

Données scientifiques actuelles concernant le traitement par injection de concentré plaquettaire

J.-F. Kaux¹, P. Drion², C. Le Goff³, J.-M. Crielaard¹, M. Sánchez⁴

1. Service de médecine physique et de traumatologie du sport,
CHU de Liège, université de Liège, Belgique.

2. Animalerie centrale du CHU de Liège, ULg-GIGA-R, université de Liège, Belgique.

3. Service de médecine physique et de traumatologie du sport,
CHU de Liège, université de Liège, Belgique.

4. Unidad de cirugía atroscópica, UCA, Clínica USP-La Esperanza, Vitoria-Gasteiz, Espagne.

Les plaquettes exercent différentes fonctions essentielles au processus normal d'hémostase : elles s'agrègent pour former une surface procoagulante au pourtour d'une lésion, puis cet agrégat plaquettaire est envahi et progressivement remplacé par de la thrombine et enfin par de la fibrine [18]. Elles jouent également un rôle dans le processus inflammatoire par la sécrétion de facteurs de perméabilité vasculaire, par leur capacité à promouvoir le chimiotactisme des polynucléaires neutrophiles, et par la synthèse de prostaglandines [26]. Elles interviennent aussi dans la modulation du système de défense immunitaire [35].

Depuis quelques années, les propriétés « réparatrices » des plaquettes sont étudiées et mises à profit dans différents domaines de la médecine (dentisterie, stomatologie, dermatologie, chirurgie orthopédique ou plastique, ophtalmologie...) [1,2,12,14,16,27,31]. En effet, celles-ci agissent en tant que médiateur ou activateur de la cicatrisation de différents tissus (os, peau, muscle, tendon). Celles-ci peuvent donc être injectées, *in situ*, sous forme de concentré plaquettaire, communément appelé PRP (*platelet-rich plasma*) ou PRGF (*plasma rich in growth factors*), obtenus à partir de sang autologue, c'est-à-dire du sang du patient qui bénéficiera de l'injection [8,21].

Mode d'action

La cicatrisation tissulaire se déroule classiquement selon trois phases principales qui sont successivement les phases inflammatoire, proliférative et de remodelage (figure 13.1). Les plaquettes ont la capacité d'agir au niveau de ces différentes phases par la libération locale de nombreux facteurs de croissance suite à leur activation et dégranulation [30] (figure 13.2).

Pour bien comprendre les propriétés réparatrices des plaquettes ainsi que leurs autres fonctions, il est utile de rappeler quelques notions les concernant. Appelées également thrombocytes, les plaquettes sont des composants du sang, qui se forment dans la moelle osseuse par fragmentation du cytoplasme d'énormes cellules, les mégacaryocytes [29]. Les plaquettes sanguines sont des particules anucléées, rondes ou ovales, de taille variant de 1,5 à 3,5 μm de diamètre et ont une durée de vie dans le sang d'environ 8 jours [17]. Elles contiennent les organites cytoplasmiques des autres cellules, tels que

mitochondries, microtubules, granules de glycogène, lysosomes, microperoxyosomes, éléments golgiens occasionnels et ribosomes, ainsi que des systèmes enzymatiques pour les respirations aérobie et anaérobie (figure 13.3). Leur cytoplasme renferme également des granulations plus visibles en microscopie électronique que les autres organelles, essentiellement les granules denses et les granules alpha. Après leur adhésion au site lésé, les plaquettes vont être activées par le collagène sous-endothélial et la thrombine, entraînant la libération du contenu de leurs granules [3,15].

Figure 13.1.

Les différentes phases de la cicatrisation : (a) et (b) représentent la phase inflammatoire, suivie de la phase proliférative (c) et enfin de la phase de remodelage (d) [www.univ.lyon1.fr].

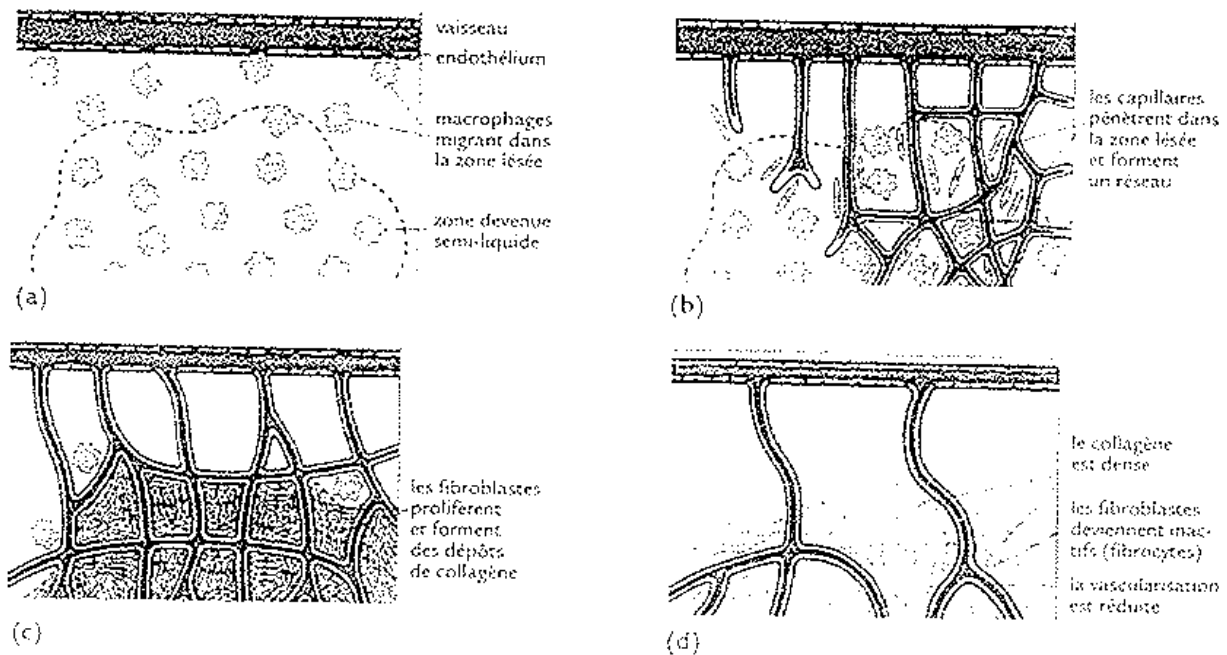
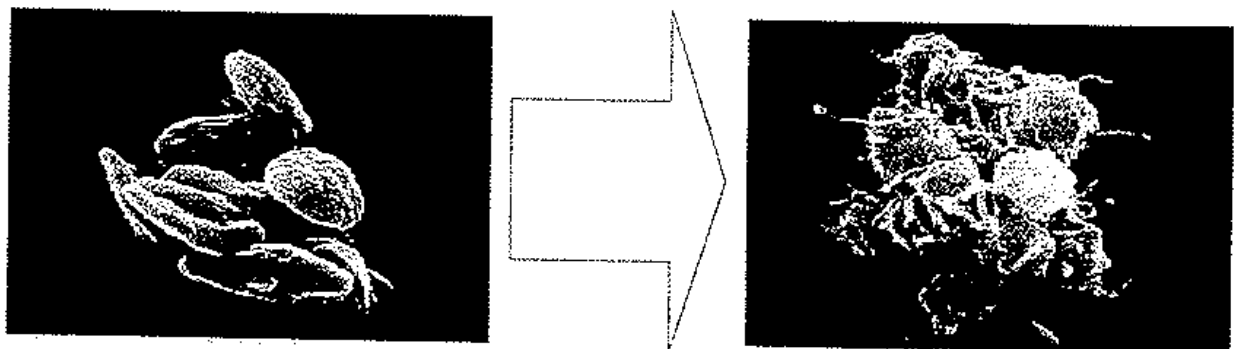


Figure 13.2.

À gauche, plaquettes au repos ; à droite, plaquettes activées qui dégranulent (www.regenlab.com).



Les granules denses contiennent différentes substances nécessaires à l'hémostase : la sérotonine (provenant du plasma), l'histamine, l'épinéphrine et l'ADP. Ils contiennent également du calcium ionisé (Ca^{2+}), cofacteur essentiel à l'agrégation plaquettaire mais aussi modulateur de la prolifération et de la différenciation des kératinocytes. Ils sont moins nombreux que les granules alpha (2 à 10 par cellule) et de petite taille.

Les granules alpha sont plus nombreux (20 à 200 par cellule) et de taille plus grande. Ils renferment diverses protéines d'adhésion, notamment le facteur de Von Willebrand, mais aussi des facteurs de coagulation, des cytokines, des métalloprotéinases (MMP) et des facteurs de croissance.

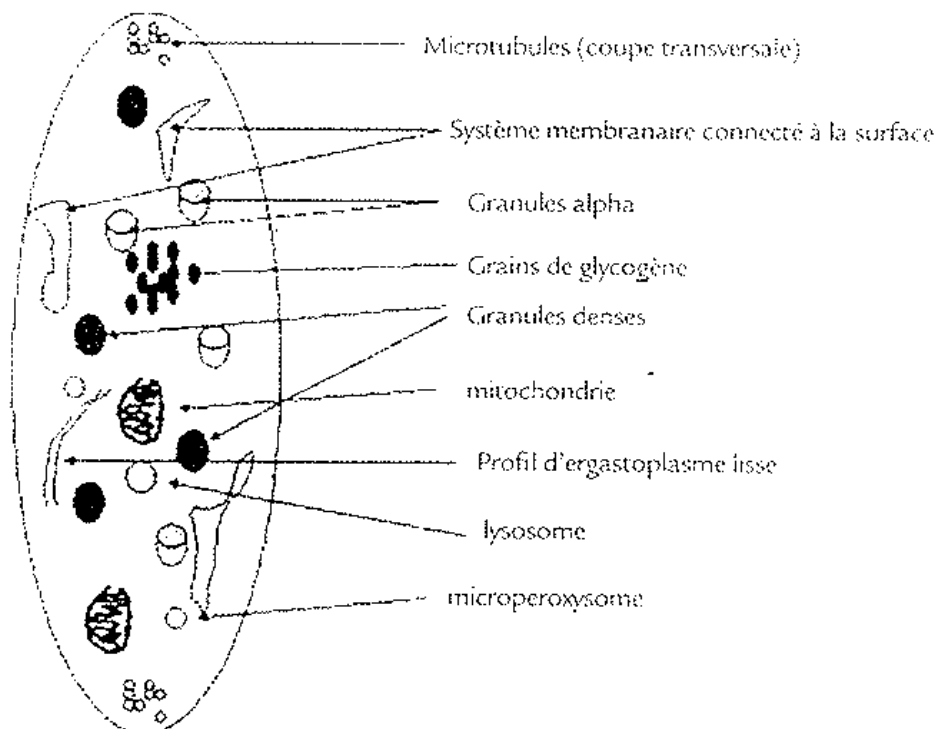
Ces facteurs de croissance exercent des actions spécifiques lors de la réparation tissulaire [3,30]. Ils peuvent être également produits par des cellules extrinsèques (comme les macrophages) et intrinsèques (comme les cellules de l'épithélium). Pour être actifs, ils requièrent la présence de récepteurs spécifiques. Ils agissent habituellement en synergie avec d'autres molécules de signalisation ou d'autres facteurs de croissance et leur action est souvent dose-dépendante. Certains facteurs de croissance interviennent de manière importante dans la guérison des tendons, nous retiendrons essentiellement [28] :

- *platelet derived growth factor* (PDGF) : stimule la production des autres facteurs de croissance et de protéines lors de la phase inflammatoire mais joue également un rôle lors du remodelage tissulaire.
- *transforming growth factor- β* (TGF- β) : stimule la migration et la prolifération cellulaires, la synthèse de collagène et régule les protéinases, en plus d'interagir dans la fixation de la fibronectine (protéine d'adhésion plaquettaire).
- *fibroblast growth factor* (FGF) : stimule l'angiogenèse et régule la migration et la multiplication cellulaires lors de la phase proliférative.
- *vascular endothelial growth factor* (VEGF) : stimule l'angiogenèse lors des phases prolifératives et de remodelage.
- *hepatocyte growth factor* (HGF) : stimule la prolifération des cellules endothéliales, la migration cellulaire et l'angiogenèse. Il joue également un rôle anti-inflammatoire et antifibrotique.
- *insulin-like growth factor 1* (IGF-1) : favorise la prolifération et la migration fibroblastique lors de la phase inflammatoire. Il permet la production locale de collagène ainsi que de diverses structures de la matrice extracellulaire lors de la phase de remodelage.

Le PRP agit par la libération locale de ces divers facteurs de croissance qui vont favoriser la cicatrisation, l'angiogenèse ainsi que le remodelage tissulaire [3,28]. Le ratio entre les différents facteurs de croissance est important et influence l'équilibre dynamique entre les cellules, de même que l'angiogenèse et la formation de la matrice extracellulaire [4,6]. De plus, le PRP pourrait jouer un rôle antimicrobien local [10,33].

Figure 13.3.

Représentation schématique d'une plaquette sanguine avec ses constituants (www.med.univ-angers.fr).



Méthode de préparation du PRP

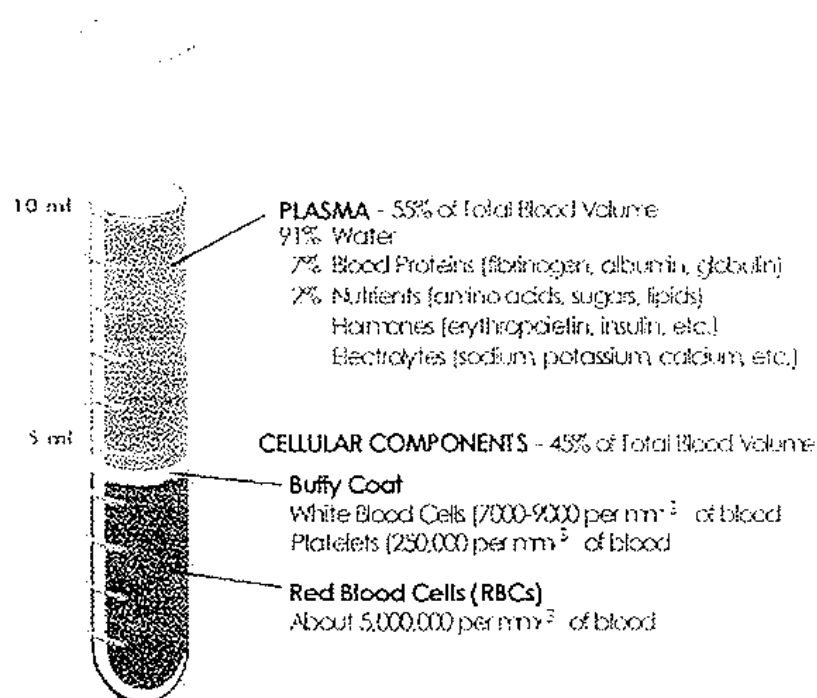
Différentes techniques sont actuellement décrites dans la littérature permettant d'obtenir des volumes et des concentrations variables de plaquettes : des techniques de laboratoire employées auparavant dans un but analytique aux techniques commerciales plus récemment mises sur le marché [23,30]. Actuellement, la quantité optimale de plaquettes entraînant une réponse thérapeutique bénéfique dans les lésions tendineuses n'a pas encore été précisément définie. La littérature s'accorde cependant sur le fait qu'idéalement, une absence totale de globules blancs serait nécessaire car ceux-ci pourraient avoir un effet négatif sur la cicatrisation du fait qu'ils contiennent des facteurs pro-inflammatoires (cytokines et métalloprotéinases) capables de dégrader la matrice extracellulaire [6,21,32]. L'absence de globules rouges serait également indispensable car, une fois lysés, ceux-ci libèrent des radicaux libres, semblables à ceux libérés par les globules blancs, qui peuvent endommager les tissus avoisinants [19].

En général, de 30 à 50 ml de sang (anticoagulé) sont prélevés chez le patient avant d'être centrifugés 1 ou 2 fois selon la technique employée. Trois phases de sédimentation sont alors obtenues dans le tube à essais : sédiments de globules rouges, « *buffy coat* » et la fraction plasmatique (figure 13.4). Le « *buffy coat* » se compose de deux sous-fractions : les globules blancs dans la partie inférieure et les plaquettes dans la partie supérieure, à l'interface de la fraction plasmatique. Les plaquettes sont donc prélevées avec une quantité variable de plasma, donnant le PRP qui est entre 2 et 10 fois plus concentré en plaquettes que le sang (concentration normale dans le sang : de 150 000 à 400 000 plaquettes/ml de sang). Quelques dixièmes de ml de NaHCO_3 peuvent être ajoutés en fonction du nombre de ml de PRP obtenus afin d'obtenir un pH physiologique [7,4].

Ce PRP sera réinjecté localement chez le patient, après activation avec du CaCl_2 (50 $\mu\text{l/ml}$ de PRP) afin d'obtenir la dégranulation des plaquettes.

Figure 13.4.

Les 3 phases de sédimentation du sang (www.nsbri.org).



Après cette injection de PRP, les anti-inflammatoires sont proscrits car ils sont susceptibles d'inhiber, du moins partiellement, son action [30]. La libération de facteurs prothrombiques

peut s'avérer dangereuse chez les patients présentant un risque thromboembolique et l'efficacité du PRP peut diminuer lors d'un traitement antiagrégant plaquettaire [3].

Il existe un risque théorique d'infection lors d'éventuelles étapes non stériles. Une grande attention doit être accordée à ce point. Cependant, le PRP étant préparé à partir de sang autologue tout risque d'incompatibilité ou de transmission de maladies par contact sanguin (VIH, VHC...) peut être écarté [21].

Depuis janvier 2011, le traitement par injection de PRP n'est plus repris sur la liste des produits dopants de l'Agence mondiale antidopage (www.wada-ama.org).

Études expérimentales

De nombreuses études en laboratoire, in vitro ou sur animaux, ont permis de constater que le PRP a la potentialité d'accélérer le processus cicatriciel des tendons, et que chaque facteur de croissance a une action spécifique durant le processus de cicatrisation tissulaire [7,28].

Des expérimentations in vitro, suggèrent que le PRP permet la différenciation de cellules dérivées de la circulation, engendrant une amélioration des stades initiaux de la cicatrisation tendineuse [4,5,20]. Cette activation cellulaire est notamment liée à la production locale de facteurs de croissance [4]. Ce processus anabolique initie donc la synthèse de collagène de type I [20,27]. Il a également été démontré que le PRP ne stimulait pas seulement la prolifération des ténocytes humains et l'accroissement total de collagène mais augmentait aussi légèrement l'expression de MMP-3, qui interviennent dans le remodelage de la matrice extracellulaire [13].

Des études sur animaux attestent qu'une injection de PRP pouvait optimiser la réparation tendineuse chez des rats, dont le tendon d'Achille avait été sectionné. En effet, au sein du groupe traité par PRP, les auteurs rapportent une maturation plus importante du cal tendineux et une augmentation de la résistance à la rupture de ce dernier [9,22,34]. Dans ces expérimentations, le PRP entraîne également une amélioration de l'organisation des fibres de collagènes, une néovascularisation plus importante, un temps de cicatrisation diminué ainsi qu'une meilleure cicatrisation tendineuse, concordant avec des relevés faits par d'autres auteurs après section du tendon d'Achille de lapin [25]. Une synthèse plus précoce de polymères de collagène a également été démontrée suite à l'injection de PRP après lésion du tendon d'Achille de rats par rapport au groupe contrôle (injection de liquide physiologique) [22]. De meilleures propriétés mécaniques (résistance à l'étirement, réponse au stress mécanique) du tendon rotulien lésé chez le lapin, après injection de PRP, ont également été observées par rapport aux tendons n'ayant pas reçu d'injection [24]. De plus, le VEGF, un des facteurs de croissance libéré par les plaquettes, stimulait de manière significative la cicatrisation tendineuse et régulerait l'expression d'autres facteurs de croissance dont le TGF β [36]. Enfin, une analyse biochimique sur tendons lésés de chevaux, ayant bénéficié d'une injection de PRP, a montré, qu'après quelques semaines, les échantillons tendineux présentaient une quantité plus importante d'ADN, de glycosaminoglycane et surtout de collagène [11]. Cette même étude révélait que, après injection de PRP, les tendons bénéficiaient d'une meilleure élasticité et d'une plus importante résistance à la rupture. Enfin, leurs résultats histologiques, mettaient en lumière une activité métabolique supérieure et un état d'avancement de la réparation tissulaire plus avancé après injection de PRP [11].

Conclusion

Il a été largement démontré expérimentalement que le PRP, par la libération locale de différents facteurs de croissance, a une action favorable et stimulante sur la cicatrisation tendineuse. Cette thérapeutique constitue un outil très intéressant qui permettrait

d'optimiser la cicatrisation de tendons humains pathologiques, dont le traitement classique donne souvent des résultats aléatoires. Des études cliniques sont nécessaires afin de déterminer si le PRP peut avoir le même effet positif sur la régénération tendineuse chez l'homme que chez l'animal.

❏ Références

- 1 Alio JL, Colecha JR, Pastor S, Rodriguez A, and Artola A. Symptomatic dry eye treatment with autologous platelet-rich plasma. *Ophthalmic Res* 39 : 124-129, 2007.
- 2 Anitua E. Plasma rich in growth factors : preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 14 : 529-535, 1999.
- 3 Anitua E, Andia I, Ardanza B, Nurden P, and Nurden AT. Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration. *Thromb Haemost* 91 : 4-15, 2004.
- 4 Anitua E, Sanchez M, Nurden AT, Zalduendo M, de la Fuente M, Azofra J, and Andia I. Reciprocal actions of platelet-secreted TGF-beta1 on the production of VEGF and HGF by human tendon cells. *Plast Reconstr Surg* 119 : 950-959, 2007.
- 5 Anitua E, Sanchez M, Nurden AT, Zalduendo M, de la Fuente M, Orive G, Azofra J, and Andia I. Autologous fibrin matrices : a potential source of biological mediators that modulate tendon cell activities. *J Biomed Mater Res A* 77 : 285-293, 2006.
- 6 Anitua E, Sanchez M, and Orive G. Potential of endogenous regenerative technology for in situ regenerative medicine. *Adv Drug Deliv Rev* 62 : 741-752, 2010.
- 7 Anitua E, Sanchez M, Orive G, and Andia I. The potential impact of the preparation rich in growth factors (PRGF) in different medical fields. *Biomaterials* 28 : 4551-4560, 2007.
- 8 Arora NS, Ramanayake T, Rea YF, and Romanos GE. Platelet-rich plasma : a literature review. *Implant Dent* 18 : 303-310, 2009.
- 9 Aspenberg P, and Virchenko O. Platelet concentrate injection improves Achilles tendon repair in rats. *Acta Orthop Scand* 75 : 93-99, 2004.
- 10 Bielecki TM, Gazdzik TS, Arendt J, Szczepanski T, Krol W, and Wielkoszynski T. Antibacterial effect of autologous platelet gel enriched with growth factors and other active substances : an in vitro study. *J Bone Joint Surg Br* 89 : 417-420, 2007.
- 11 Bosch G, van Schie HT, de Groot MW, Cadby JA, van de Lest CH, Barneveld A, and van Weeren PR. Effects of platelet-rich plasma on the quality of repair of mechanically induced core lesions in equine superficial digital flexor tendons : A placebo-controlled experimental study. *J Orthop Res* 28 : 211-217, 2010.
- 12 Cervelli V, Gentile P, Scioli MG, Grimaldi M, Casciani CU, Spagnoli LG, and Orlandi A. Application of platelet-rich plasma in plastic surgery : clinical and in vitro evaluation. *Tissue Eng Part C Methods* 15 : 625-634, 2009.
- 13 de Mes M, van der Windt AE, Jahr M, van Schie HT, Weinans H, Verhaar JA, and van Osch GJ. Can platelet-rich plasma enhance tendon repair ? A cell culture study. *Am J Sports Med* 36 : 1171-1178, 2008.
- 14 Driver VR, Hanft J, Fylling CP, and Beriou JM. A prospective, randomized, controlled trial of autologous platelet-rich plasma gel for the treatment of diabetic foot ulcers. *Ostomy Wound Manage* 52 : 68-70, 72, 74 passim, 2006.
- 15 Dupuy E, Gallet C, and Lévy-Tolédano S. Hémostase primaire. In : *Hématologie clinique et biologique*, edited by Sébahoun G. Rueil-Malmaison : Arnette, 2005, p. 397-408.
- 16 Gandhi A, Dumas C, O'Connor JP, Parsons JR, and Lin SS. The effects of local platelet rich plasma delivery on diabetic fracture healing. *Bone* 38 : 540-546, 2006.
- 17 George JN. Platelets. *Lancet* 355 : 1531-1539, 2000.
- 18 George JN, Nurden AT, and Phillips DR. Molecular defects in interactions of platelets with the vessel wall. *N Engl J Med* 311 : 1084-1098, 1984.
- 19 Jiang N, Tan NS, Ho B, and Ding JL. Respiratory protein-generated reactive oxygen species as an antimicrobial strategy. *Nat Immunol* 8 : 1114-1122, 2007.
- 20 Kajikawa Y, Morihara T, Sakamoto H, Matsuda K, Oshima Y, Yoshida A, Nagae M, Arai Y, Kawata M, and Kubo T. Platelet-rich plasma enhances the initial mobilization of circulation-derived cells for tendon healing. *J Cell Physiol* 215 : 837-845, 2008.
- 21 Kaux JF, Degraeve N, and Crielaard JM. Platelet rich plasma : traitement des tendinopathies chroniques ? Revue de la littérature. *Journal de Traumatologie du Sport* 24 : 99-102, 2007.
- 22 Kaux JF, Drion P, Colige A, Pascon F, Libertaux V, Hoffmann A, Nix MJ, Le Goff C, Renouf J, Gothot A, Cescotto S, Defraigne JO, Rickert M, and Crielaard JM. Effects of platelet-rich plasma (PRP) on the healing of ruptured Achilles tendons of rats. *Soumis*.
- 23 Kaux JF, Le Goff C, Seidel L, Peters P, Gothot A, Albert A, and Crielaard JM. [Comparative study of five techniques of preparation of platelet-rich plasma.]. *Pathol Biol (Paris)* 2009.
- 24 Lyras DN, Kazakos K, Verettas D, Botaitis S, Agogiannis G, Kokka A, Pitiakoudis M, and Kotzakis A. The effect of platelet-rich plasma gel in the early phase of patellar tendon healing. *Arch Orthop Trauma Surg* 129 : 1577-1582, 2009.

- 25 Lyras DN, Kazakos K, Verettas D, Polychronidis A, Tryfonidis M, Botaitis S, Agrogiannis G, Simopoulos C, Kokka A, and Patsouris E. The influence of platelet-rich plasma on angiogenesis during the early phase of tendon healing. *Foot Ankle Int* 30 : 1101-1106, 2009.
- 26 Meaume S, Dereure O, and Teot L. Les acteurs de la cicatrisation. In : *Plaies et cicatrisations* Masson, 2002, p. 25-27.
- 27 Mishra A, Woodall J, Jr., and Vieira A. Treatment of tendon and muscle using platelet-rich plasma. *Clin Sports Med* 28 : 113-125, 2009.
- 28 Molloy T, Wang Y, and Murrell G. The roles of growth factors in tendon and ligament healing. *Sports Med* 33 : 381-394, 2003.
- 29 Patel SR, Hartwig JH, and Italiano JE, Jr. The biogenesis of platelets from megakaryocyte proplatelets. *J Clin Invest* 115 : 3348-3354, 2005.
- 30 Roukis TS, Zgonis T, and Tiernan B. Autologous platelet-rich plasma for wound and osseous healing : a review of the literature and commercially available products. *Adv Ther* 23 : 218-237, 2006.
- 31 Sanchez M, Azofra J, Anitua E, Andia I, Padilla S, Santisteban J, and Mujika I. Plasma rich in growth factors to treat an articular cartilage avulsion : a case report. *Med Sci Sports Exerc* 35 : 1648-1652, 2003.
- 32 Scott A, Khan KM, Roberts CR, Cook JL, and Duronio V. What do we mean by the term « inflammation » ? A contemporary basic science update for sports medicine. *Br J Sports Med* 38 : 372-380, 2004.
- 33 Tang YQ, Yeaman MR, and Selsted ME. Antimicrobial peptides from human platelets. *Infect Immun* 70 : 6524-6533, 2002.
- 34 Virchenko O, and Aspenberg P. How can one platelet injection after tendon injury lead to a stronger tendon after 4 weeks ? Interplay between early regeneration and mechanical stimulation. *Acta Orthop* 77 : 806-812, 2006.
- 35 Wang Y, and Niu J. Platelets inhibit in vitro response of lymphocytes to mitogens. *Immunol Lett* 119 : 57-61, 2008.
- 36 Zhang F, Liu H, Stile F, Lei MP, Pang Y, Oswald TM, Beck J, Dorsett-Martin W, and Lineaweaver WC. Effect of vascular endothelial growth factor on rat Achilles tendon healing. *Plast Reconstr Surg* 112 : 1613-1619, 2003.