

La cryopréservation de dents

Mots clés: transplantation autologue de dents, cryopréservation, banque de dents

MELANIE ZIMMERLI
ANDREAS FILIPPI

Clinique de chirurgie et radiologie
buccodentaire et de stomatologie
de l'Université de Bâle

Correspondance

Prof. Dr méd. dent. Andreas Filippi
Klinik für zahnärztliche Chirurgie,
-Radiologie, Mund- und
Kieferheilkunde
Universitätskliniken für Zahnmedizin
Hebelstrasse 3
CH-4056 Bâle
Tél. 061 267 26 10
Fax 061 267 07 86
E-mail: andreas.filippi@unibas.ch

Traduction Thomas Vauthier



Image en haut: Récipient approprié pour la cryopréservation; le flacon est rempli d'un mélange d'agents nutritifs et d'un cryoprotecteur (antigel).

Résumé La technique de cryopréservation permet de conserver des dents exemptes de caries et parodontalement saines, par exemple après extraction pour des raisons orthodontiques. Il est alors possible de les utiliser, après un stockage de durée variable, en tant que greffons pour une transplantation dentaire autologue en cas de perte prématurée d'une dent naturelle. Chez les enfants et adolescents, la méthode permet ainsi de remplacer des dents perdues par une technique biologique et à frais réduits. Du fait que chez les

patients de ce groupe d'âge la croissance des maxillaires n'est pas terminée, il n'est pas envisageable de recourir à des implants ou à des bridges conventionnels. Pour ces raisons, la cryopréservation représente une modalité thérapeutique alternative pour le remplacement de dents manquantes, en particulier chez les enfants. Les Cliniques universitaires de médecine dentaire à Bâle sont actuellement en train de recueillir des données relatives à cette méthode et de faire les premiers pas vers la création d'une banque de dents.

Introduction

La transplantation de dents est une méthode bien établie en médecine dentaire. Chez les enfants et adolescents, elle permet de remplacer par une dent naturelle propre au patient des dents ne pouvant être conservées (caries), perdues (traumatisme dentaire) ou absentes en raison d'une agénésie. Dans ce groupe

d'âge, la transplantation dentaire est dans bien des cas supérieure à d'autres méthodes de remplacement, comme la fermeture orthodontique de l'espace ou un pont collé – et ce tant sur le plan financier que du point de vue de la durée du traitement et des aspects esthétiques et fonctionnels.

Force est de constater que des transplantations dentaires sont actuellement réalisées avec des taux de succès élevés et des

résultats favorables à long terme (ANDREASEN 1992; ANDREASEN ET COLL. 1970; GALANTER & MINAMI 1968; HOVINGA 1986; SINGH & DUDANI 1970; THRHEYDEN ET COLL. 1995; FRENKEN ET COLL. 1998; SLAGSVOLD & BJERCKE 1978; STÖCKLI 1994; POHL ET COLL. 2005; LANG ET COLL. 2003). Les dents convenant particulièrement bien à la transplantation sont les dents de sagesse, les prémolaires et les canines de lait (LANG ET COLL. 2003; FILIPPI 2009). Un problème qui se pose cependant dans bien des cas est celui de la disponibilité de greffons autologues, du fait que les dents ne sont en général pas perdues avant ou au moment précis qui se prêterait au prélèvement d'une dent à transplanter. Il n'est en revanche pas rare qu'il faille extraire, dans le cadre d'un traitement orthodontique et dans la deuxième phase de la dentition mixte (à partir de l'âge de 10 ans environ), des prémolaires parodontalement saines, exemptes de carie et à pulpe vitale, pour des raisons de manque de place. Il est fort regrettable qu'en l'absence de méthode de conservation adéquate, des greffons presque parfaits soient ainsi perdus. Il faut dès lors se poser la question de savoir s'il n'est pas possible de conserver ces dents en vue d'une transplantation ultérieure dans un autre site chez le même patient. C'est précisément ce que permet de réaliser la cryopréservation (SCHWARTZ 1986; TEMMERMAN ET COLL. 2006).

La cryopréservation est une méthode qui permet de conserver pendant une durée prolongée des cellules et des tissus vivants, à l'aide d'une congélation contrôlée. Le stockage de tissus vivants dans de l'azote liquide à $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ est une technique connue et validée dans d'autres domaines de la médecine (p.ex. sang ombilical) et de la biologie. A cette température, le métabolisme cellulaire, et par conséquent le vieillissement des cellules, est pour ainsi dire arrêté, sans que la capacité de survie ne soit entravée de manière significative. Des examens après décongélation de dents cryopréservées ont montré par exemple qu'environ 97% des cellules à la surface radiculaire restent vivantes et capables de proliférer (OH ET COLL. 2005). Il a été démontré en outre que des cellules parodontales à la surface radiculaire recommencent à se diviser après quelques jours déjà. Après transplantation autologue, elles forment un parodonte intact qu'il est impossible de différencier des structures normales (ANDREASEN 1992; ANDREASEN 1983) (fig. 1 et 2). Quant à la revascularisation de la pulpe, il n'y pas non plus de différences significatives entre des dents transplantées immédiatement et des dents soumises au préalable à une cryoconservation (PRICE 1972; LAUREYS ET COLL. 2001). Et finalement, même



Fig. 1 Surface radiculaire d'une prémolaire mise en culture cellulaire après cryopréservation et décongélation: prolifération cellulaire après 12 jours



Fig. 2 La même dent: prolifération cellulaire après 30 jours



Fig. 3 Prémolaire après cryopréservation et décongélation: analyse dans l'accélérateur de particules DAISY: absence de fissures, aussi bien dans l'émail que dans la dentine (vue de détail dans la région de la limite émail-cément)

les tissus dentaires durs ne subissent aucune formation de fissures de l'émail ou de la dentine – en dépit des différences des coefficients d'expansion de la pulpe et de la dentine (OH ET COLL. 2005) (fig. 3).

Le paramètre critique n'est ni le stockage, ni la durée de la cryopréservation, mais surtout les processus de congélation et de décongélation, ainsi que d'éventuelles variations de la température pendant le stockage. Au cours de la cryopréservation, la pulpe est susceptible de subir des lésions cellulaires provoquées par la formation intracellulaire de cristaux de glace. Pour cette raison, le choix de l'agent cryoprotecteur (antigel) remplissant les contenants de stockage revêt une importance particulière. L'antigel (cryoprotecteur) modifie les contraintes physiques auxquelles les cellules sont sujettes durant les processus de congélation et de décongélation. Ces agents protecteurs réduisent notamment le risque de formation de cristaux de glace intracellulaires durant la phase de congélation (LEIBO 1981). Sous des conditions optimales, des durées de stockage de plusieurs années sans perte

significative de la qualité tissulaire sont ainsi possibles (ANDREASEN 1992). Pour ces raisons, la cryopréservation de dents pourrait permettre la création de banques de dents (OH ET COLL. 2005).

Outre les prémolaires extraites pour des raisons orthodontiques, les dents accidentellement avulsées (le plus souvent des incisives centrales supérieures) sont une autre indication à la cryopréservation. Dans certains cas, il est impossible de réimplanter des dents avulsées, ni le jour même de l'accident, ni pendant les jours suivants, que ce soit en raison de traumatismes généraux nécessitant des traitements prioritaires, ou en raison de pertes importantes de tissus mous, imposant alors le respect d'un délai de réépithélialisation avant qu'il soit possible d'envisager une réimplantation (KRISTERSON ET COLL. 1976). Les fractures maxillaires avec des dents situées dans le trait de fracture sont une autre indication à la cryopréservation. En effet, de telles dents doivent souvent être enlevées avant l'ostéosynthèse. Dans de tels cas, la cryopréservation représente une solution parfaite pour le stockage et la réimplantation ultérieure (HILLERUP 1987). Il en va de même chez les patients présentant une dystostose cléidocrânienne, chez lesquels il est possible de cryoconserver des dents surnuméraires incluses pour une utilisation ultérieure.

La condition préalable à toute cryopréservation et au succès de la transplantation/réimplantation ultérieure est une extraction des dents qui ménage le plus possible les tissus, une exigence qui n'est pas toujours satisfaite, en particulier en cas d'avulsion traumatique. Lorsqu'il y a une indication à l'extraction de prémolaires pour des raisons orthodontiques, les racines devraient être formées à 50–70%, afin de d'assurer de manière prédictible la survie de la pulpe (HENRICHVARK ET COLL. 1987). Avant une éventuelle cryoconservation, il y a lieu d'informer oralement ou par écrit tous les patients, parents ou tuteurs légaux, tant sur la méthode que sur l'utilisation ou le pronostic des dents à extraire, respectivement à transplanter ou à réimplanter.

Technique de la cryopréservation

Procédé opératoire ménageant les cellules et les tissus

Par principe, les fibres gingivales au niveau cervical sont sectionnées avant l'extraction de la dent à l'aide d'un bistouri de taille réduite, afin de préserver autant que faire se peut ces structures (plaie de section franche vs déchirure contuse). Le prélèvement du greffon par avulsion chirurgicale doit être effectué de manière à ménager le plus possible les tissus, en tous les cas sans utiliser d'élévateur et sans basculer le davier, du fait que ces deux gestes risqueraient de provoquer la mort cellulaire sur une large plage du parodonte. La dent est enlevée soit par de légers mouvements de rotation ou par extraction longitudinale (Zalex®) (POHL 2008). Il est impératif de ne pas toucher la surface radiculaire, ni par le davier, ni par d'autres instruments. En effet, les lésions du ciment ou des cémentoblastes augmentent le risque de résorptions radiculaires et réduisent ainsi sensiblement les chances d'une guérison parodontale fonctionnelle (*functional healing*). Les dents convenant le mieux à la cryopréservation sont avant tout les monoradiculées (incisives, canines et prémolaires) qui doivent être favorisées en raison de leur morphologie radiculaire simple (facilitant, le cas échéant, un traitement endodontique ultérieur) et de leur volume compact, réduisant la place nécessaire dans le conteneur de stockage.

Transport respectant la physiologie cellulaire

Immédiatement après l'extraction, la dent est placée dans une boîte de sauvetage de dents contenant un agent de stockage respectant la physiologie cellulaire (Dentosafe®, Sté. Medice Arzneimittel Pütter, Iserlohn, Allemagne; SOS Zahnbox®, Sté. Hager & Werken, Duisburg, Allemagne; Curasafe®, Healthco-Breitschmid SA, Kriens, Suisse) (ESKICI 2003; FILIPPI 2009) (fig. 4). L'immersion complète dans une telle boîte contenant un liquide nutritif permet de transporter la dent sans hâte vers un institut ou laboratoire certifié pour la cryopréservation. En effet, la sur-



Fig. 4 Les différentes boîtes de sauvegarde de dents commercialisées en Suisse

vie des cellules à la surface de la dent (fibroblastes du parodonte, cémentoblastes) y est assurée pendant au moins 24 heures.

Congélation respectant la physiologie cellulaire

Les manipulations préparatrices à la cryopréservation sont effectuées dans des conditions stériles sous une hotte aspirante. La première étape consiste à nettoyer la dent dans plusieurs boîtes de Pétri remplies de sérum physiologique tamponné au phosphate (*Phosphate buffered saline*, PBS), en agitant légèrement le liquide afin d'éliminer le sang et les protéines adhérant à la surface (fig. 5). La dent est ensuite immergée dans une solution de nutrition cellulaire pour un stockage optimisé (p. ex. RPMI, Ross Park Memorial Institute Medium), composé de sérum de veau fœtal (SVE, 40%) et d'un agent cryoprotecteur (10% de DMSO, diméthylsulfoxyde ou glycérol). La dent ainsi conditionnée est ensuite placée dans un flacon d'un volume de 1,8 ml, fermé par un couvercle vissé approprié pour la cryopréservation (Sté. Nunc GmbH & Co., Wiesbaden, Allemagne) (fig. 6). Le récipient fermé de manière étanche est placé dans un conteneur rempli d'isopropanol afin de garantir un refroidissement lent (fig. 7). Le conteneur est entreposé pendant la nuit dans un congélateur dans lequel il est congelé progressivement à une température de -70°C . Le lendemain, le flacon est retiré du conteneur, puis placé dans des racks spéciaux (fig. 8) immergés dans de l'azote liquide (-196°C) (SCHWARTZ 1986). Le processus de congélation peut également être effectué de manière complètement automatique dans des appareils de congélation spécialement conçus à cet effet.



Fig. 5 Élimination des protéines et des résidus de sang adhérant à la surface, par légère agitation de la solution de PBS



Fig. 6 Récipient approprié pour la cryopréservation; le flacon est rempli d'un mélange d'agents nutritifs et d'un cryoprotecteur (antigel).

Décongélation respectant la physiologie cellulaire

Le conteneur est retiré de l'azote liquide (-196°C). La décongélation se fait dans un bain d'eau tiède à 37°C , en effectuant de légers mouvements de va et vient (fig. 9). Dès que le mélange de solution nutritive et de cryoprotecteur entourant la dent commence à se liquéfier, la dent est sortie du conteneur, avant d'être nettoyée à nouveau dans plusieurs boîtes de Pétri remplies de PBS arrangées en série de dilution progressive. Pour finir, la dent est immédiatement stockée dans une boîte de sauvegarde et de trans-

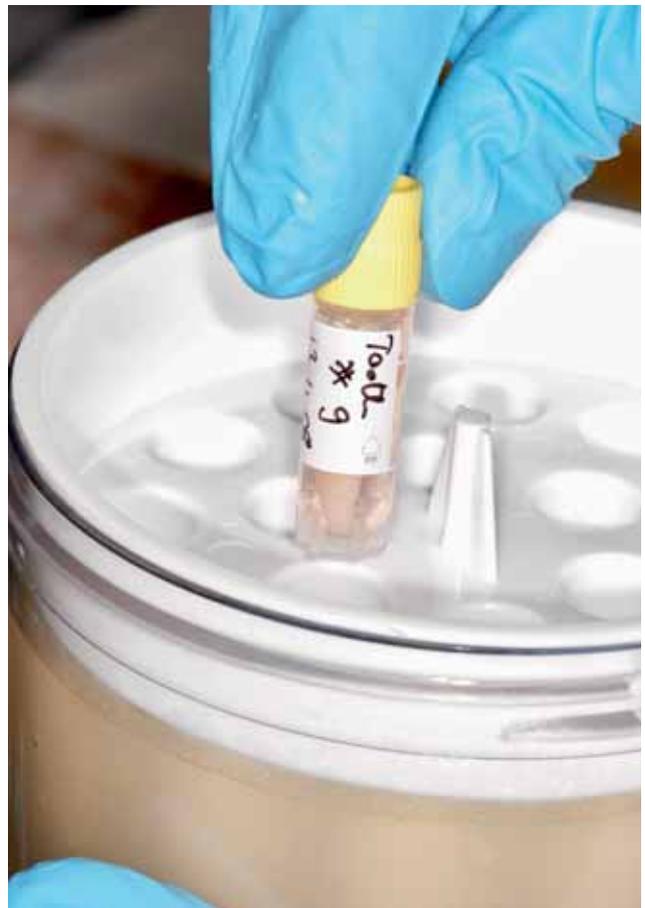


Fig. 7 Le récipient est stocké dans un conteneur rempli d'isopropanol.



Fig. 8 Disposés dans des cassettes ad hoc, les conteneurs sont placés dans un réservoir rempli d'azote liquide.



Fig. 10 La dent décongelée est immédiatement immergée dans une boîte de sauvegarde de dents.



Fig. 9 Décongélation dans de l'eau tiède à 37 °C, sous agitation constante

port, dans des conditions physiologiques jusqu'à la transplantation ou réimplantation subséquente (fig. 10) (SCHWARTZ 1986).

Transplantation de la dent

La procédure chirurgicale après la cryopréservation et décongélation correspond dans une large mesure à celle mise en œuvre pour la transplantation immédiate d'une dent (FILIPPI 2009).

En raison de la procédure en deux temps opératoires, il est cependant nécessaire de créer d'abord le lit receveur (os et tissus mous) de la greffe. Pendant ce temps, la dent est entreposée pendant cinq minutes dans une solution de tétracycline, une précaution qui réduit significativement le risque de nécrose pulpaire en cas de foramen apical ouvert (YANPISSET ET COLL. 2000). Du fait que le pronostic parodontal après cryopréservation et décongélation est pratiquement identique au pronostic parodontal après une transplantation en un seul temps opératoire (KAWASAKI ET COLL. 2004), on peut renoncer dans la plupart des cas à l'application de médicaments antirésorptifs et stimulant la régénération (Emdogain®, Straumann, Bâle, CH, ou des stéroïdes) (POHL ET COLL. 2005). A l'exception des dents avulsées accidentellement, qui doivent dans tous les cas bénéficier de tout le spectre des thérapies médicamenteuses usuelles (ANDREASEN 1992; FILIPPI 2008a).

Indépendamment de la cryopréservation, ce sont essentiellement le degré de croissance radiculaire ainsi que le diamètre du foramen apical qui déterminent si un traitement radiculaire

est nécessaire ou pas. Lorsqu'il s'agit de greffons immatures sur le plan du développement radiculaire, chez lesquels le diamètre du foramen n'est pas inférieur à 2 mm ou dont la longueur du canal radiculaire ne dépasse pas 17 mm, il est possible de renoncer dans un premier temps à un traitement endodontique (PRICE & CSEREPFALVI 1972; ANDREASEN ET COLL. 1995). Si la revascularisation ne devait pas se faire, il est alors indiqué de réaliser ultérieurement un traitement radiculaire destiné à l'apexification par du MTA (Dentsply Maillefer, Ballaigues, CH). Cette stratégie d'expectative présuppose cependant un suivi par des contrôles cliniques et radiologiques à intervalles rapprochés, afin de pouvoir déceler le plus tôt possible l'absence de revascularisation.

En revanche, sur des dents ayant atteint la maturité radiculaire, on ne peut pas s'attendre à une revascularisation. Il est dès lors nécessaire de réaliser un traitement radiculaire, soit durant la transplantation (insertion rétrograde d'un tenon radiculaire) ou peu de temps après (méthode conventionnelle, orthograde). Il ne faut en aucun cas procéder à un traitement endodontique avant la cryopréservation en raison de la différence des coefficients d'expansion de la dentine et du matériau d'obturation radiculaire (ANDREASEN 1992) qui serait susceptible d'influencer l'étanchéité ultérieure de l'obturation. Pour la stabilisation de la dent après la transplantation, l'attelle TTS (Sté. Medartis, Bâle, CH) s'est établie en tant que méthode de choix. La durée de consolidation par l'attelle est de quelques semaines seulement.

Pendant les douze mois suivant une transplantation dentaire, il est impératif de procéder à des contrôles cliniques (inspection, mobilité dentaire, Periotest, profondeur et saignement au sondage, sensibilité) à des intervalles rapprochés. Un diagnostic formel de la revascularisation pulpaire ne peut être posé qu'après un an environ. Les facteurs de risque d'échec (nécrose pulpaire, résorption radiculaire due à une infection, résorption cervicale invasive, ankylose) ne dépendent en principe pas d'une transplantation en un ou en deux temps opératoires (FILIPPI 2008b).

Conclusion

S'adressant essentiellement aux patients jeunes, la cryopréservation les fait bénéficier de la possibilité de sauvegarder une dent naturelle, le cas échéant pour une transplantation ultérieure, lorsque celle-ci a dû être extraite pour des raisons de manque de place (prémolaires) ou d'une infection locale (dents

de sagesse), respectivement suite à un accident ou une fracture maxillaire.

Tant que nous ne disposons pas de méthode permettant de cultiver en laboratoire des dents vivantes, et tant que les implants sont incapables d'induire la formation d'un parodonte vivant – raison pour laquelle ils ne doivent pas être insérés dans un maxillaire n'ayant pas terminé sa croissance – l'importance de la transplantation autologue et de la cryopréservation va continuer à augmenter chez les enfants et les adolescents.

Remerciements

Les auteurs remercient le professeur Giulio Spagnoli pour la cryopréservation des dents dans son laboratoire. Ils adressent également leurs remerciements au professeur Bert Müller et Hans Deyhle pour les analyses des dents dans l'accélérateur de particules DAISY à Hambourg (fig. 3), ainsi qu'à Madame Martha Imholz pour ses recherches sur des dents cryopréserverées dans des cultures cellulaires (fig. 1 et 2).

Bibliographie voir texte allemand, page 428.