UNIVERSITÉ DE LORRAINE

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

UNIVERSITE DE LORRAINE
2016

FACULTE DE PHARMACIE

T H E S E

Présentée et soutenue publiquement

le 06 juin 2016 sur un sujet dédié à :

LES PLASMAS RICHES EN PLAQUETTES (PRP) DANS LE TRAITEMENT LOCAL DES TRAUMATISMES TENDINO-MUSCULAIRES

pour obtenir

le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie

par Sébastien CHERE

né le 23 décembre 1986 à EPINAL (88)

Membres du Jury

Présidente et directrice : Mme FAIVRE Béatrice, Professeur des Universités, Docteur en Pharmacie

Juges : M. VIGNERON Claude, Professeur émérite des Universités, Docteur en Pharmacie

M. PERRIN Julien, Maître de Conférences des Universités, Docteur en Pharmacie

M. GEOFFROY Jean-Marc, médecin généraliste, médecin du sport, ostéopathe

UNIVERSITÉ DE LORRAINE
FACULTÉ DE PHARMACIE
Année universitaire 2015-2016

DOYEN
Francine PAULUS
Vice-Doyen
Béatrice FAIVRE
Directeur des Etudes
Virginie PICHON
Conseil de la Pédagogie
Président, Brigitte LEININGER-MULLER
Collège d'Enseignement Pharmaceutique Hospitalier
Président, Béatrice DEMORE
Commission Prospective Facultaire
Président, Christophe GANTZER
Vice-Président, Jean-Louis MERLIN
Commission de la Recherche
Président, Raphaël DUVAL

Responsable de la filière Officine	Béatrice FAIVRE
Responsables de la filière Industrie	Isabelle LARTAUD, Jean-Bernard REGNOUF de VAINS
Responsable de la filière Hôpital	Béatrice DEMORE
Responsable Pharma Plus ENSIC	Jean-Bernard REGNOUF de VAINS
Responsable Pharma Plus ENSAIA	Raphaël DUVAL
Responsable de la Communication	Marie-Paule SAUDER
Responsable de la Cellule de Formation Continue et individuelle	Béatrice FAIVRE
Responsable de la Commission d'agrément des maîtres de stage	Béatrice FAIVRE
Responsables des échanges internationaux	Bertrand RIHN
Responsable ERASMUS	Mihayl VARBANOV

DOYENS HONORAIRES

Chantal FINANCE
Claude VIGNERON

PROFESSEURS EMERITES

Jeffrey ATKINSON
Jean-Claude BLOCK
Max HENRY
Gérard SIEST
Claude VIGNERON

PROFESSEURS HONORAIRES

Roger BONALY
Pierre DIXNEUF
Marie-Madeleine GALTEAU
Thérèse GIRARD
Michel JACQUE
Pierre LABRUDE
Vincent LOPPINET
Janine SCHWARTZBROD
Louis SCHWARTZBROD

MAITRES DE CONFERENCES HONORAIRES

Monique ALBERT
Mariette BEAUD
Gérald CATAU
Jean-Claude CHEVIN
Jocelyne COLLOMB
Bernard DANGIEN
Marie-Claude FUZELLIER
Françoise HINZELIN
Francine KEDZIEREWICZ
Marie-Hélène LIVERTOUX
Bernard MIGNOT
Jean-Louis MONAL

ASSISTANTS HONORAIRES

Annie PAVIS

Christine PERDICAKIS
Marie-France POCHON
Anne ROVEL
Maria WELLMAN-ROUSSEAU

ENSEIGNANTS	*Section CNU**	*Discipline d'enseignement*

PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

Danièle BENSOUSSAN-LEJZEROWICZ	*82*	*Thérapie cellulaire*
Jean-Louis MERLIN	*82*	*Biologie cellulaire*
Alain NICOLAS	*80*	*Chimie analytique et Bromatologie*
Jean-Michel SIMON	*81*	*Economie de la santé, Législation pharmaceutique*
Nathalie THILLY	*81*	*Santé publique et Epidémiologie*

PROFESSEURS DES UNIVERSITES

Christine CAPDEVILLE-ATKINSON	*86*	*Pharmacologie*
Joël DUCOURNEAU	*85*	*Biophysique, Acoustique, Audioprothèse*
Raphaël DUVAL	*87*	*Microbiologie clinique*
Béatrice FAIVRE	*87*	*Biologie cellulaire, Hématologie*
Luc FERRARI	*86*	*Toxicologie*
Pascale FRIANT-MICHEL	*85*	*Mathématiques, Physique*
Christophe GANTZER	*87*	*Microbiologie*
Frédéric JORAND	*87*	*Eau, Santé, Environnement*
Isabelle LARTAUD	*86*	*Pharmacologie*
Dominique LAURAIN-MATTAR	*86*	*Pharmacognosie*
Brigitte LEININGER-MULLER	*87*	*Biochimie*
Pierre LEROY	*85*	*Chimie physique*
Philippe MAINCENT	*85*	*Pharmacie galénique*
Alain MARSURA	*32*	*Chimie organique*
Patrick MENU	*86*	*Physiologie*
Jean-Bernard REGNOUF de VAINS	*86*	*Chimie thérapeutique*
Bertrand RIHN	*87*	*Biochimie, Biologie moléculaire*

MAITRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS

Béatrice DEMORE	*81*	*Pharmacie clinique*
Julien PERRIN	*82*	*Hématologie biologique*
Marie SOCHA	*81*	*Pharmacie clinique, thérapeutique et biotechnique*

MAITRES DE CONFÉRENCES

Sandrine BANAS	*87*	*Parasitologie*
Xavier BELLANGER	*87*	*Parasitologie, Mycologie médicale*
Emmanuelle BENOIT	*86*	*Communication et Santé*
Isabelle BERTRAND	*87*	*Microbiologie*
Michel BOISBRUN	*86*	*Chimie thérapeutique*
François BONNEAUX	*86*	*Chimie thérapeutique*
Ariane BOUDIER	*85*	*Chimie Physique*
Cédric BOURA	*86*	*Physiologie*
Igor CLAROT	*85*	*Chimie analytique*
Joël COULON	*87*	*Biochimie*
Sébastien DADE	*85*	*Bio-informatique*
Dominique DECOLIN	*85*	*Chimie analytique*
Roudayna DIAB	*85*	*Pharmacie galénique*
Natacha DREUMONT	*87*	*Biochimie générale, Biochimie clinique*
Florence DUMARCAY	*86*	*Chimie thérapeutique*
François DUPUIS	*86*	*Pharmacologie*
Adil FAIZ	*85*	*Biophysique, Acoustique*

Thierry HUMBERT	*86*	*Chimie organique*
Olivier JOUBERT	*86*	*Toxicologie, Sécurité sanitaire*
Alexandrine LAMBERT	*85*	*Informatique, Biostatistiques*
Julie LEONHARD	*86/01*	*Droit en Santé*
Christophe MERLIN	*87*	*Microbiologie environnementale*
Maxime MOURER	*86*	*Chimie organique*
Coumba NDIAYE	*86*	*Epidémiologie et Santé publique*
Francine PAULUS	*85*	*Informatique*
Caroline PERRIN-SARRADO	*86*	*Pharmacologie*
Virginie PICHON	*85*	*Biophysique*
Sophie PINEL	*85*	*Informatique en Santé (e-santé)*
Anne SAPIN-MINET	*85*	*Pharmacie galénique*
Marie-Paule SAUDER	*87*	*Mycologie, Botanique*
Guillaume SAUTREY	*85*	*Chimie analytique*
Rosella SPINA	*86*	*Pharmacognosie*
Gabriel TROCKLE	*86*	*Pharmacologie*
Mihayl VARBANOV	*87*	*Immuno-Virologie*
Marie-Noëlle VAULTIER	*87*	*Mycologie, Botanique*
Emilie VELOT	*86*	*Physiologie-Physiopathologie humaines*
Mohamed ZAIOU	*87*	*Biochimie et Biologie moléculaire*
Colette ZINUTTI	*85*	*Pharmacie galénique*

PROFESSEUR ASSOCIE

Anne MAHEUT-BOSSER	*86*	*Sémiologie*

MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIE

Alexandre HARLE	*82*	*Biologie cellulaire oncologique*

PROFESSEUR AGREGE

Christophe COCHAUD	*11*	*Anglais*

**Disciplines du Conseil National des Universités :*

80 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences physico-chimiques et ingénierie appliquée à la santé

81 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences du médicament et des autres produits de santé

82 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences biologiques, fondamentales et cliniques

85 ; Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences physico-chimiques et ingénierie appliquée à la santé

86 : Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences du médicament et des autres produits de santé

87 : Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences biologiques, fondamentales et cliniques

32 : Personnel enseignant-chercheur de sciences en chimie organique, minérale, industrielle

11 : Professeur agrégé de lettres et sciences humaines en langues et littératures anglaises et anglo-saxonnes

SERMENT DES APOTHICAIRES

je jure, en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

D' honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ; en aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

« LA FACULTE N'ENTEND DONNER AUCUNE APPROBATION, NI IMPROBATION AUX OPINIONS EMISES DANS LES THESES, CES OPINIONS DOIVENT ETRE CONSIDEREES COMME PROPRES A LEUR AUTEUR ».

REMERCIEMENTS

A ma présidente et directrice de thèse,

Madame Béatrice FAIVRE,

Docteur en Pharmacie
Docteur de l'Université de Lorraine
Vice-Doyen de la Faculté de Pharmacie
Professeur des Universités, biologie cellulaire et hématologie
Responsable de la filière officine
Responsable de la Cellule de Formation Continue et individuelle
Responsable de la Commission d'agrément des maîtres de stage

Vous m'avez fait l'honneur d'être la directrice de cette thèse et je vous en remercie.

Je vous suis reconnaissant pour votre gentillesse, votre disponibilité, vos conseils et l'intérêt que vous avez porté à mon travail.

Je vous remercie également pour la qualité de vos enseignements.
Veuillez trouver dans ce travail l'expression de ma gratitude et de ma très respectueuse considération.

A mon juge,

Monsieur Claude VIGNERON,

Docteur en Pharmacie
Professeur émérite des Universités, hématologie

Vous avez fait l'honneur de faire partie de mon jury.

Je tiens à vous remercier pour la qualité de vos enseignements.

Veuillez recevoir l'expression de mes sincères remerciements.

A mon juge,

Monsieur Julien PERRIN,

Docteur en Pharmacie
Docteur de l'Université de Lorraine
Maître de Conférences des Universités et Praticien Hospitalier au CHU NANCY-BRABOIS, laboratoire d'hématologie biologique

Vous m'avez fait l'honneur d'accepter de siéger au sein de mon jury, et de façon très spontanée.

Je vous remercie pour votre disponibilité, vos conseils et votre écoute lors des travaux dirigés et pratiques que vous avez dirigés ou accompagnés au cours de mon cursus universitaire.

Soyez assuré de mon respect le plus sincère et de ma gratitude.

A mon juge,

Monsieur Jean-Marc GEOFFROY,

Médecin généraliste à NANCY
Médecin du sport, Centre Chirurgical Emile Gallé, Traumatologie, Orthopédie, Chirurgie de la main
Ostéopathe

Vous m'avez fait l'honneur de faire partie de mon jury.

Je vous suis reconnaissant pour votre disponibilité et l'intérêt que vous portez à mon travail.

Votre pratique m'a fortement inspiré dans le choix de ce sujet et je vous en remercie.

Veuillez trouver dans ce travail le témoignage de ma considération et de mon profond respect.

A mio fratello,
Mon modèle, mon exemple, mon idole. Sans toi, je ne serai jamais devenu celui que je suis. Je serai toujours là pour toi. Je t'aime.

A mon papa et ma maman,
Vous m'avez toujours montré le bon chemin, toujours soutenu dans mes choix, dans les bons et les moins bons moments. Vous m'avez toujours apporté ce dont j'avais besoin. Un grand merci pour tout. Je vous aime.

A ma chérie Laure,
Tu as été mon pilier dans l'écriture de cette thèse. Tu m'as donné beaucoup de force et de motivation, simplement par ta présence à mes côtés. Je t'aime.

A ma belle sœur,
Tu m'as encouragé et tu fais de mon frère, un homme heureux et comblé. Vous nous avez offert un magnifique cadeau, Carla, ma petite nièce dont je raffole déjà. Merci. Je vous aime.

A mamie Jacqueline,
Tu as toujours été de bon conseil, et nous as toujours comblé de bonheur, mon frère et moi. Un grand merci petite mamie. Je t'aime.

A mamie Solange, papi Jean et papi Battista,
J'aurais aimé vous présenter ce travail, et partager cette expérience à vos cotés. Mes pensées vont pour vous.

A tous les membres de ma famille, tantes, oncles, cousins, cousines,
C'est toujours une immense joie de se retrouver et de se rassembler.

A Coj, Jerem, Tatan, Choul, Bubu, Yac, Adrien, leurs copines Romy, Juju, Ionion, Gallou, Popo, Didi et les enfants Loulou, Lola, Noah,
Vous êtes géniaux, et encore une fois, j'espère que ce n'est que le début d'une grande aventure tous ensemble.

A Nico, Flo, Sylvie et Doudou,
Mes voisins adorés.

A mes copains et anciens colocataires, Jbus, Abdel, Mimid, Babal,
J'ai passé des moments merveilleux avec vous.

A tous mes anciens et actuels coéquipiers de foot, d'Epinal, de Metz, de Colmar.

A mes collègues et amis de la fac, Ben, Malik, Yacine Aziez, Wassim, Yacine Mazouz, Lucie, Thomas, Zied, Arnaud, et les autres,
Ma vie étudiante a été facilitée et heureuse grâce à vous.

A mon ancien club du SAS football,
Qui m'a permis d'allier mes études et ma passion à haut-niveau.

A toute la pharmacie du Centre Hospitalier Emile Durkheim d'Epinal, Claire et Charlotte,
J'ai passé une très enrichissante année hospitalo-universitaire à vos côtés.

A mon maître de stage et mes collègues de la pharmacie WEISBECKER de Dogneville,

Un grand merci à vous, chef, Véro et Audrey, pour votre disponibilité, votre écoute, votre aide et vos conseils. J'ai passé des stages riches en expérience et j'ai énormément appris en votre compagnie.

Aux parents de ma chérie, son frère, ses grands parents, ses oncles, ses tantes, ses cousins et cousines.

A tous les membres de la Faculté de Pharmacie de Nancy.

A toutes les personnes que je n'ai pas citées.

Un grand merci à toutes et à tous d'avoir été et d'être encore auprès de moi aujourd'hui, par la présente et par la pensée.

SOMMAIRE

ABREVIATIONS ET ACRONYMES **5**
INTRODUCTION **8**

PARTIE I : PRP : LE PLASMA RICHE EN PLAQUETTES **9**

I. Définition **9**
A. Qu'est ce que le PRP ? 9
B. Généralités sur les plaquettes 9
C. Pourquoi les plaquettes ? 12
D. Le plasma 12

II. Historique **13**
A. Qu'est ce que la colle de fibrine ? 13
B. La colle de fibrine, véritable précurseur 13
C. PRP, découverte et développement 14

III. Protocoles d'obtention **16**
A. La centrifugation, principe et généralités 16
B. Protocoles double centrifugation 18
C. Protocoles à centrifugation unique 21
D. Centrifugeuses utilisées 22
E. Protocoles sans centrifugation 23
F. Discussion 24
1. Comparaison des trois techniques de préparation 24
2. Description d'un système commercial 25

IV. Différences avec les autres concentrés plaquettaires **26**

V. Caractéristiques du PRP **28**
A. Concentration en plaquettes 28
B. Présence de globules rouges 28
C. Présence de leucocytes 29
D. Utilisation d'anticoagulant 29
E. Utilisation d'activateurs 30
F. Sites d'utilisation préférentiels 31
G. Règles de bonne pratique 31
H. Précautions à prendre 31
I. Effets secondaires et risques 33
J. Candidats aux injections de PRP 33

VI. Applications cliniques du PRP **34**
A. Chirurgie ophtalmique 34
B. Chirurgie plastique 34
C. Chirurgies parodontales et implantaires 34
D. Greffes osseuses 35
E. Chirurgie cardiaque 35
F. Orthopédie 35

VII. Le PRP, aujourd'hui, en France **36**
A. Encore des interrogations 36
B. Législation 36
C. Dopage 37
D. Assurance maladie et remboursement 37

PARTIE II : PLASMA RICHE EN PLAQUETTES ET CICATRISATION 39

I. Les différentes phases de la cicatrisation tissulaire 39
A. L'hémostase 40
1. L'hémostase primaire 40
2. La coagulation plasmatique (*annexe III*) 42
a. Initiation de la coagulation par le facteur tissulaire 42
b. Formation de la thrombine et amplification du processus 42
c. Activation du facteur XI et phase de contact 42
d. Formation du caillot de fibrine 43
e. Régulation de la coagulation 43
3. Fibrinolyse 44
B. Phase détersivo-inflammatoire 44
C. Phase de prolifération 45
1. Phase d'épithélialisation 45
2. Formation du tissu de granulation 45
3. Phase de néovascularisation 46
a. Un processus à étapes 46
b. Une régulation fine 47
D. Phase de remodelage ou maturation 49

II. Besoins des tissus pour se régénérer 49
A. Les cellules 49
1. Les cellules inflammatoires : les leucocytes 49
2. Les fibroblastes 50
3. Les cellules endothéliales 50
4. Les plaquettes 51
5. Les cellules spécifiques du tissu lésé 51
B. Les facteurs nutritionnels 51
1. Les protéines 51
2. Les glucides 51
3. Les lipides 51
4. Les vitamines et oligo-éléments 52
C. Le dioxygène 52
D. Les cytokines et facteurs de croissance 52
1. Les cytokines pro-inflammatoires 53
2. Les chimiokines 53
3. Les cytokines anti-inflammatoires 54
4. Autre cytokine de la cicatrisation 54
5. Les facteurs de croissance 54
a. Le Platelet-Derived Growth Factor 55
b. Le Transforming Growth Factor β 55
c. Les facteurs de croissance angiogéniques 56
d. L'Hepatocyte Growth Factor 57
e. L'Insulin-like Growth Factor ou somatomédine 57
f. L'Epithelial Growth Factor et le Platelet-Derived Endothelial Cell Growth Factor 57
E. Les macromolécules de la MEC 58
F. Les médiateurs inflammatoires 58
G. Les protéines de la coagulation 58

III. Contribution du PRP au cours de la cicatrisation 58
A. A propos des plaquettes 58
1. L'activation des plaquettes 59
2. Conséquences de l'activation sur le changement de forme des plaquettes 60
a. Le cytosquelette des plaquettes au repos 61
b. Le cytosquelette des plaquettes activées 62
3. Rôle du changement de forme sur les fonctions plaquettaires 63
4. Libération du contenu des granules plaquettaires 63
5. Mécanisme de sécrétion des granules α 63

B. Intérêts du plasma 65
C. Intérêts des leucocytes 65
D. Intérêts du PRP 66
1. Une biodisponibilité immédiate 66
2. Une action localisée 66
3. Un apport concentré 66
4. Un contrôle de l'inflammation et de la douleur 68
5. Une stimulation cellulaire accrue 71
6. Un véritable caractère angiogénique 71
7. Un fort pouvoir anabolique 72
8. Une action brève mais contrôlée 72
9. PRP, véritable *melting-pot* ? 72

PARTIE III : UTILISATION DU PRP EN CAS DE LESIONS MUSCULO-TENDINEUSES 73

I. PRP et lésions musculaires 73
A. Le muscle strié squelettique 73
1. Généralités 73
2. Structure et organisation macroscopique 74
3. Organisation microscopique 74
B. Les traumatismes d'origine musculaire 76
1. Généralités 76
2. Classification des traumatismes musculaires 76
3. Diagnostic 78
C. La régénération musculaire 78
D. Les études pré-cliniques 79
1. Etudes expérimentales sur l'animal 79
2. Etudes *in vitro* 79
E. Les études cliniques (*annexe IV*) 79
1. Faible niveau de preuve scientifique (3 et 4) 80
2. Niveau 2 de preuve scientifique 80
3. Haut niveau de preuve scientifique (1) 81
F. Lésions musculaires susceptibles d'être traitées par PRP 82
G. Déroulement d'une séance 83
H. Suivi, traitements d'accompagnement et conseils 84

II. PRP et lésions tendineuses 85
A. Le tendon 85
1. Généralités 85
2. Structure et organisation macroscopique 85
3. Organisation microscopique 86
B. Les traumatismes d'origine tendineuse 87
1. Généralités 87
2. Classification des traumatismes tendineux 89
3. Diagnostic 91
C. La régénération tendineuse 91
D. Les études pré-cliniques 92
1. Etudes expérimentales sur l'animal 92
2. Etudes *in vitro* 92
E. Les études cliniques (*annexe IV*) 93
1. Tendinopathie de la coiffe des rotateurs 93
2. Epicondylite latérale 94
3. Tendinopathie rotulienne 95
4. Tendinopathie d'Achille 95
5. Lésions de l'aponévrose plantaire superficielle ou fascia plantaire 96
F. Lésions tendineuses susceptibles d'être traitées par PRP 97
G. Déroulement d'une séance 97
H. Suivi, traitements d'accompagnement et conseils 97

CONCLUSION 99
BIBLIOGRAPHIE.....100
TABLE DES FIGURES 111
TABLE DES TABLEAUX.....113
ANNEXE I : Kit Plateltex®prep 114
ANNEXE II: Information et autorisation signée par le patient…….....…….....116
ANNEXE III : Les protéines de la coagulation et leurs rôles 117
ANNEXE IV : Les études cliniques.....118

ABREVIATIONS ET ACRONYMES

AAP : polysel de sodium de l'Acide Aspartique
ACP : Autologous Conditioned Plasma (Plasma Autologue Conditionné)
ADP: Adenosine DiPhosphate
AFA : Autologous Fibrin Adhesive
AINS : Anti-Inflammatoire Non Stéroïdien
AMA : Agence Mondiale Anti-dopage
Ang : Angiopoïètine
ANSM : Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé
ATP : Adenosine TriPhosphate
AtP: Activateur tissulaire du Plasminogène
ATR : Advance Tissue Regeneration
ATU : Autorisation Temporaire d'Utilisation
BMP : Bone Morphogenic Protein
Ca^{2+} : ion calcium
CDA-a : Citrate – Dextrose – Adénosine acide
CE : conforme aux exigences
CFU : Colony Forming Unit
CIO : Comité International Olympique
Cl^- : ion chlorure
CMT : Concentré de Médiateurs de Thrombocytes
COX : Cyclooxygènase
CO_2 : dioxyde de carbone
CPA : Concentré Plaquettaire d'Aphérèse
CPS : Concentré Plaquettaire Standard
CTAD : Citrate – Théophylline – Adénosine - Dipyramidole
EDTA : Ethylène Diamine Tétra - Acétique
EGF : Epidermal Growth Factor
EVA : Echelle Visuelle Analogique
FDA : Food and Drug Administration
FGF : Fibroblast Growth Factor
fL : femtoLitre
FW : Facteur von Willebrand
G : Gauge
GB: Globule Blanc
GDP : Guanosine DiPhosphate
GM-CSF : Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor
gp : glycoprotéine
GPS : Gravitational Platelet Separation system
GR : Globule Rouge
GTP : Guanosine TriPhosphate
HGF: Hepatocyte Growth Factor
IFN : Interféron

Ig : Immunoglobuline
IGF : Insulin-like Growth Factor
IL : Interleukine
IRM : Imagerie par Résonance Magnétique
kDa : kiloDalton
kg : kilogramme
K^+ : ion potassium
L : litre
LLE : Ligament Latéral Externe
LLI : Ligament Latéral Interne
L-PRF : Fibrine Riche en Plaquettes et Leucocytes
L-PRP : Plasma Riche en Plaquettes et Leucocytes
MEC : Matrice Extra – Cellulaire
Mg^{2+}: ion magnésium
min : minutes
mL : millilitre
mm : millimètre
MMP : Métalloprotéinase
MT : microtubule
$NaHCO_3$: bicarbonate de sodium
Na^+ : ion sodium
NGF : Nerve Growth Factor
nmol : nanomole
NSF : N-ethylmaleimide-Sensitive-Factor
OMS : Organisation Mondiale de la Santé
O_2 : dioxygène
PAF 4 : Facteur 4 Plaquettaire
PAI : Inhibiteur tissulaire du Plasminogène
PCCS : Platelet Concentrate Collection System
PDGF : Platelet - Derived Growth Factor
PD-ECGF : Platelet - Derived Endothelial Cell Growth Factor
PGA : Polysel de sodium de l'Acide Glutamique
PGI : Prostacycline
PMB : polymère de phosphocholine
PNN : Polynucléaire Neutrophile
POSEIDO : Periodontology Oral Surgery Esthetic Implant Dentistry Organization
PPP : Platelet Poor Plasma (Plasma Pauvre en Plaquettes)
PRFM : Platelet Rich Fibrin Matrix
PRGF : Plasma Rich in Growth Factors
PRP : Platelet Rich Plasma (Plasma Riche en Plaquettes)
P-PRF : Pure Fibrine Riche en Plaquettes
P-PRP : Pur Plasma Riche en Plaquettes
RCF : Force Centrifuge Relative
rpm : rotation par minute
RTK : Récepteur à activité Tyrosine Kinase
SCO : Système Canaliculaire Ouvert
SNARE : Soluble NSF Attachement REceptor

SNAP : Soluble NSF Attachement Protein
TFPI : inhibiteur de la voie du facteur tissulaire
TGF : Transforming Growth Factor
TNF : Tumor Necrosis Factor
USA : United States of America
VEGF : Vascular Endothelial Growth Factor
VEGFR : Vascular Endothelial Growth Factor Receptor
VHC : Virus de l'Hépatite C
VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine
α : alpha
β : beta
µLitre : microlitre
µmètre : micromètre
µmol : micromole

INTRODUCTION

« De nombreux sportifs comme Rafael NADAL ou la danseuse étoile Marie-Agnès GILLOT ont bénéficié d'injection de PRP pour soigner avec succès des lésions, aigües ou chroniques, tendineuses, musculaires ou articulaires. » Le Figaro, 14/02/2013. [2]

La médecine régénérative est, aujourd'hui, le domaine le plus intéressant de la biotechnologie, et est en mesure de combiner plusieurs aspects de la médecine : biologie cellulaire et moléculaire, biomatériaux et ingénierie tissulaire, qui visent toutes à régénérer, réparer ou remplacer des tissus. Elle est basée sur la délivrance de facteurs de croissance et protéines bioactives à des sites localisés afin de déclencher la guérison ou la régénération.

Initialement, le premier dispositif ayant été décrit comme possédant des propriétés intéressantes sur la cicatrisation fut la colle de fibrine dans les années 70. L'idée est donc d'assimiler comment, de ce précurseur, la recherche est parvenue aux concentrés plaquettaires autologues à usage topique, et surtout le Platelet Rich Plasma.

Ces concentrés de plaquettes semblent inclure dans leur composition de nombreux éléments essentiels à la cicatrisation. Ainsi, quelques rappels sur les mécanismes, les acteurs et les besoins de la cicatrisation permettront d'appréhender par quels moyens le PRP y contribue et de comprendre pourquoi il fait l'objet d'un si grand engouement.

Selon l'OMS, les blessures musculo-squelettiques sont la cause la plus fréquente de douleur sévère à long terme et d'incapacité physique, et touchent des centaines de millions de personnes dans le monde. La plupart des lésions musculaires et tendineuses ayant lieu dans des zones faiblement vascularisées et/ou avec un renouvèlement cellulaire lent, les phénomènes de cicatrisation et de régénération vont prendre du temps. Le PRP peut donc être une option thérapeutique attractive, apportant aux tissus le matériel nécessaire à une cicatrisation rapide et qualitative.

Karl MARX cita que « c'est dans la pratique qu'il faut que l'homme prouve la vérité ». En théorie, le PRP est un biomatériel cicatrisant idéal. Mais, en pratique, qu'en est-il au niveau des lésions musculo-tendineuses ? Tel est l'enjeu de ce travail.

PARTIE I : PRP : LE PLASMA RICHE EN PLAQUETTES

Le plasma riche en plaquettes est une notion récemment entendue pour certains, complètement assimilée par d'autres mais surtout méconnue pour une grande majorité.
Cette partie va donc nous permettre de nous « familiariser » avec ce concept, à travers une définition, quelques mots d'histoire, en y découvrant ses modalités d'obtention, ses domaines d'application et ses caractéristiques.
Pour éviter tout abus de langage et toute mauvaise interprétation, il semble indispensable d'insister sur les différences avec les concentrés plaquettaires proprement dits.

I. Définition

A. Qu'est ce que le PRP ?

Le Plasma Riche en Plaquettes (ou Platelet Rich Plasma en anglais) est du plasma contenant des plaquettes à forte concentration, mais aussi et surtout, des facteurs de croissance. [1]
C'est une technique de séparation gravitationnelle des plaquettes permettant de recueillir des facteurs de croissance contenus dans le PRP, et ce, à partir d'une petite quantité de sang du patient. [2]

Le fait d'être préparé à partir du sang du patient lui-même justifie une seconde appellation, beaucoup moins connue et utilisée : celle d'ACP, Autologous Conditioned Plasma, le Plasma Autologue Conditionné. [3]

Pour rappel, le sang total est une suspension de cellules dans le plasma, soit le liquide biologique utilisé immédiatement après un prélèvement. Le plasma est, lui, un liquide quelque peu visqueux, jaune-transparent, complexe, constitué d'eau, de sels minéraux et de molécules organiques (facteurs de croissance…). [4,5]
Quant aux plaquettes, nous verrons, par la suite, qu'elles renferment également des facteurs de croissance pouvant booster la cicatrisation.

Ainsi, une fois préparé et obtenu, le PRP est injecté localement (intra-tendineux ou intramusculaire dans notre cas) afin de stimuler et d'accélérer la réaction de cicatrisation naturelle de l'organisme, en apportant directement au sein de la zone pathologique des facteurs de croissance disponibles. [2,3,6]

B. Généralités sur les plaquettes

Les plaquettes ou thrombocytes sont des cellules anucléées provenant de la fragmentation du cytoplasme des mégacaryocytes issus de la moelle osseuse. Elles se retrouvent dans le sang circulant, sous la forme de petits lambeaux dépourvus de noyau et présentent un cytoplasme rempli de granules (granules alpha et granules denses). [7]
Elles ont un aspect de petits disques de 1 à 4 µm de diamètre et d'environ 1 µm d'épaisseur. Elles sont séparées les unes des autres, restent à distance de la paroi vasculaire sans y adhérer. [4]

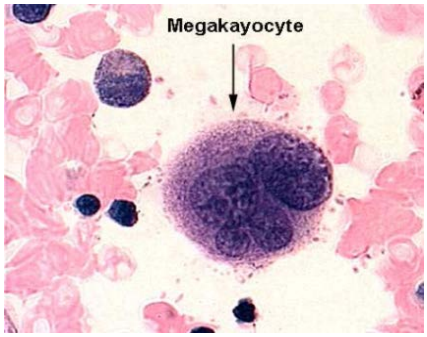


Figure 1: Observation d'un mégacaryocyte en microscopie [104]

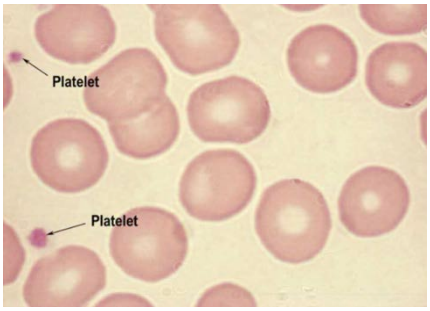


Figure 2: Observation d'une plaquette en microscopie [104]

La région centrale de la plaquette, le granulomère, contient mitochondries, réticulum endoplasmique rugueux, appareil de Golgi, et granules alpha et denses.
La région périphérique, le hyalomère, est formée de microtubules et microfilaments permettant de contrôler la forme et la mobilité de la plaquette. [8]

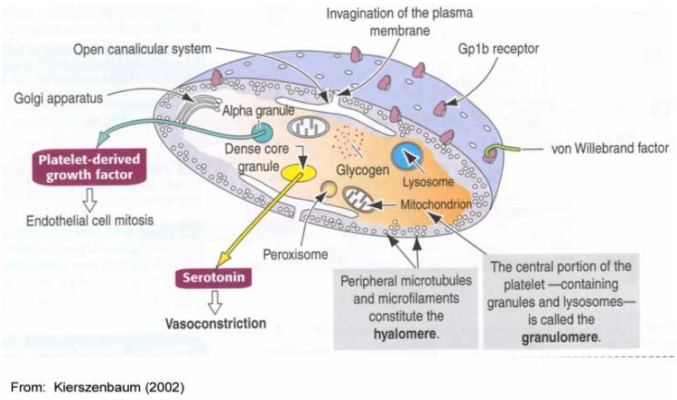


Figure 3: Structure d'une plaquette [8]

Les éléments figurés du sang sont produits toute la vie par la moelle, grâce à des cellules souches ayant une capacité d'auto-renouvèlement.
Ils sont issus d'une cellule souche hématopoïétique qui, sous l'influence de facteurs, peut engendrer l'ensemble des lignées. Cette cellule souche est une cellule pluripotente.
La cellule souche perd son caractère de pluripotentialité et se différencie en progéniteur, la cellule souche myéloïde. Cette cellule va donner naissance à un précurseur mégacaryocytaire, le CFU mégacaryocytaire. A ce moment précis, le phénomène hématopoïétique est entré dans la lignée de formation des plaquettes.
Puis, le mégacaryoblaste, dérivant du CFU mégacaryocytaire, va donner naissance au pro-mégacaryocyte puis au mégacaryocyte. Les étapes de la lignée thrombocytaire sont gouvernées par le phénomène d'endomitose, les noyaux se multiplient alors que la cellule, elle, ne se divise pas. 2N

étant le nombre de chromosomes de la cellule précurseur, généralement, c'est au stade 32N que les mégacaryocytes se fragmentent et libèrent les plaquettes anucléées.
Les plaquettes, une fois formées, rejoignent la circulation sanguine.

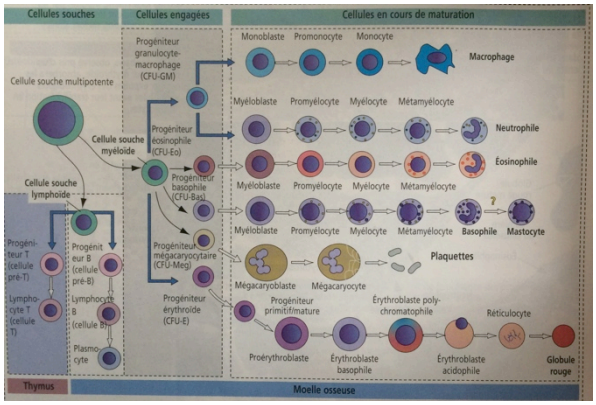


Figure 4: La thrombopoièse [8]

Toutes ces étapes sont principalement gouvernées par un facteur de croissance, une glycoprotéine (de 35 à 70 kDa) produite par le foie et les reins, la thrombopoiètine. Si les besoins en plaquettes augmentent (saignement, destruction ou consommation accrue), il y a une production supplémentaire de thrombopoiètine, ce qui va engendrer la formation de davantage de mégacaryocytes et donc la libération de davantage de plaquettes.
Sa concentration est sous le contrôle de la masse mégacaryocyto-plaquettaire.

La durée de vie des plaquettes est de 8 à 10 jours dans la circulation sanguine. Elles sont détruites au niveau du foie et de la rate. [4,7,8]

La numération des plaquettes peut se faire de différentes façons :

-numération des plaquettes dans une chambre de comptage : Cette méthode est utilisée dans les laboratoires d'urgence des hôpitaux lorsque le comptage automatisé est impossible ou indisponible. Les plaquettes sont dans une suspension cellulaire qui se répartit par capillarité au sein d'une chambre de comptage. Le volume de la chambre de comptage est préalablement défini, son maillage permet de compter les plaquettes au microscope. C'est une méthode longue et imprécise ; autrement dit, ce n'est pas une technique de choix.

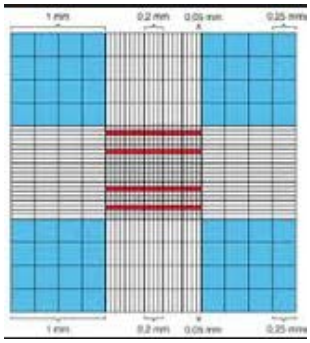


Figure 5: Chambre de comptage pour numération plaquettaire: les plaquettes sont comptées au niveau des quatre lignes rouges (chaque ligne comprenant 20 très petits carrés de 0,00025 µL) [134]

-numération des plaquettes automatisée : les automates classent et comptabilisent les éléments figurés du sang selon leur taille. Généralement, les appareils sont programmés de façon à ce que tout élément figuré du sang dont le volume est compris entre 2 fL et 20 fL est assimilé à une plaquette.

Les appareils d'analyse simples causent de nombreuses erreurs, certaines particules comprises dans ces volumes n'étant pas des plaquettes (résultat faussement bas pour des plaquettes géantes, faussement haut lorsque des schizocytes ou des microcytes sont comptabilisés).
Pour pallier à ce manque de précision, les appareils modernes sont équipés de plusieurs canaux de mesure permettant de reconnaître les causes d'erreur et de corriger les chiffres.
Enfin, le taux de plaquettes sanguin peut être calculé par cytométrie en flux via un anticorps monoclonal marquant les plaquettes. [7]

Tableau I : Valeurs normales de la concentration en plaquettes (10^9/L) dans le sang [4,7]

Adultes (>18 ans)	$140 \leq N \leq 500$
Enfants (1 mois)	$155 \leq N \leq 556$
2 ans	$286 \leq N \leq 509$
10 ans	$247 \leq N \leq 436$

Si le nombre de plaquettes est supérieur à 500 x 10^9/L de sang, on parle de thrombocytose, il y a donc un risque de formation d'un caillot.
Si le nombre de plaquettes est inférieur à 140 x 10^9/L de sang, on parle de thrombopénie, il y a donc un risque hémorragique. [4,7,8]

C. Pourquoi les plaquettes ?

Le rôle majeur des plaquettes est d'être les acteurs principaux de l'hémostase. [4,6,8]
Nous verrons plus loin qu'elles renferment au sein de leurs granules différents facteurs de croissance qui accélèrent la cicatrisation.

Dans le cas des injections de PRP, leur rôle est de réguler la multiplication et la différentiation des cellules, de participer à l'angiogenèse, de diminuer l'inflammation et de participer à la formation du tissu matriciel et du collagène. Ainsi, ces facteurs de croissance, contenus dans les granules α des plaquettes, ont l'avantage de participer naturellement au processus de cicatrisation. [2,6]

D. Le plasma

Il représente 55% du sang total. C'est un liquide jaunâtre-transparent, visqueux, abondamment riche en eau. En effet, il est composé à 92 % d'eau jouant le rôle de solvant, de milieu de transport et de diffusion, et 8 % de solutés dont :

- les solutés organiques : les protéines (89 % des solutés, dont albumine, globuline, fibrinogène, transferrine, facteurs de croissance, facteurs de coagulation), les substances azotées non protéiques (urée, créatinine, bilirubine et autres déchets du métabolisme), le glucose (substrat énergétique), les lipides (cholestérol, triglycérides, phospholipides…), les hormones et les vitamines.

-les solutés minéraux : cations (Na^+, Ca^{2+}, Mg^{2+}, K^+…), anions (Cl^-, phosphates…), oligo-éléments (fer, iode, zinc, cuivre, fluor…)

-les gaz respiratoires : O_2, CO_2

Ainsi, de part la présence de facteurs de croissance, de facteurs de coagulation et de fibrinogène, le plasma va jouer un rôle essentiel dans la communication intercellulaire et la coagulation au moment des phases de cicatrisation tissulaire. [4,7,9,10]

II. Historique

L'un des grands défis de la recherche clinique est de mettre au point des adjuvants chirurgicaux bioactifs pour réguler l'inflammation et potentialiser la cicatrisation. Parmi les nombreux protocoles développés, la colle de fibrine a joué un rôle prépondérant dans la découverte du PRP.

A. Qu'est ce que la colle de fibrine ?

La colle de fibrine imite la phase initiale de la coagulation sanguine, à savoir celle de la fibrinoformation qui convertit le fibrinogène en un réseau de fibrine. Elle amplifie artificiellement le processus de polymérisation naturel de la fibrine au cours de l'hémostase.
Son indication est donc de favoriser localement l'hémostase lors d'interventions chirurgicales et la consolidation des sutures. [11]

B. La colle de fibrine, véritable précurseur

En 1909, BERGEL reconnaît la fibrine comme substance capable de favoriser l'hémostase. GREY en 1915, puis HARVEY, un an plus tard, utilisent la fibrine en application locale pour maîtriser les saignements. C'est alors, que pendant une cinquantaine d'années, les recherches sur la fibrine n'avancent guère. [11]

Pendant cette période faste, LEVI-MONTALCINI découvre le facteur de croissance nerveux (NGF, années 40), et COHEN, le facteur de croissance épidermique (EGF, années 50). Les premiers facteurs de croissance sont décrits, et dans les années 90, on associe, pour la première fois, facteurs de croissance et régénération tissulaire. [12]

Figure 6: Premières découvertes de facteur de croissance par LEVI-MONTALCINI (NGF) et COHEN (EGF) [12]

Ce n'est que dans les années 70 que le concept de colle de fibrine apparaît avec MATRAS. En 1972, il décrit la colle de fibrine à travers des études expérimentales et cliniques. Préparée à partir de plasma collecté par des banques de sang, le fibrinogène polymérisant va former, sous l'action de la thrombine et du calcium, la colle de fibrine. Cependant, la faible concentration de fibrinogène collecté dans le plasma rend la première colle de fibrine de stabilité et de qualité moyenne.

Il a, par la suite, obtenu de biens meilleurs résultats en préparant la colle de fibrine à partir d'un cryoprécipité, précipité obtenu par la décongélation lente à froid du plasma. Cette méthode faisant appel à des centaines, voire des milliers de dons de sang, et donc de donneurs, un grand

risque de transmission de pathologies infectieuses (VIH, hépatite C, autres agents pathogènes) est apparu, rendant l'utilisation de cette colle de fibrine limitée. [11,13]
Pour pallier à ce problème, le thermotraitement a été utilisé afin de réduire considérablement le risque de transmission, sans toutefois atteindre le risque zéro.

En 1978, Food and Drug Administration interdit l'utilisation de colles de fibrine car le risque de transmission de pathologies virales et autres demeure trop important. Cette interdiction sera levée 20 ans plus tard. [11,13]

Les colles de fibrine autologues font, ainsi, leur apparition afin d'éviter tout risque de transmission d'agents pathogènes et de contamination. Cependant, leur utilisation restera limitée de part la complexité des protocoles et le coût de production élevé. [13]

Aujourd'hui, les colles de fibrine sont commercialisées, des laboratoires ayant établit des protocoles garantissant le risque zéro de transmission de pathogènes.
Le laboratoire Baxter®, par exemple, a mis en place une procédure de sélection des donneurs. Les donneurs potentiels sont soumis à un examen médical, au recueil de l'anamnèse et de documentation. Le don de plasma fait l'objet d'un contrôle sur les marqueurs d'infection pertinents et est placé en quarantaine (environ 60 jours). De plus, la colle de fibrine TISSEEL est soumise à une double inactivation virale, de part l'utilisation d'un solvant détergent et d'un traitement à la vapeur. [14]
Cette colle contient de l'aprotinine (le plus efficace des antifibrinolytiques), molécule qui va inhiber la dégradation du caillot de fibrine. Sa stabilité *in vivo* est donc prolongée à 9-10 jours (au lieu de 1 à 2 jours dans les conditions naturelles). [14]

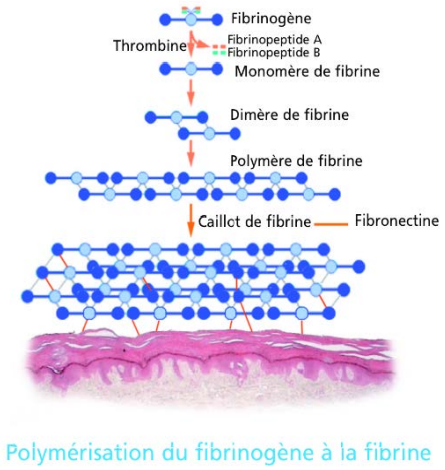


Figure 7: Principe de la colle de fibrine Tisseel du laboratoire Baxter® [14]

C. PRP, découverte et développement

L'interdiction d'utilisation de la colle de fibrine aux USA, en 1978, va être un véritable tremplin dans la découverte et le développement du PRP. En effet, pour pallier au risque de transmission de pathologies, les différentes recherches vont se tourner vers l'élaboration d'un produit autologue.

L'engouement des cliniciens pour le concept de thérapie cellulaire par les facteurs de croissance va relancer la recherche technologique. En 1994, TAYAPONGSAK décrit l'Autologous Fibrin Adhesive (AFA, fibrine adhésive autologue), lui servant à maintenir des fragments de greffes osseuses dans une masse cohérente. Il utilise le sang du patient, prélevé 2 à 3 semaines avant l'intervention et nécessitant 2 jours de manipulation avant d'être prêt à l'emploi. Il voulait concentrer le fibrinogène, il a obtenu, sans le savoir le premier PRP. [13]

Puis en 1997, WHITMAN et son équipe décrivent une technique de préparation de PRP utilisable en chirurgie buccale et maxillo-faciale. Il prélève le sang dans un tube avec un anticoagulant (citrate-phosphate-dextrose) afin de prévenir la coagulation, et donc l'activation des plaquettes et la sécrétion de facteurs de croissance présents dans leurs granules au cours de la préparation du PRP. Il comprend, à ce moment là, qu'il est fondamental de repousser l'activation des plaquettes juste avant leur application sur le site chirurgical. Le sang du patient subit une double centrifugation à des vitesses différentes, le *buffy coat* (manteau blanc) est ainsi récupéré. Il contient le plasma et les plaquettes concentrées. Il est mélangé à de la thrombine bovine, activant les plaquettes, et à du chlorure de calcium, déclenchant le processus de coagulation. [15]

En 1997, AKIZUKI utilise le PRP lors d'une arthroplastie du genou. [12]
En 1998, MORAES et ses collègues utilisent le PRP en dermatologie pour réduire le temps de cicatrisation, tout comme MAN et son équipe, en 2001, dans le domaine de la chirurgie plastique. [15]

La suite fera l'objet d'une grande exploitation de ce domaine menant à la recherche et au développement de nombreux protocoles simplifiés et de centrifugeuses. Les protocoles vont utiliser généralement une double centrifugation, la prise de sang se faisant immédiatement avant l'intervention.
Des séparateurs de cellules des laboratoires d'hématologie seront, dans un premier temps, utilisés puis abandonnés, laissant place à des machines de plus en plus simples, spécifiques et automatisées (ex : Harvest SmartPReP®). [11,13]

EL-SHARKAWY et son équipe réalisent, en 2007, des études *in vitro* sur le PRP démontrant ainsi la présence de nombreux facteurs de croissance impliqués dans la régénération tissulaire (PDGF, TGF-1, IGF-1, FGF-b, VEGF…). [15]

La thérapie par PRP a acquis une grande popularité au début de l'année 2009, quand deux joueurs de football américain de Pittsburgh, Hines WARD et Troy POLAMALU, ont reçu une thérapie par PRP peu de temps avant leur triomphe lors du *Super Bowl*.
En effet, WARD, victime d'une rupture partielle du ligament latéral interne du genou, a pu participer à la finale alors que son indisponibilité avait été établie à 6 semaines.
Quant à POLAMALU, sa participation avait été écartée en raison d'une déchirure musculaire au mollet. Le traitement par PRP leur a permis d'accélérer la cicatrisation et de réduire, ainsi, la durée de leur convalescence. [16,17]

Le marché mondial des PRP a été évalué à 45 millions de dollars en 2009, il devrait être de plus de 120 millions de dollars en 2016. [18]
Cependant, il y a, actuellement, un manque de données disponibles. C'est pourquoi de nombreuses études sont en cours. [19]

III. Protocoles d'obtention

A. La centrifugation, principe et généralités

C'est une méthode qui utilise la force centrifuge pour séparer les différentes particules en suspension dans une solution liquide. Une rotation très rapide est communiquée au liquide dans le tube.

En l'occurrence, dans le cas étudié, il s'agit du sang. Les particules de sang, de nature, de masse et de taille différentes, vont se disposer à des endroits différents du tube, et ainsi être séparées. Les constituants sanguins les plus gros et les plus lourds vont se retrouver au fond du tube ; les plus petits et les plus légers, à proximité de l'axe de rotation.

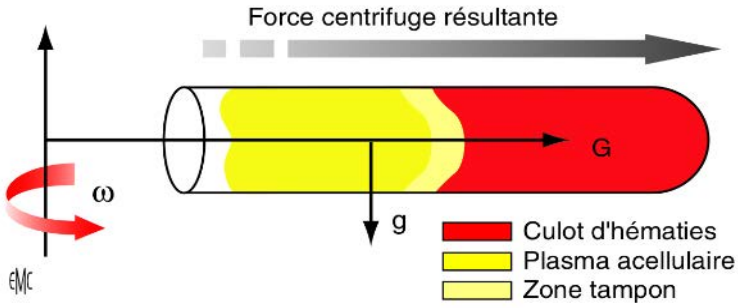


Figure 8: Séparation des constituants du sang selon leur taille et leur masse [13]

Les protocoles de centrifugation sont, bien souvent, décrits en tours/minute dans la littérature. Cela n'a aucun sens, une vitesse de rotation seule ne suffisant pas à refléter une force. La distance moyenne entre le tube et l'axe de rotation est un critère important.

Ainsi, la force centrifuge relative (RCF) est fonction de la vitesse de rotation et de la distance entre l'axe du rotor et le tube à centrifugation (ou rayon de rotation).

La force centrifuge relative en g est fonction de la vitesse en tours/min du rotor et de la distance entre l'axe du rotor et le point considéré (ou rayon de rotation) selon la formule :

$$RCF = 1{,}118 \times 10^{-5} \cdot r \cdot n^2$$

Où r = distance en cm entre l'axe du rotor et le point considéré (rayon de rotation)
n = vitesse de rotation en tours par minute

Figure 9: Formule de calcul de la force centrifuge relative (RCF) [20]

La RCF peut aussi être calculée avec un nomogramme : en reportant les points sur les échelles « rayon » et « rotation/minute », la droite passant par ces deux points coupe l'échelle « RCF » en un point.

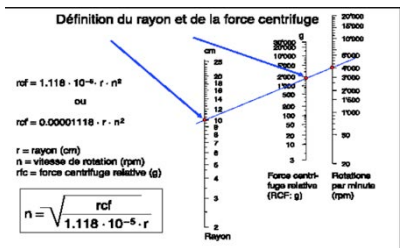


Figure 10: Normogramme permettant le calcul de la force centrifuge relative (RCF) [20]

Les tubes doivent être disposés dans le rotor de façon à éviter tout déséquilibre. Ainsi, le poids des tubes qui se font face doit être identique.
S'il y a un nombre impair de tubes, il faut mettre un tube avec un volume d'eau correspondant au poids du sang dans le tube isolé, en face de ce même tube isolé.
Un déséquilibre dans le rotor peut avoir des conséquences dramatiques : soumis à des vitesses énormes, l'axe du rotor peut être rompu et le rotor expulsé causant des dommages matériels dans le laboratoire et/ou des blessures du personnel.

La qualité de la manipulation est affectée par un appareil sale, en raison du risque de contamination croisée. Il est donc vivement conseillé de nettoyer et désinfecter régulièrement les accessoires et le rotor.

En terme d'étalonnage, un programme de maintenance est prévu afin de vérifier que la vitesse de centrifugation est bien celle attendue.
La température de centrifugation, le temps ainsi que la vitesse de centrifugation sont réglés juste avant la mise en route de la centrifugeuse.
Généralement, la centrifugation se déroule à température ambiante.

Cette méthode présente des limites. En effet, la centrifugation n'est pas une technique de séparation précise et fiable. Elle agit selon le gradient de sédimentation des différents éléments du sang. En conséquence, toutes les plaquettes de la suspension cellulaire ne seront jamais concentrées exclusivement en un seul point du tube. Leur concentration sera statistiquement plus élevée dans la zone intermédiaire. Les plus grosses se disposeront sous cette zone, les plus petites plus en surface.

Cependant, à l'heure actuelle, le PRP ne requiert pas une concentration en plaquettes définie, précise et absolue. Son but est d'augmenter la concentration en plaquettes dans un petit volume de plasma. La centrifugation y trouve donc toute sa place. [13,20]

Depuis la prise de conscience que les concentrés plaquettaires sont riches en facteurs de croissance, de nombreux protocoles ont été proposés.
Le concept général d'élaboration des concentrés plaquettaires autologues repose sur la technique d'aphérèse, et utilise un séparateur de cellules. Les éléments figurés du sang sont séparés par centrifugation, les composés inutilisés étant rendus au patient. De part la quantité importante de sang à prélever (450 mL), cette technologie lourde n'est réservée qu'aux laboratoires spécialisés.

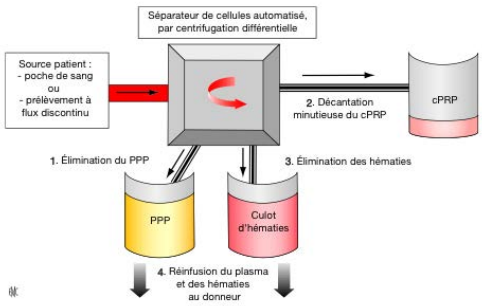


Figure 11: Obtention du PRP selon la technique dite d'aphérèse (technique lourde) [13]

Puis, le développement de techniques plus simplifiées, commercialisées sous forme de kit et utilisant la centrifugation, a rendu possible la préparation et l'usage du PRP en pratique courante.

Les systèmes sont de plus en plus automatisés, ce domaine de recherche est en plein essor, et suit une croissance exponentielle. [11,13]
En effet, seulement trois systèmes de préparation commerciale du PRP existaient dans les années 1990 ; en 2013, on en dénombrait plus d'une cinquantaine. [12]

B. Protocoles double centrifugation

Marx et al ont déclaré qu'une technique de double centrifugation était nécessaire afin de concentrer vraiment les plaquettes du sang autologue. [21]
Le sang veineux est prélevé sous anticoagulant, évitant ainsi l'activation et la dégranulation du contenu des plaquettes.

Une première centrifugation, ou *soft spin*, sépare le sang en trois strates :

- au fond du tube, on retrouve les hématies et les leucocytes, représentant 55% du volume total.
- en surface, se trouve le plasma acellulaire, ou plasma pauvre en plaquettes (PPP) occupant 45% du volume. Il est essentiellement composé de molécules plasmatiques circulantes dont le fibrinogène.
- le *buffy coat*, ou manteau blanchâtre, se situe entre ces deux zones. Il représente 5% du volume total, et comprend des concentrations en plaquettes et en fibrinogène accrues.

L'étape suivante consiste à isoler cette couche intermédiaire, à l'aide d'une seringue stérile ou de façon automatique selon les protocoles, afin de lui faire subir une seconde centrifugation.

Ainsi, lors du recueillement du PRP, il est possible, et même fort probable, que des hématies et une petite quantité de plasma acellulaire aient été prélevées.

La deuxième centrifugation, ou *hard spin*, plus longue et plus rapide, permet d'obtenir à nouveau trois couches :

- quelques hématies résiduelles au fond du tube
- en surface, le PPP, plasma acellulaire représentant environ 80% du volume total
- entre ces deux strates, une couche blanchâtre correspondant au PRP.

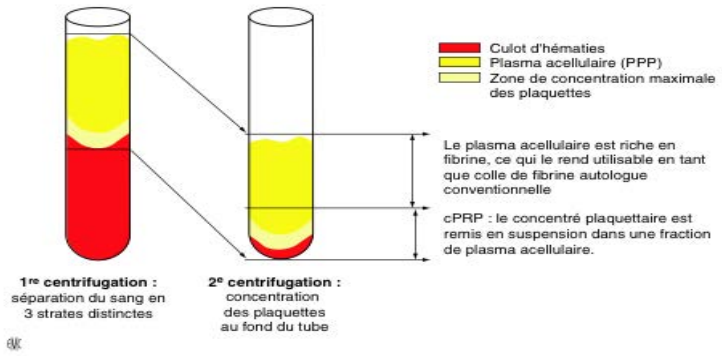


Figure 12: Obtention du PRP via une double centrifugation [13]

Le PRP est relativement aisé à recueillir. Avec une seringue stérile, le PPP est retiré en majeure partie de manière à ne laisser que le strict nécessaire à la remise en suspension des plaquettes concentrées. Après agitation, le PRP est obtenu. [13]
Le volume recueilli est relativement minime par rapport au volume de sang prélevé initialement.

Plusieurs protocoles utilisant la double centrifugation ont été développés pour faciliter l'application clinique du PRP. [22] Afin de simplifier et d'optimiser la production du PRP, les laboratoires peuvent jouer sur les différents paramètres suivants :

-le volume de sang total, initialement prélevé
-l'utilisation ou non d'un anticoagulant
-la méthode de prélèvement
-les temps et vitesses de centrifugation
-la (ou les) molécule(s) utilisée(s) pour l'activation du PRP
-la durée de la procédure
-le volume final de PRP recueilli

Kaux et al, en 2009, ont comparé cinq techniques de préparation du PRP en vue du traitement de tendinopathies. Son objectif était de recueillir un volume minimal de PRP afin de diminuer la pression lors de l'injection et de minimiser les douleurs, tout en présentant une concentration élevée en plaquettes.
Idéalement, le but était d'obtenir 1 mL de PRP avec la concentration en plaquettes la plus élevée, la quantité de facteurs de croissance libérés pouvant être liée au système de préparation.

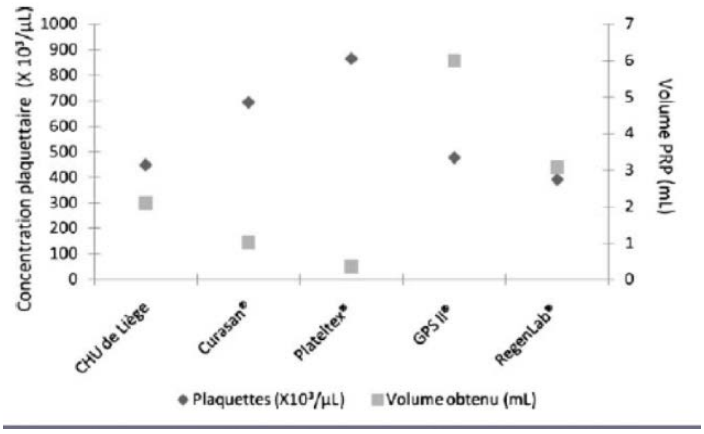


Figure 13: Comparaison de cinq techniques de préparation du PRP [23]

Il en a conclut que la technique Plateltex® permettait de recueillir le PRP le plus concentré (865 x 10^9 plaquettes/L) dans le volume le plus faible (0,34 mL). Cependant, l'impératif préliminaire d'injecter 1 mL de PRP lui conféra de réaliser l'opération à trois reprises. [23]

Il s'agit donc de décrire un peu plus précisément cette technique dite Plateltex®. *(annexe I)*

Tableau II: Informations techniques de différents systèmes de préparation (double centrifugation) du PRP. Par manque d'informations, les protocoles nouvellement approuvés n'y figurent pas.

Nom du protocole	Volume de sang prélevé	Anti-coagulant utilisé	Méthode de prélèvement	Centrifugation n°1	Centrifugation n°2	activation	Durée
Plateltex® [24,25]	50 mL (8,5 mL /tube)	Citrate-Dextrose-Adénosine acide	Seringage	160g – 180g pendant 10 minutes	1200g ou 1000g pendant 10 minutes	Gluconate de calcium + batroxobine	
PCCS® [13]	60 mL	Citrate-Dextrose-Adénosine acide	Par un système d'insufflation d'air	3000 tours/min (environ 800g) pendant 3 minutes et 45 secondes	3000 tours/min pendant 13 minutes	Thrombine + chlorure de calcium par seringue à embout auto-mélangeur	20 à 40 minutes
Smart Prep® [13, 28]	60 mL	Citrate-Dextrose-Adénosine acide	décantation	Centrifugation continue à des vitesses différentes			12 minutes

Le système PCCS® apporte un début d'automatisation. Les tubes à centrifugeuse sont remplacés par deux poches plastiques solidarisées par un anneau et reliées entres elles par une tubule clampée. Après la 1ère centrifugation, le praticien retire le clamp de la tubule, et insuffle, à l'aide d'une seringue, de l'air dans la 1ère poche, via une valve. Le liquide en superficie (PPP + PRP) est donc chassé vers la 2nde poche. L'étape se finit quand quelques hématies pénètrent dans cette 2nde poche. Après la 2nde centrifugation, la procédure demeure identique, de l'air est insufflé à la 2ème poche pour chasser le PPP en sens inverse.
La naissance de ce protocole fut un premier pas de l'industrie médicoscientifique pour fournir des machines et des protocoles simplifiés et adaptés.

Cependant, il subsiste encore quelques manipulations humaines délicates ; ce qui disparaît avec le système SmartPrep®. Ce protocole, entièrement automatisé et facile d'utilisation, fait figure de leader dans le domaine de la production de PRP à visée chirurgicale. Son fonctionnement repose sur un dispositif constitué d'une double chambre de centrifugation (une pour le sang, l'autre pour le plasma) permettant une décantation et donc une séparation automatique des différentes couches de sang centrifugé. [13]

Figure 14: Double chambre de centrifugation du protocole SmartPrep® [11]

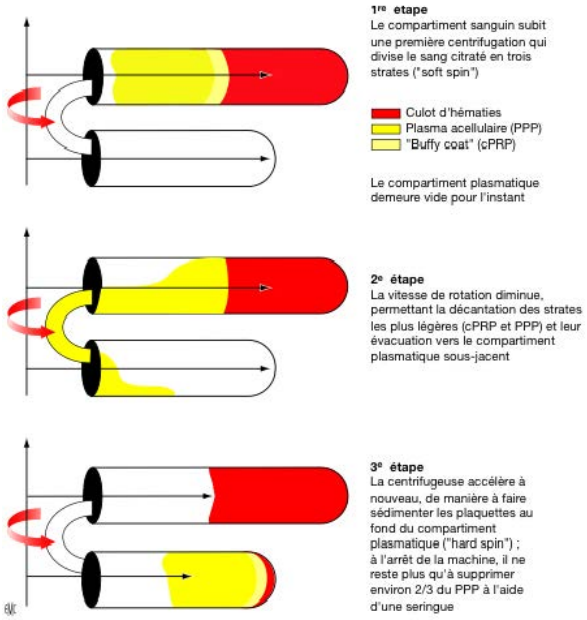


Figure 15: Automatisation apportée par le système SmartPrep® [13]

C. <u>Protocoles à centrifugation unique</u>

Dans ces systèmes, le sang prélevé sous anticoagulant subit une seule et simple étape de centrifugation, seule modification notable par rapport aux protocoles décrits précédemment.
Le choix s'est porté sur le système GPS II® (Gravitational Platelet Separation system) pour illustrer ces propos.

Dans une seringue de 60 mL, 6 mL de citrate (anticoagulant) et 54 mL de sang du patient (issus de la prise de sang) sont mélangés et agités. Le contenu de cette seringue est ensuite déversé dans le « *GPS® II container* », tube à centrifugeuse *luer-lock* contenant une valve rouge et une valve jaune.

Le « *container* » est ensuite placé dans la centrifugeuse, en face d'un tube de solution de chlorure de sodium jouant le rôle de contre balance.
Ces tubes sont centrifugés pendant 15 minutes à une vitesse d'environ 180g.
A la fin de cette étape, les trois couches habituelles sont obtenues (PPP, PRP, hématies).

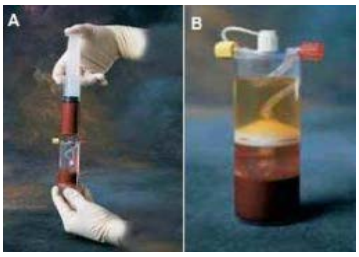


Figure 16: Préparation à la centrifugation (A). Obtention de trois couches distinctes (B) [11]

Le PPP est aspiré à l'aide d'une seringue de 30 mL via la valve jaune. Il servira à produire la thrombine autologue. Ensuite, une seconde seringue (10 mL), connectée à la valve rouge du « *container* », va permettre l'aspiration et le recueillement du mélange PRP – hématies, préalablement agité pendant 30 secondes.

Figure 17: Aspiration du PPP (A) puis recueillement du mélange PRP-hématies (B) [11]

Ainsi, environ 10 mL de PRP et 1 mL de thrombine sont obtenus, puis portés sur une seringue à double mélange. Après injection, un gel de PRP se forme en 15 secondes environ. [29]

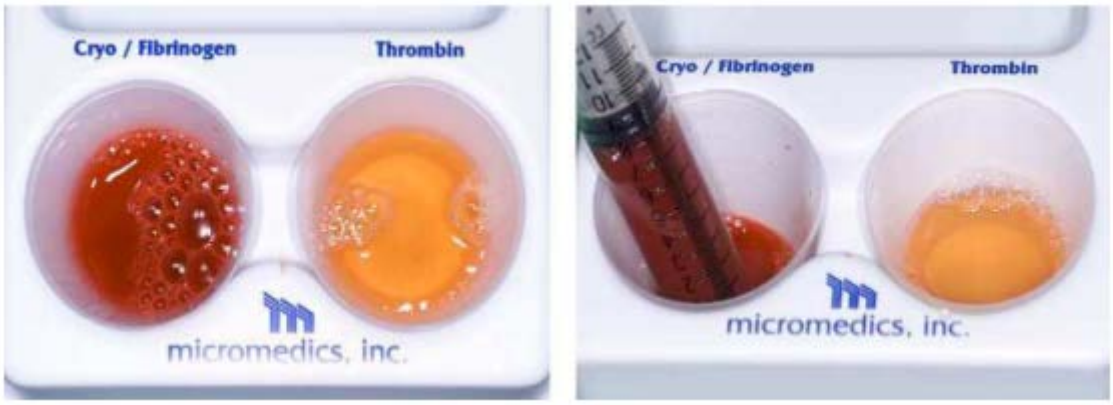


Figure 18: Obtention du PRP et de la thrombine [11]

Figure 19: Seringue double mélange contenant le PRP d'un coté, la trombine de l'autre: leur mélange conduit à la formation d'un gel [11]

D. Centrifugeuses utilisées

Au même titre que les protocoles et méthodes de préparation du PRP, les centrifugeuses inondent le marché, et font l'objet d'une recherche et d'un développement de tout instant.
Ainsi, nous pouvons en citer quelques unes à titre d'information et d'illustration, la liste étant loin d'être exhaustive.

Le laboratoire Separation Technology a par exemple commercialisé la centrifugeuse PlasmaPreP® qui réduit considérablement le temps de rotation. Quatre préprogrammes y sont décrits, dont la préparation du PRP en 30 secondes. Cette centrifugeuse accepte des tubes de hauteur et de diamètre variables, et apporte une sécurité de manipulation (déséquilibre automatiquement arrêté, couvercle verrouillé pendant l'intégralité de la rotation…).

D’autres centrifugeuses sont sur le marché comme Spectrafuge 6C® (6500 rpm) du laboratoire Labnet International. [32]

Figure 20: Centrifugeuses Spectrafuge 6C® (gauche) et PlasmaPrep® (droite) [32]

E. Protocoles sans centrifugation

Cette méthode, amenée et étudiée par Sumida et ses collègues, en 2006, est à l’heure actuelle la moins utilisée et la moins développée sur le marché.
En effet, faute d’études, de recherches et de résultats, les protocoles sans centrifugation ne témoignent pas d’une grande fiabilité quant à la préparation de PRP.
De leurs études Sumida et coll. avaient trouvé 3 polymères hydrosolubles capables de séparer les plaquettes des autres éléments figurés du sang : PGA (Polysel de sodium de l‘Acide Glutamique, PMB (un polymère de phosphocholine) et AAP (Polysel de sodium de l’Acide Aspartique). [30]

En octobre 2010, le laboratoire Curasan® a commercialisé un système capable de concentrer des médiateurs de thrombocytes sans avoir recours à la centrifugation, l’ATR (Advance Tissue Regeneration) system. 8 mL de sang du patient sont mélangés à un anticoagulant et deux agents de sédimentation. Après une latence de 50–60 minutes, 3,5 mL de plasma riche en plaquettes surnage, puis subit un processus de séparation dans le système ATR, à l’aide d’une solution d’hydrogénocarbonates. L’addition d’eau va ensuite permettre l’activation des thrombocytes et la libération des facteurs de croissance. Le CMT (concentré de médiateurs de thrombocytes) obtenu (entre 0,50 et 1 mL) peut être utilisé dans les 60 minutes. [31]

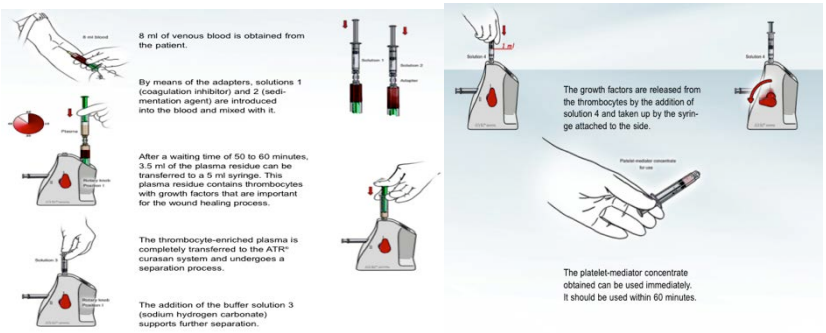


Figure 21: Protocole sans centrifugation ATR du laboratoire Curasan® [31]

F. Discussion

1. Comparaison des trois techniques de préparation

Comme dit précédemment, la méthode de séparation sans centrifugation est une technique lourde, alternative, dont le peu de connaissances, de recherches, et de résultats conduisent à mettre ce protocole en dernier plan.

Une étude expérimentale chez le lapin a été menée par Nagata et son équipe afin de comparer la quantité et la qualité des plaquettes d'un PRP issu d'une centrifugation unique et d'une double centrifugation.
10 mL de sang on été prélevés sur chacun des 10 lapins blancs adultes de Nouvelle Zélande utilisés. Chaque échantillon de sang a été divisé en deux parties égales. 5 mL ont été centrifugés selon un protocole de centrifugation unique (groupe I), les 5 autres selon une double centrifugation (groupe II). Le nombre et la qualité des plaquettes de chacun des PRP obtenus ont été étudiés.
En conclusion, il a été rapporté que le protocole double centrifugation conduit à des concentrations en plaquettes supérieures, mais qu'il provoque, aussi, des modifications de leur morphologie pouvant affecter la capacité de régénération du PRP. Selon Marx, une plaquette endommagée ou rendue non viable par le protocole ne peut sécréter de facteurs de croissance bioactifs. [33]

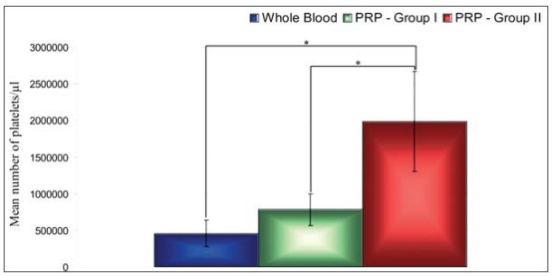


Figure 22: Comparaison de la concentration en plaquettes obtenue après simple ou double centrifugation [33]

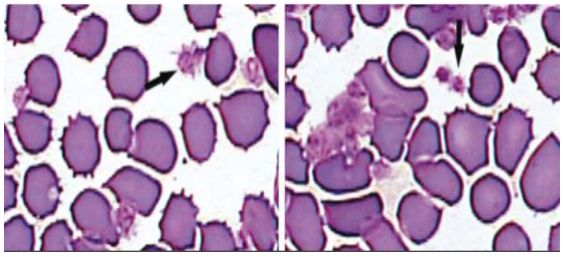


Figure 23: Observation des plaquettes en microscopie après simple centrifugation (gauche) et double centrifugation (droite) [33]

Marx et ses collègues ont déclaré qu'une double centrifugation était nécessaire pour obtenir une concentration significative des plaquettes, alors qu'Anitua démontre une cicatrisation plus rapide des tissus mous traités par un PRP issu d'un seul *spin*. [21, 33]

En 2003, seulement deux systèmes de préparation, SmartPrep et PCCS, étaient approuvés par la FDA. [11]
En 2012, la liste s'agrandit : les systèmes Fibrinet, RegenKit ou PCCS2 font l'objet d'une approbation. [26]

Enfin, le 20 janvier 2015, la FDA publie la liste des approbations des demandes de périphériques biologiques de l'année 2014, parmi laquelle y figure notamment les systèmes SmartPrep2 ou encore Endoret. [27]

Tableau III: Quelques protocoles approuvés par la FDA [100]

Commercial System	Blood Vol (ml)	Centrifugation (No. of Spins)	PRP Vol (ml)	Platelet Concentration	Activator (+/-)	Leukocytes (+/-)
Cascade®	9-8	1	4-9	1-1.5x	$CaCl_2$	-
GPS III	60	1	10	9.3x	Trombin	+
ACP®		9	1	3	2-3x	None
Smart PRP2®	20-120	2	3-20	4-6x	Trombin	+
PRGF®	9-72	1	4-32	2-3x	$CaCl_2$	-
Magellan®	30-60	2	6	3-7x	$CaCl_2$	+
Angel®	40	2	4	1-18x	None	+/-
Genesis CS®	30-60	1	4-10	9x	$CaCl_2$	NS
Sequire®	50	2	5	1.6x	Trombin Bovine	NS
Platelex®	50	2	4-6	NS	Batroxobin	+
Symphony II PCS®	55-110	1	NS	3-6x	Thrombin Bovine $CaCl_2$	NS

Les protocoles demeurent nombreux et variés, le marché du PRP attise les convoitises. Les données, les connaissances et les résultats évoluant, les laboratoires s'évertuent à rechercher le « système de préparation idéal ».
Il est ainsi difficile, voire impossible, à l'heure actuelle, de mettre un protocole en avant par rapport à l'autre, de nombreux autres paramètres variables entrant en compte (concentration optimale en plaquettes ?, vitesse de rotation, temps de rotation, anticoagulant utilisé…).

2. Description d'un système commercial

Quelle méthode ? Quelle vitesse ? Quel temps ? Quel anticoagulant ? Quel activateur ? ... Autant de paramètres sur lesquels les laboratoires jouent, étudient, testent afin de trouver LE système commercial par excellence.
Mikel Sanchez, en 2012, lors d'une conférence sur le PRP à Vittoria en Espagne, a décrit ce qui définissait un système commercial : la composition du PRP final et la procédure d'administration au moment de l'injection.

- ✓ composition du PRP :
  - concentration finale en plaquettes et facteurs de croissance
  - concentration en leucocytes
  - rapport volume de PRP obtenu/volume de sang prélevé

- ✓ procédure d'administration :
  dose injectée
  méthode de délivrance
  nombre et fréquence des injections

Nous verrons, par la suite, que certaines interrogations subsistent encore de nos jours. [12]

IV. Différences avec les autres concentrés plaquettaires

Afin de faire face à certains abus de langage et d'éventuelles confusions, il est nécessaire, voire indispensable, d'établir une étude comparative entres les différents concentrés plaquettaires. En effet, le terme « PRP » est parfois utilisé de façon erronée *stricto sensu*.

D'une part, le PRP est un concentré plaquettaire différent de celui préparé, développé et utilisé en hématologie transfusionnelle.
Comme dit, ce dernier est destiné à être transfusé dans la circulation sanguine générale ou à fournir, à partir d'un pool de donneurs, un produit pour l'industrie pharmaceutique (cryoprécipité).
Dans cette famille, deux types de concentré se distinguent : les concentrés plaquettaires standards (CPS) et les concentrés plaquettaires d'aphérèse (CPA).
Les CPS sont obtenus à partir d'un don de sang total par centrifugation unique puis séparation.
Les CPA, quant à eux, sont obtenus auprès d'un donneur unique par thrombophérèse grâce à un séparateur automatique de cellules en circulation extracorporelle.

La prescription de ces concentrés plaquettaires est particulière et requiert un groupage ABO et rhésus avec deux déterminations, le nombre d'unités de sang requises, le poids du patient, la numération plaquettaire, la présence éventuelle d'un syndrome hémorragique, et l'identification du patient et du prescripteur.
Leur utilisation est, bien souvent, avérée pour pallier à un défaut de la qualité des plaquettes ou à une thrombopénie. [4,11]

Cette famille est donc à distinguer de celle des plasmas enrichis, dont le PRP, utilisés en application topique, issus du patient lui-même, et d'une simple ou double centrifugation.
Il existe un large éventail de préparations biologiques utilisant le terme arbitraire « plasma riche en plaquettes », bien qu'elles emploient divers protocoles et qu'elles diffèrent quantitativement et qualitativement.
Les produits de cette famille ont donc été classés et séparés en 2009, par la fondation POSEIDO, selon deux paramètres clés : la présence d'un contenu de cellules (principalement les leucocytes) et l'architecture de fibrine.

-Le Pur Plasma Riche en Plaquettes ou P-PRP est une préparation sans leucocytes et avec un réseau de fibrine de faible densité après activation. Sous forme liquide ou de gel activé, il peut être injecté ou placé sur une plaie ou une suture.
Le gel de PRP est un adjuvant chirurgical adéquat dans de nombreuses situations, tandis que la solution de PRP (à l'avantage d'être liquide) avant activation, peut être injectée dans diverses situations de la médecine du sport ou en application orthopédique. Le système EndoRet® en fait partie.

-Le Plasma Riche en Plaquettes et Leucocytes ou L-PRP est une préparation riche en leucocytes et avec un réseau de fibrine de faible densité après activation. Comme le P-PRP, il peut se trouver sous la forme gel ou liquide, être injecté ou placé sur une plaie ou une suture. De nombreux résultats intéressants en chirurgie générale, orthopédique et médecine sportive ont été notifiés. Au cours de ces dernières années, une multitude de protocoles de préparation ont été développés (SmartPrep®, Plateltex®…).

-Le P-PRF (Pure Fibrine Riche en Plaquettes) est une préparation sans leucocytes mais avec un réseau de fibrine haute densité. Sans anticoagulant, l'activation des plaquettes se fait au contact du tube créant un réseau de fibrine dans lequel elles sont piégées. Ce produit n'existe que dans une forme gel activée. Sa forte matrice de fibrine lui confère la capacité d'être manipulé comme un vrai matériau solide. Le seul produit commercialisé sous cette forme est Fibrinet® PRFM (Platelet Rich Fibrin Matrix).

-Le L-PRF (Fibrine Riche en Plaquettes et Leucocytes) est une préparation riche en leucocytes et avec un réseau de fibrine haute densité. Ils sont utilisés de la même façon que le P-PRF. Sa préparation est basée sur le concept d'une centrifugation unique, n'employant ni anticoagulant ni activateur de sang. Le système certifié et commercialisé sous le nom intra-Spin® L-PRF est la technique de choix en chirurgie orale et maxillo-faciale, compte tenu de la grande maniabilité des caillots et membranes L-PRF avec les techniques de chirurgie actuelles.
En médecine du sport et orthopédie, les applications sont encore au stade expérimental.

Ce système de classification a été validé par une conférence de consensus en 2012, et fait l'objet d'une ligne directrice pour toutes les publications sur le sujet depuis 2013. [43, 44]

A cette classification, il semble judicieux d'y associer le terme PRGF (Plasma Rich in Growths Factors) décrit par Anitua comme étant le sang autologue concentré en plaquettes, préparé à partir d'une seule étape de centrifugation (8 minutes à 1800 tours par minute), utilisant le citrate de sodium comme anticoagulant, du chlorure de calcium et de la thrombine comme activateurs et dénué de leucocytes. Le PRGF contient de nombreuses protéines plasmatiques et des facteurs de coagulation, sous une forme gélatineuse. [97,98]

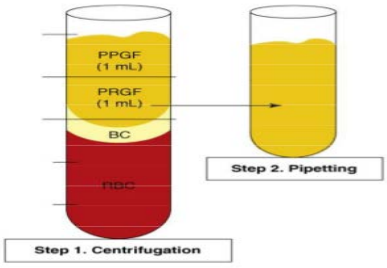


Figure 24: Préparation du PRGF [11]

En résumé, le thème abordé fait état d'injections de concentrés plaquettaires, soit le P-PRP ou L-PRP. La présence ou l'absence de leucocytes fera l'objet d'une réflexion dans la suite de l'étude.

V. Caractéristiques du PRP

A. Concentration en plaquettes

Une numération plaquettaire chez un individu sain se situe entre 140 et 500 x 10^9 plaquettes/L de sang. Une grande question freine l'essor de l'utilisation du PRP : «Quelle doit être la concentration idéale en plaquettes afin d'obtenir un résultat clinique optimal ? ». Aujourd'hui encore, ce problème n'est pas résolu.

En 2001, Marx déclare qu'une concentration inférieure à 1000 x 10^9 plaquettes/L de sang ne serait pas fiable pour améliorer la cicatrisation. [45]
Ce même Marx, en 2004, annonce, cette fois ci, qu'un PRP doit avoir une concentration en plaquettes de 300 à 400% de celle du sang entier afin d'être considéré comme un « PRP thérapeutique ». [46]
Des concentrations plus faibles ne seraient pas efficaces, tandis que des concentrations plus élevées n'apporteraient pas davantage d'efficacité. [45,46]

Or, Sanchez, lors d'une conférence sur le PRP en 2012, affirmait ceci :
-[plaquettes] x 4-5 : mauvaise réponse
-[plaquettes] x 2 : bonne réponse
-En dessous : pas d'effets
-Au dessus : risque d'effets indésirables

En effet, selon lui, il n'y a pas que le nombre de plaquettes qui est important, les facteurs plasmatiques le sont tout autant. « On ne prépare pas un concentré plaquettaire, mais un plasma enrichi en plaquettes ». [12]

Concentrer fortement les plaquettes au détriment des facteurs plasmatiques serait donc, selon Sanchez, un moyen inadéquat d'optimiser l'utilisation du PRP. Les études s'orientent donc vers la découverte de cet équilibre.

L'étude de Giusti et son équipe (2014) sur une culture de ténocytes humains a montré qu'une concentration en plaquettes située entre 500 et 1000 x 10^9 /L stimule la prolifération, la migration cellulaire et la synthèse de collagène. Au-delà, l'effet est inhibiteur. [111]

En 2015, Kaux, Crielaard, Drion et Croisier ont annoncé que la concentration optimale en plaquettes était inférieure à 1000 x 10^9 /L soit 3 à 4 fois la concentration sanguine. Une concentration supérieure à 1200 x 10^9 plaquettes/L aurait un effet paradoxal de l'inhibition de la synthèse de collagène, ce qui entraînerait le phénomène de fibrose. [111]

B. Présence de globules rouges

Selon Scott, Khan et al, la présence de globules rouges dans la composition du PRP aurait un effet délétère sur la réparation tissulaire, via la présence de radicaux libres libérés lors de leur lyse. [56]

C. Présence de leucocytes

Cela reste un point de discussion important aujourd'hui : « Le PRP doit-il contenir des leucocytes ? »

En effet, Sanchez et Letartre seraient favorables à un PRP dénudé de leucocytes. Ces cellules dégraderaient les tissus en libérant des agents toxiques (myélopéroxdase, métalloprotéinases…), retarderaient la cicatrisation (fibrinolyse), contribueraient à l'inflammation et n'auraient pas d'effets bénéfiques contre une éventuelle contamination. [6,12]

Mazzocca et al (2012) ont étudié l'effet antibactérien du PRP contre Staphylococcus aureus, epidermitis, aureus résistant à la méticilline et Propionobacterium acnes. Ils en ont conclut qu'il n'était pas lié à la présence de globules blancs. Cet aspect est confirmé par Dragoo (2012) : à 14 jours, il n'observe aucune différence au niveau de la réaction inflammatoire provoquée par un PRP riche et un PRP faible en globules blancs. [111]

Cependant, les leucocytes ne sont pas seulement des cellules inflammatoires. De part leurs différentes chimiokines, leurs cytokines anti-inflammatoires (IL-4,-10,-13) et leurs peptides opïodes (endorphine, metenkephaline, dynorphine-A), elles ont des effets anti-nociceptifs. Ces cytokines contrecarrent les effets des médiateurs pro-inflammatoires au cours des premières phases de l'inflammation.

Certains groupes ont donc préconisé que la présence de leucocytes peut être négative pour le résultat thérapeutique, en raison d'un risque de stimulation du processus inflammatoire après injection au niveau du site blessé.
D'autres n'ont trouvé aucunes raisons valables de les annuler, leur présence pouvant augmenter la libération de facteurs de croissance, de médiateurs anti-douleurs et l'activité anti-infectieuse naturelle.
Cet effet semblerait dépendre du type de globules blancs (lymphocytes, monocytes), de leur quantité au sein du PRP et de l'état dans lequel ils se trouvent après centrifugation (activés, détruits, ou dans un état de stimulus inflammatoire). [44]

D. Utilisation d'anticoagulant

L'anticoagulant a pour but d'éviter la formation trop rapide du caillot de fibrine, avant même de rendre le PRP utilisable. Un certain nombre d'anticoagulants existe, seulement deux semblent appropriés pour la production du PRP.

En Chine, une étude a examiné l'effet des anticoagulants sur le PRP. Le Citrate-Dextrose-Adénosine acide (CDA-a) et le Citrate-Théophylline-Adénosine-Dipyramidole (CTAD) ont obtenu de meilleurs résultats dans le maintien de l'intégrité des structures des plaquettes que l'héparine et le citrate de sodium. De même, les PRPs préparés à l'aide de CDA-a ou de CTAD ont significativement amélioré la prolifération des cellules stromales de moelle humaine par rapport aux PRPs préparés à l'aide de citrate de sodium ou d'héparine.
L'EDTA provoquant des dommages structurels, biochimiques et fonctionnels des plaquettes, il n'est pas utilisé.

Ainsi, parmi ces deux anticoagulants de choix, le CDA-a est le plus retrouvé. Parfois, l'adénosine est remplacée par le phosphate. [5,45,49]
Le citrate étant légèrement acide, il est fortement recommandé d'utiliser un tampon $NaHCO_3$ de telle sorte que le pH soit optimal (supérieur à 8) avant l'injection. [103]

Il est à noter que l'emploi d'un anticoagulant n'est pas nécessaire dans le cas où l'injection du PRP liquide se ferait instantanément après la prise de sang.

E. Utilisation d'activateurs

La gélification correspond à l'étape de formation du caillot. Le fibrinogène plasmatique doit être converti en fibrine qui polymérise et forme ainsi un réseau tridimensionnel adhésif.
Pour cela, avant son utilisation, le PRP doit être mis au contact d'une source de calcium (jouant le rôle de cofacteur) et d'une enzyme capable de transformer le fibrinogène en fibrine polymérisée.

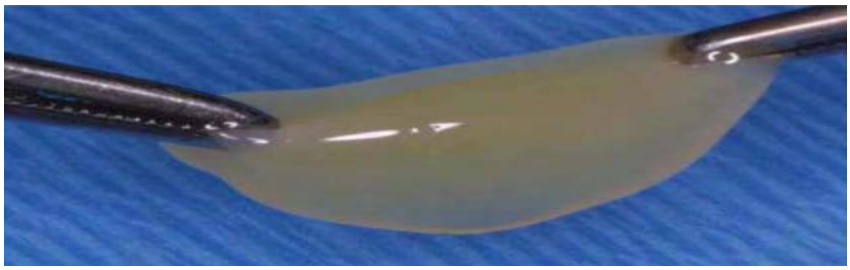


Figure 25: Forme gel obtenue après activation [11]

La source de calcium est, le plus souvent, apportée par du chlorure de calcium. Du gluconate de calcium peut aussi être utilisé.

L'enzyme naturelle de conversion du fibrinogène est la thrombine. La plupart des protocoles trouvent cette source via la thrombine bovine. Cependant, lors de son utilisation, il s'avère que la thrombine est également un puissant agent d'activation des plaquettes. Elle provoque, ainsi, la libération du contenu des granules plaquettaires dans le milieu environnant conduisant à une perte non négligeable des facteurs de croissance ; ceux-ci devenant donc indisponible pour la réparation des tissus.
De plus, la thrombine bovine est susceptible de déclencher une réaction immunitaire pouvant endommager les tissus (inflammation).

Depuis peu, le procédé Plateltex® utilise la batroxobine en lieu et place de la thrombine. Les plaquettes traitées avec cette enzyme ne deviennent pas activées, et la libération des facteurs de croissance se fait donc lentement. Dans ces conditions, la biodisponibilité des facteurs de croissance au niveau du site blessé est importante.

Cette étape de gélification n'est, bien entendu, valable que pour la préparation d'un PRP sous forme gel.
Lorsque le PRP sous forme liquide est utilisé, les plaquettes s'activent naturellement ou sont activées *in vivo* après injection au niveau du site lésé. Selon Letartre, ceci éviterait la formation d'un tissu cicatriciel au profit d'un tissu semblable au tissu d'origine. [6,12,47,48]

F. Sites d'utilisation préférentiels

Le sujet abordé étudie l'emploi du PRP lors de la prise en charge thérapeutique des lésions musculo-tendineuses. Dorénavant, toute information énoncée sera relative au PRP sous sa forme liquide, énoncé et décrit en IV (hormis pour le paragraphe « applications cliniques »), soit les P- et L-PRP sous leur forme liquide. Ainsi, le produit obtenu après centrifugation est, dans le cas de lésions musculaires et tendineuses, directement injecté, sous échographie, dans le muscle ou dans le tendon au niveau de la lésion sous sa forme liquide. [6,103]

G. Règles de bonne pratique

Le prélèvement sanguin doit être effectué par une personne qualifiée et autorisée, le cas échéant par du personnel formé aux différentes étapes de la technique, du prélèvement à l'injection. [52]
L'asepsie stricte doit être respectée. Le matériel utilisé doit être à usage unique. [50,111]
Les centrifugeuses utilisées doivent être agrées CE, donc fidèles aux normes européennes.
Les matériels et produits employés sont soumis à traçabilité. [50]
Toute manipulation doit se dérouler sous une hotte à flux laminaire.
L'habillage du praticien, et de l'échographe dans le cas d'une injection écho-guidée, doit être stérile. [52]

H. Précautions à prendre

Avant d'envisager un traitement par PRP, un diagnostic clinique et d'imagerie doit être préalablement et précisément établit. [52,122]
Avant toute manipulation, il est indispensable de bien connaître le produit et ses effets, le protocole d'administration, la fréquence et le timing des injections. En effet, des injections répétées peuvent être nécessaires dans certains cas. [12]
La recherche de contre-indications doit être systématique.
L'injection doit faire l'objet d'une autorisation signée par le patient. (*annexe II*) [52,122]
Il est nécessaire de rappeler certaines précautions au patient. [122]
Avant la séance, le patient doit signaler toute fièvre, infection, lésion cutanée, prise médicamenteuse (aspirine, anticoagulant, AINS, antiagrégant plaquettaire), grossesse ou allergie. [122]
Le patient doit arrêter toute prise d'anti-inflammatoire ou d'aspirine au moins 10 jours avant l'injection, et 3 semaines après (contre-indication). [52]
La mastication libère des composants pro-inflammatoires dans la circulation sanguine et l'activation des plaquettes est diminuée postprandiale : il est donc préférable que le patient soit à jeun avant la préparation du PRP. [103]

Lors du prélèvement sanguin, il est nécessaire d'opter pour une aiguille de taille importante (20G courte 25 x 0,9 mm) afin d'éviter les turbulences.

Tableau IV: Recommandations quant à la bonne utilisation des aiguilles pour le prélèvement sanguin [135]

Gauge	Longueur pouces	Dimensions mm x mm	Paroi	Recommandation
16 G	1 1/2"	1,6 x 40	Normale	Transfert
18 G	1 1/2"	1,2 x 40	Mince	Transfert
18 G	2"	1,2 x 50	Normale	Transfert
19 G	1"	1,1 x 25	Normale	Prélèvement IV
19 G	1 1/2"	1,1 x 40	Mince	Prélèvement IV
19 G	2"	1,1 x 50	Mince	Prélèvement IV
20 G	1"	0,9 x 25	Mince	Prélèvement IV
20 G	1 1/2"	0,9 x 40	Mince	Prélèvement IV
21 G	5/8"	0,8 x 16	Normale	Sous-cutané animaux
21 G	1"	0,8 x 25	Mince	Injection IV
21 G	1 1/2"	0,8 x 40	Mince	IM Adultes
21 G	2"	0,8 x 50	Normale	IM Adultes
22 G	1"	0,7 x 25	Mince	Injection IV
22 G	1 1/4"	0,7 x 30	Mince	Injection IV/IM Enfants
22 G	1 1/2"	0,7 x 40	Mince	Injection IV/IM Adultes
22 G	2"	0,7 x 50	Normale	IM Adultes
23 G	1"	0,6 x 25	Mince	Injection IV
23 G	1 1/4"	0,6 x 30	Mince	Injection IV/IM Enfants
24 G	1"	0,55 x 25	Normale	Sous-cutané
25 G	5/8"	0,5 x 16	Normale	Sous-cutané
25 G	1"	0,5 x 25	Normale	Sous-cutané
26 G	3/8"	0,45 x 10	Normale	Sous-cutané/ Intradermique
26 G	1/2"	0,45 x 13	Normale	Sous-cutané/ Intradermique
26 G	5/8"	0,45 x 16	Normale	Sous-cutané
27 G	1/2"	0,4 x 13	Normale	Sous-cutané/ Intradermique
27 G	3/4"	0,4 x 19	Normale	Sous-cutané
30 G	1/2"	0,3 x 13	Normale	Intradermique

Les veines du bras sont à privilégier (cubitale, céphalique ou basilique), celles de la main paraissant trop étroites par rapport au calibre de l'aiguille.

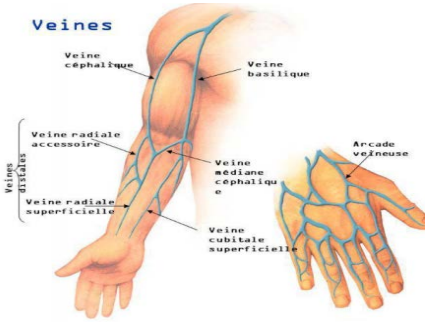


Figure 26: Veines du bras et prélèvement sanguin [142]

Lors de l'injection, une douleur peut être observée. Cependant, l'utilisation d'anesthésiques locaux (lidocaïne, marcaïne) et de cortisone est fortement déconseillée, ces produits empêchant la prolifération de cellules et donc la régénération tissulaire. [6]
En effet, Carofino et al ont cultivé des ténocytes isolées du long chef du biceps fémoral en présence de PRP et de méthylprednisolone ou lidocaïne ou bupivacaïne : les corticoïdes et les anesthésiques locaux réduisent les effets bénéfiques du PRP sur la prolifération et la viabilité des cellules tendineuses. [111]
Puis Bausset a affirmé que l'utilisation d'anesthésiques locaux comme analgésiques pendant l'infiltration compromettait le potentiel thérapeutique du PRP puisqu'elle diminue l'agrégation plaquettaire. [111]
L'anesthésie locale réduit le pH local ; or, un pH inférieur à 7,7 inhibe l'activation des plaquettes et donc leur dégranulation, tandis qu'un pH supérieur à 8 la stimule. [103]

Ainsi, pour gérer la douleur pendant l'injection, plusieurs options s'ouvrent au thérapeute :
-utiliser une petite aiguille non susceptible de modifier la fonction plaquettaire : aiguille 30G [103, 111]
-proscrire les AINS jusqu'à J+21, limiter la glace, mais conseiller le paracétamol [122]

-dans le cas d'injection au niveau du tendon, possibilité d'employer le bloc anesthésique à distance [110]
-dans les cas les plus douloureux, utiliser un mélange équimolaire de protoxyde d'azote et dioxygène par inhalation, gaz à potentiel sédatif et analgésique [122]

I. Effets secondaires et risques

Selon Kaux et al, seulement un cas de réaction inflammatoire exubérante liée à l'injection a été notifié, chez un patient diabétique de type 1. [23]

Le risque infectieux subsiste et est lié à la manipulation de produits et à l'injection. Ce risque demeure, somme toute, limité si les conditions d'asepsie et les règles de bonne pratique sont respectées : en effet, en cabinet, si toutes les précautions sont prises, le risque d'infection inhérent à toute injection est de l'ordre de 1/70000. [50,110]

L'injection peut présenter un risque de blessures au niveau d'un nerf ou d'un petit vaisseau ; elle peut également être à l'origine d'une douleur pendant et quelques jours après.

Le risque d'incompatibilité et de transmission d'agents pathogènes (VIH, VHC…) et de maladies est écarté de part le caractère autologue de la préparation. [50]

Une seule étude, chez l'animal, a montré le risque d'induction d'ulcères lié à une augmentation du VEGF plasmatique et une diminution concomitante des endostatines (facteurs anti-angiogéniques). [105]

Dans le cadre de lésion musculaire, le risque de fibrose ne peut être écarté, mais n'a pas fait, à ce jour, l'objet de travaux précis. Le phénomène de fibrose est régulé par la libération de TGF-β1, facteur de croissance retrouvé dans le PRP. [50]

Dans le cadre d'une tendinopathie rotulienne, Fink et al, ainsi que Bowman et al ont rapporté chacun un cas d'ostéolyse rotulienne avec un épaississement du tendon et une aggravation de la douleur. [111]

Enfin, le potentiel carcinogène du PRP n'a jamais été démontré. [50]

Ainsi, hormis le risque émanant de l'injection, les études permettent d'affirmer que l'utilisation du PRP est sans effets secondaires notables, et témoignent d'une sureté et d'une excellente tolérance.

J. Candidats aux injections de PRP

Toujours dans le cadre de notre travail, les candidats sont des patients aux problèmes musculaires ou tendineux.
Généralement, deux catégories de destinataires sont décelées :
-les sportifs de haut niveau pour lesquels la technique PRP est la solution choisie pour réduire la durée de l'impotence fonctionnelle et encourager à un retour rapide à la compétition.

-les patients lambda qui font appel au PRP afin de soigner des lésions tendineuses chroniques ou musculaires récidivantes, et ne répondant pas ou peu aux thérapeutiques habituelles. Ces patients doivent donc présenter des symptômes suffisants ou une chronicité avérée.
Les patients doivent être âgés d'au moins 18 ans. [51,111]

Néanmoins, quelques contre-indications relatives à l'injection de PRP existent :
-trouble de l'hémostase et maladies des plaquettes (thrombocytose…), patients sous anticoagulant ou traitement antiagrégant plaquettaire : la libération de facteurs pro-thrombotiques étant dangereuse chez les patients présentant un risque thromboemboliques [1,105]
-infection ou tumeur au voisinage de la lésion
-proximité immédiate de la lésion d'un axe vasculo-nerveux [1]
-patients ne pouvant arrêter la prise d'anti-inflammatoire ou d'aspirine pendant la durée du traitement
-femme enceinte ou allaitante [112]

VI. Applications cliniques du PRP

Le volume des publications sur le sujet est à la hauteur de l'engouement et de l'intérêt qu'il suscite. En décembre 2012, 4174 articles mentionnant le PRP étaient publiés sur Pubmed, dont 539 cette même année.
Utilisé en tant qu'adjuvant chirurgical, le PRP l'est sous la forme gel. Sous forme liquide, il est injecté.

A. Chirurgie ophtalmique

Utilisé localement en tant qu'adjuvant chirurgical des déchirures de la macula, le PRP avait pour but de jouer le rôle de liant biologique, optimisant ainsi la cicatrisation mécanique. Il a été constaté une augmentation du nombre de réouverture des trous fermés, et une acuité visuelle restaurée identique. [13]

B. Chirurgie plastique

Les chirurgiens plasticiens l'utilisent afin de limiter le risque de formation de cicatrices chéloïdes, au rendu inesthétique. Ainsi, l'application peut se faire sur des plaies cutanées après *lifting* de la face ou du cou, abdominoplastie ou après une incision thoracique lors de la pose de prothèses mammaires en silicone. [13, 37]

C. Chirurgies parodontales et implantaires

Ce champ d'application intervient sur deux types de tissus à la physiologie opposée : les surfaces mucogingivales et l'os alvéolaire.
Le PRP sert de liant entre les différents éléments d'une greffe osseuse ou gingivale. De plus, il permet de protéger le site opératoire.
On observe, lors de la cicatrisation mucogingivale, moins de douleurs postopératoires, moins de complications infectieuses ou mécaniques (décollement).
Au niveau de la chirurgie implantaire, l'application de PRP sur les parois alvéolaires avant la pose de l'implant augmente la surface de contact os-implant lors des six premières semaines de la greffe. [13]

D. Greffes osseuses

L'utilisation de PRP pour solidariser les fragments de greffes osseuses limiterait les micromouvements et les déplacements sous l'action de contraintes mécaniques. Ce qui empêcherait la formation de séquestres osseux.

A ce sujet, une étude a été menée. Dans un crâne de lapin, quatre trous identiques sont faits et destinés à être comblés différemment :
-le premier avec de l'os autogène
-le second avec de l'os autogène et du PRP
-le troisième avec du PRP seul
-le quatrième sans rien, témoin

La présence d'os permet un comblement parfait, l'absence ou la présence de PRP ne change rien. Le PRP rendrait bien des services dans le domaine chirurgical mais ne peut donc à lui seul, servir de nœud d'organisation à un tissu osseux. [13,36]

E. Chirurgie cardiaque

Son utilisation dans ce domaine permettrait d'améliorer l'hémostase et la cicatrisation, et diminuerait les risques d'infection grâce à ses propriétés antimicrobiennes. Les douleurs postopératoires seraient également moindres. [34, 35]

F. Orthopédie

Le PRP serait efficace dans le traitement des lésions cartilagineuses (ou arthrose) du genou (chondropathie de la rotule), de l'épaule et du coude, de la hanche et de la cheville.
En Italie, Filardoen et son équipe ont trouvé une atténuation de la douleur, et une amélioration de la fonction du genou et de la qualité de vie chez des patients ayant reçu plusieurs injections intra-articulaires de PRP pour traiter leur arthrose du genou. [38]
Blaney Davidson aurait, quant à lui, démontré le rôle du PRP dans la chondrogenèse, le facteur TGF stimulant la réparation cartilagineuse. [39]
Enfin, Charousset a dénoté 78% d'amélioration fonctionnelle dans l'arthrose du genou chez un panel de 168 patients traités par PRP. [2]

Selon ce même Charousset, le Plasma Riche en Plaquettes semblerait utile dans le traitement des entorses du genou (LLI) et de la cheville (LLI et LLE). [2]

En outre, beaucoup d'articles relatent les effets bénéfiques des injections de PRP dans le domaine de la chirurgie orthopédique :
-réparation des tendons de la coiffe des rotateurs
-suture chirurgicale de la coiffe des rotateurs
-évacuation d'une calcification de l'épaule
-réinsertion méniscale sous arthroscopie
-chirurgie ligamentaire du genou
-maladie d'Haglund de la cheville [2,42]

Enfin, le PRP trouverait également son efficacité dans la thérapie des tendinopathies de la coiffe des rotateurs, du coude, du genou, d'Achille et de l'aponévrose plantaire. [2]
De même, les injections de PRP apporteraient peut être une utilité dans le traitement des lésions musculaires. [52]
La dernière partie de ce travail fera l'objet d'une analyse détaillée de ces deux possibles indications.

VII. Le PRP, aujourd'hui, en France

A. Encore des interrogations

L'utilisation des PRP en traumatologie du sport, et notamment le domaine musculo-tendineux, suit une courbe exponentielle à l'échelon mondial. La France reste dans la lignée de cette évolution. Cependant, de nombreuses questions et zones d'ombres demeurent non résolues.

En premier lieu, il est à souligner que les protocoles de préparation de PRP inondent le marché, et demeurent tous différents les uns des autres. Ce manque de standardisation freine les recherches et les progrès. Les résultats d'expérience ne peuvent donner lieu à des comparaisons exploitables, ce, tant qu'un consensus sur les méthodes de préparation ne sera pas établi.

En second lieu, le PRP est soumis à de nombreuses variations intra-individuelles et interindividuelles. En effet, deux PRP, préparés selon la même méthode, issus du même patient, peuvent présenter des concentrations en plaquettes, facteurs de croissance et autres cellules (globules blancs et rouges) différentes : c'est la variation intra-individuelle. De même, deux PRP préparés selon la même méthode, issus de deux patients différents, présenteront également des différences dans leur composition quantitative.

Enfin, il reste à décrire avec précisions quel est le PRP « idéal » : quelle quantité injectée, présence en GB et GR, concentrations en plaquettes, facteurs de croissance, cytokines...

A l'avenir, le but sera d'établir des normes internationales sur la composition qualitative et quantitative du PRP en fonction des protocoles de préparation, et d'en préciser les indications et les sites d'injection. [1, 50, 52, 53]

B. Législation

La loi relative à la bioéthique votée le 8 juin 2004 et publiée le 7 août 2004 au journal officiel décrit les dispositions relatives à l'utilisation de produits autologues dont le PRP. Les articles 1242-1 et 1243-6 précisent « la possibilité de prélever et d'administrer des tissus ou cellules dans les cabinets libéraux, médicaux et dentaires ».

L'article 1245-2 informe que « les tissus, les cellules et les produits du corps humain, prélevés à l'occasion d'une intervention pratiquée dans l'intérêt de la personne opérée, peuvent être utilisés à des fins thérapeutiques et scientifiques, sauf opposition exprimée par elle après qu'elle ait été informée des finalités de cette utilisation ».

La loi bioéthique ainsi que l'ordonnance du 26 juin 2007 décrivent la classe pharmacologique du PRP comme étant « un produit sanguin labile exclusivement d'usage autologue et extemporané relevant d'une activité de soins ». [57,58]

En février 2009, l'ANSM se positionne et contribue à une révision de la loi. En effet, l'ANSM rencontre fréquemment des questions au point de confluence du champ médico-scientifique et du champ éthique dans l'exercice de ses missions visant à assurer la sécurité sanitaire des produits de santé. En ce qui concerne le PRP, « ces produits sont, en général, prélevés et nécessitent une étape de préparation et de conservation dans une structure qui peut à ce jour être respectivement un établissement de transfusion sanguine, une *start up*, une unité de thérapie cellulaire. Des demandes d'utilisation en « routine » ou dans le cadre d'essais cliniques ont été adressées à l'ANSM pour le plasma autologue… Il parait souhaitable de rechercher un encadrement adapté à ce type de préparation ». [59]

Ainsi, rien n'interdit l'emploi de ces produits en France. Son utilisation en routine (salle dédiée, salle d'échographie, salle de consultation, salle stérile ou bloc opératoire) est tout à fait possible, le respect des bonnes pratiques et des conditions d'asepsie ainsi que l'autorisation du patient étant les dispositions nécessaires et obligatoires.

C. Dopage

L'Agence Mondiale Anti-dopage s'est d'abord positionnée, en accord avec la conférence de consensus du CIO en 2007, contre l'injection par voie intramusculaire, et pour la nécessité d'une déclaration d'usage (ATU) dans tous les autres cas (liste de 2009). Cette recommandation a été levée en 2011, mais l'AMA continue à suivre ce dossier dans le cadre de nouvelles techniques susceptibles d'être utilisées en médecine du sport. [50]

En 2013, l'AMA statut sur les préparations dérivées des plaquettes. Le PRP ne figure pas sur la liste des interdictions. En effet, bien que le PRP présente une certaine concentration en facteurs de croissance, les études actuelles ne démontrent pas de potentiel d'amélioration des performances sportives au-delà d'un effet thérapeutique. C'est la différence avec les facteurs de croissance administrés séparément sous forme de substances purifiées, considérés, eux, comme produits dopants. [54]

Le 20 septembre 2014, l'AMA a sorti la liste des interdictions qui sont entrées en vigueur le 1er janvier 2015. Le PRP n'y est pas mentionné. A l'heure actuelle, il n'est pas considéré comme dopant. [55]

D. Assurance maladie et remboursement

En France, l'assurance maladie ne rembourse pas les injections de PRP. Le coût de cette thérapeutique reste donc à la charge du patient. Le montant n'est pas fixe, et dépend du praticien ainsi que du nombre d'injections réalisées. Le coût des matériaux (kits, centrifugeuse…), la prise de sang, l'injection, ainsi que les visites de contrôle font l'objet d'un tarif unique. A titre d'exemple, un centre de biologie et médecine du sport du sud-ouest demande 160 euros pour une injection de PRP, quelque soit le site.

Toutefois, il peut être possible d'obtenir un remboursement auprès des compagnies d'assurance. Celles-ci demeurent encore sceptiques face à l'utilisation de cette « nouvelle » technique aux résultats « non prouvés » scientifiquement.

Cette méthode étant une alternative en cas d'échec d'autres traitements, chez des patients atteints de lésion musculaires aigües ou récidivantes ou tendineuses chroniques, l'assurance maladie devra se pencher davantage sur la question ; le PRP pouvant être une source d'économie si son bénéfice clinique était avéré. [1,51,52]

PARTIE II : PLASMA RICHE EN PLAQUETTES ET CICATRISATION

Cette partie va permettre de décrire les mécanismes physiologiques déclenchés en réponse à un traumatisme, et à l'origine du phénomène que l'on appelle la cicatrisation.
Les besoins des tissus lésés pour se régénérer seront donc précisés ; la contribution et les apports du PRP au cours de ce phénomène y seront étudiés.

I. Les différentes phases de la cicatrisation tissulaire

La cicatrisation est un processus biologique complexe faisant intervenir un grand nombre d'intervenants et de mécanismes cellulaires, depuis l'arrivée des cellules sur le site lésé jusqu'à la formation d'une matrice extracellulaire spécifique du tissu en question.
Le but ultime de ce phénomène est de réparer le tissu mais aussi de lutter contre l'infection.
Il s'agit d'un phénomène dynamique faisant appel à des mécanismes complexes, et orchestré par de multiples intervenants.

Classiquement, la cicatrisation est décrite selon trois ou quatre phases. Chaque phase est induite par la précédente. Cette transition est encore mal connue, et pourrait impliquer l'apoptose, ou mort cellulaire programmée, massive des acteurs de la phase précédente.

Ces étapes sont :

-l'hémostase : sans lésion d'un tissu, il n'y a pas lieu à cicatriser. En conséquence, l'hémostase est souvent décrite comme la première étape de la cicatrisation, concomitante à la phase de détersion-inflammation.

-une phase de détersion-inflammation et vasculaire se mettant en place immédiatement après la blessure.

-une phase de prolifération aboutissant à la formation du tissu de granulation.

-une phase de remodelage ou de maturation qui peut durer quelques jours à plusieurs mois, dont le but est de redonner au tissu son aspect et ses propriétés initiales.

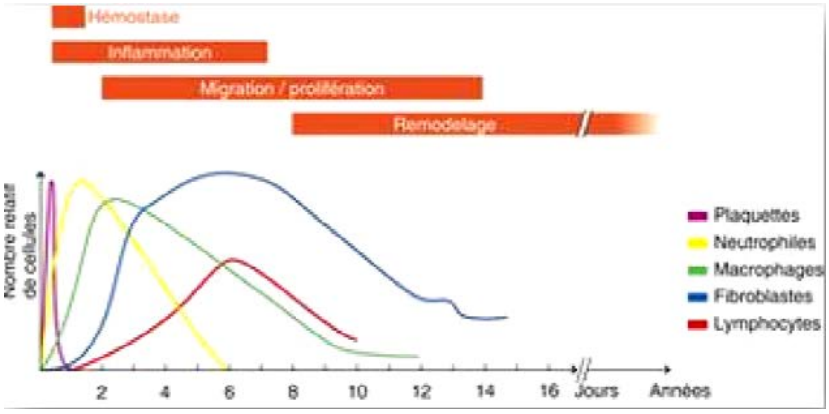


Figure 27: Les phases de la cicatrisation et leurs principaux acteurs [11]

Il est important de notifier que la cicatrisation est plus ou moins rapide et complète en fonction du tissu concerné et de sa spécialisation. [4,11,60]

A. L'hémostase

L'hémostase donne « le coup d'envoi » de la cicatrisation. Elle représente l'ensemble des phénomènes limitant les pertes sanguines au niveau d'une brèche vasculaire. Elle est dépendante de l'adhésion et de l'activation des plaquettes au niveau de la lésion, et de la formation du caillot de fibrine.
Le thrombus, composé de plaquettes agrégées et de fibrine, comble la brèche, arrête le saignement et permet de constituer une matrice provisoire pour la migration cellulaire, et donc la cicatrisation. [4]

Les étapes de l'hémostase :

-l'hémostase primaire
-l'hémostase secondaire ou coagulation
-la fibrinolyse du caillot

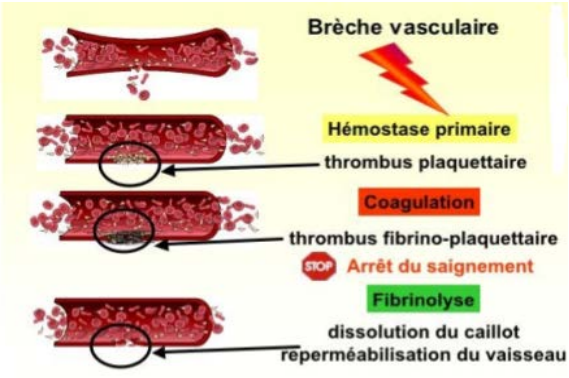


Figure 28: Les étapes de l'hémostase [136]

1. L'hémostase primaire

Après lésion d'un vaisseau, une vasoconstriction immédiate est déclenchée afin de ralentir le débit sanguin et de réduire les risques de fuite de sang. La rupture de la barrière des cellules endothéliales conduit au recrutement des plaquettes afin de former un trou plaquettaire. Les plaquettes interagissent avec la matrice sous endothéliale, c'est la phase d'adhésion.
Le facteur de von Willebrand, présent dans le plasma, le sous-endothélium et les granules α des plaquettes, sert de colle entre le vaisseau lésé et les plaquettes en se fixant au récepteur membranaire gp Ib/IX plaquettaire. Un second récepteur, gp Ia/IIa, va permettre aux plaquettes de se fixer au collagène sous-endothélial.

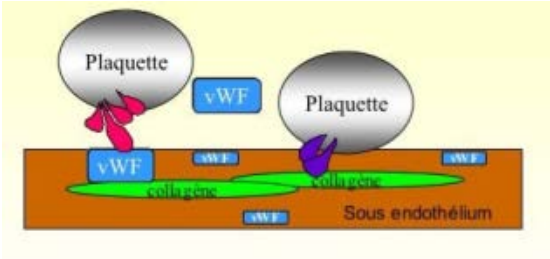


Figure 29: Phase d'adhésion des plaquettes à la matrice sous-endothéliale via leurs récepteurs membranaires gp Ib/IX (rose) et gp Ia/IIa (bleu) [139]

La première phase de ce processus, l'adhésion, ne nécessite pas d'activité métabolique de la part des plaquettes ; cependant, le contact direct avec la matrice sous-endothéliale conduit à leur activation, seconde phase de l'hémostase primaire.

Les plaquettes modifient leur forme, de discoïde à sphérique, et forment des pseudopodes. Puis, elles sécrètent rapidement le contenu de leurs granules denses (ADP, sérotonine, Ca^{2+} : agents proagrégants) et de leurs granules α (fibrinogène, facteur V, FW).
Dans le cadre du métabolisme des prostaglandines, certains phospholipides membranaires sont dégradés par des enzymes afin de produire le thromboxane A2, puissant agent proagrégant et vasoconstricteur. Enfin, les plaquettes procèdent à un réarrangement des phospholipides de leur membrane et excrètent des vésicules, leur permettant de présenter des sites de liaison pour les protéines de la coagulation, et donc d'en accélérer le processus.

La troisième phase de l'hémostase primaire consiste en un recrutement des plaquettes. Les produits sécrétés (ADP, sérotonine) ou formés (thromboxane A2) se fixent sur les récepteurs des plaquettes à proximité et les recrutent, amplifiant le processus d'activation plaquettaire.

Enfin, la quatrième et dernière étape est l'agrégation plaquettaire. L'activation des plaquettes a provoqué un changement de conformation de la glycoprotéine IIb/IIIa (récepteur membranaire), qui reconnaît désormais le fibrinogène et le fixe. Cette interaction assemble les plaquettes les unes aux autres, et forme un agrégat de plaquettes. [4,7,61]

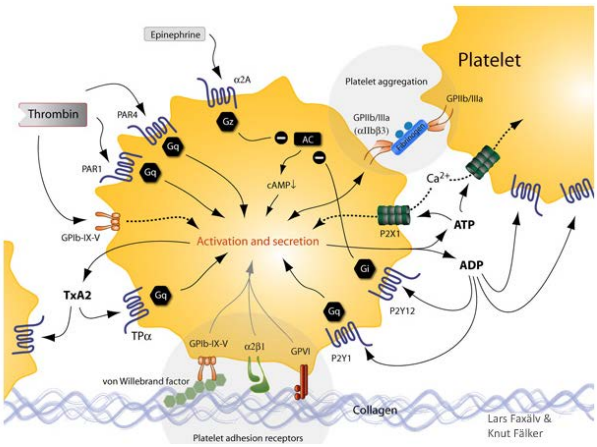


Figure 30: Phases d'activation, de sécrétion et recrutement, d'agrégation plaquettaire [137]

Les vaisseaux sont constitués de trois couches, l'intima, la plus interne, la média et l'adventice, ainsi que des cellules endothéliales au contact du sang. Tous ces éléments ne sont pas thrombogènes, et régulent négativement l'hémostase.

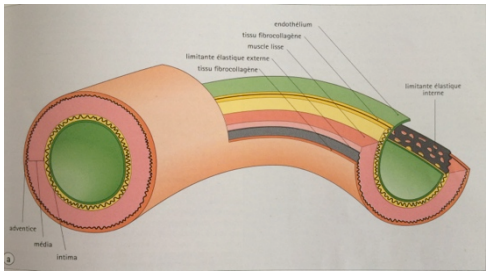


Figure 31: Organisation structurelle d'un vaisseau sanguin [80]

La prostacycline PGI2 inhibe l'adhésion, l'activation et l'agrégation des plaquettes. [7]

2. La coagulation plasmatique (*annexe III*)

Souvent utilisé de façon impropre pour désigner tous les aspects de la formation du caillot, le terme « coagulation » fait plus spécifiquement référence à la succession de réactions enzymatiques conduisant à la conversion du fibrinogène, protéine plasmatique soluble, en polymère de fibrine rigide et insoluble.

a. Initiation de la coagulation par le facteur tissulaire

En cas de lésion vasculaire, le facteur tissulaire (FT) fixe le facteur VII et le facteur VIIa (sous forme de traces) du sang circulant, ce qui conduit à une auto activation immédiate du facteur VII.
Le complexe FT/FVIIa active les facteurs IX et X fixés sur la surface membranaire des plaquettes, initiant ainsi la voie exogène de la coagulation.

b. Formation de la thrombine et amplification du processus

Les facteurs IXa et Xa activent leurs substrats respectifs (X et II) à la surface des plaquettes activées.

Les premières molécules de thrombine sont formées puis il y a une amplification par la thrombine de sa propre formation :

-puissant agent proagrégant, elle participe à l'accroissement du thrombus
-elle active les facteurs VIII et V :
  -VIIIa accélère l'activation du facteur X par le facteur IXa
  -Va accélère l'activation du facteur II par le facteur Xa
-elle active le facteur XI
-elle active d'autres types cellulaires (leucocytes, cellules endothéliales…), qui en temps normal, ne synthétisent pas le facteur tissulaire. Dans ces conditions, ces cellules produisent le FT et initient ou amplifient la coagulation.

c. Activation du facteur XI et phase de contact

Le facteur XI n'est pas seulement activé par la rétroaction de la thrombine, mais aussi par l'activation du facteur XII et du KHPM au contact du sous-endothélium.
Cette voie d'activation est la voie endogène, dont le rôle est mineur mais conduit malgré tout à la formation du facteur Xa.

d. Formation du caillot de fibrine

Les voies endogènes et exogènes (intrinsèques et extrinsèques) aboutissent à la production du facteur X sous sa forme activée. Ce facteur transforme la prothrombine en thrombine activée (IIa). Lorsqu'elle atteint un certain seuil, la thrombine convertit le fibrinogène en fibrine insoluble. Cette fibrine enveloppe solidement l'agrégat de plaquettes pour former un caillot.
Le facteur XIIIa (dont l'activation est réalisée par la thrombine et régulée par le cofacteur calcium) stabilise le caillot en créant des liaisons covalentes entres les monomères de fibrine adjacents.
Le caillot de fibrine s'organise en matrice provisoire dans laquelle monocytes, fibroblastes, cellules endothéliales vont pouvoir migrer et interagir avec le clou plaquettaire.

e. Régulation de la coagulation

La coagulation sanguine est régulée par trois systèmes inhibiteurs principaux :

-l'antithrombine : inhibiteur le plus important des sérine-protéases, en particulier le facteur Xa et la thrombine, son activité est augmentée par une interaction avec l'héparine des microvaisseaux et à la surface des cellules endothéliales.

-les protéines C et S : La protéine C est une protéine plasmatique vitamine K-dépendante. Elle inactive les cofacteurs Va et VIIIa, et stimule la lyse du caillot. Convertie sous sa forme enzymatique active par une interaction avec la thrombine, elle a pour cofacteur la protéine S.

-inhibiteur de la voie du facteur tissulaire (TFPI) : il inactive le facteur Xa, puis le complexe TFPI/Xa inhibe le facteur VIIa au sein du complexe VIIa/FT.

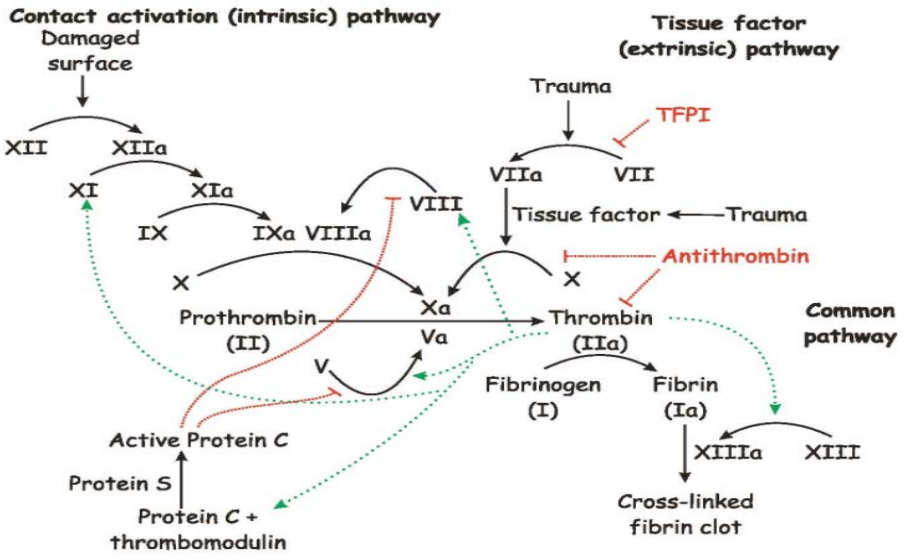


Figure 32: La coagulation plasmatique [138]

3. Fibrinolyse

Cette étape entraîne la dissolution progressive de la fibrine au niveau de la brèche. Lorsque l'endothélium endommagé est réparé, le caillot de fibrine doit être éliminé pour rétablir un débit sanguin normal.

Cette élimination est facilitée par une sérine-protéase, la plasmine. Le plasminogène, proenzyme synthétisée au niveau du foie et présente dans le plasma, est activée en plasmine sous l'effet de la libération de l'activateur tissulaire du plasminogène (AtP) par les cellules endothéliales.

D'autres activateurs du plasminogène peuvent jouer ce rôle, comme l'urokinase par exemple. L'AtP exerce une activité maximale lorsqu'il est lié à la fibrine, ce qui maximise son action au niveau du caillot. La plasmine hydrolyse la fibrine, le fibrinogène et d'autres protéines en « produits de dégradation solubles » jouant également le rôle d'anticoagulant.

La fibrinolyse est soumise à un contrôle strict : la plasmine circulante est inactivée par l'α2-antiplasmine, un inhibiteur de protéases. De plus, l'AtP forme un complexe avec PAI-1 (inhibiteur tissulaire du plasminogène). Le PAI-1 étant en quantité excessive, le complexe est à l'état inactif. Lors de la présence d'un thrombus, les cellules endothéliales produisent l'AtP. Cette fois ci en excès, il se fixe à la fibrine et échappe à l'inhibition, permettant ainsi une fibrinolyse localisée au niveau du caillot. [7,61]

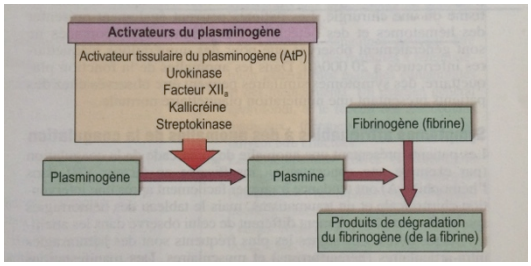


Figure 33: La fibrinolyse [61]

Cette étape est indispensable à la cicatrisation car elle permet la prolifération des cellules et donc le remodelage tissulaire.

B. Phase détersivo-inflammatoire

Cette phase permet l'élimination des bactéries, potentiellement dangereuses, mais également des débris endo- et exogènes pouvant gêner la recolonisation du foyer cicatriciel par les cellules et les macromolécules extracellulaires. Elle prépare donc la phase de prolifération.

Les facteurs plaquettaires (PDGF), les « produits de dégradation solubles », les fibrinopeptides (issus du clivage du fibrinogène par la thrombine) et les peptides bactériens attirent les neutrophiles et les monocytes. La libération de PDGF par les plaquettes permet d'attirer également macrophages et fibroblastes.
Les polynucléaires neutrophiles, premiers à être présents au niveau du site lésé, luttent contre les éléments exogènes et les débris cellulaires, facilitant ainsi la pénétration des cellules au niveau de la lésion.
Sous l'influence de TGF, les monocytes infiltrent la plaie et deviennent des macrophages.

Ces macrophages activés libèrent des facteurs de croissance intervenant dans la prolifération cellulaire (PDGF, VEGF) ainsi que des cytokines inflammatoires telles TNF-α, IL-1 et d'autres interleukines. Le macrophage joue donc un rôle pivot dans la transition entre inflammation et prolifération, en amplifiant la réponse inflammatoire.

Les cellules mésenchymateuses migrent et commencent à se différencier en fonction du type de tissu lésé (osseux, fibreux, vasculaires, musculaires…). Les fibroblastes prolifèrent et produisent la matrice extracellulaire (collagène…).

Enfin, l'angiogenèse débute ; le tout formant un début de tissu de granulation riche en fibroblastes, cellules inflammatoires et néo-capillaires.

La séparation spatio-temporelle entre les phases détersivo-inflammatoire et proliférative est en fait illusoire puisqu'elles se recouvrent très largement dans le temps et dans l'espace. [11,60,62]

C. Phase de prolifération

Cette phase assure en fait la reconstitution d'un tissu conjonctif et d'une matrice extracellulaire. Initialement imparfaits, tous ces éléments seront rectifiés au cours de la phase de remodelage.

Cette phase est constituée de trois étapes distinctes :
-une phase d'épithélialisation
-la formation du tissu de granulation
-la néovascularisation

1. Phase d'épithélialisation

Présente dans le cas de lésion cutanée, elle est décrite comme la prolifération de cellules épidermiques au niveau de la plaie.

2. Formation du tissu de granulation

Le tissu de granulation envahit le site. Il est composé de vaisseaux sanguins (nombreux capillaires), de macrophages, de molécules structurelles (fibrine, fibronectine, acide hyaluronique), de fibroblastes en nombre.

Cette phase correspond à la prolifération des fibroblastes, à l'angiogenèse et à la synthèse de la matrice extracellulaire. Elle comprend donc des phénomènes de migration et prolifération cellulaire (fibroblastes, cellules endothéliales), et de synthèse de substance fondamentale et protéines structurelles.

Les macrophages produisent les facteurs de croissance nécessaires à l'angiogenèse. Les vaisseaux sanguins néoformés permettent d'apporter nutriments et oxygène au nouveau tissu.
Les molécules structurelles constituent la MEC intermédiaire.
La prolifération des fibroblastes dépend des cytokines et facteurs de croissance produits par les macrophages et plaquettes : IGF-1, EGF, TNF, PDGF. De plus, de façon autocrine, via la libération de ces stimuli, ils amplifient leur recrutement.

La formation du tissu de granulation se met en place grâce au réseau de fibrine, servant de trame à la migration des fibroblastes. Au fur et à mesure de leur avancée, la fibrine doit être dégradée pour leur permettre de déposer le collagène.

Sous l'action du TGF-β1, les fibroblastes vont donc jouer un rôle primordial dans la synthèse, le dépôt et le modelage de la MEC définitive.
Lorsqu'une quantité suffisante de collagène est produite, les fibroblastes subissent le phénomène d'apoptose. [11,62,63]

3. Phase de néovascularisation

L'angiogenèse consiste en la croissance et l'extension de l'arbre vasculaire préexistant, pour former un réseau de type essentiellement capillaire.
Indispensable à la survie du jeune tissu de granulation, elle permet de répondre à ses besoins en lui apportant nutriments et oxygène.

a. Un processus à étapes

Ce processus peut être décrit selon deux étapes : l'initiation et la résolution.
Schématiquement, la phase d'initiation, sous le contrôle de l'angiopoïétine 2, se déroule ainsi :

-vasodilatation initiale et augmentation de la perméabilité vasculaire
-déstabilisation de la paroi vasculaire
-dégradation de la MEC
-prolifération et migration des cellules endothéliales à partir des vaisseaux les plus proches : bourgeonnement
-formation du tube endothélial et de la lumière du vaisseau (capillaire)

La seconde phase, la résolution, contrôlée par l'angiopoïétine 1, a pour but de stabiliser le vaisseau constitué de part :

-l'inhibition des fonctions activées lors de l'initiation (prolifération cellulaire et migration)
-la reconstitution de la membrane basale
-la maturation des jonctions cellulaires
-le recrutement de cellules péri vasculaires (péricytes, cellules musculaires lisses) permettant l'assemblage de la paroi [60,62,64]

Figure 34: L'angiogenèse: activation des cellules endothéliales et dégradation de la MEC (A); Migration des cellules endothéliales, formation d'un bourgeon capillaire et formation d'une lumière en avant du bourgeon (B); Maturation du bourgeon et reconstitution de la lame basale [65]

L'angiogenèse est donc un processus complexe dans lequel de nombreuses fonctions cellulaires sont impliquées :

-une activation puis une réduction de la mobilité des cellules endothéliales, leur permettant de migrer vers le stimulus angiogénique puis d'arrêter une fois leur destination atteinte.

-une prolifération cellulaire réversible qui fournit de nouvelles cellules pour la croissance et l'élongation du vaisseau, puis un retour à l'état quiescent dès que le vaisseau est formé.

-des interactions avec la MEC

b. Une régulation fine

Dans la vie adulte normale, les cellules endothéliales ont un taux de renouvèlement lent (0.1% en activité de prolifération), l'arbre vasculaire étant à l'état quiescent. Il a été constaté que dans les tissus adultes où il n'y a pas d'activité angiogénique, aussi bien des régulateurs négatifs que positifs ont été détectés, avec une prédominance de régulateurs négatifs.
Ces observations ont conduit à la notion *d'angiogenic switch* : dans un endothélium angiogénique, les régulateurs positifs prédominent ; à l'état quiescent, les régulateurs négatifs sont en excès. Bien que cela reste à démontrer de façon définitive *in vivo*, l'angiogenèse serait donc due à l'induction d'un régulateur positif ou à la perte d'un régulateur négatif, ou aux deux combinés de façon à faire pencher la balance du côté des régulateurs pro-angiogéniques.

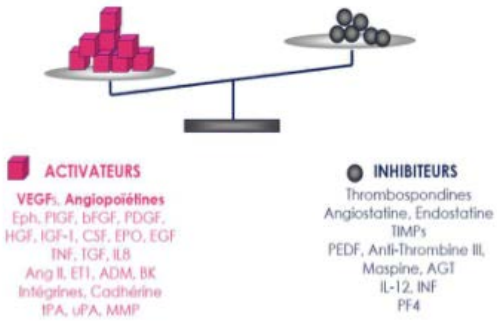


Figure 35: L'*angiogenic switch* [64]

Plusieurs familles de molécules aux fonctions différentes sont impliquées dans la régulation de l'angiogenèse : les facteurs de croissance polypeptidiques et cytokines, des molécules d'adhérence et des enzymes protéolytiques.

i. Cytokines et facteurs de croissance

Parmi les cytokines impliquées dans la régulation positive de l'angiogenèse, les mieux étudiées appartiennent aux familles du VEGF et du FGF.
Leur rôle est principalement de stimuler la prolifération, la différenciation et la migration des cellules endothéliales.

VEGF est aussi impliqué dans la production d'enzymes protéolytiques extracellulaires, et la formation de structures multicellulaires pourvues de lumière ressemblant à des capillaires sanguins.
VEGF joue donc un rôle important dans les premières phases de l'angiogenèse. Il faut cependant souligner que VEGF est nécessaire, mais probablement pas suffisant à lui seul. Un effet de synergie entre VEGF et FGF serait à l'origine de l'induction de l'angiogenèse.

Trois autres familles de cytokines ont été impliquées dans la formation de nouveaux vaisseaux, notamment pour l'assemblage de leur paroi et le maintien de leur intégrité : le PDGF, le TGF-β et les angiopoïétines.

Les angiopoïétines représentent une famille de cytokines récemment identifiée : Ang-1 et Ang-2 seraient des ligands se fixant sur des récepteurs des cellules endothéliales et hématopoïétiques. Ang-2 est un antagoniste de Ang-1.
Il a été proposé qu'Ang-2 est un facteur pro-angiogénique qui, en antagonisant la fonction stabilisatrice de Ang-1, rendrait l'endothélium vasculaire plus susceptible de répondre à des facteurs angiogéniques comme VEGF.
L'induction de l'expression de Ang-2, en inhibant le signal stabilisateur de Ang-1, aurait pour but de faciliter le bourgeonnement de nouveaux vaisseaux dans les premières phases de l'angiogenèse (initiation).
Cette étape fait suite au détachement des cellules endothéliales des cellules périvasculaires, conduisant au désassemblage de la paroi vasculaire.

En revanche, dans la phase de maturation des bourgeons néoformés (phase de résolution), des facteurs stabilisateurs comme TGF-β diminueraient l'expression de Ang-2, rétablissant ainsi le signal stabilisateur de Ang-1. TGF-β, activé lors du contact entre cellules endothéliales et périvasculaires, serait également un inhibiteur puissant de la mitose des cellules endothéliales et de leur migration. TGF-β stimulerait la synthèse d'intégrines et de composants de la MEC.

Une dernière famille, celle des éphrines, aurait probablement un rôle dans la morphogénèse des vaisseaux ; cependant, leur intégration précise à ce processus reste encore à établir.

ii. Les enzymes protéolytiques

La protéolyse extracellulaire est essentielle à l'angiogenèse car elle permet la dégradation de la lame basale sous-endothéliale, l'invasion de la MEC et la formation d'une lumière au sein du capillaire néoformé. Elle entraîne la libération de certains facteurs de croissance comme VEGF.
Elle est également impliquée dans la régulation de l'activité de certaines cytokines, soit en activant des formes latentes comme TGF-β, soit en permettant le relargage de cytokines liées à la MEC comme FGF.
Elle est réalisée par les métalloprotéinases de la matrice (MMP), famille d'enzymes capables de dégrader la plupart des composants de la MEC comme les collagénases ou les gélatinases. Ces enzymes sont soit sécrétées sous forme latente, soit existent sous forme transmembranaire (MT-MMP).
Une autre molécule est impliquée dans la dégradation matricielle : le plasminogène, proenzyme qui, sous sa forme active (la plasmine), participe à la fibrinolyse. La plasmine peut cependant dégrader d'autres composants de la MEC en activant des MMP.

iii. Les molécules d'adhérence

Les intégrines sont des glycoprotéines transmembranaires capables de se lier à la MEC via leur domaine extracellulaire, et au cytosquelette par leur domaine cytoplasmique.
Plusieurs d'entres elles sont exprimées par les cellules endothéliales.

Par exemple, l'intégrine αVβ3 est induite au niveau des cellules endothéliales activées lors de l'angiogenèse. Elle se lie aux protéines extracellulaires comme la fibronectine, le fibrinogène, la laminine, la thrombospondine…Elle est également exprimée sur les cellules musculaires lisses lors de leur migration.
Cette intégrine permet donc la transmission de signaux intracellulaires, responsables de la prolifération, la différenciation et la migration des cellules de l'angiogenèse.
Son inhibition réduit la néoformation de vaisseaux lors de la cicatrisation.
[11,62,63,64,65]

D. Phase de remodelage ou maturation

Ultime étape du processus de cicatrisation, cette étape consiste à rendre le tissu néoformé aussi proche que possible du tissu initial avant lésion. Elle est donc capitale pour la qualité esthétique, structurale et fonctionnelle du nouveau tissu.

Sous l'action des TGF β1 et β2, les fibroblastes se transforment en myofibroblastes (fibroblastes contractiles), permettant ainsi au tissu de se contracter et de se compacter.
Cette étape est caractérisée par une balance synthèse-dégradation sous le contrôle de nombreuses enzymes protéolytiques (métalloprotéinases) sécrétées par les macrophages, cellules endothéliales et fibroblastes, et de leurs inhibiteurs tissulaires.
De ce fait, au cours de cette phase, les fibres de collagène non orientées de façon fonctionnelle sont dégradées alors que les fibres ordonnées sont maintenues, renforcées et perfectionnées.
Des fibres d'élastine et des protéoglycanes réapparaissent, la membrane basale se réorganise : le tout étant de reconstruire un réseau stable et fonctionnel. [62,63]

II. Besoins des tissus pour se régénérer

Après avoir brièvement décrit les différentes phases de la cicatrisation, il est nécessaire de revenir sur les acteurs principaux de ce phénomène ainsi que les molécules indispensables à son bon déroulement.

A. Les cellules

Les cellules, actrices de la cicatrisation, doivent proliférer, migrer et synthétiser des facteurs solubles (cytokines et facteurs de croissance) et les composants de la MEC. Au cours de la réparation tissulaire, elles doivent modifier leur phénotype quiescent pour se différencier en cellules capables d'agir au cours des différentes phases.
Les cellules impliquées dans ce processus sont de divers types.

1. Les cellules inflammatoires : les leucocytes

Différentes populations de cellules inflammatoires apparaissent progressivement au niveau de la lésion.
Les polynucléaires neutrophiles agissent très précocement, rapidement et en grand nombre pendant la phase détersivo-inflammatoire précoce. Doués de capacité de phagocytose et de lyse (grâce à leurs enzymes lytiques : collagénases, élastases…), ils ont un rôle détersif et anti-infectieux non spécifique.

Les macrophages interviennent plus tardivement mais sont plus efficaces. Cellules très actives, douées de propriétés lytiques et de phagocytose, elles requièrent la particularité de présenter l'antigène aux lymphocytes T.
Ils ont donc un pouvoir anti-infectieux très puissant. Ils se comportent, aussi, comme des sources de facteurs de croissance (PDGF, TGF-β1, IGF-1), stimulant ainsi la prolifération et la migration des cellules endothéliales et fibroblastes, et favorisant le dépôt de la MEC.
Leur intervention se situe au niveau des phases détersivo-inflammatoire précoce et tardive, et de prolifération.

Puis, les lymphocytes sont les supports de l'immunité spécifique, agissant de pair avec les macrophages leur présentant l'antigène.
Ils ont donc un rôle antibactérien spécifique. Intervenant au niveau de la phase détersivo-inflammatoire tardive, ils activent les cellules inflammatoires par la libération de cytokines. Ils induisent également l'expression de molécules d'adhésion, notamment aux fibres de collagènes, sur les membranes cellulaires.

Enfin, les mastocytes présentent dans leur cytoplasme des vésicules contenant enzymes, cytokines et facteurs de croissance.
Ces cellules interviennent plus tardivement pendant la phase inflammatoire et aussi pendant la formation du tissu de granulation.

2. Les fibroblastes

Stimulés par PDGF et FGF, les fibroblastes au voisinage de la lésion migrent et prolifèrent pour former le tissu de granulation.
Puis, sous l'action de TGF-β1, ces cellules acquièrent des caractéristiques de cellules musculaires lisses, devenant ainsi des myofibroblastes. Dotés de propriétés contractiles, ils vont participer activement à la fermeture de la lésion par contraction.
De plus, ils vont, sous l'effet de PDGF, FGF, IL-1 et TGF-β1, sécréter des composants de la MEC.
Une double régulation va leur servir de support à leur prolifération, migration et différenciation : autocrine par les myofibroblastes eux-mêmes, et paracrine par la matrice sécrétée.
Enfin, ils émettent des prolongements cytoplasmiques entrant en contact les uns avec les autres afin de former un réseau tridimensionnel parallèle aux fibres de collagène.

3. Les cellules endothéliales

Afin de rendre possible la formation de nouveaux vaisseaux, et donc du tissu de granulation, cellules endothéliales et péricytes migrent au niveau de la matrice provisoirement établie lors de la phase inflammatoire : le tout sous l'influence de cytokines et facteurs de croissance (VEGF, FGF…) mais aussi de composants de la MEC comme la fibronectine ou l'héparine. Les cellules endothéliales sécrètent l'activateur du plasminogène, activant les collagénases et permettant la dégradation de la membrane basale des vaisseaux. Cette action permet aux cellules de migrer, proliférer et créer une lumière au sein du vaisseau néoformé.
Elles adhèrent à la MEC en exprimant des intégrines.

4. Les plaquettes

Fragments cellulaires contenant un grand nombre de granules de sécrétion, les plaquettes se situent à la croisée de l'hémostase et de la cicatrisation, deux phénomènes majeurs.
Lors de l'agression tissulaire, l'adhésion des plaquettes entraîne leur agrégation d'une part, et la libération du contenu de ces grains de sécrétion d'autre part. Ces sécrétions contiennent des facteurs chimiotactiques et pro inflammatoires, ainsi que des facteurs de croissance. Par ce biais, elles donnent le coup d'envoi de la cicatrisation et induisent détersion et prolifération.

5. Les cellules spécifiques du tissu lésé

La cicatrisation physiologique a pour but de redonner au tissu lésé les mêmes caractéristiques, structurales et fonctionnelles, que le tissu initial. Ainsi, lors d'une lésion cutanée, les cellules épithéliales trouveront toute leur utilité lors de la phase de remodelage. Il en est de même pour les myofibrilles dans le cadre d'une lésion musculaire, ou de fibroblastes lors de lésion tendineuse. [8, 60, 63]

B. Les facteurs nutritionnels

Un tissu lésé, en phase de cicatrisation, est un endroit de forte activité anabolique. En conséquence, il est nécessaire de fournir aux cellules activées les nutriments dont elles ont besoin pour la réparation tissulaire. Le tissu devient un site biologique prioritaire, où glucides, protéines et lipides seront transportés sur le lieu via un réseau vasculaire accru par l'angiogenèse.

1. Les protéines

Les déficits en protéines et acides aminés retardent la cicatrisation par une baisse des capacités de synthèse et de prolifération cellulaire.

On observe, par exemple, chez des animaux carencés en protéines, une diminution de la formation et de maturation de la MEC, de l'angiogenèse, des fonctions cellulaires.
La glutamine est le substrat préférentiel des cellules à renouvèlement rapide comme les cellules immunitaires ou les fibroblastes.
L'arginine favorise la synthèse de collagène en jouant le rôle de précurseur de la proline (acide aminé abondamment retrouvé dans le collagène).
Ou encore, l'α-cétoglutarate d'ornithine est un précurseur de la glutamine, l'arginine, de polyamines, améliorant ainsi la vitesse et la qualité de la cicatrisation.

2. Les glucides

Ils sont indispensables à la cicatrisation comme source énergétique pour la réponse inflammatoire. En cas d'apports insuffisants, le catabolisme protéique est majoré, les protéines ne servant plus à la synthèse du collagène mais à la production de glucose (néoglucogénèse).

3. Les lipides

Ils sont utilisés, comme les glucides, en tant que substrat énergétique pour limiter le catabolisme des protéines. Les acides gras polyinsaturés comme l'acide linoléique permettent la

formation des membranes cellulaires et donc accélèrent la cicatrisation de part leur rôle sur la prolifération des cellules.

4. Les vitamines et oligo-éléments

La vitamine A stimulerait la phase inflammatoire, la prolifération fibroblastique, la synthèse du collagène et l'angiogenèse. Cependant, des études randomisées demeurent nécessaires pour déterminer précisément l'impact de la vitamine A sur la qualité de la cicatrisation.
La vitamine C intervient dans la synthèse du collagène lors de l'hydroxylation de la lysine et de la proline.
La vitamine K est primordiale lors de la phase primaire de la cicatrisation : l'hémostase. En effet, l'activité de certains facteurs de coagulation en dépend.
La vitamine E intervient via ses propriétés anti-oxydantes en maintenant l'intégrité des membranes cellulaires.
La vitamine B5 permettrait la libération d'énergie depuis les glucides et le pontage du collagène.

Le zinc est un cofacteur de nombreux systèmes enzymatiques indispensables à la synthèse de protéines, la prolifération de cellules et l'expression de certains facteurs de croissance.
Le cuivre, le fer, le magnésium et le manganèse jouent le rôle de cofacteur lors de la synthèse du collagène.
Le chrome est, lui, impliqué dans l'incorporation d'acides aminés dans les protéines.

Ces éléments montrent l'importance des facteurs nutritionnels pendant la réparation tissulaire. Les carences protéino-énergétiques altèrent toutes les phases de la cicatrisation. [66]

C. Le dioxygène

Molécule indispensable de tout organisme aérobie, elle est transportée par les globules rouges, après fixation à leur hémoglobine, vers les tissus. Accepteur terminal d'électrons, l'O_2 permet la respiration cellulaire : processus indispensable à la survie et au bon fonctionnement des cellules, aboutissant à la production d'énergie (ATP) utilisée lors des différentes phases de la cicatrisation. Par exemple, les fibroblastes ont besoin d'ATP pour produire des fibres de collagène.
Ainsi, une bonne captation de l'oxygène par les tissus à partir du sang nécessite leur irrigation par les capillaires : condition apportée par l'angiogenèse lors de la phase de prolifération. [67]

D. Les cytokines et facteurs de croissance

Les cytokines (du grec « *cyto* » cellule, et « *kinos* » mouvement) sont des protéines solubles sécrétées par les cellules lors des différentes phases de régénération tissulaire.
Essentielles à la communication entres les cellules, elles agissent le plus souvent dans un environnement local, au contraire des hormones qui, elles, agissent à distance via la circulation sanguine (action endocrine).
Elles peuvent agir soit sur les cellules qui les ont produites (autocrine), soit sur des cellules voisines ou à une distance proche (paracrine).

Produites en petite quantité en réponse à l'activation de la cellule productrice par un stimulus, elles opèrent en se fixant à des récepteurs sur leurs cellules cibles.
Elles permettent :

-d’attirer d’autres cellules : cas des chimiokines
-de faciliter le contact intercellulaire par expression de molécules d’adhésion à la surface des cellules
-d’activer d’autres cellules
-au contraire, de les inactiver
-la multiplication et la différentiation cellulaire, notamment pour les cellules souches de la moelle osseuse : cas des facteurs de croissance.

Les cytokines représentent une très grande famille de messagers solubles, essentiels à la communication intercellulaire. [60]

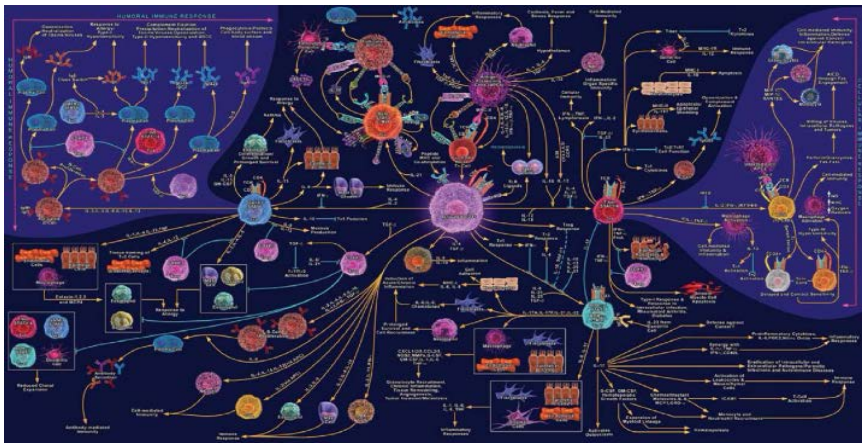


Figure 36: La communication intercellulaire et sa très grande complexité [60]

1. Les cytokines pro-inflammatoires

L’interleukine-1 (IL-1 α et β), l’IL-6 et le TNF- α sont très surexprimées pendant la phase inflammatoire de la cicatrisation.
Le TNF- α est le premier messager soluble à être produit lors de la réaction inflammatoire. Libéré par les globules blancs (macrophages, PNN, lymphocytes et monocytes), il les attire sur le lieu de la lésion augmentant le phénomène de phagocytose et la cytotoxicité des neutrophiles ; et stimule le pouvoir de remodelage des fibroblastes.
De plus, il amplifie le processus inflammatoire en stimulant la sécrétion d’autres cytokines de l’inflammation (IL-1 et IL-6).
L’IL-1 existe sous deux formes α et β, homologues à 27%. Cette cytokine est produite majoritairement par les macrophages activés, les PNN, les cellules endothéliales et les fibroblastes.
C’est un médiateur clé dans le contrôle de l’inflammation.

L’IL-6 est stimulée par le TNF-α et l’IL-1, sa production est gouvernée, *in vivo*, par les monocytes stimulés, les fibroblastes, les macrophages et les cellules endothéliales.
Alors qu’un manque complet d’IL-6 empêche la cicatrisation, un taux excessif est associé à une cicatrisation anormale.

2. Les chimiokines

Ces cytokines chimiotactiques représentent une famille de cytokines de petit poids moléculaire dont la propriété commune est d’être chimiotactiques pour les différentes classes de

leucocytes. Famille composée d'environ une cinquantaine de membres, elle est divisée en quatre sous familles dont deux demeurent majoritaires : sous famille α (CXC) et β (CC).
Elles ont un rôle important au niveau du recrutement de cellules de l'inflammation au site lésé, mais aussi dans l'angiogenèse et le remodelage tissulaire, compte tenu de la présence de récepteurs à la surface de cellules résidentes.

Le Growth-Related Oncogene α (GRO- α ou CXCL1) est un puissant chimioattractant des PNN. Au cours de lésion aigüe chez l'homme, il est exprimé de façon importante 24 heures après la lésion dans sa partie superficielle et la matrice provisoire. Une expérience a démontré que les souris éteintes pour le CXCR2 (récepteur de GRO- α) ont un défaut de recrutement des PNN et une diminution considérable de l'angiogenèse.

L'IL-8 (ou CXCL8) est la chimiokine majeure des PNN, coexprimée avec GRO- α au cours de la cicatrisation.

Le Macrophage Chemoattractant Protein 1 (MCP-1 ou CCL2) est une chimiokine majeure des monocytes et macrophages (pro-inflammatoire). Après lésion, le MCP-1 est exprimé par les cellules endothéliales et les cellules inflammatoires. Chez des souris éteintes pour le gène responsable de la synthèse de cette cytokine, l'angiogenèse est significativement retardée et la synthèse de collagène diminuée, preuve d'un rôle non négligeable dans le phénomène de régénération tissulaire.

3. Les cytokines anti-inflammatoires

Au cours des phénomènes inflammatoires, l'interleukine-4 (IL-4) semble favoriser la cicatrisation en modérant l'inflammation et son cortège de destructions. Ainsi, elle augmenterait la synthèse de collagène, et inhiberait la synthèse de prostaglandine, médiateur de l'inflammation.

L'IL-10 joue aussi ce rôle de limitation de la réponse inflammatoire. Cette cytokine limite l'infiltration du tissu lésé par les PNN et les macrophages, ainsi que l'expression de certaines chimiokines et cytokines pro-inflammatoires.

IL-4, IL-10, IL-13 et IFN-α (Interféron α) permettent donc une modulation de l'activité inflammatoire et son contrôle. [13,60,63]

4. Autre cytokine de la cicatrisation

Le Granulocyte-Monocyte Colony Stimulating Factor (GM-CSF) est une cytokine hématopoïétique qui, en stimulant les cellules progénitrices de l'hématopoïèse, augmente le nombre de granulocytes et monocytes circulants. Elle stimulerait également la migration et la prolifération des cellules endothéliales, jouant certainement un rôle prépondérant au niveau de la néovascularisation et la formation du tissu de granulation.

5. Les facteurs de croissance

Protéines de petite taille, souvent glycosylées, les facteurs de croissance transmettent des messages pro-prolifératifs ou pro-différenciants de cellule en cellule, par l'intermédiaire de récepteurs spécifiques. Ces messages peuvent s'organiser sous la forme de cascades d'induction entre diverses cellules.

Leur mode d'action est d'induire une réponse génétique au travers de la cellule cible, c'est-à-dire de modifier l'expression de gènes cibles après transmission intracellulaire du message : c'est la transduction.
Leur effet final est une modulation de l'activité mitotique (survie, mitose ou entrée en apoptose) et/ou métabolique de la cellule (par exemple, sécrétion d'un autre facteur de croissance et réaction en cascade), ou encore une réponse de type différentiation cellulaire avec apparition de fonctions et structures spécifiques.
Au même titre que les cytokines énoncées précédemment, ils orientent la sécrétion des constituants de la matrice extracellulaire ainsi que les activités enzymatiques responsables de son remodelage.
Les connaissances actuelles démontrent qu'un seul facteur de croissance ne suffit à provoquer, entretenir ou accélérer l'ensemble des processus complexes de la réparation tissulaire. Ces facteurs jouent donc un rôle majeur dans le processus de cicatrisation, aboutissant soit à la régénération du tissu d'origine, soit à la formation d'un tissu cicatriciel.

a. Le Platelet-Derived Growth Factor

Après une lésion, le PDGF est très rapidement libéré en grande quantité par les granules α des plaquettes, puis est produit par les monocytes/macrophages.
Le PDGF a une grande influence lors de la cicatrisation :

-il exerce un effet chimiotactique sur les leucocytes (monocytes et neutrophiles)
-il stimule la prolifération des fibroblastes
-il exerce aussi un effet mitogène sur les cellules musculaires lisses et les cellules endothéliales des capillaires nouvellement formés
-il contribue à l'activité des cellules impliquées dans la réparation tissulaire, de façon autocrine et paracrine : il induit le dépôt de fibronectine et d'acide hyaluronique, il assure l'activation de certaines MMPs comme les collagénases, essentielles au développement de néovaisseaux et au remodelage matriciel.

b. Le Transforming Growth Factor β

Immédiatement après une lésion, des quantités importantes de ce facteur de croissance sont libérées par les plaquettes, attirant trois types cellulaires sur le site lésé : neutrophiles, macrophages et fibroblastes sécrétant eux-mêmes le TGFβ. Il est sécrété sous forme inactive (propeptide) et stocké dans la MEC sous forme de complexes latents.
L'activation des formes latentes nécessite une protéolyse (par la plasmine par exemple) ou une baisse de pH, conditions retrouvées au niveau d'une lésion, et libère le dimère actif.
Ces mécanismes permettent une disponibilité du TGF-β tout au long du processus de cicatrisation.

Le TGFβ exerce des effets :

-chemoattractants sur les neutrophiles, macrophages et fibroblastes
-stimulant des fibroblastes pour leur migration, prolifération, production de MEC (collagène, fibronectine, glycosaminoglycanes) et transformation myofibroblastique
-synergiques avec le PDGF permettant à la cellule (musculaire lisse ou endothéliale) de progresser dans le cycle cellulaire
-antagonistes sur le développement de l'angiogenèse : stimule le dépôt de collagène, la sécrétion d'inhibiteurs des MMPs, bloque l'induction de collagénase par le FGF et inhibe la synthèse des activateurs du plasminogène. Ce rôle permet de contrebalancer l'angiogenèse et d'en contrôler le développement.

Son inconvénient majeur est d'être considéré comme un agent pro-fibrotique (dépôt excessif de collagène au niveau de la zone cicatriciel, et donc perte des structures histologiques et des fonctions de l'organe).

c. Les facteurs de croissance angiogéniques

i. Le FGF ou Fibroblast Growth Factor

La plupart des FGF ont un spectre mitogénique large et jouent un rôle dans la migration et la différentiation des cellules cibles (fibroblastes, cellules endothéliales, myoblastes, cellules musculaires lisses).

Les FGF sont stockés dans le compartiment matriciel de part leur liaison avec les protéoglycanes et sont rapidement libérés lors d'une lésion tissulaire.

Il est produit par les macrophages, fibroblastes et cellules endothéliales. Cette forme a un pouvoir angiogénique très important :

-il permet le recrutement, la prolifération et la différentiation des cellules endothéliales

-il stimule la sécrétion d'AtP par les cellules endothéliales permettant la dégradation de la MEC

-il stimule la production de protéases dégradant collagène et autres molécules de structure.

ii. Le VEGF ou Vascular Endothelial Growth Factor

Il représente le facteur de croissance par excellence de l'angiogenèse.
Il a pour récepteur principal le VEGFR-2, récepteur impliqué dans l'augmentation de la perméabilité vasculaire, la migration et la prolifération des cellules endothéliales. Sa liaison au VEGFR-1 a un rôle de régulateur sur ces effets.
Ce facteur de croissance est contenu dans les plaquettes, et dans les cellules inflammatoires sous l'effet de l'hypoxie intervenant au cours d'une lésion tissulaire. Ce sont les macrophages qui l'expriment le plus, suggérant ainsi une stimulation paracrine de l'angiogenèse.

iii. Les angiopoïétines

La famille des angiopoïétines est composée de quatre membres Ang1, Ang2, Ang3 Ang4 qui agissent sur des récepteurs Tie1 et Tie2 préférentiellement exprimés par les cellules endothéliales.

L'Ang1 stabilise les vaisseaux et protège l'entrée des cellules endothéliales en apoptose ; l'Ang2 cause leur déstabilisation et leur remodelage.
N'oublions pas que les facteurs angiogéniques coopèrent avec des protéases, les métalloprotéinases et leurs inhibiteurs. Ces enzymes, dont la production est régulée par des cytokines, vont dégrader la MEC, permettant le passage de divers types cellulaires (dont les cellules endothéliales), à travers les tissus.
De plus, ces MMPs peuvent elles-mêmes permettre le relargage de cytokines stockées dans la matrice.

d. L'Hepatocyte Growth Factor

C'est l'un des principaux facteurs de croissance libéré par les plaquettes activées. Il est essentiellement impliqué dans la régénération et la prolifération des hépatocytes, et la prolifération des fibroblastes.
Ses effets ne s'arrêtent pas là : il stimule l'angiogenèse, induit la mitose des cellules endothéliales, participe à la régénération tissulaire via ses propriétés anti-fibrotiques et lutte contre l'inflammation.

e. L'Insulin-like Growth Factor ou somatomédine

Ce sont des homologues de l'insuline. A la fois facteurs endocrines circulants et facteurs locaux élaborés par de nombreux types cellulaires, ils sont détectés dans les sites lésionnels et les fluides cicatriciels.

f. L'Epithelial Growth Factor et le Platelet-Derived Endothelial Cell Growth Factor

EGF est une cytokine de croissance et de différenciation pour les cellules de la lignée ectodermique, lui permettant de stimuler la cicatrisation épidermique et l'angiogenèse.
PD-ECGF est une cytokine plaquettaire n'agissant que sur les cellules endothéliales.

Il existe d'autres facteurs de croissance plaquettaires comme les *Bone Morphogenic Proteins* (BMPs) qui interviennent dans les processus de cicatrisation, notamment de l'os. [63,68,69,70,99,100]

Tableau V: Effets des différents facteurs de croissance sur les cellules [100]

PDGF *Platelet Derived Growth Factor*	Macrophage activation and angiogenesis Fibroblast chemotaxis and proliferative activity Enhances collagen synthesis Enhances the proliferation of bone cells
IGF-1 *Insulin-like Growth Factor-I*	Chemotactic for myoblast and fibroblasts and stimulates protein synthesis Mediator in growth ad repair of skeletal muscle Enhances bone formation by proliferation and differentiation of osteoblasts
TGF-p *Transforming Growth Factor-β*	Enhances the proliferative activity of fibroblasts Stimulates biosynthesis of type I collagen and fibronectin Induces deposition of bone matrix Inhibits osteoclast formation and bone resorption Regulation in balance between fibrosis and myocyte regeneration.
PDEGF *Platelet Derived Endothelial Growth Factor*	Promotes wound healing by stimulating the proliferation of keratinocytes and dermal fibroblasts
PDAF *Platelet Derived Angiogenic Factor*	Induces vascularization by stimulating vascular endothelial cells
EGF *Endothelial Growth Factor*	Cellular proliferation Differentiation of epithelial cells
VEGF *Vascular Endothelial Growth Factor*	Angiogenesis Migration and mitosis of endothelial cells Creation of blood vessel lumen Creation of fenestrations Chemotactic for macrophages and granulocytes Vasodilation (indirectly by release of nitrous oxide)
HGF *Hepatocyte Growth Factor*	Stimulates of hepatocyte proliferation and liver tissue regeneration Angiogenesis Mitogen for endothelial cells Antifibrotic

E. Les macromolécules de la MEC

Elles assurent l'armature et la forme générale des tissus. Il s'agit essentiellement de fibres de collagène, mais aussi de l'élastine, la fibrine, la fibronectine et des molécules constituantes de la substance fondamentale (protéoglycanes, glycosaminoglycanes).
Ces macromolécules se comportent comme des guides permettant la migration des cellules en prolifération vers le foyer cicatriciel en cours de recolonisation. Elles forment une sorte d'avant-garde du front de cicatrisation, les fibroblastes infiltrant progressivement le foyer lésé. Ce contact cellule-fibre, assurant la fonction de guide, repose sur la présence de récepteurs de type molécule d'adhésion à la surface des cellules.

F. Les médiateurs inflammatoires

Ils jouent un rôle au niveau de l'initiation et du déroulement de la phase détersivo-inflammatoire, sans laquelle une cicatrisation normale ne peut avoir lieu. Ces médiateurs sont les prostaglandines, les leucotriènes ou encore l'oxyde nitrique (NO).

G. Les protéines de la coagulation

L'hémostase étant la phase initiale du processus de régénération tissulaire, ces protéines participent au « coup d'envoi » et demeurent donc indispensable. [63]

En résumé, il est important de connaître, pour des raisons fondamentales et pratiques, les facteurs (cytokines, facteurs de croissance) qui provoquent l'activation, la migration orientée (chimiotaxie), la prolifération de cellules généralement sédentaires qui vont se différencier (acteurs de la cicatrisation), édifier le tissu de remplacement et sécréter les constituants de la nouvelle matrice (macromolécules).
La communication intercellulaire, les relations cellules-matrice, ainsi que les molécules d'adhésion jouent un rôle important lors de blessures.

III. Contribution du PRP au cours de la cicatrisation

A. A propos des plaquettes

Les plaquettes sont incriminées dans les processus de l'hémostase et de la coagulation, première étape de la cicatrisation tissulaire, mais pas seulement.
Elles exercent d'autres fonctions :

-rôle important dans l'angiogenèse et influant sur la cicatrisation tissulaire

-rôle dans l'inflammation via la synthèse de prostaglandines, leur chimiotactisme pour les PNN [71,72]

La membrane plaquettaire, une bicouche phospholipidique, possède de nombreuses invaginations, structure propice à une bonne communication entre le milieu extra-plaquettaire et le milieu intra-plaquettaire. Ces invaginations forment le système canaliculaire ouvert (SCO), permettant l'endocytose de substances plasmatiques et la libération du contenu des granules.
Le cytoplasme présente la particularité de contenir des microtubules (majoritairement tubuline β1), et des microfilaments d'actine (avec leurs protéines associées) permettant à la plaquette de changer de morphologie au cours des différents processus.

Les microtubules assurent la forme discoïde de la plaquette au repos, tandis que le remodelage du réseau d'actine initie leur changement de forme, l'émission de filopodes et leur étalement en surface.

Les plaquettes renferment trois types de granules qu'elles vont libérer, par exocytose, au cours de leur activation. Chaque granule contient entre 30 et 50 protéines agissant au cœur de l'hémostase et/ou de la cicatrisation. 50 à 80 granules sont dénombrés par plaquette.

Les divers granules retrouvés au sein des plaquettes sont :

-les granules α riches en facteurs de croissance, facteur4 plaquettaire, fibronectine, protéines adhésives (facteur von Willebrand, fibrinogène…), thrombospondine, inhibiteurs de la fibrinolyse, facteurs de coagulation…

-les granules denses riches en ADP, ATP, calcium et sérotonine.

-les lysosomes, granules au contenu enzymatique (phosphatases, hydrolases acide) [11,73]

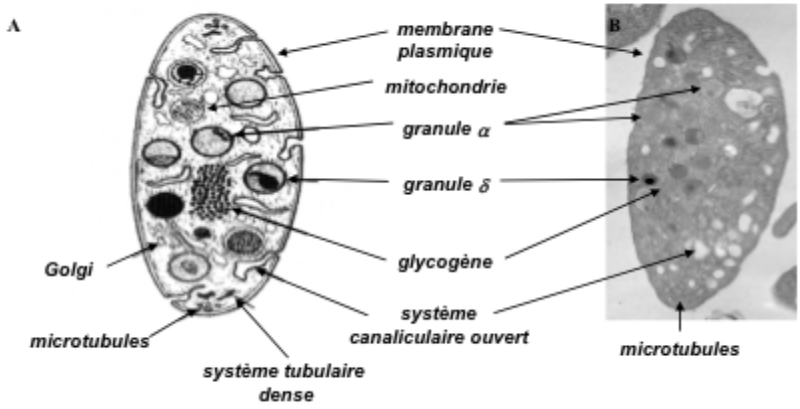


Figure 37: Coupe longitudinale (A) et observation au microscope électronique à transmission d'une plaquette au repos (B) présentant granules, cytosquelette et système canaliculaire ouvert [75]

1. L'activation des plaquettes

Précédemment, il a été rapporté que la liaison des plaquettes au sous-endothélium via le FW et le collagène entraînait leur activation (faible intensité). S'en suit un changement de forme des plaquettes, et une activation plus importante déclenchée par les agonistes sécrétés (ADP, sérotonine) ou formés (thromboxanes A2).

Différentes voies d'activation se distinguent par le type de récepteur et les premiers effecteurs moléculaires associés :

-les récepteurs couplés aux protéines G hétérotrimériques : protéine G composée de trois sous-unités (α, β, γ). Après fixation du ligand, le récepteur change de conformation, permet l'association de la sous-unité α au GTP et déclenche l'activité GTPasique du récepteur.

-les récepteurs associés à une activité tyrosine kinase (RTK) : récepteur de la superfamille des immunoglobulines (Ig). Son ligand activateur est le collagène. Ces récepteurs agissent principalement en activant une cascade de phosphorylation sur des tyrosines kinases.

-les intégrines : la majorité des voies d'activation plaquettaire convergent vers l'activation des intégrines : signalisation « *inside-out* ». En retour, ces intégrines activées sont capables de transmettre une signalisation intracellulaire : « *outside-in* ».
Par exemple, après fixation du fibrinogène, l'intégrine $\alpha IIb\beta_3$ ou GPIIb-IIIa entraîne la phosphorylation de nombreuses protéines, la libération de Ca^{2+} intracellulaire et la réorganisation du squelette d'actine menant à la formation de lamellipodes.
-les récepteurs canaux : activés par l'ATP ou le collagène, ils assurent une entrée directe de Ca^{2+}, provoquent un changement de forme transitoire des plaquettes et la centralisation des granules.

Tableau VI: Les récepteurs couplés aux protéines G et leurs ligands impliqués dans l'activation/inhibition des fonctions plaquettaires [75]

Ligand	Récepteur	Couplage
	ACTIVATION	
Thrombine	PAR1, PAR4	Gq, G_{12-13},
ADP	P2Y1	Gq
	P2Y12	Gi
Sérotonine	5-HT_{2A}	Gq
Adrénaline	α_{2A}	Gz
TxA2	Tpα, TPβ	Gq, G_{12-13}
Vasopressine	V_{1A}	Gq
PGE_2	EP_3	Gi
	INHIBITION	
Adénosine	A_{2A}	Gs
PGI_2/PGE_1	IP	Gs
PGD_2	DP	Gs

2. Conséquences de l'activation sur le changement de forme des plaquettes

Non stimulées, les plaquettes circulent dans le sang sous forme de disques. Leur activation va entraîner de nombreux remaniements du cytosquelette aboutissant à un changement de forme.

En fonction du mode de stimulation, les plaquettes vont subir des modifications différentes :
-les plaquettes en suspension stimulées par un agoniste vont contracter leur corps cellulaire et émettre de longs prolongements cytoplasmiques : les filopodes.
-les plaquettes mises à adhérer sur une surface comme le fibrinogène ou le FW vont, dans un premier temps, prendre une forme ronde et émettre des filopodes, puis, dans un second temps, vont étendre un large feuillet membranaire circulaire, le lamellipode, et s'étaler en surface.

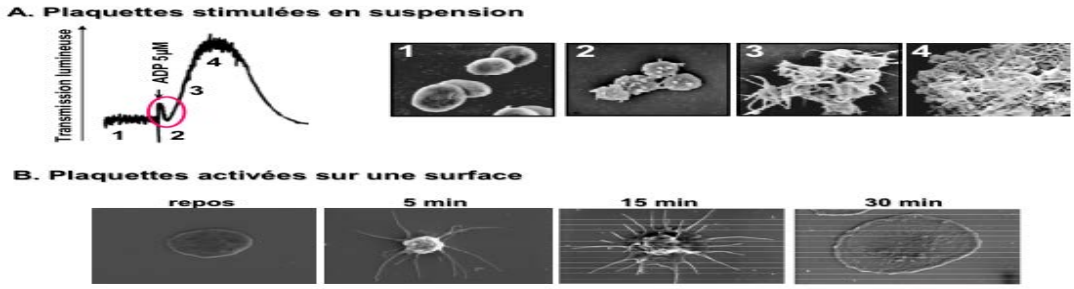


Figure 38: Changement de forme des plaquettes après leur activation : formation de filopodes (A) ou de lamellipodes puis étalement (B) [75]

La forme des plaquettes est sous le contrôle du réseau de microtubules et des filaments d'actine.

a. Le cytosquelette des plaquettes au repos

i. Le réseau de microtubules

La forme discoïde est dépendante du réseau de microtubules (MT) sous-membranaire formant 8 à 12 tours sur lui-même. Un filament de MT est formé par l'assemblage de sous-unités de tubuline α et β (surtout β1) en protofilaments, eux-mêmes s'associant en filament. Ce filament est orienté, il dispose d'une extrémité positive de polymérisation et une extrémité négative de dépolymérisation.

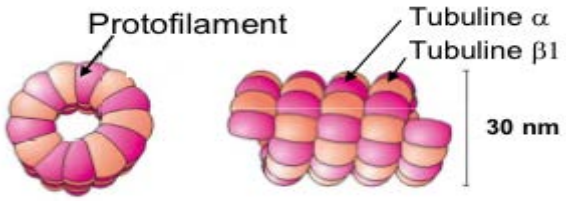


Figure 39: Représentation schématique d'un filament de microtubule [75]

Ces MT s'associent à des protéines comme :

-la dynéine : se déplace vers l'extrémité négative et fait glisser un autre MT dans le sens opposé.

-la kinésine : se déplace vers l'extrémité positive.

Ces deux protéines se déplacent selon un mécanisme ATP-dépendant.

ii. Les filaments d'actine

Au-delà du rôle des microtubules pour la forme discoïde des plaquettes, c'est l'organisation du cytosquelette d'actine qui va déterminer les contours de la cellule. L'actine monomérique (ou actine G) se polymérise en protofilaments, qui s'associent deux à deux pour former le filament d'actine (ou actine F). Ce filament présente une extrémité de polymérisation (extrémité barbée) et une extrémité de dépolymérisation (extrémité pointue).

Dans la plaquette au repos, 60% de l'actine est sous forme monomérique (actine G).

Deux types de cytosquelette demeurent au sein de la plaquette :

-le réseau d'actine intracellulaire : longs filaments traversant la cellule de part et d'autre.

-le cytosquelette sous-membranaire : système dense, maillage de filaments courts d'actine tapissant la face interne de la membrane et du SCO.

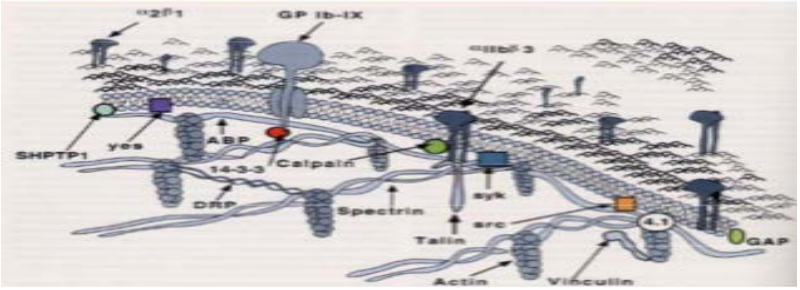


Figure 40: Représentation schématique du cytosquelette sous-membranaire de la plaquette [75]

b. Le cytosquelette des plaquettes activées

i. Le réseau de microtubules

Suite à l'activation des plaquettes, il est complètement remanié. Les plaquettes prennent la forme sphérique et présentent dans leur cytoplasme soit de courts filaments de MT rayonnants du centre de la cellule, soit l'anneau se retrouve contracté au centre de la plaquette.

ii. Les filaments d'actine

Le changement de forme des plaquettes activées est essentiellement dû au complet réarrangement du cytosquelette d'actine. Ce mécanisme complexe se déroule en trois étapes.

- ✓ Désassemblage du cytosquelette d'actine

Etape nécessaire, elle va mettre à disposition un grand nombre d'extrémités libres (barbées) pour le réarrangement et l'élongation. La gelsoline, activée par le Ca^{2+} intracellulaire, va coiffer et cliver les filaments d'actine. De même que la cofiline, après activation, se lie à l'actine F, favorisant la libération de monomères d'actine et la cassure du filament.

- ✓ Elongation des filaments d'actine

Les extrémités libres générées par la phase précédente vont servir d'amorce pour la polymérisation de nouveaux filaments. Cette étape complexe est sous le contrôle de GTPases (forme active associée au GTP, inactive associée au GDP), entraînant une cascade d'activations et aboutissant à l'amplification de la polymérisation de l'actine en filaments.

- ✓ Organisation des filaments d'actine

Les filopodes sont des extensions membranaires composées par des filaments d'actine organisés en faisceaux. Les plaquettes produisent des filopodes tout particulièrement lors de la phase précoce de leur activation.
Les lamellipodes sont des extensions membranaires plates présentant un réseau de filaments courts d'actine branchés entres eux à 70-90°. Ces larges feuillets membranaires peuvent s'étendre sur plusieurs μm^2.
Les mécanismes impliqués dans la formation des filopodes et lamellipodes sont encore mal connus.

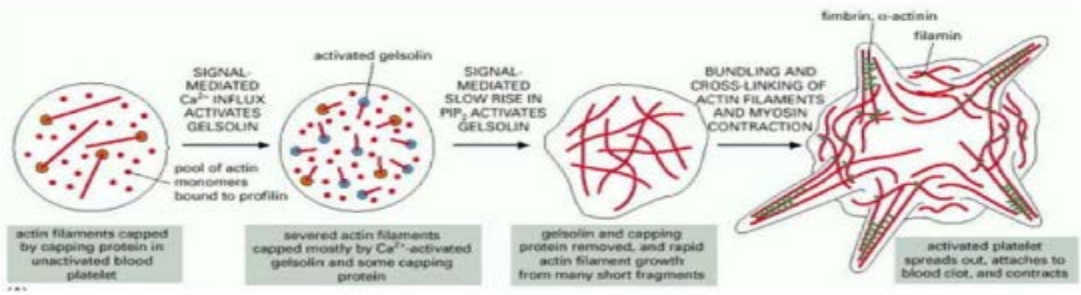


Figure 41: Le remaniement du cytosquelette d'actine après activation de la plaquette [75]

3. Rôle du changement de forme sur les fonctions plaquettaires

L'émission de filopodes interviendrait dans le ralentissement des plaquettes au niveau de la lésion. Les filopodes et/ou les lamellipodes pourraient renforcer les contacts entres les plaquettes ou avec la surface thrombogène, formant et stabilisant les agrégats plaquettaires. Le changement de forme permettrait également de présenter de façon optimale les récepteurs d'activation des plaquettes, tels que les intégrines. L'étalement des plaquettes sur la surface activatrice augmenterait la surface recouverte, optimisant ainsi le processus d'occlusion de la lésion.

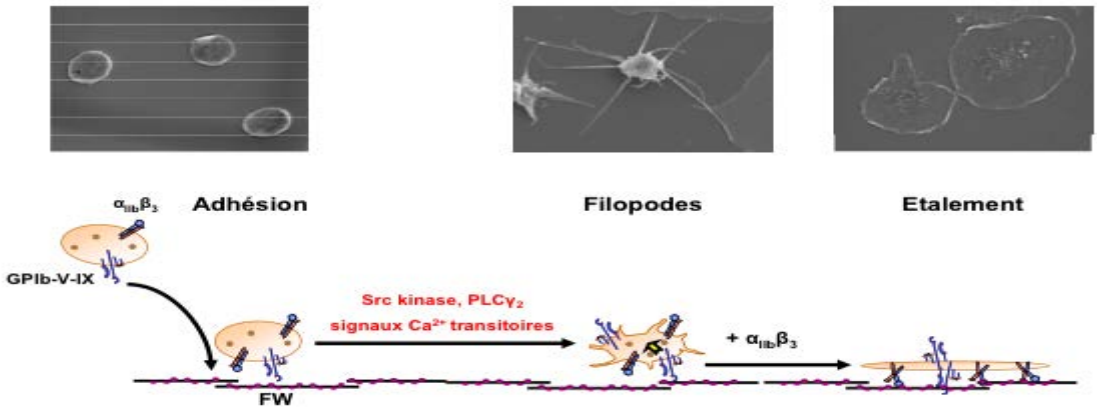


Figure 42: Optimisation du processus d'occlusion grâce au changement de forme des plaquettes [75]

Enfin, ces réarrangements morphologiques vont donner lieu à l'exocytose du contenu des granules α et denses des plaquettes. [74,75]

4. Libération du contenu des granules plaquettaires

Après leur activation, les plaquettes sécrètent activement leurs protéines dans les dix minutes qui suivent la coagulation. Plus de 95% des facteurs de croissance sont libérés dans l'heure qui suit, mais les plaquettes sont capables de synthétiser des protéines supplémentaires jusqu'à la fin de leur vie. [11]

5. Mécanisme de sécrétion des granules α

Les plaquettes libèrent le contenu de leurs granules via un mode de transport spécifique : l'exocytose. Autrement dit, l'exocytose consiste en la sortie hors de la cellule de molécules contenues dans des vésicules, qui après avoir fusionné avec la membrane plasmique ou le SCO, libèrent leur contenu à l'extérieur. [76]

Toute cette machinerie moléculaire est sous le contrôle du Ca^{2+} intracellulaire. La sécrétion des granules est initiée par une augmentation du calcium cytosolique (40-100 nmol/L à 2-10µmol/L), conséquence de l'activation des plaquettes.

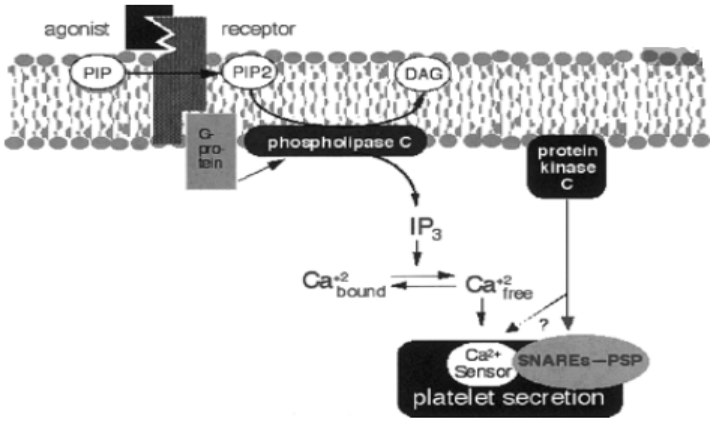


Figure 43: Cascade de réactions faisant suite à l'activation des plaquettes et conduisant à une augmentation du calcium cytosolique [77]

Ce sont les protéines appelées SNAREs (« pièges ») qui permettent cette fusion. Elles sont associées aux membranes et orientées vers le cytosol : les récepteurs vSNAREs (vésiculaires), comme la protéine VAMP, sont associées aux granules tandis que les récepteurs cibles tSNAREs (syntaxine…) le sont aux membranes plasmiques et SCO. L'association de vSNAREs et tSNAREs produit l'énergie nécessaire à la fusion des membranes. [73]

Le mécanisme de fusion nécessite donc ces deux types de protéines d'attachement, ainsi qu'un composant SNAP/NSF soluble. L'exocytose est un processus se déroulant en trois étapes :

-l'amorçage consiste en l'activation du récepteur tSNARE en présence d'ATP, réaction catalysée par le composant soluble SNAP/NSF.

-l'amarrage qui permet la formation d'un complexe SNARE.

-enfin, la fusion des membranes aboutissant au relargage du contenu des granules. [77]

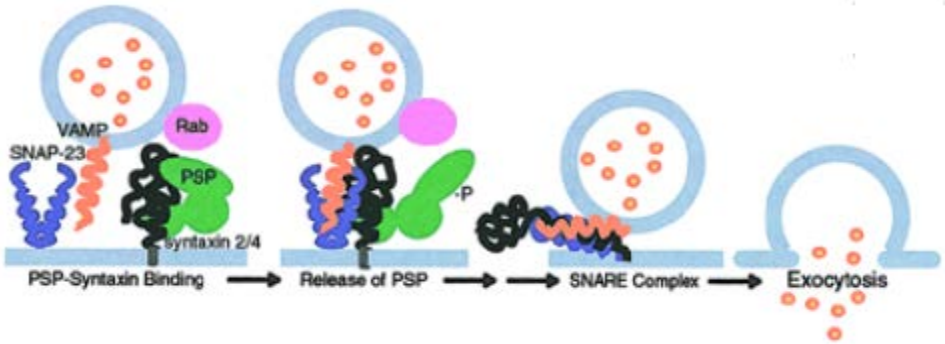


Figure 44: Implication des protéines SNAREs dans le mécanisme d'exocytose des plaquettes [77]

Ainsi, des protéines bioactives sont sécrétées et se lient à des récepteurs transmembranaires de cellules cibles (endothéliales, fibroblastes, cellules musculaires…). Les cellules interprètent le message en modulant leur activité mitotique ou métabolique, via l'expression de gènes qui contrôlent la prolifération cellulaire, la synthèse de collagène, la formation de MEC…

A leur tour, elles seront capables d'émettre des facteurs de croissance : par exemple le relais pris par les macrophages, qui synthétisent à leur tour leurs propres facteurs, lorsque l'effet plaquettaire pourrait s'estomper. [11]

Il est indispensable de définir les molécules libérées par les plaquettes puisqu'elles sont censées être issus du PRP.

Ainsi, on peut énumérer :

-les médiateurs inflammatoires nécessaires au bon déroulement de la phase détersivo-inflammatoire comme l'IL-1 ou le facteur 4 plaquettaire (PAF4).

-les facteurs de croissance intervenant au niveau de la phase de prolifération cellulaire, parmi lesquels y figurent le PDGF, FGF, TGF α et β, IGF, VEGF, HGF, EGF et PD-ECGF.

-les facteurs de la coagulation, le fibrinogène et les inhibiteurs de la fibrinolyse participant à l'amorce de la cicatrisation : l'hémostase.

-les métalloprotéinases responsables de la dégradation de la matrice et de son renouvèlement, et participant à l'angiogenèse. [11,13,73]

B. Intérêts du plasma

Par abus de langage, le PRP est souvent considéré comme un concentré plaquettaire. Or, son utilisation ne repose pas uniquement sur la présence de plaquettes en quantité importante. Mikel Sanchez, l'un des grands acteurs du développement de cette technique, a explicitement dit lors d'une conférence sur le PRP : « si on ne concentre que les plaquettes, on rompt l'équilibre plasmatique, donc les résultats d'un point de vue biologique sont différents ». [12]

Certains facteurs de croissance se trouvent dans les granules α, mais aussi dans le plasma comme certains IGF ou HGF.

En plus des plaquettes, la présence de plasma permet l'apport d'un des meilleurs biomatériaux connu, la fibrine, aux effets biologiques importants. [12]

De même, à des degrés moindres, le plasma amène nutriments, minéraux, ions, sources d'énergie immédiatement disponibles sur le site de réparation.

C. Intérêts des leucocytes

Les leucocytes sont chargés de :

-réguler l'inflammation

-sécréter des facteurs impliqués dans l'inflammation mais aussi dans la cicatrisation (VEGF, facteur angiogénique par exemple).

Selon le même modèle que les plaquettes, ces cellules libèrent, après activation, des facteurs de croissance et cytokines :

-cytokines inflammatoires comme IL-1, IL-6 et TNF-α

-cytokines de cicatrisation comme IL-4

-facteurs de croissance comme VEGF, TGF, EGF

De part leurs propriétés antimicrobiennes et leur capacité à générer et libérer cytokines et facteurs de croissance, il tend à penser que les leucocytes trouvent toute leur place au sein du PRP.

Cependant, et comme énoncé en début d'étude, leur rôle est la proie de contradictions : certains auteurs clament la nécessité de les éliminer, d'autres jugent leur présence comme essentielle dans le processus de cicatrisation. [11]

D. Intérêts du PRP

1. Une biodisponibilité immédiate

L'activation brutale des plaquettes au sein du PRP libère de façon intense et immédiate les facteurs de croissance. Ils sont donc de suite disponibles et en grande concentration au niveau du tissu lésé.

Cette étude de l'effet du PRP sur la prolifération des ostéoblastes de rat *in vivo* le confirme : Ling et coll. dosent la présence de deux facteurs de croissance (PDGF-AB et TGF-β1) dans les exsudats de PRP à des moments différents (dosage à 1, 7, 14, 21 et 28 jours). Il a été constaté que la libération maximale de PDGF-AB et TGF-β1 se situe le premier jour pour finalement décroître dans le temps, prouvant une dégradation rapide. [78]
Après activation, 70% des facteurs de croissance plaquettaires sont relargués dans les dix minutes, et la totalité dans l'heure : preuve d'une action immédiate. [103]
Puis, d'autres cellules, en particulier les leucocytes, prennent le relais après avoir été recrutées et activées.

2. Une action localisée

Compte tenu de sa composition, sa structure et sa capacité à interagir avec son environnement, le PRP est à même de contribuer positivement à la régénération tissulaire. Le fait d'amener directement les plaquettes et le plasma sur le site en question permet de créer un environnement local favorable à la cicatrisation.

3. Un apport concentré

Une étude, menée par Amable et son équipe, permet la quantification de certains facteurs de croissance et cytokines. Différents PRP sont préparés en faisant varier la force centrifuge, le temps et la température. Le rendement et la concentration en plaquettes sont obtenus, le PRP choisi est celui qui maximise ces deux critères.

Ainsi, la concentration de six facteurs de croissance (PDGF-AA, PDGF-AB, PDGF-BB, EGF, TGF-β1 et TGF-β2), de trois cytokines anti-inflammatoires (IL-4, IL-13 et IFN-α) et de trois cytokines pro-inflammatoires (IL-8, IL-17 et TNF-α) est quantifiée au sein du plasma, du PRP1 (issu d'une seule centrifugation et non activé), du PPP, du PRP2-Ca (issu de deux centrifugations et activé par le calcium), du PRP2-Th (issu de deux centrifugations et activé par le calcium et la thrombine), du Clot-Ca (sang coagulé activé par le calcium) et du Clot-Th (sang coagulé activé par le calcium et la thrombine).

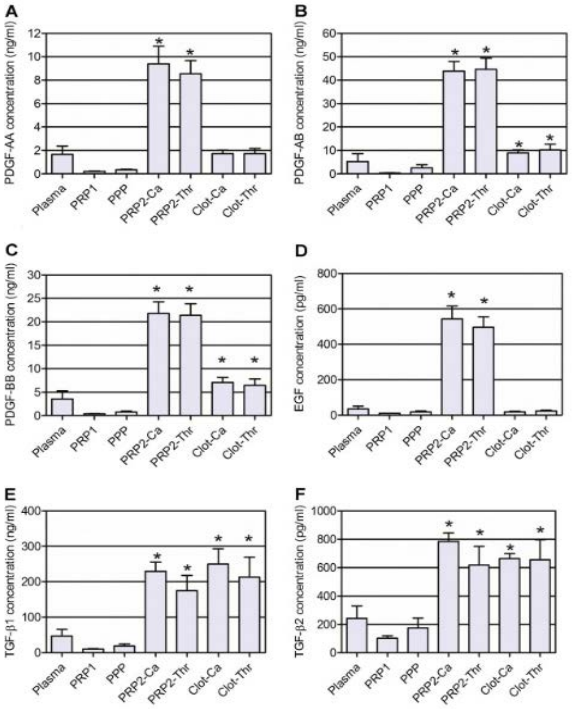


Figure 45: Dosage de six facteurs de croissance [70]

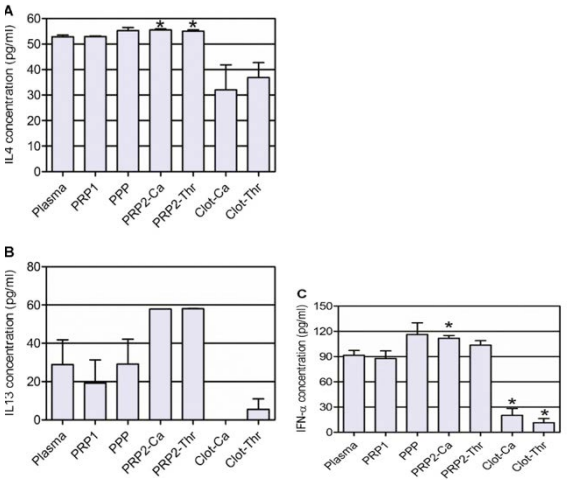


Figure 46: Dosage de trois cytokines anti-inflammatoires [70]

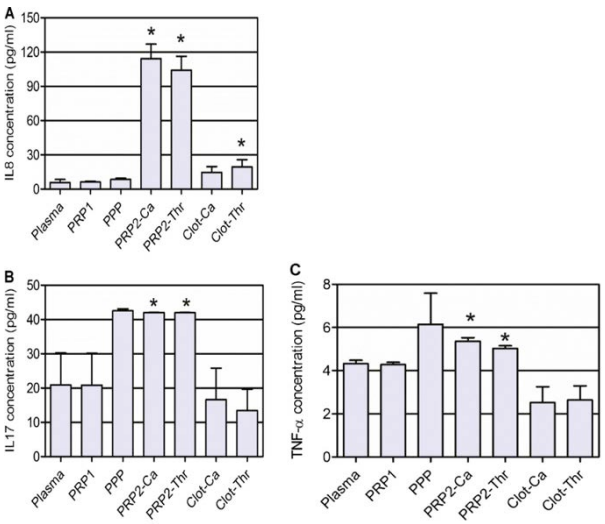


Figure 47: Dosage de trois cytokines pro-inflammatoires [70]

D'après les résultats obtenus, on constate donc qu'une forte concentration de facteurs de croissance et cytokines pro- et anti-inflammatoires est sécrétée par le PRP activé. Ces concentrations sont, pour la plupart, supérieures à celles présentes dans le sang non centrifugé. De plus, on peut noter que la plupart de ces molécules sont présentes dans le plasma, preuve de l'intérêt du plasma énoncé précédemment. [70]

4. Un contrôle de l'inflammation et de la douleur

L'étude menée par Zhang, Wang, Middleton et al a pour but d'évaluer l'effet anti-inflammatoire du PRP à travers la libération d'HGF. Pour ce faire, ils effectuent une expérience *in vitro* sur des cellules de tendon de lapin et une expérience *in vivo* sur un modèle de souris présentant une lésion au tendon d'Achille.
Lorsque les tissus sont blessés, le processus de guérison passe par la phase inflammatoire. Pendant cette phase, les médiateurs inflammatoires tels que l'IL-1 sont produits, et engendrent une surexpression des cyclooxygénases 1 et 2 (COX-1 et -2) et de la prostaglandine synthase (PGE2 synthase) : trois enzymes impliquées dans la production de prostaglandines (PGE2) par les cellules tissulaires provoquant une vasodilatation et une hyperalgie.
Ainsi, ces expériences vont permettre d'évaluer l'expression des COX-1 et -2 et de PGE2 synthase, et de quantifier la production de PGE2 en fonction de la présence de PRP ou d'HGF.

In vitro :

- I : cultures de cellules tendineuses traitées par IL-1 induisant une inflammation
- SF : cellules non traitées
- P + I : PRP ajouté aux cellules I
- P + AB + I : Ajout d'anticorps anti-HGF
- P : PRP seul
- P + AB : PRP et anticorps
- Idem en remplaçant PRP par HGF

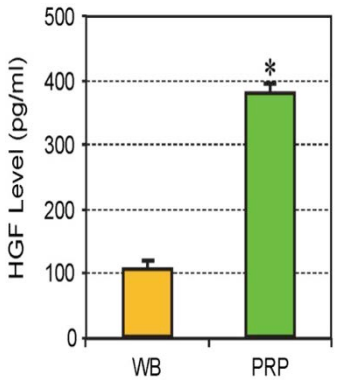


Figure 48: Concentration en HGF dans le sang du lapin blessé (WB) et dans le PRP issu de ce sang [101]

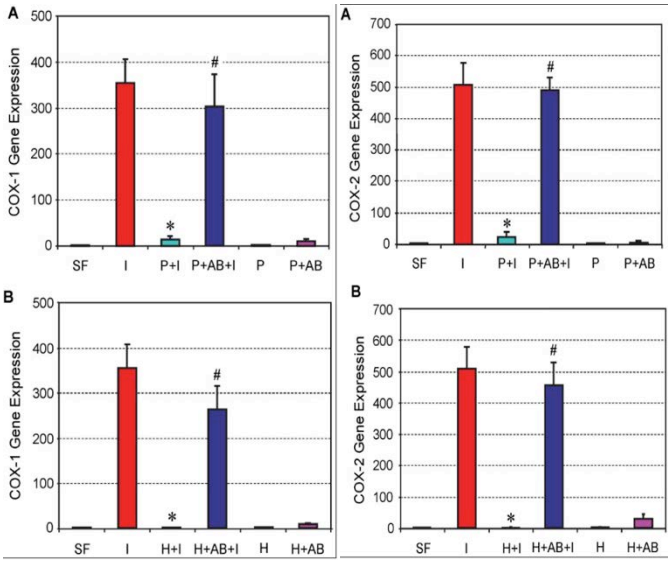


Figure 49: Effets du traitement par PRP (A) et HGF (B) sur l'expression des gênes de COX-1 et COX-2 des cellules tendineuses en culture [101]

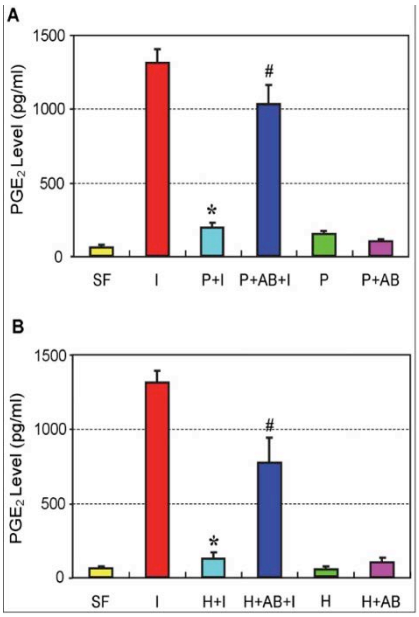


Figure 50: Effets du traitement par PRP (A) et HGF (B) sur la production de PGE2 par les cellules tendineuses en culture [101]

<u>Résultats</u> : COX-1, COX-2 et PGE2 synthase sont très fortement exprimées et la production de PGE2 est très élevée au niveau des cultures I et P (ou H) + AB + I.

In vivo :

-W : tendon blessé

-W + PRP (ou HGF) : tendon blessé en présence de PRP ou HGF

-W + PRP (ou HGF) + AB : ajout d'anticorps anti-HGF

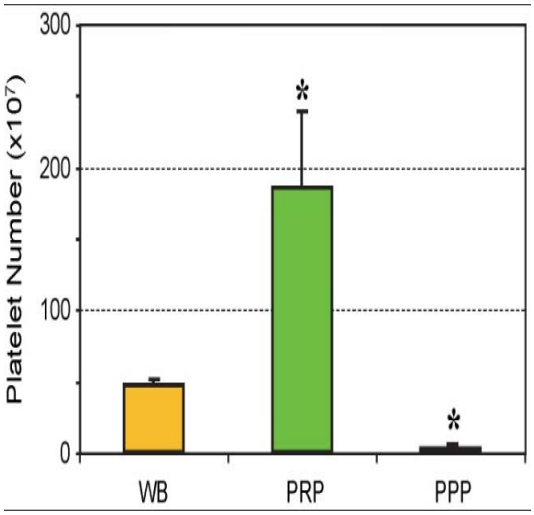


Figure 51: Numération plaquettaire dans le sang de la souris blessée (WB), le PRP et le PPP issus de ce sang [101]

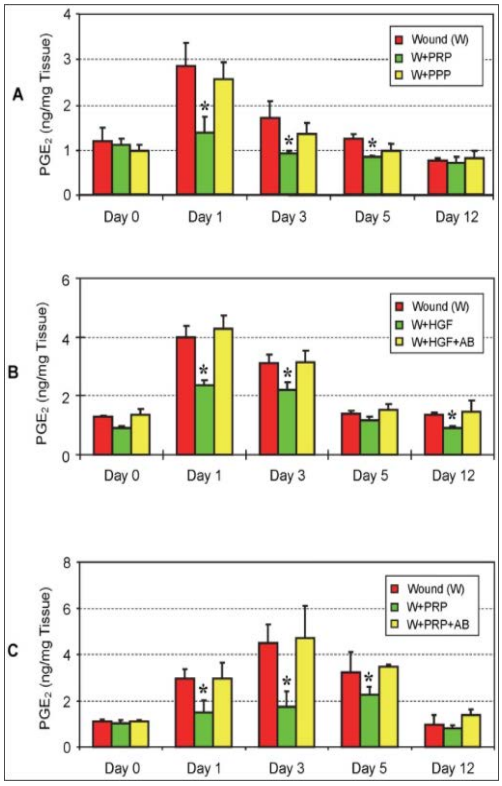


Figure 52: Effets du PRP, du PPP, d' HGF et des anticorps anti-HGF sur la production de PGE2 au niveau d'un tendon d'Achille de souris lésé [101]

Résultats : L'injection de PRP et d'HGF n'a pas réduit de manière significative les taux de PGE2 immédiatement après l'injection au jour 0, mais ces taux ont considérablement diminué aux jours 1, 3 et 5. De même, d'après l'étude, l'expression de COX-1 et -2 a largement chuté trois jours après l'injection de PRP ou d'HGF.

En conclusion, le PRP exerce donc des effets anti-inflammatoires via la sécrétion d'HGF et la présence d'HGF dans le plasma. Cette étude fournit donc des preuves scientifiques sur le caractère anti-inflammatoire du PRP, pouvant réduire les douleurs liées à une lésion. [101]

La sécrétion par le PRP de cytokines pro- et anti-inflammatoires lui confère donc la propriété d'établir un contrôle strict de l'inflammation et de moduler les sensations hyperalgiques liées à un traumatisme.

5. Une stimulation cellulaire accrue

Connaissant l'influence des facteurs de croissance sur la migration et la prolifération cellulaire, il est légitime de penser que l'apport de concentré plaquettaire autologue optimise la régénération.

Sanchez en a témoigné au travers d'une vidéo qu'il a diffusé lors d'un congrès sur le PRP : à sa disposition, deux cultures cellulaires, l'une mise en présence de PRP, l'autre sans (contrôle). Il a dénombré, sur la culture PRP, plus du double de cellules en 24h par rapport au contrôle : le PRP stimule la prolifération cellulaire.

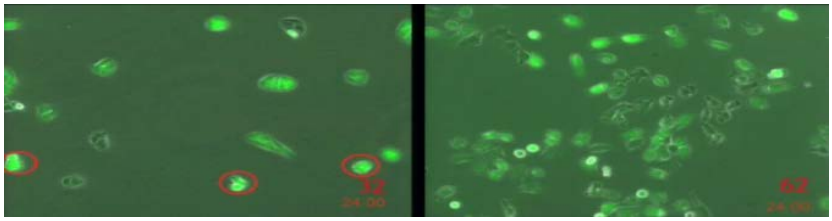


Figure 53: Evaluation de la prolifération cellulaire durant 24 heures sur une culture témoin (gauche) et une culture en présence de PRP (droite) [12, modifié le 25/05/16 par CHERE Sébastien]

De même, il a constaté que les cellules migraient beaucoup plus et beaucoup plus vite en présence de PRP : rôle du PRP sur la migration cellulaire. [12]

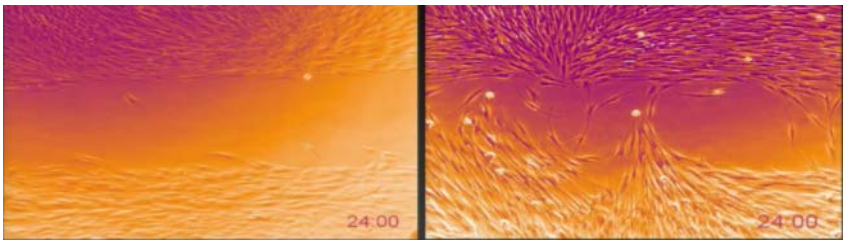


Figure 54: Evaluation de la migration cellulaire durant 24 heures sur une culture témoin (gauche) et une culture en présence de PRP (droite) [12, modifié le 25/05/16 par CHERE Sébastien]

De plus, Anitua (2006 et 2007) et Kajikawa (2008) démontrent, aux travers d'études expérimentales, que le PRP permet la différentiation de cellules dérivées de la circulation, engendrant une amélioration des stades initiaux de la cicatrisation. [104]

Migration, prolifération et différentiation cellulaire étant trois grands phénomènes indispensables à la réponse cicatricielle, le PRP fait logiquement l'objet de nombreuses spéculations. [12]

6. Un véritable caractère angiogénique

Lyras et ses collègues ont mené une étude sur l'influence du PRP au cours de l'angiogenèse de la phase précoce de réparation tendineuse. Quarante huit lapins blancs de Nouvelle Zélande ont été utilisés, leur tendon d'Achille étant sectionné transversalement. 0,5 mL de PRP a été injecté

dans la masse tendineuse de chaque côté de l'incision. L'injection dans le groupe contrôle consistait en une solution saline. L'angiogenèse a ensuite été évaluée via un examen microscopique et l'imagerie, toutes les semaines pendant quatre semaines.

Résultats : Le réseau vasculaire néoformé était beaucoup plus abondant durant les deux premières semaines de guérison pour le groupe PRP par rapport au groupe témoin. Puis, les résultats se sont inversés durant les deux dernières semaines, symbole d'une cicatrisation raccourcie pour le groupe PRP. [102]

En conclusion, le PRP stimule la néovascularisation, accélérant et améliorant le processus de cicatrisation. Il trouve donc toute son utilité au niveau des tissus faiblement vascularisés.

7. Un fort pouvoir anabolique

Kaux et son équipe ont recherché les données scientifiques actuelles sur le PRP et regroupé quelques études expérimentales récentes (années 2000).

Ainsi, Kashikawa (2008) et Mishra (2009) observent une stimulation de la synthèse de collagène de type I par le PRP.
De Mos (2008) affirme que le PRP augmente l'expression de métalloprotéinases induisant donc le remodelage de la MEC.
Enfin, Bosch (2010) constate que les quantités d'ADN, de glycosaminoglycanes et surtout de collagène sont plus importantes en présence de PRP : il conclut à une activité métabolique supérieure. [104]

Le PRP stimule donc le métabolisme cellulaire, essentiel au remodelage tissulaire.

8. Une action brève mais contrôlée

Face à la relative rapidité de dégradation des facteurs de croissance, l'emploi unidose de PRP ne demeure pas toujours suffisant en terme de libération prolongée. C'est pourquoi il est parfois primordial de répéter les injections sur des laps de temps relativement courts.

9. PRP, véritable *melting-pot* ?

Le PRP semble donc regrouper l'ensemble des éléments nécessaires à une cicatrisation accélérée optimale : plaquettes, cytokines et facteurs de croissance, leucocytes?, et autres apports plasmatiques. Mais, des études fiables et reproductibles manquent pour en déterminer la réelle efficacité. [11,13,79]

PARTIE III : UTILISATION DU PRP EN CAS DE LESIONS MUSCULO-TENDINEUSES

I. PRP et lésions musculaires

Le muscle a pour rôle principal la contraction, transformant l'énergie chimique en énergie mécanique.
Le tissu musculaire est essentiellement composé de cellules musculaires, appelées fibres musculaires, en raison de leur forme allongée.

Elles se divisent en trois types de cellules :

-les cellules musculaires striées squelettiques (responsables des contractions volontaires)
-les cellules musculaires cardiaques (au niveau du cœur, leur contraction augmente la pression intra-cavitaire)
-les cellules musculaires lisses (contraction involontaire, au niveau de la paroi des vaisseaux sanguins par exemple)

Ces cellules contractiles sont adaptées à la création de forces motrices par l'intermédiaire de deux protéines en interaction, l'actine et la myosine. [80]

Nous étudierons en profondeur l'emploi du PRP au niveau du muscle strié squelettique.

A. Le muscle strié squelettique

1. Généralités

Sa contraction est à l'origine d'un déplacement et d'une tension. Les cellules musculaires squelettiques assurent donc les mouvements volontaires, sous le contrôle du système nerveux, et le maintien de la posture. [80,81]

On dénombre, aujourd'hui, environ 430 muscles striés squelettiques dans le corps humain.
Leur forme est très variable :

-muscles longs (au niveau des membres)
-muscles plats (au niveau du tronc)
-muscles courts (intercostaux)
-muscles annulaires (autour de la bouche)

Il possède la propriété d'être excitable, élastique, contractile, thermogénique et est une réserve énergétique puisqu'il stocke l'ATP et la créatine phosphate, le glucose et le dioxygène sous forme de myoglobine. [80]

Il existe, dans le corps humain, différents types de fibres musculaires squelettiques :
-les fibres oxydatives lentes ou de type I : diamètre petit, rouges. Riches en myoglobine et en mitochondries, elles possèdent un grand pouvoir oxydatif et sont adaptées aux efforts de longue durée (fibres à contraction lente et peu fatigables).

-les fibres glycolytiques rapides ou IIb : diamètre grand, blanches. Riches en myofibrilles, elles permettent une contraction puissante (forte et rapide) mais de courte durée, convenant aux efforts intenses et brefs.
-les fibres oxydatives-glycolytiques rapides ou IIa : diamètre moyen, rouges, elles ont un caractère intermédiaire. [81,82]

2. Structure et organisation macroscopique

Les fibres musculaires s'associent afin de constituer des muscles caractérisés par :

-l'alignement des constituants de la cellule afin de créer une force unidirectionnelle au cours de la contraction
-leur ancrage sur d'autres structures grâce au tissu conjonctif
-une importante vascularisation permettant de pallier aux besoins métaboliques élevés
-leur innervation par des neurones moteurs constituant des plaques motrices, leur permettant d'être sous contrôle nerveux et d'être excitable. [80]

Chaque fibre est entourée par une fine couche de tissu conjonctif appelée l'endomysium. Il isole les fibres les unes des autres, contient des capillaires sanguins et des axones. Chaque fibre est alimentée par plusieurs capillaires.
Les fibres musculaires se regroupent pour former des faisceaux. Chaque faisceau est entouré d'étuis de tissu conjonctif fin : le périmysium. Le périmysium comporte des vaisseaux sanguins et lymphatiques, et des rameaux nerveux. Un faisceau contient environ 150 cellules (ou fibres musculaires).
Un muscle est composé de nombreux faisceaux, regroupés dans une épaisse gaine de tissu conjonctif : l'épimysium. De grosses artères y pénètrent. [80,81]

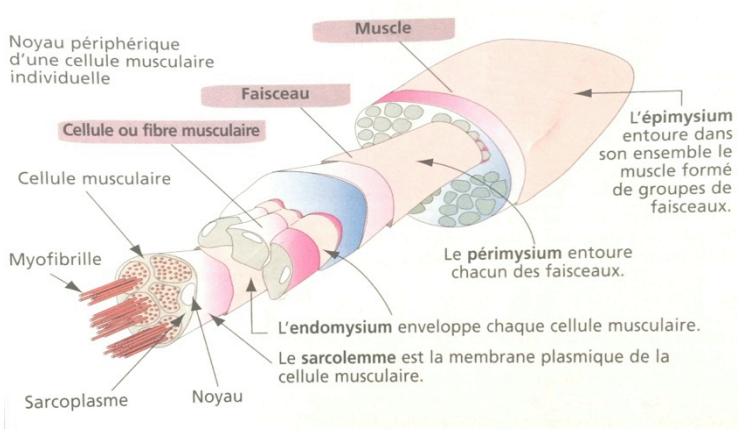


Figure 55: Organisation du muscle strié squelettique [8]

3. Organisation microscopique

La cellule musculaire est formée par la fusion de centaines de précurseurs appelés myoblastes ; c'est pourquoi, elle contient plusieurs centaines de noyaux, situés immédiatement sous la membrane cytoplasmique (sarcoplasme). Elle a la forme d'un cylindre fin, de 50 à 60 µm de diamètre et de longueur très variable (de quelques millimètres à une dizaine de centimètres) en fonction de la localisation. [80]
Les cellules musculaires sont donc allongées, contractiles et parallèles entres elles. [81]

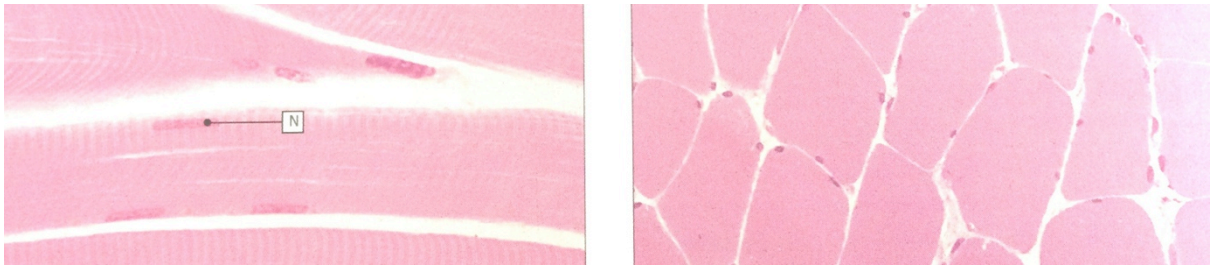


Figure 56: Coupe longitudinale et coupe transversale de cellules musculaires striées squelettiques. Les noyaux sont multiples et rejetés en périphérie. [80]

Le muscle adulte contient un grand nombre de précurseurs susceptibles de se diviser et de fusionner pour régénérer un muscle lésé ou endommagé : les cellules satellites.

La cellule musculaire squelettique est composée d'éléments contractiles s'organisant en myofibrilles. Ce sont de fins cylindres de 1,2 µm de diamètre formés par la répétition et l'alternance de filaments épais de myosine et de filaments fins d'actine. Des centaines de myofibrilles forment donc la cellule musculaire en se disposant parallèlement tout le long de la cellule.
La bande A, sombre, correspond à la zone des filaments épais et du recouvrement des filaments fins et épais. La bande I, claire, correspond aux filaments fins ne recouvrant pas les filaments épais. La bande H est le centre de la bande A, soit la zone correspondant uniquement aux filaments épais. La strie Z est au centre de la bande I. Le sarcomère est l'unité fonctionnelle de la myofibrille, délimitée par deux stries Z. Chaque filament épais est entouré par six filaments fins.

Au cours de la contraction, les filaments fins glissent le long des filaments épais ; ce, grâce aux têtes de molécules de myosine qui se lient à l'actine. En phase de relaxation, le mouvement s'inverse.
L'énergie est amenée par l'hydrolyse de l'ATP, la myosine jouant le rôle d'ATPase lorsqu'elle se lie à l'actine.

Le sarcoplasme, les mitochondries et autres éléments de la cellule se trouvent entre les myofibrilles. [80,81]

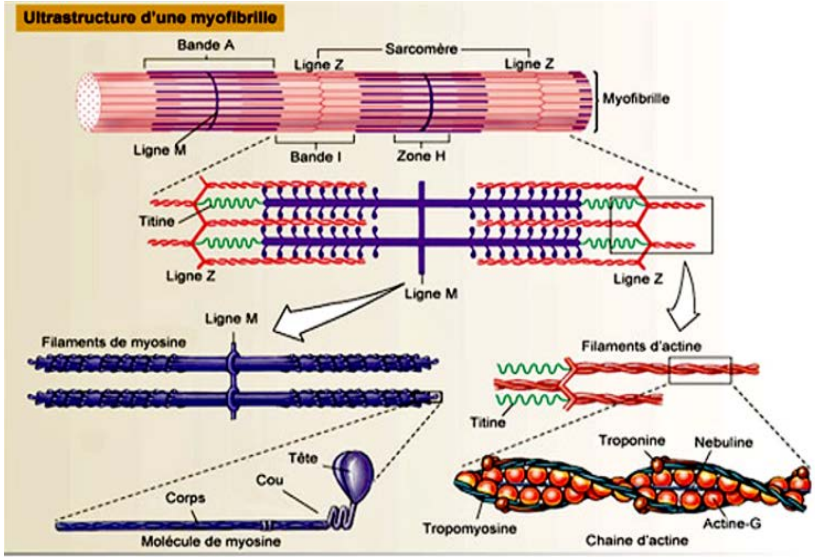


Figure 57: Ultrastructure d'une myofibrille [139]

B. Les traumatismes d'origine musculaire

1. Généralités

Les lésions musculaires font l'objet d'une grande fréquence en pathologie sportive, représentant 10 à 55% des lésions du sportif. Elles touchent environ 1 millions de personne par an. Certains siègent occasionnent jusqu'à 34% de récidives, les localisations les plus fréquentes étant l'ischio-jambier et le droit fémoral.

2. Classification des traumatismes musculaires

Plusieurs classifications des traumatismes musculaires existent, la plus judicieuse dans ce cas précis semble être celle qui différencie :

-les atteintes avec ou sans lésion anatomique

-les atteintes liées à une cause intrinsèque ou extrinsèque

- ✓ Accidents musculaires sans lésion, liés à une cause intrinsèque

Parmi les accidents musculaires sans lésion anatomique et liés à une cause intrinsèque, on dénombre :

-la crampe : c'est une contraction brutale, douloureuse, intense, involontaire et spontanément résolutive.

-la courbature : c'est une douleur survenant après l'effort, le muscle est induré et tendu.

-la contracture : c'est une contraction involontaire, inconsciente, douloureuse et permanente, non spontanément résolutive.

- ✓ Accidents musculaires avec lésion, liés à une cause intrinsèque

Les lésions musculaires touchent les fibres mais aussi le tissu de conjonctif de soutien, et se manifestent par une désorganisation des cloisons intrinsèques longitudinales avec une rupture, un décollement et/ou des atteintes des ramifications vasculo-nerveuses à l'intérieur du muscle. Le plus souvent, ils sont au nombre de quatre, chaque atteinte correspondant à un stade de la lésion.

L'élongation : stade 1

-physiopathologie : microdéchirures et effilochages de myofibrilles ou décollement de l'aponévrose

-contexte du traumatisme : sollicitation excessive et brutale à la limite d'étirement du muscle

-clinique : douleur brutale mais modérée, pas de point électif (douleur diffuse sur toute la longueur du muscle), test isométrique et étirement douloureux, impotence fonctionnelle réduite, pas d'ecchymose

-prise en charge : physiothérapie, thermothérapie, contraction isométrique et étirement progressifs, antalgique à la demande les premiers jours, pas d'anti-inflammatoire qui inhiberait les réactions biologiques d'élimination des tissus détruits

-durée de convalescence : 2 à 3 semaines

La déchirure : stade 2

-physiopathologie : déchirures de fibres musculaires voire même de faisceaux : déchirure partielle du muscle

-contexte du traumatisme : contraction violente et rapide, lors d'un démarrage ou d'un changement brutal de direction (causes intrinsèques) ou agression externe sur un muscle contrarié (cause extrinsèque)
-clinique : douleur brutale et localisée, mobilisation active douloureuse, impotence fonctionnelle totale, test isométrique et étirement impossibles, hématome et ecchymose possibles
-prise en charge : cryothérapie, physiothérapie, antalgique, puis au bout de 3 semaines : massages, ultrasons, chaleur, mobilisation progressive du groupe musculaire, mise en tension infra douloureuse
-durée de convalescence : 3 à 5 semaines

La rupture : stade 3

-physiopathologie : déchirure totale du muscle
-contexte du traumatisme : contraction excessive, brutale et forte (cause intrinsèque) ou choc direct et violent sur un muscle contracté (cause extrinsèque)
-clinique : douleur syncopale en « coup de poignard », mobilisation active impossible, impotence fonctionnelle totale, test isométrique et étirement impossibles, hématome et ecchymose, présence d'une dépression
-prise en charge : antalgique, drainage de l'hématome possible dans les 15 jours, immobilisation pendant 3 semaines, puis après 3 semaines : cryothérapie, physiothérapie, contraction et étirement progressifs après 1 mois – 1 mois et demi.
-durée de convalescence : minimum 1 mois et demi – 2 mois

La désinsertion : stade 4

-physiopathologie : arrachement des fibres musculaires ou du tendon
-contexte du traumatisme : intrinsèque : contraction brutale et intense (démarrage, changement de direction, réception de saut) avec asynchronisme articulaire étirant le muscle (extension du genou et flexion dorsale de la cheville)
-clinique : douleur violente et syncopale, impotence fonctionnelle totale, mobilisation active douloureuse, test isométrique et étirement impossibles, hématome et ecchymose, masse rétractile du muscle à la palpation
-prise en charge : désinsertion partielle : idem déchirure ; désinsertion totale : idem rupture
-durée de convalescence : minimum 1 mois et demi – 2 mois

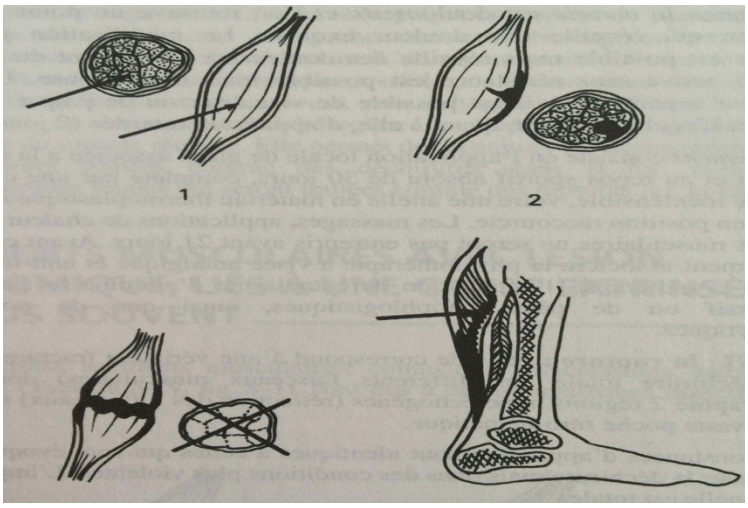


Figure 58: Illustration des lésions musculaires d'origine intrinsèque [83]

- ✓ Accidents musculaires avec lésion, liés à une cause extrinsèque

-la contusion : c'est un écrasement des tissus musculaires dû à un choc direct contre un corps
-la dilacération : c'est un effilochage des fibres musculaires dû à une agression externe par un objet tranchant (crampons…)
-l'hernie : c'est une rupture de l'aponévrose musculaire dû à une chute ou un choc direct.
-l'hématome : c'est un épanchement sanguin intramusculaire dû à un écrasement ou une déchirure. [82,83,84,85]

3. Diagnostic

En premier lieu, le diagnostic repose sur l'interrogatoire. Il permet de mieux connaître le patient, son âge et ses éventuels antécédents musculaires. Une série de questions peut guider le diagnostic :
Quelles sont les circonstances de survenue de la douleur ? Brutalement, en plein effort, rapidement, progressive, pendant l'effort ou après ?
La douleur a-t-elle empêché le patient de poursuivre son activité ? Ou l'arrêt immédiat s'est-il imposé ? Le patient a-t-il perçu un craquement au moment du traumatisme ?
Quelle est l'évolution de la douleur entre l'accident et l'examen ?

En second lieu vient l'examen physique. Une recherche d'asymétrie de relief du groupe musculaire peut traduire une lésion grave ou un hématome. L'ecchymose peut témoigner aussi d'une lésion anatomique. La mise en tension, la contraction active et/ou résistée, la palpation peuvent indiquer le siège (diffus ou local) et l'intensité de la douleur.

Enfin, l'imagerie permet de confirmer ou infirmer les premiers éléments du diagnostic et d'apporter tous les éléments nécessaires à la réalisation d'un bilan topographique et de gravité précis. L'échographie est l'examen de choix, simple, rapide et peu onéreux.
L'IRM peut être utilisée en cas de discordance échoclinique ou lorsque certaines localisations profondes sont moins accessibles à l'échographie. [82]

C. La régénération musculaire

« La régénération musculaire est tout à fait possible. Elle nécessite en concomitance une cicatrisation du tissu conjonctif. La cicatrisation fibreuse résultante ne doit pas être trop abondante et doit avoir des qualités d'élasticité et de résistance parfaites. » Durey, 1987 [82]

Les phases de la régénération sont celles décrites précédemment, à l'échelle musculaire :

-une phase préalable, l'hémostase

-une phase de destruction : Rupture et nécrose des myofibrilles sont constatées, accompagnées d'un saignement variable pouvant conduire à un hématome. Une réaction inflammatoire et un œdème se mettent en place au pourtour du foyer traumatique, où macrophages et neutrophiles sont indispensables à la détersion, la régénération et le remodelage des tissus détruits.

-une phase de réparation animée par la phagocytose des tissus nécrotiques et la régénération des myofibrilles par les cellules souches musculaires. En parallèle, une vascularisation capillaire se développe au sein et au pourtour de la lésion, et une cicatrice se forme via la production de matériel collagénique.

-une troisième phase, de remodelage, décrite par la maturation des myofibrilles régénérées, la contraction et la réorganisation de la cicatrice conjonctive. C‘est pendant cette phase que le sportif retrouve ses capacités fonctionnelles. [82,83]

D’un point de vue histologique, le développement musculaire implique l’alignement en chaîne et la fusion de précurseurs musculaires déterminés, les myoblastes, pour former des myotubes plurinucléés. Les cellules musculaires squelettiques matures ont perdu leur capacité de division. La régénération du tissu musculaire endommagé est donc permise par les cellules satellites qui se divisent, se différentient et s’incorporent aux fibres musculaires existantes. Une lame basale entoure à la fois les cellules satellites et le myotube.

Les cellules satellites, au rôle capital dans la cicatrisation et la régénération musculaire chez l’adulte, sont mitotiquement quiescentes, et lèvent ce caractère en cas de traumatisme. Elles expriment, au repos, un récepteur de surface c-Met, qui confère une forte affinité de liaison pour HGF. La fixation de ce facteur de croissance induit une cascade de signalisation aboutissant à la prolifération des cellules satellites et à leur différentiation en myoblastes. Ces myoblastes se divisent et fusionnent avec les fibres préexistantes.
Une deuxième population de cellules souches du muscle squelettique adulte, les cellules de la *side* population, peuvent se différentier en cellules myogéniques et participer à la régénération musculaire. Ces cellules sont présentes dans la moelle osseuse. [8,81]

D. Les études pré-cliniques

1. Etudes expérimentales sur l’animal

Durant une dizaine d’années, de nombreux auteurs effectuent des expérimentations sur l’utilisation du PRP chez l’animal : Andia (2003), Wright-Carpenter (2004), Hammond (2009), Borrione (2010), Gigante (2012) et Terrada (2013) décèlent tous une amélioration et une accélération de la réparation des blessures musculaires chez le rat, la souris et le mouton en particulier. [113]

2. Etudes *in vitro*

De même, un grand nombre d’auteurs testent l’emploi du PRP sur des cultures de cellules musculaires : Borrione (2010), Harmon (2010), Redler (2011), Harris (2012), Matsui (2012), Li, Poddar et Chen (2013) ainsi que McLure, Garg et al (2013) observent tous une augmentation de la prolifération et de la différentiation des cellules satellites et des cellules souches musculaires, une régulation du turnover collagénique et une activation de l’angiogenèse. [113]

E. Les études cliniques (*annexe IV*)

A l’heure actuelle, très peu d’études traitant de l’utilisation du PRP sur les lésions musculaires existent ; la seule de haut niveau de preuve est l’œuvre de Bubnov et son équipe en 2013.

Tableau VII: Tableau récapitulatif des études cliniques effectuées sur les lésions musculaires. [113]

author	date	level of evidence	N	type	results
Loo	2009	4	1	p-prp	?
Frey	2009	4	2	L-prp	?
Hamilton	2010	4	1	L-prp	return J17
Wrigt-Carpenter	2004	3	18	sérum	return J16 vs 22
Sanchez	2005	4 poster	21	P-prp	return/2
Cugat	2005	4 poster	16	?	return/2
Bénézis	2010	4	25	P-prp	?
Jaadouni	2012	4	48	P-prp	return j12vs37 return/3 si <j9 (j12vs45) harmstring gastrocn. = 3 x add. Quad (j31vs10)
Wetzel	2013	4	12	?	?
Bermuzzi	2013	4	53	P-prp	return j20-30 1 relapse> 1 year
Bubnov	2013	1	30	P-prpr	return early force higher

1. Faible niveau de preuve scientifique (3 et 4)

En 2005, Sanchez observe un délai de retour à la compétition divisé par deux chez 21 footballeurs professionnels de l'élite traités par injection écho-guidée de P-PRP.
De même, Cugat (2005) constate un retour accéléré à la compétition (jusqu'à 50%) chez 16 footballeurs et basketteurs ayant une reçu une injection de PRP après ponction de l'hématome. [114]

Wetzel (2013) prend en charge 12 patients présentant une lésion à l'ischio-jambier et rebelles au traitement traditionnel conservateur : traités par PRP, ils rapportent tous une diminution de la douleur et reviennent tous à leur niveau d'activité sans complications majeurs. [115]

Jaadouni (2013) réalise une étude pilote à propos de 50 cas. Selon l'importance clinique et échographique de la lésion, il accomplit une à trois injections de P-PRP à une semaine d'intervalle. Il conclut que le PRP peut diminuer les risques de récidive et le délai de cicatrisation des lésions musculaires chez les sportifs professionnels ou amateurs. [116]

Enfin, Bernuzzi (2013), après avoir traité 53 athlètes amateurs présentant une lésion de grade 2 par trois injections de P-PRP à une semaine d'intervalle, remarque une cicatrisation complète à l'imagerie, une disparition de la douleur, une récupération fonctionnelle et un retour à l'activité sportive chez tous ces patients. Un seul rechute un an après le traitement. Il écrit donc que l'injection écho-guidée de PRP est un traitement valable pour les blessures musculaires. [117]

Par l'intermédiaire d'une fiche de recueil de données envoyée à 25 centres connus pour leur implication dans la traumatologie du sport, Guillodo (2012) fait état de l'utilisation du PRP sur les lésions musculaires en France. Les 7 centres ayant répondu favorablement à cette enquête nationale dénotent une amélioration plus rapide, une normalité du *testing* musculaire plus rapide, une reprise plus précoce et l'absence de problèmes majeurs liés à l'utilisation du PRP. [118]

2. Niveau 2 de preuve scientifique

Une seule étude de niveau 2 de preuve scientifique a été réalisée, et est l'œuvre d'Hamid et son équipe en 2012.

28 patients âgés de 28 ans et plus présentent une lésion récente de l'ischio-jambier de grade 2. Cet essai contrôlé, randomisé, en simple aveugle a pour but de comparer un groupe de patients traités par PRP suivi d'un programme de réhabilitation versus un groupe de patients traités uniquement par ce même programme de réhabilitation. L'évaluation repose sur le délai de retour au jeu.
Hamid, en conclusion de son étude, fait l'objet d'une recommandation de ce traitement (PRP + réhabilitation) pour accélérer la guérison des lésions musculaires de grade 2 au niveau des ischio-jambiers. [119]

3. Haut niveau de preuve scientifique (1)

Au travers d'une étude comparative, Bubnov et son équipe évaluent l'efficacité de la thérapie P-PRP écho-guidée au niveau des lésions musculaires aigües de la cuisse et/ou du mollet versus la thérapie conservatrice traditionnelle (immobilisation, physiothérapie, thérapie anti-inflammatoire) chez 30 athlètes professionnels (total de 34 lésions).

Deux groupes de 15 athlètes (soit 17 lésions) ont été constitués au hasard :
-groupe A : injection ciblée de PRP + traitement conservateur (AINS à J+21)
-groupe B : traitement conservateur seul

L'évaluation se déroule en six étapes (avant, à 1, 7, 14, 21 et 28 jours) et prend en compte :
-la douleur via l'échelle visuelle analogique (EVA)
-la composante physique : la fonction musculaire selon la douleur sur flexion résistée, la force et l'amplitude des mouvements.
-l'auto-évaluation globale et subjective de la fonction musculaire par le patient (de 0 à 100, 100 représentant le muscle sain)
-l'imagerie via l'échographie : disparition des zones hypoéchogènes, remplacement de l'hématome par du tissu fibreux, apparition de néovascularisation, observation d'une continuité des fibres musculaires.

En termes de résultats, Bubnov souligne, à 28 jours, une réduction de 93% de la douleur (A) versus 80% (B) et une amélioration de la fonction musculaire de 55 à 92 (A) versus 53 à 74 (B).

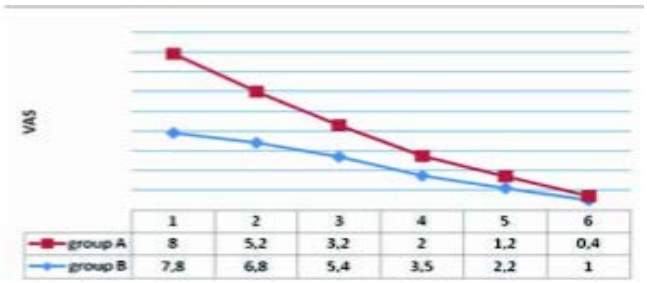
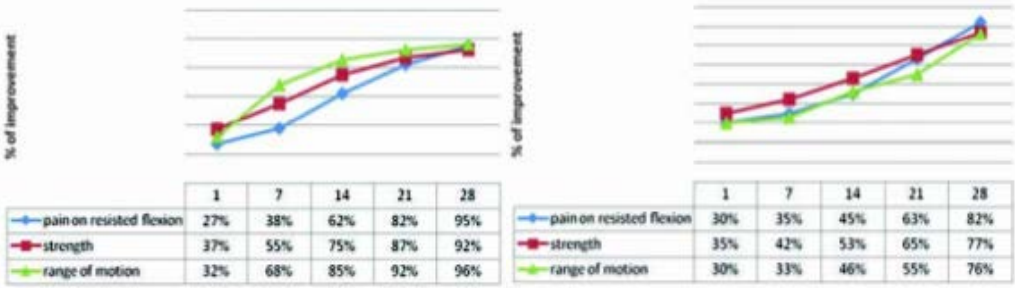


Figure 59: Quantification de la douleur via l'EVA durant les six sessions d'évaluation. [120]

Concernant les tests physiques, le groupe A connaît une amélioration significativement supérieure au niveau de la force, l'amplitude et la gamme des mouvements au 14ème jour. En fin d'étude, les deux groupes évoluent de façon semblable au niveau de la douleur sur flexion résistée et de la force, mais l'amplitude, améliorée, demeure meilleure pour le groupe A.



	1	7	14	21	28
pain on resisted flexion	27%	38%	62%	82%	95%
strength	37%	55%	75%	87%	92%
range of motion	32%	68%	85%	92%	96%

	1	7	14	21	28
pain on resisted flexion	30%	35%	45%	63%	82%
strength	35%	42%	53%	65%	77%
range of motion	30%	33%	46%	55%	76%

Figure 60: Evolution de la fonction musculaire des groupes A (gauche) et B durant les six sessions d'évaluation. [120]

A 21 jours, l'imagerie démontre des changements régénératifs chez tous les patients du groupe A contre seulement 10 du groupe B ; alors qu'une semaine plus tard, tous les athlètes de l'étude présentent un processus de régénération.
L'évaluation fait état d'une forte corrélation entre le processus de régénération, la régression de la douleur et l'évolution des paramètres physiques. Le temps moyen de retour à la pratique sportive (A : 10 jours environ ; B : 22 jours environs) permet à Bubnov d'affirmer que la thérapie PRP est efficace pour le traitement de la douleur et qu'elle contribue à une restauration physique efficace, pouvant engager une réhabilitation précoce et réduire le temps moyen de traitement.

Aucune étude PRP versus stéroïdes au niveau de lésions musculaires n'a été publiée, mais Bubnov suppose que les stéroïdes présentent des caractéristiques pour soulager la douleur, mais ne favorisent pas la guérison, au contraire du PRP.

Malgré les limites de son étude (petit nombre de lésions, absence de protocole en double-aveugle) mais grâce à son haut niveau de preuve, Bubnov conclut que l'injection écho-guidée de PRP a un niveau significativement plus élevé de soulagement de la douleur, de régénération physique plus rapide par rapport à un traitement conservateur classique dans les traumatismes musculaires aigüs des athlètes professionnels. [120]

F. Lésions musculaires susceptibles d'être traitées par PRP

Etant donné le faible nombre d'études de haut niveau de preuve réalisé sur les lésions musculaires, les indications sont encore floues. Cependant, les cibles commencent à se préciser, le choix n'étant fonction que de l'appréciation du médecin.

Lors de son enquête nationale, Guillodo recense que tous les centres, qui avaient répondu favorablement au sondage, procèdent à la thérapie PRP uniquement sur les lésions musculaires majeures. Parmi ces centres, cinq ne traitent que des sportifs compétiteurs de haut niveau. [118]

Lors du congrès sur la traumatologie du sport à Grenoble en 2012, Bouvard et Bigard sont revenus sur le but de la thérapie PRP : « rechercher une bonne qualité de cicatrisation et non une reprise à l'infini plus précoce ». Ainsi, l'utilisation du PRP revêt toujours d'une évaluation bénéfice/risque, et peut être envisagée lors de désinsertions musculaires partielles ou complètes, et de lésions musculo-aponévrotiques et -tendineuses de mauvais pronostic naturel. [52]

En mai 2014, lors d'un congrès européen, Jaadouni et Bouvard ont indiqué que le PRP devait s'employer en cas de lésions musculaires récurrentes et de lésions de grade 2 et plus, incluant l'ischio-jambier et le triceps sural. [113]

En septembre 2014, lors du 7ème congrès national de médecine du sport, Eichene a précisé quelques indications raisonnables : les lésions musculo-aponévrotiques de mauvais pronostic naturel au niveau de l'ischio-jambier (décollement ou désinsertion haute du biceps fémoral) et du triceps sural (désinsertion du gastrocnémien médial). L'utilisation du PRP semble donc être propice au niveau de l'interface muscle – tissus. [121]

En résumé, les principaux bénéficiaires du PRP sont les sportifs de haut niveau, les seconds sont les patients présentant des lésions musculaires récidivantes. Ils peuvent en tirer profit en cas de décollement aponévrotique, déchirure, rupture et désinsertion (partielle ou complète), notamment au niveau de l'ischio-jambier et du mollet, deux localisations fréquentes.

Guillodo constate, qu'en France, le délai moyen entre la blessure et l'injection afin d'optimiser la thérapeutique par PRP est de 6 jours. Il n'y a pas de délai limite fixé sauf pour deux centres (15ème jour pour l'un, 21ème jour de blessure pour l'autre). [118]
Cependant, Jaadouni (2012) prouve, sur 48 cas consécutifs de sportifs présentant une lésion musculaire traitée par P-PRP, que la reprise de l'activité physique est trois fois plus rapide si l'injection est instituée dans les neuf premiers jours suivants la blessure. [114]
Ce délai semble donc un critère majeur de l'efficacité du PRP sur les lésions musculaires, aigües ou récidivantes.

G. Déroulement d'une séance

Au préalable, certains centres ou médecins exigent un bilan biologique, une numération plaquettaire ou un bilan de coagulation.

En pratique, la thérapeutique est un processus à étapes, effectué par le médecin seul ou assisté d'une ou plusieurs personnes qualifiées et formées :

-prise de sang (30 à 50 mL) respectant le protocole habituel (désinfection, garrot…) : caractère autologue de la préparation.
-centrifugation selon un protocole défini préalablement
-addition, selon le pH du PRP obtenu, de bicarbonate de sodium
-repérage clinique et échographique de la lésion à traiter
-recueil du PRP : le PRP est généralement stable à température ambiante durant 3-4 heures d'où le caractère extemporanée.
-désinfection de l'endroit de l'injection
-injection du PRP dans la lésion
-immobilisation du patient (variable de 0 à 60 minutes selon les centres [118])
[52,103,105,113,122]

H. Suivi, traitements d'accompagnement et conseils

Si une fièvre et/ou une douleur importante surviennent dans les 48 à 72 heures après l'injection, le patient doit contacter le médecin qui a infiltré ou son médecin traitant afin d'écarter et de prendre en charge toute infection liée à la manipulation. [122]

Un repos de 48 heures après l'injection, sans immobilisation, est vivement conseillé. Puis, le patient peut reprendre des activités mais toujours sous le seuil de la douleur. [121]

Tous les patients sont revus au moins une fois généralement 15 jours après l'injection afin d'établir un premier bilan. [118]
S'il le juge opportun, en fonction de la taille de la lésion et de l'évolution de la cicatrisation, le médecin peut conseiller une ou plusieurs injections supplémentaires, effectuées au moins à une semaine d'intervalle.
Avant toute reprise d'activités physiques et sportives, une échographie de contrôle est réalisée.

Les AINS étant proscrits pendant 3 semaines, la douleur post-injection peut être soulagée par du paracétamol 1g à raison de 3g/jour en respectant un intervalle de 4 heures entre chaque prise. Dans le cas de douleurs plus intenses, la posologie maximale peut être augmentée jusqu'à 4g/jour. L'association de deux antalgiques, le paracétamol (400 mg) et la codéine (20 mg), peut également être une alternative : un comprimé à renouveler de préférence au bout de 6 heures, ou en cas de douleurs plus intenses, deux comprimés sans dépasser six comprimés par jour. [103,110,111]

Bubnov a montré l'intérêt du PRP suivi d'un programme de réhabilitation habituel. Ainsi, pour bénéficier pleinement du traitement et de son efficacité, le patient doit suivre une rééducation post-injection comprenant physiothérapie, massages, ondes de choc et mobilisation infra-douloureuse. [120]

En terme de prévention, il est essentiel d'axer la réflexion sur le calendrier du sportif : l'avant saison est une période primordiale car c'est à ce moment là que l'organisme du sportif est conditionné pour la compétition. Bien souvent, c'est pendant cette phase que les blessures musculaires surviennent. Il est donc important de trouver un équilibre entre travail et récupération.
Puis, pendant la saison, évaluer la charge de travail et rétablir un calendrier physiologique permet d'éviter les lésions de surmenage. [82]

Une bonne hygiène de vie limite les risques : manger sainement, équilibré, à doses recommandées, insister sur la récupération et le sommeil, éviter alcool et tabac, profiter des soins (cryothérapie, massage, physiothérapie), privilégier les crudités, les féculents et la viande blanche à l'approche d'une compétition, et les sucres rapides deux heures avant et pendant la compétition.

Il y a aussi certaines règles à respecter : insister sur l'échauffement, la pliométrie et les étirements. Le sportif doit attendre que le muscle ait récupéré d'une sollicitation intense avant même de l'étirer, ce qui limite les fragilités et l'apparition de microdéchirures.

Enfin, un mauvais équilibre entres les muscles agonistes et antagonistes augmenterait le risque de survenue de lésions musculaires par 5 : le sportif doit donc être en mesure d'évaluer ce paramètre et de corriger l'éventuel déséquilibre. [82,83,87]

II. PRP et lésions tendineuses

A. Le tendon

1. Généralités

Le tendon est un tissu fibreux permettant au muscle de s'attacher sur un os.
On en dénombre plus de 600 dans le corps humain.

Le tendon a également pour rôle la transmission de force mécanique, l'absorption de chocs et la stabilisation des articulations. Il transfère la force créée par le muscle à l'os, rendant possible le mouvement des articulations et donc la locomotion.

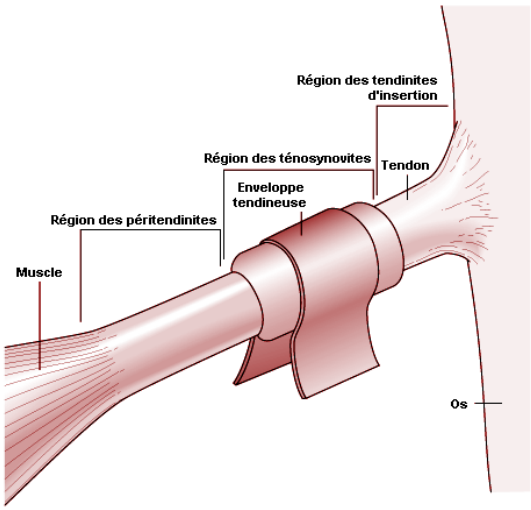


Figure 61: Le tendon [140]

Sa constitution lui confère deux propriétés biomécaniques propres : la résistance à la traction et l'élasticité (limite de résistance élastique de 5%). La résistance à la traction est fonction de l'épaisseur et de la teneur en collagène du tendon, tandis que l'élasticité dépend de la teneur en élastine. [81,87,88,91]

Ils peuvent également varier considérablement selon leur forme et la façon dont ils sont attachés à l'os. Ainsi, on peut trouver des tendons larges et plats, longs et minces (doigts), cylindriques, en éventail ou en forme de ruban. [94]

2. Structure et organisation macroscopique

Un tendon est composé schématiquement de trois parties : la jonction myotendineuse (point d'union avec un muscle), le corps du tendon et la jonction ostéo-tendineuse ou enthèse (point d'ancrage à l'os).

Les faisceaux tendineux primaires sont entourés de tissu conjonctif fibreux, lâche et vascularisé au rôle de soutien et de renforcement : le péritendinéum interne (ou périténonium, périténon, endotendon), subdivisant le tendon en faisceaux secondaires. Le tendon est entouré par le péritendinéum externe (ou épiténonium, épiténon), lequel est recouvert par du tissu conjonctif lâche, le paratendinéum ou paraténon. Cette surface externe permet le glissement et le libre

mouvement des tendons (surtout ceux ne possédant pas de véritable gaine synoviale) sur les tissus avoisinants. [8 ,81,90,94]

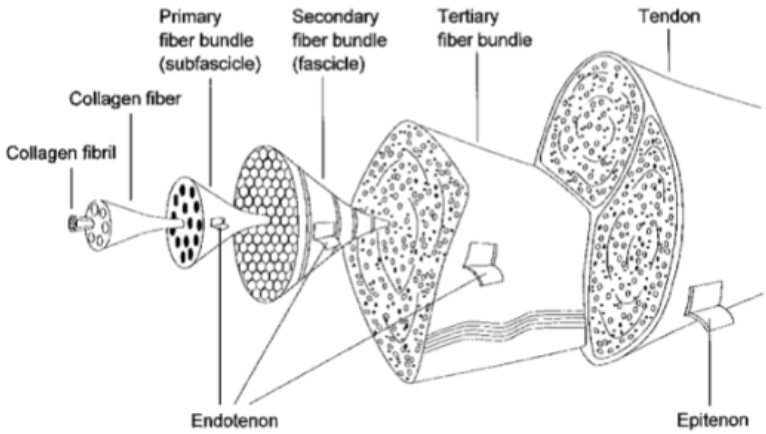


Figure 62: Structure du tendon [94]

Les canaux par lesquels le tendon glisse pendant son travail sont les gaines fibreuses ou retinacula : ces structures limitent les frictions et protègent le tendon.
Les poulies de réflexion sont les renforts anatomiques situés au niveau des courbures du parcours du tendon. Leur tâche est de maintenir le tendon à l'intérieur de sa gaine.
Les gaines synoviales sont des tunnels accessibles au tendon à la surface des os ou d'autres structures anatomiques pouvant causer des frottements et frictions. On en trouve autour des tendons de la main et du pied.
Les bourses séreuses jouent également un rôle dans la réduction des frictions, ainsi que dans la lubrification des tendons et structures voisines par leur sécrétion de synovie. Elles sont situées dans ces sites anatomiques où une proéminence osseuse apparaît et compresse le tendon. [92,94,95]

3. Organisation microscopique

Il est riche en fibres de collagène de type I (75% du poids sec) et en eau (50 à 70%). Sa MEC est également composée d'un certain nombre de fibres d'élastine et de glycosaminoglycanes. Les fibrocytes tendineux ou ténocytes sont les cellules que l'on y retrouve. Ce tissu est caractérisé par une majorité de fibres par rapport aux cellules qui le composent. [81,87,88]

Les fibres de Sharpey (ou fibres perforantes) sont des extensions de tendon composées de collagène et traversant le périoste afin de s'insérer dans l'os. Au niveau de la jonction tendino-musculaire, le tendon et ses expansions s'enchâssent dans des invaginations des cellules musculaires. [87,88,89]

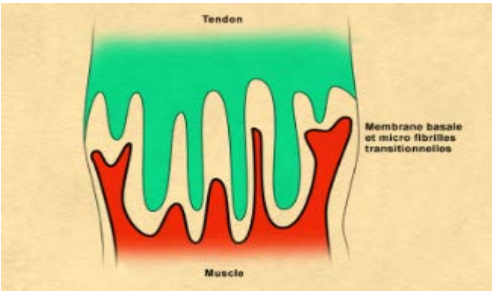


Figure 63: Jonction myotendineuse [87]

Le tendon est caractérisé par un tissu conjonctif dense régulier, unitendu à faisceaux parallèles. Les fibres de collagène, épaisses et solides, sont ordonnées en faisceaux parallèles et réguliers (longitudinalement, transversalement et horizontalement) : les faisceaux primaires. Cette organisation leur profère la capacité de résister aux forces longitudinales, transversales et de rotation. A l'état non tendu, ces faisceaux sont légèrement ondulés. Entres ces faisceaux, sont situées des rangées de ténocytes, les séparant les uns des autres.
Les ténocytes émettent dans toutes les directions de fines expansions (expansions aliformes) cytoplasmiques se moulant sur les faisceaux de collagène et permettant une communication les uns avec les autres.

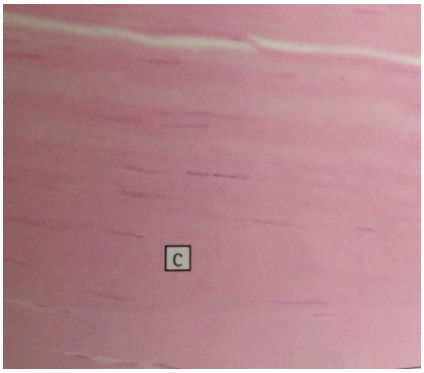


Figure 64: Coupe longitudinale d'un tendon d'Achille et observation du faisceau de fibres de collagène [80]

L'apport de sang au tendon se fait au niveau de 3 systèmes : la jonction myotendineuse, le paraténon et la jonction ostéotendineuse. Cependant, il est considéré comme un tissu faiblement vascularisé. Il bénéficie d'une abondante innervation. [8,81,90]

B. Les traumatismes d'origine tendineuse

1. Généralités

Les tendinopathies affectent des millions de personnes, que ce soit au cours d'une activité sportive ou professionnelle.
En théorie, ces lésions peuvent subvenir au niveau de n'importe quelle unité tendino-musculaire.
Cependant, certaines localisations semblent être plus sujettes à un traumatisme : on parle ainsi de la tendinopathie de la coiffe des rotateurs au niveau de l'épaule, de l'épicondylite moyenne au niveau du coude, de l'épicondylite latérale au niveau du poignet, de la tendinopathie rotulienne, de la tendinopathie d'Achille et de la fasciite plantaire sous le pied. Chez les sportifs, le genou et le talon sont les plus touchés tandis que la population générale est généralement affectée au niveau du talon également et du poignet. [91]

Par exemple, 10% des coureurs développent une tendinopathie d'Achille. [91]
Lors de la saison 2013/2014, 1244 blessures ont été recensées au cours des championnats de football ligue 1 et ligue 2 confondus (plus de 1000 joueurs utilisés). 79 ont été décrites comme des tendinopathies, dont 36% au niveau du genou (majoritairement le tendon rotulien). [93]

En pratique sportive, les douleurs et la gène fonctionnelle ayant pour origine les structures tendineuses sont davantage le témoin de microlésions anatomiques que d'une hypothétique inflammation. C'est pourquoi il est préférable de parler de tendinopathie plutôt que de tendinite.

Le tendon a la propriété d'être visco-élastique. Cependant, un étirement au-delà de 5% de sa longueur initiale provoque une rupture fibrillaire.

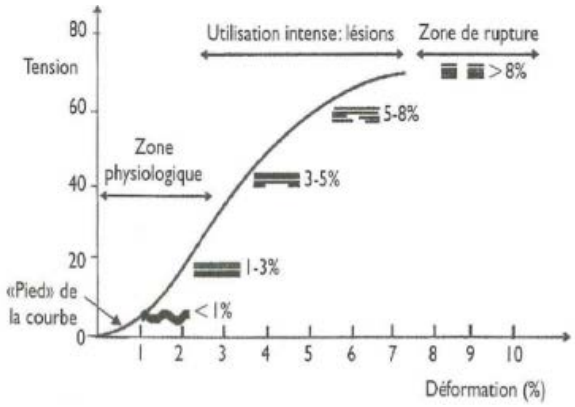


Figure 65: Courbe tension-déformation: illustration des lésions tendineuses associées à des élongations répétées menant à des microtraumatismes pour les fibres [95]

Les causes de tendinopathies sont nombreuses, variées et de caractère intrinsèque ou extrinsèque.

Facteurs favorisants intrinsèques :

-trouble morphologique et statique
-déséquilibre tendon-muscle
-inégalité de longueur entres membres inférieurs
-déséquilibre entres muscles agoniste et antagoniste
-hypermobilité articulaire
-âge, sexe féminin, condition physique du moment (fatigue, surpoids)

Avec l'âge par exemple, le diamètre des fibres de collagène augmente, au dépend de la taille des cellules, de la teneur en eau et en protéoglycanes, qui diminuent : l'élasticité et la résistance des tendons sont réduites en conséquence, ce qui favorise les lésions tendineuses.

Facteurs favorisants extrinsèques :

-les erreurs d'entraînement
-le défaut de matériel (chaussures chez un athlète…)
-le terrain, la surface (dureté, en déclive…)
-l'environnement (humidité, température…)
-un traumatisme (chute, shoot bloqué…)
-la surcharge des compétitions

Tableau VIII: Etiologie, les facteurs intrinsèques et extrinsèques à l'origine de tendinopathies [95]

Innate general factors	Acquired general factors	Acquired local factors
- age (> 40 years) - male gender - anatomic variants - blood type O - genetic factors	- nutrition (excess of protein) - excessive force - body composition (adiposity) - new physical activities - poor technique - training errors - high body weight/adiposity - weakness - environmental conditions - running surface - hyperthermia - drugs (oral corticosteroid or contraception, fluoroquinolones, cannabis, heroin, cocaine) - infectious diseases - general diseases (RA, psoriasis, SLE, neurological conditions, hyperuricemia, AHT, CRF, diabetes, insulin resistance, hypothyroidism, arteriosclerosis, hyperparathyroidism, glycogen storage disease)	- decrease in local vascular perfusion - repetitive loading - excessive loading - abnormal and unusual movements - impingement - new/old shoes and equipment

RA = rheumatoid arthritis; SLE = systemic lupus erythematosus; AHT = arterial hypertension; CRF chronic renal failure.

Plusieurs zones du tendon peuvent être touchées :

-corps du tendon : tendinopathie corporelle. Peu fréquentes, ce sont des atteintes inflammatoires avec formation possible de nodules.

-zone d'insertion osseuse : tendinopathie d'insertion osseuse ou enthésopathie. Elles concernent les tendons courts et peu larges, et sont sujettes à des rechutes et des poussées épisodiques.

-jonction myotendineuse : tendinopathie de jonction. Ce sont de petites déchirures musculaires se situant à l'union du muscle et du tendon. Leur évolution est favorable neuf fois sur dix.

-gaine synoviale (ténosynovite)

-poulie de reflexion [82,86,87]

2. Classification des traumatismes tendineux

Comme dans le cas des traumatismes musculaires, les tendinopathies peuvent être classées de différentes façons, en fonction de critères définis au préalable.

Il est possible de décrire des tendinopathies selon :

-le site : tendinopathies d'insertion ou corporéales

-l'aspect du tendon : tendinopathies simples ou nodulaires

-l'étiologie : tendinopathies par hypersollicitation ou étiologique (soit métabolique via des dépôts microcristallins ou lipidiques, soit inflammatoires)

-la durée : aigüe jusqu'à 6 semaines, sub-aigüe de 6 à 12 semaines, chroniques au-delà de 12 semaines

La classification de Leadbetter, basée sur trois paramètres (la gravité de la lésion, le potentiel de cicatrisation et les mesures thérapeutiques), comprend quatre stades :

-stade 1 : douleur apparaissant rapidement après l'activité, régressant spontanément en quelques heures, évoluant depuis moins de deux semaines, avec maintien de la capacité fonctionnelle et examen clinique normal.

-stade 2 : douleur apparaissant pendant et après l'activité, sans réduction de celle-ci, évoluant depuis deux à six semaines, avec douleur localisée à l'examen, mais peu ou pas de signes inflammatoires.

-stade 3 : douleur persistante depuis plusieurs jours après arrêt de l'activité, réapparaissant rapidement à la reprise, limitant nettement les capacités fonctionnelles, évoluant depuis plus de six semaines avec signes inflammatoires nets à l'examen.

-stade 4 : douleur permanente gênant les activités quotidiennes courantes et empêchant toute pratique sportive.

Ces lésions peuvent être de différente nature, parmi lesquelles sont décrites :

-la lésion fasciculaire superficielle (non transfixiante)

-la lésion fasciculaire profonde (non transfixiante)

-la rupture transfixiante : c'est une rupture de l'épaisseur du tendon dans sa totalité

-le clivage

-la dissection lamellaire

-la lésion intra-tendineuse

-la désinsertion [82,86,87]

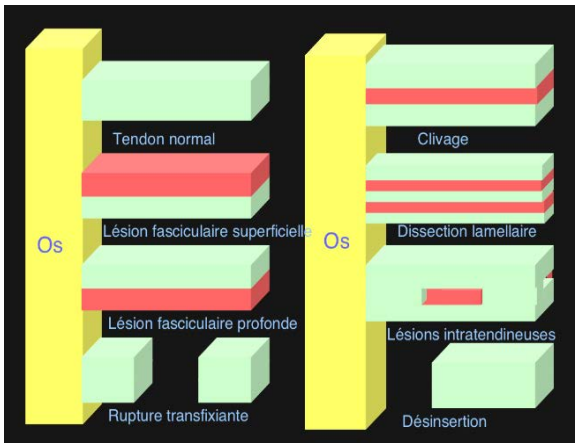


Figure 66: Différents type de lésions tendineuses [87]

Les traitements classiques et la prise en charge des tendinopathies comprennent :

-le repos sportif absolu ou relatif : il est fonction de la douleur. L'immobilisation prolongée a un effet délétère sur la cicatrisation car elle entraîne des qualités de résistance et de souplesse moindres qu'après mobilisation. La mobilisation, mise en tension légère de la zone cicatricielle, stimule la production, la maturation et l'orientation des fibres de collagène.

-la prise d'AINS (per os ou locaux) et les injections de corticoïdes : uniquement dans les phases aigües hyperalgiques.

-la cryothérapie

-les ultrasons et la physiothérapie

-la rééducation excentrique proposée via le protocole Stanish. Il induit, au travers d'un travail de renforcement musculaire excentrique, des modifications progressives de la structure tendineuse conduisant à une guérison et une prévention de la chronicité. Il repose sur trois principes : vitesse lente, intensité faible, intensification graduelle.

-les ondes de choc (depuis peu)

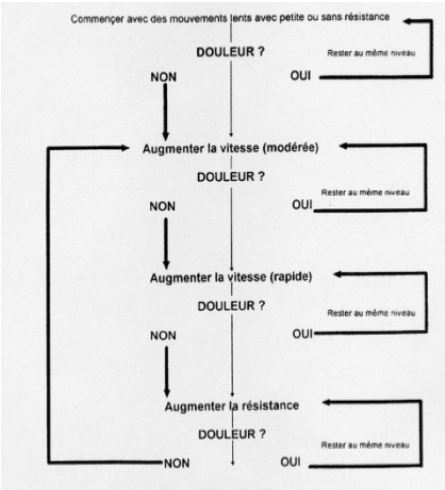


Figure 67: Protocole de Stanish, renforcement musculaire excentrique [141]

Ainsi, pour stades 1 et 2, la lésion est microscopique, réversible, et la thérapeutique est efficace. Pour les stades 3 et 4, la lésion est macroscopique, irréversible dans la majorité des cas.

3. Diagnostic

Dans un premier temps, l'interrogatoire a pour but de préciser le caractère de la douleur, son retentissement sur la vie quotidienne, les activités physiques, sportives et professionnelles. Ainsi, il précise :

-le mode d'apparition de la douleur (provoquée, aggravée ou réveillée par un choc direct ou une activité physique habituelle mais plus intense ou totalement nouvelle)

-l'ancienneté (apparition récente ou allure trainante), l'horaire, le rythme et l'intensité de la douleur

-le degré de gêne fonctionnelle, le retentissement sur les activités professionnelles et physiques

-l'évolution de la douleur

-l'influence du repos et des traitements

-la recherche de causes et de facteurs favorisants

Dans un second temps, un recours à l'examen clinique permet de rechercher la localisation exacte du traumatisme et son importance. Il est toujours comparatif, et se compose de quatre observations :

-l'inspection apporte des renseignements sur les tendons superficiels : volume du tendon, relief des parties molles adjacentes et aspect du muscle adjacent.

-l'étude de la contraction résistée précise le seuil de la douleur.

-l'étirement passif détermine aussi la diminution de l'amplitude du mouvement.

-la palpation réveille la douleur, augmente la chaleur locale, et est accompagnée de crissements locaux ou diffus. Elle peut mettre en évidence des nodules douloureux volumineux ou modérés.

Enfin, le diagnostic est complété par l'imagerie médicale. L'examen radiographique est le point de départ indispensable et incontournable avant toute autre exploration, bien que son intérêt demeure limité dans les tendinopathies. En effet, seuls les signes indirects de lésion, comme le remaniement osseux en regard de l'insertion tendineuse, peuvent être observés et utiles au diagnostic.

L'échographie est le complément idéal des radiographies car elle montre les structures tendineuses et les remaniements intra- et péri-tendineux.

Quant à l'IRM, elle permet d'étudier l'ensemble de la région anatomique. [82,86]

C. La régénération tendineuse

Après la formation du clou initial (hémostase) en cas de saignement, la régénération tendineuse reprend le rythme des phases de la cicatrisation normale.

La 1ère phase, inflammatoire consiste en une détersion de la lésion, une migration des cellules inflammatoires (lymphocytes et polynucléaires en quelques heures, macrophages en 1 à 2 jours) et une production de cytokines activatrices des fibroblastes. Il faut savoir que dans une structure adulte, l'activité des fibroblastes est faible ; leur activité s'amplifie en cas de lésion.

La 2nde phase, de réparation, annonce une décroissance progressive de l'inflammation, une multiplication des fibroblastes et la formation anarchique de nouvelles fibrilles de collagène de type

III par les fibroblastes activés (ténocytes). Le collagène de type III est le collagène de la cicatrisation, plus soluble, plus souple, plus adhérent.
La teneur en eau et en glycosaminoglycanes reste élevée, une nouvelle matrice extracellulaire est synthétisée.
De plus, la néovascularisation du tissu cicatriciel permet l'apport nutritif. [82,87,95]
D'après Nooman (1992), « la mise en tension progressive du tendon pendant cette période faciliterait la formation des liaisons entre les molécules de collagène, augmenterait la section des fibrilles et permettrait une meilleure orientation structurelle des fibres ». [95]

La 3ème phase, de remodelage, fait l'objet d'une diminution de l'activité cellulaire et de la synthèse de collagène. Phénomènes inflammatoires et angiogenèse disparaissent, tandis que le remplacement du collagène de type III par du collagène de type I, une meilleure orientation des fibres et une organisation en faisceaux permettent au tendon de retrouver une résistance mécanique.
Le tissu cicatriciel se rapproche progressivement de sa composition et son état initial.
[82,87,95]

Cependant, le processus naturel de guérison est encore lent, le tendon présentant un caractère hypocellulaire et hypovasculaire. Même après un an, la structure et les fonctions du tissu néoformé ne sont pas totalement retrouvées. [96]

D. Les études pré-cliniques

1. Etudes expérimentales sur l'animal

Kaux et al constatent que les premiers stades de cicatrisation du tendon d'Achille sur des modèles de rats sont stimulés par le PRP : synthèse aigüe de collagène et meilleure résistance à la traction.

En 2012, les essais de McCarell et son équipe sur l'utilisation d'un PRP riche en globules blancs sur des cellules de tendons équins conduisent à une expression plus élevée de cytokines pro-inflammatoires, de médiateurs cataboliques (IL-1β), de TNF-α et à une synthèse en collagène diminuée.

En 2014, Boswell et al s'aperçoivent, sur une culture de tendons équins, qu'une concentration en plaquettes trop élevée réduit le métabolisme du tendon et la synthèse en collagène. [111]

2. Etudes *in vitro*

En 2014, une étude des effets du PRP sur l'activité biologique de fibroblastes humains de la coiffe des rotateurs permet à Wang et son équipe d'observer une plus grande prolifération cellulaire et synthèse de collagène qu'avec du sérum de veau fœtal. Cet essai confirme les progrès rapides de guérison et la meilleure organisation du collagène soulignés par Fernandez-Sarmiento, un an plus tôt. [111]

E. Les études cliniques (*annexe IV*)

La tendinopathie rotulienne a fait l'objet du plus grand nombre d'études ; au contraire de la tendinopathie de la coiffe des rotateurs et de l'aponévrose plantaire superficielle.

Tableau IX: Tableaux récapitulatifs des études cliniques effectuées sur les lésions tendineuses. [110]

Auteur	Niveau de preuve	Zone traitée	Date	N	Type de PRP	Résultats
Randelli	1	Coiffe des rotateurs	2011	53	L-PRP	- (+ à 3 mois puis pas de ≠ à 6, 12, 24mois)
Castricini	1	Coiffe des rotateurs	2011	88	NC	- (pas de ≠ score Constant)
Gumina	1	Coiffe des rotateurs	2012	80	PLM	+ (sur intégrité de la réparation)
Jo	1	Coiffe des rotateurs	2013	48	P-PRP	+ (20% de récidive en moins à 9m, fonction)
Malavolta	1	Coiffe des rotateurs	2014	54	NC	- (pas de ≠ score UCLA, score Constant, EVA)
Peerbooms	1	Epicondyliens lat.	2010	51	L-PRP	+ (douleur, handicap, fonction à 1 an)
Gosens	1	Epicondyliens lat.	2011	100	L-PRP	+ (douleur, handicap)
Krogh	1	Epicondyliens lat.	2013	60	L-PRP	- (à 3m pas de ≠ sur douleur)
Vetrano	1	Tendon patellaire	2013	46	NC	+ (EVA, VISA-P, Blazina à 6 et 12m)
Smith	1	Tendon patellaire	2014	46	NC	+ (douleur, VISA-P à 6m, Blazina à 12m)
Dragoo	1	Tendon patellaire	2014	23	L-PRP	+ (VISA à 12sem)
De Vos	1	Tendon calcanéen	2010	54	NC	- (PRP=sérum phys VISA-A)
Schepull	2	Tendon calcanéen	2011	30	P-PRP	- (mouvement, force, diamètre mollet)
Monto	1	APS	2014	40	P-PRP	+ à 3, 6, 12, 24m (AOFAS)
Kim	2	APS	2014	21	NC	+ (douleur et incapacité à 6m)

1. Tendinopathie de la coiffe des rotateurs

- Haut niveau de preuve scientifique (1)

(-) : L'étude contrôle versus PRP (+ thrombine autologue), au cours de la réparation chirurgicale de la coiffe des rotateurs, de Randelli (2011), n'est pas un argument en faveur du PRP : il réduit la douleur durant les premiers mois postopératoire (3 mois) mais il affecte la réparation de la coiffe à long terme (au-delà de 3 mois). [42]

Kesikburn (2013) compare, chez 40 patients, l'effet d'une injection de PRP ou de liquide physiologique. Après 12 mois, il n'observe aucune différence en terme de douleur, qualité de vie, handicap et amplitude des mouvements de l'épaule. [111]

Malavolta (2014) et al concluent que le PRP (préparé par aphérèse et appliqué sous forme liquide) ne promeut pas de meilleurs résultats cliniques 24 mois après une chirurgie réparatrice. [124]

(+) : Jo (2013) constate une amélioration significative sur le plan structurel et sur la fonction globale de la coiffe des rotateurs un an après une réparation chirurgicale et l'utilisation de PRP (même si c'est la forme gel dans ce cas précis). Selon lui, l'amélioration structurelle peut suggérer une amélioration des résultats cliniques à long terme. [125]

La même année, Rha note une amélioration clinique (douleur et mobilité de l'épaule) chez le groupe PRP par rapport à un groupe témoin ayant reçu deux insertions d'aiguilles sèches. [111]

Le très faible nombre d'études et la contradiction des résultats ne nous permettent pas d'établir une réelle efficacité thérapeutique du PRP sur les lésions de la coiffe des rotateurs, associé ou non à la chirurgie.

2. Epicondylite latérale

- Faible niveau de preuve scientifique (3 et 4)

(+) : Silvestre (2012), au cours d'une étude prospective et Chaudhury (2013), au cours d'une étude longitudinale, observent, à l'échographie, des changements positifs dans la structure du tendon (disparition des fissures et réduction des zones pathologiques) de patients ayant eu recours au PRP. [111]

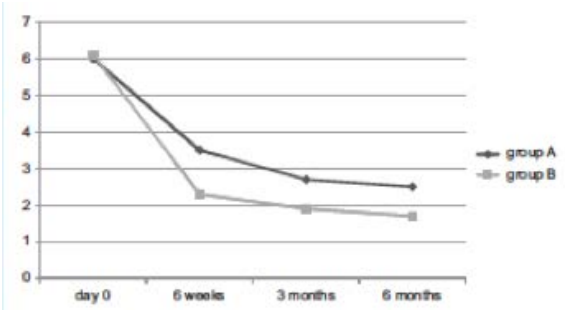
- Niveau 2 de preuve scientifique

(+) : En 2006, lors d'une étude de cohorte, Mishra affirme que le PRP peut être considéré comme traitement avant d'envisager une opération chirurgicale. [126]

- Haut niveau de preuve scientifique (1)

(-) : Omar et son équipe comparent, en 2012, l'effet du PRP et des corticoïdes sur 30 patients durant 6 semaines : les deux thérapies ont apporté des effets bénéfiques sur la douleur mais ne se sont pas distinguées significativement.
Ce que Krogh (2013) confirme en ne constatant aucune différence d'amélioration entres les infiltrations de PRP, corticoïdes ou liquide physiologique. [111]

(+) : L'essai de Thanasas et al permet de comparer l'efficacité du PRP versus du sang autologue chez 28 patients, et de souligner l'efficacité du traitement par PRP afin d'améliorer la douleur chez les patients atteints d'épicondylite latérale. [126]



group	day 0	6 weeks*	3 months	6 months
A	6.0 (5.32-6.68)	3.5 (2.82-4.18)	2.78 (2.28-3.28)	2.53 (1.89-3.17)
B	6.1 (5.43-6.77)	2.35 (1.83-2.87)	1.92 (1.41-2.43)	1.78 (1.14-2.42)

Figure 68: Evolution du score de l'EVA pour les groupes "sang autologue" (A) et "PRP" (B). [126]

Peerbooms (2010) et Gosens (2011) constatent une réduction de la douleur et du handicap, ainsi qu'une augmentation de la fonction de manière significative grâce au PRP. [110,126,127]
Enfin, Mishra et al, en 2014, comparent les effets du PRP et d'anesthésiques locaux sur 230 patients au cours d'une étude contrôlée et randomisée. Ils soulignent des modifications cliniques significativement bénéfiques et supérieures pour le groupe « PRP ». [111]

L'utilisation du PRP sur l'épicondylite latérale semble être favorable, mais davantage d'études (contrôlées, randomisées) sont encore nécessaires.

3. Tendinopathie rotulienne

- Faible niveau de preuve scientifique (3 et 4)

(-) : Déjà énoncées précédemment, les études réalisées par Bowman et Fink démontrent une aggravation de la douleur, un épaississement du tendon et une ostéolyse rotulienne chez un patient après infiltration de PRP. [111]
En 2014, Kaux constate une réaction inflammatoire exubérante chez un diabétique de type 1, dont l'évolution à six mois s'est avérée favorable sous anti-inflammatoires et antalgiques. [111]

(+) : Mais, trois études construites entre 2013 et 2014 redonnent de l'espoir :

- Filardo (2013) observe une évolution positive deux mois après l'infiltration et ce, jusqu'à la fin de la période de suivi (36 mois). 80% des patients ont repris leur activité sportive.
- Charousset (2014) dénote à deux ans, une amélioration des symptômes et de la fonction du tendon, un retour à l'état athlétique antérieur plus rapide et une architecture tendineuse normale à l'IRM.
- enfin, Kaux (2014) étudie, chez 20 patients, l'infiltration de PRP associée à une rééducation progressive excentrique. Il confirme une diminution de la douleur au repos et pendant l'effort excentrique maximal appliqué au quadriceps. [111]

- Haut niveau de preuve scientifique (1)

(+) : En 2013, Vetrano compare l'efficacité du PRP versus les ondes de choc chez 46 patients souffrant de tendinopathie rotulienne. A deux mois, l'évolution des deux groupes est similaire, tandis qu'à 6 et 12 mois, le groupe « PRP » fait état de davantage de progrès. [111]
De même, un an plus tard, Smith réalise la même étude chez 46 patients atteints de tendinopathie patellaire supérieure à 6 mois dont les traitements non chirurgicaux ont échoué. Le groupe « PRP » reçoit deux injections à une semaine d'intervalle ; le groupe « ondes de choc » subit trois traitements à 48/72 heures d'intervalle. Il en résulte une amélioration significativement supérieure sur le plan de la douleur et sur le plan fonctionnel pour le groupe « PRP », et une bonne voire une excellente tolérance du traitement par PRP. [128]

Lors de la comparaison de l'effet d'une infiltration de PRP et de l'introduction d'une aiguille sèche, suivies chacune d'une réadaptation excentrique, Dragoo et al prouvent l'effet bénéfique du PRP sur le temps de cicatrisation : à 12 semaines, le groupe « L-PRP » évolue beaucoup mieux. [111]

L'emploi du PRP semble être favorable, les études de haut niveau de preuve apportant des effets bénéfiques. La thérapie physique excentrique, après l'injection, demeure nécessaire.

4. Tendinopathie d'Achille

- Faible niveau de preuve scientifique (3 et 4)

(+) : L'étude de Murawski et al (2014) dénombre 25 sujets (/32) asymptomatiques à la fin de la période de suivi (6 mois), mais seulement 4 présentent une amélioration à l'imagerie.

Silvestre et al, la même année, comptent 22 patients complètement guéris à un mois, 28 présentant une évolution favorable de l'échostructure du tendon à deux mois et seulement 4 devant subir une opération chirurgicale à 3 mois.
Enfin, Filardo (2014), au cours d'une étude longitudinale de 4 ans, souligne des changements très positifs dans les statuts d'auto-évaluation (douleur, fonction…). [111]

- Niveau 2 de preuve scientifique

(-) : Schepull et son équipe (2011) réalisent un essai sur 30 patients présentant une rupture du tendon d'Achille. Chacun a recours à la chirurgie puis des billes de tantales sont disposées de part et d'autre de la rupture afin d'évaluer l'élasticité du tendon par radiographie. 16 patients reçoivent 10 mL de PRP avant suture de la peau. Aucune différence significative entre les 2 groupes n'est notée. Schepull conclut que le PRP n'est pas utile pour les ruptures du tendon d'Achille. [129]

- Haut niveau de preuve scientifique (1)

(-) : En 2009, De Vos publie une controverse après une étude PRP contre placebo comprenant 54 patients avec une tendinopathie chronique de la partie médiane du tendon d'Achille. A l'aveugle, certains patients reçoivent une injection de PRP, les autres une solution saline. Puis, tous subissent un programme de réhabilitation basé sur le travail excentrique. Il n'en ressort aucun apport positif supplémentaire en terme d'amélioration de la douleur, du niveau d'activité et d'imagerie pour le PRP. [130]

Bien que les essais de faible niveau de preuve incitent à une utilisation du PRP, aucune étude de niveau 1 n'a eu lieu depuis la controverse de De Vos. Ce qui rend la thérapie des tendinopathies d'Achille par PRP encore au stade des espoirs.

5. Lésions de l'aponévrose plantaire superficielle ou fascia plantaire

Le fascia plantaire est une membrane fibreuse épaisse du même type que les tendons, située sous le pied et formant la voûte plantaire. Il est peu vascularisé, constitué de fibres de collagène ondulées et orientées parallèlement. Le mécanisme de lésion et de guérison est similaire aux tendinopathies, voilà pourquoi elle est ciblée par les « pros-PRP ».

- Niveau 2 de preuve scientifique

Kim et Lee (février 2014) mettent en parallèle la thérapie PRP et la thérapie dextrose / lidocaïne. Les deux traitements semblent être efficaces (amélioration significative de la douleur et de l'invalidité) mais le PRP conduit à une meilleure amélioration de la fonction. [131]

- Haut niveau de preuve scientifique (1)

Et, Monto (avril 2014), compare le PRP aux corticostéroïdes (Depomedrol®) et conclut que le PRP est plus efficace et plus durable que la cortisone pour traiter les cas chroniques récalcitrants de fasciite plantaire. [132]

Ainsi, ces deux études ne suffisent pas à elles seules, mais elles offrent l'espoir d'une thérapie nouvelle.

F. Lésions tendineuses susceptibles d'être traitées par PRP

Selon la localisation, les études apportent des résultats différents voire contradictoires. Le type de tendon peut-il modifier la réponse de la guérison ? Serait-ce différent pour certains tendons volumineux (rotulien) par rapport aux autres ?

Toujours dans un but de réduire la durée de l'impotence fonctionnelle et encourager à un retour rapide de l'activité physique, les indications raisonnables du PRP sont :

- les tendinopathies chroniques, rebelles aux traitements conservateurs classiques, qu'elles soient corporelles ou d'insertion (résultats un peu moins favorables). Epicondylite, tendinopathie rotulienne et calcanéenne sont les localisations préférentielles et préférées. Cela évite d'avoir recours à la chirurgie. [103,105,110,111]
- les tendinopathies par conflit où le PRP est obligatoirement associé à la chirurgie (correction chirurgicale des empiétements osseux). En cas de conflit, le PRP seul est contre-indiqué. [103,110]
- en per-opératoire, lorsque la chirurgie devient inéluctable. [110]
- les tendinopathies aigües bien que le PRP n'arrive pas en première intention.

Ainsi, le PRP n'est pas indiqué en cas de de ténosynovites.
Et, il ne permet pas l'inversion des tendinopathies dégénératives, caractérisées par la présence de dépôts lipidiques, l'accumulation de protéoglycanes et la présence de calcifications. [111]

G. Déroulement d'une séance

La séance se déroule selon le même principe qu'énoncé dans la partie «PRP et lésions musculaires », le PRP étant simplement injecté au niveau de la lésion tendineuse.

H. Suivi, traitements d'accompagnement et conseils

Le suivi ainsi que la prise en charge de la douleur post-injection sont identiques pour les lésions musculaires et tendineuses.

Les conséquences post-infiltration sont douloureuses. Une fois la période algique passée (environ 2-3 jours), le patient peut reprendre un programme d'étirement et de travail excentrique afin de mobiliser activement le tendon et de guider la cicatrisation. Il a été démontré que la rééducation excentrique apporte de meilleurs résultats après l'infiltration que le repos absolu ou les techniques classiques. La réhabilitation doit toujours être infra-douloureuse, afin d'éviter l'apparition de nouvelles lésions. [103,105,111,126]

Le repos relatif dure environ 4 à 6 semaines. Une fois le sport ou le travail repris, il faut corriger les erreurs et les contraintes techniques liées à l'activité, et éventuellement protéger le tendon avec une orthèse, diminuant la douleur et les tensions.
Ainsi, les mouvements d'assouplissement dynamiques ou balistiques sont dangereux. [103,105,133]

En terme de prévention, il est crucial que le patient :

- corrige certains facteurs métaboliques comme le diabète, l'hyperuricémie ou l'hypercholéstérolémie
- obtienne l'indolence
- se situe par rapport à la population à risques (équilibre force/souplesse fondamental), auto-surveille chaque semaine son score de Leadbetter
- ait recours aux soins, cryothérapie et AINS locaux
- recherche des améliorations fonctionnelles du tendon via les ondes de choc, les massages transverses et le protocole Stanish afin d'augmenter la résistance à l'étirement du complexe musculo-tendineux et de rétablir le ratio agoniste/antagoniste
- lève ses raideurs et faiblesses
- étudie sa posture, proscrive les équipements nocifs (attention aux conflits os-tendon, tendon-*strapping* ou tendon-chaussures)
- corrige des gestes mal réalisés, arrête les gestes nocifs
- rétablisse, surtout, un calendrier physiologique, la surcharge chronique de pratique étant un facteur étiologique majeur des tendinopathies

Certains médicaments comme les quinolones, les corticoïdes ou les statines compromettent l'efficacité du PRP car ils accélèrent la dégénérescence du tendon et peuvent conduire à sa rupture. De ce fait, le patient doit limiter leur utilisation et, si possible, trouver une alternative comme remplacer les statines par les fibrates (hypolipidémiant, hypocholéstérolémiant, hypotriglycéridémiant), les quinolones par une autre classe d'antibiotiques ou les corticoïdes par d'autres antalgiques ou anti-inflammatoires. [103]

CONCLUSION

Le PRP regroupe l'ensemble des éléments nécessaires à une cicatrisation optimale : plaquettes, cytokines et facteurs de croissance, parfois leucocytes. Sa rapidité de préparation, sa facilité de production, son utilisation aisée, sa faible nature invasive et son coût relativement bon marché sont autant d'arguments en faveur d'une thérapie de choix. Les chances de complications liées à son emploi sont quasi nulles, son caractère autologue lui permet d'éliminer les risques de contamination et d'incompatibilité. Il n'augmente ni la masse musculaire, ni le transport d'O_2, le PRP n'est donc pas un produit dopant. Les bénéfices potentiels pour le patient sont donc très importants, notamment au niveau de structures mal vascularisées, au pouvoir de cicatrisation lent ou au niveau de récidives fréquentes.

Néanmoins, à l'heure actuelle, le PRP ne fait pas l'unanimité. En effet, sa récente découverte et le manque de visibilité à long terme sont un frein. Les protocoles de préparation, de production et d'injection (calendrier, site, fréquence), aussi multiples et variés qu'ils soient, ne permettent pas de faire avancer la recherche. Ce défaut de standardisation perdurera tant que le dosage optimal en plaquettes, leucocytes, cytokines et facteurs de croissance ne sera pas connu. Jusqu'à présent, le manque d'études cliniques ou des études mal conduites, difficilement exploitables et comparables (échantillon réduit, protocoles peu ou mal explicités, technique opérateurs dépendants) n'ont pas permis de solutionner ce problème majeur.

Par conséquent, l'axe principal de travail repose sur la nécessité de standardiser le PRP et les protocoles post-injection. Le processus d'optimisation requiert donc la mise au point d'un cadre réglementaire concernant la formation, les conditions de prélèvements et d'extraction, l'établissement de normes internationales qualitatives et quantitatives et l'utilisation sur les tissus de l'appareil locomoteur.

La normalisation devient donc impérative pour faire avancer le progrès dans ce domaine mais il semble probable que plus de connaissances sont attendues. Pour cela, les équipes scientifiques doivent faire face à deux obstacles : la variabilité (inter et intra-individuelle) et la difficulté à réaliser des études de haut niveau de preuve (financement, recrutement de cohortes importantes). Ainsi, les futures études devront tenir compte des différences dans l'âge, le sexe, les capacités de guérison et les caractéristiques du sang total.

Lésions musculaires récidivantes et lésions tendineuses chroniques sont source de nombreuses interrogations et investigations, notamment dans le monde du sport où performance et convalescence ne font pas bon ménage. Le PRP y trouve toute sa place, et un sentiment d'efficacité règne.

Les recherches sur les traumatismes musculaires ne sont pas nombreuses mais les résultats offrent de réelles perspectives. Quant aux tendinopathies, elles font l'objet d'un attrait plus important, les résultats étant à la fois satisfaisants pour certaines localisations, à la fois controversés pour d'autres. Quoiqu'il en soit, le PRP représente l'attente et l'espoir.

Qu'en sera-t-il dans 20 ans ? L'utilisation du PRP sur les lésions musculo-tendineuses sera-t-elle un MYTHE ou fera-t-elle définitivement partie de notre REALITE ?

BIBLIOGRAPHIE

1- ASSOR M. Platelet Rich Plasma, Plasma Riche en Plaquettes, ou PRP. *Institut du Genou et Pathologies Articulaires Arthrosport.* [en ligne] http://www.cellulesouches.org/plus-dinfos-1-prp.html (page consultée le 18/02/16)

2- CHAROUSSET C. Utilisation du Plasma Riche en Plaquettes (PRP) dans le traitement des lésions tendineuses, musculaires ou articulaires. *Institut Ostéo-Articulaire Paris Courcelles (IOAPC)* [en ligne] http://ioapc.fr/injection-p-r-p/102-utilisation-plasma-riche-plaquettes-traitement-lesions-tendineuses-musculaires-articulaires.html (page consultée le 18/02/16)

3- SILVESTRE A. Médecine régénérative de l'appareil locomoteur. *Institut de Médecine Régénérative de l'Appareil Locomoteur* [en ligne] http://www.prp.arthrose.bx33.fr/#Preparation_du_PRP_.A (page consultée le 18/02/16)

4- LEVY J-P, VARET B, CLAUVEL J-P, LEFRERE F, BEZEAUD A, GUILLIN M-C. Hématologie et transfusion. 2ème édition. Elsevier Masson Ed. 2008, 406 p.

5- PREYNAT-SEAUVE O, KESSELER D. Fiche technique : 29 Sérum ou plasma. *Centre Suisse de Contrôle Qualité (CSCQ)* [en ligne] http://www.cscq.ch/SiteCSCQ/FichierPDF_FR/serum-plasma.pdf (page consultée le 18/02/16)

6- LETARTRE R. Les injections de concentrés plaquettaires. *Institut Régional du Bien être, de le Médecine et du Sport (IRMBS)* [en ligne] http://www.irbms.com/wp-content/uploads/2012/12/letartre-concentres-plaquettaires.pdf (page consultée le 18/02/16)

7- HAFERLACH T, BACHER U, THEML H, DIEM H. Atlas de poche Hématologie. 3ème édition. Lavoisier Ed. 2013, 124 p.

8- KIERSZENBAUM A. Histologie et biologie cellulaire Une introduction à l'anatomie pathologique. 1ère édition. De Boeck Ed. 2006, 638 p.

9- BOSERET J-P. Composition du sang. *BioWeb cours de bio en ligne* [en ligne] http://www.jpboseret.eu/biologie/index.php/le-sang/composition-du-sang (page consultée le 18/02/16)

10- COSSON A, ROUFFY J. SANG - Composition et propriétés. *Encyclopædia Universalis* [en ligne] http://www.universalis.fr/encyclopedie/sang-composition-et-proprietes/ (page consultée le 18/02/16)

11- MERCIER V. Stimulation de la cicatrisation du tissu gingival et du tissu osseux par l'utilisation de concentrés plaquettaires. Thèse pour l'obtention du diplôme d'Etat de Docteur en chirurgie dentaire. Nancy : Université Henri Poincaré Nancy 1. 2011, 171 p.

12- SANCHEZ M. Description du PRP et historique. Conférence sur le PRP, Vittoria, Espagne, décembre 2012. [en ligne] https://www.youtube.com/watch?v=aR71Oi79BAg (page consultée le 18/02/16)

13- DOHAN S, DOHAN A, CHOUKROUN J, DISS A, SIMONPIERI A, GIRARD M-O, DOHAN D. De l'usage des concentrés plaquettaires autologues en application topique. EMC (Elsevier SAS, Paris), Odontologie, 23-330-A-30, 2005

14- Laboratoire BAXTER®. Tisseel colle de fibrine. [en ligne] http://www.baxter.ch/fr/downloads/cercles_medicaux_specialises/biosurgery/fr_tisseel_fibrinkleber_produktbroschuere.pdf (page consultée le 18/02/16)

15- NISAND D. Position de la SFPIO sur le PRF. *Société Française de Parodontologie et d'Implantologie Orale (SFPIO)* [en ligne] http://www.sfparo.org/espace-praticiens-et-membres/les-recommandations-de-la-sfpio/45-position-de-la-sfpio-sur-le-prf.html (page consultée le 18/02/16)

16- STORRS C. Is platelet rich plasma an effective healing therapy ?. *Scientific American* [en ligne] http://www.scientificamerican.com/article/platelet-rich-plasma-therapy-dennis-cardone-sports-medicine-injury/ (page consultée le 18/02/16)

17- VA W. PRP Therapy Available at Wheeling Hospital: Steelers Hines Ward, Troy Polamalu Have Used Treatments. *Wheeling Hospital* [en ligne] https://wheelinghospital.org/about/news/newsdet.aspx?n=274 (page consultée le 18/02/16)

18- Press Release Point®. Platelet Rich Plasma : market snapshot. [en ligne] http://www.pressreleasepoint.com/platelet-rich-plasma-market-snapshot (page consultée le 18/02/16)

19- SCHWARZ A. A Promising Treatment for Ahletes, in Blood. *The New York Times* [en ligne] http://www.nytimes.com/2009/02/17/sports/17blood.html?pagewanted=2&_r=0 (page consultée le 18/02/16)

20- HASSANI T, KESSELER D, DEOM A. Fiche Technique : 25 Centrifugation. *Centre Suisse de Contrôle Qualité (CSCQ)* [en ligne] http://www.cscq.ch/SiteCSCQ/FichierPDF_FR/centrifugation.pdf (page consultée le 18/02/16)

21- MARX RE, CARLSON ER, EICHSTAEDT RM, SCHIMMELE SR, STRAUSS JE, GEORGEFF KR. Platelet Rich Plasma : Growth Factor enhancement for bone grafts. Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology, 1998, 85(6) : 638-646.

22- SONNLEITNER D, HUEMER P, SULLIVAN DY. A simplified technique for producing Platelet Rich Plasma and Platelet concentrate for intraoral bone grafting techniques : a technical note. The International journal of oral & maxillofacial implants, 2000, 15 : 879-882.

23- KAUX J-F, LE GOFF C, SEIDEL L, PETERS P, GOTHOT A, ALBERT A, CRIELAARD J-M. Comparaison de 5 techniques de préparation du PRP. Annales de Réadaptation et de Médecine Physique, 2009.

24- Platextex®. Plateltex®prep Kit for the preparation of concentrated platelet-rich plasma (PRP) [en ligne] http://www.plateltex.com/data/pdf/istruction_sheet_prep_2010.pdf (page consultée le 18/02/16)

25- MAZZUCCO L, BALBO V, CATTANA E, GUASCHINO R, BORZINI P. Not every PRP-gel is born equal Evaluation of growth factor availability for tissues through four PRP-gel preparations: Fibrinet®, RegenPRP-Kit®, Plateltex® and one manual procedure. Vox Sanguinis, The International Journal of Transfusion Medicine, 2009, 97 : 110-118.

26- FDA. 2012 Biological Device Application Approvals. *U.S. Food and Drug Administration* [en ligne] http://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/DevelopmentApprovalProcess/BiologicalApprovalsbyYear/ucm289012.htm (page consultée le 18/02/16)

27- FDA. 2014 Biological Device Application Approvals. *U.S. Food and Drug Administration* [en ligne] http://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/DevelopmentApprovalProcess/BiologicalApprovalsbyYear/ucm385851.htm (page consultée le 18/02/16)

28- LOZADA J-L, CAPLANIS N, PROUSSAEFS P, WILLARDSEN J, KAMMEYER G. Platelet-rich plasma application in sinus graft surgery: Part I--Background and processing techniques, Journal of Oral Implantology, 2001, 27(1) : 38-42.

29- BioMet. Gravitational Platelet Separation System User Manual [en ligne] http://www.cuneyttas.com/Calcibon-GPS_2_protocol.pdf (page consultée le 18/02/16)

30- SUMIDA E, IWASAKI Y, AKIYOSHI K, KASUGAI S. Platelet separation from whole blood in an aqueous two-phase system with water-soluble polymers. Journal of Pharmacological science, 2006, 101(1) : 91-97.

31- Curasan®. ATR-Curasan Set. *Curasan Regenerative Medicine* [en ligne] http://dent2go.net/pdffiles/ATR-brochure_1.pdf (page consultée le 18/02/16)

32- Médical expo. Centrifugeuses pour plasmas riches en plaquettes. Le salon online de l'équipement médical [en ligne] http://www.medicalexpo.fr/ (page consultée le 18/02/16)

33- NAGATA MJ, MESSORA MR, FURLANETO FA, FUCINI SE, BOSCO AF, GARCIA VG, DELIBERADOR TM, DE MELO LG. Effectiveness of two methods for preparation of autologous platelet-rich plasma: an experimental study in rabbits. European Journal of Dentistry, 2010, 4(4) : 395-402.

34- LI H, LI B. PRP as a new approach to prevent infection : preparation and *in vitro* antimicrobial properties of PRP. Journal of visualized experiments, 2013, 74 : 1-7.

35- GUNAYDIN S, McCUSKER K, SARI T, ONUR M, GURPINAR A, SEVIM H. Clinical impact and biomaterial evaluation of autologous platelet gel in cardiac surgery. Perfusion, 2008, 23(3), 179-186.

36- AGHALOO TL, MOY PK, FREYMILLER EG. Investigation of platelet-rich plasma in rabbit cranial defects: A pilot study. Journal of Oral Maxillofacial Surgery, 2002, 60 : 1176-1181.

37- MAN D, PLOSKER H, WINLAND-BROWN JE. The Use of Autologous Platelet-Rich Plasma (Platelet Gel) and Autologous Platelet-Poor Plasma (Fibrin Glue) in Cosmetic Surgery. Plastic & Reconstructive Surgery, 2001, 107(1) : 229-237.

38- FILARDO G, KON E, PEREIRA RUIZ MT, VACCARO F, GUITALDI R, DI MARTINO A, CENACCHI A, FORNASARI PM, MARCACCI M. Platelet-rich plasma intra-articular injections for cartilage degeneration and osteoarthritis: single- versus double-spinning approach. Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy, 2012, 20(10) : 2082-2091.

39- BLANEY DAVIDSON EN, VAN DER KRAAM PM, VAN DER BERG WB. TGF-β and osteoarthritis. Osteoarthritis and Cartilage, 2007, 15(6) : 597-604.

40- CHADUTEAU P. Traitement des lésions tendineuses, musculaires ou articulaires par utilisation du plasma riche en plaquettes. *Association pour la Recherche en Traumatologie et Suivi Sportif (A.R.T.S.S.)* [en ligne] https://www.sportsante-conseil.org/article/prpgeneral/ (page consultée le 22/02/16)

41- MISHRA A, PAVELKO T. Treatment of chronic elbow tendinosis with buffered platelet rich plasma. The American Journal of Sports Medicine, 2006, 34(11) : 1174-1178.

42- RANDELLI P, ARRIGONI P, RAGONE V, ALIPRANDI A, CABITZA P. Platelet rich plasma in arthroscopic rotator cuff repair: a prospective RCT study, 2-year follow-up. Journal of Shoulder and Elbow Surgery, 2011, 20(4) : 518-528.

43- DOHAN EHRENFEST DM, SAMMARTINO G, SHIBLI JA, WANG HL, ZOU DR, BERNARD JP. Guidelines for the publication of articles related to platelet concentrates (Platelet-Rich Plasma - PRP, or Platelet-Rich Fibrin - PRF): the international classification of the POSEIDO. Periodontology, Oral Surgery, Esthetic & Implant Dentistry Open Journal (POSEIDO), 2013, 1(1) : 17-27.

44- DOHAN EHRENFEST DM, ANDIA I, ZUMSTEIN MA, ZHANG CQ, PINTO NR, BIELECKI T. Classification of platelet concentrates (Platelet-Rich Plasma-PRP, Platelet-Rich Fibrin-PRF) for topical and infiltrative use in orthopedic and sports medicine: current consensus, clinical implications and perspectives. Muscle, Ligaments and Tendons Journal, 2014 Jan-Mar, 4(1) : 3-9.

45- MARX RE. Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP? Implant dentistry, 2001, 10(4) : 225-228.

46- MARX RE. Platelet-rich plasma: evidence to support its use. ournal of oral and maxillofacial surgery, 2004 Apr, 62(4) : 489-496.

47- PLATELTEX®. Why Plateltex® ? [en ligne] http://www.plateltex.com/index.php?stid=8 (page consultée le 22/02/16)

48- MAZZUCCO L, BALBO V, CATTANA E, BORZINI P. Platelet-rich plasma and platelet gel preparation using Plateltex. Vox sanguinis, 2008 Apr, 94(3) : 202-208.

49- LEI H, GUI L, XIAO R. The effect of anticoagulants on the quality and biological efficacy of platelet-rich plasma. Clinical biochemistry, 2009 Sept, 42(13-14) : 1452-1460.

50- ROCHCONGAR P. Symposium PRP Introduction Réglementation. *Centre de biologie et médecine du sport de Pau* [en ligne] http://www.medecinesportpau.fr/wp-content/uploads/2012/11/P_ROCHCONGAR-Introduction-reglementation.pdf (page consultée le 22/02/16)

51- PERFORMANCE ORTHOPEDICS. PRP therapeutic injection. [en ligne] http://www.performanceorthopedics.com/patient-education/general-orthopedic/prp-therapeutic-injection/ (page consultée le 22/02/16)

52- BIGARD X, BOUVARD M. Symposium PRP Conclusions Plasmas riches en facteurs de croissance et lésions musculaires ou tendineuses. *Centre de biologie et médecine du sport de Pau* [en ligne] http://www.medecinesportpau.fr/wp-content/uploads/2012/11/M_BOUVARD-Plasmas-riches-en-Facteurs-de-Croissance-et-Lesions-musculaires-ou-tendineuses.pdf (page consultée le 22/02/16)

53- Centre de biologie et médecine du sport de Pau. Evidence based médecine et PRP, une mise au point en 2 parties. *Centre de biologie et médecine du sport de Pau* [en ligne] http://www.medecinesportpau.fr/evidence-based-medecine-et-prp-une-mise-au-point-en-2-parties/ (page consultée le 22/02/16)

54- Agence Mondiale Anti-dopage. Liste des interdictions 2013 Standard international. *Agence Mondiale Anti-dopage (AMA)* [en ligne] https://wada-main-prod.s3.amazonaws.com/resources/files/WADA-Prohibited-List-2013-FR.pdf (page consultée le 22/02/16)

55- Agence Mondiale Anti-dopage. Liste des interdictions 2015 Standard international. *Agence Mondiale Anti-dopage (AMA)* [en ligne] https://wada-main-prod.s3.amazonaws.com/resources/files/wada-2015-prohibited-list-fr.pdf (page consultée le 22/02/16)

56- SCOTT A, KHAN KM, ROBERTS CR, COOK JL, DURONIO V. What do we mean by the term "inflammation"? A contemporary basic science update for sports medicine. British Journal of Sports Medicine, 2004 Jun, 38(3) : 372-380.

57- GUIGOU E. Projet de loi relatif à la bioéthique n°3166. Assemblée Nationale [en ligne] http://www.assemblee-nationale.fr/11/projets/pl3166.asp (page consultée le 22/02/16)

58- LEGIFRANCE. Loi n° 2004-800 du 6 août 2004 relative à la bioéthique. *LEGIFRANCE Le service public de la diffusion du droit* [en ligne] https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000000441469 (page consultée le 22/02/16)

59- ETATS GENERAUX DE LA BIOETHIQUE. Révision de la loi de bioéthique Contribution de l'AFSSAPS [en ligne] http://www.etatsgenerauxdelabioethique.fr/ (page consultée le 22/02/16)

60- SCHWARTZ K. Inflammation et maladies clés de compréhension 2011-2012. *Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM)* [en ligne] http://www.inserm.fr/associations-de-malades/seminaires-de-formation-ketty-schwartz/inflammation-et-maladies-cles-de-comprehension (page consultée le 22/02/16)

61- HAMILTON P-J, HOWARD M-R. Hématologie. Elsevier Ed. 2004, 118 p.

62- MAGALON G, VANWIJJCK R. Guide des plaies : du pansement à la cicatrisation. John LIBBEY EUROTEXT Ed. 2005, 253 p.

63- MEAUME S, TEOT L, DEREURE O. Plaies et cicatrisation. MASSON Ed. 2005, 456 p.

64- SABATIER F. Angiogénèse et vasculogénèse normale. [en ligne] http://master-pathologie-humaine.org/IMG/pdf/cours_M1_angiogenese_Fev_2012.pdf (page consultée le 22/02/16)

65- PEPPER MS. Angiogenèse et morphogenèse de l'arbre vasculaire : de la biologie cellulaire à la clinique. Médecine/sciences, 2000, 16 : 1378-1386.

66- MANN G. Nutrition et cicatrisation. [en ligne] http://www.cicatrisation.info/livre/module_2/mann/nutrition_MANN.pdf (page consultée le 22/02/16)

67- ALLAIN P. Oxygène et réactions radicalaires. *Pharmacorama connaissance des médicaments* [en ligne] http://www.pharmacorama.com/Rubriques/Output/Oxygene_reactions_radicalaires.php (page consultée le 22/02/16)

68- CARUELLE J-P, CASSIER P, HOUDRY J. La régénération. BELIN Ed. 2000, 224 p.

69- LONGO UG, LOPPINI M, BERTON A, SPIEZIA F, MAFFULLI N, DENARO V. Tissue Engineered Strategies for Skeletal Muscle Injury. Stem Cells International, 2012, 9 p.

70- AMABLE PR, CARIAS RBV, TEIXEIRA MVT, DA CRUZ PACHECO I, CORREA DO AMARAL RJF, GRANJEIRO JM, BOROJEVIC R. Platelet-rich plasma preparation for regenerative medicine: optimization and quantification of cytokines and growth factors. Stem Cells Research & Therapy, 2013, 4(3) : 67.

71- SEMPLE J. Les plaquettes sont des cellules immunitaires ! *Société canadienne du sang* [en ligne] http://www.transfusionmedicine.ca/sites/transfusionmedicine/files/articles/CBSResearchUnit9_Sept2013FR.pdf (page consultée le 22/02/16)

72- KARPATKIN S, PEARLSTEIN E. Role of Platelets in Tumor Cell Metastases. Annals of Internal Medicine, 1981 Nov, 95(5) : 636-641.

73- BLAIR P, FLAUMENHAFT R. Platelet alpha-granules: basic biology and clinical correlates. Blood reviews, 2009 Jul, 23(4) : 177-189.

74- BENSALAH M, ARSLAN O, HILLY J, MICHELET D, BONNARD A, NIVOCHE Y, DAHMANI S. Analyse des facteurs de l'hémostase associés à la survenue de saignement postopératoire suite à la chirurgie de l'hernie inguinale chez le nourrisson. Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation, 2014 Sept, 33(2) : A57.

75- DAVID T. Cartographie fonctionnelle des domaines intracellulaires du complexe plaquettaire GPIb-V-IX et identification d'un nouveau partenaire cytoplasmique. Thèse de doctorat. Strasbourg : Université Louis Pasteur Strasbourg. 2006, 233 p.

76- ALLAIN P. Traversée des membranes. *Pharmacorama connaissance des médicaments* [en ligne] http://www.pharmacorama.com/Rubriques/Output/Pharmacocinetiquea4.php (page consultée le 23/02/16)

77- REED GL, FITZGERALD ML, POLGAR J. Molecular mechanisms of platelet exocytosis: insights into the "secrete" life of thrombocytes, Blood journal 2000 Nov, 96(10) : 3334-3342.

78- HE L, LIN Y, HU X, ZHANG Y, WU H. A comparative study of platelet-rich fibrin (PRF) and platelet-rich plasma (PRP) on the effect of proliferation and differentiation of rat osteoblasts in vitro. Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics, 2009 Nov, 108(5) : 707-713.

79- WOJTYS EM. The PRP question. Sports health, 2012 Mar, 4(2) : 99-100.

80- LOWE J, STEVENS A. Histologie humaine. 3ème édition. Elsevier Masson Ed. 2006, 459 p.

81- GRABOWSKI, TORTORA. Principes d'anatomie et de physiologie. 3ème édition française. DE BOECK Ed. 2001.

82- ROCHCONGAR P, RIVIERE D, MONOD H, AMORETTI R, RODINEAU J. Médecine du sport pour le praticien. 5ème édition. Elsevier Masson Ed. 2013, 592 p.

83- CHANUSSOT J-C, DANOWSKI R-G. Traumatologie du sport. 8ème édition. Elsevier Masson Ed. 2012, 592 p.

84- SELIN V. Introduction à la traumatologie du sport [en ligne] https://www.yumpu.com/fr/document/view/16535847/introduction-a-la-traumatologie-du-sport-dejepspdf (page consultée le 23/02/16)

85- SIMON A. Traumatologie et sport. Revue EP&S. 1990 Sept-Oct, n°225.

86- Agence Française de Lutte contre le Dopage. Demande d'autorisation à des fins thérapeutiques : tendinopathies. *AFLD* [en ligne] https://www.afld.fr/sites/default/files/webfm/doc_user/images/pdf/pfmedical/05%20guide_de_bonnes_pratiques_-_tendinopathies.pdf (page consultée le 23/02/16)

87- BARD H. Le tendon, anatomie, éthiopathologie, classification. *DIU Pathologie locomotrice liée à la pratique du sport* [en ligne] http://perso.numericable.fr/bensimonj/PolyParis/10Bard.pdf (page consultée le 23/02/16)

88- Petit Larousse de la médecine. Edition 2007. Larousse Ed. 2007, 1151 p.

89- PARKER S. Le grand Larousse du corps humain. Larousse Ed. 2008, 255 p.

90- KÜHNEL W. Atlas de poche d'histologie. 9ème édition française. Médecine/sciences Flammarion Ed. 1995, 523 p.

91- EPOCRATES. Tendinopathy. EPOCRATES An AthenaHealth Company [en ligne] https://online.epocrates.com/diseases/58211/Tendinopathy/Key-Highlights (page consultée le 23/02/16)

92- RIGOZZI S. Structure and function in tendon: experimental studies on the ultrastructural determinants of tendon biomechanical function. ETH de ZURICH : thèse pour l'obtention du diplôme de Docteur en Sciences. 2011 Apr, 138 p.

93- OGC NICE. Epidémiologie des lésions tendineuses du membre inferieur chez le footballeur professionnel. *OGC Nice club de football professionnel* [en ligne] http://www.yelopoint.com/im2s/IFPW5/07.pdf (page consultée le 23/02/16)

94- KANNUS P. Structure of the tendon connective tissue. Scandinavian journal of medicine & science in sports, 2010 Dec, 10(6) : 312-320.

95- BOUFFIER C. Prise en charge globale et adaptée de patients atteints de tendinopathies achilléennes : Suivi d'une série de 11 cas. *Institut Régional de Formation aux Métiers de la Rééducation et Réadaptation des Pays de la Loire* [en ligne] http://kinedoc.org/Kinedoc-war/KinedocDownloadDocument.do?nomFichierUser=Nantes-2012-BOUFFIER-Divers.pdf&uri=c4cbfd29-d25f-49a0-8d5d-0638e91c23fb.pdf (page consultée le 23/02/16)

96- YANG G, ROTHRAUFF BB, TUAN RS. Tendon and Ligament Regeneration and Repair: Clinical Relevance and Developmental Paradigm. Birth defects research. Part C, Embryo today : reviews, 2013 Sept, 99(3) : 203-222.

97- GIANNINI S, CIELO A, BONANOME L, RASTELLI C, DERLA C, CORPACI F, FALISI G. Comparison between PRP, PRGF and PRF: lights and shadows in three similar but different protocols. European review for Medical and Pharmacological Sciences, 2015, 19(6) : 927-930.

98- CUGAT R, ZARINS B, GARCIA-BALLETBO M. Platelet-Rich Plasma (PRP) – Potential Orthopaedic Applications of Autologous Preparations Rich in Growth Factors (PRGF). *OrthoHealing* [en ligne] http://www.orthohealing.com/pdf/V11_om_15.pdf (page consultée le 23/02/16)

99- LIZUNO S, NAKAMURA T. The discovery of hepatocyte growth factor (HGF) and its significance for cell biology, life sciences and clinical medicine. Proceedings of the Japan Academy. Series B, Physical and biological sciences, 2010 Jun, 86(6) :588-610.

100- MIDDLETON KK, BARRO V, FU FH, MULLER B, TERADA S. Evaluation of the effects of platelet-rich plasma (PRP) therapy involved in the healing of sports-related soft tissue injuries. The Iowa orthopaedic journal, 2012, 32 : 150-163.

101- ZANG J, MIDDLETON KK, WANG J, FU FH, IM HJ. HGF mediates the anti-inflammatory effects of PRP on injured tendons. Public Library of Science one, 2013, 8(6) : e67303.

102- LYRAS DN, KAZAKOS K, VERETTAS D, POLYCHRONIDIS A, TRYFONIDIS M, BOTAITIS S, AGROGIANNIS G, SIMOPOULOS C, KOKKA A, PATSOURIS E. The influence of Platelet-Rich Plasma on angiogenesis during the early phase of tendon healing. Foot & Ankle International, 2009 Nov, 30(11) : 1101-1106.

103- KAUX J-F, BOUVARD M, LECUT C, OURY C, GOTHOT A, SANCHEZ M, CRIELAARD J-M. Reflections about the optimisation of the treatment of tendinopathies with PRP. Muscle, Ligaments and Tendons Journal, 2015 Jan-Mar, 5(1) : 1-4.

104- KAUX J-F, DRION P, LE GOFF C, CRIELAARD J-M, SANCHEZ M. Données scientifiques actuelles concernant le traitement par injection de concentré plaquettaire [en ligne] http://hdl.handle.net/2268/64422 (page consultée le 23/02/16)

105- KAUX J-F, CRIELAARD J-M, DEGRAVE N. Platelet rich plasma: traitement des tendinopathies chroniques ? Revue de la littérature. Journal de Traumatologie du Sport, 2007, 24 : 99–102.

106- Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé. Glossaire relatif aux essais cliniques. *ANSM* [en ligne] http://ansm.sante.fr/Activites/Essais-cliniques/Repertoires-des-essais-cliniques-de-medicaments/A-propos-du-repertoire-des-essais-cliniques-de-medicaments/Glossaire-relatif-aux-essais-cliniques (page consultée le 23/02/16)

107- CHAMONTIN B. Niveau de preuve. *Faculté de médecine TOULOUSE* [en ligne] http://www.medecine.ups-tlse.fr/dcem4/module11/chamontin/2010_2011/169/NIVEAU%20DE%20PREUVES%20DIAPORAMA%20B%20CHAMONTIN.ppt (page consultée le 23/02/16)

108- GALINSKI M, CIMERMAN P. Recherche clinique – Quel type d'étude ? *Centre National de Ressources de lutte contre la Douleur (CNRD)* [en ligne] http://www.cnrd.fr/IMG/pdf/Galinski.pdf (page consultée le 23/02/16)

109- Haute Autorité de Santé. Etats des lieux Niveau de preuve et gradation des recommandations de bonne pratique. *HAS* [en ligne] http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2013-06/etat_des_lieux_niveau_preuve_gradation.pdf (page consultée le 23/02/16)

110- EICHENE B. Traitement par PRP 2ème partie : lésions tendineuses. Journal de Traumatologie du Sport, 2014 Dec, 31(4) : 228-234.

111- KAUX J-F, CRIELAARD J-M, DRION P, CROISIER J-L. Tendinopathies and platelet-rich plasma (PRP): from pre-clinical experiments to therapeutic use. Journal of Stem Cells and Regenerative Medicine, 2015 May, 11(1) : 7-17.

112- PRPInjections. Platelet Rich Plasma (PRP) Injections : Safety. *Platelet Rich Plasma Injections The information resource website for PRP in Australia* [en ligne] http://www.prpinjection.com.au/safety.html (page consultée le 23/02/16)

113- JAADOUNI S, BOUVARD M. Traumatic muscle injury PRP or not PRP in 2014 ? Current state of knowledge. *Centre de Biologie et Médecine du Sport de Pau* [en ligne] http://www.medecinesportpau.fr/wp-content/uploads/2014/05/ESSKA2014.pdf (page consultée le 23/02/16)

114- JAADOUNI S, BOUVARD M. Usage des plasmas riche en plaquettes sur les lésions musculaires traumatiques Etat actuel des connaissances. *Centre de Biologie et Médecine du Sport de Pau* [en ligne] http://www.medecinesportpau.fr/wp-content/uploads/2012/11/M_BOUVARD-Usage-des-plasmas-riche-en-plaquettes.pdf (page consultée le 23/02/16)

115- WETZEL RJ, PATEL RM, TERRY MA. Platelet-Rich Plasma as an effective treatment for proximal hamstring injuries. Orthopedics, 2013, 36(1) : e64-70.

116- JAADOUNI S, BOUVARD M, LIPPA A, BONNEFOY C. Apport des plasmas enrichis en plaquettes dans le traitement des lésions musculaires traumatiques – Étude pilote à propos de 50 cas. Journal de Traumatologie du Sport, 2014 Mar, 31(1) : 3-11.

117- BERNUZZI G, PETRAGLIA F, PEDRINI MF, DE FILIPPO M, POGLIACOMI F, VERDANO MA, COSTANTINO C. Use of platelet-rich plasma in the care of sports injuries: our experience with ultrasound-guided injection. Blood Transfusion, 2014 Jan, 12(1) : 229-234.

118- GUILLODO Y. PRP dans la lésion musculaire aigüe du sportif : expérience française, résultats enquête nationale 2012. *Centre de Biologie et Médecine du Sport de Pau* [en ligne] http://www.medecinesportpau.fr/wp-content/uploads/2012/11/Y_GUILLODO-PRP-dans-la-lesion-musculaire-aigue-du-sportif-experience-fran%C3%A7aise-resultats-enquete-nationale-2012.pdf (page consultée le 23/02/16)

119- HAMID M, ALI M, YUSOF A, GEORGE J. Platelet-rich plasma (PRP): an adjuvant to hasten hamstring muscle recovery. A randomized controlled trial protocol. BMC Musculoskeletal Disorders, 2012, 13, 138 pp.

120- BUBNOV R, YEVSEENKO V, SEMENIV I. Ultrasound guided injections of platelets rich plasma for muscle injury in professional athletes. Comparative study. Medical Ultrasonography Journal, 2013 Jun, 15(2) : 101-105.

121- EICHENE B. Traitement par PRP 1ère partie : les lésions cartilagineuses et musculaires. Journal de Traumatologie du Sport, 2014 Jun, 31(2) : 113-120.

122- GUGLIELMETTI Y. PRP - concentrés plaquettaires Informations et déroulement de la séance. *ChirurgieduSport.com* [en ligne] http://www.chirurgiedusport.com/Traitements-AUTRES-PRP-PRP___concentres_plaquettaires_Informations_sur_le_deroulement_de_la_seance-f-4-c-2338-sc-108-a-760189.html (page consultée le 23/02/16)

123- BOUVARD M, SAILLY M. Information avant un traitement par plasma riche en facteurs de croissance (PRP ou PRGF). *Centre de Biologie et Médecine du Sport de Pau* [en ligne] http://www.medecinesportpau.fr/wp-content/uploads/2010/09/PRP-PRGF-info-patients-2-CBMS-Pau.pdf (page consultée le 23/02/16)

124- MALAVOLTA EA, GRACITELLI ME, FERREIRA NETO AA, ASSUNCAO JH, BORDALO-RODRIGUEZ M, DE CAMARGO OP. Platelet-Rich Plasma in rotator cuff repair : a prospective randomized study. The American Journal of Sports Medicine, 2014 Oct, 42(10) : 2446-2454.

125- JO CH, SHIN JS, LEE YG, SHIN WH, KIM H, LEE SY, YOON KS, SHIN S. Platelet-Rich Plasma for arthroscopic repair of large to massive rotator cuff tears : a randomized, single-blind, parallel-group trial. The American Journal of Sports Medicine, 2013 Oct, 41(10) : 2040-2048.

126- KAUX J-F. Tendons et PRP [en ligne] http://hdl.handle.net/2268/129520 (page consultée le 23/02/16)

127- GOSENS T, PEERBOOMS JC, VAN LAAR W, DEN OUDSTEN BL. Ongoing positive effect of Platelet-Rich Plasma versus corticosteroid injection in lateral epicondylitis. A double-blind randomized controlled trial with 2-year follow-up. The American Journal of Sports Medicine, 2011 Jun, 39(6) : 1200-1208.

128- SMITH J, SELLAR JL. Comparing PRP injections with ESWT for athletes with chronic patellar tendinopathy. Clinical journal of sport medicine : official journal of the Canadian Academy of Sport Medicine, 2014 Jan, 24(1) : 88-89.

129- SCHEPULL T, KVIST J, NORRMAN H, TRINKS M, BERLIN G, ASPENBERG P. Autologous platelets have no effect on the healing of human achilles tendon ruptures : a randomized single-blind study. 2011, The American Journal of Sports
Medicine, 2011 Jan, 39(1) : 38-47.

130- DE VOS RJ, WEIR A, VAN SCHIE HT, BIERMA-ZEINSTRA SM, VERHAAR JA, WEINANS H, TOL JL. Platelet-rich plasma injection for chronic Achilles tendinopathy: a randomized controlled trial. Journal of the American Medical Association (JAMA), 2010, 303(2) : 144-149.

131- KIM E, LEE JH. Autologous platelet-rich plasma versus dextrose prolotherapy for the treatment of chronic recalcitrant plantar fasciitis. PM & R : the journal of injury, function, and rehabilitation, 2014 Feb, 6(2) : 152-158.

132- MONTO RR. Platelet-rich plasma efficacy versus corticosteroid injection treatment for chronic severe plantar fasciitis. Foot & ankle international, 2014 Apr, 35(4) : 313-318.

133- BOUVARD M, DURAFFOUR H, BENEZIS I, LIPPA A, BONNEFOY O, LENOIR T. Prise en charge actuelle des tendinopathies d'Achille en 2015. *Centre de Biologie et Médecine du Sport de Pau* [en ligne] http://www.medecinesportpau.fr/wp-content/uploads/2015/03/achille2015.pdf (page consultée le 23/02/16)

134- KESSELER D, RIEDER A. Fiche technique Numération cellulaire sur l'hématimètre de Neubauer. *Centre Suisse de Contrôle de Qualité* [en ligne] http://www.cscq.ch/SiteCSCQ/FichierPDF_FR/neubauer.pdf (page consultée le 23/02/16)

135- Belgium Medical Product®. Matériel médical et hospitalier [en ligne] http://www.belgiummedicalproduct.be/BELGIQUE/Bel_A.html (page consultée le 23/02/16)

136- VASSE M. Pathologies de l'hémostase primaire. *Université de Rouen* [en ligne] http://medecine-pharmacie.univ-rouen.fr/servlet/com.univ.collaboratif.utils.LectureFichiergw?ID_FICHIER=9600 (page consultée le 23/02/16)

137- Haemostasis group in Linköping. Figur 1 Platelets [en ligne] http://platelets.se/platelets/attachment/figur-1-platelets/ (page consultée le 23/02/2016)

138- HASHIM S. Coagulation cascade [en ligne] http://drhashim.com/consent-forms/miscellaneous-for-dentists/coagulation-cascade/ (page consultée le 23/02/16)

139- Corpshumain.ca. Les muscles [en ligne] http://corpshumain.ca/les_muscles.php (page consultée le 23/02/16)

140- Le suivi du sportif. Focus sur la « tendinite » [en ligne] http://lesuividusportif.com/savoir-et-comprendre/focus-sur-la-tendinite/ (page consultée le 23/02/16)

141- Université de Reims. Généralites tendinopathies cadre nosologique [en ligne] http://www.univ-reims.fr/gallery_files/site/1/90/1129/1384/13621/13660.pdf (page consultée le 23/02/16)

142- BD Becton, Dickinson and Company. Veines du bras [en ligne] http://www.bd.com (page consultée le 23/02/16)

TABLE DES FIGURES

FIGURE 1: OBSERVATION D'UN MEGACARYOCYTE EN MICROSCOPIE 10
FIGURE 2: OBSERVATION D'UNE PLAQUETTE EN MICROSCOPIE 10
FIGURE 3: STRUCTURE D'UNE PLAQUETTE 10
FIGURE 4: LA THROMBOPOIESE 11
FIGURE 5: CHAMBRE DE COMPTAGE POUR NUMERATION PLAQUETTAIRE 11
FIGURE 6: PREMIERES DECOUVERTES DE FACTEUR DE CROISSANCE PAR LEVI-MONTALCINI (NGF) ET COHEN (EGF) 13
FIGURE 7: PRINCIPE DE LA COLLE DE FIBRINE TISSEEL DU LABORATOIRE BAXTER® 14
FIGURE 8: SEPARATION DES CONSTITUANTS DU SANG SELON LEUR TAILLE ET LEUR MASSE 16
FIGURE 9: FORMULE DE CALCUL DE LA FORCE CENTRIFUGE RELATIVE 16
FIGURE 10: NORMOGRAMME PERMETTANT LE CALCUL DE LA FORCE CENTRIFUGE RELATIVE 16
FIGURE 11: OBTENTION DU PRP SELON LA TECHNIQUE DITE D'APHERESE 17
FIGURE 12: OBTENTION DU PRP VIA UNE DOUBLE CENTRIFUGATION 18
FIGURE 13: COMPARAISON DE CINQ TECHNIQUES DE PREPARATION DU PRP 19
FIGURE 14: DOUBLE CHAMBRE DE CENTRIFUGATION DU PROTOCOLE SMARTPREP® 20
FIGURE 15: AUTOMATISATION APPORTEE PAR LE SYSTEME SMARTPREP® 21
FIGURE 16: PREPARATION A LA CENTRIFUGATION ET OBTENTION DE TROIS COUCHES DISTINCTES 21
FIGURE 17: ASPIRATION DU PPP (A) PUIS RECUEILLEMENT DU MELANGE PRP-HEMATIES (B) 22
FIGURE 18: OBTENTION DU PRP ET DE LA THROMBINE 22
FIGURE 19: SERINGUE DOUBLE MELANGE 22
FIGURE 20: CENTRIFUGEUSES SPECTRAFUGE 6C® (GAUCHE) ET PLASMAPREP® 23
FIGURE 21: PROTOCOLE SANS CENTRIFUGATION ATR DU LABORATOIRE CURASAN® 23
FIGURE 22: COMPARAISON DE LA CONCENTRATION EN PLAQUETTES OBTENUE APRES SIMPLE OU DOUBLE CENTRIFUGATION 24
FIGURE 23: OBSERVATION DES PLAQUETTES EN MICROSCOPIE APRES SIMPLE CENTRIFUGATION (GAUCHE) ET DOUBLE CENTRIFUGATION 24
FIGURE 24: PREPARATION DU PRGF 27
FIGURE 25: FORME GEL OBTENUE APRES ACTIVATION 30
FIGURE 26: VEINES DU BRAS ET PRELEVEMENT SANGUIN 32
FIGURE 27: LES PHASES DE LA CICATRISATION ET LEURS PRINCIPAUX ACTEURS 39
FIGURE 28: LES ETAPES DE L'HEMOSTASE 40
FIGURE 29: PHASE D'ADHESION DES PLAQUETTES A LA MATRICE SOUS-ENDOTHELIALE VIA LEURS RECEPTEURS MEMBRANAIRES GP IB/IX (ROSE) ET GP IA/IIA (BLEU) 40
FIGURE 30: PHASES D'ACTIVATION, DE SECRETION ET RECRUTEMENT, D'AGREGATION 41
FIGURE 31: ORGANISATION STRUCTURELLE D'UN VAISSEAU SANGUIN 41
FIGURE 32: LA COAGULATION PLASMATIQUE 43
FIGURE 33: LA FIBRINOLYSE 44
FIGURE 34: L'ANGIOGENESE 46
FIGURE 35: L'*ANGIOGENIC SWITCH* 47
FIGURE 36: LA COMMUNICATION INTERCELLULAIRE ET SA TRES GRANDE COMPLEXITE 53
FIGURE 37: COUPE LONGITUDINALE (A) ET OBSERVATION AU MICROSCOPE ELECTRONIQUE A TRANSMISSION D'UNE PLAQUETTE AU REPOS (B) 59
FIGURE 38: CHANGEMENT DE FORME DES PLAQUETTES APRES LEUR ACTIVATION : FORMATION DE FILOPODES (A) OU DE LAMELLIPODES PUIS ETALEMENT (B) 60
FIGURE 39: REPRESENTATION SCHEMATIQUE D'UN FILAMENT DE MICROTUBULE 61
FIGURE 40: REPRESENTATION SCHEMATIQUE DU CYTOSQUELETTE SOUS-MEMBRANAIRE DE LA PLAQUETTE 61
FIGURE 41: REMANIEMENT DU CYTOSQUELETTE D'ACTINE APRES ACTIVATION DE LA PLAQUETTE 62

FIGURE 42: OPTIMISATION DU PROCESSUS D'OCCLUSION GRACE AU CHANGEMENT DE FORME DES PLAQUETTES 63
FIGURE 43: CASCADE DE REACTIONS FAISANT SUITE A L'ACTIVATION DES PLAQUETTES ET CONDUISANT A UNE AUGMENTATION DU CALCIUM CYTOSOLIQUE 64
FIGURE 44: IMPLICATION DES PROTEINES SNARES DANS LE MECANISME D'EXOCYTOSE DES PLAQUETTES 64
FIGURE 45: DOSAGE DE SIX FACTEURS DE CROISSANCE 67
FIGURE 46: DOSAGE DE TROIS CYTOKINES ANTI-INFLAMMATOIRES 67
FIGURE 47: DOSAGE DE TROIS CYTOKINES PRO-INFLAMMATOIRES 67
FIGURE 48: CONCENTRATION EN HGF DANS LE SANG DU LAPIN BLESSE (WB) ET DANS LE PRP ISSU DE CE SANG 68
FIGURE 49: EFFETS DU TRAITEMENT PAR PRP (A) ET HGF (B) SUR L'EXPRESSION DES GENES DE COX-1 ET COX-2 DES CELLULES TENDINEUSES EN CULTURE 69
FIGURE 50: EFFETS DU TRAITEMENT PAR PRP (A) ET HGF (B) SUR LA PRODUCTION DE PGE2 PAR LES CELLULES TENDINEUSES EN CULTURE 69
FIGURE 51: NUMERATION PLAQUETTAIRE DANS LE SANG DE LA SOURIS BLESSEE (WB), LE PRP ET LE PPP ISSUS DE CE SANG 70
FIGURE 52: EFFETS DU PRP, DU PPP, D' HGF ET DES ANTICORPS ANTI-HGF SUR LA PRODUCTION DE PGE2 AU NIVEAU D'UN TENDON D'ACHILLE DE SOURIS LESE 70
FIGURE 53: EVALUATION DE LA PROLIFERATION CELLULAIRE DURANT 24 HEURES SUR UNE CULTURE TEMOIN (GAUCHE) ET UNE CULTURE EN PRESENCE DE PRP 71
FIGURE 54: EVALUATION DE LA MIGRATION CELLULAIRE DURANT 24 HEURES SUR UNE CULTURE TEMOIN (GAUCHE) ET UNE CULTURE EN PRESENCE DE PRP 71
FIGURE 55: ORGANISATION DU MUSCLE STRIE SQUELETTIQUE 74
FIGURE 56: COUPE LONGITUDINALE ET COUPE TRANSVERSALE DE CELLULES MUSCULAIRES STRIEES SQUELETTIQUES. LES NOYAUX SONT MULTIPLES ET REJETES EN PERIPHERIE. 75
FIGURE 57: ULTRASTRUCTURE D'UNE MYOFIBRILLE 75
FIGURE 58: ILLUSTRATION DES LESIONS MUSCULAIRES D'ORIGINE INTRINSEQUE 77
FIGURE 59: QUANTIFICATION DE LA DOULEUR VIA L'EVA DURANT LES SIX SESSIONS D'EVALUATION. 81
FIGURE 60: EVOLUTION DE LA FONCTION MUSCULAIRE DES GROUPES A (GAUCHE) ET B DURANT LES SIX SESSIONS D'EVALUATION 82
FIGURE 61: LE TENDON 85
FIGURE 62: STRUCTURE DU TENDON 86
FIGURE 63: JONCTION MYOTENDINEUSE 86
FIGURE 64: COUPE LONGITUDINALE D'UN TENDON D'ACHILLE ET OBSERVATION DU FAISCEAU DE FIBRES DE COLLAGENE 87
FIGURE 65: COURBE TENSION-DEFORMATION: ILLUSTRATION DES LESIONS TENDINEUSES ASSOCIEES A DES ELONGATIONS REPETEES MENANT A DES MICROTRAUMATISMES POUR LES FIBRES 88
FIGURE 66: DIFFERENTS TYPE DE LESIONS TENDINEUSES 90
FIGURE 67: PROTOCOLE DE STANISH, RENFORCEMENT MUSCULAIRE EXCENTRIQUE 90
FIGURE 68: EVOLUTION DU SCORE DE L'EVA POUR LES GROUPES SANG AUTOLOGUE (A) ET PRP 94

TABLE DES TABLEAUX

TABLEAU I : VALEURS NORMALES DE LA CONCENTRATION EN PLAQUETTES (10^9/L) DANS LE SANG.....12
TABLEAU II: INFORMATIONS TECHNIQUES DE DIFFERENTS SYSTEMES DE PREPARATION (DOUBLE CENTRIFUGATION) DU PRP.....20
TABLEAU III: QUELQUES PROTOCOLES APPROUVES PAR LA FDA.....25
TABLEAU IV: RECOMMANDATIONS QUANT A LA BONNE UTILISATION DES AIGUILLES POUR LE PRELEVEMENT SANGUIN.....32
TABLEAU V: EFFETS DES DIFFERENTS FACTEURS DE CROISSANCE SUR LES CELLULES.....57
TABLEAU VI: LES RECEPTEURS COUPLES AUX PROTEINES G ET LEURS LIGANDS IMPLIQUES DANS L'ACTIVATION/INHIBITION DES FONCTIONS PLAQUETTAIRES.....60
TABLEAU VII: TABLEAU RECAPITULATIF DES ETUDES CLINIQUES EFFECTUEES SUR LES LESIONS MUSCULAIRES.....80
TABLEAU VIII: ETIOLOGIE, LES FACTEURS INTRINSEQUES ET EXTRINSEQUES A L'ORIGINE DE TENDINOPATHIE.....88
TABLEAU IX: TABLEAUX RECAPITULATIFS DES ETUDES CLINIQUES EFFECTUEES SUR LES LESIONS TENDINEUSES.....93
TABLEAU X: GRADE DES RECOMMANDATIONS.....119

ANNEXE I : Kit Plateltex®prep [24, 25]

Plateltex®prep doit être exclusivement utilisé par un personnel médical formé, sous la surveillance et la responsabilité du médecin. En aucun cas, l'utilisation de ce kit ne peut être autorisée à des fins d'automédication. Les produits biologiques préparés doivent être employés dans le but d'une approche thérapeutique complète et précise.

Description du contenu : le kit comprend trois emballages stériles :
N°1 : 1 aiguille 21G à ailettes + 6 tubes de 8,5 mL ACD (Citrate-Dextrose-Adénosine acide) à bouchon jaune
N°2 : 1 seringue *luer-lock* de 20 mL avec aiguille en plastique + 2 tubes vides de 15 mL à bouchon bleu
N°3 : 1 seringue *luer-lock* de 20 mL avec aiguille en plastique + 1 seringue *luer-lock* de 10 mL avec aiguille en plastique + 2 bouchons *luer-lock*.

Le protocole se déroule en 4 étapes :

Etape 1 :
Vérifier les antécédents médicaux afin de s'assurer que le patient n'est pas sous traitement anticoagulant.
Préparer le patient à la prise de sang.
Ouvrir l'emballage n°1.
Utiliser le contenu de l'emballage n°1 pour effectuer la prise de sang du patient, selon les protocoles de soins infirmiers (chacun des tubes sera fixé au système de collecte une fois l'aiguille insérée dans une veine du patient).
Remplir les 6 tubes de sang du patient, pour une collecte totale d'environ 50 mL.
Placer les tubes dans une centrifugeuse de manière à équilibrer le système.
Exécuter la 1ère centrifugation : 160 à 180g pendant 10 minutes (selon le type de centrifugeuse : rotor angulaire ou basculant)

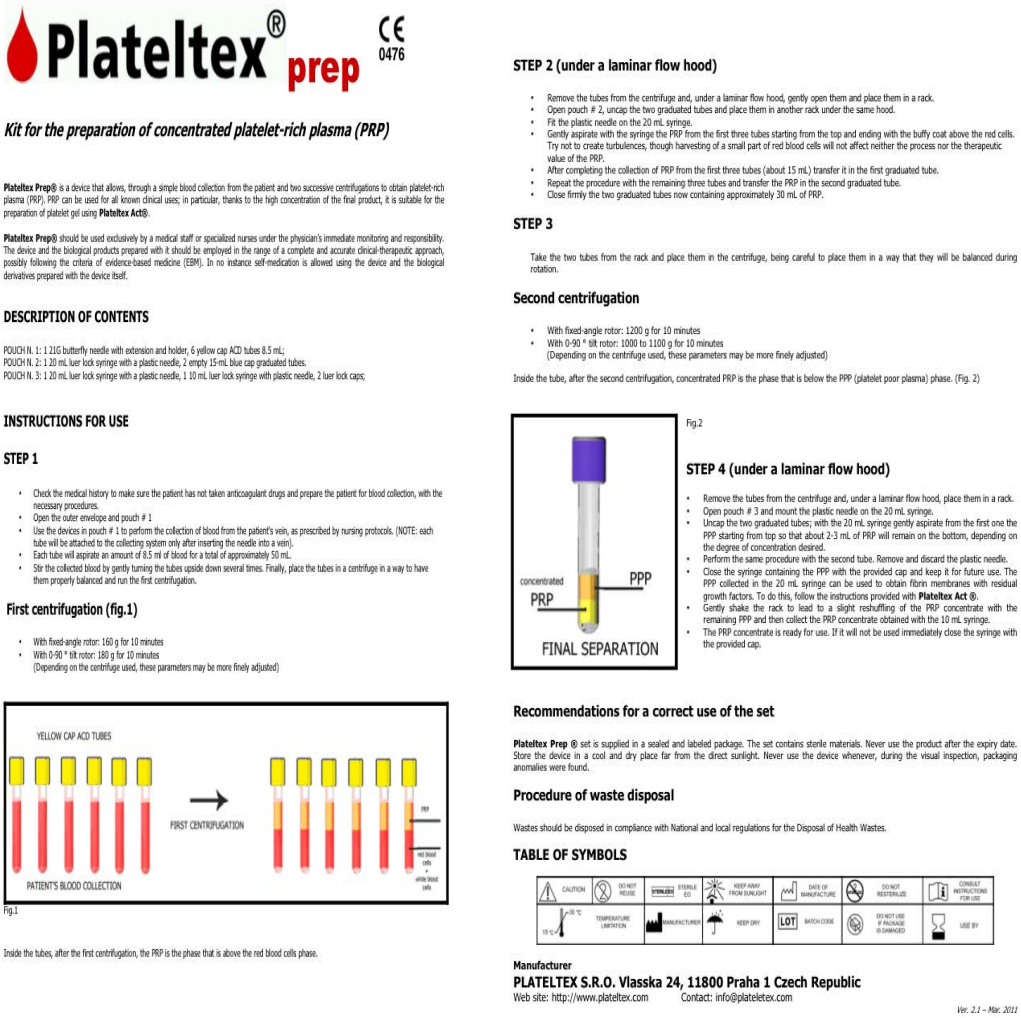
Etape 2 : sous une hotte à flux laminaire :
Retirer les tubes de la centrifugeuse, les ouvrir et les placer sur un support.
Ouvrir l'emballage n°2, déboucher les 2 tubes gradués (bouchon bleu) et les placer sur un autre support.
Monter l'aiguille en plastique sur la seringue de 20 mL.
Aspirer doucement (afin d'éviter les turbulences) du PRP des trois 1ers tubes (environ 5 mL/tube). La récolte d'une petite partie des globules rouges n'affectera pas le processus.
Transférer le PRP dans un des 2 tubes gradués.
Répéter la procédure avec les trois tubes restants et transférer le PRP dans le second tube gradué.
Fermer correctement les 2 tubes gradués.

Etape 3 :
Placer les 2 tubes gradués dans la centrifugeuse de façon à équilibrer le système.
Exécuter la 2ème centrifugation : 1200 ou 1000g pendant 10 minutes.

Etape 4 : sous une hotte à flux laminaire :
Retirer les tubes de la centrifugeuse et les placer sur un support.

Ouvrir l’emballage n°3 et monter l’aiguille en plastique sur la seringue de 20 mL.
Déboucher les 2 tubes gradués.
Aspirer doucement, à l’aide de la seringue de 20 mL, le PPP de telle sorte à laisser environ 1,5 mL de PRP+PPP au fond du tube.
Répéter la procédure avec le second tube gradué.
Retirer et jeter l’aiguille. Fermer la seringue contenant le PPP à l’aide d’un bouchon *luer-lock*. La conserver éventuellement pour une utilisation future.
Monter l’aiguille en plastique sur la seringue de 10 mL.
Secouer légèrement le PRP+PPP du fond du tube gradué.
Collecter le concentré de PRP à l’aide de la seringue de 10 mL.
Le concentré de PRP est prêt à l’emploi. Le cas échéant, fermer la seringue à l’aide du bouchon *luer-lock*.

Quelques recommandations :
Ne jamais utiliser le produit après la date d’expiration. Stocker le kit dans un endroit frais et sec à l’abri de la lumière.
L’emballage scellé et étiqueté contient du matériel stérile : ne jamais utiliser le kit si des anomalies sur le conditionnement ont été constatées.



Plateltex® prep CE 0476

Kit for the preparation of concentrated platelet-rich plasma (PRP)

Plateltex Prep® is a device that allows, through a simple blood collection from the patient and two successive centrifugations to obtain platelet-rich plasma (PRP). PRP can be used for all known clinical uses; in particular, thanks to the high concentration of the final product, it is suitable for the preparation of platelet gel using **Plateltex Act®**.

Plateltex Prep® should be used exclusively by a medical staff or specialized nurses under the physician's immediate monitoring and responsibility. The device and the biological products prepared with it should be employed in the range of a complete and accurate clinical-therapeutic approach, possibly following the criteria of evidence-based medicine (EBM). In no instance self-medication is allowed using the device and the biological derivatives prepared with the device itself.

DESCRIPTION OF CONTENTS

POUCH N. 1: 1 21G butterfly needle with extension and holder, 6 yellow cap ACD tubes 8.5 mL;
POUCH N. 2: 1 20 mL luer lock syringe with a plastic needle, 2 empty 15-mL blue cap graduated tubes.
POUCH N. 3: 1 20 mL luer lock syringe with a plastic needle, 1 10 mL luer lock syringe with plastic needle, 2 luer lock caps;

INSTRUCTIONS FOR USE

STEP 1

- Check the medical history to make sure the patient has not taken anticoagulant drugs and prepare the patient for blood collection, with the necessary procedures.
- Open the outer envelope and pouch # 1
- Use the devices in pouch # 1 to perform the collection of blood from the patient's vein, as prescribed by nursing protocols. (NOTE: each tube will be attached to the collecting system only after inserting the needle into a vein).
- Each tube will aspirate an amount of 8.5 ml of blood for a total of approximately 50 mL.
- Stir the collected blood by gently turning the tubes upside down several times. Finally, place the tubes in a centrifuge in a way to have them properly balanced and run the first centrifugation.

First centrifugation (fig.1)

- With fixed-angle rotor: 160 g for 10 minutes
- With 0-90 ° tilt rotor: 180 g for 10 minutes
(Depending on the centrifuge used, these parameters may be more finely adjusted)

Fig.1

Inside the tubes, after the first centrifugation, the PRP is the phase that is above the red blood cells phase.

STEP 2 (under a laminar flow hood)

- Remove the tubes from the centrifuge and, under a laminar flow hood, gently open them and place them in a rack.
- Open pouch # 2, uncap the two graduated tubes and place them in another rack under the same hood.
- Fit the plastic needle on the 20 mL syringe.
- Gently aspirate with the syringe the PRP from the first three tubes starting from the top and ending with the buffy coat above the red cells. Try not to create turbulences, though harvesting of a small part of red blood cells will not affect neither the process nor the therapeutic value of the PRP.
- After completing the collection of PRP from the first three tubes (about 15 mL) transfer it in the first graduated tube.
- Repeat the procedure with the remaining three tubes and transfer the PRP in the second graduated tube.
- Close firmly the two graduated tubes now containing approximately 30 mL of PRP.

STEP 3

Take the two tubes from the rack and place them in the centrifuge, being careful to place them in a way that they will be balanced during rotation.

Second centrifugation

- With fixed-angle rotor: 1200 g for 10 minutes
- With 0-90 ° tilt rotor: 1000 to 1100 g for 10 minutes
(Depending on the centrifuge used, these parameters may be more finely adjusted)

Inside the tube, after the second centrifugation, concentrated PRP is the phase that is below the PPP (platelet poor plasma) phase. (Fig. 2)

Fig.2

STEP 4 (under a laminar flow hood)

- Remove the tubes from the centrifuge and, under a laminar flow hood, place them in a rack.
- Open pouch # 3 and mount the plastic needle on the 20 mL syringe.
- Uncap the two graduated tubes; with the 20 mL syringe gently aspirate from the first one the PPP starting from top so that about 2-3 mL of PRP will remain on the bottom, depending on the degree of concentration desired.
- Perform the same procedure with the second tube. Remove and discard the plastic needle.
- Close the syringe containing the PPP with the provided cap and keep it for future use. The PPP collected in the 20 mL syringe can be used to obtain fibrin membranes with residual growth factors. To do this, follow the instructions provided with **Plateltex Act ®**.
- Gently shake the rack to lead to a slight reshuffling of the PRP concentrate with the remaining PPP and then collect the PRP concentrate obtained with the 10 mL syringe.
- The PRP concentrate is ready for use. If it will not be used immediately close the syringe with the provided cap.

Recommendations for a correct use of the set

Plateltex Prep ® set is supplied in a sealed and labeled package. The set contains sterile materials. Never use the product after the expiry date. Store the device in a cool and dry place far from the direct sunlight. Never use the device whenever, during the visual inspection, packaging anomalies were found.

Procedure of waste disposal

Wastes should be disposed in compliance with National and local regulations for the Disposal of Health Wastes.

TABLE OF SYMBOLS

Manufacturer
PLATELTEX S.R.O. Vlasska 24, 11800 Praha 1 Czech Republic
Web site: http://www.plateltex.com Contact: info@plateletex.com

Ver. 2.1 – Mar. 2011

ANNEXE II : Information et autorisation signée par le patient [123]

INFORMATION AVANT UN TRAITEMENT PAR PLASMA RICHE EN FACTEURS DE CROISSANCE (PRP ou PRGF)

Monsieur, Madame,

L'un de nous, vous a proposé une série d'injections de PRGF dans une articulation ou sur un tendon, un ligament, un muscle qui vous gêne. Elle sera pratiquée avec votre consentement. Vous avez la liberté de l'accepter ou de la refuser. Une information vous est fournie sur les principes de ce traitement, le déroulement de l'intervention et ses suites. Votre médecin est qualifié pour juger de l'utilité de cette intervention pour répondre au problème qui se pose à vous. Il se peut que cette injection ne donne pas les réponses attendues.

De quoi s'agit-il ?

En traumatologie du sport, certaines lésions, de par leur siège, leur nature ou leur taille, constitue un difficile challenge pour le thérapeute. L'évolution de ces lésions peut dépasser 6 mois et conduire à un traitement chirurgical. On peut notamment citer les tendinopathies rebelles au traitement classique, les ruptures partielles de tendon, certaines lésions musculaires graves.

Les chirurgiens assurant la reconstruction de la face puis les chirurgiens-dentistes et stomatologues ont expérimentés puis utilisés depuis une décennie des « patchs » de sang total puis de plasma puis enfin une fraction de ce plasma, riche en facteurs de croissance afin de favoriser la régénération et la cicatrisation des tissus.

Plus récemment, de nombreuses équipes européennes, nord-américaines et asiatiques ont mis au point l'utilisation des PRGF dans les lésions de l'appareil locomoteur. A présent, l'état des connaissances de cette technique, le recul de plusieurs années dans de nombreuses équipes, doit nous inciter à amener ce traitement à la portée des patients et à inclure l'utilisation des PRGF dans nos stratégies de médecine et chirurgie du sport.

Les plaquettes sanguines sont produites par la moelle osseuse et connues de tous pour leur rôle indispensable dans l'hémostase primaire. Mais elles recèlent aussi d'importantes propriétés de cicatrisation et régénération des tissus lésés grâce à la libération de granules très riches en facteurs de croissance multiples. Le principe thérapeutique est relativement simple. La technique vise à isoler du sang du malade la fraction du plasma la plus riche en plaquettes. Cette étape nécessite un travail en milieu stérile (habillage chirurgical, hôte à flux laminaire). Le PRGF du patient est activé puis lui est réinjecté sur et autour de sa lésion dans le même temps sans conservation, transformation ou transport du plasma ainsi préparé. Plusieurs injections sont généralement nécessaires pour obtenir une pleine efficacité.

Conseil avant le traitement

Venez de préférence accompagné. Il faut être impérativement à jeun. Pour être à l'aise, nous vous conseillons d'aller aux toilettes avant l'infiltration.

Prémédication, prélèvement, préparation

Vous aurez un bilan biologique à effectuer quelques jours avant le début du traitement.

Une ordonnance de prémédication vous parviendra afin de diminuer les douleurs qui peuvent survenir pendant et après le traitement.

Le déroulement du traitement

Une à trois injections sont nécessaires. Les injections sont espacées de 8-15 jours généralement. Ce traitement sera peut-être à renouveler.

En cas d'épanchement liquidien important dans l'articulation lésée, il pourra être nécessaire d'assécher votre articulation et d'effectuer un autre traitement plusieurs jours avant l'injection de PRGF.

A votre arrivée, un prélèvement sanguin sera ponctionné dans une veine. Le nombre des tubes nécessaires sera fonction de la taille de votre lésion. Vous pourrez ensuite vous restaurer frugalement pendant que nous préparons le plasma riche en facteurs de croissance. Ensuite, votre préparation de PRGF sera injectée dans et autour de votre lésion. Cette injection pourra avoir lieu sur place mais certaines lésions nécessiteront un guidage par la radiographie, l'échographie ou le scanner. Pour d'autres lésions, l'injection de PRGF accompagnera un geste chirurgical et sera donc réaliser au bloc opératoire.

Vous serez allongé(e) sur la table d'examen dans la plupart des cas. Un protocole d'antisepsie rigoureuse sera systématiquement utilisé.

Après l'injection, le point de ponction est comprimé pendant quelques secondes. Un pansement sec est mis en place et sera maintenu pendant 24 heures accompagné de glaçage et d'un traitement antalgique simple. Il faut compter environ 30 à 60 minutes pour la réalisation de cette technique.

Vécu des patients lors de cette infiltration

La pénétration de l'aiguille et l'injection dans la peau peuvent être douloureuses. C'est pourquoi nous vous avons prescrit un médicament à prendre avant de venir.

Précautions :

Avant le traitement. Il est important de signaler au médecin

- toute fièvre,
- toute infection,
- toute lésion cutanée (plaie ou mycose en particulier),
- toute prise d'aspirine et/ou d'anti-coagulant, un traitement fluidifiant le sang (anticoagulant ou antiagrégant plaquettaire type Aspirine, Assaantine, Kardégic, Persantine, Plavix, Préviscan, Sintrom, Solupsan, Ticlid ...), ou tout simplement de l'Aspirine contre le mal de tête ou **d'anti-inflammatoire dans** les jours précédant l'examen,
- toute allergie aux médicaments et notamment les anesthésiques locaux ou l'Iode.

Il est important de nous signaler si vous :

- avez une maladie du sang, des saignements fréquents ou prolongés (du nez par exemple),
- prenez.
- Etes diabétique ou porteur d'une autre maladie hormonale
- Etes enceinte

Après le traitement

Le repos de l'articulation ou de la région traitée est essentiel : l'efficacité du traitement en dépend en partie

Le jour même et le lendemain : reposez-vous, évitez de marcher.

Les manœuvres de force, les gestes répétitifs dans la vie professionnelle ainsi que les gestes sportifs devront être stoppés au moins 48 heures. Ensuite, une activité physique douce est conseillée entre chaque injection (type vélo loisir).). La prise d'**anti-inflammatoire** est fortement déconseillée dans les 21 jours suivant le traitement. L'effet ne se manifestera qu'après quelques semaines (lésions musculaires) à quelques mois (lésions du cartilage). En fonction de votre activité professionnelle, l'infiltration nécessitera peut-être un arrêt momentané de votre travail. Ensuite un calendrier de suivi en consultation vous sera proposé.

Réactions possibles

La plus fréquente : une douleur au point d'injection

- Appliquez de la glace (vessie de glace : glace et eau dans une poche hermétique) pendant 10 minutes, 4 fois par jour
- Au besoin prenez du paracétamol, selon la prescription de votre médecin.

Moins fréquente, une réaction inflammatoire : gonflement et/ou douleur

- Associez glaçage et traitement anti-douleur

Rare : région traitée gonflée qui apparait 24 à 48 heures après l'injection

- Prenez contact avec votre médecin

Une infection, bien que très rare, reste une complication possible, même si toutes les précautions seront prises. D'après des études récentes, dans les conditions de réalisation en cabinet, leur incidence est de l'ordre de 1 infection pour 70000 infiltrations. Elles surviennent dans les 48 à 72 heures. En cas de fièvre ou de douleur importante dans les jours suivant l'infiltration (possibles signes d'infection), il est important de contacter immédiatement votre médecin.

Prise en charge

La Caisse d'Assurance Maladie ne rembourse pas ce traitement que nous vous proposons.

Si les injections de PRGF concernent une lésion survenue à l'occasion d'un accident, notamment lors d'une activité de loisir ou une activité sportive (entrainement ou compétition), nous vous conseillons d'effectuer au plus vite une déclaration d'accident à l'assurance qui couvrait cette activité. Vous pourrez réclamer à cette assurance le remboursement des frais non pris en charge par l'Assurance Maladie.

Nous espérons que vous comprenez mieux ce qu'est une injection de plasma riche en facteurs de croissance et que ces explications vous seront profitables. Malgré cela, il est possible que vous vous posiez d'autres questions non abordées : n'hésitez pas pendant la consultation à nous interroger pour tout renseignement complémentaire.

Partie à remplir par le patient

NOM du patient

Prénom du patient

Date du début du traitement **Signature**

ANNEXE III : Les protéines de la coagulation et leurs rôles [7,61]

i. Dénomination

-facteur II : prothrombine
-facteur VII : proconvertine
-facteur IX : antihémophilique B
-facteur X : de Stuart
-facteur XI : de Rosenthal
-facteur XII : de Hageman
-facteur V : proaccélérine
-facteur VIII : antihémophilique A
-facteur III : facteur tissulaire ou thromboplastine tissulaire

ii. Rôle

Les facteurs de la coagulation sont écrits avec le suffixe « a » lorsqu'ils sont sous leur forme activée.

-les facteurs II, VII, IX, X, XI, XII sont des proenzymes protéolytiques ou sérine-protéases. Une fois activées et sous leur forme enzyme, elles vont cliver certaines protéines afin de les rendre actives.

-le facteur XIII est un facteur établissant des liaisons covalentes entre les protéines. Autrement appelé facteur stabilisant de la fibrine, il établit des liaisons avec le polymère de fibrine pour stabiliser le thrombus.

-les facteurs V, VIII et le kininogène de haut poids moléculaire (KHPM) sont des profacteurs et doivent être activés par protéolyse afin de jouer leur rôle de cofacteurs.

-le facteur III ou facteur tissulaire est l'initiateur de l'activation de la coagulation. C'est une protéine membranaire synthétisée par les fibroblastes de l'adventice des vaisseaux. Il forme une enveloppe hémostatique autour de l'arbre vasculaire.

-le fibrinogène est le substrat final des réactions de coagulation. Soluble, il est transformé en fibrine insoluble par la thrombine (facteur IIa).

Toutes ces protéines de la coagulation sont synthétisées par le foie, puis gagnent la circulation.
Les protéines vitamines K-dépendantes (II, VII, IX, X) subissent au niveau de l'hépatocyte des modifications post traductionnelles indispensables à l'acquisition de leur activité fonctionnelle.

ANNEXE IV : Les études cliniques [106,107,108,109]

- ✓ **Différents types d'études :**

- Etude prospective : les patients sont suivis pendant un temps donné et les informations sont recueillies au fur et à mesure : prévoir à l'avance les informations à recueillir. Il faut être exhaustif, recruter tous les patients, ne pas en « louper ».

- Etude rétrospective : c'est l'étude des dossiers médicaux et des soins des patients. On recherche et on étudie les variables *a posteriori* dans une population définie. Mais les informations manquantes ne sont pas récupérables.

- Etude transversale : c'est une étude d'observation « instantanée », s'intéressant à la survenue d'un type d'évènement pendant une durée brève. On recueille les informations une seule fois pour chaque individu.

- Etude cas – témoin : c'est une étude rétrospective comparant un groupe de patients atteints de la maladie en question à un groupe témoin (indemne de cette maladie). Ces groupes doivent être les plus semblables possible (âge, sexe, mode de vie …).

- Suivi de cohorte : c'est, en principe, une étude prospective qui compare l'évolution dans le temps, si possible simultanée, de deux groupes homogènes, mais dont l'un seulement est exposé au médicament en question.

- Essai clinique contrôlé : le médicament étudié est comparé à un médicament de référence, qui peut être un placebo (produit ayant la même forme, la même couleur, la même odeur que le médicament étudié mais qui ne contient aucune substance active) ou un médicament reconnu efficace.

- Essai clinique randomisé : Les malades sont répartis dans différents groupes recevant des traitements différents, la répartition au sein des groupes se faisant par tirage au sort, de façon strictement aléatoire. L'essai clinique contrôlé randomisé est l'étude expérimentale de référence en recherche clinique.

- Essai clinique en aveugle : Le patient ne sait pas quel type de traitement il prend. Si le médecin qui administre le traitement l'ignore également, on parle d'essai en double aveugle.

- Essai clinique en ouvert : L'investigateur et la personne sur laquelle l'essai clinique est effectué connaissent le traitement.

✓ **Classification des études selon le niveau de preuve scientifique**

Niveau de preuve : il caractérise la capacité de l'étude à répondre à la question posée. Cette capacité est jugée sur la correspondance de l'étude au cadre de travail (population, critères de jugement, question) et sur les caractéristiques suivantes :

- adéquation du protocole d'étude à la question posée
- existence ou non de biais importants dans la réalisation
- adaptation de l'analyse statistique aux objectifs de l'étude
- puissance de l'étude et en particulier taille de l'échantillon

Niveau 1 : essais contrôlés randomisés avec résultats indiscutables (méthodologiquement)

Niveau 2 : essais contrôlés non randomisés bien conduits

Niveau 3 : essais prospectifs non contrôlés bien menés (suivi de cohorte…)

Niveau 4 : étude cas – témoins, essais contrôlés présentant des biais

Niveau 5 : études rétrospectives et cas cliniques (série de malades), toute étude fortement biaisée

Tableau X: Grade des recommandations [109]

Grade des recommandations	Niveau de preuve scientifique fourni par la littérature
A Preuve scientifique établie	Niveau 1 - essais comparatifs randomisés de forte puissance ; - méta-analyse d'essais comparatifs randomisés ; - analyse de décision fondée sur des études bien menées.
B Présomption scientifique	Niveau 2 - essais comparatifs randomisés de faible puissance ; - études comparatives non randomisées bien menées ; - études de cohortes.
C Faible niveau de preuve scientifique	Niveau 3 - études cas-témoins.
	Niveau 4 - études comparatives comportant des biais importants ; - études rétrospectives ; - séries de cas ; - études épidémiologiques descriptives (transversale, longitudinale).

FACULTE DE PHARMACIE UNIVERSITE DE LORRAINE

DEMANDE D'IMPRIMATUR

Date de soutenance : 06 juin 2016

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

présenté par : CHERE Sébastien

Sujet : Les Plasmas Riches en Plaquettes (PRP) dans le traitement local des traumatismes tendino-musulaires

Jury :

Présidente : Mme. FAIVRE Béatrice, Professeur Hématologie
Directrice : Mme. FAIVRE Béatrice, Professeur Hématologie
Juges : M. VIGNERON Claude, Professeur émérite Hématologie
M. PERRIN Julien, MCU-PH , Hématologie biologique
M. GEOFFROY Jean-Marc, Médecin du sport

Vu,

Nancy, le 12 Mai 2016

Le Président du Jury — B. FAIVRE — M.

Directeur de Thèse — B. FAIVRE — M.

Vu et approuvé,

Nancy, le 26.05.2016

Doyen de la Faculté de Pharmacie de l'Université de Lorraine,

Francine PAULUS

Vu,

Nancy, le 31 MAI 2016

Le Président de l'Université de Lorraine,

Pierre MUTZENHARDT

N° d'enregistrement : 9125

N° d'identification :

TITRE

Les Plasmas Riches en Plaquettes (PRP) dans le traitement local des traumatismes tendino-musculaires

Thèse soutenue le 06 juin 2016

Par Sébastien CHERE

RESUME :

En pratique sportive, les tendons et les muscles sont intensément mis à contribution et sont sujets à de nombreux traumatismes.
La plupart des lésions musculaires et tendineuses ayant lieu dans des zones faiblement vascularisées et/ou avec un renouvèlement cellulaire lent, elles sont donc à l'origine de nombreuses contraintes dans la vie de tous les jours, et de longues périodes d'incapacité physique et de convalescence chez le sportif professionnel.

Dans un monde actuel où le sport de haut-niveau occupe une place prépondérante, où le sport de haut-niveau est gouverné par l'argent, où le sport de haut-niveau est un business, la priorité est à la performance et la quête de résultats. Il faut donc guérir « vite et bien ».

C'est ainsi que la recherche s'est penchée sur les capacités de régénération des tissus, dans le but d'en accélérer le phénomène.
Les progrès de la médecine et l'essor de la thérapie cellulaire ont permis la découverte du Plasma Riche en Plaquettes, biomatériel concentré en plaquettes et facteurs de croissance.

Entre satisfaction et déception, espoir et controverse, voici l'histoire du PRP et de son utilisation au niveau tendino-musculaire.

MOTS CLES : Déchirures muscles, tendons, Plasma Riche en Plaquette (PRP, GPS®, PRGF...), facteurs de croissance, angiogenèse, inflammation, cicatrisation, bénéfice clinique

Directeur de thèse	Intitulé du laboratoire	Nature
FAIVRE Béatrice	**Biologie cellulaire et hématologie**	**Expérimentale** ☐ **Bibliographique** X **Thème** ☐

Thèmes

1 – Sciences fondamentales
3 – Médicament
5 - Biologie
2 – Hygiène/Environnement
4 – Alimentation – Nutrition
6 – Pratique professionnelle