

Génie tissulaire et traitement des difformités muco-gingivales une revue de la littérature scientifique

Cyril Luitaud, Philippe Bidault et Mahmoud Rouabhia

Quels que soient les espoirs suscités par les progrès du génie tissulaire, l'évolution des techniques de la chirurgie plastique réduit aujourd'hui les risques de morbidité. L'utilisation de greffes conjonctives et la manipulation atraumatique des tissus, grâce au travail avec des loupes, améliorent la qualité des résultats et de confort du patient.

Une récession gingivale est une migration du parodonte marginal, apicalement à la jonction énamo-cémentaire. Parmi les différentes approches décrites pour corriger ou prévenir l'aggravation de cette récession, les greffes de tissu prélevé au palais constituent la technique de choix la mieux documentée et la plus fréquemment indiquée. Cependant, les prélèvements palatins ont une morbidité élevée et la quantité de tissu disponible étant limitée, le traitement de récessions multiples est souvent complexe. Pour s'affranchir de ces éléments, d'autres alternatives ont été proposées, notamment les greffes de tissus obtenus à partir du génie tissulaire. En effet, des recherches sont en cours pour évaluer d'une part la faisabilité de la création par génie tissulaire de muqueuse orale et, d'autre part, l'utilisation en clinique de ces tissus. Dans la première partie, nous décrirons les limites liées aux greffes gingivales avec prélèvement palatin. Dans la seconde, nous décrirons brièvement les principes de génie tissulaire. Enfin, nous présenterons les résultats des travaux utilisant les techniques de génie tissulaire en parodontologie.

Parodontologie



Complications, limites et risques des greffes gingivales

Les récessions tissulaires marginales, injustement appelées récessions gingivales, correspondent au déplacement des tissus parodontaux marginaux apicalement à la jonction amélo-cémentaire [13] (fig. 1). Elles sont associées à l'apparition de sensibilités dentinaires et de caries radiculaires. Par ailleurs, l'aspect inesthétique et la progression de cette perte d'attache sont autant de motifs de consultation de la part des patients.

Pour corriger ou prévenir l'aggravation des récessions gingivales, de nombreuses techniques ont été décrites. Parmi elles, les greffes de tissu prélevé au palais sont probablement les plus documentées. Cependant, le prélèvement palatin de tissu autologue est associé à une prévalence plus élevée de douleurs postopératoires et de saignement per et postopératoire que d'autres chirurgies orales. Curtis et al. [3] ont montré par exemple que la réalisation de greffe épithélio-conjonctive était six fois plus douloureuse pour le patient que les chirurgies osseuses et 3,5 fois plus douloureuse que les chirurgies muco-gingivales ne nécessitant pas le prélèvement d'un greffon. Selon ces auteurs, il existe une corrélation entre la durée de l'intervention et l'inflammation postopératoire, et entre l'inflammation et la douleur postopératoire. Ces conclusions ont été confirmées par Griffin et al., en 2006 [3].

L'anatomie palatine a été étudiée par de nombreuses équipes. En 2006, une étude française [16] détermine, chez 198 patients exempts de maladie parodontale, la position de l'artère grande palatine. Selon cette étude, la distance séparant la gencive marginale de cette artère serait comprise entre 12,07 +/- 2,9 mm au niveau canin et 14,7 +/- 2,9 mm au niveau molaire. Cependant, Monnet-Corti et coll. recommandent de ne pas effectuer de prélèvement de tissu palatin, à moins

1. Difformité muco-gingivale ou récession.
2. Saignement survenant huit jours post-prélèvement.
3. Nécrose palatine suite à prélèvement autogène.

difformités muco-gingivales

de 3 mm de la position supposée de l'artère. De plus, l'incision coronaire doit être, au minimum, 2 mm sous marginale afin de ne pas être responsable d'un défaut muco-gingival au niveau du site donneur. La quantité de tissu disponible est donc inférieure de 5 mm par rapport aux valeurs susmentionnées. Selon Miller et al. [14], les saignements palatins, suite à la réalisation d'une greffe épithélio-conjonctive, sont fréquents et des agents hémostatiques ou une plaque de protection palatine devraient toujours être utilisés afin de contrôler l'hémostase (fig. 2). À l'inverse, selon Harris et al., [5] les complications hémorragiques ne sont retrouvées que dans 3 % des cas de greffes conjonctives. En outre, quand la muqueuse palatine est fine et/ou le prélèvement épais, la cicatrisation peut s'accompagner d'une nécrose plus ou moins importante du site [7, 18] (fig. 3). La douleur postopératoire est alors significative pendant une dizaine de jours. Enfin, quand les récessions sont multiples (fig. 1), il est nécessaire, compte tenu de la quantité limitée de tissu au palais, de procéder en plusieurs interventions distinctes. Entre chaque intervention, il est recommandé d'attendre un délai de cicatrisation de plusieurs mois du site de prélèvement avant de pouvoir prélever à nouveau. Ceci multiplie les gestes chirurgicaux et donc le risque de complication associé et les traitements s'allongent de façon importante. C'est une limite évidente de ces techniques de greffe autologue avec prélèvement palatin. Concernant les paresthésies palatines et les infections postopératoires, le risque est faible et ces complications sont rares. En effet, selon l'étude de Harris et al. [5] ces complications sont seulement retrouvées chez 0,8 % des patients.

Les procédures de régénération tissulaire guidée (RTG) sont également décrites en chirurgie muco-gingivale. Selon C. Romagna-Genon [22] la couverture radiculaire obtenue par RTG est équivalente à celle obtenue au moyen d'une greffe de tissu conjonctif. Ces constatations cliniques sont confirmées dans la revue systématique de Rocuzzo, en 2002 [21]. Cette technique permet de s'affranchir des complications palatines précédemment citées mais la technique est délicate et les indications doivent être bien posées.

Enfin, l'utilisation de tissu conjonctif allogène, c'est-à-dire d'origine humaine mais provenant

d'un autre donneur que le patient, n'est, à notre connaissance, pas disponible en France. Nous ne développerons donc pas plus ce dernier point [2]. Tous ces éléments justifient les efforts de la recherche pour trouver d'autres solutions thérapeutiques comme l'utilisation de produits fabriqués par génie tissulaire.

Le génie tissulaire

Le génie tissulaire, ou ingénierie tissulaire, est l'ensemble des techniques et des méthodes s'inspirant des principes de l'ingénierie et des sciences de la vie pour développer des substituts biologiques pouvant restaurer, maintenir et améliorer les fonctions des tissus et des organes [8].

La recherche dans ce domaine est très riche et de nombreuses approches sont étudiées. Nous ne développerons ici que les techniques décrites en parodontologie. La plupart d'entre elles reposent sur la culture *in vitro* de cellules extraites d'une biopsie palatine. À l'issue de la culture et après différents traitements, le tissu nouvellement formé est greffé dans le site à traiter.

Culture en feuillet

Cette technique repose sur le prélèvement d'une biopsie gingivale dont les cellules épithéliales sont extraites et cultivées durant trois semaines. À l'issue de cette période, les cellules présentent une certaine cohésion sous la forme de feuillets. Un feuillet est donc un ensemble cohésif de cellules épithéliales. N'ayant pas été disposés sur une matrice, ces feuillets sont extrêmement fragiles, et leur manipulation est délicate. Une fois prêts, ceux-ci sont déposés en bouche sur le site receveur à greffer et ils sont protégés par une membrane de collagène ou de silicone. En 2004, Okuda et al. [19] ont utilisé cette solution pour traiter une patiente présentant une gingivite desquamative. Les résultats cliniques démontrent, à six mois, une disparition complète de l'érythème gingival et une augmentation de la hauteur de tissu kératinisé. Une biopsie réalisée après un mois ne démontre aucune inflammation. L'analyse histologique montre la formation d'un épithélium hyperparakératinisé, stratifié et acanthosique. Ce cas permet de penser que la culture et la transplantation de cellules épithéliales orales autologues sont possibles. Cependant, le tissu produit étant fragile, il y a besoin de développer un modèle clinique permettant une manipulation plus simple et plus prévisible.

Tous ces éléments justifient les efforts de la recherche pour trouver d'autres solutions thérapeutiques comme l'utilisation de produits fabriqués par génie tissulaire.

Parodontologie

Culture cellulaire dans une matrice

Culture de cellules épithéliales dans une membrane conjonctive allogénique. En 2003, Izumi et al. [6] ont réalisé une étude sur trente patients présentant des carcinomes épidermoïdes ou des dysplasies épithéliales au niveau du plancher de la bouche. Ces patients sont répartis en deux groupes. Chez les patients du groupe contrôle, une membrane d'Alloderm® permet la fermeture de la plaie après ablation de la tumeur. Chez les patients du groupe test, la membrane d'Alloderm® est préalablementensemencée par des cellules épithéliales gingivales. En effet, chez les patients du groupe test, des biopsies de 5 x 5 mm sont réalisées deux semaines avant l'intervention. Les cellules épithéliales sont extraites, mises en cultures puisensemencées durant quatre jours dans des membranes d'Alloderm®. Ensuite, ces membranes sont placées sur une interface air/liquide durant sept jours afin de permettre la stratification de l'épithélium. Sur un plan technique, le tissu test correspond à un tissu conjonctif allogénique inerte sur lequel des cellules épithéliales ont adhéré et se sont stratifiées. Les résultats démontrent une meilleure intégration des Alloderm® tests que des Alloderm® seuls. Au niveau histologique, la diminution de l'inflammation est beaucoup plus rapide dans le groupe test que contrôle.

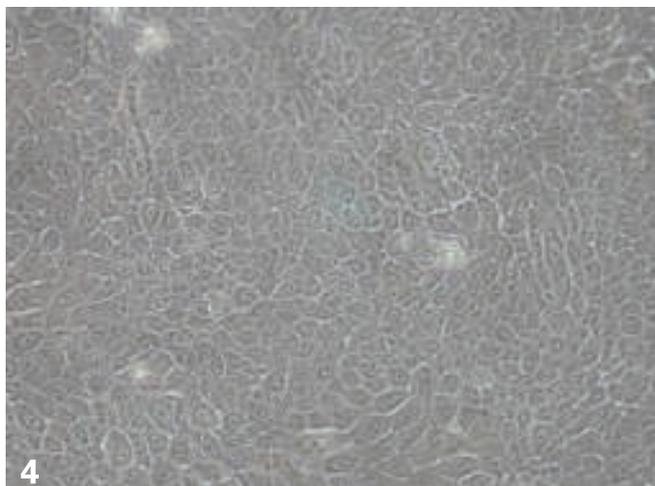
Culture de fibroblastes dans une membrane. En 2000, Pini Prato et al. [20] réalisent une greffe pour augmenter la quantité de tissu kératinisé à

4. Culture de cellules épithéliales.
5. Culture de fibroblastes.

partir d'un greffon produit par génie tissulaire. La technique est comparable à celle décrite ci-dessus en ce qui concerne la biopsie, l'extraction et la multiplication cellulaire. Par contre, elle concerne des fibroblastes et la membrane utilisée est une matrice d'acide hyaluronique. En outre, il s'agit d'une culture immergée car l'objectif est la colonisation tridimensionnelle de la matrice par les fibroblastes et non la stratification. Le greffon obtenu a été suturé au périoste et a été laissé exposé. Les résultats deux mois postopératoires indiquent que ce greffon est intégré et recouvert d'un épithélium kératinisé. Ces résultats sont prometteurs mais l'augmentation de tissu kératinisé est assez faible.

En 2005, McGuire et Nunn [10] ont réalisé, chez vingt-cinq patients, une étude clinique dont l'objectif était de comparer l'augmentation de gencive attachée obtenue au moyen d'une greffe épithélio-conjonctive (contrôle) ou bien au moyen d'un équivalent cutané: Dermagraft® (test). Ce dernier est un tissu conjonctif produit par génie tissulaire. Les résultats cliniques après un an sont satisfaisants dans les deux groupes, cependant le gain de tissu kératinisé est supérieur avec la greffe épithélio-conjonctive (3,91 mm contre 2,72 mm avec Dermagraft®). L'attache rampante est, quant à elle, supérieure du côté test (1,44 mm *vs* 1,08 mm) et les patients sont tous très satisfaits de l'intégration colorimétrique de Dermagraft®.

La deuxième partie de cette étude est réalisée par Wilson et al. [24]. Il s'agit de comparer la couverture radiculaire obtenue après une greffe de tissu conjonctif enfoui aux résultats obtenus avec une greffe enfouie de Dermagraft®. Cette étude



difformités muco-gingivales

est conduite chez treize patients présentant des récessions bilatérales de Miller classe I ou II \geq à 3 mm. Les résultats six mois postopératoires indiquent que la couverture radiculaire, la profondeur au sondage postopératoire et la hauteur de tissu kératinisé sont identiques.

Ces études pilotes suggèrent que ce tissu conjonctif produit par génie tissulaire pourrait être une bonne solution alternative quand l'objectif du traitement des récessions est la couverture radiculaire et non l'augmentation de tissu kératinisé.

Culture de fibroblastes dans un gel. Mohammadi et al. [15] ont implanté chez neuf patients un greffon contenant des fibroblastes autogènes au sein d'une matrice collagénique gélifiée. Cette étude est réalisée en chassé-croisé. Les résultats démontrent une augmentation de la quantité de tissu kératinisé significativement plus importante du côté test (2,8 mm) que contrôle (2 mm). Selon les auteurs, l'utilisation d'un gel plutôt qu'une membrane est intéressante car l'adaptation intime et la suture d'une membrane sont plus difficiles que le positionnement d'un gel.

Co-culture: cellules épithéliales et conjonctives. Il s'agit ici de créer par génie tissulaire un équivalent de muqueuse orale, c'est-à-dire un modèle complet de tissu produit *in vitro*. Ce modèle doit démontrer une histologie et une physiologie identiques à la muqueuse orale *in vivo*. Le premier modèle est celui proposé par Rouabhia et Deslauriers en 2002 [23] Il n'est pas destiné à être employé cliniquement. Ce modèle utilise des fibroblastes et des cellules épithéliales provenant de biopsies de gencive saine. À partir de celles-ci, l'épithélium gingival est séparé du conjonctif et les cellules épithéliales sont extraites (fig. 4). Par ailleurs, les fibroblastes sont aussi extraits du tissu conjonctif (fig. 5). Ces deux populations cellulaires sont cultivées séparément. Les fibroblastes sont mélangés avec un gel de collagène bovin et ils prolifèrent en culture immergée durant quatre jours puis les cellules épithéliales sontensemencées sur le gel. Enfin, le gel est placé sur une interface air/liquide durant cinq jours. Ce procédé permet la création d'un équivalent de muqueuse orale. Les analyses histologiques et immunohistochimiques montrent que les tissus produits sont bien organisés. Les cellules épithéliales dans ces structures sécrètent des kératines de prolifération (Ki-67, K14 et K19) et de différenciation (K10). Elles

interagissent avec les fibroblastes via des protéines (laminines) de la membrane basale et des intégrines ($\alpha\beta1$ et $\alpha2\beta1$). Le dosage de cytokines montre que les cellules présentes dans le modèle sécrètent de l'IL-1 β , l'IL-8 et le TNF α . Finalement, les cellules composant cet équivalent sécrètent les formes latentes et actives de deux métalloprotéinases: MMP-2 et MMP-9. Ce modèle, qui démontre une organisation structurale comparable à la muqueuse orale humaine normale, est utilisé depuis 2002 pour comprendre, *in vitro*, le rôle des cellules épithéliales dans les pathologies buccales [1, 17].

Afin de pouvoir utiliser un modèle similaire dans des situations chirurgicales variées nous avons procédé à une co-culture dans une membrane de collagène (CollaTape[®]) [9]. Le protocole est assez similaire mais nous avons substitué le gel de collagène bovin par une membrane de collagène (fig. 6). Les analyses histologiques démontrent que les deux populations cellulaires adhèrent et prolifèrent dans cette matrice. Ce tissu est bien structuré et comporte une couche cornée (*stratum corneum*) (fig. 7). La consistance de cet équivalent gingival permet une bonne manipulation clinique



6. Utilisation d'une matrice de CollaTape[®].



7. Coloration Hematoxyline Eosine d'un équivalent épithélio-conjonctif de muqueuse orale créé par génie tissulaire.

8. Manipulation clinique d'un équivalent épithélio-conjonctif.



Parodontologie

(fig. 8). Il ne s'agit donc plus d'un modèle d'étude mais d'un véritable tissu prêt à être greffé.

Ces résultats sont confirmés par une étude pilote menée par McGuire et al. [12]. Vingt-cinq patients, ont reçu du côté test une greffe épithélio-conjonctive produite par génie tissulaire et du côté contrôle une greffe épithélio-conjonctive autogène. Les résultats montrent que six mois après l'intervention le gain de tissu kératinisé est significativement plus important du côté contrôle (4,5 +/- 0,8 mm) que du côté test (2,4 +/- 1,02 mm). Par contre, il n'existe pas de différence en termes de niveau d'attache clinique, de saignement au sondage, d'inflammation gingivale et d'intégration colorimétrique.

Infusion

Récemment, McGuire et Scheyer [12] ont montré le potentiel du génie tissulaire dans la régénération papillaire en utilisant des fibroblastes auto-gènes en suspension. En effet, dans cette étude, des fibroblastes sont prélevés au niveau de la tubérosité de vingt et un patients. Ces cellules sont cultivées mais ne sont pas ensemencées dans une membrane. Elles sont concentrées et la solution est injectée à trois reprises au niveau des papilles. Les auteurs démontrent une augmentation du

volume des papilles supérieur à celui d'une injection placebo à deux mois.

Conclusions et perspectives

Les sensibilités dentinaires et les problèmes esthétiques secondaires aux récessions tissulaires marginales constituent des motifs de consultation fréquents chez nos patients. Les techniques actuelles, bien que donnant des résultats satisfaisants, présentent certaines limites. Aujourd'hui, il faut se poser la question de savoir si le génie tissulaire permet de dépasser ces limites. La recherche dans ce sens est très active et de multiples avenues sont explorées. Plusieurs résultats encourageants *in vivo* laissent à penser, qu'à terme, les techniques de génie tissulaire permettront de simplifier les procédures muco-gingivales et d'en limiter la morbidité.

LECTURES CONSEILLÉES

1. Andrian E, Grenier D, Rouabhia M. In vitro models of tissue penetration and destruction by *Porphyromonas gingivalis*. *Infect Immun*, 2004; 72(8) : 4689-4698.
2. Bidault P, Zakrzewski A, Lacoste E. Alloderm®: le point sur ce matériau en chirurgie muco-gingivale. *Journal Dentaire du Québec*, Vol 41, Oct 2004.
3. Curtis JW, Jr., McLain JB, R.A. Hutchinson. The incidence and severity of complications and pain following periodontal surgery. *J Periodontol*, 1985; 56(10) : 597-601.
4. Griffin TJ, Cheung WS, Zavras AI, Damoulis PD. Postoperative complications following gingival augmentation procedures. *J Periodontol*. 2006; 77(12) : 2070-2079.
5. Harris RJ, Miller R, Miller LH, Harris C. Complications with surgical procedures utilizing connective tissue grafts: a follow-up of 500 consecutively treated cases. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2005;25(5) : 449-459.

Ce qu'il faut retenir

- ce qu'il faut retenir, ce qu'il faut retenir,
- ce qu'il faut retenir, ce qu'il faut retenir,
- ce qu'il faut retenir, ce qu'il faut retenir,
- ce qu'il faut retenir, ce qu'il faut retenir,



Bibliographie intégrale de cet article sur : www.information-dentaire.fr

Auteurs

Philippe Bidault 8, rue des Colonels Renard 75017 Paris
philippebidault@mac.com