATIER
FACULTE DE SANTE – DEPARTEMENT D’ODONTOLOGIE

ANNEE 2022

2022 TOU3 3032

THESE

POUR LE DIPLOME D’ETAT DE DOCTEUR EN CHIRURGIE DENTAIRE

Présentée et soutenue publiquement

par

Michaël HERNANDEZ

le 27 juin 2022

**LE LYSAT PLAQUETTAIRE : ORIGINE, INTÉRÊTS ET APPLICATIONS
POSSIBLES EN ODONTOLOGIE**

Directeur de thèse : Dr. Thibault CANCEILL

JURY

Président :	Professeur Philippe Kemoun
1er assesseur :	Docteur Paul Monsarrat
2 ^{ème} assesseur :	Docteur Thibault Canceill
3 ^{ème} assesseur :	Docteur Nicolas Alaux



Faculté de santé
Département d'Odontologie

➔ **DIRECTION**

Doyen de la Faculté de Santé

M. Philippe POMAR

Vice Doyenne de la Faculté de Santé

Directrice du Département d'Odontologie

Mme Sara DALICIEUX-LAURENCIN

Directeurs Adjointes

Mme Sarah COUSTY

M. Florent DESTRUHAUT

Directrice Administrative

Mme Muriel VERDAGUER

Présidente du Comité Scientifique

Mme Cathy NABET

➔ **HONORARIAT**

Doyens honoraires

M. Jean LAGARRIGUE +

M. Jean-Philippe LODTER +

M. Gérard PALOUDIER

M. Michel SIXOU

M. Henri SOULET

Chargés de mission

M. Karim NASR (*Innovation Pédagogique*)

M. Olivier HAMEL (*Maillage Territorial*)

M. Franck DIEMER (*Formation Continue*)

M. Philippe KEMOUN (*Stratégie Immobilière*)

M. Paul MONSARRAT (*Intelligence Artificielle*)

➔ **PERSONNEL ENSEIGNANT**

Section CNU 56 : Développement, Croissance et Prévention

56.01 ODONTOLOGIE PEDIATRIQUE et ORTHOPEDIE DENTO-FACIALE (Mme Isabelle BAILLEUL-FORESTIER)

ODONTOLOGIE PEDIATRIQUE

Professeurs d'Université : Mme Isabelle BAILLEUL-FORESTIER, M. Frédéric VAYSSE

Maîtres de Conférences : Mme Emmanuelle NOIRRIT-ES CLASSAN, Mme Marie- Cécile VALERA, M. Mathieu MARTY

Assistants : Mme Marion GUY-VERGER, Mme Alice BROUTIN (*associée*)

Adjointes d'Enseignement : M. Sébastien DOMNE, M. Robin BENETAH, M. Mathieu TESTE.

ORTHOPEDIE DENTO-FACIALE

Maîtres de Conférences : M. Pascal BARON, Mme Christiane LODTER, M. Maxime ROTENBERG

Assistants : M. Vincent VIDAL-ROSSET, Mme Carole VARGAS

Adjointes d'Enseignement : Mme Isabelle ARAGON

56.02 PRÉVENTION, ÉPIDÉMIOLOGIE, ÉCONOMIE DE LA SANTÉ, ODONTOLOGIE LÉGALE (Mme NABET Catherine)

Professeurs d'Université : M. Michel SIXOU, Mme Catherine NABET, M. Olivier HAMEL, M. Jean-Noël VERGNES

Assistante : Mme Géromine FOURNIER

Adjointes d'Enseignement : M. Alain DURAND, Mlle. Sacha BARON, M. Romain LAGARD, M. Jean-Philippe GATIGNOL

Mme Carole KANJ, Mme Mylène VINCENT-BERTHOUMIEUX, M. Christophe BEDOS

Section CNU 57 : Chirurgie Orale, Parodontologie, Biologie Orale

57.01 CHIRURGIE ORALE, PARODONTOLOGIE, BIOLOGIE ORALE (M. Philippe KEMOUN)

PARODONTOLOGIE

Maîtres de Conférences : Mme Sara DALICIEUX-LAURENCIN, Mme Alexia VINEL

Assistants : Mme Charlotte THOMAS, M. Joffrey DURAN

Adjointes d'Enseignement : M. Loïc CALVO, M. Christophe LAFFORGUE, M. Antoine SANCIER, M. Ronan BARRE,

Mme Myriam KADDECH, M. Matthieu RIMBERT,

CHIRURGIE ORALE

Professeur d'Université : Mme Sarah COUSTY
Maîtres de Conférences : M. Philippe CAMPAN, M. Bruno COURTOIS
Assistants : M. Clément CAMBRONNE
Adjoints d'Enseignement : M. Gabriel FAUXPOINT, M. Arnaud L'HOMME, Mme Marie-Pierre LABADIE, M. Luc RAYNALDY,
M. Jérôme SALEFRANQUE,

BIOLOGIE ORALE

Professeur d'Université : M. Philippe KEMOUN
Maîtres de Conférences : M. Pierre-Pascal POULET, M. Vincent BLASCO-BAQUE
Assistants : Mme Chiara CECCHIN-ALBERTONI, M. Maxime LUIS, Mme Valentine BAYLET GALY-CASSIT
M. Mathieu MINTY (Associé)
Adjoints d'Enseignement : M. Mathieu FRANC, M. Hugo BARRAGUE, M. Olivier DENY

Section CNU 58 : Réhabilitation Orale

58.01 DENTISTERIE RESTAURATRICE, ENDODONTIE, PROTHESES, FONCTIONS-DYSFONCTIONS, IMAGERIE, BIOMATERIAUX (M. Franck DIEMER)

DENTISTERIE RESTAURATRICE, ENDODONTIE

Professeur d'Université : M. Franck DIEMER
Maîtres de Conférences : M. Philippe GUIGNES, Mme Marie GURGEL-GEORGELIN, Mme Delphine MARET-COMTESSE
Assistants : M. Sylvain GAILLAC, Mme Sophie BARRERE, Mme. Manon SAUCOURT, M. Ludovic PELLETIER
M. Nicolas ALAUX, M. Vincent SUAREZ
Adjoints d'Enseignement : M. Eric BALGUERIE, M. Jean- Philippe MALLET, M. Rami HAMDAN, M. Romain DUCASSE,
Mme Lucie RAPP

PROTHÈSES

Professeurs d'Université : M. Philippe POMAR
Maîtres de Conférences : M. Jean CHAMPION, M. Rémi ESCLASSAN, M. Florent DESTRUHAUT, M. Antoine GALIBOURG,
Assistants : Mme Margaux BROUTIN, Mme Coralie BATAILLE, Mme Mathilde HOURSET, Mme Constance CUNY
M. Julien GRIFFE
Adjoints d'Enseignement : M. Christophe GHRENASSIA, Mme Marie-Hélène LACOSTE-FERRE, M. Olivier LE GAC, M. Jean-
Claude COMBADAZOU, M. Bertrand ARCAUTE, M. Fabien LEMAGNER, M. Eric SOLYOM,
M. Michel KNAFO, M. Alexandre HEGO DEVEZA, M. Victor EMONET-DENAND M. Thierry DENIS,
M. Thibault YAGUE

FONCTIONS-DYSFONCTIONS, IMAGERIE, BIOMATERIAUX

Maîtres de Conférences : Mme Sabine JONIOT, M. Karim NASR, M. Paul MONSARRAT, M. Thibault CANCEILL
Assistants : M. Julien DELRIEU, M. Paul PAGES, Mme. Julie FRANKEL
Adjoints d'Enseignement : Mme Sylvie MAGNE, M. Thierry VERGÉ, M. Damien OSTROWSKI

Mise à jour pour le 25 Mai 2022

Remerciements

A mes parents, pour votre soutien quotidien, votre amour, votre confiance et surtout votre patience. Merci de m'avoir donné toutes les cartes en main pour avancer dans la vie. Je réalise la chance que j'ai et j'espère vous rendre fiers.

A mes grands-parents, pour les valeurs que vous m'avez transmises, vos encouragements et votre regard bienveillant. Je garde en mémoire chaque été passé à vos côtés à me ressourcer sur vos terres natales.

A mes deux sœurs, que je vois grandir et réussir avec fierté. Étrangement, ça me manque de ne plus vous supporter au quotidien.

A mon parrain Franck, à Flo, à mes taties Cathou et Coco, à mes cousins et cousines, ainsi qu'à toute la famille pour les moments partagés.

A Jordan, Thomas et Nicolas, des copains dangereux mais en or. Je ne pouvais pas rêver d'une meilleure équipe pour découvrir la vie toulousaine. Je suis heureux de vous voir poursuivre votre petit bonhomme de chemin messieurs les docteurs.

A Louis, un binôme de qualité mais avant tout un ami, à Lionel, à Roméo, à Léo, à Théo et à Driss. Ces années étudiantes à vos côtés sont gravées dans ma tête à jamais et il me reste encore de la place pour les aventures à venir.

A Laura, pour ton titre de championne UNSS de sarbacane.

A Marie, pour ces sentiers parcourus et ces sommets franchis.

A Lola, *y nada más*.

A Rémy, Bérenger, Valentine, Krouk, Clarisse, et tous les copains de la faculté avec qui j'ai passé des années formidables et inoubliables.

A notre Président du jury,

Monsieur le Professeur Philippe KEMOUN,

- Professeur des Universités, Praticien Hospitalier d'Odontologie,
- Docteur en Chirurgie Dentaire,
- Docteur de l'Université Paul Sabatier,
- Habilitation à diriger les recherches (HDR),
- Lauréat de l'Université Paul Sabatier,
- Responsable de la Section CNU 57 : Chirurgie Orale, Parodontologie, Biologie Orale.

*Nous vous remercions de nous faire l'honneur de présider notre jury de thèse.
Merci pour la qualité de votre enseignement aussi bien sur le plan théorique que clinique
tout au long de notre scolarité.*

*Veillez trouver ici le témoignage de nos remerciements les plus sincères et de notre
profond respect.*

A notre jury de thèse,

Monsieur le Docteur Paul MONSARRAT,

- Maître de Conférences des Universités - Praticien Hospitalier en Odontologie,
- Lauréat de la faculté de Médecine Ranguel et de Chirurgie Dentaire de l'Université Paul Sabatier,
- Docteur de l'Université Paul Sabatier - Spécialité Physiopathologie,
- Diplôme Universitaire d'Imagerie 3D maxillo-faciale,
- Diplôme universitaire de Recherche Clinique en Odontologie,
- Habilitation à Diriger les Recherches

*C'est un honneur de vous compter parmi les membres de notre jury de thèse.
Nous vous sommes très reconnaissants pour toute l'aide que vous nous avez apporté
pendant nos études.
Nous nous souviendrons de votre sympathie, votre dévouement et votre dynamisme.
Veuillez croire en l'expression de notre respect et de nos remerciements les plus sincères.*

A notre directeur et jury de thèse,

Monsieur le Docteur Thibault CANCEILL,

- Maître de Conférences des Universités, Praticien Hospitalier d'Odontologie,
- Docteur en Chirurgie Dentaire,
- Docteur en sciences des matériaux
- Master 1 Santé Publique :
- Master 2 de Physiopathologie
- CES Biomatériaux en Odontologie
- D.U.de conception Fabrication Assisté par ordinateur en Odontologie (CFAO)
- D.U. de Recherche Clinique en Odontologie
- Attestation de Formation aux gestes et Soins d'Urgence Niveau 2

Nous vous remercions d'avoir accepté et honoré la direction de cette thèse.

Nous tenons à vous remercier particulièrement pour votre implication, votre bienveillance et l'investissement avec lequel vous nous avez accompagnés tout au long de la rédaction.

Veillez trouver ici le témoignage de notre reconnaissance, de notre gratitude, et de notre respect.

A notre jury de thèse,

Monsieur le Docteur Nicolas ALAUX,

- Assistant hospitalo-universitaire en dentisterie restauratrice à l'Université de Toulouse,
- Docteur en Chirurgie Dentaire,
- Certificat d'Etude Supérieure en dentisterie endodontique et restauratrice de la Faculté d'odontologie de Toulouse,
- Attestation d'Etude Supérieure médico-chirurgical de la faculté de Toulouse.

Nous sommes ravis de pouvoir vous compter parmi les membres de ce jury.

Nous nous sommes rencontrés au début de ces années au sein de la faculté et nous avons immédiatement apprécié votre amitié et vos conseils avisés.

Nous vous remercions d'être présent pour la conclusion de ce chapitre et nous espérons pouvoir compter sur vous pour les années à venir.

Veillez trouver ici le témoignage de notre amitié sincère.

Sommaire

INTRODUCTION	11
I. Présentation du lysat plaquettaire.....	12
1) Les thrombocytes	12
2) Les principaux concentrés plaquettaires.....	16
a) Le Plasma Riche en Plaquettes (PRP).....	16
b) Le Plasma Riche en Fibrine (PRF)	17
3) Processus de préparation du lysat plaquettaire	18
a) Préparation du concentré plaquettaire	18
b) Préparation du lysat plaquettaire.....	20
II. Le potentiel thérapeutique du lysat plaquettaire.....	22
1) Lysat plaquettaire et culture cellulaire in vitro	22
2) Lysat plaquettaire et médecine régénérative	24
a) Lysat plaquettaire seul ou associé	24
b) Maladies oculaires	25
c) Troubles neurologiques	26
d) Troubles musculo-squelettiques.....	26
e) Régénération tissulaire cutanée et muqueuse.....	28
f) Régénération osseuse.....	29
3) Lysat plaquettaire et odontologie	29
4) Lysat plaquettaire autologue ou allogénique.....	33
CONCLUSION	34
Table des illustrations	35
Bibliographie	36

INTRODUCTION

Les plaquettes jouent un rôle crucial dans l'orchestration d'une série d'évènements physiologiques menant à la coagulation sanguine et participent même à la cicatrisation des tissus de l'organisme (1). Elles constituent une source naturellement riche en facteurs de croissance qui, depuis une vingtaine d'années, a mené au développement grandissant de dérivés plaquettaires en chirurgie orale et plus largement en médecine régénérative.

Actuellement, la recherche dans le domaine de l'odontologie s'oriente vers le développement de biomatériaux bioactifs et biocompatibles permettant de potentialiser la régénération tissulaire inhérente à l'acte chirurgical.

La mise au point de concentrés plaquettaires autologues riches en facteurs de croissance comme le Plasma Riche en Plaquettes (PRP) dans les années 90 ou le Plasma Riche en Fibrine (PRF) en 2000 tente de répondre à cette problématique du biomatériau idéal capable de diminuer le processus inflammatoire et de potentialiser la cicatrisation des tissus durs et mous (2). Le PRP et le PRF, obtenus par centrifugation de prélèvements sanguins, ne sont pas les seuls dérivés plaquettaires existants. D'autres sont apparus plus récemment grâce à des modifications dans les protocoles de préparation, permettant selon leur(s) concepteur(s) d'améliorer leurs propriétés.

L'un d'entre eux, le lysat plaquettaire, actuellement retrouvé dans le domaine de la recherche, est le sujet de cette thèse. Il est obtenu à partir d'un concentré plaquettaire après destruction des membranes plasmiques des plaquettes sanguines (3). L'intégralité du contenu cytoplasmique des plaquettes est alors disponible directement (facteurs de croissance, cytokines, protéines, ions...) (3).

Dans un premier temps, nous allons décrire les mécanismes d'action des plaquettes et le phénomène de la coagulation sanguine. Puis nous présenterons le lysat plaquettaire et son processus de préparation, avant de détailler son potentiel thérapeutique dans de nombreux domaines de la médecine régénérative.

Et finalement, nous nous intéresserons plus précisément au potentiel d'utilisation du lysat plaquettaire en odontologie.

I. Présentation du lysat plaquettaire

1) Les thrombocytes

Les plaquettes, ou thrombocytes, sont de petites cellules anucléées du sang humain décrites par Max Schultze en 1865 puis plus précisément par Bizzozero en 1892 (4). Elles sont issues de la fragmentation des mégacaryocytes dans la moelle osseuse lors de la thrombopoïèse et ont une durée de vie de 7 à 10 jours dans le sang circulant (5). Leur structure est composée de plusieurs organelles dont des granules, ou vésicules de sécrétion nécessaires à leur fonction (figure 1) :

- **Les granules denses (δ)** contiennent de l'adénosine biphosphate et triphosphate (ADP, ATP), de la sérotonine, du calcium, cofacteurs de l'agrégation plaquettaire.
- **Les lysosomes** renferment essentiellement des enzymes.
- **Les granules alpha** sont majoritaires et contiennent de nombreuses protéines, des facteurs de croissances parmi lesquels PDGF-AB, b-FGF, IGF1, TGF- β et VEGF, des cytokines, des chimiokines et des facteurs de coagulation (6).

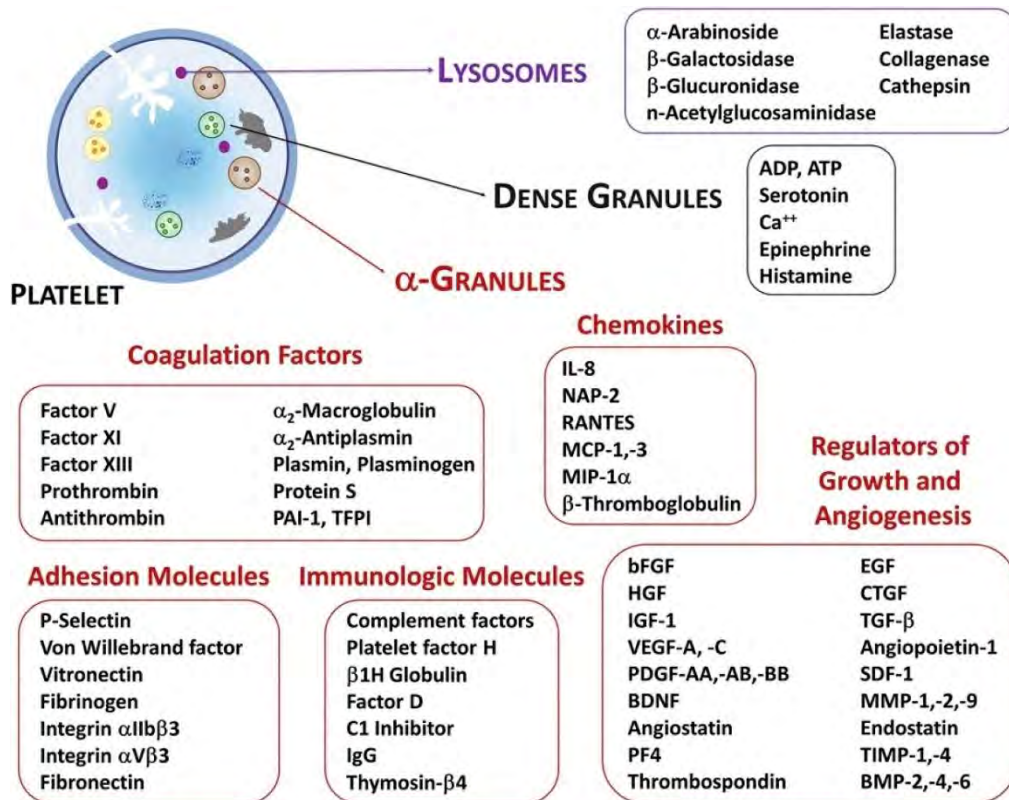


Figure 1. Contenu des granules plaquettaires (7)

Le premier rôle des plaquettes décrit dans la littérature est celui de l'hémostase, un processus physiologique déclenché par l'apparition d'une brèche vasculaire ou la lésion d'un vaisseau sanguin. L'endothélium endommagé expose alors au flux sanguin les fibres de collagène du sous-endothélium. Les plaquettes, circulant contre la paroi vasculaire du fait de leur petite taille, adhèrent au collagène du site lésé par le biais de leur récepteur spécifique GPIb-V-IX (GP pour glycoprotéine) (8). Cette adhésion, dépendante de l'interaction du facteur de von Willebrand (vWF) avec GPIb-V-IX et le collagène, déclenche l'activation plaquettaire (8). Les plaquettes activées vont prendre une forme étoilée en se contractant et sécréter le contenu de leurs granules, relarguant ainsi de nombreux agonistes pro-activateurs qui enclenchent une cascade de signalisation (1). Ces phénomènes d'amplification et de sécrétion entraînent le recrutement et l'activation des plaquettes circulantes, et l'agrégation plaquettaire notamment par la liaison du fibrinogène plasmatique au complexe GPIIb/IIIa des plaquettes (9). Ce recrutement mène à la formation d'un clou plaquettaire, ou thrombus, qui obstrue la brèche vasculaire et permet l'arrêt du saignement (9).

Secondairement, cet agrégat est stabilisé par la formation d'un réseau insoluble de fibrine, résultant d'un ensemble de mécanismes aboutissant à la transformation du fibrinogène en fibrine par la thrombine (1). La thrombine circule dans le sang sous une forme inactive, la prothrombine (facteur II). Son activation résulte d'une série d'activation d'autres molécules enzymatiques (facteurs de la coagulation) libérées par les plaquettes et circulant dans le sang (10). Le déclenchement de la coagulation a lieu lorsque le sang circulant rentre en contact avec le facteur tissulaire (FT) présent au niveau du sous endothélium de la brèche vasculaire. Le FT se fixe au facteur VII qui est activé (VIIa). Le complexe FT/VIIa va, en présence de calcium (IV), activer le facteur X. À son tour, le facteur X activé se lie avec le facteur V activé par ailleurs pour former le complexe prothrombinase qui active la prothrombine en thrombine, toujours en présence de calcium. La thrombine va alors transformer le fibrinogène soluble en fibrine (9).

Le complexe FT/VIIa est également capable d'activer le facteur IX (facteur anti-hémophilique B). Le Facteur IX activé se fixe à la surface des phospholipases plaquettaires en présence de facteur VIII (facteur anti-hémophilique A) pour former le complexe tenase. En présence de calcium, ce complexe enzymatique active également le

facteur X, amplifiant considérablement la production de prothrombinase (9). La présence de calcium est nécessaire car il intervient à plusieurs étapes de la cascade de coagulation (1). Le facteur XIII, activé par la thrombine, stabilise la fibrine en la rendant insoluble (10). Bien que l'hémostase soit reconnue comme le rôle principal des plaquettes, elles agissent aussi sur de nombreux processus physiologiques essentiels grâce à leur protéome complexe impliqué dans la défense immunitaire, la régulation de l'inflammation, la réparation des tissus, et l'angiogenèse (6,11,12). Les cytokines, les facteurs de croissance et les chimiokines pro-inflammatoires contenus dans les granules plaquettaires contribuent à la cicatrisation des plaies en attirant les macrophages et les granulocytes qui éliminent les cellules et tissus endommagés mais aussi en aidant la défense contre la contamination bactérienne (11). Les thrombocytes modulent la perméabilité vasculaire, interagissent avec les leucocytes et recrutent des cellules de l'immunité. Les effets stimulants et inhibiteurs de ces médiateurs provoquent la migration et la prolifération des fibroblastes, des cellules musculaires lisses et des cellules endothéliales, entraînant un remodelage des vaisseaux et une réparation tissulaire (Figure 2).

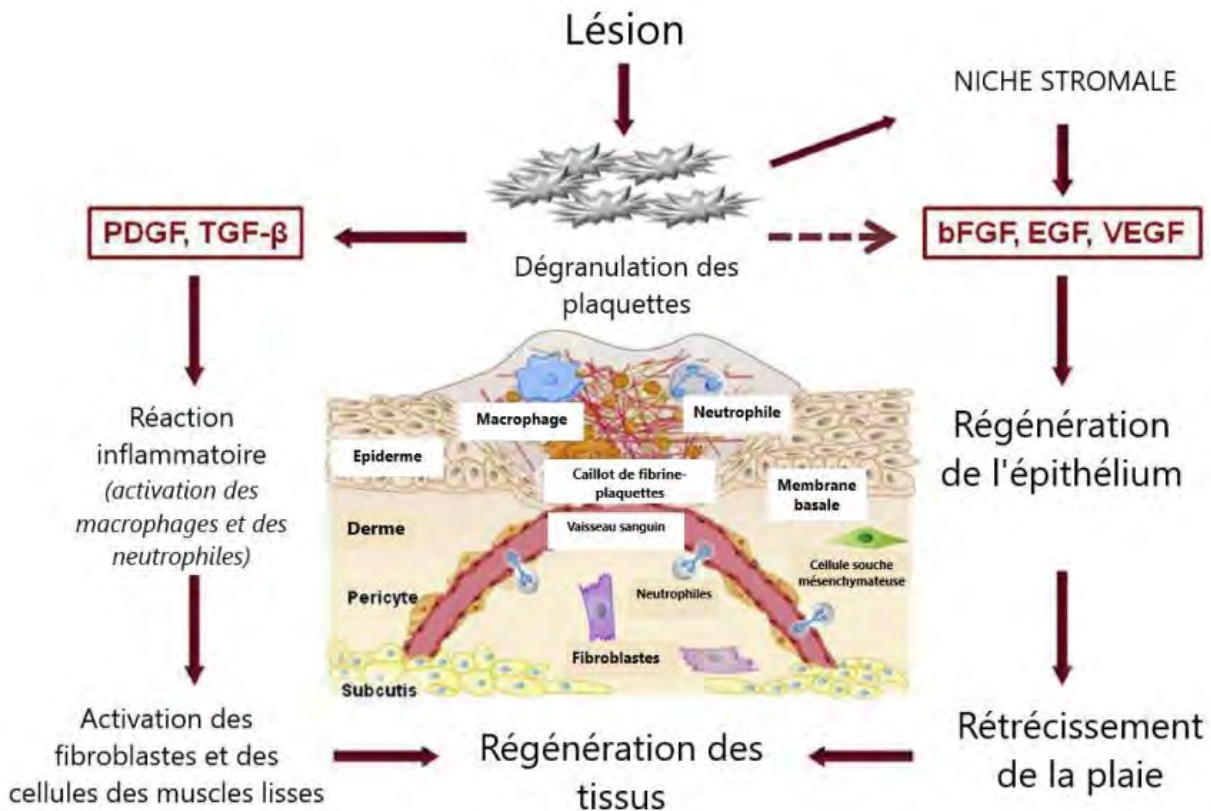


Figure 2. Rôle des facteurs de croissance plaquettaires dans la cicatrisation (3)

Parmi les facteurs de croissance libérés on retrouve le VEGF (*Vascular Endothelium Growth Factor*), le PDGF (*Platelet-Derived Growth Factor*), l'EGF (*Epidermal Growth Factor*) ou encore le TGF- β (*Transforming Growth Factor-beta*) (1) :

- Le VEGF permet la formation de nouveaux vaisseaux sanguins et la migration et prolifération des cellules endothéliales. Il stimule aussi la perméabilité capillaire (13).
- Le PDGF est impliqué dans la croissance et la migration cellulaire au cours de l'angiogenèse, la formation des structures de la peau ou même le développement du système nerveux central (14,15). Il a un effet chimiotactique sur les cellules souches mésenchymateuses, les ostéoblastes, les macrophages et les fibroblastes et jouerait un rôle majeur dans la régénération parodontale (16).
- L'EGF favorise la prolifération, la migration et la différenciation cellulaire durant la formation du système nerveux, du système cardiovasculaire ou encore des épithéliums (17). Cette cytokine stimule la cicatrisation épidermique.
- Le TGF- β est une cytokine qui joue un rôle anti-inflammatoire et immunosuppresseur (18).
- L'IGF-1 (*Insulin-like Growth Factor-1*) est une hormone de croissance produite par le foie. elle est impliquée principalement dans le développement des cartilages de conjugaison au niveau des os longs en stimulant la prolifération des chondrocytes mais aussi dans le développement cognitif ainsi que dans la croissance de davantage de tissus (19).

La quantité de facteurs de croissance, de nutriments et autres molécules trophiques contenu dans les plaquettes explique l'intérêt porté aux concentrés et dérivés plaquettaires comme les colles de fibrine qui ont vu le jour dans les années 1970, dans le but de permettre une adhésion des tissus et une hémostase lors d'opérations chirurgicales, notamment chez des patients atteints de thrombopénie (20). Puis le Plasma Riche en Plaquettes (PRP) et d'autres concentrés plaquettaires comme le Plasma Riche en Fibrine (PRF) ont été développés dans les domaines de chirurgie orale et maxillo-faciale pour faciliter la cicatrisation lors de greffes osseuses (3,21,22). Récemment, de nombreuses études ont été menées sur le lysat plaquettaire, un dérivé plaquettaire aux nombreuses perspectives thérapeutiques (3,18).

2) Les principaux concentrés plaquettaires

a) Le Plasma Riche en Plaquettes (PRP)

Le PRP est un plasma liquide contenant les plaquettes et des leucocytes obtenu à partir de l'échantillon de sang prélevé. Une centrifugation à basse vitesse avec anticoagulant divise l'échantillon de sang total en 3 couches : une couche supérieure de plasma pauvre en cellules, une intermédiaire riche en éléments cellulaires et un fond de globules rouges. Les phases supérieure et intermédiaire sont extraites et centrifugées à haute vitesse afin d'obtenir un surnageant de Plasma Pauvre en Plaquettes (PPP), un culot résiduel de globules rouges (GR) et une phase intermédiaire de PRP (23).

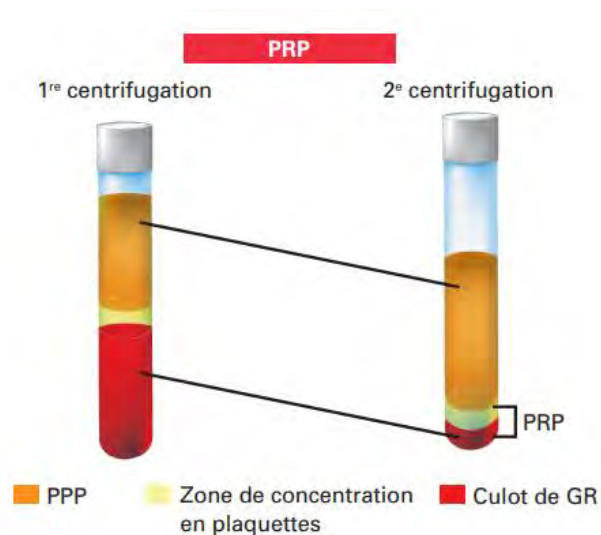


Figure 3. Technique de préparation du PRP (3)

Les concentrations en plaquettes et facteurs de croissance du PRP, 3 à 5 fois supérieures à celle du sang circulant, lui offrent des propriétés bioactives favorables à son utilisation en chirurgie (24). Selon que le PRP soit débarrassé de ses leucocytes ou non, on obtient du P-PRP (*Pure-PRP*) ou du L-PRP (*Leucocytes-PRP*) (2). Il est possible d'ajouter du chlorure de calcium ou de la thrombine au PRP pour déclencher le phénomène de coagulation et la formation d'un réseau de fibrine (3). Le PRP, ainsi gélifié, libère rapidement ses facteurs de croissance et jusqu'à 24 heures après son implantation (3).

b) Le Plasma Riche en Fibrine (PRF)

Le PRF, développé par Choukroun, représente la forme de concentré plaquettaire la plus avantageuse cliniquement avec un procédé de fabrication simplifié et rapide. Un seul cycle de centrifugation de sang autologue à vitesse rapide sans anticoagulant aboutit à la formation d'un caillot fibreux facilement manipulable et capable de relarguer des plaquettes pendant plus de 10 jours (25).

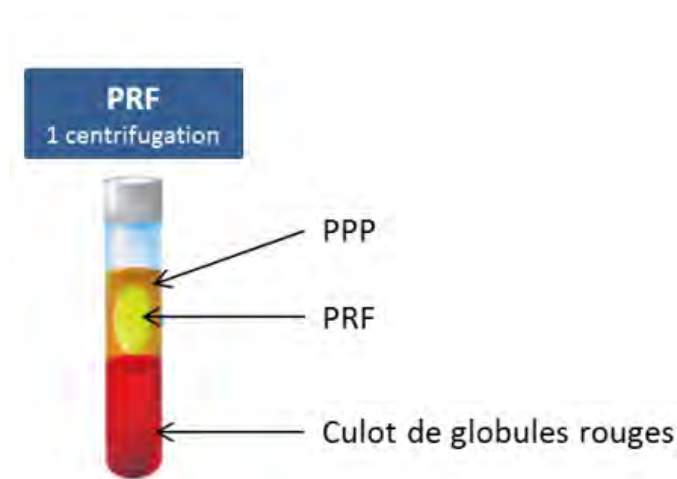


Figure 4. Technique de préparation du PRF (3)

La période de relargage nettement supérieure à celle du PRP est due la formation tridimensionnelle naturelle du réseau de fibrine obtenue lors de la centrifugation sans ajout d'anticoagulant (25).

En odontologie, le PRF est bénéfique dans le traitement des défauts parodontaux infraosseux, qu'il soit utilisé seul ou en combinaison avec un matériau de greffe osseuse. Il procure un gain d'attache supérieur et une diminution de la profondeur de sondage. Au niveau des sites d'extraction, le PRF améliore les résultats cliniques et radiologiques comme la densité osseuse et la guérison des tissus mous. Il a aussi des effets bénéfiques sur les symptômes rapportés par le patient, comme la douleur et les œdèmes, et il accélère le processus de cicatrisation (26). En revanche, il doit être utilisé rapidement après sa préparation car sa conservation est limitée dans le temps.

3) Processus de préparation du lysat plaquettaire

Le lysat plaquettaire est un mélange protéique liquide complexe et acellulaire, riche en molécules bioactives et facteurs trophiques, obtenu à partir de concentrés plaquettaires auxquels un processus de lyse cellulaire a été appliqué (7). Les membranes cytoplasmiques des plaquettes sont donc détruites et leur contenu disponible directement.

Les procédés de préparation décrits par la suite sont ceux appliqués dans le but d'une fabrication de lysat plaquettaire à l'échelle industrielle. Les établissements du sang agréés respectent des règles strictes de bonne pratique de fabrication des concentrés plaquettaires : sélection de donneurs sains, test de pathogénicité, inactivation virale, traçabilité et suivi de production (27,28).

a) Préparation du concentré plaquettaire

Les concentrés plaquettaires sont collectés dans les établissements du sang soit à partir de dons de sang total en utilisant la technique du Buffy Coat ou du PRP, soit par don d'aphérèse, dans le but d'être utilisés chez des patients atteints de troubles ou de dysfonction de la coagulation dus à une maladie ou un traitement médicamenteux (29). Les 3 techniques sont illustrées dans la *figure 5* (7).

- La technique d'aphérèse nécessite un automate de haute technologie permettant à partir d'un unique donneur de prélever les plaquettes en grande quantité et de lui restituer les autres éléments du sang comme les érythrocytes ou les leucocytes (30). Grâce à cette méthode, il n'est donc pas nécessaire d'ajouter une étape de réduction leucocytaire. La poche de concentré plaquettaire obtenue (150-300mL) contient une concentration en plaquettes 4 à 5 fois supérieure à celle du sang circulant (30).
- La technique du Buffy Coat est la plus utilisée en Europe. L'échantillon de sang total (200-500mL) est centrifugé à haute vitesse en présence d'anticoagulant pour obtenir trois phases : un culot de globules rouges, une phase intermédiaire riche en plaquettes et globules blancs (phase appelée Buffy Coat) et une phase de

plasma pauvre en plaquettes en haut. Les fractions leuco-plaquettaires (Buffy Coat) de 4 à 6 donneurs et une fraction de plasma sont alors regroupées dans une poche, puis une deuxième centrifugation et une filtration leucocytaire sont réalisées. On obtient une poche de concentré plaquettaire de 300 mL (7,31).

- La technique du PRP est plus largement utilisée aux Etats-Unis ou en Asie. Une double centrifugation en présence d'anticoagulant comme décrite précédemment est réalisée à partir de sang total (23).

Les PRP de 4 à 5 dons de sang total sont ensuite regroupés dans une poche de concentré plaquettaire de 200 mL qui est déleucocytée par filtration.

La réduction leucocytaire est toujours souhaitée pour éviter les effets indésirables comme le risque d'allo-immunisation HLA, les risques bactériens et de transmissions de virus intra-leucocytaires comme le cytomégalovirus (CMV), l'Epstein-Barr Virus (EBV) ou le Virus T-Lymphotrope Humain (HTLV) chez le patient receveur (32).

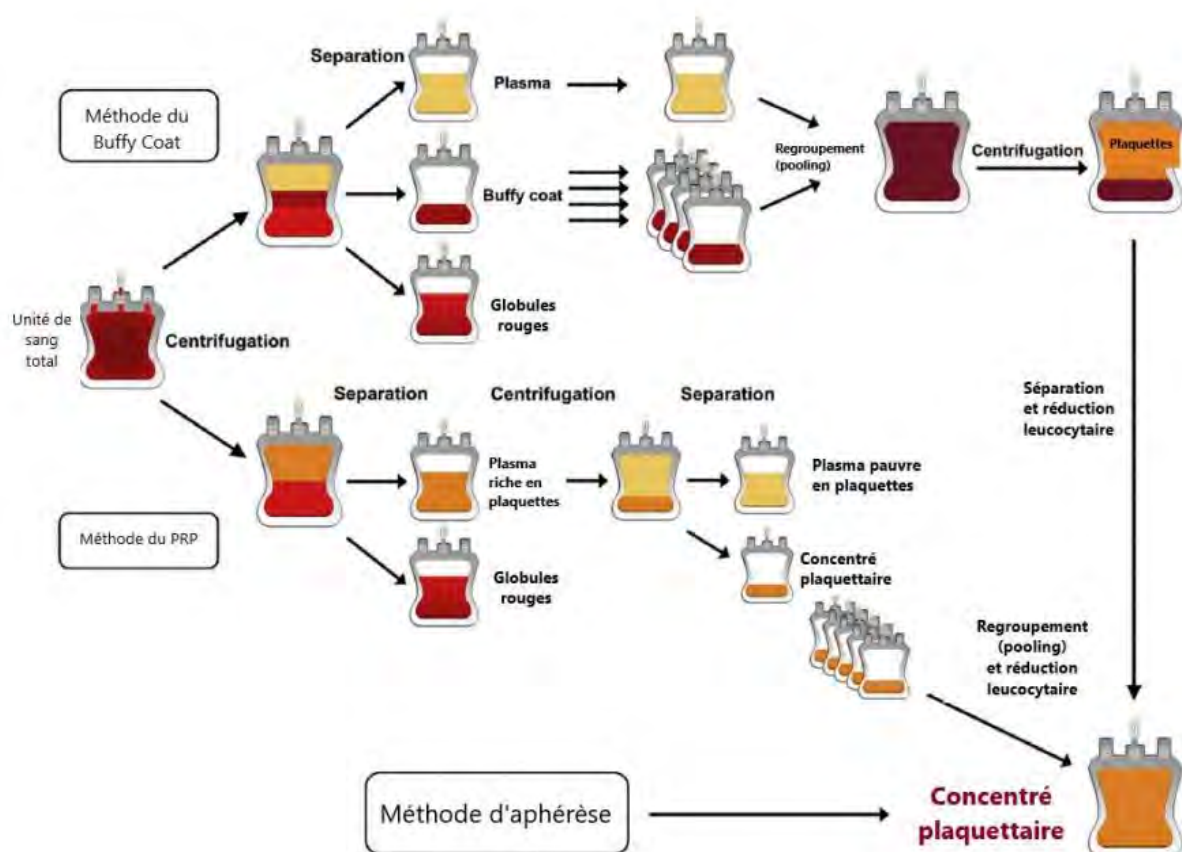


Figure 5. Différentes méthodes de préparation du concentré plaquettaire (7)

Les concentrés plaquettaires collectés sont maintenus sous agitation douce et continue dans une solution soit de plasma, soit de plasma mélangé avec une solution additive de conservation des plaquettes (PAS pour Platelet Additive Solution) à une température de $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ pour une durée de conservation de 5 à 7 jours (29). Selon le « guide pour la préparation, l'utilisation et l'assurance de qualité des composants sanguins » du Conseil de l'Europe, le nombre de plaquettes minimum par unité doit être de 2×10^{11} tandis que le nombre de leucocytes doit être inférieur à 1×10^6 (30). Une irradiation gamma de 25 Gray, sans effet significatif sur le contenu plaquettaire, est réalisée pour éliminer les éventuels pathogènes (33).

Après expiration de leur durée de conservation, les concentrés plaquettaires n'ayant pas été utilisés sont candidats à la fabrication du lysat plaquettaire s'ils répondent à plusieurs critères de qualité et de sécurité : ils doivent être négatifs aux tests de pathogénicité et avoir un pH supérieur à 6.4 (27). Les concentrés plaquettaires frais peuvent aussi être utilisés mais la transfusion reste leur usage principal (34) et il a été démontré que l'utilisation de concentrés plaquettaires expirés de 5 à 7 jours n'avait pas d'impact sur les propriétés du lysat plaquettaire résultant (35).

b) Préparation du lysat plaquettaire

Plusieurs méthodes simples et peu coûteuses ont été développées et décrites dans la littérature pour obtenir le lysat plaquettaire à partir des concentrés plaquettaires et peuvent être classées en 4 catégories (36) :

- **Cycles de congélation/décongélation** : C'est la méthode la plus utilisée (74%). 2 à 3 cycles de congélation (-30°C à -80°C) et de décongélation ($+37^{\circ}\text{C}$) permettent de fragmenter les plaquettes et libérer leur contenu. Plus le nombre de cycles est élevé, plus grande est la quantité de facteurs plaquettaires libérés, mais un trop grand nombre de cycles les dégrade.
- **Ultrasons** : un traitement par ultrasons à 20kHz pendant 30 minutes libère le contenu des plaquettes. Il est parfois utilisé en complément de la méthode précédente.

- **Traitement solvant/ détergent :** Cette méthode a une double action de lyse des plaquettes et d'inactivation virale pour les virus à enveloppe lipidique (VIH, VHB, VHC) (37). Le concentré plaquettaire est incubé avec 1% de tri-n-butyl phosphate (solvant) et 1% Triton X-45 (détergent) qui seront ensuite éliminés par extraction à l'huile de soja, filtration et chromatographie (38).
- **Activation plaquettaire par ajout de thrombine ou de chlorure de calcium :**
 Cette technique permet l'activation plaquettaire et la libération des granules plaquettaires en reproduisant la cascade de coagulation par l'ajout de chlorure de calcium (CaCl₂) ou de thrombine. Après conversion complète du fibrinogène en fibrine, une centrifugation et une filtration permettent d'éliminer le caillot de fibrine formé.

Dans les 3 premières techniques, le lysat plaquettaire peut contenir jusqu'à 3mg/mL de fibrinogène (7), ce qui modifie ses caractéristiques. En cas d'activation plaquettaire lors de l'utilisation du lysat, il s'organise un réseau de fibrine avec l'aspect d'un hydrogel renfermant les cytokines. Il est alors nécessaire, si l'on souhaite garder l'aspect liquide du lysat plaquettaire, d'ajouter de l'héparine pour prévenir la gélification et la coagulation. Une dernière centrifugation peut être réalisée pour éliminer les débris cellulaires (39). Un traitement thermique (56°C, 30 min) permet aussi de supprimer le fibrinogène en plus d'inactiver le virus de l'hépatite C (40).

Les concentrés plaquettaires lysés sont regroupés dans une poche pour former un pool de lysat plaquettaire prêt à l'usage (36) et les recommandations de stockage varient d'une durée allant de 2 ans à une température de -30°C jusqu'à 5 ans à -80°C (34). Il peut aussi être conservé sous forme lyophilisée à 4°C pendant 9 mois (41). La création de pools permet de diminuer la variabilité inter-individuelle des dons de sang total mais augmente le risque de transmission infectieuse. La Pharmacopée Européenne recommande donc une limitation des regroupements de pools si aucun autre traitements d'inactivation virale supplémentaire n'est imposé (34).

Une approche mathématique dans une étude scientifique d'Agostini et al. de 2017 a démontré que le regroupement de 16 donneurs dans un pool était suffisant pour éviter une variation significative au niveau des concentrations de facteurs de croissance et du pouvoir trophique du lysat plaquettaire (42). Burnouf et al. estiment en 2016 qu'un

volume de 100 000 à 250 000 L de lysat plaquettaire humain par an peut potentiellement être préparé à partir des concentrés plaquettaires expirés issus des dons de sang, ce qui représente un stock important et avantageux vis-à-vis de la demande croissante d'essais cliniques autour de la thérapie cellulaire impliquant le lysat plaquettaire (7).

II. Le potentiel thérapeutique du lysat plaquettaire

1) Lysat plaquettaire et culture cellulaire in vitro

La culture cellulaire, largement utilisée dans le cadre de la recherche, de la thérapie cellulaire ou du développement de médicaments de thérapie innovante, a pour but de maintenir des cellules humaines ou animales dans un milieu *in vitro* permettant leur survie, leur prolifération ou leur différenciation. Le Sérum de Veau Fœtal (SVF) a longtemps été considéré comme le « gold standard » en termes d'adjuvant riche en facteurs de croissance et nutriments pour le milieu de culture cellulaire, et il reste à ce jour couramment utilisé (43).

Cependant, le SVF présente de nombreux inconvénients et son utilisation est remise en cause d'un point de vue scientifique et éthique (44). En effet, certains composants du SVF n'ont pas encore été identifiés, et même parmi les substances identifiées, leur rôle dans la culture cellulaire n'est pas clairement établi. Le risque de contamination par les endotoxines, virus, bactéries et prions d'origine animale remet en question la sécurité et la pertinence de son utilisation (45,46). L'intégration de protéines bovines par les cellules mises en culture peut aboutir à des réactions allergiques et immunitaires si une réimplantation des cellules sur un patient est envisagée. De plus, la méthode d'obtention du SVF soulève des questions d'éthique et de bien-être animal (43).

Actuellement, le recours au Lysat Plaquettaire (LP) humain, en accord avec les recommandations de limitation d'utilisation de produits xénogènes, est devenu une pratique courante validée par de nombreuses études (47). Sa haute concentration en facteurs de croissance clés (PDGF, VEGF, TGF- β etc.), ions, et autres composants

plaquettaires fait du LP un adjuvant de culture idéal pour de nombreux types cellulaires. Les principales différences du LP humain avec le SVF sont sa plus grande quantité d'immunoglobulines et la présence de fibrinogène et de facteurs de la coagulation quand il n'y a pas eu d'activation par la thrombine ou le chlorure de calcium lors de la préparation du LP (7).

Doucet et al. introduisent l'utilisation du LP humain en adjuvant de culture de Cellules Stromales Mésoenchymateuses (CSM) en 2005 (48).

Les CSM disposent, grâce à leur capacité de trans différenciation et leurs propriétés immunomodulatrices, d'un potentiel de cicatrisation et de régénération osseuse et cartilagineuse, ainsi que d'une application dans le traitement des maladies auto immunes (45). La capacité du LP humain à promouvoir la culture cellulaire a été mise en évidence sur des CSM issues en majorité de la moelle osseuse ou du tissu adipeux, mais aussi d'autres tissus humains comme la gelée de Wharton, le cordon ombilical, le liquide amniotique, la pulpe dentaire, le ligament alvéolo-dentaire et la papille apicale (49).

Malgré le manque de standardisation des protocoles de préparation du LP humain, la majorité des études scientifiques démontre une efficacité semblable voire accrue du LP humain par rapport au SVF sur l'expansion des CSM, avec une prolifération plus rapide des CSM sans modification de leur potentiel de différenciation vers les lignées osseuses, chondrocytaires et adipeuses tout en conservant leur capacités immunomodulatrices (47,48,50). Le LP humain augmente la taille et le nombre de colonies de CSM, et aucune instabilité chromosomique n'est observée (45).

Le LP humain n'induit pas chez les CSM d'expression du complexe majeur d'histocompatibilité (HLA) malgré la présence dans son contenu de facteurs mitogènes (PDGF-BB, FGF). Mais la présence de fibrinogène peut affecter le rôle immunomodulateur des CSM en réduisant leur capacité à réguler l'enzyme indoléamine dioxygénase (IDO) et à diminuer la prolifération des lymphocytes T et *natural killer* (51,52). De plus, l'ajout d'héparine est nécessaire pour éviter la formation d'un réseau de fibrine et la gélification du milieu de culture délétère au développement des cellules en culture (53). La concentration d'héparine doit être suffisante mais rester faible pour éviter toute cytotoxicité et ne pas diminuer les capacités de prolifération et de différenciation des

CSM (43,54). Des modifications dans les protocoles de préparation du LP humain dans quelques études ont permis de s'affranchir de l'utilisation d'héparine en ayant une concentration en fibrinogène très faible (54,55).

Au-delà de son efficacité avérée sur les CSM, le LP a démontré agir bénéfiquement sur la croissance et l'expansion de nombreux autres types cellulaires comme les chondrocytes (56), les fibroblastes (57), les ostéoblastes (58), les cellules endothéliales (59), les monocytes, les cellules dendritiques (60), les kératinocytes (61) les myoblastes (62), les ténocytes (63), etc. La viabilité, la morphologie et les capacités de prolifération, différenciation et maturation des cellules sont maintenues grâce à une supplémentation en LP variant entre 5 et 10% le plus souvent. Un milieu enrichi en LP humain est donc une alternative concluante pour l'expansion cellulaire en vue de transplantation chez l'homme (31).

L'étendue des propriétés du lysat plaquettaire décrites précédemment justifie son développement dans de nombreux autres domaines de la médecine régénérative.

2) Lysat plaquettaire et médecine régénérative

a) Lysat plaquettaire seul ou associé

Le LP est utilisé seul dans diverses situations cliniques, sous sa forme liquide ou d'hydrogel mais doit être associé à une autre structure dans des situations impliquant une plus grande résistance et stabilité face aux contraintes mécaniques ou une action prolongée dans le temps. Il arrive donc qu'il soit encapsulé, couplé à une matrice tridimensionnelle synthétique ou naturelle ou associé à un autre biomatériau (64). On retrouve parmi les matrices développées du collagène et de la gélatine (65), du PLGA (Poly Lactic-co-Glycolic Acid) (66), du Chitosan (67), de l'acide hyaluronique (68), de la génipine (39) etc.

Sung Jun Min et al. (2021) développent un hydrogel à base de LP rendu photopolymérisable par l'ajout d'anhydride méthacrylique et d'agents photo-initiateurs.

L'hydrogel obtenu est utilisé comme bio-encre pour l'impression 3D de matrices simulant les tissus humains et il permet *in vitro* le développement viable des cellules (69).

Le LP peut aussi être combiné aux substituts osseux comme l'Hydroxyapatite, le phosphate tricalcique (70) et le phosphate de calcium biphasique (71).

In vitro, la structure du titane d'implants dentaires a même été modifiée par l'ajout de nanocristaux de cellulose imprégnés de LP (72). Il a également été développé en laboratoire un fil de suture recouvert de LP (73). Les applications du LP semblent donc multiples.

b) Maladies oculaires

Une attention particulière est portée au LP dans le traitement de la surface oculaire et la cornée car ses facteurs de croissance comme EGF et TGF- β sont présents dans les sécrétions lacrymales et possèdent des récepteurs sur les cellules épithéliales de la cornée, les kératocytes, les fibroblastes cornéens et les cellules endothéliales. Ils soutiennent la prolifération et la migration des cellules cornéennes (74,75). Les pathologies de la cornée représentent la première cause de perte partielle ou totale de la vue dans le monde (76).

In vitro, Le LP active les mécanismes de cicatrisation de la cornée et exerce un pouvoir antioxydant et anti-apoptotique sur les cellules endothéliales de la cornée, cellules victimes du stress oxydatif et au renouvellement limité au cours du vieillissement (77). Chez l'animal, le LP améliore considérablement la régénération nerveuse de la cornée (78). Les essais cliniques chez l'homme testent l'application quotidienne du LP sous forme de gouttes oculaires. L'efficacité du LP est prouvée pour le soulagement des symptômes chroniques chez des patients atteints de syndrome de l'œil sec associé ou non au syndrome de Sjögren (79), et chez des patients atteints de la maladie du greffon contre l'hôte suite à une greffe de cornée (80). Le LP soulage aussi les symptômes plus aigus des brûlures de la cornée, des ulcères cornéens et de la kératite neurotrophique en améliorant la cicatrisation (81,82). Concernant la galénique, il est possible de lyophiliser le LP sous forme de poudre sans modifier ses propriétés (83).

c) Troubles neurologiques

Des études prometteuses ont été menées sur le LP *in vitro* sur des modèles cellulaires et sur des modèles animaux *in vivo* mimant des lésions cérébrales (84) et des maladies neurodégénératives telles que la maladie de Parkinson (85), la maladie d'Alzheimer (86), et la Sclérose Latérale Amyotrophique (SLA ou maladie de Charcot) (87) .

Le LP active des voies de signalisation spécifiques favorisant la protection neuronale (cellules LUHMES, neurones primaires, motoneurones (40,88)) et synaptique contre l'apoptose et la ferroptose. Il induit la neurogénèse et a un effet anti-oxydant et anti-inflammatoire également sur les astrocytes (cellules gliales) (89). Utilisé sur des modèles murins de lésions cérébrales, il améliore considérablement les fonctions motrices des souris. L'administration du LP par spray nasal sur des modèles murins de la maladie de Parkinson diffuse au cerveau et induit la protection des neurones dopaminergiques sans produire d'effet secondaire. L'administration intra nasale est avantageuse car peu invasive et permet la diffusion du LP à travers la barrière hémato-encéphalique grâce à la porosité osseuse de la lame criblée de l'éthmoïde. Les facteurs neurotrophiques du LP diffuse ainsi vers le bulbe olfactif et le cortex cérébral (85).

Pour son administration intra nasale ou intra-cérébro-ventriculaire, le LP est dit « purifié » selon un protocole spécifique avec un traitement thermique à 56°C pendant 30 minutes (85,87). Le LP obtenu est dit faible en protéines plasmatiques (mais riche en facteurs neurotrophiques) et dépourvu de fibrinogène, de facteurs de coagulation, de prothrombine et d'enzymes protéolytiques pour ne pas surcharger le liquide cébrospinal et éviter tout effet néfaste sur le cerveau (90).

d) Troubles musculo-squelettiques

Le LP représente un traitement encourageant des troubles musculo-squelettiques (TMS) qui désignent les pathologies situées autour des articulations des membres et de la colonne vertébrales provoquant des douleurs chroniques au niveau des cartilages, des tendons et des muscles.

Parmi les TMS, l'ostéoarthrite du genou est largement retrouvée chez les personnes âgées (91), provoquant une usure du cartilage entraînant des douleur, une diminution de

la mobilité et de la qualité de vie. Les cellules progénitrices présentes dans le cartilage articulaire ont un potentiel limité de régénération qui peut être stimulé en présence de LP (92).

Chez l'homme, l'injection intra articulaire de LP dans l'articulation du genou a conduit à une amélioration des symptômes chez le patient selon l'évaluation KOOS (*Knee Osteoarthritis and Disability Outcome Score*) (93). L'injection est répétée 3 fois, chacune espacée de 3 semaines chez des patients atteints d'ostéoarthrite de stade précoce et intermédiaire (93). L'évaluation des structures par Imagerie à Résonance Magnétique (IRM) à 12 mois chez 15 patients montre une augmentation de l'épaisseur des cartilages aux niveaux fémoral et tibial (91).

Li et al. (2021) étudient *in vivo* l'injection d'un hydrogel contenant des microsphères de PLGA/chitosan/gélatine chargées de LP sur des modèles de rats d'ostéoarthrite. La libération rapide de facteurs bioactifs permet la diminution des symptômes tandis que la libération prolongée du LP par les microsphères entraîne une réparation du cartilage, inversant la dégénérescence des cartilages dues à l'ostéoarthrite (67).

Une étude comprenant 470 patients atteints de douleurs radiculaires lombaires (lombalgie) suivis sur 2 ans montre que l'injection périurale de LP est une alternative efficace contre la douleur. Elle améliore la mobilité sans effets secondaires contrairement à l'injection de corticoïdes (94).

L'injection périurale de LP a également permis à des patients avec une hernie discale de diminuer les douleurs et de faciliter la résorption du disque (95).

Le traitement par injection locale de LP chez des patients atteints d'épicondylite (*tennis elbow*) entraîne une diminution des symptômes et une récupération fonctionnelle normale (96).

e) Régénération tissulaire cutanée et muqueuse

L'application de LP cible particulièrement les contextes traumatiques, pathologiques ou inflammatoires dans lesquels l'organisme n'est plus capable de jouer son rôle de cicatrisation des lésions (diabète, obésité, angiopathies). Le but du LP est d'apporter les facteurs plaquettaires trophiques en concentration supra physiologique pour accélérer la guérison de lésions chroniques non cicatrisantes rétablissant l'activation des fibroblastes, la migration des kératinocytes, la synthèse de collagène, l'angiogenèse et la réépithélialisation (97).

De plus, le LP exerce une activité anti bactérienne contre *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* sur le site de la lésion, facilitant le processus de cicatrisation (98). Celle-ci étant modérée, des essais *in vitro* de combinaison du LP avec la vancomycine (antibiotique) dans des particules d'acide hyaluronique et d'alginate de calcium ont été réalisés, dans l'optique de traitement d'ulcères chroniques de la peau (99).

In vivo, des modèles de souris diabétiques ont montré une amélioration de la cicatrisation de lésion avec l'utilisation d'une matrice chargée de LP. Une fermeture plus rapide et complète des plaies est observée par rapport à la matrice témoin sans LP (100). Ces résultats sont appuyés chez l'homme par la présentation de deux cas de traitement d'ulcères du pied diabétique issus d'un essai clinique en cours (101). Chez un homme de 58 ans et une femme de 67 ans, une injection péri lésionnelle de LP a été administrée toutes les deux semaines sur des ulcères chroniques de respectivement 33 cm² et 48 cm². Une cicatrisation complète est observée à 8 semaines dans les 2 cas avec un aspect sain de la peau et aucun effet secondaire n'a été reporté.

Au niveau muqueux, un gel muco-adhésif à base de LP a été expérimenté par Del Fante et al. sur 7 patients atteints de mucosites buccales liées à la maladie du greffon contre l'hôte (102). Le traitement de l'inflammation due à la mucosite s'est avérée efficace sur 6 patients. Ces résultats préliminaires sont favorables à des essais randomisés contrôlés plus larges.

Le LP favorise également l'activation et la régénération des follicules pileux (103). Chez l'homme, son utilisation seule ou combinée à une greffe de follicules a démontré son

efficacité et une augmentation de la densité capillaire sur des patients atteints d'alopecie androgénétique (104).

f) Régénération osseuse

In vivo, le LP induit le remodelage et la croissance osseuse verticale sur la voûte crânienne de lapin (105). Chez la souris, l'ajout de LP comme revêtement de substitut osseux (hydroxyapatite/phosphate tricalcique β) potentialise l'adhésion et la colonisation des CSM, ainsi que le recrutement des cellules du tissu hôte. Il exerce un effet synergique dans la néoformation osseuse et vasculaire (70). Sur des os longs de lapin, l'association de LP à une greffe d'os allogène entraîne une cicatrisation comparable à celle obtenue avec l'utilisation d'os autogène, et présente une densité osseuse supérieure (106).

Chez l'homme, l'injection de LP favorise la cicatrisation osseuse de fractures non consolidées et de nécroses de la tête fémorale (107). Au niveau moléculaire, le LP augmente l'expression de protéines majeures de la croissance osseuse comme l'ostéoprotégérine, l'ostéopontine, l'ostéocalcine et les phosphatases alcalines (107).

Le LP stimule la prolifération des ostéoblastes et les sort de leur état de quiescence, tout en activant l'induction de l'angiogenèse. Cet effet combiné favorise la différenciation ostéoblastique et la formation osseuse (108).

3) Lysat plaquettaire et odontologie

Le recours au LP pour le chirurgien-dentiste s'avère prometteur dans le cadre de l'odontologie régénérative et de la chirurgie orale, que ce soit pour la cicatrisation muqueuse ou la régénération osseuse comme vu précédemment mais aussi pour le traitement de la parodontite et la régénération endodontique.

Concernant les études sur la régénération endodontique et pulpaire, le pouvoir angiogénique et chimiotactique du LP a permis, *in vitro* et *ex vivo*, le développement et la viabilité de cellules pulpaires humaines même inflammées (109,110). Sous forme d'hydrogel, Le LP tapisse la surface endodontique et pénètre dans les tubulis dentinaires.

La vascularisation rapide induite par ses facteurs de croissance justifie le développement de biomatériaux à base de LP (68,111).

Dans le traitement de la parodontite, une étude menée sur des défauts parodontaux chez le rat montre que l'injection de LP diminue le processus inflammatoire en régulant l'expression des cytokines pro-inflammatoires comme l'interleukine-1 et l'interleukine-6 (112). Cet essai randomisé divise 36 rats en trois groupes : un groupe contrôle, et deux autres groupes chez lesquels la pose d'une ligature en coton au niveau de la seconde molaire maxillaire simule la présence d'une parodontite aiguë. Pour les deux groupes avec ligature, il a été réalisé des injections intra sulculaires soit de solution saline stérile (ligature + saline), soit de LP (ligature + SPL) pendant 2 semaines. Ensuite la perte osseuse est mesurée par analyse tomodensitométrique puis confirmée par l'observation microscopique de coupes histologiques (112). La perte osseuse du groupe (ligature+SPL) est significativement diminuée de 0.5mm par rapport au groupe (ligature+saline) (Figure 7).

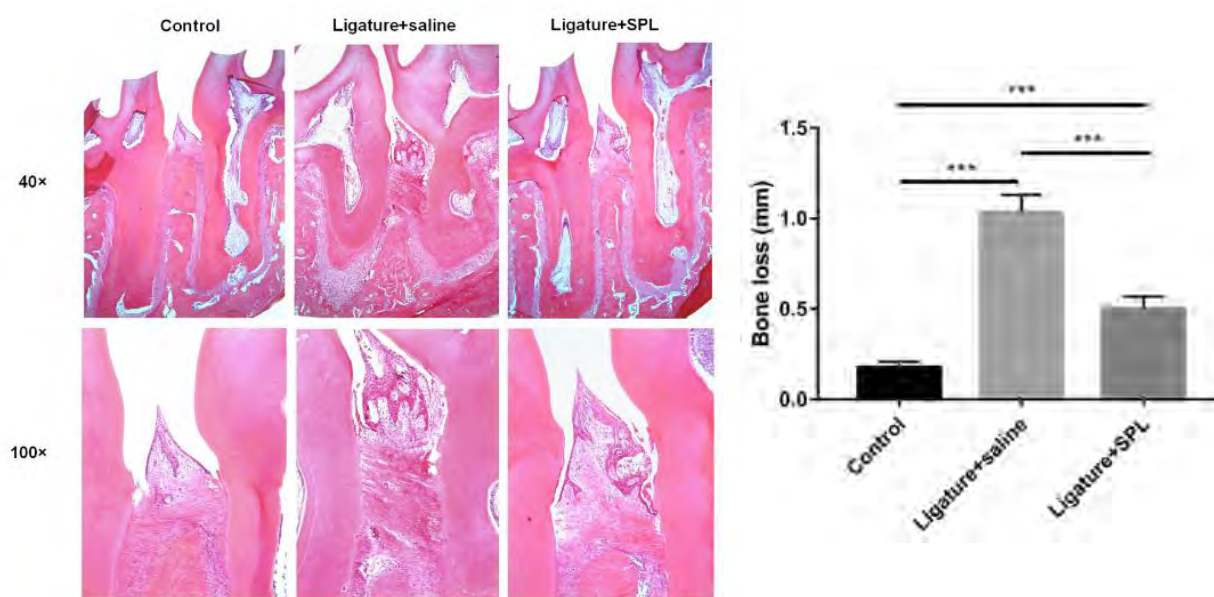


Figure 6 (à gauche). Coupes histologiques d'os alvéolaire entre la 1ère et la 2ème molaire maxillaire de rats après induction de parodontite par la pose d'une ligature et l'injection de solution saline ou de lysat plaquettaire (SPL) (112).

Figure 7 (à droite). Mesure de la perte d'os alvéolaire (Bone loss) à partir d'images obtenues par tomodensitométrie (***) signifie que $p < 0.001$ (112).

La forme liquide du LP reste cependant une contrainte car celui-ci est rapidement chassé du site d'action par les fluides gingivaux et la salive. Et la répétition des injections s'avère être un traitement invasif et contraignant.

Pour y remédier, Babo et son équipe ont mis au point un système bicouche composé de phosphate de calcium (*injectable cement*), de génipine associé à du LP (*gPL construct*) qui permet de maintenir les protéines du LP au contact des surfaces radiculaires (Figure 8).

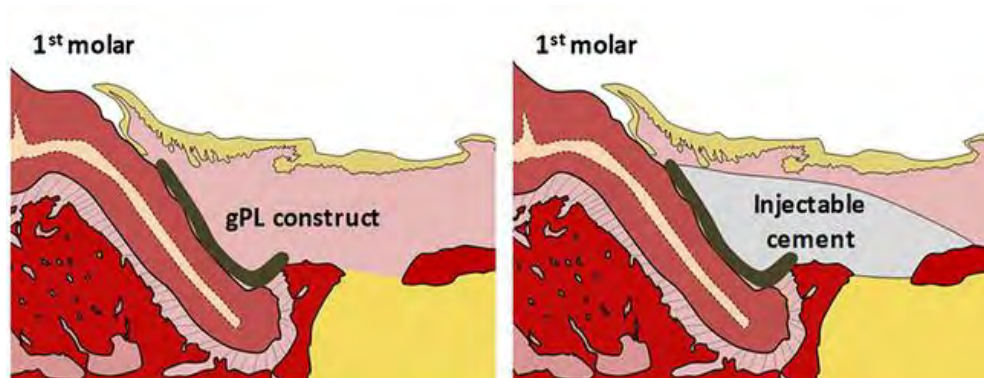


Figure 8. Schéma de la mise en place du système bicouche en 2 temps au niveau du défaut infra osseux d'une première molaire maxillaire de rat (113).

Les résultats de l'étude confirment le besoin de mettre en place un système stable au contact de la surface radulaire exposée par la lésion parodontale. Ainsi le maintien des facteurs trophiques au contact de la racine et de l'os alvéolaire permet la régénération d'os alvéolaire et de desmodonte, diminuant la perte d'attache épithéliale (113).

Le docteur Monsarrat et son équipe ont réalisé un essai pré-clinique randomisé en double aveugle sur des Beagles atteints de parodontite. Un hydrogel à base de LP est greffé au niveau de la lésion parodontale avec ou sans ajout de cellules stromales adipeuses (114). 120 jours plus tard, les examens cliniques et radiologiques révèlent une stabilisation des tissus parodontaux (profondeur de poche, niveau d'attache épithéliale) et une diminution de l'activité inflammatoire (saignements, aspect de la gencive) plus importantes en présence de cellules souches adipeuses. Ces résultats, confirmés par analyse microscopique et séquençage génomique, valident la pertinence du développement de la thérapie cellulaire combinée avec du LP pour le traitement de la parodontite (114). Les résultats sont en cours de publication.

Chez l'homme, un essai clinique randomisé a permis d'évaluer la mise en place d'une matrice de collagène imprégnée de fibrine, de LP et de CSM au niveau de défauts parodontaux. Aucune différence clinique ou radiologique significative n'a été observée avec les groupes témoins mais les résultats encouragent le développement de biomatériaux combinés avec du LP et des CSM pour la régénération parodontale (115).

Par ailleurs, une étude *in vitro* démontre qu'une matrice associant du ciment de phosphate de calcium, de la doxycycline (antibiotique) et du LP avec des cellules stromales mésenchymateuses d'origine desmodontale combine un fort pouvoir antibactérien, une biocompatibilité élevée, et induit la différenciation ostéogénique des cellules souches desmodontales (116).

Dans l'optique d'améliorer la résistance aux contraintes mécaniques de l'hydrogel de fibrine obtenu à partir du LP, Thibault Canceill a développé dans sa thèse en 2021 un procédé de fabrication de mousse sèche de LP (117). Cette mousse est obtenue par séchage de l'hydrogel de LP en atmosphère CO₂ supercritique, sans altération de la disponibilité des facteurs de croissance naturellement présents dans le LP. Même les éléments ajoutés pour la formation du gel de fibrine que sont l'acide tranexamique (anti-fibrinolytique), le sodium, le chlorure et le calcium sont conservés dans la mousse lors du procédé de fabrication et pourront apporter une activité biologique supplémentaire comme la stabilisation du caillot sanguin. Le biomatériau obtenu est un réseau tridimensionnel de fibrine sec et poreux favorable à la colonisation et au développement des cellules de l'hôte qui offre un relargage lent et prolongé de ses facteurs de croissance. Il est facilement manipulable, sa forme est modifiable et adaptable au site implanté, et sa résistance à la compression est supérieure à celle de l'hydrogel (117). Une indication d'utilisation de la mousse de LP pourrait donc être la régénération parodontale. Sa capacité à se réhydrater lui permettrait d'absorber les fluides biologiques et de combler tout le volume du défaut osseux.

Le LP se différencie des concentrés plaquettaires actuellement utilisés en chirurgie dentaire par sa composante acellulaire, et donc la disponibilité immédiate des facteurs de croissance et autres protéines en concentration élevée. Le LP étant débarrassé des membranes plaquettaires lors de la fabrication, il présente une plus grande stabilité contrairement aux autres concentrés plaquettaires plus sensibles à la rétractation et à la

gélification. Le processus de fabrication du LP à partir de dons de sang et de pools de concentrés plaquettaires décrit antérieurement est peu coûteux, facilement standardisable et reproductible avec un meilleur contrôle des concentrations en éléments bioactifs du produit fini et une variation minimale permettant des résultats thérapeutiques prédictibles (118,119). Un autre avantage est que le LP peut être lyophilisé (83), congelé (120), ou à l'état de mousse sèche (117) jusqu'à son utilisation tout en conservant ses propriétés.

Cependant, le LP commercialisé actuellement (Macopharma en France, PL BioScience en Allemagne...) est vendu uniquement en tant qu'adjuvant pour milieu de culture cellulaire. Pour étendre son utilisation à la thérapie cellulaire et la régénération tissulaire, il doit obéir à un cadre réglementaire français et européen strict considérant le LP comme un médicament de thérapie innovante et nécessitant une Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) (121).

4) Lysat plaquettaire autologue ou allogénique

La préparation de lysat plaquettaire autologue à partir d'un donneur unique au bloc opératoire d'un cabinet dentaire, comme pour le PRF, pourrait permettre de s'affranchir de certaines barrières réglementaires. Mais des étapes de laboratoire sont nécessaires (congélation/décongélation...) et demandent plusieurs jours d'élaboration. De plus, bien que le risque infectieux lié aux pathogènes soit maîtrisé, la quantité de LP issue d'un prélèvement sanguin autologue est faible et elle est soumise à la variabilité inter individuelle du donneur (âge, pathologie du sang...) (30).

L'avenir du LP se dirige donc plutôt vers un produit fini standardisé, conservable et commercialisable par les industries pharmaceutiques (90). Ce LP allogénique issu du regroupement de pools garantit une harmonisation des concentrations en facteurs de croissance, et donc des résultats prédictibles et reproductibles. L'inactivation de potentiels pathogènes doit être rigoureusement effectuée, et le LP doit être déleucocyté. La réglementation stricte impose la demande d'AMM et donc des étapes d'évaluation *in vitro*, *in vivo*, et cliniques.

CONCLUSION

Ainsi, le lysat plaquettaire est un dérivé sanguin naturellement riche en facteurs de croissance tels que le PDGF et le VEGF, capable de favoriser la cicatrisation et la régénération tissulaire. Actuellement utilisé dans le domaine de la recherche pour la culture de cellules, il présente l'avantage d'être d'origine humaine contrairement au sérum de veau fœtal.

L'intérêt porté au lysat plaquettaire se développe dans le cadre de nombreuses pistes thérapeutiques de la médecine régénérative comme les maladies neurodégénératives ou ostéoarticulaires. Son utilisation thérapeutique montre également des résultats encourageants dans les domaines de la chirurgie orale et de l'odontologie régénérative.

En odontologie, le recours au lysat plaquettaire pour la régénération parodontale, osseuse ou tissulaire reste actuellement expérimental et nécessite d'établir clairement le mode d'obtention du lysat plaquettaire (autologue ou allogénique), dans des conditions réglementées et pour des indications précises. Son intérêt majeur réside dans la conception d'un biomatériau résistant et bioactif capable de s'associer à un substitut osseux ou à des cellules stromales mésenchymateuses pour potentialiser la régénération des tissus traités. Le lysat plaquettaire est alors considéré comme un médicament de thérapie innovante dont le développement est prometteur en thérapie cellulaire et en ingénierie tissulaire comme sous la forme de mousse sèche (117).

Dans cette optique, son utilisation au cabinet dentaire n'est pas immédiate et nécessite la mise en place de démarches de commercialisation qui suivent une réglementation stricte afin d'obtenir une autorisation de mise sur le marché.

Le Président du jury



Le Directeur de thèse



Table des illustrations

Figure 1. Contenu des granules plaquettaires(4)	12
Figure 2. Rôle des facteurs de croissance plaquettaires dans la cicatrisation (3).....	14
Figure 3. Technique de préparation du PRP (21)	16
Figure 4. Technique de préparation du PRF	17
Figure 5. Différentes méthodes de préparation du concentré plaquettaire (4).....	19
Figure 6 (à gauche). Coupes histologiques d'os alvéolaire entre la 1ère et la 2ème molaire maxillaire de rats après induction de parodontite par la pose d'une ligature et l'injection de solution saline ou de lysat plaquettaire (SPL) (113).....	30
Figure 7 (à droite). Mesure de la perte d'os alvéolaire (Bone loss) à partir d'images obtenues par tomodensitométrie (***) signifie que $p < 0.001$ (112).....	31
Figure 8. Schéma de la mise en place du système bicouche en 2 temps au niveau du défaut infra osseux d'une première molaire maxillaire de rat (113).....	32

Bibliographie

1. Golebiewska EM, Poole AW. Platelet secretion: From haemostasis to wound healing and beyond. *Blood Rev.* 1 mai 2015;29(3):153-62.
2. Dohan Ehrenfest D, Rasmusson L, Albrektsson T. Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends Biotechnol.* 1 mars 2009;27(3):158-67.
3. Canceill T, Campana SC, Blasco-Baque V, Monsarrat P, Kichenbrand C, Joniot S, et al. Les concentrés plaquettaires en chirurgie orale. *BIOMATERIAUX Clin BMC.* 2020;5.
4. Brewer DB. Max Schultze (1865), G. Bizzozero (1882) and the discovery of the platelet. *Br J Haematol.* mai 2006;133(3):251-8.
5. Machlus KR, Italiano JE Jr. The incredible journey: From megakaryocyte development to platelet formation. *J Cell Biol.* 10 juin 2013;201(6):785-96.
6. Blair P, Flaumenhaft R. Platelet α -granules: Basic biology and clinical correlates. *Blood Rev.* 1 juill 2009;23(4):177-89.
7. Burnouf T. Human platelet lysate: Replacing fetal bovine serum as a gold standard for human cell propagation? *Biomaterials.* 2016;76:17.
8. Rubenstein DA, Yin W. Platelet-Activation Mechanisms and Vascular Remodeling. *Compr Physiol.* 18 juin 2018;1117-56.
9. De Revel T, Doghmi K. Physiologie de l'hémostase. *EMC - Dent.* 1 févr 2004;1(1):71-81.
10. Wolberg AS. Thrombin generation and fibrin clot structure. *Blood Rev.* 1 mai 2007;21(3):131-42.
11. Franco AT, Corken A, Ware J. Platelets at the interface of thrombosis, inflammation, and cancer. *Blood.* 30 juill 2015;126(5):582-8.
12. Li JL, Zarbock A, Hidalgo A. Platelets as autonomous drones for hemostatic and immune surveillance. *J Exp Med.* 7 août 2017;214(8):2193-204.
13. Ehrbar M, Metters A, Zammaretti P, Hubbell JA, Zisch AH. Endothelial cell proliferation and progenitor maturation by fibrin-bound VEGF variants with differential susceptibilities to local cellular activity. *J Controlled Release.* 3 janv 2005;101(1):93-109.
14. Li L, Blumenthal DK, Terry CM, He Y, Carlson ML, Cheung AK. PDGF-induced proliferation in human arterial and venous smooth muscle cells: Molecular basis for differential effects of PDGF isoforms. *J Cell Biochem.* 2011;112(1):289-98.

15. Andrae J, Gallini R, Betsholtz C. Role of platelet-derived growth factors in physiology and medicine. *Genes Dev.* 15 mai 2008;22(10):1276-312.
16. Chong LY, Chien LY, Chung MC, Liang K, Lim JCS, Fu JH, et al. Controlling the proliferation and differentiation stages to initiate periodontal regeneration. *Connect Tissue Res.* 2013;54(2):101-7.
17. Zeng F, Harris RC. Epidermal growth factor, from gene organization to bedside. *Semin Cell Dev Biol.* 1 avr 2014;28:2-11.
18. Shi Y, Massagué J. Mechanisms of TGF- β Signaling from Cell Membrane to the Nucleus. *Cell.* 13 juin 2003;113(6):685-700.
19. Baker J, Liu JP, Robertson EJ, Efstratiadis A. Role of insulin-like growth factors in embryonic and postnatal growth. *Cell.* 8 oct 1993;75(1):73-82.
20. Radosevich M, Goubran HI, Burnouf T. Fibrin sealant: scientific rationale, production methods, properties, and current clinical use. *Vox Sang.* 1997;72(3):133-43.
21. Whitman D, Berry R, Green D. Platelet gel: An autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery. *J Oral Maxillofac Surg.* 1 nov 1997;55(11):1294-9.
22. Bielecki T, Dohan Ehrenfest DM. Platelet-rich plasma (PRP) and Platelet-Rich Fibrin (PRF): surgical adjuvants, preparations for in situ regenerative medicine and tools for tissue engineering. *Curr Pharm Biotechnol.* juin 2012;13(7):1121-30.
23. Dhurat R, Sukesh M. Principles and Methods of Preparation of Platelet-Rich Plasma: A Review and Author's Perspective. *J Cutan Aesthetic Surg.* 2014;7(4):189-97.
24. Le ADK, Enweze L, DeBaun MR, Dragoo JL. Current Clinical Recommendations for Use of Platelet-Rich Plasma. *Curr Rev Musculoskelet Med.* 1 déc 2018;11(4):624-34.
25. Shah R. An Update on the Protocols and Biologic Actions of Platelet Rich Fibrin in Dentistry. *Eur J Prosthodont Restor Dent.* 1 juin 2017;(25):64-72.
26. Xu J, Gou L, Zhang P, Li H, Qiu S. Platelet-rich plasma and regenerative dentistry. *Aust Dent J.* 1 juin 2020;65(2):131-42.
27. Oeller M, Laner-Plamberger S, Krisch L, Rohde E, Strunk D, Schallmoser K. Human Platelet Lysate for Good Manufacturing Practice-Compliant Cell Production. *Int J Mol Sci.* janv 2021;22(10):5178.
28. Bieback K, Fernandez-Muñoz B, Pati S, Schäfer R. Gaps in the knowledge of human platelet lysate as a cell culture supplement for cell therapy: a joint publication from the AABB and the International Society for Cell & Gene Therapy. *Transfusion (Paris).* nov 2019;59(11):3448-60.
29. Michallet, Pitard. Transfusion de plaquettes : produits, indications. Haute Autorité de Santé. 2015.

30. Schallmoser K. Production and Quality Requirements of Human Platelet Lysate: A Position Statement from the Working Party on Cellular Therapies of the International Society of Blood Transfusion. *Trends Biotechnol.* 2019;11.
31. Guiotto M, Riehle MO, Raffoul W, Hart A, di Summa PG. Is human platelet lysate (hPL) the ideal candidate to substitute the foetal bovine serum for cell-therapy translational research? *J Transl Med.* 13 oct 2021;19(1):426.
32. Feys HB, Van Aelst B, Compennolle V. Biomolecular Consequences of Platelet Pathogen Inactivation Methods. *Transfus Med Rev.* 1 janv 2019;33(1):29-34.
33. Singh S, Shams Hakimi C, Jeppsson A, Hesse C. Platelet storage lesion in interim platelet unit concentrates: A comparison with buffy-coat and apheresis concentrates. *Transfus Apher Sci.* 1 déc 2017;56(6):870-4.
34. Strunk D, Lozano M, Marks DC, Loh YS, Gstraunthaler G, Schennach H, et al. International Forum on GMP-grade human platelet lysate for cell propagation: summary. *Vox Sang.* janv 2018;113(1):80-7.
35. Jonsdottir-Buch SM, Lieder R, Sigurjonsson OE. Platelet lysates produced from expired platelet concentrates support growth and osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells. *PloS One.* 2013;8(7):e68984.
36. Chou M I., Burnouf T. Current methods to manufacture human platelet lysates for cell therapy and tissue engineering: possible trends in product safety and standardization. *ISBT Sci Ser.* 2017;12(1):168-75.
37. Barro L, Su YT, Nebie O, Wu YW, Huang YH, Koh MB, et al. A double-virally-inactivated (Intercept–solvent/detergent) human platelet lysate for in vitro expansion of human mesenchymal stromal cells. *Transfusion (Paris).* 1 juin 2019;59(6):2061-73.
38. Chen MS, Wang TJ, Lin HC, Burnouf T. Four types of human platelet lysate, including one virally inactivated by solvent-detergent, can be used to propagate Wharton jelly mesenchymal stromal cells. *New Biotechnol.* 25 mars 2019;49:151-60.
39. Costa-Almeida R, Franco AR, Pesqueira T, Oliveira MB, Babo PS, Leonor IB, et al. The effects of platelet lysate patches on the activity of tendon-derived cells. *Acta Biomater.* mars 2018;68:29-40.
40. Nebie O, Devos D, Vingtdeux V, Barro L, Devedjian JC, Jonneaux A, et al. The neuroprotective activity of heat-treated human platelet lysate biomaterials manufactured from outdated pathogen-reduced (amotosalen/UVA) platelet concentrates. *J Biomed Sci.* 31 oct 2019;26:89.
41. Notodihardjo SC, Morimoto N, Kakudo N, Mitsui T, Le TM, Tabata Y, et al. Comparison of the efficacy of cryopreserved human platelet lysate and refrigerated lyophilized human platelet lysate for wound healing. *Regen Ther.* 20 nov 2018;10:1-9.

42. Agostini F, Polesel J, Battiston M, Lombardi E, Zanolin S, Da Ponte A, et al. Standardization of platelet releasate products for clinical applications in cell therapy: a mathematical approach. *J Transl Med.* 19 mai 2017;15:107.
43. Hemedá H. Evaluation of human platelet lysate versus fetal bovine serum for culture of mesenchymal stromal cells. *Cytotherapy.* 1 févr 2014;16(2):170-80.
44. Karadjian M, Senger AS, Essers C, Wilkesmann S, Heller R, Fellenberg J, et al. Human Platelet Lysate Can Replace Fetal Calf Serum as a Protein Source to Promote Expansion and Osteogenic Differentiation of Human Bone-Marrow-Derived Mesenchymal Stromal Cells. *Cells.* 9 avr 2020;9(4):918.
45. Bieback K. Platelet Lysate as Replacement for Fetal Bovine Serum in Mesenchymal Stromal Cell Cultures. *Transfus Med Hemotherapy.* oct 2013;40(5):326-35.
46. Gstraunthaler G, Lindl T, Valk DJ van der. A Severe Case of Fraudulent Blending of Fetal Bovine Serum Strengthens the Case for Serum-free Cell and Tissue Culture Applications: *Altern Lab Anim.* 1 juin 2014;
47. Guiotto M, Raffoul W, Hart AM, Riehle MO, di Summa PG. Human platelet lysate to substitute fetal bovine serum in hMSC expansion for translational applications: a systematic review. *J Transl Med.* 15 sept 2020;18:351.
48. Doucet C, Ernou I, Zhang Y, Llense JR, Begot L, Holy X, et al. Platelet lysates promote mesenchymal stem cell expansion: A safety substitute for animal serum in cell-based therapy applications. *J Cell Physiol.* nov 2005;205(2):228-36.
49. Barro L, Burnouf PA, Chou ML, Nebie O, Wu YW, Chen MS, et al. Human platelet lysates for human cell propagation. *Platelets.* 17 févr 2021;32(2):152-62.
50. Azouna NB, Jenhani F, Regaya Z, Berraes L, Othman TB, Ducrocq E, et al. Phenotypical and functional characteristics of mesenchymal stem cells from bone marrow: comparison of culture using different media supplemented with human platelet lysate or fetal bovine serum. *Stem Cell Res Ther.* 14 févr 2012;3(1):6.
51. Copland. The effect of platelet lysate fibrinogen on the functionality of MSCs in immunotherapy. *Biomaterials.* 1 oct 2013;34(32):7840-50.
52. Abdelrazik H, Spaggiari GM, Chiossone L, Moretta L. Mesenchymal stem cells expanded in human platelet lysate display a decreased inhibitory capacity on T- and NK-cell proliferation and function. *Eur J Immunol.* nov 2011;41(11):3281-90.
53. Hemedá H. Heparin concentration is critical for cell culture with human platelet lysate. *Cytotherapy.* 1 sept 2013;15(9):1174-81.
54. Laner-Plamberger S, Lener T, Schmid D, Streif DA, Salzer T, Öller M, et al. Mechanical fibrinogen-depletion supports heparin-free mesenchymal stem cell propagation in human platelet lysate. *J Transl Med.* 10 nov 2015;13:354.

55. Mareschi K, Marini E, Niclot AGSB, Barone M, Pinnetta G, Adamini A, et al. A New Human Platelet Lysate for Mesenchymal Stem Cell Production Compliant with Good Manufacturing Practice Conditions. *Int J Mol Sci.* 17 mars 2022;23(6):3234.
56. Nguyen VT, Cancedda R, Descalzi F. Platelet lysate activates quiescent cell proliferation and reprogramming in human articular cartilage: Involvement of hypoxia inducible factor 1. *J Tissue Eng Regen Med.* mars 2018;12(3):e1691-703.
57. Mirabet V, Solves P, Miñana MD, Encabo A, Carbonell-Uberos F, Blanquer A, et al. Human platelet lysate enhances the proliferative activity of cultured human fibroblast-like cells from different tissues. *Cell Tissue Bank.* 1 mars 2008;9(1):1-10.
58. Cenni E, Ciapetti G, Pagani S, Perut F, Giunti A, Baldini N. Effects of Activated Platelet Concentrates on Human Primary Cultures of Fibroblasts and Osteoblasts. *J Periodontol.* 2005;76(3):323-8.
59. Thieme D, Reuland L, Lindl T, Kruse F, Fuchsluger T. Optimized human platelet lysate as novel basis for a serum-, xeno-, and additive-free corneal endothelial cell and tissue culture. *J Tissue Eng Regen Med.* févr 2018;12(2):557-64.
60. Švajger U. Human platelet lysate is a successful alternative serum supplement for propagation of monocyte-derived dendritic cells. *Cytotherapy.* 1 avr 2017;19(4):486-99.
61. El Backly R, Ulivi V, Tonachini L, Cancedda R, Descalzi F, Mastrogiacomo M. Platelet lysate induces in vitro wound healing of human keratinocytes associated with a strong proinflammatory response. *Tissue Eng Part A.* juill 2011;17(13-14):1787-800.
62. Ranzato E, Balbo V, Boccafoschi F, Mazzucco L, Burlando B. Scratch wound closure of C2C12 mouse myoblasts is enhanced by human platelet lysate. *Cell Biol Int.* 2009;33(9):911-7.
63. Berger DR, Centeno CJ, Steinmetz NJ. Platelet lysates from aged donors promote human tenocyte proliferation and migration in a concentration-dependent manner. *Bone Jt Res.* 2 févr 2019;8(1):32-40.
64. Bonferoni MC, Rossi S, Sandri G, Caramella C, Del Fante C, Perotti C, et al. Bioactive Medications for the Delivery of Platelet Derivatives to Skin Wounds. *Curr Drug Deliv.* juin 2019;16(5):472-83.
65. Ito R, Morimoto N, Pham L, Taira T, Kawai K, Suzuki S. Efficacy of the controlled release of concentrated platelet lysate from a collagen/gelatin scaffold for dermis-like tissue regeneration. *Tissue Eng Part A.* 2013;19.
66. Jafar H, Abuarqoub D, Ababneh N, Hasan M, Al-Sotari S, Aslam N, et al. hPL promotes osteogenic differentiation of stem cells in 3D scaffolds. *PLoS ONE.* 7 mai 2019;14(5):e0215667.

67. Li J, Liu N, Huang Z, Wang W, Hou D, Wang W. Intra-articular injection of loaded sPL sustained-release microspheres inhibits osteoarthritis and promotes cartilaginous repairs. *J Orthop Surg.* 30 oct 2021;16(1):646.
68. Astudillo-Ortiz E, Babo PS, Reis RL, Gomes ME. Evaluation of Injectable Hyaluronic Acid-Based Hydrogels for Endodontic Tissue Regeneration. *Materials.* janv 2021;14(23):7325.
69. Min SJ, Lee JS, Nah H, Kim SH, Moon HJ, Reis RL, et al. Development of photo-crosslinkable platelet lysate-based hydrogels for 3D printing and tissue engineering. *Biofabrication.* 1 oct 2021;13(4):044102.
70. Leotot J. Platelet lysate coating on scaffolds directly and indirectly enhances cell migration, improving bone and blood vessel formation. *Acta Biomater.* 2013;11.
71. Chakar C, Naaman N, Soffer E, Cohen N, El Osta N, Petite H, et al. Bone Formation with Deproteinized Bovine Bone Mineral or Biphasic Calcium Phosphate in the Presence of Autologous Platelet Lysate: Comparative Investigation in Rabbit. *Int J Biomater.* 2014;2014:1-10.
72. Vilaça A, Domingues RMA, Tiainen H, Mendes BB, Barrantes A, Reis RL, et al. Multifunctional Surfaces for Improving Soft Tissue Integration. *Adv Healthc Mater.* 2021;10(8):2001985.
73. Costa-Almeida R, Calejo I, Altieri R, Domingues RMA, Giordano E, Reis RL, et al. Exploring platelet lysate hydrogel-coated suture threads as biofunctional composite living fibers for cell delivery in tissue repair. *Biomed Mater.* 5 avr 2019;14(3):034104.
74. Imanishi J, Kamiyama K, Igushi I, Kita M. Growth factors: importance in wound healing and maintenance of transparency of the cornea. *Prog Retin Eye Res.* 1 janv 2000;19(1):113-29.
75. Huang CJ, Sun YC, Christopher K, Pai ASI, Lu CJ, Hu FR, et al. Comparison of corneal epitheliotropic capacities among human platelet lysates and other blood derivatives. *PloS One.* 2017;12(2):e0171008.
76. Ackland P, Resnikoff S, Bourne R. World blindness and visual impairment: despite many successes, the problem is growing. *Community Eye Health.* 2017;30(100):71-3.
77. Widyaningrum R, Burnouf T, Nebie O, Delila L, Wang TJ. A purified human platelet pellet lysate rich in neurotrophic factors and antioxidants repairs and protects corneal endothelial cells from oxidative stress. *Biomed Pharmacother.* 1 oct 2021;142:112046.
78. Huang CT, Chu HS, Hung KC, Chen LW, Chen MY, Hu FR, et al. The effect of human platelet lysate on corneal nerve regeneration. *Br J Ophthalmol.* 1 juin 2021;105(6):884-90.

79. Fea AM, Aragno V, Testa V, Machetta F, Parisi S, D'Antico S, et al. The Effect of Autologous Platelet Lysate Eye Drops: An In Vivo Confocal Microscopy Study. *BioMed Res Int*. 2016;2016:8406832.
80. Pezzotta S, Del Fante C, Scudeller L, Rossi GC, Perotti C, Bianchi PE, et al. Long-term safety and efficacy of autologous platelet lysate drops for treatment of ocular GvHD. *Bone Marrow Transplant*. janv 2017;52(1):101-6.
81. You J, Hodge C, Hoque M, Petsoglou C, Sutton G. Human Platelets and Derived Products in Treating Ocular Surface Diseases – A Systematic Review. *Clin Ophthalmol Auckl NZ*. 12 oct 2020;14:3195-210.
82. Samarkanova D, Martin S, Bisbe L, Puig J, Calatayud-Pinuaga M, Rodriguez L, et al. Clinical evaluation of allogeneic eye drops from cord blood platelet lysate. *Blood Transfus*. juill 2021;19(4):347-56.
83. Chen LW, Huang CJ, Tu WH, Lu CJ, Sun YC, Lin SY, et al. The corneal epitheliotropic abilities of lyophilized powder form human platelet lysates. *PLoS One*. 2018;13(3):e0194345.
84. Nebie O, Carvalho K, Barro L, Delila L, Faivre E, Renn TY, et al. Human platelet lysate biotherapy for traumatic brain injury: preclinical assessment. *Brain J Neurol*. 29 nov 2021;144(10):3142-58.
85. Chou M, Wu JW, Gouel F. Tailor-made purified human platelet lysate concentrated in neurotrophins for treatment of Parkinson's disease. *Biomaterials*. 1 oct 2017;142:77-89.
86. Anitua E, Pascual C, Antaquer D, Bolos M. Plasma rich in growth factors (PRGF-Endoret) reduces neuropathologic hallmarks and improves cognitive functions in an Alzheimer's disease mouse model. *Neurobiol Aging*. 1 juill 2014;35(7):1582-95.
87. Gouel F, Timmerman K, Gosset P. Whole and fractionated human platelet lysate biomaterials-based biotherapy induces strong neuroprotection in experimental models of amyotrophic lateral sclerosis. *Biomaterials*. 1 janv 2022;280:121311.
88. Nebie O, Barro L, Wu YW, Knutson F, Buée L, Devos D, et al. Heat-treated human platelet pellet lysate modulates microglia activation, favors wound healing and promotes neuronal differentiation in vitro. *Platelets*. 17 févr 2021;32(2):226-37.
89. Gouel F, Do Van B, Chou ML, Jonneaux A, Moreau C, Bordet R, et al. The protective effect of human platelet lysate in models of neurodegenerative disease: involvement of the Akt and MEK pathways. *J Tissue Eng Regen Med*. 2017;11(11):3236-40.
90. Burnouf T, Goubran AA. Regenerative effect of expired platelet concentrates in human therapy: An update. *Transfus Apher Sci*. 22 janv 2022;103363.

91. Samara O, Al-Ajlouni J, Najjar MA, Saleh M, Al-Ryalat N, Gharaibeh A, et al. Intra-articular autologous platelet lysates produce positive MRI structural changes in early and intermediate knee osteoarthritis. *PJR*. 17 déc 2016;27(1).
92. Carluccio S, Martinelli D, Palamà MEF, Pereira RC, Benelli R, Guijarro A, et al. Progenitor Cells Activated by Platelet Lysate in Human Articular Cartilage as a Tool for Future Cartilage Engineering and Reparative Strategies. *Cells*. 23 avr 2020;9(4):1052.
93. Al-Ajlouni J, Awidi A, Samara O, Al-Najar M, Tarwanah E, Saleh M, et al. Safety and Efficacy of Autologous Intra-articular Platelet Lysates in Early and Intermediate Knee Osteoarthritis in Humans: A Prospective Open-Label Study. *Clin J Sport Med*. nov 2015;25(6):524-8.
94. Centeno C, Markle J, Dodson E, Stemper I, Hyzy M, Williams C, et al. The use of lumbar epidural injection of platelet lysate for treatment of radicular pain. *J Exp Orthop*. 25 nov 2017;4:38.
95. Rawson B. Platelet-Rich Plasma and Epidural Platelet Lysate: Novel Treatment for Lumbar Disk Herniation. *J Osteopath Med*. 1 mars 2020;120(3):201-7.
96. Tan X xiang, Ju H yang, Yan W, Jiang H jiang, Su J ping, Dong H jun, et al. Autologous platelet lysate local injections for the treatment of refractory lateral epicondylitis. *J Orthop Surg*. 25 janv 2016;11:17.
97. Barsotti MC, Losi P, Briganti E, Sanguinetti E, Magera A, Kayal TA, et al. Effect of Platelet Lysate on Human Cells Involved in Different Phases of Wound Healing. *PLOS ONE*. 27 déc 2013;8(12):e84753.
98. Burnouf T, Chou ML, Wu YW, Su CY, Lee LW. Antimicrobial activity of platelet (PLT)-poor plasma, PLT-rich plasma, PLT gel, and solvent/detergent-treated PLT lysate biomaterials against wound bacteria. *Transfusion (Paris)*. janv 2013;53(1):138-46.
99. Rossi S, Mori M, Vigani B, Bonferoni MC. A novel dressing for the combined delivery of platelet lysate and vancomycin hydrochloride to chronic skin ulcers: Hyaluronic acid particles in alginate matrices. *Eur J Pharm Sci*. 15 juin 2018;118:87-95.
100. Losi P, Al Kayal T, Buscemi M, Foffa I, Cavallo A, Soldani G. Bilayered Fibrin-Based Electrospun-Sprayed Scaffold Loaded with Platelet Lysate Enhances Wound Healing in a Diabetic Mouse Model. *Nanomaterials*. 27 oct 2020;10(11):2128.
101. Jafar H, Hasan M, Al-Hattab D. Platelet lysate promotes the healing of long-standing diabetic foot ulcers: A report of two cases and in vitro study. *Heliyon*. 1 mai 2020;6(5):e03929.
102. Del Fante C, Perotti C, Bonferoni MC, Rossi S, Sandri G, Ferrari F, et al. Platelet lysate mucoadhesive formulation to treat oral mucositis in graft versus host disease patients: a new therapeutic approach. *AAPS PharmSciTech*. sept 2011;12(3):893-9.

103. Zhu M, Kong D, Tian R, Pang M, Mo M, Chen Y, et al. Platelet sonicates activate hair follicle stem cells and mediate enhanced hair follicle regeneration. *J Cell Mol Med.* janv 2020;24(2):1786-94.
104. Cole JP, Cole MA, Insalaco C, Cervelli V, Gentile P. Alopecia and platelet-derived therapies. *Stem Cell Investig.* 2017;4:88.
105. Chakar C, Soffer E, Cohen N, Petite H, Naaman N, Anagnostou F. Vertical bone regeneration with deproteinised bovine bone mineral or biphasic calcium phosphate in the rabbit calvarium: effect of autologous platelet lysate. *J Mater Sci Mater Med.* janv 2015;26(1):5339.
106. Wang Q, Huang Z, Huang X, Zhang T, Wang W. Reparative effect of super active platelet combined with allogeneic bone for large bone defects. *Artif Organs.* oct 2021;45(10):1219-28.
107. Yu DM, Zhang T, Liu JH, Wang WT, Wang WB. The molecular mechanism of platelet lysate promotes transformation of non-union cells into osteoblasts. *Transl Cancer Res.* mars 2020;9(3).
108. Nguyen VT, Nardini M, Ruggiu A, Cancedda R, Descalzi F, Mastrogiacomo M. Platelet Lysate Induces in Human Osteoblasts Resumption of Cell Proliferation and Activation of Pathways Relevant for Revascularization and Regeneration of Damaged Bone. *Int J Mol Sci.* janv 2020;21(14):5123.
109. Silva CR, Babo PS, Gulino M, Costa L, J.M. Oliveira. Injectable and tunable hyaluronic acid hydrogels releasing chemotactic and angiogenic growth factors for endodontic regeneration. *Acta Biomater.* 1 sept 2018;77:155-71.
110. Bindal P, Gnanasegaran N, Bindal U, Haque N, Ramasamy TS, Chai WL, et al. Angiogenic effect of platelet-rich concentrates on dental pulp stem cells in inflamed microenvironment. *Clin Oral Investig.* oct 2019;23(10):3821-31.
111. Zhang Q, Yang T, Zhang R, Liang X, Wang G, Tian Y, et al. Platelet lysate functionalized gelatin methacrylate microspheres for improving angiogenesis in endodontic regeneration. *Acta Biomater.* déc 2021;136:441-55.
112. Zhang Y, Zhuang D, Zhang Y, Lu H, Zhang H, Li T, et al. Super Activated Platelet Lysate, a Novel Autologous Platelet Lysate, Regulates the Expression of Inflammasome and Cytokine in the Experimental Periodontitis in Rats. *Drug Des Devel Ther.* 15 déc 2020;14:5535-43.
113. Babo PS, Cai X, Plachokova AS, Reis RL, Jansen J, Gomes ME, et al. Evaluation of a platelet lysate bilayered system for periodontal regeneration in a rat intrabony three-wall periodontal defect. *J Tissue Eng Regen Med.* 2017;12.

114. Monsarrat P, Laurencin-Dalícieux S, Blasco-Baque V, Jourdan G, Bouhsira E, Casteilla L, et al. Mesenchymal Stem/Stromal Cells : Periodontitis therapy using combined implantation of autologous adipose-derived stromal cells and platelet lysate-based hydrogel: a double-blind randomized controlled preclinical study in a spontaneous canine model. *Cytotherapy*. mai 2022;24:S43-4.
115. Apatzidou DA, Bakopoulou AA, Kouzi-Koliakou K, Karagiannis V, Konstantinidis A. A tissue-engineered biocomplex for periodontal reconstruction. A proof-of-principle randomized clinical study. *J Clin Periodontol*. août 2021;48(8):1111-25.
116. Qiu G, Wu H, Huang M, Ma T, Schneider A, Oates TW, et al. Novel calcium phosphate cement with biofilm-inhibition and platelet lysate delivery to enhance osteogenesis of encapsulated human periodontal ligament stem cells. *Mater Sci Eng C*. sept 2021;128:112306.
117. Canceill T. Développement d'un biomatériau naturel, bioactif, dérivé du sang pour la régénération tissulaire [Thèse pour le Diplôme d'Etat de Docteur en Chirurgie Dentaire]. [Toulouse]; 2021.
118. Tang Q, Lim T, Wei X. A free-standing multilayer film as a novel delivery carrier of platelet lysates for potential wound-dressing applications. *Biomaterials*. 1 oct 2020;255:120138.
119. Mendes B, Gomes-Florit M, Babo PS. Blood derivatives awaken in regenerative medicine strategies to modulate wound healing. *Adv Drug Deliv Rev*. 1 avr 2018;129:376-93.
120. Neves LS, Babo PS, Gonçalves AI, Costa-Almeida R, Caridade SG, Mano JF, et al. Injectable Hyaluronic Acid Hydrogels Enriched with Platelet Lysate as a Cryostable Off-the-Shelf System for Cell-Based Therapies. *Regen Eng Transl Med*. 1 juin 2017;3(2):53-69.
121. Règlement (CE) n°1394/2007 du Parlement européen et du Conseil du 13 novembre 2007 concernant les médicaments de thérapie innovante et modifiant la directive 2001/83/CE ainsi que le règlement (CE) n°726/2004. *OJ L* nov 13, 2007.

**LE LYSAT PLAQUETTAIRE : ORIGINE, INTÉRÊTS ET APPLICATIONS POSSIBLES EN
ODONTOLOGIE**

RESUME EN FRANÇAIS

Le lysat plaquettaire est un dérivé sanguin d'origine humaine riche en facteurs de croissance et cytokines tels le PDGF, le VEGF, l'EGF et le TGF-β utilisé dans le domaine de la recherche pour la culture cellulaire. Sa composition et ses propriétés régénératives ont conduit à son développement en thérapie cellulaire, ingénierie tissulaire et médecine régénérative. Ainsi, la mise au point d'un biomatériau à base de lysat plaquettaire offre des perspectives prometteuses et peut être la possibilité de voir un jour son utilisation dans le cabinet du chirurgien-dentiste envisageable.

**TITRE EN ANGLAIS: PLATELET LYSATE: ORIGIN, INTERESTS AND POSSIBLE APPLICATIONS
IN ODONTOLOGY**

RESUME EN ANGLAIS

Platelet lysate is a human blood derivate product rich in growth factors and cytokines such as PDGF, VEGF, EGF and TGF-β used in cell culture research. Its composition and regenerative properties have led to its development in cell therapy, tissue engineering and regenerative medicine. Thus, the development of a biomaterial based on platelet lysate offers promising prospects and may be the possibility of one day seeing its use in the office of the dentist.

DISCIPLINE ADMINISTRATIVE : Chirurgie dentaire

MOTS-CLES : Lysat plaquettaire, concentrés plaquettaires, médecine régénérative, odontologie régénérative

INTITULE ET ADRESSE DE L'UFR OU DU LABORATOIRE :

Université Toulouse III-Paul Sabatier
Faculté de santé - Département d'Odontologie
3 chemin des Maraîchers 31062 Toulouse Cedex

Directeur de thèse : Dr Thibault CANCEILL