

ANNEE 2022

2022-TOU3-3026

THESE

POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN CHIRURGIE DENTAIRE

Présentée et soutenue publiquement

par

Julien Delhom

Le lundi 23 mai 2022

Ingénierie cellulaire du parodonte par greffe auto-
logue de cellules mésenchymateuses du tissu adipeux
:
Preuve de concept sur un modèle préclinique de parodontite
canine spontanée

Directeur de thèse : Professeur Philippe KEMOUN

JURY

Président :	Professeur Philippe KEMOUN
1er assesseur :	Docteur Paul MONSARRAT
2ème assesseur :	Docteur Mathieu MARTY
3ème assesseur :	Docteur Chiara CECCHIN-ALBERTONI





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-ESCLASSAN, Mme Marie- Cécile VALERA, M. Mathieu MARTY
Assistants : Mme Marion GUY-VERGER, Mme Alice BROUTIN (*associée*)
Adjoints d'Enseignement : M. Sébastien DOMINE, 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
Adjoints 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
Adjoints d'Enseignement : M. Alain DURAND, Mlle. Sacha BARON, M. Romain LAGARD, M. Jean-Philippe GATIGNOL
Mme Carole KANJ, Mme Mylène VINCENT-BERTHOUMIEUX

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
Adjoints 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. Matthieu MINTY (Associé)
Adjoints d'Enseignement : M. Mathieu FRANCK, 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, Mme Margaux BROUTIN, Mme Coralie BATAILLE, Mme Mathilde HOURSET, Mme Constance CUNY
Assistants : 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 JONJOT, 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 26 Avril 2022

Remerciements

A mes parents, pour votre soutien moral et surtout matériel pendant toute la durée de mes études. Sans vous rien de tout cela n'aurait été possible. Je vous remercie aussi pour l'éducation que vous m'avez prodiguée depuis tout petit et de m'avoir éveillé depuis mon plus jeune âge à l'envie d'apprendre et à la curiosité pour les savoirs les plus divers.

A Marian, Julie, Paul, Kévin et Youssef, pour tout le bonheur que vous m'avez apporté depuis notre rencontre en première année. Ces années d'études ont été un pur plaisir grâce à vous. J'ai évolué en votre compagnie et les moments de jeunesse que nous avons passé ensemble resteront pour toujours dans ma mémoire.

A Sallen pour ton soutien particulier et ton affection.

A mes amies Emma Plews et Laura Boulanger pour tous les moments que nous avons partagé à la faculté et en dehors. Grace à vous ces années ont semblé plus faciles. L'expérience clinique que nous partageons encore demeure pour moi un bien précieux.

Au Dr Françoise Bousgarbies de m'avoir fait découvrir le métier de chirurgien-dentiste avec passion. Je vous remercie de m'avoir pris en stage au collège et admire encore aujourd'hui vos qualités humaines comme votre compétence clinique.

Aux enseignants de la faculté pour tout ce que vous m'avez transmis autant en termes de connaissances que de goût pour le métier de chirurgien-dentiste. Aux personnels de la faculté pour m'avoir accompagné durant mes années universitaires. Je tiens à remercier plus particulièrement le Dr Pierre Barthet pour m'avoir fait partager votre passion pour la parodontie et accueilli en stage dans votre cabinet. Je reconnais en vous un praticien humain, rigoureux et fidèle à ses convictions.

Au Dr Christine Dalens et au laboratoire Claverie pour m'avoir également accueilli en stage pendant mes études. Je vous remercie de m'avoir laissé apprendre à vos côtés.

Aux praticiens qui m'ont d'ores et déjà accordé leur confiance comme remplaçant ou comme étudiant adjoint : Le Dr Christophe Lapsolu, le Dr Catherine Porté et le Dr Fabienne Laflorentie.

À notre président de jury de thèse,

Monsieur le Professeur KEMOUN Philippe

- 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 diriger cette thèse et de présider ce Jury.

Je vous suis particulièrement reconnaissant de m'avoir introduit sur ce beau projet et de m'avoir ainsi ouvert les portes du milieu de la Recherche. Je reconnais en vous un scientifique passionné et rigoureux qui a le don de transmettre cet intérêt pour la biologie à ses étudiants depuis leur P.A.C.E.S. ainsi qu'un praticien aguerri aux compétences remarquables.

Je vous remercie pour votre bienveillance et votre disponibilité lors de la préparation de ce travail.

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

À notre jury,

Monsieur le Docteur MONSARRAT Paul

- Maître de Conférences des Universités - Praticien Hospitalier en Odontologie,
- Lauréat de la faculté de Médecine Rangueil 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

Vous nous faites l'honneur de participer à notre jury de thèse.

Je vous remercie pour l'ensemble des cours et des conseils cliniques que vous avez pu me prodiguer durant toute ma scolarité. J'admire particulièrement votre implication dans tous ce que vous entreprenez tant du côté clinique qu'universitaire.

J'ai pu constater l'étendu et la diversité de vos connaissances et de vos compétences, faisant de vous un enseignant parmi les plus complets.

Veillez trouver ici l'expression de mes remerciements les plus sincères et de mon respect.

A notre jury,

Monsieur le Docteur MARTY Mathieu

- Maître de Conférences des Universités, Praticien Hospitalier d'Odontologie,
- Docteur en Chirurgie Dentaire,
- CES de Chirurgie Dentaire Odontologie Pédiatrique et Prévention,
- CES de Physiopathologie et diagnostic des dysmorphies crânio-faciales
- Master 2 Sciences de l'éducation Université Paul VALERY Montpellier 3
- Doctorat en Sciences de l'éducation Université Paul VALERY Montpellier 3

C'est un grand honneur de vous compter parmi notre jury de thèse.

Je reconnais en vous un chirurgien-dentiste humain et bienveillant tant avec ses patients qu'avec ses étudiants. Je vous remercie particulièrement d'avoir partagé vos compétences cliniques avec moi et de m'avoir accompagné et fait confiance dans le suivi de plusieurs patients.

J'ai pu apprécier la clarté de vos cours ainsi que votre implication en travaux pratiques. Votre bonne humeur et votre sens de l'humour les rendaient d'ailleurs particulièrement agréables.

Veillez trouver ici l'expression de ma plus grande gratitude et sympathie.

A notre jury,

Madame le Docteur CECCHIN Chiara

- Assistante Hospitalo-Universitaire en Science Biologiques (section 57-01)
- Docteur en Chirurgie Dentaire
- Master 2 en Odontologie Pédiatrique et Orthodontie Interceptive
- Certificat d'Études Supérieures en Odontologie Pédiatrique et Prévention
- Diplôme Inter Universitaire en Odontologie Pédiatrique Clinique et Sédation

Vous nous faite l'honneur de juger ce travail.

Je vous remercie d'avoir étudié ce travail à la lumière de votre savoir et d'avoir accepté de participer à ce jury.

Je n'ai malheureusement pas eu l'occasion de vous connaître plus tôt durant ma scolarité mais l'estime que vous portent mes professeurs m'en donne quelque regret.

Veillez trouver ici l'expression mes remerciements et de mon profond respect.

Sommaire

Introduction.....	13
1. Maladie parodontale et thérapie cellulaire	15
1.1. Le parodonte et la parodontite	15
1.1.1. Le parodonte, anatomie et histologie	15
1.1.2. La parodontite : définition et prévalence.....	16
1.1.3. La parodontite : physiopathologie.....	17
1.1.4. Diagnostic de la parodontite.....	18
1.1.5. Traitements actuels de la parodontite.	20
1.2. La thérapie et l'ingénierie cellulaire parodontale.....	22
1.2.1. Les cellules.....	23
1.2.2. Le biomatériau support.....	23
1.2.3. Les facteurs de croissance	24
1.2.4.1. Greffes d'ASC en thérapie parodontale	24
1.2.4.2. Une synthèse méta-analytique. Periodontal cell therapy : a systematic review and meta-analysis.....	27
1.3. Le modèle canin de la parodontite	28
1.3.1. Caractéristiques générales de la denture et du parodonte canins	28
1.3.3. La parodontite du chien	30
1.3.3.1. Caractéristiques générales.....	30
1.3.3.2. Mécanismes.....	30
1.3.3.3. Microbiologie.....	30
1.3.3.4. Histologie	31
1.3.4. Un diagnostic commun et reproductible entre les deux espèces.....	31
2. Le protocole ASC PARO.....	34
2.1. Matériel et méthodes.....	34
2.1.1. Méthodes.....	34
2.1.2. Critères d'inclusion et d'exclusion.....	35
2.1.3. Description de la population d'étude	35
2.1.4. Critères de jugement.....	36
2.1.5. Protocole – chronologie	37
2.1.5.1. La pré-inclusion.....	37
2.1.5.2. L'inclusion	38
2.1.5.3. Éléments sur les protocoles d'anesthésie.....	39
2.1.5.4. Réalisation du prélèvement de tissu adipeux et culture des ASC	40
2.1.5.5. Constitution des greffons.	41

2.1.5.6.	La chirurgie parodontale	42
2.1.5.7.	Bilan de suivi	43
2.1.5.8.	Fin de protocole	43
2.1.6.	Considérations éthiques et bien-être animal	44
2.1.7.	Traitement des données.	45
2.2.	Résultats.....	45
2.2.1.	Tolérance.	45
2.2.2.	La greffe d'ASC associées à un hydrogel de fibrine améliore et maintient la santé parodontale.	46
2.2.3.	Evolution dans le temps.....	47
2.2.4.	La greffe d'ASC associées à un hydrogel de fibrine ont une meilleure efficacité sur l'évolution des indices parodontaux que les traitements chirurgicaux conventionnels	
2.2.5.	Une variabilité inter-individuelle importante est mise en évidence dans les réponses cliniques suivant la greffe d'ASC associées à un hydrogel de fibrine	48
3.	Discussion	51
3.1.	Mise en perspective des résultats cliniques avec les données histologiques et radiologiques.	
3.2.	Anatomie lésionnelle.....	52
3.3.	Evolution dans le temps.....	52
3.4.	Aspects liés au vecteur cellulaire.	52
3.5.	Reproductibilité des résultats : la variation interindividuelle.	53
3.6.	Mise en perspective avec les études antérieures.....	54
3.7.	Translation vers l'humain ?.....	57
3.8.	Limites de l'étude.....	58
	Conclusion.....	59
	Table des illustrations.....	60
	Bibliographie	61

Liste des abréviations :

AB : *Alveolar Bone* (Os alvéolaire).
ASC : *Adipose Stem.Stromal Cell*
BMP : *Bone Morphogenetic protein*
BOP : *Bleeding on probing* (Saignement au sondage)
CAL : *Clinical attachment level* (Niveau d'attache clinique).
CBCT : *Cone Beam Computer Tomography*
Coll. : collaborateurs
EDTA : Éthylènediaminetétraacétique
ELISA : *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (Technique d'immunoabsorption par enzyme liée)
FCD : Faculté de Chirurgie Dentaire
GI : *Gingival Index* (Indice gingival)
IGF : *Insulin-like Growth Factor* (Facteur de croissance ressemblant à l'insuline)
ITCRP : *International Clinical Trials Registry Platform* (Plateforme internationale d'enregistrement des essais cliniques).
IV : Intra-Vasculaire
IMC : Indice de Masse Corporelle.
I2MC : Institut des maladies métaboliques et cardiovasculaires.
MO : Microscope Optique.
MSC : *Mesenchymal Stem/Stromal Cell*
OFD : *Open Flap Debridment* (Lambeau d'assainissement chirurgical)
PCR : *Polymerase Chain Reaction* (Réaction de polymérisation en chaîne).
PDGF : *Platelet-Derived Growth Factor* (Facteur de croissance dérivé des plaquettes)
PDL : *PerioDontal Ligament* (Ligament parodontal)
PI : *Plaque index* (Indice de plaque).
PRP : Plasma Riche en Plaquettes
REC : Récession Parodontale
RTI : Régénération Tissulaire Induite
TGF : *Transforming Growth Factor* (Facteur de croissance transformant)
VEGF : *Vascular Endothelial Growth Factor* (Facteur de croissance de l'endothélium vasculaire)

Introduction

Les traitements de la parodontite, caractérisée par une destruction du parodonte profond associée à une inflammation gingivale chronique et à une dysbiose bactérienne, constituent encore aujourd'hui un défi pour les patients et les praticiens qui y sont confrontés. En effet, la stabilisation de la perte d'attache est relativement maîtrisée mais la régénération du parodonte détruit reste incertaine avec les techniques actuelles. La thérapie cellulaire qui consiste à greffer des cellules mésenchymateuses (MSC) de différentes sources tissulaires afin de restaurer la fonction d'un tissu ou d'un organe pourrait s'avérer une stratégie d'avenir pour traiter la parodontite. En effet, les propriétés des MSC exogènes, notamment celles du tissu adipeux (ASC) sont capables une fois greffées de stimuler et rééduquer les cellules mésenchymateuses endogènes du site lésé devenues incompetentes et dysfonctionnelles avec l'âge. De plus, leurs capacités immunomodulatrices, antibactériennes, trophiques et angiogéniques semblent particulièrement appropriée à la prise en charge pérenne de la maladie parodontale.

Un protocole de recherche translationnelle a été proposé, « ASC-PARO », financé par l'Agence Nationale pour la Recherche (ANR), qui s'est intéressé à démontrer et décrypter l'effet de la greffe d'ASC dans un porteur cellulaire original *in vitro*, chez la souris mais surtout chez le chien, volet le plus important du projet qui fait l'objet de ce travail. En effet, le parodonte du chien présente des caractéristiques semblables à celui des humains. Il développe une parodontite spontanée de physiopathologie similaire qui constitue un modèle idéal avant une translation à l'Homme. Un essai contrôlé, randomisé et en double aveugle a donc été conçu pour démontrer la preuve du concept de l'efficacité de la greffe d'ASC autologues dans un coagulât plaquettaire.

Il sera exposé dans ce travail d'abord un bref rappel de la littérature sur la parodontite, la thérapie/ingénierie cellulaire du parodonte, le protocole de l'étude, puis seront présentés ensuite les résultats obtenus et leur interprétation.

Première partie :
Maladie parodontale et thérapie
cellulaire

1. Maladie parodontale et thérapie cellulaire

1.1. Le parodonte et la parodontite

1.1.1. Le parodonte, anatomie et histologie (rappels)

Le parodonte se compose de quatre tissus séparés en deux catégories (1,2) :

- Le parodonte superficiel est composé exclusivement de la gencive. Cliniquement, une gencive saine présente une couleur rose pâle avec un piqueté en peau d'orange et une consistance relativement ferme. Elle peut être classée en deux zones anatomiques : la gencive marginale qui entoure le collet dentaire et séparé de celui-ci par un espace libre appelé sulcus et la gencive attachée, adhérente à l'os alvéolaire. D'un point de vue histologique, la gencive marginale et le sulcus sont composés par une grande richesse cellulaire, en particulier immunitaire (macrophages et lymphocytes), vasculaire et mésenchymateuse et sont donc impliqués dans les processus de réparation du parodonte. L'épithélium jonctionnel, court en l'absence de pathologie, est constitué des plusieurs couches de cellules épithéliales à phénotype basal.

- Le parodonte profond est composé de trois tissus distincts :
 - o L'os alvéolaire, semblable histologiquement à n'importe quel tissu osseux si ce n'est une face alvéolaire, qui fait face au desmodonte,
 - o Le ligament alvéolo-dentaire (ou desmodonte) : tissu conjonctif spécifique, assurant l'articulation entre la racine et l'os alvéolaire, très riche en fibres de collagènes s'ancrant chacune au ciment d'un côté et l'os alvéolaire de l'autre (fibres de Sharpey). Il contient, comme la gencive, leucocytes, vaisseaux, nerfs et MSC.
 - o Le ciment : apposé sur la dentine radiculaire, recouvre la racine dentaire du collet à l'apex. C'est un tissu minéralisé qui ne possède pas de vascularisation propre. Il est lui-même subdivisé en deux sous catégories : le ciment acellulaire, présent sur le tiers cervical de la racine, le plus minéralisé et incapable de se régénérer spontanément, et le ciment cellulaire, présent sur le reste de la racine, qui comme son nom l'indique comporte des cellules (cémentoblastes) et est susceptible de se régénérer.

1.1.2. La parodontite : définition et prévalence

La parodontite est une maladie inflammatoire chronique, évolutive et dysbiotique se caractérisant par une destruction des tissus durs et mous du parodonte profond et se manifestant sous la forme de poches, espaces libres entre la muqueuse gingivale et la racine dentaire (3). A un stade avancé, elle entraîne des mobilités dentaires, des douleurs, de l'inconfort voire des pertes dentaires. Il faut la distinguer de la gingivite qui touche seulement le parodonte superficiel et est causée le plus souvent par une irritation bactérienne non spécifique, réversible par un contrôle de plaque plus efficace.

La parodontite est une maladie fréquente, concernant environ 50% de la population de plus de 50 ans et 13% des adultes aux Etats - Unis seraient atteints de formes modérées à sévères de parodontites (4).



Figure 1 : Vue clinique et statut radiologique d'un patient atteint de parodontite (Dr P. Barthet – F.C.D. Toulouse)

1.1.3. La parodontite : physiopathologie

En santé, la physiologie parodontale est maintenue par un subtil équilibre entre les acteurs mécaniques, cellulaires et humoraux du parodonte et sa flore eubiotique. La flore eubiotique stimule le système immunitaire du parodonte, prémuni des agressions par la structure histologique du sillon gingival, la sécrétion de peptides anti-microbiens ou encore son immunité spécifique comprenant notamment un infiltrat neutrophilique et les immunoglobulines A salivaires. La maladie parodontale et les lésions associées sont la conséquence d'une rupture de cet équilibre (5–7 8 9).

Les causes de ce déséquilibre sont encore discutées et seulement partiellement expliquées. L'étiologie bactérienne a été jusqu'à récemment la plus acceptée, en particulier à cause de l'inflammation gingivale que provoque une quantité de biofilm abondante mais surtout en raison de la dysbiose caractéristique de la maladie avec la transition d'une flore eubiotique, principalement composée de coques aérobies gram positives vers une flore dysbiotique composée essentiellement de bacilles voire de spirilums anaérobies et grams négatifs (*Treponema denticola*, *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia*...). Cette dysbiose, si elle n'est pas suffisante dans l'initiation du processus pathologique, pouvant en effet être retrouvée sur des parodontes cliniquement sains, intervient tout de même pour le moins dans l'aggravation de la maladie. (10–14)

La notion de prédisposition individuelle semble aujourd'hui cruciale dans la survenue de la maladie notamment la capacité de l'hôte à interagir avec son microbiote ainsi que la qualité de sa réponse immunitaire, systématiquement inadaptée dans les cas de parodontite (15).

Des facteurs de risque sont ainsi d'ores et déjà mis en évidence comme la génétique, des pathologies générales (les maladies métaboliques et en particulier le diabète peuvent jouer un rôle très important, mais également certaines maladies inflammatoires ou cardiovasculaires) (16–20), certains médicaments (21–24), le tabagisme (16,25), le stress psychogène (26)... Mais l'âge reste le facteur prégnant. La parodontite touche en effet rarement les enfants et exceptionnellement les enfants immunocompétents mais présente une incidence qui augmente drastiquement à l'âge adulte. Les mécanismes du vieillissement impliqués sont encore mal expliqués mais sont évoquées des notions d'épuisement du système immunitaire et les capacités réduites de renouvellement et de différenciation cellulaire (27–29).

Il faut noter que bien d'autres facteurs pourraient être impliqués dans la perturbation des interactions hôte/microbiote et que beaucoup sont encore probablement inconnus (30).

1.1.4. Diagnostic de la parodontite

Le diagnostic de cette maladie est encore trop souvent tardif. Les signes d'appel correspondent aux signes cliniques mais c'est la poche parodontale qui signe la présence d'une parodontite ; celle-ci doit être recherchée et mesurée par un sondage parodontal qui consiste en l'introduction d'une sonde graduée à bout émoussé dans différents points du sulcus (31). Le sondage doit être motivé par la présence de quelque signe clinique de parodontopathie et devrait être également, même en l'absence de symptômes, réalisé systématiquement sur quelques sites choisis à titre de dépistage, sur les points décrits par Ramfjord (32) par exemple (points mésio-buccal, disto-buccal, mésio-lingual et disto-lingual de 16, 36, 24, 44, 11 et 31).

Le diagnostic sera affiné en se référant à la classification de la Fédération Européenne de Parodontologie (Chicago 2019) qui donnera le grade (évolutivité) et le stade (avancement) de la maladie, indiquant un pronostic et une conduite thérapeutique (33).

STADES : SÉVÉRITÉ - COMPLEXITÉ

		Stade 1	Stade 2	Stade 3	Stade 4
Sévérité	→ Perte d'attache interdentaire*	1 à 2 mm	3 à 4 mm / non	≥ 5 mm	≥ 5 mm
	→ Alvéolyse radiographique	< 15%	15 à 33%	≥ 50%	≥ 50%
	→ Dents absentes pour raisons parodontales	0	0	≤ 4	≥ 5
Complexité	→ Profondeur de poche	≤ 4 mm	≤ 5 mm	≥ 6 mm	≥ 6 mm
	→ Alvéolyse radiographique	Horizontale essentiellement	Horizontale essentiellement	Verticale ≥3 mm	Verticale ≥3 mm
	→ Lésions inter-radicales	Non ou classe I	Non ou classe I	Classes II ou III	Classes II ou III
	→ Défaut crestal	Non ou léger	Non ou léger	Modéré	Sévère
	→ Besoin en réhabilitation complexe**	Non	Non	Non	Oui
Étendue	→ Elle est considérée comme localisée lorsqu'elle touche < 30% des dents et généralisée si elle touche > 30% des dents				

GRADES : RAPIDITÉ DE PROGRESSION

	Taux de progression	Grade A - Faible	Grade B - Modéré	Grade C - Rapide
Critères	→ Perte d'attache ou alvéolyse radiographique sur les 5 dernières années	Non	< 2 mm	≥ 2 mm
	→ Ratio pourcentage d'alvéolyse/âge*	< 0,25	0,25 à 1	> 1
	→ Ratio quantité de plaque/destruction parodontale***	Importante / faible	Normal	Faible / Importante
Facteurs modifiants	→ Consommation quotidienne de cigarettes	Non	< 10	≥ 10
	→ Diabète	Non	Oui HbA1c < 7,0%	Oui HbA1c ≥ 7,0%

*au site le plus atteint. **à moduler en fonction de dysfonction masticatoire, de trauma occlusal secondaire (mobilité ≥ 2), d'effondrement occlusal, de moins de 20 dents résiduelles (10 paires antagonistes)... ***attention à certaines formes spécifiques avec atteinte des molaires/incisives

Tableau 1 : Tableau récapitulatif de la classification des pathologies parodontales par la fédération européenne de parodontologie (33)

A cet effet un bilan parodontal complet doit être effectué, comprenant :

- Une mesure de la **perte d'attache** (« Clinical Attachment Loss » i.e CAL, en millimètres sur plusieurs points de l'ensemble des dents restantes cumulant la **profondeur de poche** (« Periodontal Pocket Depth » i.e PPD ; distance entre la gencive marginale et l'attache épithéliale) et la **récession parodontale** (REC ; distance entre le collet anatomique de la dent et la gencive marginale) à l'aide d'une sonde graduée, idéalement à pression constante,
- Un indice de saignement au sondage : proportion des sites hémorragiques à l'insertion de la sonde parodontale,
- Une mesure des atteintes furcataires (classification Carnevale) : elles sont mesurées horizontalement avec une sonde courbe (Nabers) : Classe I pour une atteinte de moins

de 3mm, Classe II pour une atteinte supérieure à 3mm et Classe III en cas de traversée complète de la furcation.

- Une mesure quantifiant les mobilités dentaires (indice de Miller) : 0 pour une mobilité physiologique, 1 pour une mobilité horizontale limitée à 1 mm, 2 pour une mobilité horizontale supérieure à 1 mm et 3 pour une mobilité terminale : horizontale et verticale
- Un indice de plaque, tel que celui de Loë et Silness (sans coloration) : 0 qualifiant une absence de plaque, 1 un film invisible à l'œil nu, 2 une couche de plaque visible, limitée au sillon gingivo-dentaire et 3 une couche de plaque supérieure à deux millimètres
- Un indice gingival qualifiant l'inflammation clinique (Loë et Silness) : 0 pas d'inflammation visible, 1 inflammation discrète avec léger changement de forme et de couleur, 2 inflammation nette avec rougeur, œdème, hypertrophie gingivale et saignements provoqués, 3 inflammation importante avec rougeur, hypertrophie encore plus considérable, tendance à des saignements spontanés voire aux ulcérations.
- Imagerie médicale : radiographies rétro-alvéolaires, orthopantomographie bimaxillaire voire C.B.C.T. (Cone Beam Computer Tomography)
- Eventuellement, des prélèvements sulcaires visant à rechercher et quantifier la flore parodontopathogène par P.C.R. (Polymerase Chain Reaction) et un test génétique (Periodontal Susceptibility Test)

Notons qu'en recherche sur l'animal, d'autres outils d'évaluation peuvent être employés dont les couts, l'invasivité particulière et surtout l'éthique rend totalement impossible leur utilisation en clinique humaine, en particulier les analyses histologiques et histomorphométriques (qui nécessitent le bloc-section du maxillaire), mais aussi les scanners avec produits de contrastes, la recherche de cytokines dans le sillon gingivo-dentaire, etc.

1.1.5. Traitements actuels de la parodontite.

Les thérapies conventionnelles ont pour objectif de diminuer la charge bactérienne et l'inflammation par le contrôle de plaque et la désinfection des surfaces dento-parodontales. Ces traitements sont toujours d'actualité et visent à stabiliser la maladie, n'offrant que rarement une régénération du parodonte.

Ils consistent tout d'abord en l'élimination du biofilm par le patient grâce à une hygiène dentaire et interdentaire rigoureuse qui doit lui être enseignée.

Un détartrage supra-gingival est ensuite effectué. Après évaluation des atteintes, un traitement non chirurgical des poches, ou surfaçage, sera ensuite proposé. Il comprendra un débridement radiculaire manuel ou sonique (34) accompagné d'éventuelles irrigations antiseptiques, traitement photo dynamiques ou autres traitements annexes (35). Une antibiothérapie systémique est également recommandée par l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament simultanément et en complément du surfaçage, en cas de parodontite agressive ou nécrosante (36). Cette phase initiale est constante et systématique dans tous les traitements parodontaux, qu'ils incluent ou non une phase chirurgicale et quelle qu'elle soit.

Cette prise en charge aboutira globalement à une réduction des poches et une stabilisation de la perte d'attache. Des chirurgies pourront être effectuées en complément, à visée résectrice : gingivectomies, lambeaux déplacés apicalement, amputations radiculaires, tunnelisations.... La chirurgie résectrice est efficace en termes de réduction de poche mais laissera inéluctablement des séquelles tissulaires. Elle peut améliorer la maintenance et permet un processus de **cicatrisation** (37), c'est à dire la formation d'une ré attache épithéliale, plus apicale et plus fragile.

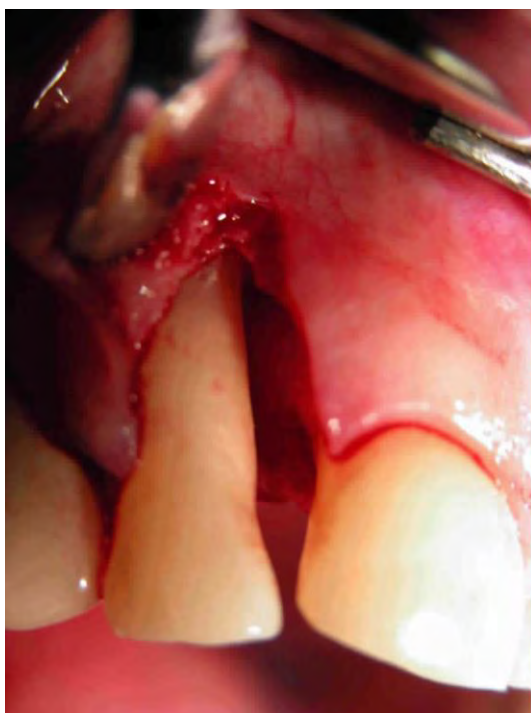


Figure 2 : poche parodontale d'une incisive supérieure après abord chirurgical
(Dr P. Barthet – F.C.D. Toulouse)

On oppose à ce concept de cicatrisation celui de **régénération**, qui vise à la restitution tissulaire *ad integrum*. Cette approche est relativement récente en parodontie et s'appuie sur les capacités de régénération des tissus du parodonte profond et en particulier le potentiel de ses cellules progénitrices.

Est apparue tout d'abord la Régénération Tissulaire Guidée, visant au moyen d'une membrane soutenue ou non par des substituts osseux à stabiliser le caillot sanguin à l'origine d'une régénération des tissus du parodonte. Puis a émergé la notion de Régénération Tissulaire Induite, visant à employer des agents biologiques afin de stimuler la régénération du parodonte profond en utilisant le potentiel de ses cellules souches. Des biomatériaux utilisant des dérivés de la matrice de l'émail sont actuellement commercialisés. Ils sont sensés reproduire les processus embryologiques conduisant à la formation du parodonte profond par le follicule fibreux mais les résultats sont assez peu reproductibles à ce jour. Notons que les indications actuelles de la chirurgie régénérative ne correspondent pas à tous les types d'anatomies lésionnelles. Il faut en effet un accès maximal aux cellules souches du parodonte profond pour espérer une régénération. La chirurgie régénératrice est donc particulièrement pertinente sur des lésions à plus de deux voire trois parois (infra-osseuses) et sur les lésions furcatoires de classe 1 ou 2 (37).

Les chirurgies régénératrices, visant à recouvrer l'architecture native et la fonction du parodonte en utilisant les techniques actuelles ont démontré un bénéfice dans nombre de situations mais restent d'un pronostic incertain, avec des résultats peu reproductibles (38).

Le bilan des résultats des traitements de « routine » de la parodontite soulève la nécessité de développer de nouvelles stratégies thérapeutiques qui ne trouvent toutefois leur intérêt que si elles sont validées sur un modèle préclinique pertinent, comme celui du chien qui reste un des plus proches de l'Homme.

1.2. La thérapie et l'ingénierie cellulaire parodontale.

La thérapie cellulaire consiste à greffer des cellules afin de restaurer la fonction d'un tissu ou d'un organe. L'objectif est de traiter durablement le patient grâce à une greffe unique de cellules thérapeutiques. Ces cellules sont obtenues à partir de cellules souches pluripotentes (pouvant donner tous types de cellules) ou multipotentes (pouvant donner un nombre limité de types de cellules) provenant du patient lui-même (autogreffe) ou d'un donneur (allogreffe) (39).

L'ingénierie tissulaire se définit par des méthodes visant à produire à partir de cellules animales ou humaines en culture de nouveaux tissus vivants pour rétablir une fonction voire l'améliorer. Pour ce faire, il faut assembler 3 éléments : des cellules, un biomatériau de support, et des facteurs de croissance.

1.2.1. Les cellules.

Les MSC comptent parmi les cellules les plus utilisées en thérapie cellulaire. Ce sont des cellules stromales, adultes, multipotentes, présentes en plus ou moins grande quantité dans tous les tissus conjonctifs (moelle osseuse, ligaments, tissus conjonctifs propres, graisse, etc...). Le tissu d'origine de ces cellules influe peu sur leurs propriétés. Aussi les cellules souches mésenchymateuses issues du tissu adipeux dites ASC (pour Adipose tissue-derived Stem/stromal Cells) semblent une option privilégiée en thérapie cellulaire compte tenu de leur abondance et de leur relative facilité d'accès (graisse sous-cutanée, boule de Bichat, etc.).

Les cellules mésenchymateuses, notamment celles issues du tissu adipeux, ont des propriétés immunorégulatrices et anti-inflammatoires (40), angiogéniques (41), antibactériennes (42) et de trans-différenciation. Ces propriétés, conférées principalement par leur activité auto-paracrine semblent particulièrement intéressantes à exploiter dans le but de rétablir l'homéostasie parodontale et reverser la dysbiose lors du traitement de la parodontite.

1.2.2. Le biomatériau support.

Dans le cadre de l'ingénierie tissulaire, le biomatériau de support sert de vecteur à la mise en place des cellules dans la lésion à régénérer. Il doit être biocompatible, bifonctionnel et biodégradable dans l'organisme, permettre l'adhésion des cellules souches à celui-ci ainsi que leur survie, prolifération, différenciation, fonctionnalisation et propagation. Dans l'idéal, il doit être pratique à manipuler et à adapter au site à greffer. Beaucoup de matériaux ont pu être étudiés (chitosan, collagène, acide hyaluronique, phosphates ou carbonates de calcium, etc.) mais un des plus efficaces semble être l'hydrogel de fibrine. Il est relativement proche du Plasma Riche en Fibrine déjà utilisé en chirurgie parodontale humaine (44) et il aurait montré un bénéfice dans le traitement de l'arthrose canine (45). L'hydrogel de fibrine est préparé à partir de sang frais, en l'occurrence, allogénique, selon le protocole de l'Etablissement Français du Sang. Sa tolérance ainsi que sa compatibilité avec les cellules souches ont déjà été démontrées (46).

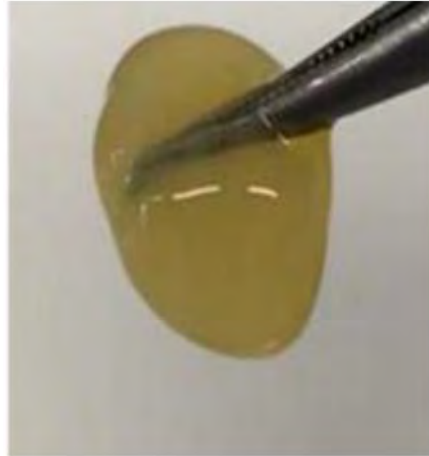


Figure 3 : hydrogel de fibrine (porteur cellulaire) manipulé ici à la précelle
(Laboratoire RESTORE – Eq4, GOT-IT)

1.2.3. Les facteurs de croissance

Afin d'exercer leurs activités sur le site d'intérêt, les cellules greffées nécessitent de recevoir certains signaux spécifiques sous la forme de molécules polypeptidiques le plus souvent : des facteurs de croissance. Ici l'adjonction de facteurs de croissance supplémentaires n'est pas nécessaire, ceux-ci étant déjà contenus dans le biomatériau support, en particulier le PDGF, TGF- β , IGF et surtout VEGF (47).

1.2.4. Ingénierie tissulaire du parodonte

1.2.4.1. Greffes d'ASC en thérapie parodontale

Les propriétés multiples et complexes des ASC ont incité les chercheurs à les expérimenter dans le traitement chirurgical de la parodontite.

Sur des modèles murins, Tobita et coll. en 2008 ont prouvé pour la première fois que l'association des ASC à un Plasma Riche en Plaquette (support relativement proche de l'hydrogel de fibrine) apporte un bénéfice dans la régénération du ligament parodontal et de l'os alvéolaire (48).

Ces données leur ont permis de translater l'expérience à un modèle canin en 2013 mais sur des animaux jeunes et avec des lésions mécaniquement induites. Ils ont remarqué dans ce cas la régénération des trois tissus du parodonte profond et dans une architecture très proche de celle du parodonte natif (49)

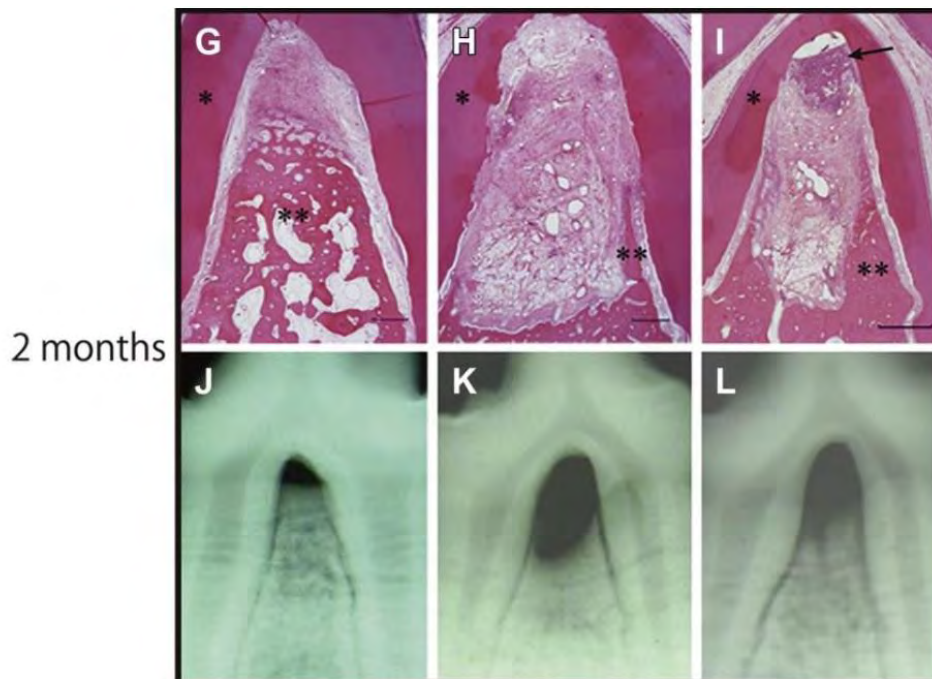


Figure 4 : Coupes histologiques et images radiographiques de lésions du tissu parodontal dans les groupes ASC/PRP (G et J), PRP seul (H et K) et non-implantés (I et L) 2 mois après l'implantation (barre d'échelle $\frac{1}{4}$ mm, *Racine dentaire ; **os nouvellement formé ; flèche : réparation épithéliale) (49)

Takedachi et coll. ont accompli une expérience très semblable (sur des lésions mécaniquement induites, chez le chien également), la même année, avec les lésions infra-osseuses à deux parois ou de classe 2 furcatoires et ont observé sur les sites avec ASC une ostéogénèse, une cémentogénèse et la formation de fibres verticales dans le conjonctif gingival (50).

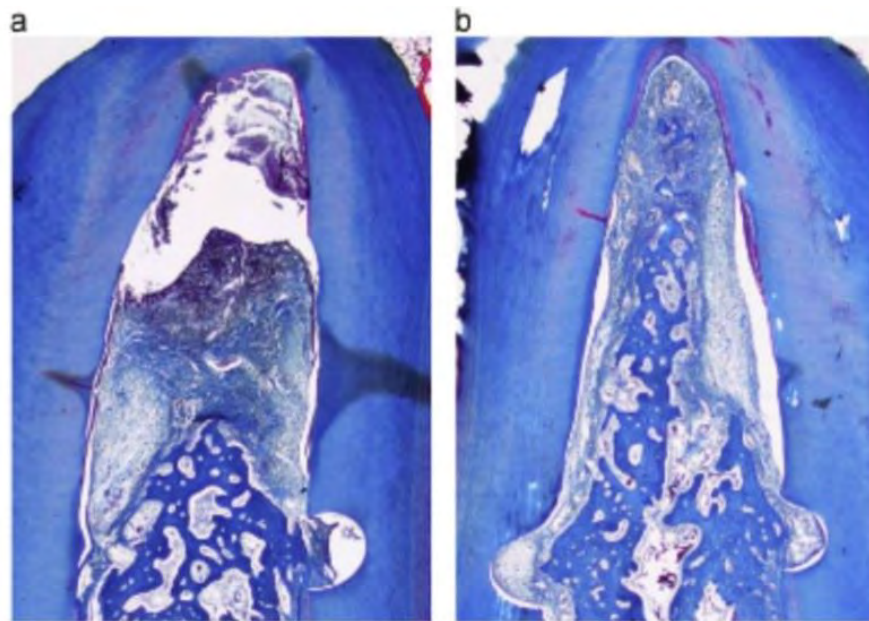


Figure 5 : Coupes de chien observées au MO (coloration azan) 6 semaines après la transplantation : (a) gel de fibrine seul ; (b) complexe gel de fibrine + ASC montrant une ostéogénèse et une cémentogénèse (50).

L'étude de Lemaitre et coll, portant sur des souris est particulièrement intéressante (51). En effet, ils ont histologiquement et par immunofluorescence montré la supériorité d'une greffe d'ASC associée à un vecteur collagénique comparée à la greffe du vecteur seul, avec une amélioration significative de l'apposition de ciment, de la densité et de l'organisation des fibres de Sharpey ainsi que de la vascularisation du parodonte profond.

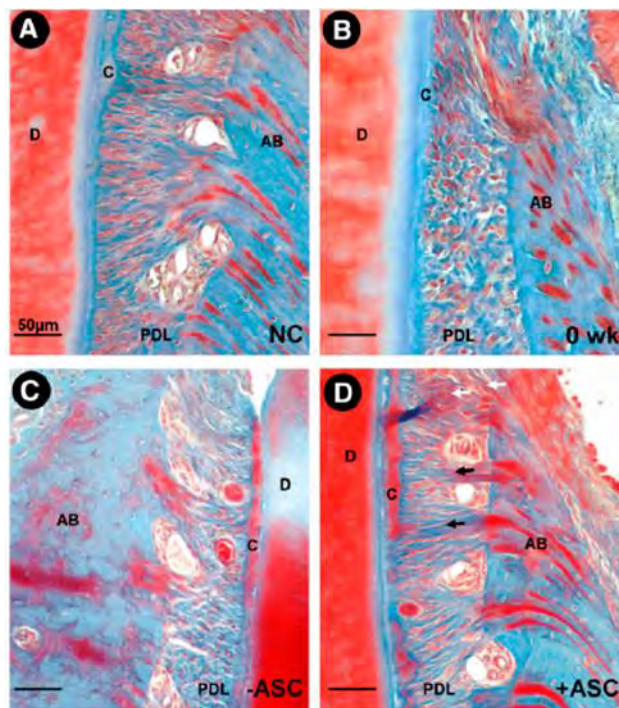


Figure 6: les ASC améliorent l'organisation des fibres desmodontales. Coupes

histologiques d'un parodonte physiologique (A), pathologique avant traitement (B), après traitement par collagène seul (C) et par ASC + collagène (D) à 12 semaines (51)

Ils ont surtout contribué à expliquer les mécanismes tissulaires et cellulaires mis en jeu sous l'effet des ASC dans la régénération parodontale, en étudiant notamment la localisation des cellules souches greffées par fluorescence dans le temps. Ils ont ainsi mis en évidence une persistance des cellules greffées à 6 semaines mais leur quasi-disparition à 12 semaines, laissant supposer une action transitoire des cellules dans leur participation aux processus de régénération. L'immunofluorescence a montré une expression plus importante, à 6 semaines, du facteur de croissance BMP2 et de l'ostéopontine, dans le parodonte profond des sites expérimentaux comparé aux sites contrôles ainsi qu'une variation dans l'expression des marqueurs des cellules progénitrices du ligament.

Bien que la souris soit un modèle plus éloigné de l'humain que le chien ou le porc, le modèle choisi dans cette étude est plus pertinent que dans d'autres sur des parodontites induites. En effet ici les lésions ont été créées par introductions successives de fortes quantités de bactéries parodontopathogènes (*Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum*, et *Prevotella intermedia*) dans le parodonte des molaires et non par des moyens mécaniques, plus répandus mais moins proches de la physiopathologie.

1.2.4.2. Une synthèse méta-analytique. Periodontal cell therapy : a systematic review and meta-analysis (52)

La thérapie cellulaire sur le parodonte est donc déjà expérimentée, sur l'animal principalement mais également chez l'Homme (pour environ 10% des études). La méta-analyse de A. Dubuc et coll. (52) propose une synthèse des différentes études sur le sujet, disponibles sur PubMed et I.C.T.R.P. (International Clinical Trials Registry Platform) avec des MSC d'origines diverses, principalement des cellules mésenchymateuses desmodontales ou osseuses. Ils observent un bénéfice significatif des MSC dans la régénération de l'os alvéolaire et du ligament. Cela est plus particulièrement vrai lorsque le vecteur employé est constitué seulement de dérivés naturels de la matrice extra-cellulaire et pour des lésions furcatrices de classe 1 ou 2 ou avec au moins deux parois (corroborant les indications anatomiques actuelles de chirurgies régénératrices chez l'humain).

Ces résultats sont à relativiser avec les biais importants que comportent ces études, en particulier celles sur l'animal :

- compte tenu des espèces choisies : des rongeurs et des lapins pour 42.9% des études

qui ne développent pas de parodontite spontanée

-concernant la nature des lésions : induites exclusivement mécaniquement dans plus de 50% des études (souvent sur des sujets très jeunes), ne reflétant pas la physiopathologie complexe de la maladie parodontale et naturelles seulement dans les essais cliniques.

Il faut noter que très peu d'études cliniques incluses sont contrôlées et randomisées (seulement 4) et qu'elles n'ont pas permis de mettre en évidence de bénéfice significatif à la thérapie cellulaire parodontale chez l'Homme. D'autres essais cliniques sont actuellement en cours avec bras de contrôle et randomisation pour une dizaine d'entre eux

1.3. Le modèle canin de la parodontite

1.3.1. Caractéristiques générales de la denture et du parodonte canins

Le chien présente une denture définitive relativement semblable à celle de l'humain, hétérodonte et diphyodonte, décomposable en incisives, canines, prémolaires et molaires. Il possède trois incisives, une canine, et quatre prémolaires par hémi-arcade, deux molaires par hémi-arcade supérieure et trois molaires par hémi-arcade inférieure. La formule dentaire est fixe pour l'espèce, bien que sujette à des anomalies. Les structures dentaires et parodontales ont un aménagement et une composition très semblables à celles des humains (émail minéralisé à 98%, ciment à 65%, composition collagénique de la matrice dentinaire...). On retrouve les tissus du parodonte avec un agencement également similaire (53–55)

De même que dans la nomenclature humaine, selon la nomenclature Triadan, le premier chiffre correspond à l'hémi arcade et les deux suivants à la position de la dent sur l'hémi arcade en allant de mésial à distal (56).

Mâchoire supérieure droite										
(1)	M2	M1	P4	P3	P2	P1	C	I3	I2	I1
(2)	110	109	108	107	106	105	104	103	102	101

Mâchoire inférieure droite											
(1)	M3	M2	M1	P4	P3	P2	P1	C	I3	I2	I1
(2)	411	410	409	408	407	406	405	404	403	402	401

(1) Nomenclature anatomique.

(2) Nomenclature de Triadan.

Tableau 2 : Nomenclature canine

1.3.2. Eléments de comparaison des structures dento-parodontales humaines et canines

Comme évoqué ci-dessus, les ressemblances des structures dento-parodontales humaines et canines sont nombreuses. On peut également évoquer la tendance de la gencive à s'amincir avec l'âge dans les deux espèces.

Il faut cependant insister sur quelques différences :

- Une des plus évidentes est le nombre de dents, 42 pour le chien, 32 pour l'humain.
- Une variabilité beaucoup plus grande du volume des maxillaires au sein de l'espèce canine.
- Des différences dans les espèces composant le microbiote buccal, et en particulier le tartre et les biofilms.
- Des différences occlusales : pas de latéralité en occlusion dynamique et pas de contact occlusal au niveau des prémolaires en occlusion statique chez le chien.
- Absence fréquente de fluide sulculaire chez le chien.
- Une importante variabilité sur l'arcade de l'épaisseur cumulée des tissus parodontaux pouvant impacter la sévérité des parodontites et leur réponse aux traitements.
- Des furcations canines juste au niveau de la crête alvéolaire pour les pluri-radiculés par conséquent très précocement atteintes en cas de parodontite alors qu'elles sont un peu plus apicales chez l'humain.
-



Figure 7 : Denture canine en vue latérale (Hennet 2010)

1.3.3. La parodontite du chien

1.3.3.1. Caractéristiques générales

Le chien est un animal qui développe spontanément des parodontites avec une prévalence extrêmement importante, 80% des chiens domestiques seraient atteints de quelque forme de parodontite (57). Elle représente la pathologie orale la plus fréquente chez le chien (58). Comme chez l'humain, la prévalence augmente très fortement avec l'âge.

Une parodontite sévère non traitée peut engendrer des complications plus ou moins graves et fréquentes, locales (telles que des abcès, cellulites, fractures des maxillaires, ostéonécrose des maxillaires) ou générales (notamment des endocardites infectieuses sur les chiens porteurs de valves cardiaques (59) mais aussi de l'anorexie).

Les formes cliniques sont comparables à celles de l'humain avec la présence de lésions infra osseuses, supra osseuses, des atteintes de furcation, une inflammation gingivale, des mobilités, d'éventuels saignements et suppurations.... (60)

1.3.3.2. Mécanismes

On retrouve les mêmes associations cliniques que chez l'humain avec une présence importante de plaque et de tartre, associée à une proportion très augmentée de bactéries anaérobies gram négatives comparé au biofilm physiologique. On observe de la même façon des facteurs de risques liés à l'hôte : locaux (malocclusion, activité masticatoire insuffisante, absence ou insuffisance de mesures de contrôle de plaque...) et généraux (génétiques, pathologies générales, mais également la taille et la race pour les chiens).

1.3.3.3. Microbiologie

Les parodontopathogènes sont aussi relativement proches de ceux des humains, avec une forte présence de porphyromonas dont *Porphyromonas gulae* qui pourrait être décrit comme la variation canine de *Porphyromonas gingivalis* mais aussi *Porphyromonas salivosa* et *Porphyromonas denticanis* qui sont les trois principaux parodontopathogènes retrouvés chez le chien atteint de parodontite lors de prélèvements cervicaux à la pointe de papier (61).

Comme chez l'humain, certains tréponèmes sont aussi fréquemment retrouvés dans les parodontes malades.

1.3.3.4. Histologie

La destruction parodontale est également associée à une inflammation locale. On observe en effet histologiquement chez les deux espèces un infiltrat massif de cellules lymphoïdes, notamment composé de plasmocytes et de lymphocytes, une migration apicale de l'attache gingivale associée à la destruction des structures collagéniques avec une évolution de l'épithélium de jonction vers un épithélium de poche. L'évolutivité de la maladie, chez le chien comme chez l'humain, semble associée à une quantité augmentée de granulocytes neutrophiles au niveau des lésions. Des différences sont tout de même à noter notamment la prolifération de tissus gingival chez le chien et sa transformation en tissus de granulation au niveau du sulcus en début de maladie, une prolifération vasculaire plus importante chez le chien et l'occurrence de phénomènes de fibrose, relativement fréquente chez l'humain mais rare voire inexistante dans la parodontite du chien. Contrairement à l'humain, l'absence de poche ne signerait pas la santé d'un site chez le chien, la migration apicale des tissus durs et mous pouvant être synchrone et donc se manifester en plus de l'inflammation clinique par une récession pure des tissus (62,63).

1.3.4. Un diagnostic commun et reproductible entre les deux espèces.

Les maladies parodontales humaines et canines étant très semblables sur beaucoup d'aspects, l'odontologie et la médecine vétérinaire ont largement puisé sur les méthodes diagnostiques employées en médecine humaine. On retrouve ainsi les notions de l'examen clinique, les divers tests et indices para-cliniques (en particulier les relevés de sondage à la sonde graduée) décrits dans la partie 1.1. et les examens radiographiques permettant de mettre en évidence quantitativement et qualitativement les lyses osseuses de façon non invasive.

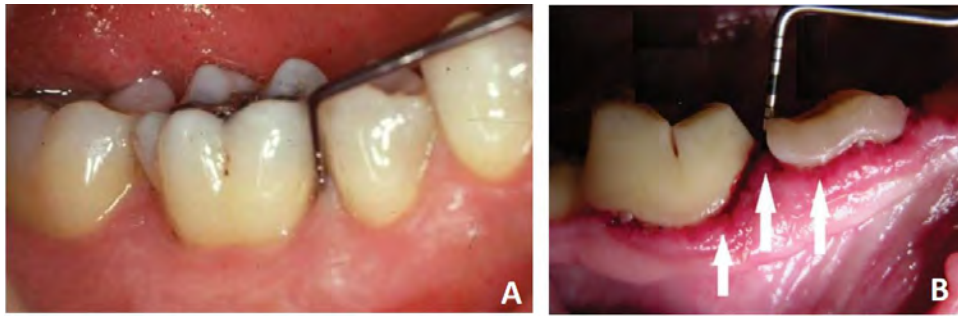


Figure 8 : sondage parodontal à la sonde graduée chez l'humain (A) et chez le chien (B). Les flèches montrent l'inflammation clinique associée à un saignement lors du sondage.

Contrairement à l'humain, cet examen parodontal doit cependant chez le chien être réalisé sous anesthésie générale en raison d'une insuffisance de coopération nécessaire à un diagnostic complet et précis.

La parodontite spontanée du chien s'avère particulièrement intéressante et peut être idéale en expérimentation préclinique (à l'exception éventuelle des grands primates dont les considérations éthiques limitent l'expérimentation). C'est LE modèle idéal pour les procédures expérimentales de médecine régénérative de la parodontite par greffe de cellules mésenchymateuses.

L'étude de la physiopathologie du parodonte a donc permis de dégager de nouveaux objectifs thérapeutiques concernant la régénération parodontale. Elle doit permettre de recouvrer une architecture native et une homéostasie durable et par conséquent remédier à la dysbiose ainsi qu'à l'inflammation exacerbée du milieu, être adaptable à l'anatomie lésionnelle, préserver le caillot, recruter et stimuler les progéniteurs locaux pour la régénération tissulaire. La greffe d'ASC vectorisées par un hydrogel de fibrine apparaît comme un traitement susceptible de répondre à l'ensemble de ces objectifs.

Bien que de nombreuses expériences aient d'ores et déjà été effectuées sur des modèles animaux avec des lésions parodontales éloignées de la physiopathologie humaine, l'innocuité et l'efficacité de ce traitement dans un contexte plus proche de la clinique humaine restent à démontrer. C'est le but principal du protocole ASC PARO, réalisé sur une parodontite spontanée canine qui compare l'efficacité et l'innocuité de la greffe du biohybride ASC autologues dans un hydrogel de fibrine avec la greffe d'un hydrogel de fibrine seul en évaluant la régénération au niveau de l'architecture et de la fonction parodontale, et sa pérennité dans le retour en santé.

Deuxième partie :

Ingénierie cellulaire du parodonte par greffe autologue de cellules
mésenchymateuses du tissu adipeux : preuve de concept sur un modèle
préclinique de parodontite canine spontanée.

2. Le protocole ASC PARO

Compte tenu de la complexité technique, scientifique et éthique des sujets soulevés par cette étude, un partenariat a réuni différents champs d'expertise : le laboratoire RESTORE (anciennement Stromalab) pour son expérience de longue date sur les ASC et la thérapie cellulaire, la Faculté de Chirurgie Dentaire de Toulouse, porteur de l'étude pour ses compétences en parodontologie et biomatériaux, l'I2MC (Equipe 2) pour le volet microbiologique et l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse pour les parties concernant les aspects de sécurité et le modèle canin dont nous allons rapporter les résultats cliniques.

Objectif :

L'objectif principal de l'étude est de démontrer l'hypothèse qu'un traitement chirurgical par greffe d'un biohybride (matériau contenant ou composé de substances à la fois biologiques et non biologiques (64)) d'ASC autologues aura une meilleure efficacité que la greffe de l'hydrogel de lysat plaquettaire (porteur cellulaire) seul (objectif primaire) ou qu'un traitement de référence (objectif secondaire) sur la régénération du parodonte canin, la réversion de la dysbiose et la réduction de l'inflammation à long terme. Il devra également montrer l'absence d'effets indésirables locaux et/ou généraux.

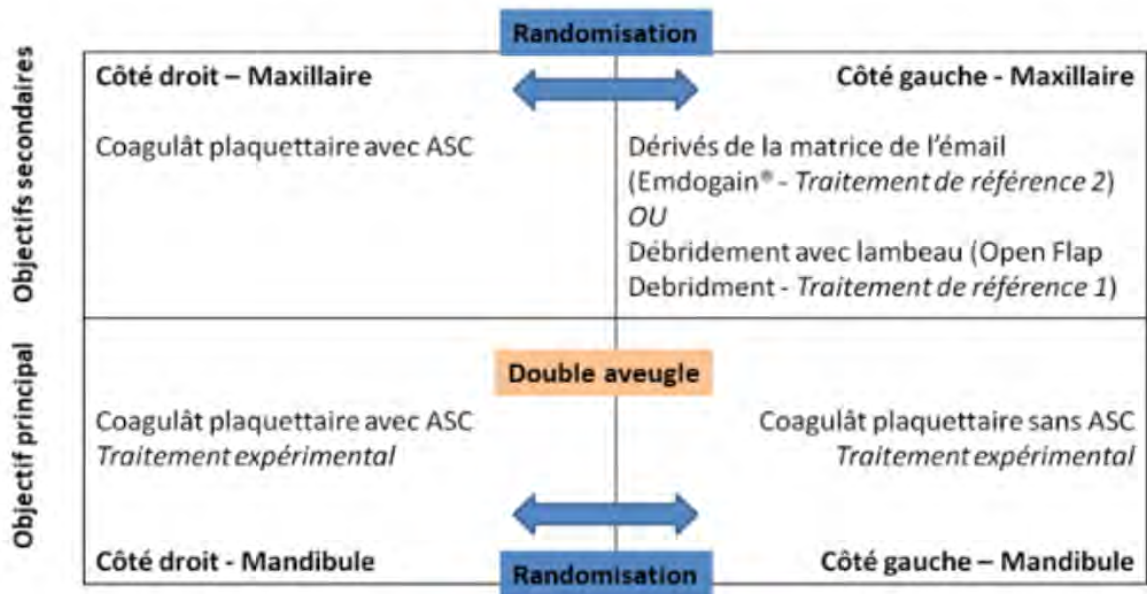
2.1. Matériel et méthodes

2.1.1. Méthodes

Le volet canin du protocole ASC PARO est un essai pré-clinique, prospectif, contrôlé, randomisé, unicentrique et en double aveugle. L'essai intéresse l'ensemble de la bouche de chaque chien.

Concernant l'arcade inférieure : une greffe d'ASC associées à l'hydrogel de fibrine plaquettaire est effectuée dans un quadrant, une greffe d'hydrogel de fibrine seul dans l'autre. Concernant l'arcade supérieure : un traitement différent est utilisé sur chaque quadrant, ces traitements sont de type débridement chirurgical simple (sans aucune greffe de biomatériau), mise en place d'Emdogain (dérivées de la matrice de l'émail) ou d'hydrogel de fibrine avec ASC. Les traitements sont attribués par randomisation mais sans aveugle dans ce cas.

Un bilan clinique et radiologique est effectué 45 jours et 120 jours après ces traitements (65).



2.1.2. Critères d'inclusion et d'exclusion

Les chiens doivent être de race Beagle, être âgés de plus de huit ans, avec un diagnostic de parodontite (au moins six dents permanentes résiduelles dont au moins deux molaires inférieures (une de chaque côté)) avec au moins une poche parodontale sur celles-ci de plus de 4 mm au sondage.

Les critères de non inclusion sont une contre-indication aux anesthésies générales (affections diverses, neurologiques, dermatologiques, respiratoire, anorexie, antécédents de complications opératoires, etc.) ou l'implication du sujet dans un autre protocole.

2.1.3. Description de la population d'étude

Seize chiens expérimentaux ont été inclus dans l'étude. Les chiens expérimentaux ont reçu les greffes de cellules souches (ASC + / traitement A) et d'hydrogel de fibrine seul (ASC - / traitement B) distinctement sur leurs héli-arcades inférieures (de façon randomisée et en double aveugle).

Numéro de chien	Année de naissance	Sexe	IMC
1228	2010	Femelle	81
2223	2005	Mâle	71
2296	2005	Femelle	62
2819	2005	Femelle	72
2870	2005	Femelle	62
3024	2010	Femelle	75
3183	2005	Femelle	74
3495	2005	Femelle	75
3684	2011	Male	83
4340	2010	Male	77
4389	2010	Femelle	78
5775	2010	Male	65
6559	2010	Femelle	95
6907	2010	Male	62
9089	2012	Femelle	74

Tableau 3 : description de la population d'étude (chiens expérimentaux) : numéro du chien, année de naissance, sexe et indice de masse corporelle (IMC)

	IMC
Insuffisance pondérale	Inférieur à 75
Poids idéal	75 à 85
Surpoids	Supérieur à 85

Tableau 4 : score IMC pour les Beagles

2.1.4. Critères de jugement

Le critère de jugement principal de cette étude est le calcul de la réduction de la perte d'attache clinique (CAL : profondeur de poche (PPD) + récession gingivale (REC)) entre les côtés expérimentaux et contrôles 45 et 120 jours après la chirurgie.

Les critères de jugement secondaires sont :

- L'index gingival (GI)
- L'index de plaque (PI)
- Le saignement au sondage (« bleeding on probing » i.e BOP)
- La mobilité
- Les paramètres radiologiques avec la qualité de l'os néoformé évaluable par la densité osseuse radiologique et la perfusion tissulaire via une injection de produit de contraste.
- Les paramètres biologiques et bactériens (prélèvements sulculaires et sanguins, quantification et qualification bactériologique)
- Les paramètres histologiques

2.1.5. Protocole – chronologie

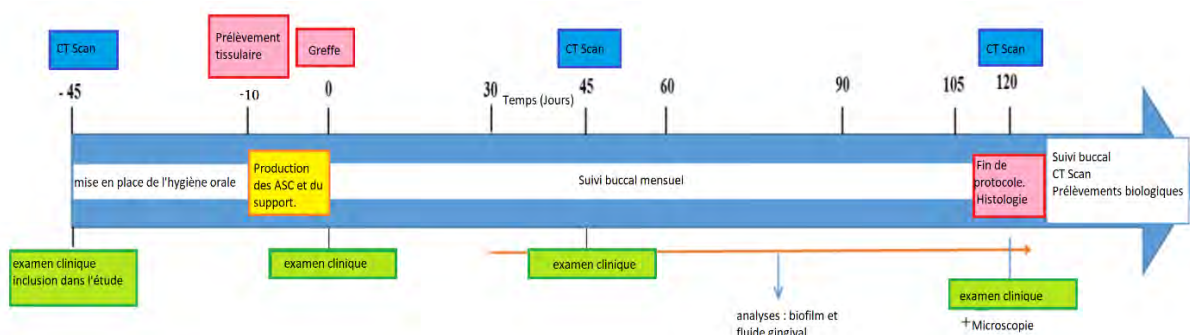


Figure 9 : Axe chronologique du volet canin du protocole ASC Paro

Le protocole se divise en 6 étapes majeures se déroulant à l'École Vétérinaire de Toulouse. Toutes sont réalisées sous anesthésie générale.

2.1.5.1. La pré-inclusion

Faite à l'état vigile sur les chiens mis à disposition par l'école vétérinaire, elle vise à vérifier par un examen global que le chien remplit bien les critères d'inclusion de l'étude. Elle est réalisée par un odontologiste sur le lieu de vie des chiens concernant les aspects bucco-dentaires et par un vétérinaire pour l'état général du chien.

Durant toute la durée de l'étude, de l'inclusion au dernier bilan de fin de protocole, un contrôle de plaque le plus efficient possible est maintenu par un brossage dentaire à l'état vigile trois fois par semaine avec une brosse à dent souple (personnelle pour chaque chien) trempée dans un bain de bouche à la chlorhexidine (0,12%) et complété avec un doigtier qui permet d'accéder plus facilement aux faces linguales. Un cahier est attribué à chaque chien (Case Report Form) qui le suit à chaque étape du protocole, de la pré-inclusion à la fin où sont consignés les différents traitements effectués, les bilans cliniques avec « charting » parodontal à chaque étape, les CDs d'imageries radiologiques, les observations spécifiques, etc. Celui-ci est doublé d'un cahier de suivi à l'animalerie (suivi du poids, santé générale, alimentation, etc.)

2.1.5.2. L'inclusion (J-45)

L'inclusion a lieu quarante-cinq jours avant la chirurgie parodontale. Elle se fait sous anesthésie générale. Elle comprend tout d'abord un prélèvement sanguin jugulaire (environ 8ml en tubes héparinés) puis après nettoyage intra-buccal à la compresse, un schéma dentaire, bilan de sondage parodontal complet, le relevé d'indice de plaque (indice de Sillness et Loë, sans coloration) et de saignement. Toutes ces mesures se font sur trois points de chaque dent présente (mésial, vestibulaire et distal). On procède ensuite au relevé des mobilités sur chaque dent et des atteintes de furcations sur les dents pluriradiculées. Des prélèvements sulculaires sont effectués à l'aide de pointes de papier sur une molaire ou prémolaire par hémi-arcade et sur une incisive par arcade. Les prélèvements sulculaires sont de deux types : de plaque dans des tubes secs et de fluide gingival avec tampon RIPA dans le but d'une analyse des cytokines par ELISA.

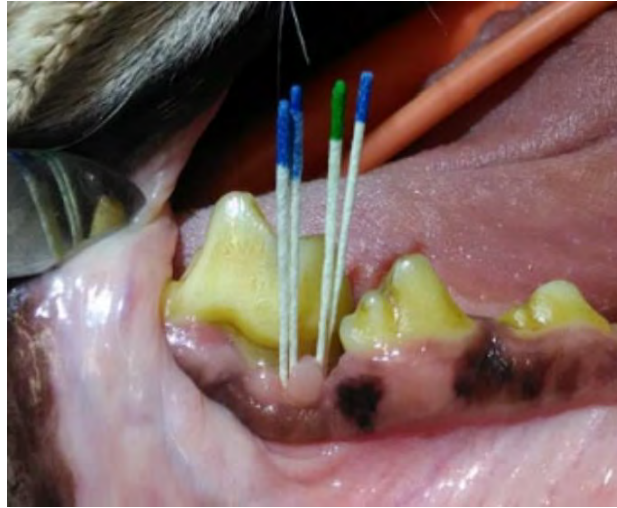


Figure 10 : prélèvement de biofilm et de fluide sulculaire à la pointe papier

Les prélèvements sont conditionnés ensuite directement dans des tubes annotés dans une glacière. Un détartrage ultrasonique sous irrigation, supra-gingival, complet est ensuite effectué. Les dents en mobilité terminale sont extraites. Le chien est transféré ensuite, toujours anesthésié, en salle de scanner où deux scans céphaliques sont effectués successivement : un premier sans produit de contraste et un second avec. Le chien est ensuite réveillé et retourne à l'animalerie.

A partir de cette étape, une hygiène orale est réalisée trois fois par semaine.

2.1.5.3. Éléments sur les protocoles d'anesthésie

On distinguera deux protocoles d'anesthésie différents selon la phase du protocole : un simplifié, avec une narcose légère et sans antalgie générale pour les actes peu voire non invasifs (J-45, J+45, J+120) et un autre pour les actes chirurgicaux induisant une narcose plus profonde et comprenant une antalgie conséquente, employé lors des prélèvements graisseux (J-10) et de la chirurgie parodontale (J0).

Etapes	Descriptif
Prémédication IV	Médétomidine 10 µg/kg et Butorphanol 0.4 mg/kg
Induction IV	Propofol en IV lente (titration) 4 à 6 mg/kg
Intubation	Sonde endotrachéale diamètre 7
Maintenance anesthésique	Isoflurane sous 100 % d'oxygène et circuit non-réinhalatoire type Bain (Débit 200 mL/kg/min)
Maintenance narcose	Entre 0.8 – 1.2 %
Perfusion	NaCl 0,9% - fluidothérapie à 10 mL/kg/h

Tableau 5 : Protocole anesthésique pour les séances peu invasives (J-45, J+45 et J+120)

Etapes	Descriptif
Prémédication IV	Acepromazine 25µg/kg et de la Méthadone 0.2mg/kg.
Induction IV	Identique au J-45
Intubation	Identique au J-45
Maintenance anesthésique	Identique au J-45
Maintenance narcose	Identique au J-45
Perfusion	Identique au J-45
Antibiotique post-op	Antirob (Clindamycine) 1 fois par jour, à 11mg/kg
Analgésie post-op sous cutanée	Buprénorphine 20µg/kg toutes les 8h pendant 48h

Tableau 6 : Protocole anesthésique pour les séances chirurgicales (J-10 et J0)

Notons que lors des avulsions dentaires et des chirurgies parodontales des compléments locaux peuvent être effectués (type para-apicale) avec une solution d'articaine adrénalinée.

2.1.5.4. Réalisation du prélèvement de tissu adipeux et culture des ASC (J-10)

Il se pratique sous anesthésie générale. Une incision de 3 cm environ est faite dans la paroi abdominale et le vétérinaire prélève par dilacération 6 à 8g de tissus adipeux qui sera conditionné dans un tube stérile contenant seulement du sérum physiologique pour maintenir la pression osmotique. Il sera ensuite acheminé pour son traitement au laboratoire Stromalab (nouvellement RESTORE). La plaie opératoire est suturée sur deux plans. Le chien est réveillé et retourné à l'animalerie. Le protocole ne prévoit pas d'antibiotique ou antiphlogistique en post opératoire afin de ne pas interférer sur le parodonte mais des antalgiques sont administrés si besoin.

Dès son arrivé au laboratoire, le tissu adipeux est extemporanément pesé, découpé aux ciseaux et digéré par des collagénases NB4. Le produit obtenu est agité au bain marie pendant quarante-cinq minutes puis centrifugé. Les hématies lysées. La fraction stromale vasculaire est mise en culture et, après un passage, les ASC sont finalement isolées et récupérées ; les cellules sont laissées en culture dix jours durant. Un passage est réalisé en cas de trop grande confluence cellulaire.

2.1.5.5. Constitution des greffons.

La constitution des greffons a lieu entre le prélèvement de tissu adipeux et la chirurgie parodontale. Elle est réalisée par les équipes du laboratoire Stromalab. Comme décrit précédemment, il y a deux types de greffons différents : les concentrés plaquettaires (greffe contrôle) et les concentrés plaquettaires associés aux ASC (greffe expérimentale).

- Constitution des concentrés plaquettaires seuls : l'hydrogel de fibrine est un support cellulaire biodégradable sous la forme d'un hydrogel poreux. Il est préparé, à partir d'un lysat plaquettaire issu d'un prélèvement sanguin canin autologue selon le protocole de l'établissement français du sang (66). Le lysat est préparé à l'avance et congelé jusqu'au jour de la chirurgie parodontale. Le jour de la chirurgie parodontale, le lysat plaquettaire est dégelé trois heures à l'avance et polymérisé extemporanément grâce à l'ajout de CaCl₂, de NaCl et d'acide tranexamique pour obtenir un hydrogel de fibrine gélifié (protocole en cours de soumission à publication).
- Constitution des concentrés plaquettaires associés aux ASC : trois heures avant la chirurgie parodontale, les ASC canines produites sont mélangées à du lysat plaquettaire décongelé. L'ensemble sera polymérisé de la même façon que l'hydrogel de fibrine seul, avec l'adjonction de CaCl₂, de NaCl et de l'acide tranexamique. Cela se fera dans des plaques de douze puits en atmosphère humide pour un total de quatre millilitres de greffon. Trois couches de $2 \cdot 10^5$ cellules sont disposées dans chaque puits.

2.1.5.6. La chirurgie parodontale (J0)

Une fois l'anesthésie générale induite, un bilan parodontal complet est réalisé selon un protocole identique à celui de l'inclusion (plaque, saignements, sondage, mobilités, scanners, prélèvements sanguins et intra-sulculaires...). Il permet notamment de suivre l'état du parodonte suite à l'assainissement initial et à l'application du protocole d'hygiène. On procède ensuite à la chirurgie sur les quatre secteurs, au niveau des dents les plus atteintes préférentiellement, les secteurs inférieurs reçoivent les traitements expérimentaux de façon randomisés et en aveugle et les secteurs supérieurs des traitements conventionnels (protéines de la matrice de l'émail ou débridement chirurgical seul) ou un biohybride.

Protocole chirurgical :

Le protocole chirurgical est semblable pour tous les secteurs, seul le type de chirurgie varie.

1. Nettoyage intra-buccal à la compresse et complément d'anesthésie locale (articaïne avec vasoconstricteurs) sur les sites d'intérêt.
2. Un lambeau vestibulaire est levé au niveau des dents les plus atteintes sur chaque secteur à l'aide d'un bistouri lame 15 et de décolleurs et rugines adaptés.
3. Débridement radiculaire manuel et/ou ultrasonique des racines atteintes sous contrôle visuel.
4. Mise en place du matériau de régénération :
 - « A » et « B » sur l'arcade inférieure correspondant de façon randomisée en double aveugle aux traitements expérimentaux (concentré plaquettaire et concentré plaquettaire associé aux ASC.
 - Sur chacun des secteurs supérieurs : soit des biohybrides, soit des protéines de la matrice de l'émail après application et rinçage d'une solution d'Éthylènediaminetétraacétique (E.D.T.A, prefgel), soit aucun matériau (« open flap debridement i.e OFD).

Après hémostase, les sites sont suturés avec des sutures résorbables.

Les chiens sont imagés puis réveillés et mis en observation jusqu'à leur retour à l'animalerie avec une prescription d'antalgiques (dérivés opiacés type buprénorphine) et d'antibiotiques (clindamycine). Un suivi clinique étroit sur dix jours est mis en place.

2.1.5.7. Bilan de suivi (J+45)

Quarante-cinq jours après la chirurgie, un bilan est effectué sous anesthésie générale. Il permet de vérifier l'absence d'effet indésirable (bien que les plus notables puissent déjà avoir été notifiés lors des séances d'hygiène pluri-hebdomadaires) et de constater une éventuelle efficacité des traitements chirurgicaux. Il se déroule selon le même protocole qu'à J-45 et J 0 avec sondage complet, indice de plaque, relevé des mobilités, prélèvements sulculaires et sanguin, scanners avec et sans produit de contraste, etc. Notons que le protocole d'anesthésie est allégé pour cette étape, les actes étant particulièrement peu invasifs.

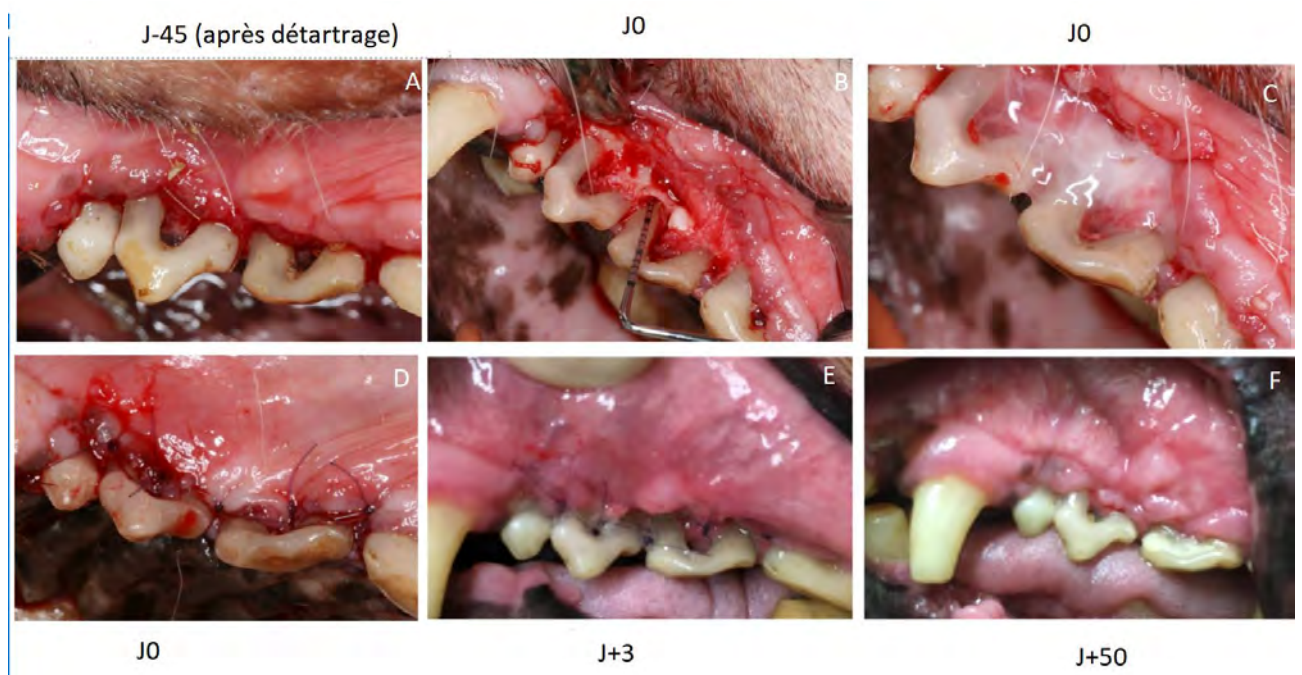


Figure 11 : procédures et suivi

A : parodonte inflammé avec une récession parodontale importante et furcations de classe 3. B : dégagement chirurgical de la poche. C : mise en place du biomatériaux (hydrogel avec ou sans ASC). D : fin de chirurgie après suture du lambeau. E : à J+3, aucun effet indésirable notable à déplorer, on remarque un peu de fibrine et l'amorce de la réparation. F : Réparation muqueuse à 50 jours

2.1.5.8. Fin de protocole (J +120)

Quatre mois après la chirurgie parodontale, un dernier bilan est effectué sous anesthésie générale légère, selon le même protocole qu'à J+45. Il permettra d'évaluer les éventuels effets des traitements. A cette issue, l'essentiel des chiens sont réveillés et renvoyés à l'animalerie et sortent définitivement du protocole. Six des chiens parmi la tranche des plus âgés sont en revanche sacrifiés après l'étape du bilan, toujours sous anesthésie générale par

injection d'une solution létale. Le sang total est prélevé (en vue de tests *in vitro* et de production d'hydrogel de fibrine) ainsi que leurs maxillaires afin d'effectuer les analyses histologiques.

Procédure	Temps clinique					
	J-60	J-45	J-11	J0	J+45	J+120
Evaluation parodontale à l'état vigile	X					
Anesthésie générale		X	X	X	X	X
Monitoring (poids, bien-être, constantes biologiques) Prélèvement sanguin tubes héparinés		X	X	X	X	X
Prélèvement de plaque dentaire et de fluide sulculaire Indices oraux de saignement et inflammation, plaque et tartre Sondage parodontal, mobilités Scanner		X		X	X	X
Détartrage		X				
Prélèvement de tissu adipeux			X			
Procédure chirurgicale parodontale				X		
Analgésie post-opératoire et/ou antibiothérapie			X	X		
Fin d'étude						X

Tableau 7 : récapitulatif du protocole

2.1.6. Considérations éthiques et bien-être animal

L'ensemble de l'étude a été validée par le comité d'éthique local de l'Université Paul-Sabatier (Toulouse, France). L'école vétérinaire est d'ores et déjà le lieu de vie des chiens inclus et est habituée et équipée pour maintenir leur bien-être et leur santé, disposant d'une animalerie et d'une équipe de soigneurs aguerris. Elle assure leur alimentation, leur hygiène et leur confort. Des dispositions particulières ont été prises pour les chiens participant à l'étude. La prise en charge de la douleur est effective durant les chirurgies via les anesthésies générales à chaque occurrence d'acte invasif (injection d'analgésiques). Des antalgiques leur sont également délivrés en post opératoire jusqu'à la disparition de tout signe algique. Une attention particulière a également été portée afin de limiter leur stress (n'assistaient pas aux chirurgies de leurs congénères, couvertures chauffantes au réveil...).

Le nombre très limité de sacrifices, se concentrant exclusivement sur les chiens les plus âgés ayant atteint des âges proches de la longévité canine est également un facteur positif concernant l'éthique avec également la volonté de traiter une majorité des chiens sans sacrifice. Un bénéfice pourra même être observé pour les chiens traités et non sacrifiés qui

pourraient voir leur état bucco-dentaire bien amélioré avec un impact sur leur bien-être et leur alimentation à moyen terme. En termes de retombées, l'étude pourrait également avoir un impact sur les traitements humains mais aussi vétérinaires de la parodontite.

2.1.7. Traitement des données.

Il a été estimé que 15 chiens seraient nécessaires pour espérer une significativité des données concernant le critère de jugement principal (perte d'attache clinique pour rappel). Ce chiffre tient compte de la nature appariée des données, suppose un écart type égal dans les deux groupes de randomisations et une corrélation de 0.3 sur un même sujet entre les deux traitements expérimentaux concernant la perte d'attache. La différence de perte d'attache aurait alors un écart type égal à 1. Un chien a été ajouté en supplément (soit 16 au total inclus) afin de palier le risque d'en perdre un durant l'étude. Pour l'ensemble du projet, les analyses statistiques ont été effectuées par des tests appropriés (test non paramétrique de Wilcoxon, ANOVA) à l'aide des logiciels GraphPad® et R.

2.2. Résultats

2.2.1. Tolérance.

Aucune complication (inflammation sévère, infectieuse, ou encore ouverture du lambeau) n'a été remarquée consécutivement aux chirurgies, exceptée une hémorragie post-opératoire au niveau d'un site traité par protéines de la matrice de l'émail qui a pu être maîtrisée simplement par compression manuelle. Cette étude indique donc que l'ingénierie tissulaire parodontale à base d'ASC autologues est bien tolérée et ne présente pas d'effets indésirables à court et moyen termes autres que ceux inhérents à toute chirurgie orale d'invasivité similaire.

2.2.2. La greffe d'ASC associées à un hydrogel de fibrine améliore et maintient la santé parodontale (Tableau 8).

Periodontal outcome	N Subjects/Defects	Hydrogel with ASCs	Hydrogel without ASCs	p ^a	Adjusted mean difference	
					aMD [CI95%] ^b	p ^c
Periodontal pocket depth (PPD)						
Day 0	15/	4.73 ± 0.87	3.19 ± 0.68	0.59	-	-
Day 45	15/	3.19 ± 0.68	4.43 ± 1.41	0.02	-1.03 [-1.75; 0.32]	0.008
Day 120	15/	2.97 ± 0.46	4.89 ± 1.24	<0.001	-1.79 [-2.50; -1.07]	<0.001
Clinical attachment level (CAL)						
Day 0	15/	6.45 ± 1.28	6.64 ± 1.30	0.48	-	-
Day 45	15/	4.87 ± 1.00	5.92 ± 1.33	0.007	-0.92 [-1.71; -0.13]	0.026
Day 120	15/	4.56 ± 1.10	6.34 ± 1.18	<0.001	-1.74 [-2.57; -0.91]	<0.001
Bleeding on Probing (BoP)						
Day 0	15/	1.83 ± 0.75	2.04 ± 0.74	0.46	-	-
Day 45	15/	1.42 ± 0.54	2.29 ± 0.86	0.005	-0.82 [-1.30; -0.33]	0.003
Day 120	15/	1.24 ± 0.42	2.24 ± 0.64	<0.001	-0.93 [-1.42; -0.46]	<0.001
Gingival Index (GI)						
Day 0	15/	2.26 ± 0.73	2.36 ± 0.50	0.55	-	-
Day 45	15/	1.90 ± 0.64	2.43 ± 0.53	0.03	-0.51 [-0.94; -0.08]	0.024
Day 120	15/	1.76 ± 0.64	2.48 ± 0.48	0.005	-0.71 [-1.07; -0.34]	0.001
Mobility						
Day 0	15/	1.11 ± 0.30	1.42 ± 0.75	0.20	-	-
Day 45	15/	1.11 ± 0.20	1.56 ± 0.73	0.11	-0.13 [-0.42; 0.16]	0.36
Day 120	15/	1.08 ± 0.21	1.37 ± 0.58	0.09	-0.03 [-0.18; 0.12]	0.66

Tableau 8 : tableau récapitulatif des effets de l'intervention sur les indices parodontaux au niveau des arcades inférieures

Résultats ± écart type ; a : p-value du test non paramétrique de Wilcoxon concernant la différence entre les sites contrôles (Hydrogel sans ASC) et les sites expérimentaux (Hydrogel avec ASC) ; b : différence moyenne ajustée du résultat entre les deux traitements à J+45 ou J+120 par analyse de covariance, ajustée par sujet et sur la valeur de référence (J0). Si ce chiffre est négatif cela indique que la valeur du paramètre mesuré est plus faible dans le groupe expérimental que contrôle ; c : p-value de la différence moyenne ajustée.

Comparé à l'hydrogel de fibrine seul, la greffe d'ASC avec l'hydrogel de fibrine réduit significativement les paramètres d'inflammation clinique, avec des saignements au sondage diminués (intervalle de confiance à 95% de l'écart moyen : -0.82[-1.3 ; -0.33] et -0.93[-1.42; -0.46] respectivement à J+45 et J+120 comparé à J0) et un indice gingival diminué (-0.51[-0.94 ; -0.08] et -0.71[-1.07 ; -0.34] respectivement à J+45 et J+120 et comparé à J0. Une

diminution significative des profondeurs de poches a aussi été objectivée, de même qu'une amélioration significative de l'attache clinique. Pour ce dernier paramètre, l'intervalle de confiance de l'écart moyen comparé à J0 est de -0.92 [-1.71 ; -0.13] à J+45 et -1.74 [-2.57 ; -0.91] à J+120.

2.2.3. Evolution dans le temps.

On observe une différence dans l'évolution des paramètres cliniques entre le groupe contrôle et expérimental au fil de l'expérience. Les indices gingivaux et de saignement se dégradent ou au mieux se stabilisent au fil de l'expérience dans le groupe contrôle alors que dans le groupe avec ASC, ils tendent à s'améliorer après la greffe dès J+45. Il en va de même pour la profondeur de poche et l'évolution de l'attache clinique qui s'aggravent dans les sites contrôles alors qu'elles s'améliorent significativement dans les sites expérimentaux.

2.2.4. La greffe d'ASC associées à un hydrogel de fibrine a une meilleure efficacité sur l'évolution des indices parodontaux que les traitements chirurgicaux conventionnels (Tableau 9).

Comparé au traitement par protéines de la matrice de l'émail et au débridement chirurgical simple, la greffe d'ASC associées à un hydrogel de fibrine réduit significativement l'indice gingival dès J+45 (1.90 ± 0.58 pour la greffe d'ASC avec hydrogel de fibrine versus 2.44 ± 0.62 pour le traitement par protéines de la matrice de l'émail et 2.17 ± 0.50 pour le débridement chirurgical simple) et le saignement au sondage à J+120 (1.40 ± 0.41 pour la greffe d'ASC associées à l'hydrogel de fibrine contre 1.90 ± 0.73 pour le traitement par protéines de la matrice de l'émail et 1.92 ± 0.49 pour le débridement chirurgical simple). Comparé au traitement par protéines de la matrice de l'émail et au débridement chirurgical simple, la greffe d'ASC associées à un hydrogel de fibrine améliore significativement aussi la profondeur des poches (3.48 ± 1.05 pour la greffe d'hydrogel de fibrine avec ASC versus 4.63 ± 1.22 pour la greffe de protéines de la matrice de l'émail et 4.96 ± 0.78 pour le débridement chirurgical simple) et le niveau d'attache clinique (5.64 ± 1.79 pour la greffe d'ASC associées à un hydrogel de fibrine versus 6.76 ± 1.30 pour la greffe de protéines de la matrice de l'émail et 7.11 ± 1.71 pour le débridement chirurgical simple).

Periodontal outcome	A - Hydrogel with ASCs (N=14)	B - Emdogain® (N=13)	C – OFD (N=13)
Periodontal pocket depth (PPD)			
Day 0	5.47 ± 1.01	5.56 ± 1.25	5.94 ± 2.22
Day 45	3.73 ± 1.04 ^C	4.44 ± 0.62	4.75 ± 1.39 ^A
Day 120	3.48 ± 1.05 ^{B, C}	4.63 ± 1.22 ^A	4.96 ± 0.78 ^A
Clinical attachment level (CAL)			
Day 0	8.19 ± 1.95	7.96 ± 1.56	8.12 ± 2.37
Day 45	6.16 ± 2.01	6.99 ± 1.64	6.90 ± 2.14
Day 120	5.64 ± 1.79 ^C	6.76 ± 1.30	7.11 ± 1.71 ^A
Bleeding on Probing (BoP)			
Day 0	1.88 ± 0.89	2.23 ± 0.60	1.88 ± 0.77
Day 45	1.44 ± 0.58	1.95 ± 0.73	1.69 ± 0.75
Day 120	1.40 ± 0.41 ^{B, C}	1.90 ± 0.73 ^A	1.92 ± 0.49 ^A
Gingival Index (GI)			
Day 0	2.36 ± 0.42	2.24 ± 0.67	2.04 ± 0.69
Day 45	1.90 ± 0.58 ^B	2.44 ± 0.62 ^A	2.17 ± 0.50
Day 120	1.92 ± 0.61	2.33 ± 0.47	2.37 ± 0.46

Tableau 9 : comparaison entre la greffe d'ASC et les thérapeutiques parodontales conventionnelles sur les indices cliniques parodontaux

Résultats ± écart type. Les lettres identiques indiquent une différence statistiquement significative entre les valeurs qui leurs sont associées, ajustées par sujet et la valeur de référence (J0). L'analyse des mobilités n'est pas montrée car jamais significative.

2.2.5. Une variabilité inter-individuelle importante est mise en évidence dans les réponses cliniques suivant la greffe d'ASC associées à un hydrogel de fibrine (Figure 15).

Bien qu'un bénéfice significatif en faveur de la greffe d'ASC dans un hydrogel de fibrine comparée aux sites contrôles soit constaté au niveau des paramètres cliniques, l'analyse du niveau d'attache clinique à J+120 pour chaque sujet révèle une forte variabilité inter-individuelle dans la réponse au traitement. (Figure 12). En effet, certains chiens et en particulier les plus jeunes semblent montrer de meilleures réponses que d'autres, pour l'évolution du niveau d'attache clinique comparée à J0 suite aux traitements mais aussi pour un meilleur bénéfice propre à la greffe d'ASC avec hydrogel de fibrine comparée à la greffe d'hydrogel de fibrine seul. En revanche le sexe ou l'indice de masse corporelle ne semblent pas avoir d'influence sur ces résultats.

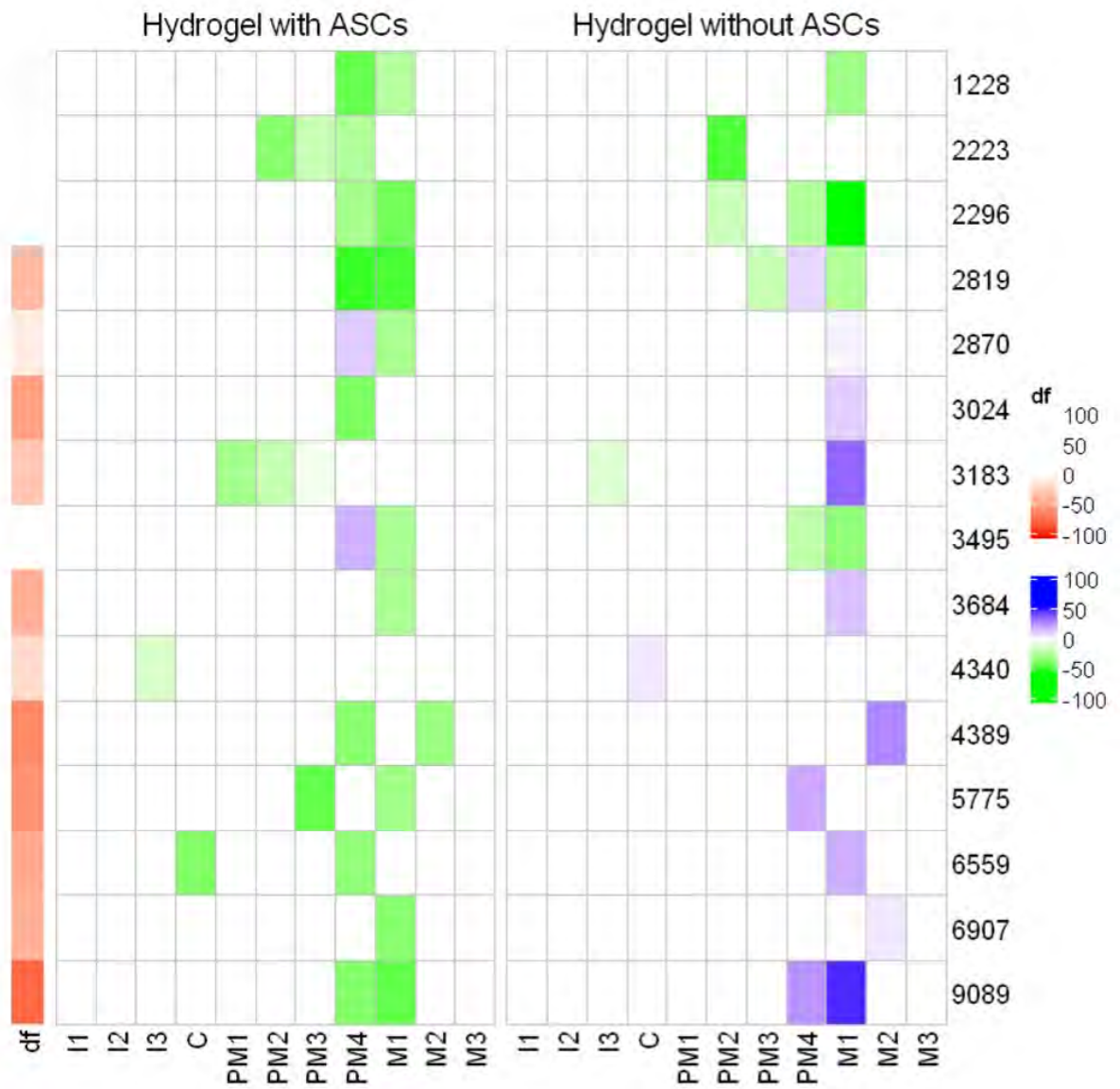


Figure 12 : état du niveau d'attache clinique sur les sites expérimentaux avec et sans ASC à J+120

Le graphique montre pour chaque individu l'évolution de l'attache clinique sur le quadrant avec ASC et le quadrant sans ASC. Les nuances vertes décrivent l'amélioration de l'attache clinique par rapport à J.0 tandis que les nuances violettes décrivent au contraire sa détérioration. Les nuances rouges marquent, à J+120, l'écart de résultats entre les deux traitements pour chaque chien.

Troisième partie :
Discussion et conclusion

3. Discussion

3.1. Mise en perspective des résultats cliniques avec les données histologiques et radiologiques.

Les données histologiques à J+120 viennent éclairer les résultats cliniques. Les poches parodontales résiduelles ont un pronostic plus favorable dans les situations avec ASC (une poche résiduelle sur les cinq présente un pronostic défavorable dans le groupe avec ASC contre quatre sur cinq dans le groupe sans ASC). Les épithélia ont une architecture plus conforme à l'architecture native dans le groupe ASC+. On observe en effet une absence d'attache épithéliale sur un seul site dans le groupe avec ASC contre cinq dans le groupe sans ASC. Un épithélium jonctionnel court a pu être observé sur deux sites groupe ASC + contrairement au groupe ASC- qui se contente d'épithélia jonctionnels longs souvent inadhérents. De même la réparation du parodonte profond dans le groupe ASC - engendre souvent des processus d'ankyloses (quatre sites) ou de fibroses (deux sites) alors que dans le groupe ASC + le parodonte profond apparaît stable ou régénéré au niveau de six sites, un seul site est fibrosé, aucun ne présente d'ankylose. Ces résultats confirment donc ce que les données cliniques suggèrent, c'est à dire que les ASC offrent un bénéfice dans la stabilisation de la maladie parodontale avec une absence de poches profondes au pronostic défavorable et la néo-formation fréquente d'une attache épithélio-conjonctive. Par ailleurs, les sites greffés avec ASC ont une structure plus proche de celle du parodonte sain (cément plus régulier, épithélium jonctionnel souvent court...) pouvant présager d'un résultat durable alors que la cicatrisation des sites sans ASC implique souvent des anomalies de type fibroses ou ankyloses, défavorables au pronostic à long terme. En plus de la meilleure stabilisation du parodonte, on peut supposer que les ASC induisent une régénération des tissus parodontaux alors que les sites sans ASC offrent au mieux une cicatrisation de ces tissus. A l'avenir, il restera à déterminer dans quelle mesure cette régénération peut être reproductible.

L'analyse qualitative par imagerie à rayon X a montré une néoformation osseuse sur une proportion plus importante des sites expérimentaux (ASC+) comparé aux sites contrôles (ASC-). L'analyse quantitative en revanche n'a pas permis de mettre en évidence une différence significative entre les sites expérimentaux et contrôles concernant la formation osseuse à J+120 bien qu'il semble y avoir une tendance à une plus forte densité osseuse mesurée sur les sites expérimentaux (67).

3.2. Anatomie lésionnelle

L'étude s'appuyant sur un modèle de parodontite spontanée, une diversité très importante a pu être observée concernant les lésions tant du point de vue de leur anatomie que de leur sévérité. L'analyse s'est faite indépendamment de cette variabilité. Une évaluation plus affinée tenant compte de ces paramètres pourrait s'avérer intéressante dans le but de définir d'éventuelles indications chirurgicales. Les études antérieures (52), se basant la plupart du temps sur des lésions mécaniquement induites, peu pertinentes en termes de physiopathologie mais permettant de dimensionner de façon reproductible les lésions, ont permis de mettre en évidence quelques tendances avec un bénéfice mesurable à l'utilisation des cellules souches mésenchymateuses pour le traitement des lésions angulaires, de furcations de classe 1 ou 2 ou présentant au moins 2-3 parois mais pas d'efficacité notable dans le traitement des lésions supra osseuses et de classe 3 pour lesquelles l'espoir de régénération demeure très mince quelle que soit la technique utilisée.

3.3. Evolution dans le temps.

Les indices parodontaux s'améliorent dans le groupe expérimental après la chirurgie alors qu'ils tendent à se dégrader dans le groupe avec l'hydrogel seul. On observe une amélioration de plusieurs paramètres cliniques entre J+45 et J+120 dans le groupe expérimental : profondeurs de poches, attache clinique, indice gingival et saignement au sondage. Ces mêmes paramètres se dégradent ou au mieux se stabilisent dans le groupe contrôle. Cela tend à prouver un bénéfice durable dans le temps conséquent à l'intervention des ASC. Ce temps nécessaire à l'effet des cellules souches mésenchymateuses se confirme dans la littérature où le bénéfice maximal à leur emploi est souvent observé plusieurs mois après la greffe comme par exemple dans l'étude de Tobita et coll. (49) qui a montré une meilleure régénération histologique sur les coupes effectuées deux mois après la greffe comparé à celles effectuées un mois après. Dans les études de Nunez (68) et coll. et Azuki et coll. (69) la régénération a également été montrée respectivement deux mois et trois mois après la greffe.

3.4. Aspects liés au vecteur cellulaire.

Les vecteurs cellulaires offrant les meilleurs résultats, associés aux cellules souches mésenchymateuses en termes de régénération parodontale semblent être ceux d'origines naturelles et en particulier les dérivés plaquettaires qui constituent un réseau facilitant

l'adhésion et le déploiement des cellules souches et contiennent des facteurs de croissances naturels (52). Cela se vérifie dans cette étude avec une efficacité significativement supérieure par rapport aux traitements conventionnels sur plusieurs paramètres cliniques, en particulier les profondeurs de poches et les saignements au sondage. Beaucoup d'études parmi celles qui ont obtenu les meilleurs résultats utilisent ce type de supports notamment celle Tobita et coll. (49) qui utilisait un Plasma Riche en Plaquette comme vecteur, celle de Masao Ozasa et coll. (70) qui utilisait aussi un gel de fibrine et celle de Azuki et coll. (69) qui ont utilisé de l'acide hyaluronique. Cependant si ces supports liquides ou gélifiés semblent les plus pertinents pour des lésions anatomiquement rétentives, les substituts osseux, associés ou non à ces hydrogels pourraient être un support plus approprié pour les lésions peu rétentives avec un nombre insuffisant de parois osseuses car ils facilitent le maintien du caillot sanguin et des cellules sur le site chirurgical dans le temps. Citons parmi les expériences ayant utilisé ce type de substituts : Nunez et coll. (71) dont résultats ne sont pas significatifs mais il faut noter que cela pourrait tenir plus de l'anatomie lésionnelle moins favorable à la régénération dans cette étude qu'au biomatériau vecteur choisi (en l'occurrence des minéraux xénogéniques déprotéinés) et Khorsand et coll. (72) avec un bénéfice significatif à l'emploi des cellules souches mésenchymateuses associées au substitut (minéraux xénogéniques déprotéinés) comparé au vecteur seul.

3.5. Reproductibilité des résultats : la variation interindividuelle.

Si les ASC améliorent significativement les paramètres cliniques sur la globalité des chiens étudiés, ce résultat ne doit pas masquer une grande disparité inter-individuelle de réponses aux traitements, notamment au niveau de la récupération d'attache clinique à J+120. Ce problème de reproductibilité est déjà connu avec les thérapies régénératives conventionnelles. Les chiens plus jeunes semblent avoir une meilleure réponse au traitement tant en termes de gain d'attache par rapport à J0 mais aussi avec un bénéfice plus marqué par l'emploi des ASC comparé à l'hydrogel seul à J+120. Cela pourrait s'expliquer par une réserve des capacités cellulaires diminuée avec l'âge mais aussi peut-être par une sévérité de la maladie moins importante chez ces jeunes chiens avec des anatomies lésionnelles plus favorables. Une analyse affinée tenant compte de la typologie lésionnelle pourrait contribuer à éclaircir ces résultats et définir des indications anatomiques pour ce traitement. Une éventuelle corrélation des résultats avec les indices de plaque et de saignement pourrait aussi être à rechercher, la compliance des chiens face au contrôle de plaque étant très inégale et pouvant expliquer au moins partiellement la dispersion des résultats. Le sexe et l'indice de masse corporelle, en revanche ne semblent pas avoir d'influence sur la réponse au traitement.

3.6. Mise en perspective avec les études antérieures

Sur les modèles pré-cliniques, et en particulier canins, les paramètres histologiques et histomorphométriques les plus souvent significativement améliorés sont l'apposition cémentaire, la régénération osseuse par sa densité et/ou son volume et la régénération du ligament desmodontal (ce dernier paramètre étant étudié dans un nombre plus faible d'étude) (52). Citons, parmi quelques résultats d'études utilisant des ASC, Tobita et coll. (49) qui ont montré une régénération conforme à l'architecture physiologique du parodonte par l'association d'ASC autologues à du plasma riche en plaquette. Ils ont montré que la régénération était supérieure deux mois après la chirurgie qu'à un mois. Nos résultats vont également dans ce sens-là étant plus significatifs sur plusieurs paramètres à J+120 qu'à J+45. Masao Ozasa et coll. (70) ont comparé sur des chiens âgés d'environ quatre ans la greffe d'ASC associées à un gel de fibrine à la mise en place du gel de fibrine seul dans le traitement de lésions parodontales mécaniquement induites au niveau des secteurs postérieurs (furcation des molaires et prémolaires). Ils ont montré dans le groupe expérimental une apposition de ciment et une formation osseuse significativement meilleure par analyse histologique six semaines après la chirurgie ainsi qu'une insertion verticale des fibres tissulaires dans l'os et le ciment. Ils évoquent également comme dans les résultats histologiques précités de notre étude l'absence d'effets indésirables tels que la résorption radiculaire ou l'ankylose dans le groupe ASC+. Notons que dans ces deux études les biomatériaux supports sont relativement semblables à ceux utilisés dans ASC PARO et confirment la pertinence de ce choix. Comme dans l'étude de Lemaitre et coll. sur le modèle murin, on observe sur le volet canin d'ASC PARO une régénération tissulaire favorisée par la greffe d'ASC, en particulier au niveau des fibres conjonctives, de la néoformation d'attache et du ciment (51).

D'autres modèles proches de l'humain ont également été employés pour étudier l'ingénierie cellulaire parodontale et en particulier le modèle porcin. Parmi les études les plus notables, il est possible de citer Lang et coll. (73) qui se sont également intéressés aux paramètres cliniques, ici sur une parodontite induite par ligatures. Ils ont notamment montré une différence significative concernant la réduction des profondeurs de poches avec l'emploi de cellules souches mésenchymateuses d'origine osseuse par rapport aux sites sans cellules. Comme dans notre expérience, la réduction de la profondeur de poche fut particulièrement importante en fin d'étude avec un retour à une profondeur de poches proche de la physiologie.

Les auteurs ont également remarqué de meilleurs résultats histologiques sur les groupes avec cellules souches en termes de néoformation osseuse. Toujours chez le porc, Ding et coll. (74) ont remarqué un bénéfice clinique, à trois mois, très significatif sur la réduction des poches mais aussi sur l'amélioration de l'attache clinique grâce à l'utilisation de cellules souches mésenchymateuses du ligament parodontal (assemblées en feuillets, associées à de l'hydroxyapatite et des phosphates tricalciques, le tout maintenu par une membrane de gélatine) comparé aux sites sans cellules souches dans le traitement d'une parodontite provoquée. Ils ont également comparé l'utilisation de cellules souches autogènes et allogènes sur des sites différents et n'ont pas trouvé de réponses significativement différentes entre ces deux groupes. Enfin Venkataiah et coll. (75) ont essayé comme dans ASC PARO, des ASC associées à un hydrogel de fibrine en guise de biomatériau vecteur. Comme dans l'expérience de Ding et coll, ils ont distingué des sites avec ASC autogéniques ou allogéniques. L'analyse radiographique par Micro-C.T. a démontré une néoformation osseuse significativement supérieure sur les sites avec ASC comparés aux sites contrôles, sans différence significative par contre entre les sites greffés avec de ASC autogènes comparé à ceux avec ASC allogènes. Ces résultats radiologiques sont confirmés par leur analyse histologique qui a montré un remplacement des tissus conjonctifs du parodonte profond par de l'épithélium sur les sites contrôles mais une néoformation cémentaire et osseuse sur les sites ASC+. Ces deux tissus se retrouvant reliés par un ligament parodontal avec des fibres de Sharpey efficaces.

Ces nombreux résultats obtenus dans les essais précliniques ont permis d'ores et déjà la transition de ces traitements vers des essais cliniques, publiés sans résultats probants pour quelques-uns (par manque de groupe contrôle ou par absence de résultats significatifs), mais pour nombre d'entre eux encore en cours (76–78) voire en projet. De nouveaux résultats devraient être ainsi publiés très prochainement, s'appuyant comme cette étude sur des paramètres cliniques et radiologiques.

Les essais cliniques, chez l'Homme publiés, même ceux constitués de quelques cas et sans bras de contrôle, contribuent à prouver, comme dans notre étude, la sécurité de l'utilisation des cellules souches mésenchymateuses autologues en ingénierie tissulaire parodontale par l'absence d'effets indésirables spécifiques à l'utilisation de ces cellules (79–81).

On peut par ailleurs citer l'essai clinique de Sanchez et coll. (82), déjà publié, qui n'a pas montré de bénéfice significatif à l'adjonction de cellules souches autogènes du ligament à une greffe de minéraux xénogéniques (malgré un gain d'attache moyen et une réduction de

poche plus importante dans le groupe expérimental). Il faut cependant souligner l'aspect innovant ainsi que les qualités méthodologiques de cet essai : contrôlé et randomisé. Ils ont montré l'innocuité de l'utilisation des cellules souches mésenchymateuses sur les participants à l'étude qui n'ont pas développé d'effet indésirable majeur, de même pour celui de Chen et coll. (83) qui ont utilisé également des cellules souches issues du ligament et un substitut osseux en guise de matériaux support. Ces absences de résultats sur l'efficacité pourraient peut-être s'expliquer par le vecteur cellulaire choisi. Il est possible en effet que les substituts osseux soient des matériaux moins adaptés à la survie, au déploiement ou à l'action biologique des cellules mésenchymateuses que les hydrogels plaquettaires ou fibrineux.

L'essai publié le plus concluant est celui de Nunez et coll. (84). Il s'agit d'un essai clinique contrôlé et randomisé mené sur 22 participants adultes (55 à 64 ans) sains ou avec des pathologies chroniques contrôlées. Après assainissement initial et traitement non chirurgical : 11 des participants (groupe contrôle) ont bénéficié d'un traitement chirurgical des lésions résiduelles avec mise en place d'une membrane collagénique (biomatériaux vecteur), les 11 autres (groupe expérimental) ont bénéficié de la même intervention mais avec des cellules souches mésenchymateuses issues de la pulpe dentaire, allogéniques, associées au vecteur (cellules prélevées sur des enfants et cultivées). Aucun effet indésirable n'a été relevé pendant la convalescence sinon de faibles douleurs contrôlées par des antalgiques. A 6 mois après la chirurgie, les profondeurs de poches sont significativement réduites dans le groupe expérimental (par rapport au groupe contrôle), atteignant un niveau moyen proche du sulcus physiologique (2.34 ± 0.29 contre 3.78 ± 0.53). Comme dans les résultats d'ASC PARO, on observe donc un bénéfice à l'emploi des cellules avec une profondeur de poche moyenne en fin de traitement proche des valeurs physiologiques. La densité osseuse progresse également plus dans le groupe expérimental mais pas de manière significative. La mobilité dentaire est également plus améliorée dans le groupe avec cellules. Les auteurs se sont aussi intéressés à des paramètres biologiques en analysant des échantillons de salive. Ils ont montré notamment à 6 mois une activité significativement supérieure de superoxyde dismutase (antioxydant enzymatique) dans le groupe expérimental.

3.7. Translation vers l'humain ?

Les différences concernant les parodontes humains et canins peuvent être à l'origine de variations entre les résultats attendus sur l'humains et ceux obtenus sur le chien, en particulier au niveau des atteintes furcatoires, bien plus cervicales chez le chien. Par ailleurs, certains facteurs de risques comportementaux pouvant être présents chez l'humain et pouvant gravement nuire à la guérison parodontale tels que la consommation de tabac ou de drogues diverses ne sont bien sûr pas observables sur le chien. Aussi, ces facteurs de risque pourraient être inscrits comme contre-indication, au moins relative à la thérapie cellulaire parodontale compte tenu des effets notamment cytotoxiques de ces substances.

A contrario, le contrôle de plaque est en règle générale bien meilleur chez l'humain que celui qui a pu être réalisé dans cette étude, organisé de façon tri-hebdomadaire (au lieu du brossage bi voire tri-quotidien recommandé chez l'humain), sans nettoyage interdentaire et dépendant de la compliance forcément limitée de chaque animal. Cela s'est d'ailleurs confirmé par une ré augmentation progressive de l'index gingival et de saignement entre J0 et J120. Or, on sait que le contrôle de plaque est un facteur important et nécessaire au bénéfice des traitements chirurgicaux parodontaux actuels et par conséquent il est rationnel d'envisager qu'un traitement par un protocole similaire chez l'humain serait potentialisé par une hygiène plus qualitative.

Des difficultés sont cependant à prévoir en cas de validation de ces concepts par les essais cliniques, en vue de la généralisation de ces traitements en parodontie humaine, surtout en cabinet. La culture de cellules souches autologues en particulier semble difficilement réalisable à large échelle pour le moment. En effet, la culture cellulaire nécessite des conditions et un environnement physico-chimique très contrôlé requérant un équipement assez important afin de multiplier et trier les cellules. De plus ces étapes peuvent être chronophages et nécessitent des compétences en biologie cellulaire que peu de praticiens possèdent. L'utilisation des cellules allogéniques pourrait paraître plus facile techniquement mais des questions supplémentaires sur la tolérance et le risque de rejet immunitaire se poseraient alors. Par ailleurs, les cellules souches et leur support constituant un produit labile, il faudrait également trouver des solutions particulières pour leur conservation et leur conditionnement. De plus, compte tenu des moyens nécessaires à la mise en œuvre de ce traitement un coût important serait probablement à prévoir qui pourrait freiner l'accès à cette thérapeutique pour de nombreux patients et amener à s'interroger sur son rapport coût/efficacité.

3.8. Limites de l'étude

- Reproductibilité des mesures

Les paramètres cliniques sont probablement parmi les plus opérateurs dépendants et par conséquent soumis à une certaine subjectivité malgré leur codification en indices décrits ci-dessus. Cela est particulièrement vrai pour les indices de plaque, d'inflammation gingivale voire de mobilité dont les scores relèvent plus d'appréciations de l'opérateur que de mesures instrumentales. Les mesures liées au sondage (85) (profondeur de poche et perte d'attache) représentent une valeur instrumentale mais des études ont montré qu'elles comportaient aussi de nombreux biais, principalement liés à de légères variations des points de pénétrations et d'axes de la sonde entre les mesures ou encore à la pression exercée par l'opérateur (qui pour ce dernier aurait pu être limité par l'utilisation de sondes à pression constante). Ces biais de subjectivité sont d'autant plus importants que ces mesures et indices ont pu être relevés par deux investigateurs différents sur un même animal.

-Schéma thérapeutique.

Notons que le protocole parodontal a été légèrement tronqué pour les besoins de l'étude et les indications chirurgicales par conséquent élargies. En effet, les protocoles parodontaux cliniques actuels (hors cas particuliers) ne prévoient les thérapeutiques chirurgicales qu'ultérieurement et en cas d'échec ou d'insuffisance de résultat des thérapeutiques non chirurgicales (débridement radiculaire non chirurgical). Il est donc difficile de présager, au vu de cette étude, des résultats et des bénéfices par rapport aux autres protocoles conventionnels de la thérapie cellulaire par ASC dans un schéma thérapeutique classique.

- Dents extraites

Les dents extraites ou perdues (à l'inclusion mais aussi au cours du traitement) ont été exclues de l'analyse statistique alors que celles-ci sont susceptibles de traduire une aggravation de la maladie qui n'est par conséquent pas prise en compte. A l'inverse la suppression de ces foyers infectieux pourrait au moins partiellement contribuer à la stabilisation voire à la guérison de lésions à proximité, indépendamment des traitements appliqués.

4. Conclusion

La thérapie cellulaire est aujourd'hui en pleine essor. Trois cent cinquante essais cliniques utilisant des cellules mésenchymateuses seraient en cours dans le monde selon l'Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (39). Par leurs propriétés, ces cellules sont apparues tout à fait pertinentes dans le traitement de maladies inflammatoires chroniques telles que la parodontite. De nombreuses études avaient déjà prouvé des bénéfices à leur utilisation sur des modèles relativement éloignés de la parodontite humaine (42,51,52).

Comparé à ces études et plus généralement aux études précliniques sur l'ingénierie tissulaire parodontale, le volet canin d'ASC PARO s'avère pertinent, intéressant et original sur de nombreux aspects :

- Tout d'abord en termes de protocole :
 - Par son modèle de parodontite, unique dans toute la littérature sur l'ingénierie tissulaire parodontale : spontanée canine qui se rapproche le plus de la physiopathologie complexe des parodontites rencontrées en clinique humaine.
 - Par un *design* qui se rapproche des protocoles de parodontie humaine : assainissement initial à distance de la chirurgie, maintien d'une hygiène orale pluri-hebdomadaire sur l'ensemble de l'étude.
 - Par des exigences réglementaires se rapprochant de celles utilisées dans les essais cliniques offrant les plus hauts niveaux de preuve : le contrôle, la randomisation et le double aveugle.
 - Par la diversité des paramètres étudiés : cliniques et radiologiques se rapprochant de ceux utilisés dans les essais cliniques, biologiques et histologiques afin d'offrir une vision la plus globale des atteintes parodontales et de leur évolution au fil du traitement.
 - Par sa durée de 4 mois de suivi post thérapeutique.
 - Par ses considérations éthiques : chiens euthanasiés à des âges proches de leur longévité et pas de lésions artificiellement créées pour les besoins de l'étude.
- Surtout, en termes de résultats, significatifs sur les sites avec les ASC sur de nombreux paramètres comparés tant au biomatériau support seul qu'à des traitements chirurgicaux conventionnels : amélioration de l'attache clinique, amélioration particulièrement marquée de la profondeur de poche, amélioration de l'indice gingival et des saignements au sondage, régénération histologique des tissus.

Table des illustrations

Table des figures :

Figure 1 : Vue clinique et statut radiologique d'un patient atteint de parodontite	16
Figure 2 : poche parodontale d'une incisive supérieure après abord chirurgical	21
Figure 3 : hydrogel de fibrine (porteur cellulaire) manipulé ici à la précelle.....	24
Figure 4 :	25
Coupes histologiques et images radiographiques de lésions du tissu parodontal dans les groupes ASC/PRP (G et J), PRP seul (H et K) et non-implantés (I et L) 2 mois après l'implantation	25
Figure 5 : Coupes de chien observées au MO (coloration azan) 6 semaines après la transplantation.....	26
Figure 6: les ASC améliorent l'organisation des fibres desmodontales.	26
Figure 7 : Denture canine en vue latérale	29
Figure 8 : sondage parodontal à la sonde graduée chez l'humain (A) et chez le chien (B). ..	32
Figure 9 : Axe chronologique du volet canin du protocole ASC Paro	37
Figure 10 : prélèvement de biofilm et de fluide sulculaire à la pointe papier	39
Figure 11 : procédures et suivi.....	43
Figure 12 : état du niveau d'attache clinique sur les sites expérimentaux avec et sans ASC à J+120	

Table des tableaux :

Tableau 1 : Tableau récapitulatif de la classification des pathologies parodontales par la fédération européenne de parodontologie (33).....	19
Tableau 2 : Nomenclature canine	28
Tableau 3 : description de la population d'étude (chiens expérimentaux) : numéro du chien, année de naissance, sexe et indice de masse corporelle (IMC)	36
Tableau 4 : score IMC pour les Beagles	36
Tableau 5 : Protocole anesthésique pour les séances peu invasives (J-45, J+45 et J+120). ..	40
Tableau 6 : Protocole anesthésique pour les séances chirurgicales (J-10 et J0)	40
Tableau 7 : récapitulatif du protocole	44
Tableau 8 : tableau récapitulatif des effets de l'intervention sur les indices parodontaux au niveau des arcades inférieures	46
Tableau 9 : comparaison entre la greffe d'ASC et les thérapeutiques parodontales conventionnelles sur les indices cliniques parodontaux	48

Bibliographie

1. Lorimier S, Kemoun P. Histophysiologie du parodonte. In: *Encyclopédie Médico-Chirurgicale.* ; 2012.
2. Philippe B. *Parodontologie & dentisterie implantaire : Volume 1 : médecine parodontale (Coll. Dentaire)*. Lavoisier; 2014.
3. Pihlstrom BL, Michalowicz BS, Johnson NW. Periodontal diseases. *The Lancet*. 2005;366(9499):1809-1820. doi:10.1016/S0140-6736(05)67728-8
4. Albandar J m., Brunelle J a., Kingman A. Destructive Periodontal Disease in Adults 30 Years of Age and Older in the United States, 1988-1994. *J Periodontol*. 1999;70(1):13-29. doi:10.1902/jop.1999.70.1.13
5. Hajishengallis G, Chavakis T, Lambris JD. Current understanding of periodontal disease pathogenesis and targets for host-modulation therapy. *Periodontol 2000*. 2020;84(1):14-34. doi:10.1111/prd.12331
6. Bartold PM, Van Dyke TE. Periodontitis: a host-mediated disruption of microbial homeostasis. Unlearning learned concepts. *Periodontol 2000*. 2013;62(1):10.1111/j.1600-0757.2012.00450.x. doi:10.1111/j.1600-0757.2012.00450.x
7. Hajishengallis G, Lamont RJ. Polymicrobial communities in periodontal disease: Their quasi-organismal nature and dialogue with the host. *Periodontol 2000*. 2021;86(1):210-230. doi:10.1111/prd.12371
8. Lamont RJ, Koo H, Hajishengallis G. The oral microbiota: dynamic communities and host interactions. *Nat Rev Microbiol*. 2018;16(12):745-759. doi:10.1038/s41579-018-0089-x
9. Hajishengallis G, Chavakis T, Hajishengallis E, Lambris JD. Neutrophil homeostasis and inflammation: novel paradigms from studying periodontitis. *J Leukoc Biol*. 2015;98(4):539-548. doi:10.1189/jlb.3VMR1014-468R
10. Van Dyke TE, Bartold PM, Reynolds EC. The Nexus Between Periodontal Inflammation and Dysbiosis. *Front Immunol*. 2020;11. Accessed April 9, 2022. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fimmu.2020.00511>
11. Teles R, Teles F, Frias-Lopez J, Paster B, Haffajee A. Lessons learned and unlearned in periodontal microbiology. *Periodontol 2000*. 2013;62(1):95-162. doi:10.1111/prd.12010
12. Dahlen G, Fejerskov O, Manji F. Current concepts and an alternative perspective on periodontal disease. *BMC Oral Health*. 2020;20(1):235. doi:10.1186/s12903-020-01221-4
13. Rylev M, Kilian M. Prevalence and distribution of principal periodontal pathogens worldwide. *J Clin Periodontol*. 2008;35(s8):346-361. doi:10.1111/j.1600-051X.2008.01280.x
14. Ji S, Choi YS, Choi Y. Bacterial invasion and persistence: critical events in the pathogenesis of periodontitis? *J Periodontal Res*. 2015;50(5):570-585. doi:10.1111/jre.12248
15. Albandar JM. Global risk factors and risk indicators for periodontal diseases. *Periodontol 2000*. 2002;29(1):177-206. doi:10.1034/j.1600-0757.2002.290109.x
16. Genco RJ, Borgnakke WS. Risk factors for periodontal disease. *Periodontol 2000*. 2013;62(1):59-94. doi:10.1111/j.1600-0757.2012.00457.x
17. Blasco-Baque V, Serino M, Vergnes JN, et al. High-Fat Diet Induces Periodontitis in Mice through Lipopolysaccharides (LPS) Receptor Signaling: Protective Action of Estrogens. *PLOS ONE*. 2012;7(11):e48220. doi:10.1371/journal.pone.0048220
18. Oral Microbiome Signatures in Diabetes Mellitus and Periodontal Disease - T.E. Matsha, Y. Prince, S. Davids, U. Chikte, R.T. Erasmus, A.P. Kengne, G.M. Davison, 2020. Accessed April 9, 2022. <https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/0022034520913818>
19. Yu H, Yang J, Zhou X, Xiao Q, Lü Y, Xia L. High glucose induces dysfunction of

- airway epithelial barrier through down-regulation of connexin 43. *Exp Cell Res.* 2016;342(1):11-19. doi:10.1016/j.yexcr.2016.02.012
20. Taylor G, Borgnakke W, Graves D. Association between periodontal diseases and diabetes mellitus. *Periodontal Dis Overall Health Clin Guide*. Published online January 1, 2010:83-104.
21. Heasman PA, Hughes FJ. Drugs, medications and periodontal disease. *Br Dent J.* 2014;217(8):411-419. doi:10.1038/sj.bdj.2014.905
22. Schwartz DJ, Langdon AE, Dantas G. Understanding the impact of antibiotic perturbation on the human microbiome. *Genome Med.* 2020;12(1):82. doi:10.1186/s13073-020-00782-x
23. Keeney K, Yurist-Doutsch S, Arrieta MC, Finlay B. Effect of Antibiotics on Human Microbiota and Subsequent Disease. *Annu Rev Microbiol.* 2014;12. doi:10.1146/annurev-micro-091313-103456
24. Ubeda C, Pamer EG. Antibiotics, microbiota, and immune defense. *Trends Immunol.* 2012;33(9):459-466. doi:10.1016/j.it.2012.05.003
25. Ji S, Choi Y. Microbial and Host Factors That Affect Bacterial Invasion of the Gingiva. *J Dent Res.* 2020;99(9):1013-1020. doi:10.1177/0022034520922134
26. Jentsch HFR, März D, Krüger M. The effects of stress hormones on growth of selected periodontitis related bacteria. *Anaerobe.* 2013;24:49-54. doi:10.1016/j.anaerobe.2013.09.001
27. Sabbah W, Gomaa N, Gireesh A. Stress, allostatic load, and periodontal diseases. *Periodontol 2000.* 2018;78(1):154-161. doi:10.1111/prd.12238
28. Frencken JE, Sharma P, Stenhouse L, Green D, Laverty D, Dietrich T. Global epidemiology of dental caries and severe periodontitis – a comprehensive review. *J Clin Periodontol.* 2017;44(S18):S94-S105. doi:10.1111/jcpe.12677
29. Tonetti MS, Bottenberg P, Conrads G, et al. Dental caries and periodontal diseases in the ageing population: call to action to protect and enhance oral health and well-being as an essential component of healthy ageing – Consensus report of group 4 of the joint EFP/ORCA workshop on the boundaries between caries and periodontal diseases. *J Clin Periodontol.* 2017;44(S18):S135-S144. doi:10.1111/jcpe.12681
30. Cecchin-Albertoni C, Marty M, Guissard C, Chaumont C, Monsarrat P, Kémoun P. L'hôte et son microbiote parodontal : pour le meilleur et pour le pire.... L'Information Dentaire. Accessed February 3, 2022. <https://www.information-dentaire.fr/formations/lhte-et-son-microbiote-parodontal-pour-le-meilleur-et-pour-le-pire/>
31. Pihlstrom BL. Measurement of Attachment Level in Clinical Trials: Probing Methods. *J Periodontol.* 1992;63(12S):1072-1077. doi:10.1902/jop.1992.63.12s.1072
32. Mumghamba EGS, Pitiphat W, Matee MIN, Simon E, Merchant AT. The usefulness of using Ramfjord teeth in predicting periodontal status of a Tanzanian adult population. *J Clin Periodontol.* 2004;31(1):16-18. doi:10.1111/j.0303-6979.2004.00430.x
33. PlaquetteGSK_NvllleCalssificationMalParo.pdf. Accessed February 3, 2022. https://www.sfpio.com/images/Articles/PlaquetteGSK_NvllleCalssificationMalParo.pdf
34. Cobb CM. Clinical significance of non-surgical periodontal therapy: an evidence-based perspective of scaling and root planing. *J Clin Periodontol.* 2002;29(s2):22-32. doi:10.1034/j.1600-051X.29.s2.4.x
35. Hanes PJ, Purvis JP. Local Anti-Infective Therapy: Pharmacological Agents. A Systematic Review. *Ann Periodontol.* 2003;8(1):79-98. doi:10.1902/annals.2003.8.1.79
36. Actualité - Prescription des antibiotiques en odontologie et stomatologie - ANSM. Accessed February 3, 2022. <https://ansm.sante.fr/actualites/prescription-des-antibiotiques-en-odontologie-et-stomatologie>
37. Launay J, Barthet P, Université Toulouse 3 Paul Sabatier (1969- ...), Université Paul Sabatier (Toulouse), Faculté de chirurgie dentaire. *Les critères décisionnels de la chirurgie paradontale d'assainissement et reconstructrice dans le traitement des paradontites.*

[éditeur inconnu]; 2016.

38. Aichelmann-Reidy ME, Reynolds MA. Predictability of Clinical Outcomes Following Regenerative Therapy in Intrabony Defects. *J Periodontol.* 2008;79(3):387-393. doi:10.1902/jop.2008.060521
39. Thérapie cellulaire · Inserm, La science pour la santé. Inserm. Accessed February 3, 2022. <https://www.inserm.fr/dossier/therapie-cellulaire/>
40. Puissant B, Barreau C, Bourin P, et al. Immunomodulatory effect of human adipose tissue-derived adult stem cells: comparison with bone marrow mesenchymal stem cells. *Br J Haematol.* 2005;129(1):118-129. doi:10.1111/j.1365-2141.2005.05409.x
41. Merfeld-Clauss S, Lupov IP, Lu H, March KL, Traktuev DO. Adipose Stromal Cell Contact with Endothelial Cells Results in Loss of Complementary Vasculogenic Activity Mediated by Induction of Activin A. *STEM CELLS.* 2015;33(10):3039-3051. doi:10.1002/stem.2074
42. Monsarrat P. *Cellules Souches, Médecine Régénérative et Régénération Parodontale.* These de doctorat. Toulouse 3; 2016. Accessed February 3, 2022. <https://www.theses.fr/2016TOU30031>
43. Bajaj P, Pradeep AR, Agarwal E, et al. Comparative evaluation of autologous platelet-rich fibrin and platelet-rich plasma in the treatment of mandibular degree II furcation defects: a randomized controlled clinical trial. *J Periodontal Res.* 2013;48(5):573-581. doi:10.1111/jre.12040
44. Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part IV: Clinical effects on tissue healing. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology.* 2006;101(3):e56-e60. doi:10.1016/j.tripleo.2005.07.011
45. Yun S, Ku SK, Kwon YS. Adipose-derived mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma synergistically ameliorate the surgical-induced osteoarthritis in Beagle dogs. *J Orthop Surg.* 2016;11(1):9. doi:10.1186/s13018-016-0342-9
46. Canceill T. Développement d'un biomatériau naturel, bioactif, dérivé du sang pour la régénération tissulaire. :231.
47. Somerman M. Growth Factors and Periodontal Engineering: Where Next? *J Dent Res.* 2011;90(1):7-8. doi:10.1177/0022034510383144
48. Tobita M, Uysal AC, Ogawa R, Hyakusoku H, Mizuno H. Periodontal Tissue Regeneration with Adipose-Derived Stem Cells. *Tissue Eng Part A.* 2008;14(6):945-953. doi:10.1089/ten.tea.2007.0048
49. Tobita M, Uysal CA, Guo X, Hyakusoku H, Mizuno H. Periodontal tissue regeneration by combined implantation of adipose tissue-derived stem cells and platelet-rich plasma in a canine model. *Cytotherapy.* 2013;15(12):1517-1526. doi:10.1016/j.jcyt.2013.05.007
50. Takedachi M, Sawada K, Yamamoto S, et al. Periodontal tissue regeneration by transplantation of adipose tissue-derived stem cells. *J Oral Biosci.* 2013;55(3):137-142. doi:10.1016/j.job.2013.04.004
51. Lemaitre et al. - 2017 - Periodontal Tissue Regeneration Using Syngeneic Ad.pdf. Accessed February 3, 2022. https://watermark.silverchair.com/stcltm_6_2_656.pdf?token=AQECAHi208BE49Ooan9k khW_Ercy7Dm3ZL_9Cf3qfKAc485ysgAAAs4wggLKBgkqhkiG9w0BBwagggK7MIICtw IBADCCArAGCSqGSIb3DQEHATAeBgIghkgBZQMEAS4wEQQMwMAc4nj94j6xzDoq AgEQgIICgXwPzH4ak8w55kVYRDIt6u4FSLSat9bTPdDaltlaMBzm78tZ9kBWSm2pFG mScBsJx4rInMfspENDpjXPTJfKFez35qAU94X1aaw87aEE-u3m8_SsqFxmPwFADpJ8U96dD2WAvPTgGqSSPeNjXNjtepc-IFVX77UthKK4OPJ2CAf8lotDuSDZXU3ErJQmDPqP0Zuht5sYquo0G3X7pvBfea0Kpu HfflwlmdBRp1_tkvoKEjssbv8TCZWTyupIsooLanOX3qLLZK9HM_iMYTwdRjKmUUe 93oa3xjv2tHSY7za9iHCsyPXxqCMYRgKYeqEqyF3d6y5oGtVD7lu8FPJT0VYsIT7VP

- WWiayMaeLqycAOxIYolsX21fMy8qPZctHfpyPZ9OzjNu6ZWgIkO5bdwpFiehXrhPY_g
1Flw0BND6x3hFYlw6EMiaYbkC8Ki8wArIbFjbThT35dV5HcYe8Nf-5trmyKKZ27Cy-
TGAJweM-
4Csd6LFjzBYtWjwsm7_o8okmjpGYDUBVN5M0eNBd5DpflXdyT0_daJynfYTEMBIvr
TZDZ7saGebgM8zqwIFZ4nFRv_pscwVmJdGyIhtoDE3lpN7Oe7EU4zyhOw7bxNtYOcc
zcbfwNi0dFXXDAmJZnN32y8znm096r1VWxjsiMbCGF17ihzOTKKbmvwPzGuL4pL7A
7lqpVk4xkGWri8Utz8NFI_iZoDCGVxXYZ_Dwo7-
I5EpTFctu2N7o6nONVGf3UUfaBFjYgpnIwVX4U9f35cQW6xiFihP-
2QF64spzUtzftzNokatrSjdaWLIjg_AQEJCYKXDVdlhZkxQXAIKXYnasfV4x8Wq8Vvfs
TxN3F8S
52. Dubuc A, Planat-Benard V, Monsarrat P, Marty M, Kemoun P. Periodontal cell therapy: a systematic review and meta-analysis.
 53. BAUMAIRE S. *RADIOGRAPHIE EN DENTISTERIE CHEZ LES CARNIVORES DOMESTIQUES*. Thèse d'exercice. Université Paris-Est Créteil Val de Marne; 2000.
 54. Emily P, Penman S. *Handbook of Small Animal Dentistry*. Pergamon Press plc; 1990. Accessed February 3, 2022.
https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=Handbook+of+small+animal+dentistry&author=Emily%2C+P.&publication_year=1990
 55. Lignereux Y, Marty MH, Regodon S. Bases structurales de la dentisterie vétérinaire chez les carnivores domestiques. *Recl Médecine Vét.* 1991;167:955-974.
 56. MOLlicHELLA V, GANIVET A. Terminologie dentaire. *Recl Médecine Vét.* 1991;167:947-953.
 57. Lobprise HB, Dodd JR (Bert). *Wiggs's Veterinary Dentistry: Principles and Practice*. John Wiley & Sons; 2019.
 58. University of Minnesota Center for Companion Animal Health. National Companion Animal Study. Published online 1996.
 59. Ettinger SJ, Feldman EC, Cote E. *Textbook of Veterinary Internal Medicine - EBook*. Elsevier Health Sciences; 2017.
 60. Niemiec BA. Periodontal Disease. *Top Companion Anim Med.* 2008;23(2):72-80. doi:10.1053/j.tcam.2008.02.003
 61. Hardham J, Dreier K, Wong J, Sfintescu C, Evans RT. Pigmented-anaerobic bacteria associated with canine periodontitis. *Vet Microbiol.* 2005;106(1):119-128. doi:10.1016/j.vetmic.2004.12.018
 62. Hamp SE, Lindberg R. Histopathology of spontaneous periodontitis in dogs. *J Periodontal Res.* 1977;12(1):46-54. doi:10.1111/j.1600-0765.1977.tb00108.x
 63. Page RC, Schroeder HE. Spontaneous Chronic Periodontitis in Adult Dogs: A Clinical and Histopathological Survey. *J Periodontol.* 1981;52(2):60-73. doi:10.1902/jop.1981.52.2.60
 64. Medical Definition of BIOHYBRID. Accessed February 4, 2022.
<https://www.merriam-webster.com/medical/biohybrid>
 65. Fawzy El-Sayed KM, Dörfer C, Ungefroren H, Kassem N, Wiltfang J, Paris S. Effect of Emdogain enamel matrix derivative and BMP-2 on the gene expression and mineralized nodule formation of alveolar bone proper-derived stem/progenitor cells. *J Cranio-Maxillofac Surg.* 2014;42(5):568-576. doi:10.1016/j.jcms.2013.07.028
 66. recommandations_-_transfusion_de_plaquettes.pdf. Accessed February 4, 2022.
https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2015-11/recommandations_-_transfusion_de_plaquettes.pdf
 67. thèse_Adeline.Arnoult_7.docx. Accessed February 4, 2022.
 68. Nuñez J, Sanz-Blasco S, Vignoletti F, et al. Periodontal regeneration following implantation of cementum and periodontal ligament-derived cells. *J Periodontal Res.* 2012;47(1):33-44. doi:10.1111/j.1600-0765.2011.01402.x
 69. Akizuki T, Oda S, Komaki M, et al. Application of periodontal ligament cell sheet

- for periodontal regeneration: a pilot study in beagle dogs. *J Periodontol Res.* 2005;40(3):245-251. doi:10.1111/j.1600-0765.2005.00799.x
70. Ozasa M, Sawada K, Iwayama T, et al. Periodontal tissue regeneration by transplantation of adipose tissue-derived multi-lineage progenitor cells. *Inflamm Regen.* 2014;34(2):109-116. doi:10.2492/inflammregen.34.109
71. Nuñez J, Sanchez N, Vignoletti F, et al. Cell therapy with allogenic canine periodontal ligament-derived cells in periodontal regeneration of critical size defects. *J Clin Periodontol.* 2018;45(4):453-461. doi:10.1111/jcpe.12863
72. Khorsand A, Eslaminejad MB, Arabsolghar M, et al. Autologous Dental Pulp Stem Cells in Regeneration of Defect Created in Canine Periodontal Tissue. *J Oral Implantol.* 2013;39(4):433-443. doi:10.1563/AAID-JOI-D-12-00027
73. Lang H, Schüller N, Nolden R. Attachment Formation Following Replantation of Cultured Cells into Periodontal Defects—a Study in Minipigs. *J Dent Res.* 1998;77(2):393-405. doi:10.1177/00220345980770020801
74. Ding G, Liu Y, Wang W, et al. Allogeneic Periodontal Ligament Stem Cell Therapy for Periodontitis in Swine. *STEM CELLS.* 2010;28(10):1829-1838. doi:10.1002/stem.512
75. Venkataiah VS, Handa K, Njuguna MM, et al. Periodontal Regeneration by Allogeneic Transplantation of Adipose Tissue Derived Multi-Lineage Progenitor Stem Cells in vivo. *Sci Rep.* 2019;9(1):921. doi:10.1038/s41598-018-37528-0
76. Chen FM. *Periodontal Tissue Regeneration Using Autologous Periodontal Ligament Stem Cells: Randomized Controlled Clinical Trial.* clinicaltrials.gov; 2011. Accessed February 3, 2022. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01357785>
77. | NIPH Clinical Trials Search. Accessed February 4, 2022. https://rctportal.niph.go.jp/en/detail?trial_id=UMIN000036232
78. Mohammed E. *Effect of Adipose Derived Stem Cells Exosomes as an Adjunctive Therapy to Scaling and Root Planning in the Treatment of Periodontitis: A Human Clinical Trial.* clinicaltrials.gov; 2020. Accessed February 3, 2022. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04270006>
79. Iwata T, Yamato M, Washio K, et al. Periodontal regeneration with autologous periodontal ligament-derived cell sheets – A safety and efficacy study in ten patients. *Regen Ther.* 2018;9:38-44. doi:10.1016/j.reth.2018.07.002
80. Baba S, Yamada Y, Komuro A, et al. Phase I/II Trial of Autologous Bone Marrow Stem Cell Transplantation with a Three-Dimensional Woven-Fabric Scaffold for Periodontitis. *Stem Cells Int.* 2016;2016:e6205910. doi:10.1155/2016/6205910
81. Aimetti M, Ferrarotti F, Mariani GM, Cricenti L, Romano F. Use of Dental Pulp Stem Cells/Collagen Sponge Biocomplex in the Treatment of Non-Contained Intrabony Defects: A Case Series. *Clin Adv Periodontics.* 2015;5(2):104-109. doi:10.1902/cap.2013.130047
82. Sánchez N, Fierravanti L, Núñez J, et al. Periodontal regeneration using a xenogeneic bone substitute seeded with autologous periodontal ligament-derived mesenchymal stem cells: A 12-month quasi-randomized controlled pilot clinical trial. *J Clin Periodontol.* 2020;47(11):1391-1402. doi:10.1111/jcpe.13368
83. Chen FM, Gao LN, Tian BM, et al. Treatment of periodontal intrabony defects using autologous periodontal ligament stem cells: a randomized clinical trial. *Stem Cell Res Ther.* 2016;7(1):33. doi:10.1186/s13287-016-0288-1
84. Hernández-Monjaraz B, Santiago-Osorio E, Ledesma-Martínez E, Aguiñiga-Sánchez I, Sosa-Hernández NA, Mendoza-Núñez VM. Dental Pulp Mesenchymal Stem Cells as a Treatment for Periodontal Disease in Older Adults. *Stem Cells Int.* 2020;2020:e8890873. doi:10.1155/2020/8890873
85. Listgarten MA. Periodontal probing: What does it mean? *J Clin Periodontol.* 1980;7(3):165-176. doi:10.1111/j.1600-051X.1980.tb01960.x

**INGENIERIE CELLULAIRE DU PARODONTE PAR GREFFE AUTOLOGUE DE CELLULES
MESENCHYMATEUSES DU TISSUS ADIPEUX : PREUVE DE CONCEPT SUR UN MODELE
PRECLINIQUE DE PARODONTITE CANINE SPONTANEE**

RESUME :

La thérapie cellulaire parodontale est expérimentée depuis de nombreuses années maintenant à l'échelle préclinique. Les cellules mésenchymateuses issue du tissu adipeux (ASC), par leur disponibilité et leurs propriétés, semblent être parmi les cellules les plus adaptées à ces techniques. Par son protocole mené comme un essai clinique, contrôlé, randomisé et en double aveugle ainsi que par son modèle de parodontite canine spontanée utilisé, le protocole ASC PARO s'impose comme un essai préclinique parmi les plus optimaux. Il aura permis de prouver la tolérance de la greffe d'ASC avec hydrogel de fibrine ainsi que sa supériorité dans l'amélioration des paramètres cliniques tant comparée au porteur cellulaire seul qu'à des techniques chirurgicales conventionnelles de régénération parodontale.

**PERIODONTAL CELL ENGINEERING BY AUTOLOGOUS MESENCHYMAL ADIPOSE CELL
GRAFT: PROOF OF CONCEPT ON A PRECLINICAL MODEL OF SPONTANEOUS CANINE
PERIODONTITIS**

SUMMARY:

Nowadays, periodontal cell therapy is preclinically investigated for many years. Based on their availability and their properties, mesenchymal cells from adipose tissue (ASC) seem to be the most suitable cells for that kind of therapies. Through its protocol conducted as a clinical trial, controlled, randomized and double-blind as well as its model of spontaneous canine periodontitis used, ASC PARO project stands out as one of the most optimum preclinical trials. It will have proved the tolerance of ASC grafting with fibrin hydrogel as well as its superiority in the improvement of clinical parameters, both compared to cell carrier alone and conventional periodontal regeneration surgical techniques.

DISCIPLINE ADMINISTRATIVE : Chirurgie dentaire, Médecine Bucco-dentaire

MOTS-CLES : Parodontite, Régénération parodontale, Thérapie cellulaire, Cellules Stromales Mésenchymateuses du tissu adipeux, Chien, Concentré plaquettaire.

UFR : Université Toulouse III – Paul Sabatier
Faculté de chirurgie Dentaire
3 chemin des maraîchers
31062 Toulouse Cedex 9

DIRECTEUR DE THESE : Pr Philippe KEMOUN