

De l'influence du Platelet Rich Fibrin (PRF) sur la prolifération des préadipocytes et kératinocytes tympaniques humains : une nouvelle opportunité pour la lipostructure faciale (technique de Coleman) et la tympanoplastie ?

Influence of Platelet Rich Fibrin (PRF) on proliferation of human preadipocytes and tympanic keratinocytes: A new opportunity in facial lipostructure (Coleman's technique) and tympanoplasty?

Choukroun J. ¹
Braccini F. ²
Diss A. ³
Giordano G. ³
Doglioli P. ³
Dohan D. M. ⁴
(Nice)

Résumé

Objectifs : analyser l'effet du PRF, un concentré plaquettaire et immunitaire autologue, sur la prolifération in vitro de kératinocytes et de préadipocytes humains. Déterminer si ces résultats peuvent ouvrir une nouvelle voie d'investigation clinique, en particulier pour optimiser les résultats des tympanoplasties et des lipostructures du visage (technique de Coleman). **Matériels et méthodes** : des kératinocytes tympaniques et des préadipocytes humains sont collectés et mis en culture par la technique de l'explant. 4 séries de cellules de chaque type sont cultivées en condition normale (control group) et en présence de PRF (test group). Les boîtes de cultures sont retirées pour comptage au 3ème, 7ème, 14ème et 21ème jour. Les évolutions des nombres de cellules sont analysées par un test de variance. **Résultats** : en présence de PRF, le nombre de cellules en culture augmente de plus de 60 % au 7ème jour, et de près de 150 % dès le 14ème jour, par rapport au témoin. Le pic de prolifération quotidienne a lieu vers le 14ème jour. Les deux types cellulaires testés réagissent selon des schémas similaires. **Conclusion** : le PRF, considéré comme un biomatériau de cicatrisation, pourrait être utilisé au cours des chirurgies tympaniques et des lipostructures faciales, afin d'améliorer le résultat thérapeutique. D'autres applications en microchirurgie et en chirurgie plastique sont envisageables, mais des études cliniques spécifiques sont nécessaires pour valider de tels protocoles.

Mots-clés : Concentrés plaquettaires, kératinocyte, lipostructure faciale, pré-adipocyte, PRF (Platelet Rich Fibrin), tympanoplastie.

Summary

Aim: To analyze the effects of PRF (a platelet and immune autologous concentrate) on in vitro proliferation of human keratinocytes and preadipocytes, and to determine if these results may offer an opening on new clinical investigations, particularly in the improvement of tympanoplasties and facial lipostructures (Coleman's technique). **Materials and methods**: Human tympanic keratinocytes and preadipocytes are collected and cultured using the explant technique. 4 series of each type of cells are cultivated either in normal condition (control group) or with PRF (test group). The Petri dishes (of culture) are taken out on the 3rd, 7th, 14th and 21st day, for counting. Evolutions of cells' number are analyzed with a variance test. **Results**: The number of cells in culture increases of more than 60% on the 7th day, and of almost 150% right from the 14th day when in presence of PRF. The daily proliferation peak occurs around the 14th day. The two cellular tested types react similarly. **Conclusion**: The PRF, considered as a healing biomaterial, could be used in tympanic and facial lipostructures surgeries, in order to improve the therapeutic result. Other applications in microsurgery and in plastic surgery may be possible, but specific clinical studies need to validate such protocols.

Key-words: Keratinocyte, facial lipostructure, platelet concentrate, preadipocyte, PRF (Platelet Rich Fibrin), tympanoplasty.

1. Centre Anti-Douleur, 49 Rue Gioffredo, 06000 Nice, France.
Email: joseph.choukroun@free.fr.
2. ORL, Chirurgie Face et Cou, 25 Avenue Jean Médecin, F-06000 Nice, France. Email: fbraccini@wanadoo.fr
3. Laboratoire de Culture Cellulaire, Lycée Jules Ferry, 82 boulevard de la République, 06400 Cannes, France.

4. AP-HP Hôpital Albert Chenevier-Henri Mondor, Département de Chirurgie Orale, 40 Rue de Mesly, 94000 Créteil, France.
LoB5, Université Paris 5, Paris, France.
Email: drdohand@hotmail.com

Article reçu : 30/10/06

accepté : 02/05/07

INTRODUCTION

Les techniques chirurgicales utilisant des apports autologues de cellules humaines sont confrontées à des impératifs de cicatrisation et de régénération tissulaire précoce. Le comportement de ces greffons au cours des premiers jours post-opératoires est influencé par les phénomènes de cicatrisation immédiate, et notamment la rapidité de la néovascularisation [1, 2]. Les principales évolutions des protocoles chirurgicaux les plus codifiés se font ainsi toujours dans le sens de la potentialisation de la cicatrisation et du remodelage initial.

Dans ce domaine, l'utilisation clinique de facteurs de croissance et autres molécules biostimulatrices constitue une voie de recherche primordiale. Les facteurs de croissance plaquettaires en sont les sources les plus connues.

De nombreuses techniques de concentrés plaquettaires autologues ont été développées et appliquées avec plus ou moins de succès en chirurgie orale et maxillo-faciale [3]. Dénommés PRP (Platelet Rich Plasma), ces techniques lourdes permettent d'obtenir au final un concentré de fibrine et de plaquettes à utiliser en application topique [4]. Pour cela, du sang est prélevé sous anticoagulant, puis centrifugé en deux temps : une première centrifugation permet d'éliminer les hématies (les éléments les plus lourds s'accumulant au fond du tube), une deuxième centrifugation permettant d'éliminer au maximum le plasma acellulaire inutile, pour ne recueillir qu'un culot de plaquettes. Ces dernières sont remises en solution dans une partie du plasma (riche en fibrinogène), puis injectées sur le site chirurgical, en présence de calcium et de thrombine bovine permettant la polymérisation du fibrinogène en fibrine et l'activation des plaquettes. De nombreux protocoles cliniques ont été décrits, et plusieurs centrifugeuses spécifiques et automatisées ont été développées [5] ; cependant, toutes ces techniques reprennent le concept de centrifugation en deux temps de sang sous anticoagulant précédemment cité.

En dégranulant, les plaquettes sont sensées libérer sur le site opératoire une quantité importante de facteurs de croissance favorisant la prolifération cellulaire (en particulier le PDGF ou Platelet-Derived Growth Factor), le remodelage matriciel (en particulier le TGF β ou Transforming Growth Factor β) et la protection des cellules cicatricielles (rôle anti-apoptotique de l'IGF ou Insulin-like Growth Factor). Malgré l'intérêt indiscutable de l'apport de telles molécules sur un site opératoire, les résultats mis en avant avec les différents types de PRP sont souvent assez proches de ceux obtenus à l'aide des colles de fibrine conventionnelles, utilisées depuis plus de 30 ans en chirurgie [1, 2, 4]. Les premières études in vitro démontrent toutefois un effet d'augmentation de la prolifération et de la différenciation des ostéoblastes, mais également des fibroblastes [6] et des chondrocytes [7]. Malheureusement, cet effet quantifié in vitro demeurerait limité aux 3 premiers jours de culture, ce qui semblait indiquer que les cytokines étaient rapidement éliminées par le milieu

[8, 9], voire qu'un excès de cytokines pouvait à l'inverse nuire à cette stimulation [10].

Le PRF (Platelet Rich Fibrin) peut être considéré comme un concentré plaquettaire de seconde génération, obtenu à l'aide d'un protocole simplifié [4, 11]. En France, l'utilisation des PRP est largement compromise par les dispositions réglementaires strictes qui entourent la manipulation du sang. Il n'était en particulier pas concevable de réinjecter des composants sanguins après manipulation et mélange avec des anticoagulants, puis de la thrombine bovine. Le PRF est produit sans aucune manipulation biochimique du sang : du sang est prélevé sans anticoagulant dans des tubes de 10 ml, puis immédiatement centrifugé à 400 g (protocole PROCESS®, Nice, France) [12]. Il se forme alors trois strates dans le tube : un culot d'hématies au fond, du plasma acellulaire en surface, et enfin un caillot de PRF entre les deux. Le caillot de PRF constitue une matrice de fibrine d'une grande solidité [1, 2], concentrant quasiment toutes les plaquettes et les leucocytes du prélèvement sanguin [13, 14]. Bien plus qu'un simple concentré plaquettaire et immunitaire, le PRF présente une architecture complexe qui en fait une véritable matrice cicatricielle.

Les principales applications de ce biomatériau autologue ont été décrites initialement en chirurgie orale et maxillo-faciale, principalement en implantologie dentaire [15]. S'il paraît difficile d'utiliser ces membranes de volume modéré au cours des chirurgies les plus lourdes, il est envisageable d'y avoir recours dans de nombreuses interventions de précision, où leurs capacités de support de la cicatrisation pourraient avoir une influence thérapeutique positive [16].

Cette étude a pour but d'objectiver in vitro le comportement de lignées cellulaires manipulées au cours de certains actes chirurgicaux cervico-faciaux, à savoir les kératinocytes du conduit auditif externe et les pré-adipocytes, en présence de PRF.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Prélèvements et préparation des lignées cellulaires

Afin de réaliser des cultures de cellules humaines en présence de PRF, il fallait pouvoir effectuer des prélèvements tissulaires sur des sujets acceptant par la suite de se faire prélever du sang dans un but expérimental afin de produire le PRF nécessaire aux cultures. En effet, pour des raisons évidentes de compatibilité immunitaire, les membranes de PRF doivent être issues du même donneur que les cellules cultivées. Pour cette raison, les prélèvements humains ont été réalisés sur l'un des expérimentateurs lui-même, un homme en bonne santé de 53 ans. Au cours de chirurgies nécessaires et planifiées, un peu de tissu excédentaire a pu être récupéré au lieu d'être détruit.

- Afin d'obtenir des pré-adipocytes, 2 CC de tissu adipeux issus de la paroi abdominale para-ombilicale et 2 CC issus de la face interne du genou gauche, sont conservés.

- Afin de collecter des kératinocytes tympaniques, un fragment épidermique de 2 mm² du fond du conduit auditif externe, à proximité du tympan, est conservé.

Les explants sont transportés et conservés dans du DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) à + 4° C, puis placés en culture selon la technique de l'explant. Les conditions de culture permettent de sélectionner les types cellulaires recherchés. Pour les adipocytes, seul l'explant du genou a généré un nombre suffisant de cellules à cultiver. Les adipocytes matures étant des cellules très différenciées, leur capacité de prolifération est très faible. Ainsi, seul le prélèvement du genou, riche en préadipocytes faiblement différenciés, permet d'obtenir des cellules adipeuses utilisables en culture [17, 18].

Pour rappel, toutes les cellules de cultures primaires in vitro ont au départ une structure fibroblastique, c'est-à-dire que morphologiquement elles se ressemblent toutes (c'est une constante des cultures primaires). Ce n'est qu'à partir du moment où l'on procède à la différenciation que l'on va pouvoir les comptabiliser ou/et les caractériser, biochimiquement ou morphologiquement. Dans le cas présent, les lignées issues de ces cultures primaires sont caractérisées morphologiquement et validées après différenciation provoquée d'un échantillon. Les préadipocytes récupérés constituent la lignée Chouki.1/Adipos, caractérisée par une culture en monocouche, des cellules de forme étoilée mais assez arrondie et des lobules graisseux cytoplasmiques caractéristiques (figure 1). Les kératinocytes tympaniques constituent la lignée Chouki.2/Keratos, caractérisée par une culture en multicouche et des cellules de forme hexagonale très typique et jointives. Par contre, les fibroblastes ne vont pas changer d'aspect morphologique (cellules séparées de forme étoilée) : les lignées contaminées par des fibroblastes sont éliminées.

Au bout du 3ème passage à confluence, les lignées cellulaires collectées sont trypsinées puis congelées à - 80° C.

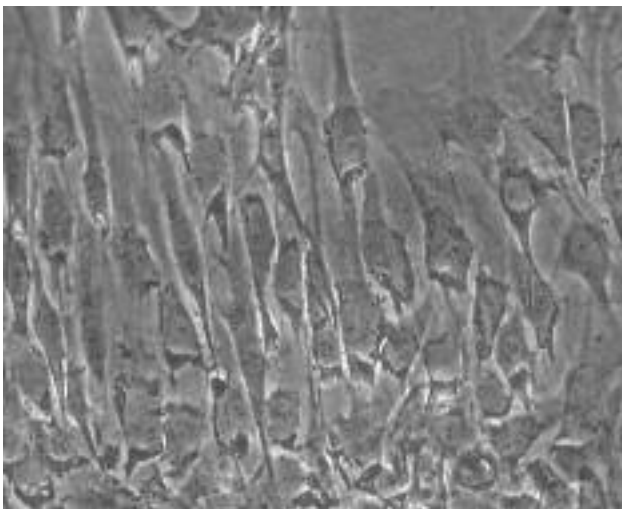


Fig. 1 : Préadipocytes en culture.

Cultures cellulaires.

Le premier jour, pour chacun des deux types cellulaires testés, 8 boîtes de culture (diamètre 60 mm) sontensemencées (20 000 cellules par boîte) et cultivées : 4 boîtes servent de témoin (control group) et 4 reçoivent une membrane de PRF (exprimée de son sérum) issue du même donneur que l'explant (test group). Puis une boîte de chaque groupe est retirée pour numération à chaque temps expérimental, soit au 3ème (D3), 7ème (D7), 14ème (D14) et 21ème (D21) jour. Le comptage des cellules est réalisé, après différenciation, à l'aide d'une cellule de Malassez par la technique du bleu trypan.

Toutes les cultures cellulaires sont réalisées dans des conditions conventionnelles : incubation à 37° C et 5 % de CO₂, culture dans du DMEM 4,5 g de glucose (Cambrex, ref.12-709F), auquel on ajoute des antibiotiques (pénicilline-streptomycine, Cambrex, ref.17-602F) à 1 %, de la glutamine à 200 mM (ref.17-605F) et du sérum de veau fœtal à 10 % (Cambrex, ref.14-801F). Le milieu de culture est changé tous les 2 ou 3 jours, en fonction de l'évaporation.

Les cultures (et comptages) sont réalisés 4 fois pour contrôle de reproductibilité (soit 4 séries de 8 boîtes au total par type cellulaire).

L'évolution du nombre total de cellules en culture au cours du temps est analysée par un test de variance (ANOVA). Le nombre moyen de cellules produites chaque jour au cours de chaque période expérimentale est calculé puis analysé par test de variance (ANOVA).

RESULTATS

Les préadipocytes et les kératinocytes réagissent de manière significative ($p < 0,01$) à l'adjonction de PRF dès le 7ème jour de culture (+ 60 % de cellules avec PRF par rapport au témoin). En présence de PRF, le nombre total de cellules en culture est multiplié par près de 2,5 par rapport au témoin dès le 14ème jour, et cela pour les deux types cellulaires (figures 2 et 4). Cependant, à partir du 14ème jour, le pic de prolifération quotidienne moyenne des préadipocytes atteint un plateau, ce qui signe une stabilisation de la stimulation induite par le PRF (figure 5). Ce phénomène est encore plus marqué avec les kératinocytes : après un pic de prolifération à

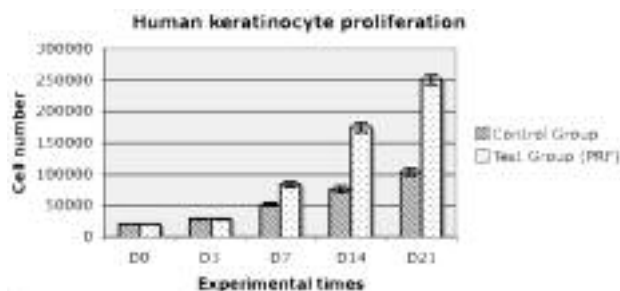


Fig. 2 : Evolution du nombre de kératinocytes humains en culture, avec ou sans PRF, aux 4 temps expérimentaux.

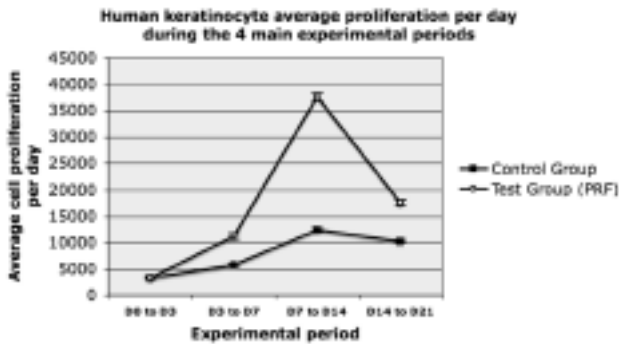


Fig. 3 : Evolution de la production quotidienne moyenne de kératinocytes humains en culture, avec ou sans PRF, durant les 4 périodes expérimentales.

14 jours, le nombre de cellules produites chaque jour chute rapidement, jusqu'à atteindre quasiment le niveau du groupe témoin (figure 3).

La prolifération des types cellulaires testés est accélérée de manière significative par l'adjonction de PRF tout au long de la culture. Cependant le pic de prolifération quotidienne a lieu durant les 14 premiers jours, avant d'entamer un reflux.

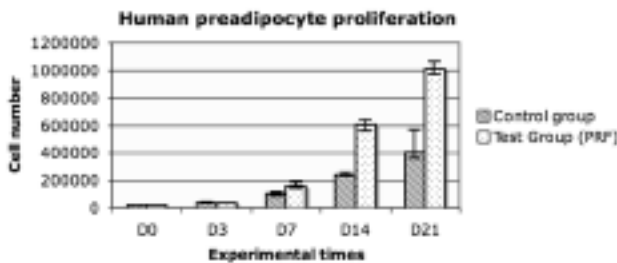


Fig. 4 : Evolution du nombre de préadipocytes humains en culture, avec ou sans PRF, aux 4 temps expérimentaux.

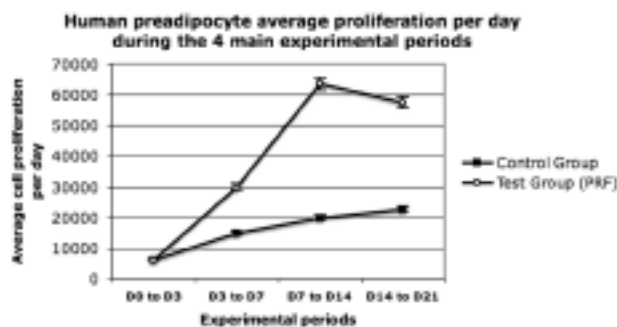


Fig. 5 : Evolution de la production quotidienne moyenne de préadipocytes humains en culture, avec ou sans PRF, durant les 4 périodes expérimentales.

DISCUSSION

La stimulation de la prolifération de cellules greffées représente un atout important pour une meilleure cicatrisation, en particulier pour des types cellulaires tels que les kératinocytes et pré-adipocytes. Les kératinocytes

permettent la fermeture des plaies en recouvrant les zones lésées, et leur prolifération est un élément clé de tout phénomène de cicatrisation superficielle. Les pré-adipocytes vont devenir des cellules matures d'un tissu adipeux organisé ; leur prolifération initiale permet la constitution d'une population de taille critique suffisante pour reconstituer un véritable tissu, homogène, viable et stable dans le temps. Cependant, l'accélération de la prolifération initiale constatée en présence de PRF in vitro ne suffit pas pour s'assurer d'effets cliniques significatifs, pour plusieurs raisons.

En premier lieu, une prolifération initiale accélérée n'implique pas forcément que le nombre total de cellules se différenciant et constituant le tissu final soit plus élevé. En effet, les populations cellulaires se rééquilibrent in vivo en fonction de nombreux paramètres extérieurs (développement d'une néovascularisation adaptée, espace de développement suffisant, niveau de contraintes mécaniques sur les secteurs tissulaires néoformés,...). De plus, une accélération initiale peut tout à fait être suivie d'un ralentissement un peu plus tard au cours du développement, les cellules déjà différenciées ne pouvant réaliser qu'un nombre limité de cycles de division.

En deuxième lieu, une prolifération importante ne garantit pas forcément la cohérence finale du tissu, en particulier si une différenciation importante est nécessaire.

En troisième lieu, une prolifération accélérée in vitro ne signifie pas que le phénomène aura la même ampleur in vivo. En effet, sur un site chirurgical, l'hémostase et la coagulation sont à l'origine d'un caillot de fibrine naturel, associé à une accumulation de plaquettes et de leucocytes. Si cette matrice initiale naturelle de la cicatrisation est moins structurée que le PRF, elle joue un rôle important [1] et il est difficile de déterminer l'effet réel d'un apport supplémentaire de PRF par rapport au phénomène physiologique.

Malgré toutes les limites à apporter à ces premiers résultats expérimentaux, les membranes de PRF sont de façon évidente et certaine à l'origine d'un signal de prolifération élevé qui peut présenter un intérêt légitime dans de nombreuses circonstances cliniques. Les effets cliniques du PRF sont par ailleurs déjà bien documentés en implantologie orale [19, 20].

PRF et tympanoplasties.

En chirurgie otologique, il existe un intérêt évident à l'utilisation de membranes de PRF comme pansement de fibrine et biomatériau de cicatrisation.

Par exemple, au cours d'une myringoplastie classique, un fragment d'aponévrose temporale est positionné sous le tympan perforé afin de servir de tuteur de prolifération pour les kératinocytes des berges tympaniques. Cette prolifération doit permettre l'obturation de la perforation tympanique par le tissu cicatriciel. Le succès de l'intervention est en fait une «course» entre la vitesse de couverture de la perforation tympanique et la

vitesse avec laquelle le tuteur (aponévrose temporale) est résorbé. La période la plus importante de cette cicatrisation se déroule au cours des 3 premières semaines post-opératoires [21, 22]. Cette intervention chirurgicale est aujourd'hui parfaitement maîtrisée, et présente un taux de succès élevé (taux de fermeture supérieur ou égal à 80 % pour la plupart des auteurs). Cependant, un taux d'échec incompressible est signalé par tous les auteurs, principalement pour des problèmes de cicatrisation immédiate. L'application d'une membrane de PRF après tympanoplastie pourrait donc améliorer, à moindre coût, les résultats de cette chirurgie, tant sur la qualité du tissu cicatriciel néoformé que pour les cas d'échecs résiduels. La consistance et le volume de ces membranes auto-logues se prêtent particulièrement bien à de telles applications de microchirurgie.

PRF et Liposculpture

Les techniques de comblement à l'aide de tissu graisseux ont considérablement évolué [23-25], en particulier grâce aux protocoles de systématisation établis dès 1994 par Sydney Coleman [26-28]. Le succès de la liposculpture est dépendant de nombreux paramètres : qualité de la graisse, site de prélèvement, procédés de prélèvement (aspiration manuelle douce), de traitement du greffon (centrifugation) et techniques de réinjection (tunnelisation) [29]. Cependant, malgré les apports évidents de cette standardisation, les lipofillings présentent toujours des résorptions significatives et difficilement prévisibles du tissu adipeux injecté [30, 31] : de nombreux adipocytes matures meurent au cours de la manipulation tissulaire, et le tissu réinjecté est totalement désorganisé par la centrifugation. Les cellules les plus différenciées ne pouvant pas proliférer, la colonisation du site d'injection et l'organisation d'un nouveau tissu adipeux passent nécessairement par la stimulation des préadipocytes.

L'ajout de PRF aux préparations tissulaires réinjectées pourrait avoir plusieurs effets bénéfiques sur ces cellules : la membrane de fibrine du PRF, dense et organisée, peut servir de matrice de regroupement et de nucléation pour les cellules survivantes au transfert, et stimuler leur prolifération pour la colonisation du site [32]. Dans un deuxième temps, cette matrice de PRF pourra servir de guide pour la néoangiogenèse qui se développe dans le secteur tissulaire. Ces effets pourraient permettre aux cellules de survivre aux premiers temps de la greffe tissulaire, lorsque leur environnement est encore très désorganisé et rempli de cellules mortes. Cela pourrait contribuer à limiter les résorptions en volume du tissu injecté et à améliorer la qualité du tissu mis en place.

CONCLUSION

Cette première étude permet de mettre en évidence que le PRF induit une stimulation significative de la prolifération in vitro des kératinocytes et des préadipocytes humains. Cette stimulation de la prolifération ne suffit pas pour justifier d'un intérêt thérapeutique, mais

elle pourrait se révéler très intéressante durant les premiers temps de la cicatrisation au cours d'une greffe tissulaire, en favorisant la prolifération et la sélection des cellules greffées et donc l'intégration du tissu néoformé. Si les manipulations tissulaires au cours des tympanoplasties et des lipostructures pouvaient être améliorées par l'adjonction de ces petites membranes cicatricielles, les applications potentielles en microchirurgie et en chirurgie plastique pourraient être extrêmement nombreuses. Ces constatations expérimentales très encourageantes doivent maintenant être validées sur le plan clinique.

Références

1. CLARK RA. Fibrin and wound healing. ANN N Y ACAD SCI. 2001;936:355-67.
2. VAN HINSBERGH VW, COLLEN A, KOOLWIJK P. Role of fibrin matrix in angiogenesis. ANN N Y ACAD SCI. 2001;936:426-37.
3. MARX RE, CARLSON ER, EICHSTAEDT RM, SCHIMMELE SR, STRAUSS JE AND GEORGEFF KR. Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. ORAL SURG ORAL MED ORAL PATHOL ORAL RADIOL ENDOD. 1998 Jun;85(6):638-46.
4. DOHAN DM, CHOUKROUN J, DISS A, DOHAN SL, DOHAN AJ, MOUHYI J, GOGLY B. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part I: Technological concepts and evolution. ORAL SURG ORAL MED ORAL PATHOL ORAL RADIOL ENDOD. 2006;101(3):e37-44.
5. WEIBRICH G, KLEIS WK, BUCH R, HITZLER WE, HAFNER G. The Harvest Smart PRePTM system versus the Friadent-Schutze platelet-rich plasma kit. CLIN ORAL IMPLANTS RES 2003;14 (2):233-9.
6. OKUDA K, KAWASE T, MOMOSE M, MURATA M, SAITO Y, SUZUKI H, WOLFF LF, YOSHIE H. Platelet-rich plasma contains high levels of platelet-derived growth factor and transforming growth factor-beta and modulates the proliferation of periodontally related cells in vitro. J PERIODONTOL. 2003;74(6):849-57.
7. AKEDA K, AN HS, OKUMA M, ATTAWIA M, MIYAMOTO K, THONAR EJ, LENZ ME, SAH RL, MASUDA K. Platelet-rich plasma stimulates porcine articular chondrocyte proliferation and matrix biosynthesis. OSTEOARTHRITIS CARTILAGE. 2006 DEC;14(12):1272-80.
8. KANNO T, TAKAHASHI T, TSUJISAWA T, ARIYOSHI W, NISHIHARA T. Platelet-rich plasma enhances human osteoblast-like cell proliferation and differentiation. J ORAL MAXILLOFAC SURG. 2005;63(3):362-9.
9. OGINO Y, AYUKAWA Y, KUKITA T, KOYANO K. The contribution of platelet-derived growth factor, transforming growth factor-beta1, and insulin-like growth factor-I in platelet-rich plasma to the proliferation of osteoblast-like cells. ORAL SURG ORAL MED ORAL PATHOL ORAL RADIOL ENDOD. 2006;101(6):724-9.
10. CHOI BH, ZHU SJ, KIM BY, HUH JY, LEE SH, JUNG JH. Effect of platelet-rich plasma (PRP) concentration on the viability and proliferation of alveolar bone cells: An in vitro study. INT J ORAL MAXILLOFAC SURG. 2005;34(4):420-4.
11. DOHAN DM, CHOUKROUN J. PRP, cPRP, PRF, PRG, PRGF, FC ... How to find your way in the jungle of platelet concentrates? ORAL SURG ORAL MED ORAL PATHOL ORAL RADIOL ENDOD. 2007; 103(3): 305-6.
12. DOHAN DM, DEL CORSO M, CHARRIER J-B. Cytotoxicity analyses of Choukroun's PRF (Platelet Rich Fibrin) on a wide range of human cells: The answer to a commercial controversy. ORAL SURG ORAL MED ORAL PATHOL ORAL RADIOL ENDOD 2007; 103(5):587-93.
13. DOHAN DM, CHOUKROUN J, DISS A, DOHAN SL, DOHAN AJ, MOUHYI J, GOGLY B. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part II: Platelet-related biologic features. ORAL SURG ORAL MED ORAL PATHOL ORAL RADIOL ENDOD. 2006;101(3):e45-50.

14. DOHAN DM, CHOUKROUN J, DISS A, DOHAN SL, DOHAN AJ, MOUHYI J, GOGLY B. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part III: Leucocyte activation: A new feature for platelet concentrates? ORAL SURG ORAL MED ORAL PATHOL ORAL RADIOL ENDOD. 2006;101(3):e51-5.
15. CHOUKROUN J, DISS A, SIMONPIERI A, GIRARD MO, SCHOEFFLER C, DOHAN SL, DOHAN AJ, MOUHYI J, DOHAN DM. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part IV: Clinical effects on tissue healing. ORAL SURG ORAL MED ORAL PATHOL ORAL RADIOL ENDOD. 2006; 101(3):e56-60.
16. CHOUKROUN J, DISS A, SIMONPIERI A, GIRARD MO, SCHOEFFLER C, DOHAN SL, DOHAN AJ, MOUHYI J, DOHAN DM. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part V: Histologic evaluations of PRF effects on bone allograft maturation in sinus lift. ORAL SURG ORAL MED ORAL PATHOL ORAL RADIOL ENDOD. 2006;101(3):299-303.
17. RODRIGUEZ AM, ELABD C, DELTEIL F, ASTIER J, VERNOCHE C, SAINT-MARC P, GUESNET J, GUEZENNEC A, AMRI EZ, DANI C, AILHAUD G. Adipocyte differentiation of multipotent cells established from human adipose tissue. BIOCHEM BIOPHYS RES COMMUN. 2004;315(2):255-63.
18. RODRIGUEZ AM, ELABD C, AMRI EZ, AILHAUD G, DANI C. The human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. BIOCHIMIE. 2005;87(1):125-8.
19. SIMONPIERI A, CHOUKROUN J, GIRARD MO, OUAKNINE T, DOHAN D. Implantation immédiate post-extractionnelle : l'intérêt du PRF. IMPLANTODONTIE. 2004;13(3):177-89.
20. SIMONPIERI A, DOHAN D. Intérêt du PRF pour les réhabilitations bimaxillaires complexes avec greffes osseuses multiples, implantations post-extractionnelles et mise en charge immédiate : présentation d'un cas clinique. IMPLANT. 2005;11(1):33-47.
21. MERCHANT SN, MCKENNA MJ, ROSOWSKI JJ. Current status and future challenges of tympanoplasty. EUR ARCH OTORHINO LARYNGOL. 1998;255(5):221-8.
22. DOWNEY TJ, CHAMPEAUX AL, SILVA AB. AlloDerm tympanoplasty of tympanic membrane perforations. AM J OTOLARYNGOL. 2003;24(1):6-13.
23. FOURNIER PF. Facial recontouring with fat grafting. DERMATOL CLIN. 1990;8(3):523-37.
24. ILLOUZ YG. The fat cell "graft": A new technique to fill depressions. PLAST RECONSTR SURG. 1986;78(1):122-3.
25. AYACHE S, BRACCINI F, FACON F, THOMASSIN JM. Adipose graft: An original option in myringoplasty. OTOL NEUROTOL 2003; 24(2):158-64.
26. COLEMAN WP, 3RD. Autologous fat transplantation. PLAST RECONSTR SURG. 1991;88(4):736.
27. COLEMAN SR. Long-term survival of fat transplants: Controlled demonstrations. AESTHETIC PLAST SURG. 1995;19(5):421-5.
28. COLEMAN SR. Facial recontouring with lipostructure. CLIN PLAST SURG. 1997;24(2):347-67.
29. COLEMAN SR. Structural fat grafts: The ideal filler? CLIN PLAST SURG. 2001;28(1):111-9.
30. LEVAN P, PARANQUE AR. Optimizing lipostructures: Applications in maxillofacial surgery. REV STOMATOL CHIR MAXILLOFAC. 2003;104(1):43-8.
31. VOLPEI C, SABATIER H. Facial aesthetic lipostructure. REV LARYNGOL OTOL RHINOL (BORD). 2006;127(1-2):51-6.
32. BRACCINI F, CHOUKROUN J. New improvement in facial lipo-filling. The benefits of growth factors. 3rd ENT Franco-American Symposium, Hilton Hotel, New-York, 2-3 June 2006.

PRESSE / PRESS

OTOACOUSTIC EMISSIONS CLINICAL APPLICATIONS

Martin S. Robinette, Theodore J. Glatke

2007 - 436 pp - illustrations - hardcover - third edition

Price : EUR 69,95 - CHF 115,-

ISBN: 978-3-13-103713-8

Thieme Medical Publishers, Inc, 333 Seventh avenue, New York, NY 10001, USA.

www.thieme.com



developed by Dr David Kemp, Ph. D., which contains animations, movies, and interviews - an indispensable aid to both teaching and reviewing key concepts.

From physiological phenomena to diagnostic and clinical applications, this book is a complete reference on otoacoustic emissions that will provide graduates in audiology and residents in otolaryngology and otology with all the essential information needed for research and professional practice.

Martin S. Robinette, Ph. D., is Professor of Audiology, Mayo Clinic College of Medicine, Mayo Clinic Scottsdale, Scottsdale, Arizona, USA.

Theodore J. Glatke, Ph. D., is Professor of Speech and Hearing Sciences, University of Arizona, Tucson, Arizona, USA.