



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-thesesexercice-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

ACADÉMIE DE NANCY – METZ
UNIVERSITÉ DE LORRAINE
FACULTÉ D'ODONTOLOGIE

ANNÉE 2020

N° 10979

THÈSE
pour le
DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN CHIRURGIE DENTAIRE
par
Léopoldine EMERAUX-LOMBARD
Née le 15 septembre 1994 à Épinal

Un matériau naturel pour la régénération osseuse guidée (ROG) : le chitosane
--

Présentée et soutenue publiquement le 10 Janvier 2020

Examineurs de la thèse :

<u>Pr P.AMBROSINI</u>	Professeur des Universités	Président
Dr D.JOSEPH	Maitre de Conférences des Universités	Juge
Dr V.MOBY	Maitre de Conférences des Universités	Juge
Dr P-H.ESNAULT	Praticien hospitalier	Juge

« Par délibération en date du 11 décembre 1972, la faculté de Chirurgie Dentaire a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propre à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation. »

Président : Professeur Pierre **MUTZENHARDT**

Doyen : Professeur Jean-Marc **MARTRETTE**

Vice-Doyens : Dr Céline CLEMENT – Dr Rémy BALTHAZARD – Dr Anne-Sophie VAILLANT

Membres Honoraires : Dr L. BABEL – Pr. S. DURIVAUX – Pr A. FONTAINE – Pr G. JACQUART – Pr D. ROZENCWEIG - Pr ARTIS -
Pr M. VIVIER

Doyens Honoraires : Pr J. VADOT, Pr J.P. LOUIS

Professeur émérite : Pr M-P FILLEUL

Département Odontologie pédiatrique Sous-section 56-01	Mme	DROZ Dominique	Maître de Conférences *
	Mme	JAGER Stéphanie	Maître de Conférences *
	M.	PREVOST Jacques	Maître de Conférences
	Mme	HERNANDEZ Magali	Maître de Conférences *
	M.	LEFAURE Quentin	Assistant
	Mme	DARSAT Claire	Assistante*
Département Orthopédie dento-faciale Sous-section 56-01	Mme	FANGET Alexia	Assistante
	M.	VANDE VANNET Bart	Maître de Conférences associé *
	Mme	SENG Marilyne	Assistante *
Département Prévention, épidémiologie, économie de la santé, odontologie légale Sous-section 56-02	Mme	LAWTON Mathilde	Assistante
	Mme	CLÉMENT Céline	Maître de Conférences *
	M.	BAUDET Alexandre	Assistant *
Département Parodontologie Sous-section 57-01	Mme	NASREDDINE Greyce	Assistante
	M.	AMBROSINI Pascal	Professeur des Universités *
	Mme	BISSON Catherine	Maître de Conférences *
	M.	JOSEPH David	Maître de Conférences *
	M.	LACH Patrick	Assistant
	Mme	MAYER-COUPIN Florence	Assistante
Département Chirurgie orale Sous-section 57-01	Mme	PAOLI Nathalie	Enseignante univ. – Praticien attachée
	Mme	GUILLET-THIBAUT Julie	Maître de Conférences *
	M.	BRAVETTI Pierre	Maître de Conférences
	Mme	PHULPIN Bérengère	Maître de Conférences *
	M.	CLERC Sébastien	Assistant*
	M.	HASNAOUI Nasr	Assistant
Département Biologie orale Sous-section 57-01	Mme	KICHENBRAND Charlene	Enseignante univ. – Praticien attachée*
	M.	YASUKAWA Kazutoyo	Maître de Conférences *
	M.	MARTRETTE Jean-Marc	Professeur des Universités *
Département Dentisterie restauratrice, endodontie Sous-section 58-01	Mme	EGLOFF-JURAS Claire	Maître de Conférences *
	M.	MORTIER Éric	Professeur des Universités *
	M.	AMORY Christophe	Maître de Conférences
	M.	BALTHAZARD Rémy	Maître de Conférences *
	M.	ENGELS-DEUTSCH Marc	Professeur des Universités *
	M.	VINCENT Marin	Maître de Conférences*
Département Prothèses Sous-section 58-01	Mme	GEBHARD Cécile	Assistante
	M.	GISS Renaud	Assistant *
	M.	DE MARCH Pascal	Maître de Conférences
	M.	SCHOUVER Jacques	Maître de Conférences
	Mme	VAILLANT Anne-Sophie	Maître de Conférences *
	Mme	CORNE Pascale	Maître de Conférences *
	M.	CIESLAK Steve	Assistant
	M.	HIRTZ Pierre	Enseignant univ. – Praticien attaché
Département Fonction-dysfonction, imagerie, biomatériaux Sous-section 58-01	M.	MAILLET Maxime	Assistant
	Mme	MOEHREL Bethsabée	Assistante
	M.	VUILLAUME Florian	Assistant
	Mme	STRAZIELLE Catherine	Professeur des Universités *
	Mme	MOBY (STUTZMANN) Vanessa	Maître de Conférences *
	M.	SALOMON Jean-Pierre	Maître de Conférences
	Mme	JANTZEN-OSSOLA Caroline	Assistante associée

Souligné : responsable de département

* temps plein

Mis à jour le 09/09/2019

Remerciements

À notre président et directeur de thèse,

Monsieur le Professeur Pascal AMBROSINI

Docteur en Chirurgie Dentaire

Docteur de l'Université Henri Poincaré Nancy I

Habilité à diriger des recherches

Professeur des Universités – Praticien Hospitalier

Responsable du département de parodontologie

Vous nous faites le grand honneur de présider et de diriger cette thèse.

Nous tenions à vous exprimer notre gratitude la plus sincère pour le temps que vous nous avez consacré lors de la réalisation de ce travail.

Veillez trouver ici l'expression de notre profond respect et de notre vive reconnaissance.

À notre juge,

Monsieur le Docteur David JOSEPH

Docteur en Chirurgie Dentaire

Docteur de l'Université de Lorraine, mention sciences de la vie et de la santé

Maître de Conférences – Praticien Hospitalier

Vous nous faites l'honneur de siéger parmi notre jury de thèse.

Nous vous remercions pour votre accompagnement durant toutes nos années d'études. Nous avons été touchés par votre confiance, votre pédagogie mais aussi votre disponibilité.

Veillez trouver dans ce travail l'expression de notre gratitude.

À notre juge,

Madame le Docteur Vanessa MOBY-STUTZMANN

Docteur en Chirurgie Dentaire

Docteur de l'université Henri Poincaré, Nancy I en ingénierie cellulaire et tissulaire

Maître de Conférences – Praticien Hospitalier

Vous nous faites l'honneur de siéger parmi notre jury de thèse.

Merci pour l'intérêt que vous avez bien voulu porter à notre travail.

Veillez trouver ici l'expression de notre profond respect et de notre vive gratitude.

À notre juge,

Monsieur le Docteur Pierre-Henri ESNAULT

Docteur en Chirurgie dentaire

Spécialiste qualifié en chirurgie orale

Praticien Hospitalier

Vice président de la CME du CHI Émile DURKHEIM

Chef du pôle chirurgie du CHI Émile DURKHEIM

Nous vous sommes infiniment reconnaissants de la spontanéité avec laquelle vous avez accepté de juger cette thèse.

Nous vous remercions chaleureusement pour la confiance et la bienveillance que vous nous avez portées tout au long de notre stage.

Veuillez trouver dans ce travail toute l'expression de notre respect.

À ma famille :

À mes parents, aux valeurs éducatives que vous nous avez inculquées : tolérance, respect, bienveillance, combativité, force, détermination, abnégation, parmi tant d'autres, qui font de moi la personne que je suis aujourd'hui. Je vous remercie pour le soutien moral, affectif, matériel, et sécuritaire indéfectible dont vous avez preuve durant toutes ces années et plus particulièrement ces 6 dernières. Je suis si fière de vous.

À mon Papa, à l'étoile la plus brillante, à l'Homme, au Mari et au Papa exemplaire que tu as toujours été. À toi qui m'as toujours soutenue par autant de petits gestes qui ont fait de toi ce Papa si exceptionnel. Tu manques à ma vie de tous les jours de façon incommensurable. Que ce travail soit le gage de l'Amour et du respect que je te porte. Tu aurais été fier de ta cocotte.

À ma Maman, à la Femme et à la Maman exceptionnelle que tu es, au modèle, à mon modèle féminin, de liberté, d'indépendance, de bravoure, et de courage dont tu fais preuve tous les jours et plus particulièrement depuis un an et demi. À ma Maman/maîtresse de primaire que tu as été, à toi qui m'a appris à lire, écrire, compter, qui a relu ce travail. À toi qui est toujours à mes/nos côtés et qui me/nous soutient contre vents et marées. Merci pour tout ce que tu réalises au quotidien, avec toute mon admiration et mon amour.

À mes frères et sœur, merci à vous de m'avoir permis de jouer mon rôle d'aînée, merci pour vos sourires et votre amour, merci d'être vous.

Augustine, à celle qui connaît toute ma petite vie, celle à qui je demande conseils. À nos essais culinaires ratés au début de notre expérience digne des plus grands restaurants gastronomiques (pas si ratés que ça parfois), je suis si fière de ton parcours sportif et universitaire. Je te souhaite beaucoup d'épanouissement dans ta vie personnelle et professionnelle et que tu réalises tous tes rêves, je suis fière d'être ta grande sœur.

Lancelot, à mon petit frère (pas si petit que ça), le premier frère des deux que j'ai eu la chance d'avoir. Je sais aujourd'hui (je l'ai d'ailleurs toujours su) que j'ai le meilleur des frères qu'il existe (avec Cypri hihi). Sache que je serai là pour toi dans les moments difficiles comme dans les moments de bonheur. Je serai toujours à tes côtés. Vivement le prochain tour en Fiat 500 (bip-bip).

Cyprien, au meilleur des petits frères qu'il puisse exister, à mon compagnon de tour de village les dimanches de ces 6 dernières années. Je suis tellement fière de toi et de tout ce que tu accomplis, je serai toujours là pour toi quoi qu'il arrive.

À mes grands parents maternels, avec tout mon amour.

À mes grands parents paternels, qui auraient été sûrement si fiers de leur petite fille. Tendresse.

À mes amis :

Du lycée :

Chloé, ma meilleure amie, collègue, lycée, PACES, faculté, binôme de prothèse celle sur qui j'ai toujours pu compter et qui a su m'épauler, me conseiller, me rassurer tout au long de ces treize années d'amitié et qui continue à la faire. À nos soirées endiablées, à nos sorties vélo, nos sorties sportives (oui oui le step), à nos après-midi cousette et potins, à nos discussions et inquiétudes sur nos thèses de « 400 pages » (nous en sommes bien loin), nous voilà diplômées toutes les deux. J'espère t'avoir à mes côtés pendant encore de nombreuses années.

Andréa, Mélanie, Noémie, Ophélia, mes fidèles amies, celles avec qui je passe toujours des beaux moments, celles sur qui je peux compter, celles avec qui je pars en vacances, celles qui viennent me voir pendant mes remplacements à l'autre bout de la France. Quel bonheur de me savoir si bien entourée, je nous souhaite de belles années devant nous, des fêtes, des voyages, des mariages, des bébés (une est déjà sur la bonne voie, j'attends avec impatience les suivantes pour pouponner), des rires,

et que notre amitié perdure en dépit du temps qui passe, et de nos parcours professionnels différents.

De la faculté :

Camille, mon alter ego durant ces cinq années d'études, ma comparse de révision « en salle de travail », à nos « je vais redoubler » chaque année, ma binôme de choc à Brabois, à nos sourires en coin, à notre amitié si précieuse, celle qui a su me soutenir dans les moments difficiles et les bons, celle qui me comprend sur tout, avec toute mon amitié.

Charlotte, à nos soirées, à ta porte toujours grande ouverte pour m'héberger après nos soirées, au fit dance où on galérait à suivre notre prof tarée. À nos aventures et péripéties Barcelonaises (le serrurier), Maltaises (le couché de soleil), Andalouses (avec Charlitos), toutes celles que je n'ai pas mentionnées et celles à venir. Merci d'être à mes côtés.

Chloé, à nos aventures Lyonnaises à venir, j'ai hâte.

Clémence, à nos traquenards improvisés, à nos restaurants, à notre belle amitié, merci d'être cette si belle personne, merci d'être là et de m'avoir toujours accueillie les bras grands ouverts, merci de faire partie de ma vie. J'ai hâte de venir te voir à l'autre bout du monde.

Guillaume, ma tête en l'air préférée (billets d'avion, porte feuilles), au début de notre amitié en p2 dans le groupe 4 d'anglais (ça ne s'est guère amélioré depuis pour ma part haha), à tous ces moments passés en ta compagnie, à nos voyages. Merci d'être toi.

Jad, Paul, Farouk, à toutes nos aventures passées et à venir.

Marine, merci de savoir si bien me changer les idées, à ma partenaire Parisienne de la coupe du Monde. Ma petite surfeuse et missilette préférée, à nos sous la vague

plutôt que dessus parce qu'on se le dise on préférerait nager avec les poissons plutôt que de surfer haha. A nos aventures parisiennes bis. Merci pour tout, et vivement les prochaines aventures (cendrées) en ta compagnie.

Mes petites binômes Solène et Léa, je vous remercie pour votre gentillesse, votre disponibilité, votre investissement et votre précieuse aide durant ma 5^{ème} année qui l'ont rendue plus facile grâce à vous.

À tout ceux qui ont jalonné mon parcours, qui ont su inspirer ma vie au bon moment et permis de réaliser mes choix jusqu'à lors, merci.

En la mémoire de mon Papa, je t'aime.

Sommaire

TABLE DES FIGURES

TABLE DES TABLEAUX

INTRODUCTION

PARTIE 1 : DE LA CHITINE AU CHITOSANE

1. Historique et origine
2. La chitine
3. Le chitosane
4. Propriétés biologiques du chitosane

PARTIE 2 : LE CHITOSANE MATÉRIAU DE LA RÉGÉNÉRATION OSSEUSE GUIDÉE (ROG)

1. Membranes de chitosane
2. Comparaison de l'efficacité dans la régénération osseuse guidée (ROG) de membranes de chitosane face à des membranes collagéniques standards.

PARTIE 3 : LE CHITOSANE AUTRES PERSPECTIVES

1. Le chitosane avenir en parodontologie/implantologie

CONCLUSION

BIBLIOGRAPHIE

TABLE DES MATIERES

Table des figures

<i>Figure 1 : Représentation schématique des 3 formes polymorphiques de la chitine (El Knidri et al., 2018)</i>	<i>21</i>
<i>Figure 2 : Processus d'extraction de l'alpha chitine (d'après la traduction de l'anglais (Muxika et al., 2017)).....</i>	<i>23</i>
<i>Figure 3 : Processus d'extraction de la chitine et du chitosane (traduction de l'anglais de (El Knidri et al., 2018)).....</i>	<i>29</i>
<i>Figure 4 : Structure chimique de la chitine (A) et du chitosane (B) (El Knidri et al., 2018).....</i>	<i>29</i>
<i>Figure 5 : Nombre de cellules SAOS présentes sur la membrane au bout de 1 à 5 jours de culture. Déterminé par une courbe standard des densités de cellules ensemencées 12h avant la lecture (Norowski et al., 2015).....</i>	<i>39</i>
<i>Figure 6 : Micrographie par fluorescence de cellules SAOS-2 cultivées sur des membranes de chitosane (a, b, c) et des membranes POSS/chitosane 5% (d, e, f) pendant 7 jours (Tamburaci and Tihminlioglu, 2017).....</i>	<i>40</i>
<i>Figure 7 : Images de scanner à haute résolution, montrant la régénération osseuse guidée, du groupe 1 (a), groupe 2 (b), groupe 3 (c)(D'Mello et al., 2015)</i>	<i>43</i>
<i>Figure 8 : Image de microscopie montrant la régénération osseuse sur les différents groupes traités et non traités (Guo et al., 2019).....</i>	<i>47</i>
<i>Figure 9 : Mesure du volume osseux en mm³ par micro tomodensitométrie (Baek et al., 2016).....</i>	<i>58</i>
<i>Figure 10 : Mesure de la densité osseuse minérale par micro tomodensitométrie en mg/mL (Baek et al., 2016)</i>	<i>59</i>
<i>Figure 11 : Image de reconstruction 3D de chaque groupe à 2, 4 et 8 semaines.(Baek et al., 2016).....</i>	<i>59</i>

Table des tableaux

<i>Tableau 1 : Les différentes sources de chitine et de chitosane (d'après la traduction de l'anglais Rinaudo, 2006).</i>	20
<i>Tableau 2 : Activité de la phosphatase alcaline de rBMSC cultivées sur trois types de membranes nanofibreuses (traduction de l'anglais (He et al., 2017))</i>	45
<i>Tableau 3 : Comparaison des différentes membranes de chitosane enrichies (liste non exhaustive) et de leurs rôles en tant que biomatériau de l'ingénierie osseuse. ..</i>	48
<i>Tableau 4 : Résultats radiographiques de l'étude comparatives d'une membrane chitosane/collagène – collagène d'après (Li et al., 2014)</i>	51
<i>Tableau 5 : Résultats histologiques de l'étude comparatives d'une membrane chitosane/collagène – collagène d'après (Li et al., 2014)</i>	52
<i>Tableau 6 : Résultats histomorphométriques après cicatrisation de 4 semaines (traduction de l'anglais (Li et al., 2014))</i>	53
<i>Tableau 7 : Résultats histomorphométriques après cicatrisations de 8 semaines (traduction de l'anglais (Li et al., 2014))</i>	54
<i>Tableau 8 : Résultats histomorphométriques après cicatrisation de 12 semaines (traduction de l'anglais (Li et al., 2014))</i>	54

Introduction

Le concept de régénération osseuse guidée (ROG) a été décrit pour la première fois en 1957 par Murray et al. La régénération osseuse guidée repose sur plusieurs grands principes :

- Le maintien de l'espace est essentiel à la ROG : en effet cet espace permet l'angiogenèse ainsi que la néo-formation osseuse.
- La stabilité et la protection du caillot sanguin.
- La mise en place d'une barrière permettant d'empêcher la compétition cellulaire, évitant alors l'infiltration cellulaire par les tissus conjonctifs d'origine gingivale et épithéliale.
- La fermeture du site par sutures.

Les biomatériaux utilisés en ROG aident au maintien de l'espace.

Les membranes peuvent être non résorbables ou résorbables.

Les membranes non résorbables ont été les premières à être utilisées en ROG. Elles étaient composées de polytétrafluoroéthylène expansé.

Les membranes résorbables sont :

- Synthétiques : composées de copolymères d'acide polylactique et polyglycolique.
- Collagéniques : fabriquées à partir de collagène porcine, bovin ou équin, réticulé ou non.

Les membranes collagéniques sont biocompatibles et acceptent les contacts avec la cavité orale (Rothamel et al., 2005).

L'utilisation d'un polymère naturel, le chitosane en combinaison à d'autres matériaux qui en améliorent les propriétés mécaniques, est une alternative aux membranes collagéniques pour la régénération osseuse guidée.

Nous développerons au cours de ce travail, les origines du chitosane ainsi que ses propriétés. Puis en étudierons ses effets dans la régénération osseuse guidée. Pour

terminer nous en verrons ses perspectives d'utilisation dans les domaines de la parodontologie et de l'implantologie.

Partie 1 : De la chitine au chitosane

1. Historique et origine

La chitine est le deuxième biopolymère le plus abondant sur Terre après la cellulose. Elle fut découverte pour la première fois en 1811 à partir de la paroi d'un champignon, par le chimiste français Nancéien Henry Braconnot. Il s'agit du premier polysaccharide reconnu dans la littérature. Il l'appellera fungina. C'est en 1823 qu'Auguste Odier isolera le même composé insoluble et le nomme chitine (Chitine et chitosane - Société Chimique de France, n.d.)

Au milieu du XIX^e siècle, Charles Rouget obtient une chitine transformée par traitement avec de la potasse concentrée à haute température. Ce produit soluble dans des solutions aqueuses acides, est par la suite nommé chitosane, par le chimiste allemand Félix Hoppe Seyler en 1894. Sa structure fut définie par Albert Hoffman.

Ce polymère est synthétisé par un grand nombre d'organismes vivants. A l'état natif, la chitine se présente sous forme de microfibrilles cristallines ordonnées qui forment des composants structuraux dans l'exosquelette des arthropodes ou dans les parois cellulaires des champignons et des levures (Rinaudo, 2006).

Tableau 1 : Les différentes sources de chitine et de chitosane (d'après la traduction de l'anglais Rinaudo, 2006).

Animaux marins	Insectes	Microorganismes
Annélides	Scorpions	Algue verte
Mollusque	Araignées	Algue brune
Cœlentéré	Brachiopodes	Levure
Crustacés : Crabes Crevettes Krill Homard	Fourmis	Champignons
	Coléoptères	Spores
		<i>Mycellium penicillium</i>
	Cafard	Chytridiales
		Ascomycètes
		Blastocladiaceae

Le pourcentage de chitine diffère en fonction de la source dans laquelle la chitine est extraite, mais également de l'espèce sur laquelle la chitine est prélevée. En terme général les coquilles de crustacés contiennent entre 30 à 40% de protéines, 30 à 50% de carbonate de calcium, et entre 20 à 30% de chitine (El Knidri et al., 2018). Jusqu'à présent, les sources commerciales de chitine sont les carapaces de crevettes et de crabes.

2. La chitine

2.1 Préparation de la chitine

2.1.1 Morphologie de la chitine

La chitine est un amino-polysaccharide linéaire constitué principalement de *N*-acetyl-d-glucosamine liés en β 1-4. Elle est à ce jour présente sous deux formes allomorphes principales : à savoir la forme α et la forme β (Singh et al., 2017).

Celles-ci peuvent être différenciées par spectroscopie RMN infrarouge et à l'état solide par la diffraction des rayons X.

Des liaisons hydrogènes permettent d'assembler le réseau de chitine lorsqu'elle se présente sous son état solide et en détermine sa solubilité, sa réactivité et son gonflement.

Une troisième forme a été décrite dans la littérature : la γ -chitine.



Figure 1 : Représentation schématique des 3 formes polymorphiques de la chitine (El Knidri et al., 2018)

2.1.1.1 L'alpha-chitine

L' α -chitine est l'allomorphe que nous retrouvons en plus grande quantité parmi les trois formes existantes. Elle est produite par un grand nombre d'animaux marins.

L' α -chitine est également formée par recristallisation de la solution de chitine :

- Par biosynthèse *in vitro*
- Par polymérisation enzymatique, en raison de la forte stabilité thermodynamique de cet isomorphe (Younes and Rinaudo, 2015).

2.1.1.2 La bêta-chitine

L'allomorphe β -chitine est une forme de la chitine que l'on retrouve de manière plus rare, nous la retrouvons principalement en association avec des protéines chez le calamar (Younes and Rinaudo, 2015).

2.1.2 Extraction de la chitine

La chitine est présente dans les coquilles des crabes, crevettes, et crustacés en combinaison avec des protéines et du carbonate de calcium permettant la création d'un maillage formant leur coquille. Lors de l'extraction de la chitine, deux principaux constituants de la coquille doivent être éliminés :

- Les protéines par déprotéinisation,
- Le carbonate de calcium inorganique par déminéralisation.

L'une ou l'autre de ces deux étapes peuvent être permutées (Singh et al., 2017).

Une étape supplémentaire qui consiste à supprimer les colorants peut être effectuée afin d'en éliminer les pigments.

L'extraction de la chitine comprend donc déminéralisation et déprotéinisation, celles-ci pouvant se faire de façon chimique ou de manière enzymatique.

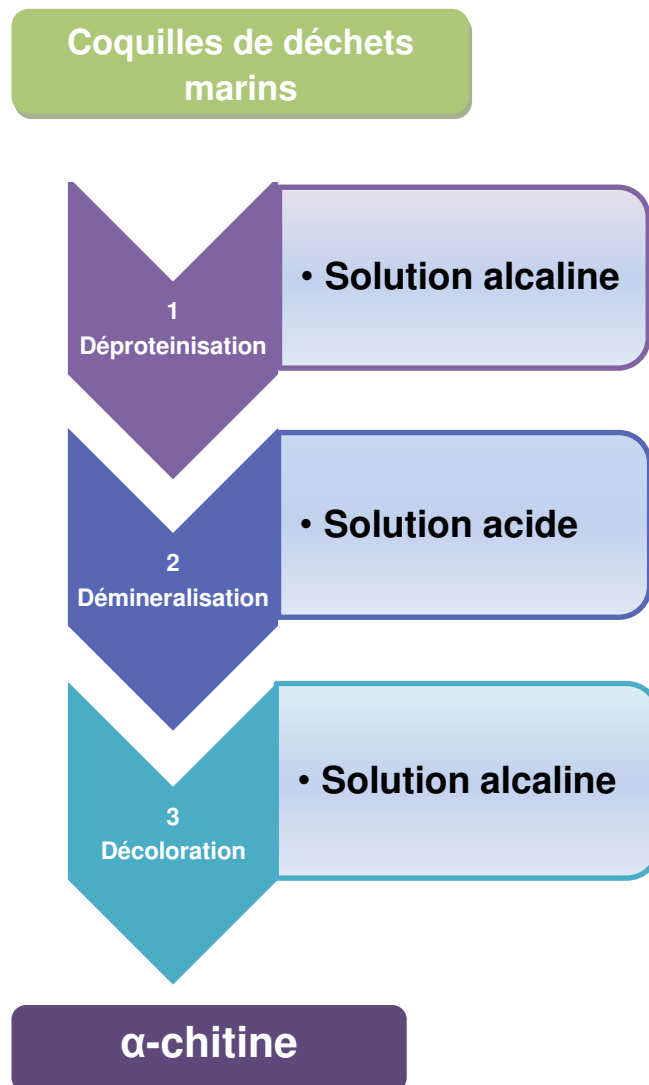


Figure 2 : Processus d'extraction de l'alpha chitine (d'après la traduction de l'anglais (Muxika et al., 2017))

2.1.2.1 Extraction chimique

- Déprotéinisation

L'étape de la déprotéinisation de la chitine permet la rupture des liaisons chimiques entre la chitine et les protéines présentes à l'intérieur des carapaces des crustacés.

Celle-ci est réalisée en utilisant de l'hydroxyde de sodium. La déprotéinisation est une étape importante, notamment pour son utilisation dans le milieu biomédical. En effet la population humaine est exposée aux allergènes provenant de la carapace des crustacés, les protéines contenues dans celle-ci en sont la cause.

L'hydroxyde de sodium est le réactif privilégié, il est appliqué à une concentration de 0,125 à 5,0 M, et à des températures pouvant aller jusqu'à 160°. La durée de la déprotéinisation peut aller de quelques minutes à quelques jours (Younes and Rinaudo, 2015).

- Déminéralisation

La déminéralisation consiste en l'élimination des minéraux, de façon majoritaire du carbonate de calcium. La déminéralisation est en grande majorité réalisée par traitement à l'acide en utilisant le chlorure d'hydrogène.

Elle implique la décomposition du carbonate de calcium en sels de calcium hydrosolubles avec libération de dioxyde de carbone (Rinaudo, 2006).

L'essentiel des autres minéraux présents dans l'exosquelette des arthropodes réagit de manière similaire et donne des sels solubles en présence d'acide. Par la suite les sels sont facilement séparés par filtration de la phase solide de la chitine, suivie d'un lavage en utilisant de l'eau désionisée.

Les traitements de déminéralisation varient selon le degré de minéralisation de chaque coquille, le temps d'extraction, la température, la taille des particules, la concentration d'acide et le rapport soluté / solvant. Afin d'avoir une réaction complète, l'apport d'acide doit être égal à la quantité stœchiométrique de minéraux, ou même supérieure. En effet, comme il est difficile d'en supprimer tous les minéraux, il est alors employé un volume plus important d'acide ou encore une solution d'acide plus concentrée (Younes and Rinaudo, 2015).

- Processus de préservation de la structure

Actuellement aucune étude n'a mené à une production de chitine avec une masse moléculaire et un degré d'acétylation (DA) les plus élevés possible sans minéraux ni protéines. Ces deux propriétés confèrent à la chitine ses propriétés optimales. Seule la désacétylation partielle peut être contrôlée. La dégradation de la chaîne peut également être évaluée par viscosimétrie (Muxika et al., 2017).

Afin d'estimer l'influence du processus d'extraction de la chitine, seul le degré d'acétylation est déterminé en tant qu'indication du degré de dégradation de la chitine.

Une approche proposée par Tolaimate et al. suppose que plus le degré d'acétylation est élevé pour une chitine extraite, moins le polymère est dégradé. Une méthode d'extraction maximisée de la production de chitine pure avec une préservation maximale de sa structure : poids moléculaire et degré d'acétylation, permet d'obtenir la chitine concordant à la chitine native de la structure de la cuticule.

2.1.2.2 Extraction biologique

L'extraction par des traitements chimiques présente de nombreux inconvénients. Celle-ci nuit aux propriétés physico-chimiques de la chitine et amène à une diminution du poids moléculaire ainsi que du degré d'acétylation. Ceux-ci vont alors affecter de manière négative les propriétés intrinsèques de la chitine purifiée (Rinaudo, 2006).

La mise au point de techniques d'extractions écologiques favorisant l'application d'enzymes et de micro-organismes est aujourd'hui promue. Une étude comparative réalisée par Khanafari et al. a montré que pour l'extraction de chitine à partir de carapaces de crevettes, les méthodes biologiques montrent de meilleurs résultats que les méthodes chimiques car celles-ci préservent la structure de la chitine.

Le poids moléculaire de la chitine déprotéinisée est supérieur lorsque la déprotéinisation est réalisée de manière biologique que lorsqu'elle est réalisée de manière chimique (Younes and Rinaudo, 2015).

L'extraction biologique permet une reproductibilité élevée, une manœuvre simplifiée, une diminution de temps, ainsi qu'une consommation de solvant amoindrie. Toutefois cette méthode reste aujourd'hui limitée aux études en laboratoire et ne permet pas l'élimination de l'ensemble des protéines, 5 à 10% de protéines résiduelles supplémentaires ont été mis en évidence par rapport à une déprotéinisation chimique (Rinaudo, 2006).

- Déprotéinisation enzymatique

L'extraction biologique de la chitine nécessite l'utilisation de protéases. Celles-ci proviennent en grande majorité de sources végétales, microbiennes et animales. L'alcalase, la pepsine, la papaïne, la pancréatine, la trypsine éliminent les protéines présentes dans les carapaces des crustacés et restreignent la désacétylation et la dépolymérisation lors de l'isolement de la chitine (El Knidri et al., 2018)

La déprotéinisation enzymatique peut s'effectuer soit après, soit avant l'étape de déminéralisation du matériau solide ce qui en modifie l'accessibilité pour les réactifs.

Des protéases brutes ou purifiées peuvent être utilisées, les protéases purifiées restent néanmoins plus cher que les protéases brutes. Les protéases brutes proviennent des bactéries et de viscères de poissons (Younes and Rinaudo, 2015)

- Fermentation

Le coût d'utilisation des enzymes peut être réduit en procédant à une déprotéinisation par fermentation. Celle-ci est obtenue par des micro-organismes endogènes ou par l'ajout de souches de microorganismes caractéristiques.

Les méthodes de fermentation peuvent être divisées en deux catégories :

La fermentation réalisée par l'acide lactique :

La fermentation des coquilles de crustacées peut être effectuée par une sélection de *Lactobacillus sp.* en tant qu'inoculum qui va alors produire de l'acide lactique et des protéases. Le pH permet de supprimer la croissance des micro-organismes.

L'acide lactique va alors réagir avec le carbonate de calcium, et conduire à la formation d'un précipité de lactate de calcium. Celui-ci séparé des coquilles plus légères qui sont récupérées et rincées à l'eau (Rinaudo, 2006)

Ce processus peut être réalisé sur des coquilles de crustacés purifiés, ou sur des déchets de crevettes complets.

La fermentation non réalisée par l'acide lactique :

Lors de la fermentation sans acide lactique, des bactéries et des champignons sont utilisés pour celle-ci, nous pouvons citer *Bacillus sp*, *Pseudomonas sp* et *Aspergillus sp*.

L'étude de Ghorbel-Bellaaj et al. a démontré que toutes les souches de *Bacillus* étaient capables de déprotéiniser les déchets de crevettes.

Les différentes méthodes biologiques d'extraction de la chitine par des micro-organismes sont simples, plus productives et respectueuses de l'environnement par rapport aux procédés chimiques.

Néanmoins, la fermentation microbienne présente des inconvénients tels que :

- Un temps de traitement plus long par rapport aux méthodes chimiques.
- Un accès plus difficile aux protéases (Younes and Rinaudo, 2015).

Le taux de déprotéinisation peut être amélioré en utilisant des procédés simultanés ou successifs tels que des fermentations en deux étapes ou la co-fermentation de micro-organismes.

Afin d'obtenir de la chitine hautement purifiée, la fermentation doit être complétée par un traitement chimique doux pour éliminer les protéines et les minéraux résiduels (El Knidri et al., 2018).

2.2 Caractérisation de la chitine et solubilité

À l'état solide les chaînes sont parallèles dans la bêta-chitine et antiparallèles dans l'alpha-chitine. Les propriétés physiques de la chitine ne peuvent pas être correctement analysées du fait principalement de la difficulté de dissolution de ce polymère (Muxika et al., 2017).

À l'instar d'autres polysaccharides dérivés de la cellulose, la chitine possède de bonnes propriétés filmogènes et une bonne stabilité, celles-ci elles même favorisées par l'établissement d'un réseau de liaisons hydrogènes entre des chaînes étendues. La chitine confère des propriétés originales aux nouveaux matériaux en raison de sa

biocompatibilité, de sa biodégradabilité, de sa non-toxicité, de son activité antimicrobienne et de sa faible immunogénicité (Muxika et al., 2017).

3. Le chitosane

A l'état solide le chitosane est un polymère se présentant sous forme semi cristalline. Le terme chitosane désigne la famille de polymères obtenus à des degrés de désacétylation divers de la chitine. Le degré d'acétylation reflète l'équilibre entre les deux types de résidus. Ce degré d'acétylation différencie la chitine du chitosane lorsque le pourcentage molaire est inférieur à 50 mol%, le produit est alors appelé chitosane et devient soluble dans les solutions aqueuses acides (Sahariah and Másson, 2017).

Une fois les deux étapes de déminéralisation et de déprotéinisation effectuées, la chitine obtenue va subir un troisième processus de modification qui permettra alors son passage sous la forme de chitosane. Ce sont ces 3 étapes successives qui permettent la transformation de la chitine en chitosane (Younes and Rinaudo, 2015)

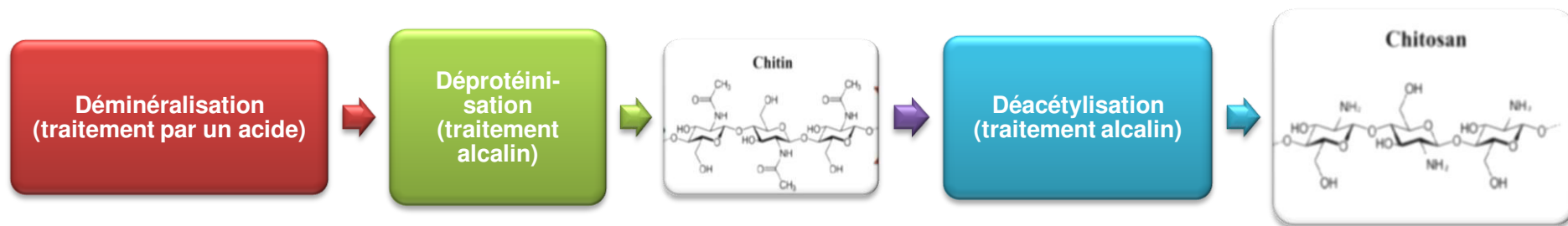


Figure 3 : Processus d'extraction de la chitine et du chitosane (traduction de l'anglais de (El Knidri et al., 2018))

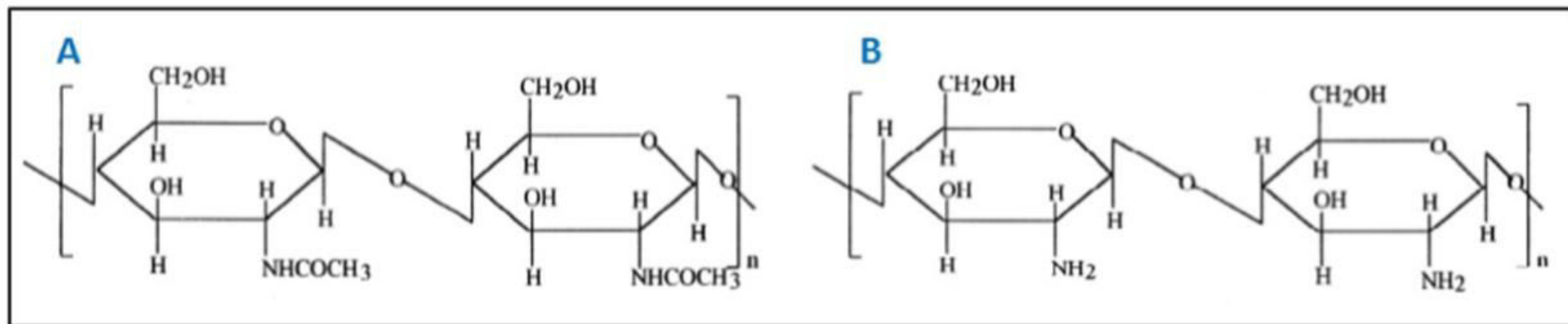


Figure 4 : Structure chimique de la chitine (A) et du chitosane (B) (El Knidri et al., 2018).

3.1 Préparation du chitosane

Le passage de la chitine déprotéinisée au chitosane peut se faire de deux manières différentes :

- Par dé-acétylisation chimique.
- Par dé-acétylisation enzymatique (Younes and Rinaudo, 2015).

3.1.1 Dé-acétylisation chimique

D'un point de vue chimique, la dé-acétylisation de la chitine peut se faire à l'aide d'acides ou d'alcalis. Les liaisons glycosidiques étant très sensibles aux acides, la dé-acétylisation alcaline est alors privilégiée. La N-désacétylisation peut se faire de manière homogène ou hétérogène (Muxika et al., 2017).

3.1.1.1 Procédé hétérogène

La chitine est traitée avec une solution concentrée en hydroxyde de sodium pendant quelques heures. Le chitosane produit se présente sous forme de résidu insoluble désacétylé jusqu'à environ 85%-99% (Younes and Rinaudo, 2015).

3.1.1.2 Procédé homogène

La chitine alcaline est préparée après dispersion de la chitine dans une solution d'hydroxyde de sodium concentrée.

Cette méthode donne un chitosane soluble avec un degré de désacétylation moyen de 48% à 55%, elle permet également de produire une désacétylation avec des groupes acétyles uniformément répartis le long des chaînes.

La solubilité du chitosane peut être caractérisée de deux manières différentes, selon la fraction d'unité 2 acétamido-2-désoxy-D-glucose dans la molécule ou selon la distribution du groupe N-acétyle. Ainsi de nombreuses études ont pu démontrer que selon que la désacétylisation se fasse de manière homogène ou hétérogène, celle-ci va influencer sur la solubilité et le degré d'agrégation du chitosane dans les solutions

aqueuses ce qui entrainera par la suite une modification de ses caractéristiques moyennes (Muxika et al., 2017).

3.1.2 Dé-acétylisation enzymatique

Bien que la désacétylation chimique présente de nombreux avantages, celle-ci reste néanmoins énergivore, augmente sensiblement la pollution environnementale par la production des déchets de solution alcaline de manière concentrée (Rinaudo, 2006) Une méthode alternative enzymatique exploitant les chitines désacétylsées a été mise au point.

L'utilisation de chitine désacétylase pour la conversion de chitine en chitosane, contrairement au procédé chimique actuellement utilisé, offre la possibilité d'un processus contrôlé non dégradable. Il conduit à la production d'un nouveau chitosane bien défini. Cette méthode est spécialement utilisée pour préparer des oligomères de chitosane. La chitine désacétylase catalyse l'hydrolyse des liaisons N-acétamido dans la chitine pour produire du chitosane. La présence de cette activité enzymatique a été rapportée chez plusieurs champignons et espèces d'insectes. Les enzymes les plus étudiées sont celles extraites des champignons *Mucor rouxii*, *Absidia coerulea*, *Aspergillus nidulans* (Younes and Rinaudo, 2015)

Toutes les enzymes sont des glycoprotéines et sont sécrétées soit dans la région péri-plasmique, soit dans le milieu de culture. De plus, toutes les enzymes présentent une stabilité thermique à leur température optimale (50°C) et une très forte spécificité pour les polymères N-acétyl-D-glucosamine liés.

Un prétraitement des substrats de chitine avant l'addition de l'enzyme semble être nécessaire pour améliorer l'accessibilité des groupes acétyl à l'enzyme et donc augmenter le rendement de désacétylation (Younes and Rinaudo, 2015).

3.2 Caractérisation du chitosane et solubilité

Les propriétés de la solution de chitosane dépendent non seulement de son degré d'acétylation moyen mais également de la distribution du groupe acétyl le long de la chaîne principale en plus de son poids moléculaire.

La désacétylation se fait en règle générale à l'état solide et donne une irrégularité de structure en raison du caractère semi-cristallin du polymère initial.

Le degré d'ionisation du chitosane dépend du pH et du pK de l'acide utilisé. La solubilité dépend également de la concentration ionique. Le chitosane est soluble à un pH inférieur à 6 (Muxika et al., 2017).

3.3 Traitement et principales propriétés

Les solutions de chitosane préparées en milieu acide sont traitées selon la configuration requise :

- Immergée dans une solution alcaline (dans laquelle elles précipitent).
- Lavée.
- Séchée.

Le traitement du chitosane est plus facile que celui de la chitine, mais la stabilité du matériau est inférieure en raison de son caractère hydrophile plus important. Pour une meilleure stabilité, le chitosane peut être réticulé à l'aide de réactifs tels que l'épichlorhydrine, le glutaraldéhyde.

De nombreux hydrogels de chitosane sont obtenus par traitement avec des anions multivalents tels que l'acide oxalique ou l'acide citrique (Younes and Rinaudo, 2015).

4. Propriétés biologiques du chitosane

Le chitosane, biopolymère naturel, présente de nombreuses propriétés biologiques.

4.1 Biocompatibilité

Lors de la dégradation du chitosane dans l'organisme celui-ci n'engendre ni réaction inflammatoire ni produits de dégradation toxiques ce qui donne au chitosane sa biocompatibilité (Muxika et al., 2017).

4.2 Activité anti-microbienne

Le chitosane présente une activité antimicrobienne importante. Cependant, les mécanismes d'inhibition ne sont pas encore complètement compris.

L'hypothèse la plus probable, porterait sur une modification de la perméabilité cellulaire due aux interactions entre le polysaccharide chargé positivement, (le chitosane ayant un pH inférieur à 6,5) et la membrane chargée négativement.

En effet le mécanisme permettant l'inhibition bactérienne serait le suivant : le polymère chargé positivement se combine avec les composants anioniques tels que l'acide N-acétylmuramique, l'acide sialique ou encore l'acide neuraminique à la surface de la cellule (Hafsa et al., 2016).

D'autres mécanismes ont par la suite été démontrés :

- Le chitosane de faible poids moléculaire pourrait pénétrer dans la paroi cellulaire d'une bactérie, se combiner à l'ADN et inhiber la transcription de l'ADN en ARNm.
- Le chitosane de haut poids moléculaire quant à lui pourrait interagir avec la surface des cellules et par conséquent en altérer leur perméabilité. Ou encore former une couche imperméable autour de la cellule, bloquant ainsi le transport des solutés essentiels dans la cellule (Hafsa et al., 2016)

Une étude de Chung et al. a confirmé que le mécanisme antibactérien comprenait l'hydrophilie et la charge négative de la surface cellulaire ainsi que l'adsorption de chitosane sur la cellule bactérienne. Ils montrent que l'hydrophilicité de la paroi cellulaire et la charge négative de la surface cellulaire sont plus élevées chez les bactéries à Gram négatif que chez les bactéries à Gram positif et qu'en outre, la distribution des charges négatives à la surface de leurs cellules est assez différente de celle des bactéries à Gram positif.

Les surfaces cellulaires chargées négativement interagissent d'avantage avec le chitosane chargé positivement dans des conditions acides.

L'étude menée en 2016 par Hafsa et al, corrobore que le chitosane désacétylé par méthode classique et le chitosane désacétylé par ultrasons présentent une bonne activité antimicrobienne contre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumonie* et *Candida albicans* et *Candida parapsilosis*. Les résultats de cette étude attestent de la possibilité d'utiliser la chitine et le chitosane comme agent antimicrobien (Hafsa et al., 2016).

4.3 Activité anti-oxydante

L'activité anti-oxydante du chitosane fait l'objet d'un intérêt croissant. Celui-ci agit comme antioxydant en piégeant les radicaux oxygènes tels que :

- Les radicaux hydroxyles.
- Les radicaux superoxydes.
- Les radicaux alkyles.

Sun et al. ont rapporté que le chitosane et ses dérivés agissent en tant que donneur d'hydrogène pour empêcher la séquence oxydative. Les propriétés d'élimination des radicaux libres du chitosane sont également liées à son degré d'acétylation et son poids moléculaire.

Park et al. ont démontré que plus le chitosane est de faible poids moléculaire plus celui-ci a une activité anti-oxydante en comparaison à un chitosane de haut poids moléculaire.

4.4 Activité bio-stimulante

Le chitosane de par sa structure poreuse facilite la pénétration et la liaison à d'autres cellules, notamment les cellules osseuses.

Il affecte également les cellules impliquées dans le processus de formation des os en activant les macrophages et en stimulant les fibroblastes. Il capture et se lie aux agents de croissance, tout en facilitant les processus d'angiogenèse. Le chitosane a un caractère cationique qui lui permet de s'associer à des cellules chargées négativement, telles que des érythrocytes ou des thrombocytes. Cette association

entre chitosane et cellules sanguines stimule une voie de la coagulation extrinsèque (Stępniewski et al., 2017).

Le chitosane favorise la cicatrisation des plaies, notamment lorsqu'il est utilisé sous forme de gels, films ou matrices. Il permet une stimulation du tissu conjonctif plus rapide et donc une cicatrisation de meilleure qualité (Singh et al., 2017).

Partie 2 : Le chitosane matériau de la régénération osseuse guidée (ROG).

Un déficit d'os horizontal et ou vertical sur les sites d'implant peut causer des problèmes cliniques majeurs et doit être corrigé avant la pose de l'implant, une technique d'augmentation de la crête est alors bien souvent nécessaire.

La régénération osseuse guidée est une procédure chirurgicale utilisant des membranes comme barrières.

Elles peuvent être associées :

- À une greffe osseuse particulière.
- À l'utilisation d'un substitut osseux.

La régénération osseuse guidée repose sur un grand principe : la migration de cellules pluripotentes et ostéogéniques vers le site du défaut osseux et de manière coexistante l'exclusion des cellules empêchant la formation d'os notamment les cellules épithéliales et les fibroblastes (Liu and Kerns, 2014).

Pour assurer le succès de la régénération osseuse guidée quatre grands principes doivent être respectés :

- L'exclusion de l'épithélium et du tissu conjonctif.
- Le maintien de l'espace.
- La stabilité du caillot de fibrine.
- La fermeture de la plaie primaire.

1. Membranes de chitosane

Les membranes en chitosane aujourd'hui utilisées en régénération osseuse guidée ne sont pas composées du polymère pur, elles sont utilisées au sein d'un système composite.

Les études actuelles ont montré que les systèmes composites en comparaison à l'utilisation de polymères purs, comme le chitosane, amélioreraient de manière significative les propriétés mécaniques, thermiques et physicochimiques (Tamburaci and Tihminlioglu, 2017).

De plus la consolidation inorganique des polymères purs imite la structure du tissu osseux.

Au cours de ces dernières années de nombreux produits inorganiques de tailles réduites tels que les silicates, la zircone ou encore les nanotubes de carbone ont été utilisés pour préparer les hybrides polymères et, ou des produits inorganiques.

Cet ajout de produits inorganiques au sein du polymère naturel permet d'augmenter la surface volumique.

Cette amélioration de la topographie de surface augmente l'énergie de surface nécessaire à l'adsorption des protéines qui est un processus essentiel pour l'adhésion des cellules à la surface (Tamburaci and Tihminlioglu, 2017).

Les membranes de chitosane peuvent être fabriquées de trois façons :

- Par électrofilage.
- Par coulée en solution.
- Par filage à l'état humide (Norowski et al., 2015).

1.1 Le chitosane matériaux de l'ingénierie des tissus osseux

1.1.1. Le chitosane nanofibré électrofilé.

1.1.1.1. Membrane en nano-fibres et électrofilage

L'électrofilage utilise des fibres polymères à haute tension afin de fabriquer des fibres synthétiques par la suite. L'électrofilage est une technique convenant à la fabrication de membranes fibreuses en effet celui-ci est accessible et reproductible. Les

membranes nanofibrées permettent des échanges fluides et nutritifs au travers de celles-ci. De plus elles ressemblent à la topologie de surface de la matrice extracellulaire. Les pores générés par les membranes nanofibrées sont trop petits pour permettre une infiltration cellulaire.

En utilisant les techniques d'électrofilage, les membranes fibreuses pour la régénération osseuse guidée sont biomimétiques, et permettent une meilleure régénération osseuse qu'avec l'utilisation d'une membrane filée à l'état humide (Shin et al., 2005).

Les membranes de chitosane électrofilées facilitent d'avantage la formation osseuse dans les défauts osseux de taille critique que les témoins (sans utilisation de membranes) après 4 semaines dans la calvaria de lapin (Shin et al., 2005).

1.1.1.2. Principe

L'étude de Norowski et al., 2015, a pour but d'étudier la réticulation du chitosane par la génipine (dérivé de la géniposide présent dans le fruit du gardenia, et étant un excellent agent de réticulation du chitosane). Cette réticulation permet d'en améliorer les propriétés mécaniques, et d'en prolonger le délai de dégradation à 16 semaines au lieu de 4 semaines pour le chitosane réticulé seul.

Des cellules ostéoblastiques humaines sont implantées (SAOS-2) sur des membranes en chitosane (réticulée et non réticulée), cultivées dans des puits, pour en étudier la viabilité et la prolifération. L'étude, sur cinq jours, sur la croissance cellulaire montre que les membranes de chitosane sont cytocompatibles et permettent l'adhésion et la prolifération des ostéoblastes.

La réticulation des membranes de chitosane par la génipine n'affecte pas la prolifération et la viabilité cellulaire. Les résultats corroborent que la génipine peut être utilisée pour réticuler les membranes de chitosane électrofilées sans en modifier sa cytocompatibilité (Norowski et al., 2015).

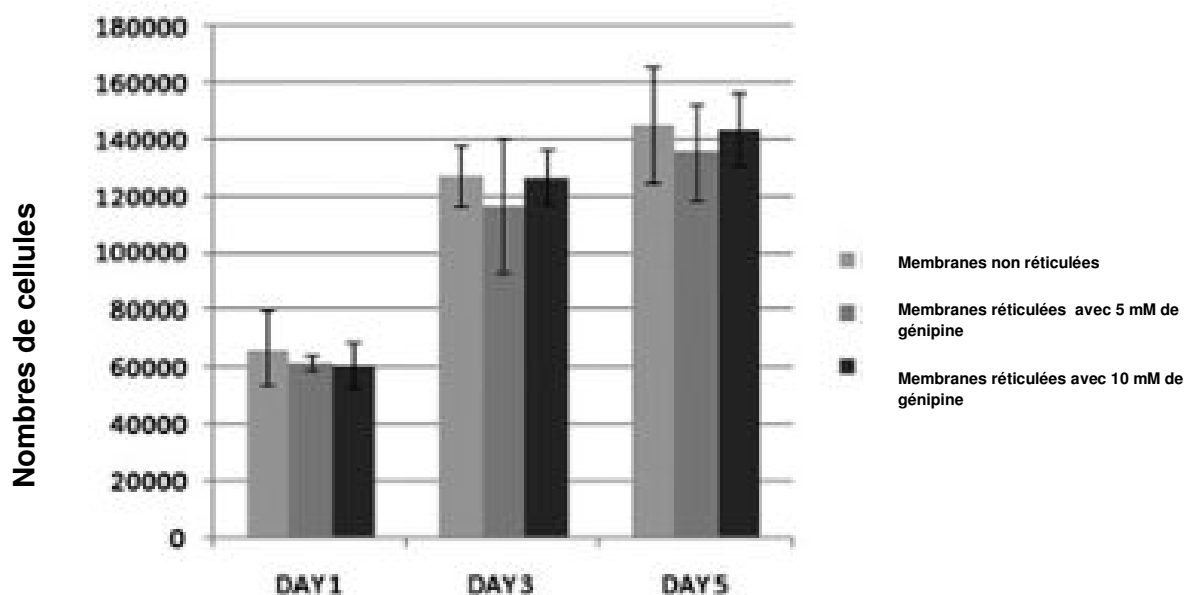


Figure 5 : Nombre de cellules SAOS présentes sur la membrane au bout de 1 à 5 jours de culture. Déterminé par une courbe standard des densités de cellulesensemencées 12h avant la lecture (Norowski et al., 2015).

De plus les résultats démontrent que la génipine peut être utilisée pour réticuler le chitosane afin d'en augmenter ses propriétés mécaniques, d'en maintenir la morphologie nanofibreuse et d'en favoriser la prolifération cellulaire.

Le chitosane électrofilé nanofibré, avec ou sans réticulation par la génipine, a des propriétés mécaniques, un taux de dégradation et une cytocompatibilité suffisants pour une utilisation dans la régénération osseuse guidée. Ces constatations justifient la mise en place d'études *in vitro* comparatives avec des matériaux commerciaux à base de collagène pour en étudier leur efficacité respective dans la régénération osseuse guidée (Norowski et al., 2015).

1.1.2. Étude d'une membrane composite POSS/Chitosane

1.1.2.1. POSS

Le polyhedral oligomeric silsesquioxane (POSS) est une silice spécialement conçue avec des structures de cage bien définies, qui contiennent une cage silicium /oxygène (inorganique) et des groupes fonctionnels hydrocarbonés (organique) (Li et al., 2001).

Les groupes organiques forment des liaisons covalentes et non covalentes avec le polymère hôte en l'occurrence ici le chitosane.

1.1.2.2. Principe

Dans l'étude de Tamburaci and Tihminlioglu, 2017, les membranes composites de chitosane/POSS ont été préparées par un procédé de coulée en solution. Les nanoparticules de POSS sont dispersées puis intégrées aux membranes de chitosane. L'étude est réalisée *in vitro*.

En comparaison avec une membrane de chitosane pure, l'incorporation de nanoparticules POSS augmente la surface de rugosité et en altère sa topographie de surface. Cette rugosité est un phénomène important afin que la prolifération et l'adhésion cellulaire soient effectives dans la régénération des tissus. Les micrographies par fluorescence ci-dessous, montrent que cette topographie de surface altérée, promeut l'adhésion cellulaire à la surface des membranes.

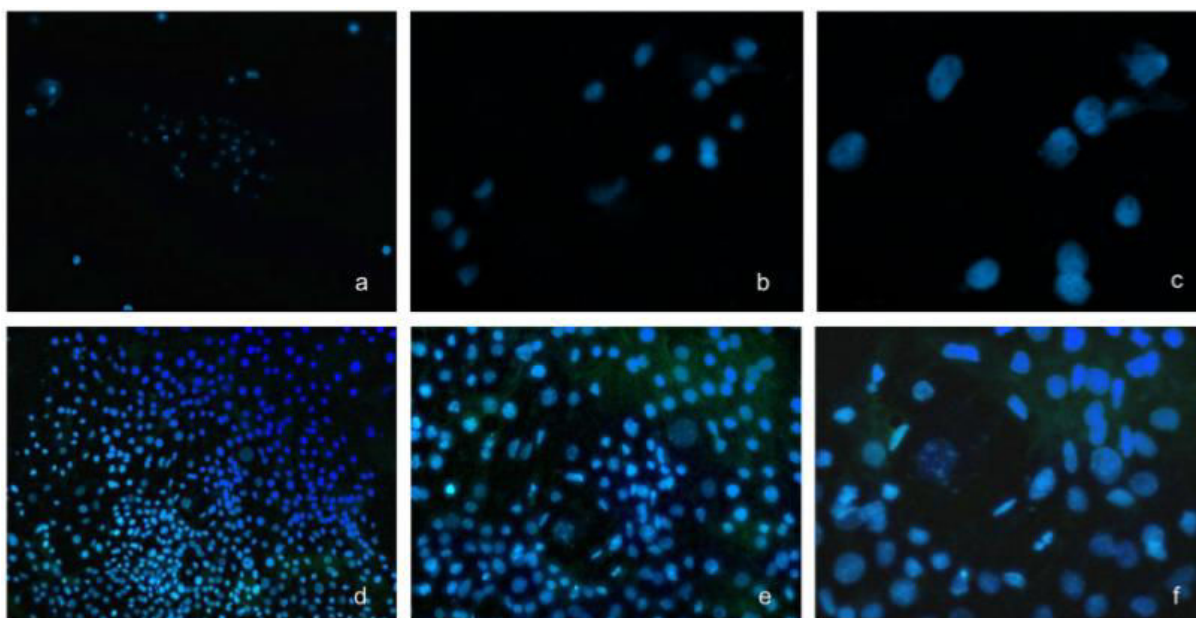


Figure 6 : Micrographie par fluorescence de cellules SAOS-2 cultivées sur des membranes de chitosane (a, b, c) et des membranes POSS/chitosane 5% (d, e, f) pendant 7 jours (Tamburaci and Tihminlioglu, 2017).

L'adsorption de protéines est également un des processus les plus importants pour l'initiation de l'interaction cellule-matrice via les intégrines et la régulation de la migration, de la propagation, et de la prolifération cellulaires. L'étude de Tamburaci and Tihminlioglu, montre que l'incorporation de POSS améliore l'adsorption de

protéines sur la surface de chitosane et que les protéines de membranes de chitosane / POSS adsorbent les protéines progressivement avec le temps.

La bio-activité des membranes composites a été déterminée par des études de culture cellulaire *in vitro*. Afin d'en examiner la cytotoxicité, les membranes composites ont été extraites pendant 24 heures dans un milieu de culture à 37°. Le pourcentage de viabilité cellulaire n'a été déterminé qu'à 24h, 48h et 72h. Les membranes de chitosane/POSS n'attestent d'aucun effet cytotoxique sur les lignées de cellules 3T3 (fibroblastes) et SAOS-2 (osteogenic sarcoma cell line). La prolifération de SAOS-2 sur les membranes nano-composites de chitosane/POSS s'est avérée significativement plus élevée que sur les membranes de chitosane.

L'activité de la phosphatase alcaline est un marqueur important pour la différenciation de pré-ostéoblastes en ostéoblastes matures avant le processus de biominéralisation de la régénération osseuse. Cette activité a été déterminée pour les cellules SAOS-2 cultivées sur des membranes composites. Les résultats ont montré que l'incorporation de POSS augmente de manière non négligeable l'activité de la phosphatase alcaline pour une incubation de 14 jours

Afin de confirmer cette nouvelle membrane composite POSS/chitosane comme un biomatériau potentiel pour la régénération osseuse guidée des études *in vivo* devront être réalisées (Tamburaci and Tihminlioglu, 2017).

1.1.3. Étude d'une membrane de chitosane enrichie en cuivre

1.1.3.1. Cuivre

Le chitosane, polymère naturel forme un complexe chélatant avec les ions métalliques. Les ions cuivre quant à eux interagissent fortement avec le chitosane (Rhazi et al., n.d). La chélation entre les ions de chitosane et de cuivre qui se produit à travers les quatre ligands d'azote est responsable de la formation d'un gel de chitosane compacté.

Au-delà des rôles physiologiques connus du cuivre dans les réactions enzymatiques ainsi que les fonctions protéiques, il a également été démontré que ce dernier agissait comme un stimulateur endogène de l'angiogenèse en induisant la migration et la prolifération de cellules endothéliales. Le cuivre induit une croissance endothéliale vasculaire (Sen et al., 2002).

La qualité du tissu en régénération s'est améliorée avec une plus grande densité de cellules dans la couche de granulation des plaies traitées au cuivre. Les voies sensibles au cuivre sont impliquées dans la régulation des médiateurs clés de la régénération tissulaire, tels que :

- L'angiogenèse
- Le remodelage de la matrice extracellulaire tissulaire (D'Mello et al., 2015)

1.1.3.2. Principe

Dans l'étude de D'Mello et al., les membranes de chitosane sont préparées par ajout de solution de chitosane à une solution de cuivre dans un tampon d'acétate. Le mélange est agité, incubé à température ambiante, puis lyophilisé pour en éliminer l'intégralité du solvant. Cette préparation permet la formation spontanée d'un gel de chitosane.

L'étude *in vivo* se déroule de la manière suivante : des défauts osseux sont créés sur la calvaria de rat. Trois groupes sont aléatoirement formés :

- Groupe 1 : absence de membrane recouvrant le défaut créé.
- Groupe 2 : membrane de chitosane seul recouvrant le défaut créé.
- Groupe 3 : membrane de chitosane enrichie en cuivre recouvrant le défaut créé.

Les rats sont euthanasiés au bout de 4 semaines.

La mise en place d'une membrane sur le défaut osseux permet de créer et de maintenir un espace tridimensionnel au sein du défaut réalisé. Cette membrane

facilite le recrutement des cellules osseuses, favorise la migration cellulaire, l'attachement, la croissance et la différenciation de ces cellules.

Les images de scanner à haute résolution montre une formation osseuse irrégulière (a) sur la calvaria du groupe 1, une formation osseuse avec des régions minéralisées plus organisées sur le pourtour du défaut sur la calvaria du groupe 2 (b), une formation de tissu minéralisé importante dans la zone du défaut de la calvaria pour le groupe 3 (c).

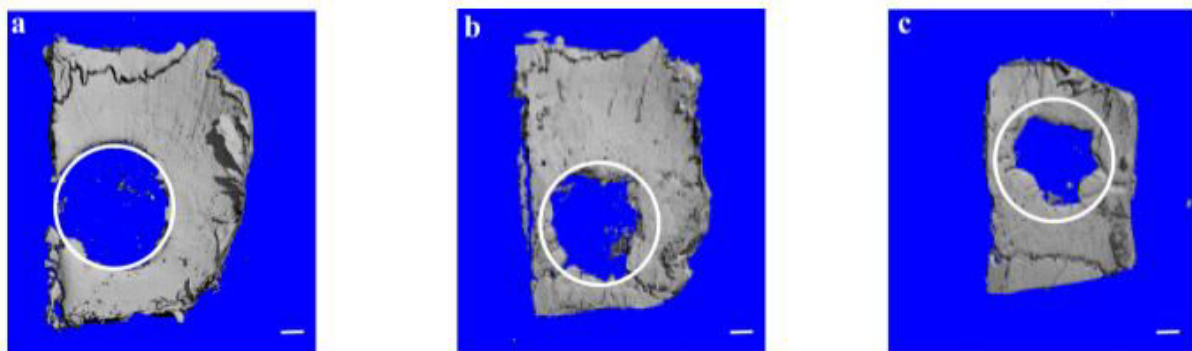


Figure 7 : Images de scanner à haute résolution, montrant la régénération osseuse guidée, du groupe 1 (a), groupe 2 (b), groupe 3 (c) (D'Mello et al., 2015)

Les données histologiques montrent que la minéralisation démarre à partir de 4 semaines *in vivo*. Le cuivre est libéré progressivement de la matrice de chitosane en dégradation, ce qui entraîne ensuite une prolifération des cellules endothéliales conduisant à une nouvelle croissance des vaisseaux sanguins et à un recrutement d'ostéoprogéniteurs dans l'échafaudage.

Les échafaudages de chitosane chargés en cuivre favorisent la cicatrisation des défauts osseux chez les rats sur des défauts calvariaux. Ils permettent l'amélioration du processus de régénération osseuse (D'Mello et al., 2015).

1.1.4. Étude d'une membrane de chitosane enrichie en polycaprolactone (PCL)

1.1.4.1. PCL

Le polycaprolactone est un polymère ayant une utilité importante de par ses propriétés mécaniques, sa biodégradabilité et de sa miscibilité avec d'autres biopolymères et notamment le chitosane (Labet and Thielemans, 2009).

L'association du polycaprolactone et du chitosane avec un rapport de masse différent permet de pallier au déficit de propriétés mécaniques de l'un et l'autre. Cette association potentialise les effets du chitosane et du polycaprolactone dans la régénération osseuse guidée, en combinant leurs avantages et en surmontant leurs inconvénients (He et al., 2017).

1.1.4.2. Principe

L'étude de He et al., 2017 consiste à créer trois membranes avec des rapports massiques en chitosane (CS) /polycaprolactone (PLC) différents :

- Membrane 1 : CS 0%-PLC 100%
- Membrane 2 : CS 50%-PLC 50%
- Membrane 3 : CS 30%-PLC 70%

Les membranes nanofibreuses sont préparées par électrofilage. Des cellules souches mésenchymateuses dérivées de la moelle osseuse de rat (rBMSC) sont prélevées sur des fémurs de rats âgés de 5 semaines, elles sont par la suite mises en cultures sur les membranes CS/PLC.

L'adhérence cellulaire sur les trois membranes nanofibreuses est mesurée par microscopie électronique. Le nombre de cellules de rBMSC augmente sur les trois membranes pendant la période de culture

Le nombre de cellules de la membrane avec un rapport CS / PCL de 30/70 est supérieur à celui de la membrane avec un rapport CS / PCL de 0/100 ou avec un rapport CS / PCL de 50/50.

Les membranes nanofibreuses CS / PCL permettent une augmentation du dépôt de calcium extracellulaire dans les BMSC après 21 jours.

Cette augmentation suggère que les membranes nanofibreuses CS / PCL ont une capacité ostéogénique.

La membrane nanofibreuse CS / PCL (30/70) favorise une prolifération accrue des rBMSC par rapport aux membranes CS / PCL (50/50) et pure PCL (0/100). L'activité de la phosphatase alcaline et le dépôt de calcium extracellulaire les plus élevés sont observés sur la membrane nanofibreuse CS / PCL (30/70), suivis par la membrane nanofibreuse CS / PCL (50/50) et enfin celle de PCL pur.

Tableau 2 : Activité de la phosphatase alcaline de rBMSC cultivées sur trois types de membranes nanofibreuses (traduction de l'anglais (He et al., 2017))

Groupe	Activité de la phosphatase alcaline à 7 jours	Activité de la phosphatase alcaline à 14jours
A : CS/PLC 0/100	3,16	7,45
B : CS/PLC 50/50	4,98	13,65
C : CS/PLC 30/70	5,49	14,16
Groupe contrôle (rBMSC cultivées sans membranes nanofibreuses)	2,08	4,37

L'expression de l'ostéocalcine (hormone protéique spécifique des tissus osseux) et de Runx2 (facteur de transcription clé associé à la différenciation des ostéoblastes) est plus élevée sur la membrane nanofibreuse de CS / PCL (30/70, 50/50) par rapport à la membrane nanofibreuse PCL pure.

L'utilisation du chitosane en association avec du polycaprolactone sous forme d'une membrane nanofibreuse se révèle être un matériau biocompatible capable de stimuler la prolifération des rBMSC, et la différenciation ostéogénique.

La membrane composite nanofibreuse de CS / PCL a un potentiel intéressant en tant qu'utilisation comme matériau de la régénération guidée (He et al., 2017).

1.1.5. Étude d'une membrane de chitosane enrichie en magnésium

1.1.5.1. Magnésium

Le magnésium et ses alliages en raison de leur biocompatibilité, de leurs bonnes propriétés mécaniques, et de leur capacité à promouvoir une activité ostéogénique sont utilisés en tant que nouvelle classe de matériaux biodégradables pour l'ingénierie du tissu osseux. L'utilisation de magnésium lors de la fabrication des membranes de chitosane permet d'en renforcer leurs propriétés mécaniques.

1.1.5.2. Principe

L'étude de Guo et al., 2019 se déroule en deux temps, dans un premier temps l'étude est réalisée de manière *in vitro*, puis dans un second temps l'étude est réalisée de manière *in vivo* sur la calvaria de lapins.

L'étude *in vitro* consiste en l'ensemencement des membranes de magnésium/chitosane et des membranes collagénique par des cellules de type MG63. Les résultats des tests d'adhésion cellulaire et de cytotoxicité permettent de conclure que la membrane de chitosane/magnésium permet l'adhésion cellulaire et leur prolifération et que ces membranes sont biocompatibles (Guo et al., 2019). Les résultats de l'activité de la phosphatase alcaline montrent une activité supérieure des cellules ensemencées sur les membranes que celles n'étant ensemencées sur aucune membrane.

L'étude *in vivo* quant à elle consiste à créer des défauts de 6mm de diamètre, sur la calvaria de 42 lapins, ceux-ci sont dispersés dans trois groupes de façon aléatoire.

- Groupe 1 : défaut recouvert par la membrane chitosane/magnésium.
- Groupe 2 : défaut recouvert par la membrane collagénique Heal-All ®.
- Groupe 3 : absence de membrane.

Les lapins sont euthanasiés à 6 et 12 semaines post-chirurgie.

Les résultats histologiques, histomorphométriques et radiologiques montrent une régénération osseuse similaire entre les groupes traités par la membrane chitosane/magnésium, et la membrane collagénique Heal-All®.

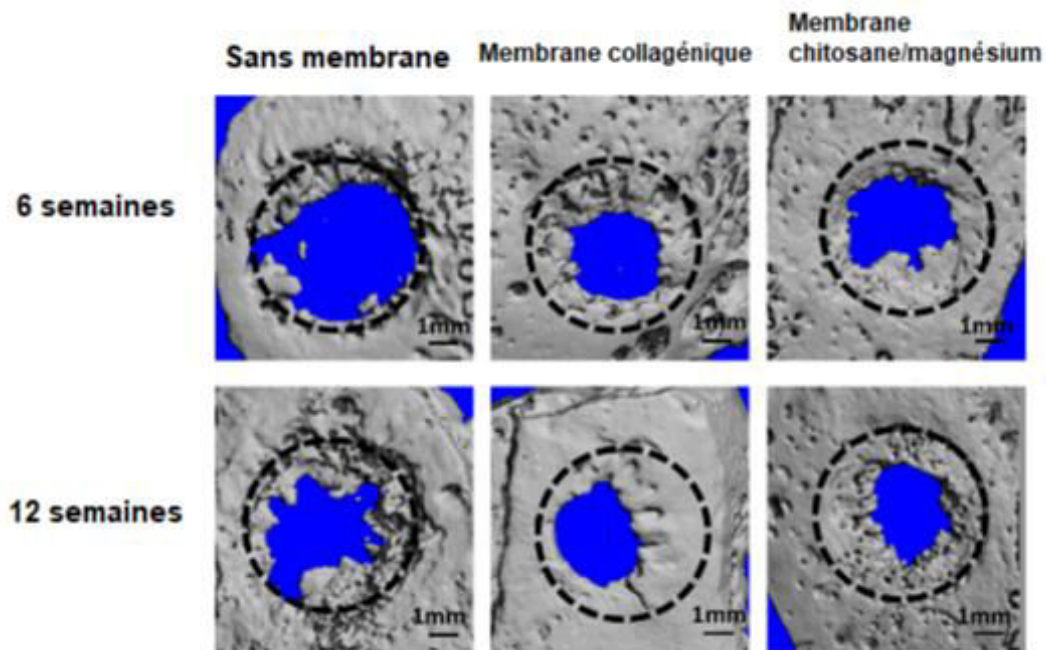


Figure 8 : Image de microscopie montrant la régénération osseuse sur les différents groupes traités et non traités (Guo et al., 2019).

Les résultats de cette étude comportent des points à améliorer, aucun test lors de l'étude *in vitro* n'a été réalisé avec des cellules souches mésenchymateuses. L'échantillon contient une petite population de lapin qu'il est souhaitable d'augmenter afin d'obtenir des résultats significatifs. Toutefois la membrane de chitosane/magnésium présente une capacité à la régénération osseuse guidée.

1.2 Résultats

Tableau 3 : Comparaison des différentes membranes de chitosane enrichies (liste non exhaustive) et de leurs rôles en tant que biomatériau de l'ingénierie osseuse.

Type de membranes en chitosane		Membrane en nanofibre électrofilée	Membrane enrichie en POSS	Membrane enrichie en cuivre	Membrane enrichie en PLC	Membrane enrichie en magnésium
Étude	<i>In vitro</i>	x	x		x	x
	<i>In vivo</i>			x		x
Adhésion cellulaire		Oui	Oui	Oui	Oui	Oui
Activité de la phosphatase alcaline		+	+	+	+	+
Matériau de l'ingénierie des tissus osseux (participe à la ROG)		Oui sous réserve d'étude <i>in vivo</i>	Oui sous réserve d'étude <i>in vivo</i>	Oui	Oui sous réserve d'étude <i>in vivo</i>	Oui sous réserve d'étude avec un échantillon de cas supérieur

2. Comparaison de l'efficacité dans la régénération osseuse guidée (ROG) de membranes de chitosane face à des membranes collagéniques standards

2.1 Étude d'une membrane de chitosane/collagène dans la ROG

2.1.1. Étude de Li et al.

L'étude de Li et al., 2014 se propose de comparer l'utilisation d'une membrane collagénique standard (BioGide®) avec l'utilisation d'une membrane collagénique enrichie en chitosane dans le traitement des déhiscences osseuses par régénération osseuse guidée sans utilisation de substitut et d'en comparer l'efficacité.

2.1.1.1. Principe

Douze chiens jeunes adultes ont été utilisés dans cette étude expérimentale.

- Membranes utilisées

Les membranes sont les suivantes :

- Membrane chitosane/collagène : Deux membranes de concentration différente de chitosane sont créées une à 1% et l'autre à 2%.
- Membranes collagéniques : les membranes collagéniques utilisées sont des membranes Bio-Gide® Geistlich AG.

- L'expérimentation clinique

L'expérimentation clinique se déroule en 3 phases :

La 1^{ère} phase chirurgicale consiste en l'extraction des deuxième, troisième, quatrième prémolaires mandibulaires droites ainsi que de la première molaire. Ces avulsions ont lieu sous anesthésie générale et sous infiltration locale. Des lambeaux muco périostés sont levés, les racines sont séparées. Puis le site est suturé et refermé en attendant la cicatrisation osseuse de 4 mois.

La 2^{nde} phase chirurgicale consiste à réaliser une incision supra crestal avec décollement d'un lambeau de pleine épaisseur et de créer artificiellement des déhiscences osseuses d'environ 4 mm de hauteur et de 3 mm de largeur. 4 implants juxta osseux distants de 10mm de 3,3 mm de diamètre et de 10 mm de long sont posés.

À la suite de cette deuxième phase chirurgicale 4 groupes sont formés :

- Groupe 1 : membrane chitosane (2%) / collagène
- Groupe 2 : membrane chitosane (1%) / collagène
- Groupe 3 : membrane de collagène Biogide® (CM).
- Groupe 4 : défaut osseux non traité.

L'intégralité des membranes sont coupées de manière à couvrir l'os alvéolaire environnant. Les implants sont mis en nourrice le temps de la période de cicatrisation, une antibiothérapie prophylactique est mise en place en post opératoire pendant 3 jours.

La 3^{ème} phase chirurgicale consiste en l'euthanasie des animaux à 4, 8 et 12 semaines respectivement, 1 par groupe et par temps de cicatrisation, et à la préparation de blocs contenant les implants prélevés. Les radiographies sont réalisées avant l'étude histologique des différents échantillons prélevés.

Aucune membrane n'a été exposée, aucune infection ne s'est développée, et aucun implant n'a été perdu pendant les périodes de cicatrisation.

2.1.1.2. Résultats

- Résultats radiographiques

Les auteurs n'observent pas de différences significatives entre les différents groupes traités au même moment par régénération osseuse guidée avec membrane.

Tableau 4 : Résultats radiographiques de l'étude comparatives d'une membrane chitosane/collagène – collagène d'après (Li et al., 2014)

	Groupe 1 : membrane chitosane 2%-collagène.	Groupe 2 : membrane chitosane 1%-collagène.	Groupe 3 : membrane collagénique.	Groupe 4 : non traité.
Cicatrisation à 4 semaines (4s)	Hauteur osseuse vestibulaire inférieure à celle de 8 et 12s.	Hauteur osseuse vestibulaire inférieure à celle de 8 et 12s.	Hauteur osseuse vestibulaire inférieure à celle de 8 et 12s.	/
Cicatrisation à 8 semaines (8s)	Hauteur osseuse vestibulaire supérieure à celle de 4s.	Hauteur osseuse vestibulaire supérieure à celle de 4s.	Hauteur osseuse vestibulaire supérieure à celle de 4s.	/
Cicatrisation à 12 semaines (12s)	Hauteur osseuse vestibulaire supérieure à celle de 4s et proche de la hauteur de la crête osseuse linguale.	Hauteur osseuse vestibulaire supérieure à celle de 4s et proche de la hauteur de la crête osseuse linguale.	Hauteur osseuse vestibulaire supérieure à celle de 4s et proche de la hauteur de la crête osseuse linguale.	/

- Résultats histologiques

Tableau 5 : Résultats histologiques de l'étude comparatives d'une membrane chitosane/collagène – collagène d'après (Li et al., 2014)

	Groupe 1 : membrane chitosane 2%-collagène.	Groupe 2 : membrane chitosane 1%-collagène.	Groupe 3 : membrane collagénique.	Groupe 4 : non traité.
Cicatrisation à 4 semaines	Invasion abondante d'os trabéculaire et médullaire. Les espaces et le tissu fibreux séparant l'os trabéculaire des surfaces de l'implant, entraînent une perte de densité osseuse.	Invasion abondante d'os trabéculaire et médullaire. Les espaces et le tissu fibreux séparant l'os trabéculaire des surfaces de l'implant, entraînent une perte de densité osseuse.	Invasion abondante d'os trabéculaire et médullaire. Les espaces et le tissu fibreux séparant l'os trabéculaire des surfaces de l'implant, entraînent une perte de densité osseuse.	Peu de néoplasie osseuse.
Cicatrisation à 8 semaines	Os trabéculaire presque transformé en os tissé mature, à fibres parallèles. Jonction entre l'os tissé et l'os natif distinctement observée.	Os trabéculaire presque transformé en os tissé mature, à fibres parallèles. Jonction entre l'os tissé et l'os natif distinctement observée.	Os trabéculaire presque transformé en os tissé mature, à fibres parallèles. Jonction entre l'os tissé et l'os natif distinctement observée.	/

Cicatrisation à 12 semaines	Os primaire remodelé et remplacé par un os dense et mature, l'os nouvellement formé se distingue de façon moins systématique de l'os primitif.	Os primaire remodelé et remplacé par un os dense et mature, l'os nouvellement formé se distingue de façon moins systématique de l'os primitif.	Os primaire remodelé et remplacé par un os dense et mature, l'os nouvellement formé se distingue de façon moins systématique de l'os primitif.	/
------------------------------------	--	--	--	---

- Résultats histomorphométriques

Tableau 6 : Résultats histomorphométriques après cicatrisation de 4 semaines (traduction de l'anglais (Li et al., 2014))

	Groupe contrôle	Membrane collagénique	Membrane chitosane collagène 2%	Membrane chitosane collagène 1%
Longueur du défaut (mm)	3.90	3.80	4.08	3.89
Nouvelle hauteur d'os (mm)	1.24	1.40	1.23	1.11
Gain osseux vertical (%)	34.23	37.26	30.20	28.71
Contact os-implant (%)	16.37	19.48	17.0	16.18
Nouvelle zone osseuse (mm²)	1.06	1.48	1.50	1.05

Tableau 7 : Résultats histomorphométriques après cicatrisations de 8 semaines (traduction de l'anglais (Li et al., 2014))

	Groupe contrôle	Membrane collagénique	Membrane chitosane collagène 2%	Membrane chitosane collagène 1%
Longueur du défaut (mm)	4.40	3.70	4.01	4.05
Nouvelle hauteur d'os (mm)	0.74	1.1	1.48	1.40
Gain osseux vertical (%)	17.47	29.71	36.73	34.64
Contact os-implant (%)	32.69	42.01	48.57	39.66
Nouvelle zone osseuse (mm²)	1.51	0.97	1.23	0.85

Tableau 8 : Résultats histomorphométriques après cicatrisation de 12 semaines (traduction de l'anglais (Li et al., 2014))

	Groupe contrôle	Membrane collagénique	Membrane chitosane collagène 2%	Membrane chitosane collagène 1%
Longueur du défaut (mm)	3.92	4.06	3.82	4.13
Nouvelle hauteur d'os (mm)	1.20	1.58	1.91	1.77
Gain osseux vertical (%)	30.54	39.06	49.88	42.91
Contact os-implant (%)	28.66	55.22	56.76	42.65
Nouvelle zone osseuse (mm²)	0.84	1.11	1.40	1.13

Les observations histologiques ainsi que les analyses histomorphométriques réalisées dans cette étude ne montrent aucune différence significative entre l'utilisation d'une membrane de chitosane/collagène et une membrane de collagène standard.

Néanmoins l'utilisation d'une membrane collagénique combinée à l'utilisation du chitosane prend part à améliorer la régénération osseuse guidée. L'utilisation d'une membrane de collagène/chitosane met en évidence un gain osseux vertical supérieur en comparaison au groupe non traité. La rigidité et la fonction barrière de la membrane chitosane/collagène doivent être améliorées pour une meilleure application dans la régénération osseuse guidée.

2.1.2. Étude de Lofti et al., 2016

L'étude Lofti et al. se propose d'étudier l'utilisation de deux membranes de collagène enrichies en chitosane dans la régénération osseuse guidée, l'une avec du chitosane électrofilé, l'autre sans chitosane électrofilé face à une membrane collagénique standard type Biogide ®. Une partie de l'étude est réalisée *in vitro* et l'autre partie de l'étude *in vivo* sur des défauts calvariaux de lapin.

2.1.2.1. Principe

L'étude *in vitro* consiste en la mise en culture de cellules souches mésenchymateuses (prélevées dans le fémur de lapins) sur les trois membranes différentes. L'étude *in vivo* consiste quant à elle à créer des défauts osseux sur les crânes de 10 lapins adultes.

- Type de membranes utilisées :

Trois membranes sont utilisées pour cette étude expérimentale

- Une membrane collagénique BioGide ®.
- Une membrane chitosane/collagène.
- Une membrane chitosane nanofibré/collagène.

- Expérimentation clinique

L'expérimentation clinique se déroule comme suit : 4 défauts osseux de 6 mm sont créés sur la calvaria de chaque lapin, chacun des défauts est recouvert par des membranes différentes :

- Défaut 1 : membrane collagénique.
- Défaut 2 : membrane chitosane/collagène.
- Défaut 3 : membrane chitosane électrofilé/collagène.
- Défaut 4 : absence de membrane.

Les lapins sont euthanasiés au bout de un à deux mois post-chirurgie puis les défauts sont étudiés.

2.1.2.2. Résultats

L'étude *in vitro* nous rapporte ces résultats : les membranes de collagène/chitosane-électrofilé permettent une prolifération de cellules ostéogéniques plus élevée par rapport aux membranes de chitosane-collagène et de chitosane seul. Les membranes de collagène/chitosane-électrofilé induisent une expression de gènes ostéogéniques tels que l'ostéocalcine, RUNX2 dans les cellules souches mésenchymateuses. De plus, l'activité de la phosphatase alcaline a été observée de manière plus importante que celle produite par les cellules des trois autres groupes.

L'étude *in vivo* nous rapporte ces résultats : une plus grande formation osseuse a été décelée dans les défauts recouverts par les membranes de collagène/chitosane-électrofilé et par les membranes collagéniques que les défauts recouverts par la membrane de chitosane seule et ceux non recouverts.

Ces résultats suggèrent que la membrane de collagène/chitosane-électrofilée pourrait être utilisée comme matériau pour la régénération osseuse guidée (Lotfi et al., 2016).

2.2 Étude d'une membrane de chitosane enrichie en hydroxyapatite

2.2.1 Étude de Baek et al., 2016

L'étude de Baek et al., 2016 se propose de comparer la nouvelle formation osseuse et la cicatrisation de défauts crâniens chez le rat en utilisant une membrane de chitosane-fibroïne-hydroxyapatite et de la comparer à la membrane collagénique (Bio-Gide®).

2.2.1.1 Principe

54 rats jeunes sont utilisés pour l'expérimentation.

- Expérimentation clinique

Les animaux sont anesthésiés. Un défaut osseux d'environ 8 mm de diamètre est créé sur la calvaria des rats. Ce défaut est considéré comme un défaut osseux de taille critique, en effet celui-ci ne guérit pas de façon spontanément pendant la vie de l'animal.

Trois groupes sont alors formés :

- Groupe expérimental de 18 rats : la membrane de chitosane-hydroxyapatite-fibroïne (CNF/HAP) est appliquée de façon à recouvrir l'intégralité du défaut.
- Groupe témoin de 18 rats : la membrane de collagène résorbable (BioGide ®) est mise en place de façon à recouvrir l'intégralité du défaut osseux.
- Groupe témoin négatif de 18 rats : aucune membrane n'est utilisée pour refermer le défaut osseux.

Une antibioprophylaxie est mise en place sur l'ensemble des rats. Dans chaque groupe, six animaux sont euthanasiés à 2, 4 et 8 semaines après la chirurgie.

2.2.1.2 Résultats

Les résultats à deux semaines post opératoires montrent une tendance similaire dans le volume osseux pour les groupes traités par les membranes collagéniques ou d'hydroxyapatite/chitosane/fibroïne (Figure 9).

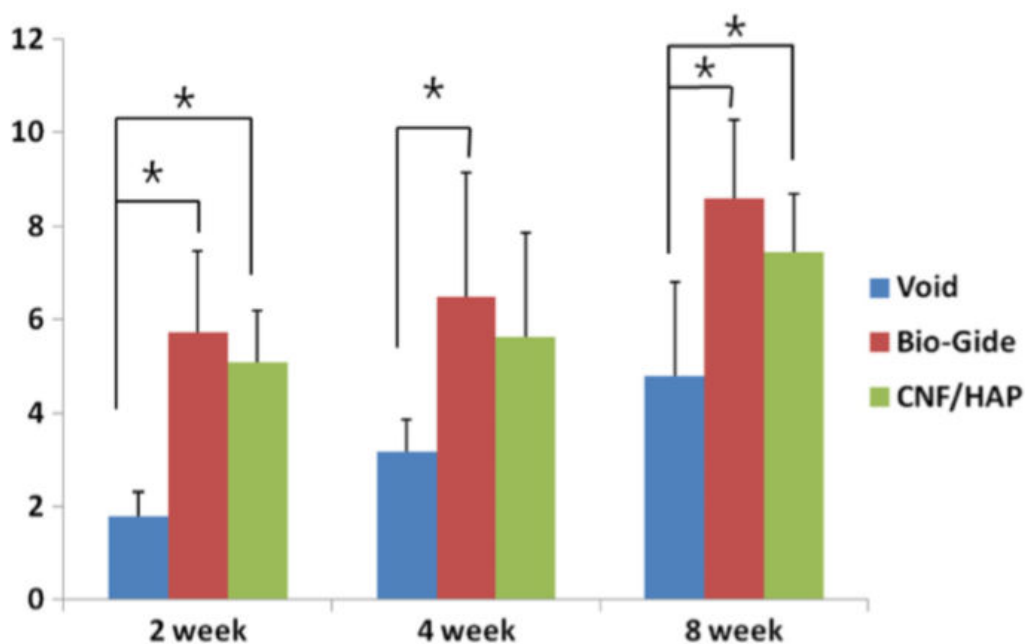


Figure 9 : Mesure du volume osseux en mm^3 par micro tomodensitométrie (Baek et al., 2016).

A 4 semaines post-opératoires, les auteurs observent des différences entre les deux groupes témoins (Figure 10).

A 8 semaines post-opératoires, aucune différence significative n'est détectée entre les 3 groupes (Figure 10).

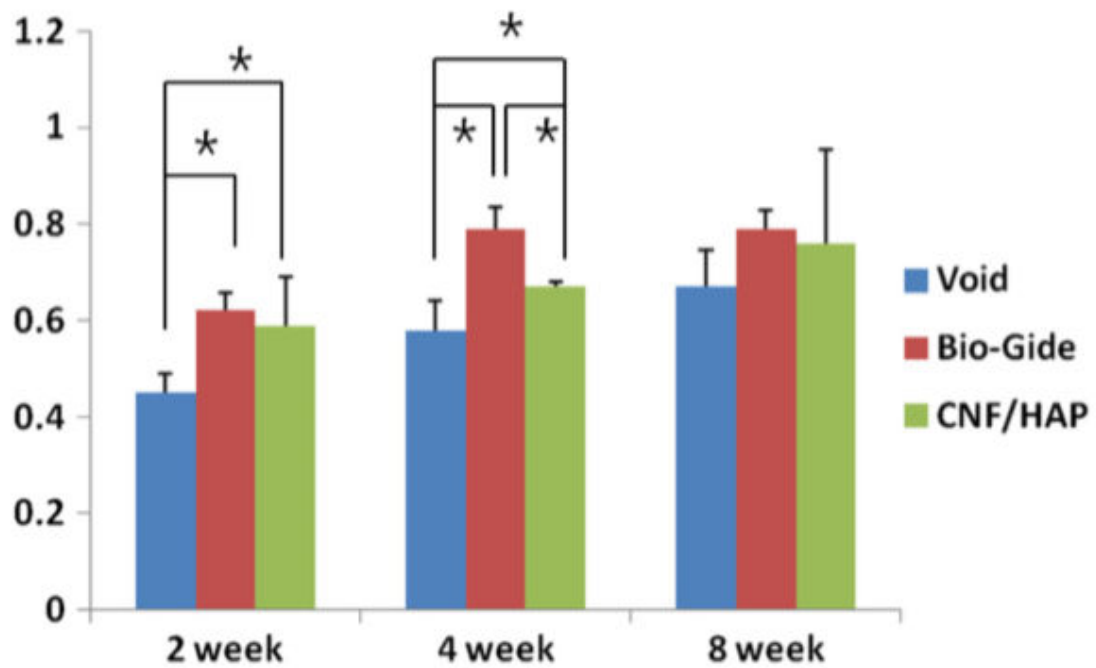


Figure 10 : Mesure de la densité osseuse minérale par micro tomodensitométrie en mg/mL (Baek et al., 2016)

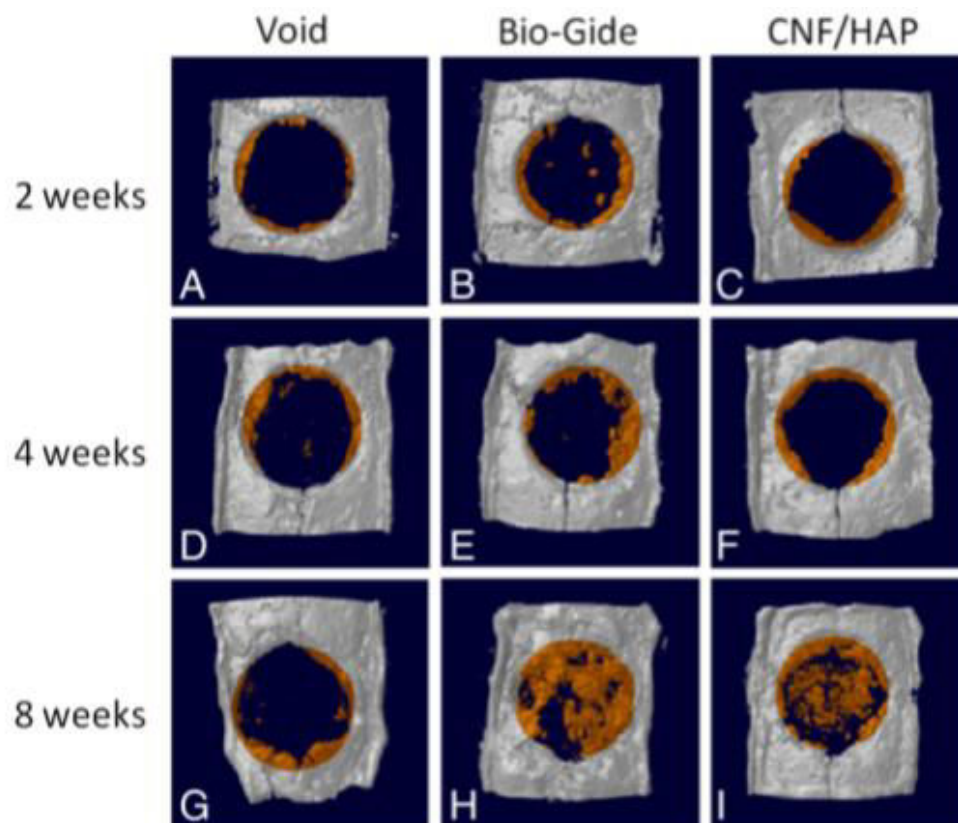


Figure 11 : Image de reconstruction 3D de chaque groupe à 2, 4 et 8 semaines.(Baek et al., 2016)

La reconstruction 3D montre à 8 semaines une cicatrisation du défaut de la calvaria pour les groupes traités par la membrane collagénique et par la membrane chitosane-hydroxyapatite-fibroïne.

La membrane chitosane-hydroxyapatite-fibroïne CNF / HAP a un effet sur la nouvelle formation osseuse et pourrait être appliquée pour la régénération osseuse guidée (Baek et al., 2016).

Partie 3 : Le chitosane autres perspectives

1. Le chitosane avenir en parodontologie/implantologie

De par ses nombreuses propriétés biologiques qui ne sont plus à démontrer le chitosane a de belles perspectives d'avenir dans de nombreux domaines médicaux et particulièrement en parodontologie.

1.1 Régénération tissulaire guidée (RTG)

La parodontite est un processus inflammatoire chronique qui aboutit à une perte irréversible des tissus parodontaux, à terme entraînant la perte des organes dentaires. (Haute autorité de santé, 2018)

Il existe un intérêt croissant pour le développement de stratégies thérapeutiques parodontales régénératives vis-à-vis du concept de régénération tissulaire guidée ou de régénération osseuse guidée démontrée ci-dessus (cf partie 2).

La stratégie sous-jacente dans la régénération tissulaire consiste à isoler le défaut parodontal avec une membrane appropriée qui agit comme un obstacle physique à l'infiltration des tissus gingivaux dans les défauts osseux.

En raison des propriétés susmentionnées, le chitosane a été défini comme matériau de substrat favorable pour la régénération du tissu parodontal. Certains chercheurs ont travaillé à la production de membranes de chitosane revêtues d'un matériau bioactif tel qu'un agent à base de biocéramique. D'autres chercheurs ont également envisagé d'exploiter les résultats prometteurs du premier en ajoutant un agent de réticulation tel que le tripolyphosphate de sodium. Ces membranes améliorant les propriétés mécaniques d'une membrane de chitosane seule (Husain et al., 2017).

1.1.1. Régénération tissulaire guidée et membranes de chitosane enrichies.

Les performances optimales d'une membrane de chitosane utilisée à des fins de régénération tissulaire guidée, sont obtenues lorsque le renforcement par un matériau bioactif, en l'occurrence ici par l'incorporation de POSS (polyhedral oligomeric silsesquioxane), est uniformément dispersé dans la structure et interagit avec la matrice organique. (Tamburaci and Tihminlioglu, 2017).

En comparaison avec une membrane de chitosane pure, l'incorporation de POSS augmente la surface ainsi que la rugosité de la membrane qui est un phénomène important pour l'adhésion cellulaire et la prolifération dans la régénération des tissus.

De plus l'adsorption de protéines est le processus le plus important pour l'initiation de l'interaction cellule/matrice via les intégrines et la régulation de la migration, de la propagation et de la prolifération cellulaire (Wu et al., 2010).

L'utilisation de membranes à structure bicouche tel que l'utilisation de membranes chitosane/gélatine (GEL), avec notamment du chitosane aligné et poreux, démontre leurs capacités à favoriser la régénération fonctionnelle du parodonte. Cette utilisation a également démontré : la formation extensive de fibres de collagène mature perpendiculaire à la surface de la racine ainsi que la formation de tissu minéralisé soutenant la dent. En outre le fait d'ajouter une fraction de gélatine dans les membranes chitosane augmente la densité de la membrane et réduit ainsi son hétérogénéité (Gorgieva et al., 2018).

L'étude de Zhou et al., 2017 a démontré que l'utilisation d'une membrane composite composée de collagène / verre bioactif / chitosane avait la capacité de promouvoir l'adhésion, la viabilité et la différenciation ostéogénique des cellules du ligament parodontal. Cette étude a également montré la capacité de la membrane à avoir une activité antibactérienne contre *S.mutans*. Cette membrane composite biomimétique multifonctionnelle est capable de provoquer une régénération du tissu parodontal offrant ainsi le potentiel d'application clinique en tant que membrane de régénération tissulaire guidée mais aussi de régénération osseuse guidée.

1.2 Pour le revêtement des implants dentaires

1.2.1. Pour le revêtement de la zone en contact direct avec l'os

Le succès clinique des implants dentaires est basé sur l'ostéointégration du matériel implantaire avec l'os alvéolaire. Afin d'améliorer l'ostéointégration, un certain nombre de traitements de surface d'implant a été réalisé avec pour certains des résultats prometteurs.

Lors d'une étude réalisée sur des broches de titane recouverte de chitosane et implantées chez des lapins les résultats ont démontré :

- Que la réponse inflammatoire est minimale pour les tissus en contact avec les broches recouvertes de chitosane.
- La présence d'une séquence de cicatrisation typique de la formation d'os fibreux tissé, suivie du développement de l'os lamellaire.

Ces observations sont similaires à celles observées pour les tissus faisant l'interface entre les implants de contrôle en titane recouverts de phosphate de calcium et ceux non revêtus. Ces données corroborent l'hypothèse selon laquelle les revêtements de chitosane sont capables de développer une apposition osseuse proche de l'ostéointégration des implants dentaires (Bumgardner et al., 2007).

Le revêtement de chitosane peut affecter la surface et l'interface osseuse en modifiant les propriétés de surface biologiques, mécaniques et morphologiques. Par exemple, compte tenu des propriétés mécaniques, le revêtement de chitosane modifie le module d'élasticité, réduisant ainsi le déséquilibre entre la surface de l'implant et l'os alvéolaire et réduisant les zones de concentration de contraintes. De plus, les revêtements de chitosane peuvent potentiellement être utilisés pour transporter divers médicaments tels que des antibiotiques destinés à une délivrance localisée autour de la zone de l'implant.

L'intégration de l'implant dépend de la capacité des cellules environnantes à s'y installer et à créer une nouvelle matrice extracellulaire. Le fait de disposer d'un polymère biocompatible comme le chitosane et d'une structure tridimensionnelle joue un rôle crucial dans le processus d'ostéointégration.

Dans l'étude de Campos et al., 2015 l'évaluation de l'immobilisation du chitosane sur des surfaces de titanes pré actives par double liaison peptidique a mis en évidence que le greffage des chaines de chitosane sur les surfaces des implants en titane permet de renforcer la biocompatibilité et de prolonger la présence de la couche de chitosane.

1.2.2. Pour le revêtement de la zone transmuqueuse

La zone transmuqueuse d'un implant est différente de la zone en contact direct avec l'os qui doit s'ostéointégrer, elle affecte à la fois les réactions osseuses autour de l'implant mais également les réactions des tissus mous. En effet cette zone transmuqueuse a pour principal rôle la fixation des tissus épithéliaux et conjonctifs afin d'assurer que le manchon conjonctif fibreux soit étanche, empêchant ainsi la fixation des bactéries, entraînant une inflammation pouvant affecter l'intégrité de l'implant et en entrainer sa dé-ostéointégration par les phénomènes connus de mucosite allant jusqu'à la péri-implantite et pouvant aller jusqu'au retrait de celui-ci.

Les caractéristiques chimiques de cette région déterminent alors la longévité et le succès clinique à court et long terme de l'implant. L'utilisation d'implant avec un col transgingival en alumine et zircone est préférée à celle en titane de par leur capacité à limiter l'adhésion bactérienne.

L'étude de Kalyoncuoglu et al., 2018 a permis de mettre en évidence une biocompatibilité accru lors du revêtement par du chitosane d'échantillon d'alumine et de zircone. Selon cette étude et l'analyse par microscope électronique à balayage, les cellules HGF-1 (human gingival fibroblast) se fixent et prolifèrent sur les surfaces d'alumine et de zircone revêtues de chitosane. Des études supplémentaires sont nécessaires pour caractériser le revêtement de chitosane en termes de vieillissement dans des environnements plus agressifs tels que la salive ou des liquides tissulaires tel que le fluide gingival.

Conclusion

Même si de par leur excellente biocompatibilité les membranes collagéniques résorbables permettent une réduction de la morbidité tissulaire, on leur connaît tout de même certaines propriétés défavorables, telles qu'une résistance mécanique médiocre, un effondrement précoce ainsi qu'une dégradation plus rapide que le temps nécessaire à la cicatrisation osseuse.

Le chitosane dérive de la chitine, elle-même deuxième polymère naturel produit sur Terre après la cellulose.

Le chitosane possède de nombreuses propriétés : il est biocompatible, antioxydant, bio-stimulant et antimicrobien.

Son utilisation comme membrane donne de nombreux résultats probants sur des modèles animaux pour la régénération du tissu osseux.

L'utilisation du chitosane présente un potentiel important en matière d'ingénierie tissulaire. Toutefois, les études ne s'accordent pas encore sur la meilleure façon de l'utiliser, seul ou en combinaison avec d'autres matériaux.

Même si des préparations incluant le chitosane sont utilisées en médecine ou dermatologie, aucun produit n'a actuellement reçu d'autorisation de mise sur le marché pour la régénération osseuse ou parodontale. Des essais en clinique humaine doivent encore être réalisés avant de permettre une utilisation thérapeutique de routine.

Bibliographie

Références bibliographiques :

1. Altomare L, Guglielmo E, Varoni EM, Bertoldi S, CochisA, Rimondini L, et coll. Design of 2D chitosan scaffolds via electrochemical structuring. *Biomatter*. 2014; 4: e29506.
2. Baek Y, Kim JH, Song JM, Yoon SY, Kim HS, Shin SH. Chitosan-fibroin-hydroxyapatite membrane for guided bone regeneration: micro-computed tomography evaluation in a rat model. *Maxillofac Plast Reconstr Surg*. 2016;38(1):14.
3. Bumgardner JD, Chesnutt BM, Yuan Y, Yang Y, Appleford M, Oh S, et coll. The integration of chitosan-coated titanium in bone: an *in vivo* study in rabbits. *Implant Dent*. 2007;16(1):66-79.
4. Buzzacchera I, Vorobii M, Kostina NY, de Los Santos Pereira A, Riedel T, Bruns M, et coll. Polymerbrush-functionalized chitosan hydrogels as antifouling implant coatings. *Biomacromolecules*. 2017; 18(6): 1983-92.
5. Campos DM, Toury B, D'Almeida M, Attik GN, Ferrand A, Renoud P, et coll. Acidic pH resistance of grafted chitosan on dental implant. *Odontology*. 2015;103(2):210-7.
6. Chatzipetros E, Christopoulos P, Donta C, Tosios KI, Tsiambas E, Tsiourvas D, et coll. Application of nano-hydroxyapatite/chitosan scaffolds on rat calvaria critical-sized defects: a pilot study. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2018;23(5):e625-32.
7. Cheng YF, Zhang JY, Wang YB, Li CM, Lu ZS, Hu XF, et coll. Deposition of catechol-functionalized chitosan and silver nanoparticles on biomedical titanium surfaces for antibacterial application. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2019;98:649-56.

8. Clasen C, Wilhelms T, Kulicke WM. Formation and characterization of chitosan membranes. *Biomacromolecules*. 2006;7(11):3210-22.
9. D'Mello S, Elangovan S, Hong L, Ross RD, Sumner DR, Salem AK. Incorporation of copper in to chitosan scaffolds promotes bone regeneration in rat calvaria defects. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2015;103(5):1044-9.
10. El Knidri H, Belaabed R, Addaou A, Laajeb A, Lahsini A. Extraction, chemical modification and characterization of chitin and chitosan. *Int J Biol Macromol*. 2018;120(Pt A):1181-9.
11. Ezoddini-Ardakani F, Navabazam A, Fatehi F, Danesh-Ardekani M, Khadem S, Rouhi G. Histologic evaluation of chitosan as an accelerator of bone regeneration in microdrilled rat tibias. *Dent Res J (Isfahan)*. 2012;9(6):694-9.
12. Fraga AF, de Almeida Filho E, da Silva Rigo EC, Ortega Boschi A. Synthesis of chitosan/hydroxyapatite membranes coated with hydroxycarbonate apatite for guided tissue regeneration purposes. *Appl Surf Sci*. 2011 ; 257(9) : 3888-92.
13. Freitas RM, Spin-Neto R, Spolidório LC, Campana-Filho SP, Marcantonio RAC, Marcantonio E. Different molecular weight chitosan-based membranes for tissue regeneration. *Materials (Basel)*. 2011;4(2):380-9.
14. Frohbergh ME, Katsman A, Mondrinos MJ, Stabler CT, Hankenson KD, Oristaglio JT, et coll. Osteointegrative properties of electrospun hydroxyapatite-containing nanofibrous chitosan scaffolds. *Tissue Eng Part A*. 2015;21(5-6):970-81.
15. Gorgieva S, Vuherer T, Kokol V. Autofluorescence-aided assessment of integration and μ -structuring in chitosan/gelatin bilayer membranes with rapidly mineralized interface in relevance to guided tissue regeneration. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2018;93:226-41.
16. Guo Y, Yu Y, Han L, Ma S, Zhao J, Chen H, et coll. Biocompatibility and osteogenic activity of guided bone regeneration membrane based on chitosan-coated magnesium alloy. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2019;100:226-35.

17. He Y, Jin Y, Wang X, Yao S, Li Y, Wu Q, et coll. An antimicrobial peptide-loaded gelatin/chitosan nanofibrous membrane fabricated by sequential layer-by-layer electrospinning and electrospraying techniques. *Nanomaterials* (Basel). 2018;8(5): pii e327.
18. He Y, Liu X, Tang X. *In vitro* study of electrospun polycaprolactone/chitosan nano fiber membrane guided bone regeneration. *Shanghai Kou Qiang Yi Xue*. 2015;24(2):129-34.
19. He Y, Wang W, Tang X, Liu X. Osteogenic induction of bone marrow mesenchymal cells on electrospun polycaprolactone/chitosan nanofibrous membrane. *Dent Mater J*. 2017;36(3):325-32.
20. Hoornaert A, d'Arros C, Heymann MF, Layrolle P. Biocompatibility, resorption and biofunctionality of a new synthetic biodegradable membrane for guided bone regeneration. *Biomed Mater*. 2016;11(4):045012.
21. Husain S, Al-Samadani KH, Najeeb S, Zafar MS, Khurshid Z, Zohaib S, et coll. Chitosan biomaterials for current and potential dental applications. *Materials* (Basel). 2017;10(6): 602.
22. Jin S, Li J, Wang J, Jiang J, Zuo Y, Li Y, et coll. Electrospun silver ion-loaded calcium phosphate/chitosan antibacterial composite fibrous membranes for guided bone regeneration. *Int J Nanomedicine*. 2018;13:4591-605.
23. Kalyoncuoglu UT, Yilmaz B, Koc SG, Evis Z, Arpacı PU, Kansu G. Investigation of surface structure and biocompatibility of chitosan-coated zirconia and alumina dental abutments. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2018;20(6):1022-9.
24. Konovalova MV, Markov PA, Durnev EA, Kurek DV, Popov SV, Varlamov VP. Preparation and biocompatibility evaluation of pectin and chitosan cryogels for biomedical application. *J Biomed Mater Res A*. 2017; 105(2): 547-56.
25. Labet M, Thielemans W. Synthesis of polycaprolactone: a review. *Chem Soc Rev*. 2009;38(12):3484-504.

26. Lee SW, Kim SG. Membranes for the guided bone regeneration. *Maxillofac Plast Reconstr Surg*. 2014;36(6):239-46.
27. Li X, Wang X, Zhao T, Gao B, Miao Y, Zhang D, et coll. Guided bone regeneration using chitosan-collagen membranes in dog dehiscence-type defect model. *J Oral Maxillofac Surg*. 2014;72(2):304.e1-14.
28. Liu J, Kerns DG. Mechanisms of guided bone regeneration: a review. *Open Dent J*. 2014;8:56-65.
29. Lotfi G, Shokrgozar MA, Mofid R, Abbas FM, Ghanavati F, Baghban AA, et coll. Biological evaluation (*in vitro* and *in vivo*) of bilayered collagenous coated (nano electrospun and solid wall) chitosan membrane for periodontal guided bone regeneration. *Ann Biomed Eng*. 2016;44(7):2132-44.
30. Luo Y, Teng Z, Li Y, Wang Q. Solid lipid nanoparticles for oral drug delivery: chitosan coating improves stability, controlled delivery, muco adhesion and cellular uptake. *Carbohydr Polym*. 2015;122:221-9.
31. Ma S, Adayi A, Liu Z, Li M, Wu M, Xiao L, et coll. Asymmetric collagen/chitosan membrane containing minocycline-loaded chitosan nanoparticles for guided bone regeneration. *SciRep*. 2016;6: 31822.
32. Mohammadi R, Amini K. Guided bone regeneration of mandibles using chitosan scaffold seeded with characterized uncultured omental adipose-derived stromal vascular fraction: an animal study. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2015;30(1):216-22.
33. Norowski PA, Fujiwara T, Clem WC, Adatrow PC, Eckstein EC, Haggard WO, et coll. Novel naturally crosslinked electrospun nanofibrous chitosan mats for guided bone regeneration membranes: material characterization and cytocompatibility. *J Tissue Eng Regen Med*. 2015;9(5):577-83.
34. Rinaudo M. Chitin and chitosan: properties and applications. *Prog Polym Sci*. 2006;31(7):603-32.

35. Sarasam AR, Brown P, Khajotia SS, Dmytryk JJ, Madhally SV. Antibacterial activity of chitosan-based matrices on oral pathogens. *J Mater Sci Mater Med*. 2008; 19(3): 1083-90.
36. Sheikh Z, Hamdan N, Ikeda Y, Gryn timer M, Ganss B, Glogauer M. Natural graft tissues and synthetic biomaterials for periodontal and alveolar bone reconstructive applications : a review. *Biomater Res*. 2017; 21: 9.
37. Shin SY, Park HN, Kim KH, Lee MH, Choi YS, Park YJ, et coll. Biological evaluation of chitosan nanofiber membrane for guided bone regeneration. *J Periodontol*. 2005; 76(10): 1778-84.
38. Su H, Liu KY, Karydis A, Abebe DG, Wu C, Anderson KM, et coll. *In vitro* and *in vivo* evaluations of a novel post-electrospinning treatment to improve the fibrous structure of chitosan membranes for guided bone regeneration. *Biomed Mater*. 2016; 12(1): 015003.
39. Susanto A, Susanah S, Priosoeryanto BP, Satari MH, Komara I. The effect of the chitosan-collagen membrane on wound healing process in rat mandibular defect. *J Indian Soc Periodontol*. 2019; 23(2): 113-8.
40. Tamburaci S, Tihminlioglu F. Novel poss reinforced chitosan composite membranes for guided bone tissue regeneration. *J Mater Sci Mater Med*. 2017; 29(1): 1.
41. Vaca-Cornejo F, Reyes HM, Jiménez SHD, Velázquez RAL, Jiménez JMD. Pilot study using a chitosan-hydroxyapatite implant for guided alveolar bone growth in patients with chronic periodontitis. *J Funct Biomater*. 2017; 8(3): pii e29.
42. Wu C, Su H, Karydis A, Anderson KM, Ghadri N, Tang S, et coll. Mechanically stable surface-hydrophobilized chitosan nanofibrous barrier membranes for guided bone regeneration. *Biomed Mater*. 2017; 13(1): 015004.

43. Wu X, Sun Y, Xie W, Liu Y, Song X. Development of novel dental nano composites reinforced with polyhedraloligomeric silsesquioxane (POSS). Dent Mater. 2010;26(5):456-62.
44. Yan X-Z, van den Beucken JJJP, Cai X, Yu N, Jansen JA, Yang F. Periodontal tissue regeneration using enzymatically solidified chitosan hydrogels with or without cell loading. Tissue Eng Part A. 2015;21(5-6):1066-76.
45. Younes I, Rinaudo M. Chitin and chitosan preparation from marine sources: structure, properties and applications. Mar Drugs. 2015;13(3):1133-74.
46. Zafar M, Najeeb S, Khurshid Z, Vazirzadeh M, Zohaib S, Najeeb B, et coll. Potential of electrospun nanofibers for biomedical and dental applications. Materials (Basel). 2016;9(2): 73.
47. Zhang KR, Xu R, Zou DH. Mechanical properties and cell compatibility of a chitosan-graphene oxide guided bone regeneration composite membrane. Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi. 2019;54(5):322-7.
48. Zhou T, Liu X, Sui B, Liu C, Mo X, Sun J. Development of fish collagen/bioactive glass/chitosan composite nanofibers as a GTR/GBR membrane for inducing periodontal tissue regeneration. Biomed Mater. 2017;12(5):055004.

Références bibliographiques électroniques :

49. Chitosan lab vegan. Genipine : agent de réticulation du chitosane [Internet]. [consulté le 12 octobre 2019]. Disponible sur: <https://chitosanlab.com/chitosan-fongique/genipine/>
50. Haute Autorité de Santé. Évaluation de l'assainissement parodontal : rapport d'évaluation technologique [Internet]. 2018 [consulté le 19 septembre 2019]. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/jcms/c_2842270/fr/evaluation-de-l-assainissement-parodontal-rapport-d-evaluation-technologique

51. Société Chimique de France. Chitine et chitosane [Internet]. 2017 [consulté le 9 juillet 2018]. Disponible sur: <http://www.societechimiquedefrance.fr/chitine-et-chitosane.html>

Table des matières

Sommaire	14
Table des figures	15
Table des tableaux.....	16
Introduction	17
Partie 1 : De la chitine au chitosane	19
1. Historique et origine.....	19
2. La chitine	21
2.1 Préparation de la chitine	21
2.1.1 Morphologie de la chitine	21
2.1.1.1 L'alpha-chitine	22
2.1.1.2 La bêta-chitine	22
2.1.2.1 Extraction chimique.....	23
2.1.2.2 Extraction biologique.....	25
2.2 Caractérisation de la chitine et solubilité	27
3. Le chitosane	28
3.1 Préparation du chitosane.....	30
3.1.1 Dé-acétylisation chimique	30
3.1.1.1 Procédé hétérogène.....	30
3.1.1.2 Procédé homogène.....	30
3.1.2 Dé-acétylisation enzymatique	31
3.2 Caractérisation du chitosane et solubilité.....	31
3.3 Traitement et principales propriétés	32
4. Propriétés biologiques du chitosane	32
4.1 Biocompatibilité.....	32
4.2 Activité anti-microbienne.....	33
4.3 Activité anti-oxydante.....	34
4.4 Activité bio-stimulante.....	34
Partie 2 : Le chitosane matériau de la régénération osseuse guidée (ROG).	36
1. Membranes de chitosane	37

1.1	Le chitosane matériau de l'ingénierie des tissus osseux.....	37
1.1.1.	Le chitosane nanofibré électrofilé.	37
1.1.1.1.	Membrane en nano-fibres et électrofilage	37
1.1.1.2.	Principe	38
1.1.2.	Étude d'une membrane composite POSS/Chitosane.....	39
1.1.2.1.	POSS.....	39
1.1.2.2.	Principe	40
1.1.3.	Étude d'une membrane de chitosane enrichie en cuivre.....	41
1.1.3.1.	Cuivre.....	41
1.1.3.2.	Principe	42
1.1.4.	Étude d'une membrane de chitosane enrichie en polycaprolactone (PCL)	44
1.1.4.1.	PCL.....	44
1.1.4.2.	Principe	44
1.1.5.	Étude d'une membrane de chitosane enrichie en magnésium	46
1.1.5.1.	Magnésium.....	46
1.1.5.2.	Principe	46
1.2	Résultats	48
2.	Comparaison de l'efficacité dans la régénération osseuse guidée (ROG) de membranes de chitosane face à des membranes collagéniques standards	49
2.1	Étude d'une membrane de chitosane/collagène dans la ROG	49
2.1.1.	Étude de Li et al.....	49
2.1.1.1.	Principe	49
2.1.1.2.	Résultats	51
2.1.2.	Étude de Lofti et al., 2016.....	55
2.1.2.1.	Principe	55
2.1.2.2.	Résultats	56
2.2	Étude d'une membrane de chitosane enrichie en hydroxyapatite	57
2.2.1	Étude de Baek et al., 2016	57
2.2.1.1	Principe	57
2.2.1.2	Résultats	58
Partie 3 :	Le chitosane autres perspectives	61
1.	Le chitosane avenir en parodontologie/implantologie	61

1.1	Régénération tissulaire guidée (RTG).....	61
1.1.1.	Régénération tissulaire guidée et membranes de chitosane enrichies...	62
1.2	Pour le revêtement des implants dentaires	63
1.2.1.	Pour le revêtement de la zone en contact direct avec l'os.....	63
1.2.2.	Pour le revêtement de la zone transmuqueuse	64
Conclusion		65
Bibliographie		66
Table des matières		73

Jury : Président : P. AMBROSINI – Professeur des universités
 Juges : P. AMBROSINI – Professeur des universités
 D. JOSEPH – Maître de conférences des universités
 V. MOBY – Maître de conférences des universités
 P-H ESNAULT – Praticien hospitalier

Thèse pour obtenir le diplôme d'État de docteur en chirurgie dentaire

Présentée par : **Madame EMERAUX-LOMBARD Léopoldine**

Née à : Epinal (Vosges)

le **15 septembre 1994**

et ayant pour titre : «**Un matériau naturel pour la régénération osseuse guidée (ROG) : le chitosane**».

Le président du jury



P. AMBROSINI

Le doyen,
de la faculté d'odontologie de Lorraine


FACULTÉ
D'ODONTOLOGIE
DE LORRAINE

J.M. MARTRETTE

autorise à soutenir et imprimer la thèse

n° 10979

NANCY, le 04 novembre 2013

Le président de l'université de Lorraine



P. MUTZENHARDT

EMERAUX-LOMBARD Léopoldine – Un matériau naturel pour la régénération osseuse guidée (ROG) : le chitosane

Nancy 2020 : 77 pages : 19 ill. : 51 ref.

Th. : Chir.-Dent. : Nancy : 2020

Mots-clés : Chitine, Chitosane, Régénération osseuse guidée, ROG.

EMERAUX-LOMBARD Léopoldine – Un matériau naturel pour la régénération osseuse guidée (ROG) : le chitosane.

Th. : Chir.-Dent. : Nancy : 2020

L'objectif de ce travail est de décrire l'utilisation du chitosane dans la régénération osseuse guidée. Dans un premier temps, nous étudierons la découverte et l'origine du chitosane. Ensuite, nous étudierons son utilisation en tant que biomatériau en ingénierie du tissu osseux. Puis, nous en comparerons son efficacité face à une membrane collagénique. Dans une troisième partie nous évoquerons ses autres utilisations en parodontologie/implantologie.

Jury :

<u>Pr P. AMBROSINI</u>	Professeur des Universités	Président
Dr D. JOSEPH	Maitre de Conférences des Universités	Juge
Dr V.MOBY	Maitre de Conférences des Universités	Juge
Dr P-H. ESNAULT	Praticien hospitalier	Juge

Adresse de l'auteur :

EMERAUX-LOMBARD Léopoldine

32 Rue du Beaujolais

54500 Vandœuvre-lès-Nancy