



Consolidation osseuse et biotechnologies État des lieux

Prof. L. GALOIS

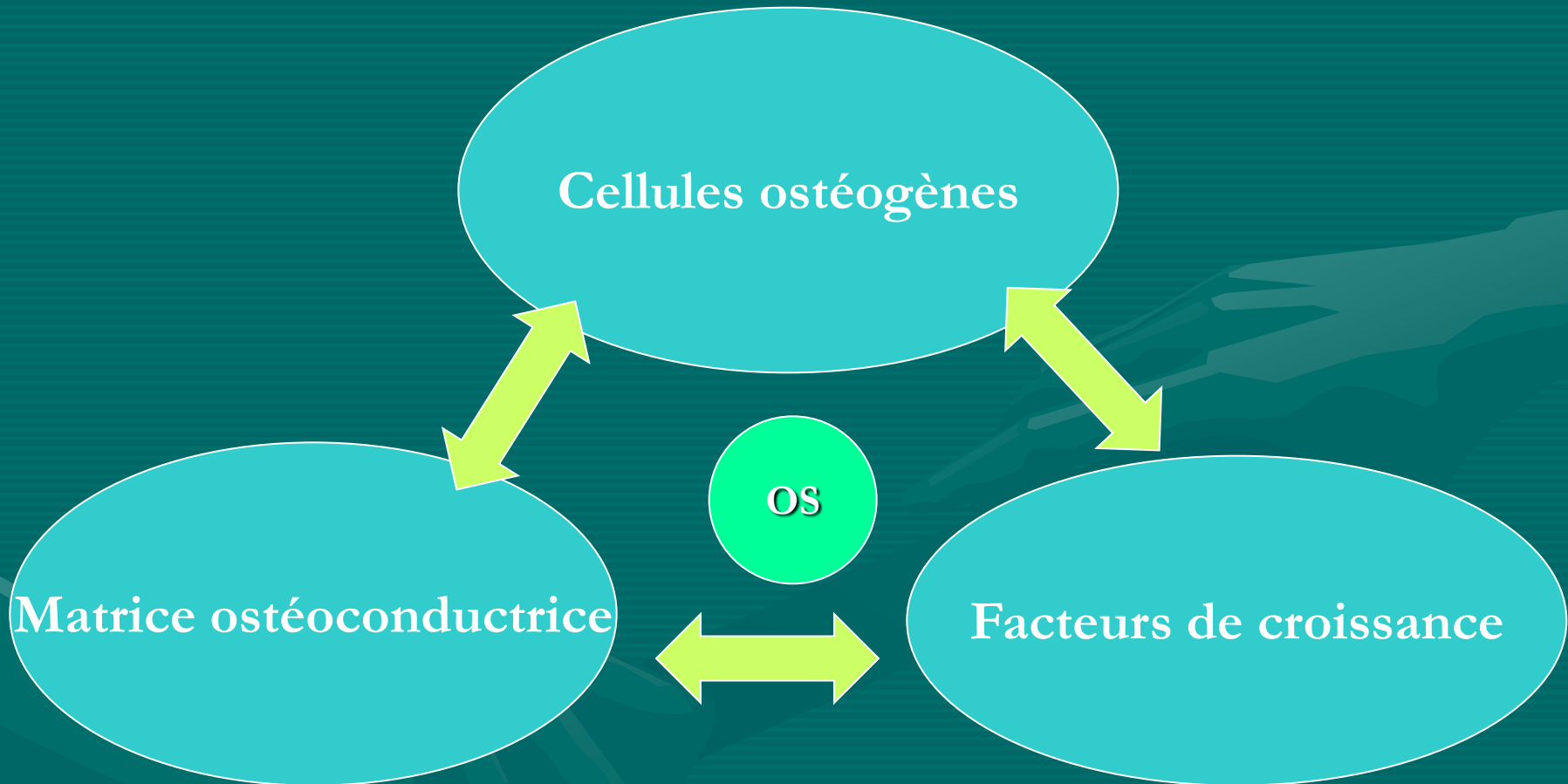
Centre Hospitalier Universitaire de
NANCY

La problématique

- Tissu osseux : forte aptitude à se réparer
- MAIS → Situations cliniques particulières : pas de réparation spontanée ni de consolidation
 - Taille critique
 - Localisations particulières : tibia, humérus....
- Nécessité pour le chirurgien d'agir
 - Autogreffe iliaque
 - Biotechnologies ++



Les acteurs de la consolidation



Thérapeutiques « biologiques »

- Thérapie cellulaire
 - Moelle osseuse : ponction-concentration-réinjection
PCR
 - Cellules souches mésenchymateuses

- Facteurs de croissance
 - BMP

ponction-concentration-réinjection



Moelle Osseuse

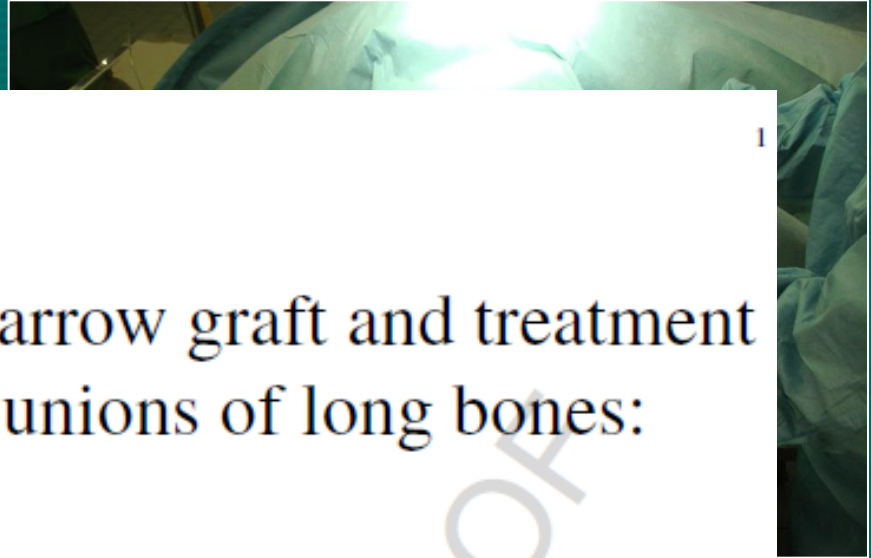
- Compartiment Hématopoïétique
- Compartiment Stromal :
 - Cellules souches précurseurs des cellules ostéogéniques : CFU-F
- Facteurs de Croissance

Technique : prélèvement

- Anesthésie générale
- Crêtes iliaques postérieures
- Ponction 300ml
- Recueil dans une poche stérile



Technique: prélèvement



Bio-Medical Materials and Engineering 00 (2009) 1–6
DOI 10.3233/BME-2009-0592
IOS Press

1

Autologous bone marrow graft and treatment of delayed and non-unions of long bones: Technical aspects

Laurent Galois ^{a,*}, Danièle Bensoussan ^b, Jérôme Diligent ^a, Astrid Pinzano ^c,
Cristel Henrionnet ^c, Elie Choufani ^a, Jean-François Stoltz ^b and Didier Mainard ^a

^a *Department of Orthopaedic Surgery, University Hospital of Nancy, Nancy, France*

^b *Tissular and Cellular Therapy Unit, University Hospital of Nancy, Vandoeuvre-les-Nancy, France*

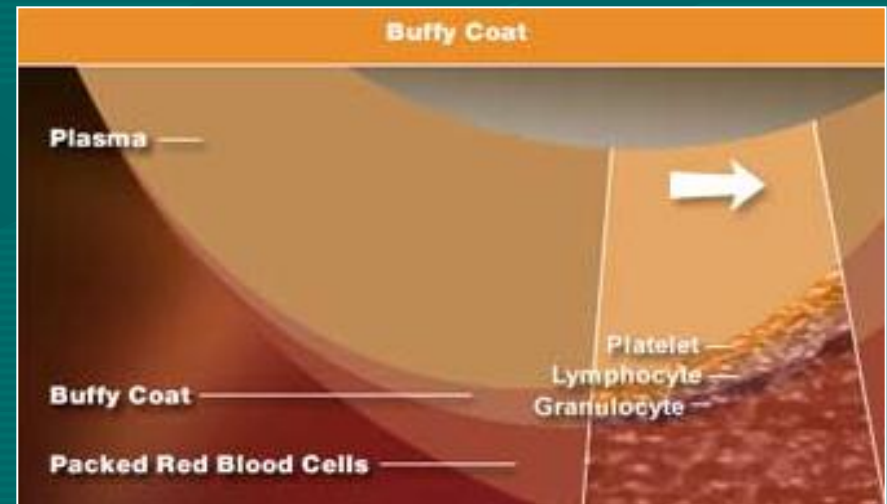
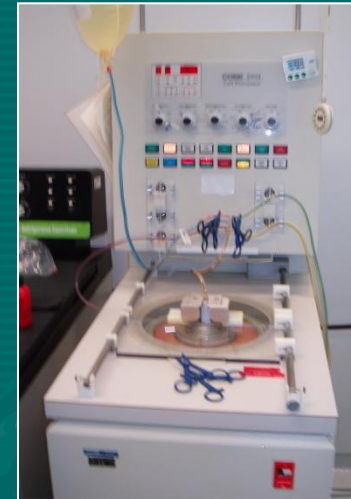
^c *UMR 7561 CNRS – Nancy University, Faculty of Medicine, Vandoeuvre-les-Nancy, France*

stérile



Technique: concentration

- 2 techniques
 - Buffy coat
 - Gradient de densité (Ficoll)
- Contrôle qualité
 - Bactériologie
 - Numération
 - Cultures CFU-GM, CFU-F
 - Dosage CD34+



Technique: réinjection

- Même temps ou 2nd temps opératoire
- Anesthésie générale
- Contrôle radioscopique



Mécanismes d'action PCR



Action directe

- Ostéogénèse (*Goujeon*)
- en site ectopique (*Friedenstein*)
- Cellularité / Capacité ostéogénique (*Connolly*)
- ⇨ CFU-F dans les pseudarthroses (*Hernigou*)

Mécanisme indirect : effet ponction

- Accélération de la consolidation par la ponction
(*Ilizarov*)
- « Ostéopoïétine » (*Lippiello*)

↪ Stimulation de l'ostéogénèse

double action

Résultats

- 45 dossiers de pseudarthroses
- **65 % de consolidation** (tibia : 69, fémur : 62)
- **Facteurs péjoratifs** : tabac, alcool, corticothérapie, radiothérapie, diabète, sepsis
- Age, sexe : pas de différence significative
- Délai entre la fracture et la PCR moelle +++
 - **Intérêt d'une injection précoce** (retard consolidation)
- **Cellularité CFU-F** :
 - Pas de corrélation avec **taux** de consolidation
 - Corrélation négative ($r=-0,55$) avec **délai** de consolidation
 - Pas de valeur seuil pour obtenir la consolidation



Conclusion

- Technique fiable pour les membres inférieurs
- Ne coupe pas les ponts
- Peu invasive, morbidité faible / GOCS
- A proposer précocement
- S'intègre dans l'arsenal thérapeutique des pseudarthroses

Exemple



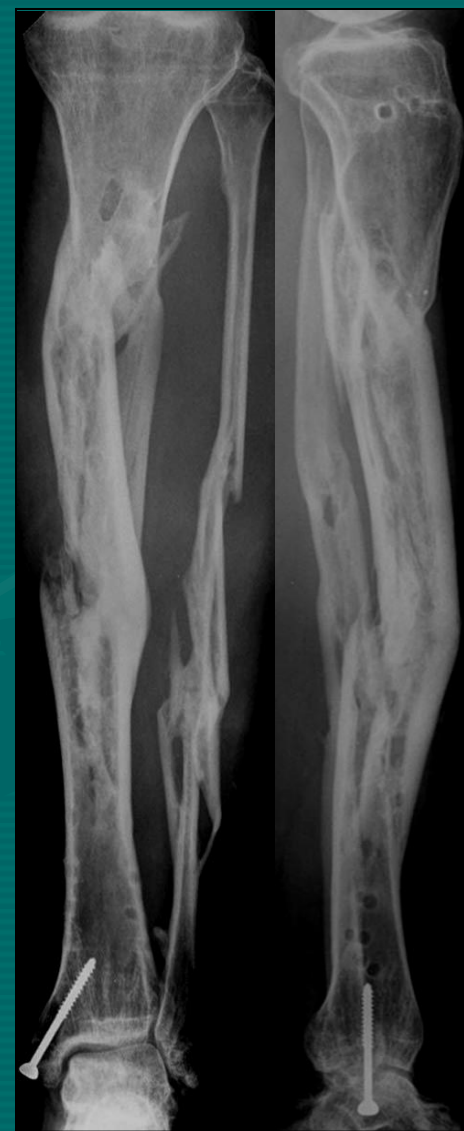
Pré-op



GMO



M4



M12

LES "BMP"

Bone morphogenetic protein

Introduction

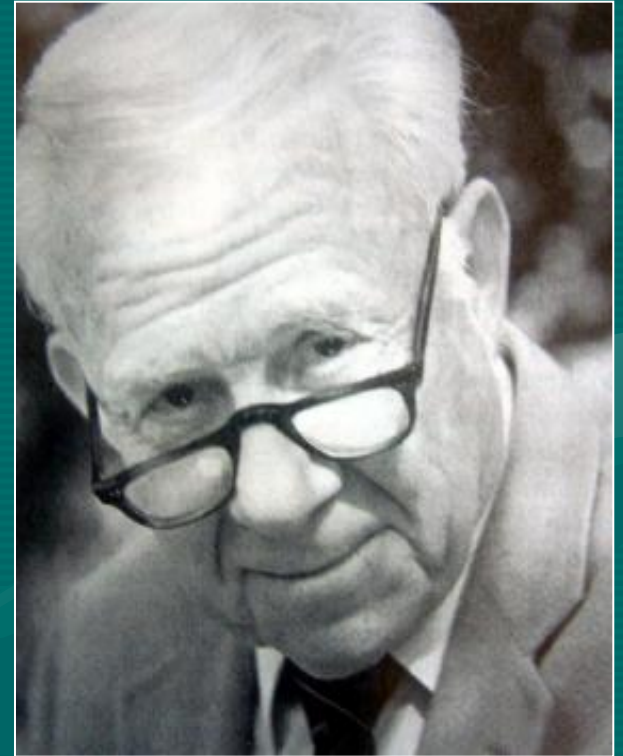
- Les protéines de la morphogenèse osseuse sont produites par les **ostéoblastes** et jouent un rôle fondamental dans le contrôle de la formation et de la réparation osseuse
- Seuls facteurs de croissance ostéoinducteurs (terme défini par la formation d'os *de novo* aussi bien en site osseux que non osseux) connus à ce jour

Facteurs de croissance impliqués dans la réparation osseuse

- Origine : matrice osseuse ou tissus environnants
- Rôle central dans la réparation osseuse
- Actions :
 - Recrutement des cellules mésenchymateuses
 - Prolifération
 - Différentiation en cellule osseuse
- Ces facteurs de croissance comprennent :
 - TGF- β , **BMP**, FGF, PDGF, IGF

- C'est à **Urist** en 1965 qu'on doit la notion d'ostéo-induction par certaines protéines de la matrice osseuse dites **protéines osseuses morphogénétiques (BMP)**

- 1965 : découvre la demineralized bone matrix (DBM)
- 1971 : identifie les bone morphogenetic protein (BMP)
- 1980 : isole la BMP-3 (ostéogénine)

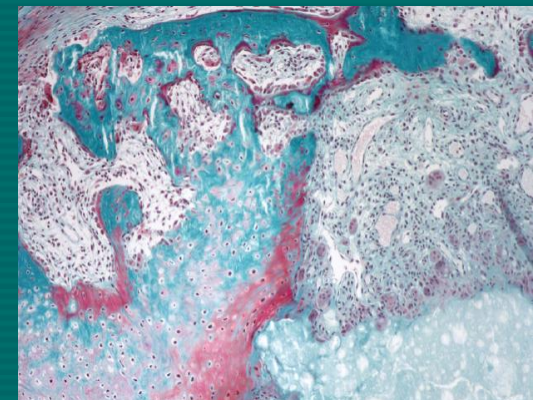


- On s'aperçut que ces protéines étaient relativement nombreuses ; on pouvait les intégrer dans la **super-famille TGF- β** (transforming growth factor)
- BMP \approx 1/3 famille TGF- β
- rôle actif
 - dans l'embryogénèse
 - la réparation tissulaire
 - la formation et la consolidation de l'os.

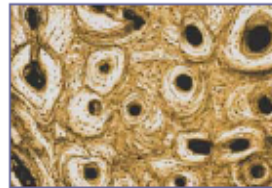
- À ce jour, plus de **20 protéines** différentes ont été isolées
- Les propriétés des huit premières sont cependant les mieux connues, notamment les **protéines 2 et 7** (nombreuses études expérimentales et cliniques)
- **Les BMP 2, 4, 6, 7 et 9 ont montré des capacités d'induction osseuse**
- Chaque protéine joue un rôle particulier, isolément ou en association avec les autres.
- Il se dessine progressivement une **cascade de la consolidation osseuse** (sur le schéma de la coagulation sanguine)

Effets

- régulation du tissu osseux et cartilagineux de manière différente chez l'embryon, chez l'enfant et chez l'adulte
- À faible dose : prolifération cellulaire
- Forte dose : différenciation
- Induction tissu cartilagineux
 - Formation et remodelage cartilage hyalin
- Induction tissu osseux : 2 voies
 - Directe
 - Voie cartilagineuse



Cycle de remodelage osseux



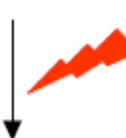
BMP-2



Chemotaxie /
Recrutement

Cellule Mésoenchymateuse

Prolifération



BMP-2

Cellule Mésoenchymateuse

Cellule Mésoenchymateuse

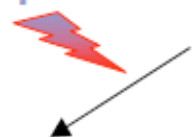
Cellule Mésoenchymateuse

BMP-2



Ostéoclaste

BMP-2
BMP-7



Différentiation

BMP-2
BMP-7



Os Trabéculaire

Ostéoblaste



BMP-7

Chondroblaste

Origine

- **Naturelle**

- os bovins ou humains
- passage en milieu acide (déminéralisation de l'os et la rupture des chaînes de polypeptides)
- purification des protéines
- MAIS rendement faible ($1\mu\text{g}/\text{kg}$ os) et risque sanitaire potentiel (transmission agents pathogènes animal-homme ou homme-homme)

- **Synthèse** +++

- par génie génétique : protéine recombinante
- quantités importantes ++
- rhBMP-2 (origine humaine) ou rbBMP-2 (origine bovine)

- **OSIGRAFT®**

rhBMP-7 = OP-1 = eptotermine alpha

AMM en juillet 2001

Howmedica International, distribué par Stryker France

- **INDUCTOS®**

rhBMP-2 = dibotermine alpha

AMM en septembre 2002, extension d'indication en mars 2005

Wyeth, commercialisé par Medtronic

- **Remboursés en sus des GHS**

- INDUCTOS® 2 900€ HT

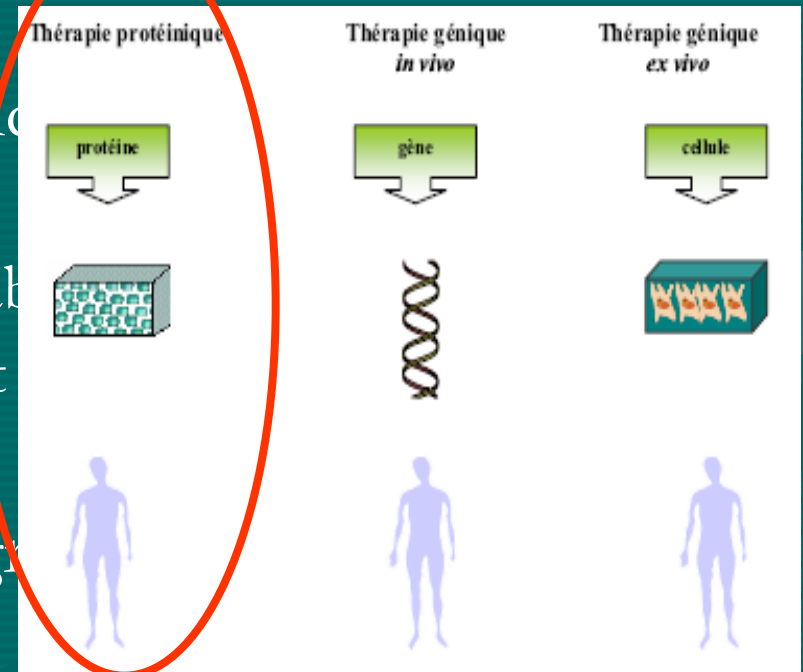
- OSIGRAFT® 4 100 € HT

Support

- Nécessité car élimination rapide par l'organisme
 - système de libération
 - action locale contrôlée et durable
 - limiter diffusion systémique et effets II
 - SUPPORT (matrice)
- Absorption et libération progressive
- Résorption progressive
- Support ostéoconducteur
- Éponges collagène ++
- Céramiques phospho-calciques...

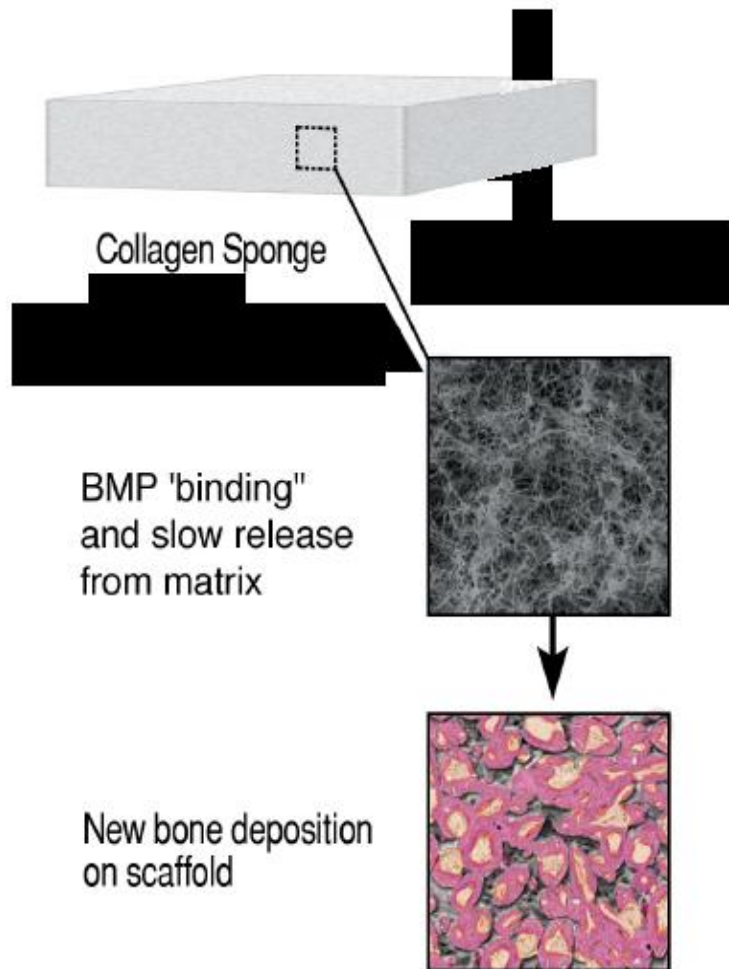
Support

- Nécessité car élimination rapide
 - système de libération
 - action locale contrôlée et durable
 - limiter diffusion systémique et
 - SUPPORT (matrice)
- Absorption et libération progressive
- Résorption progressive
- Support ostéoconducteur
- Éponges collagène ++
- Céramiques phospho-calciques...



Exemple: INDUCTOS®

Eponge résorbable de collagène



- Assure le maintien en place de la rhBMP-2
- Fournit l'environnement favorable à la formation osseuse
- L'éponge se résorbe en parallèle de l'induction osseuse

Essais cliniques

3 études → indications

- **Friedlaender** 2001 JBJS Am {BMP-7}
pseudarthroses de jambe, comparaison BMP7 vs Greffe spongieuse autologue
 - Pas de différence statistiquement significative de l'utilisation de rhBMP-7 versus autogreffe

→ *Indication BMP-7 (OP-1, Osigraft®)*
- **Govender** (BESTT) JBJS 2002 {BMP-2 Evaluation in Surgery for Tibial Trauma}
 - fractures ouvertes de jambe traitée par BMP-2 (1.5mg/ml = ↑ taux consolidation, ↓ taux infection)

→ *indication BMP-2 (Inductos)*

 - Diminution de 44% du risque d'échec par l'utilisation de rhBMP-2 versus intervention chirurgicale seule (RR = 0,46 [0,40 – 0,78])

Etudes cliniques

- Burkus {BMP-2} *J spinal disorder tech 2002-2003* :
arthrodèse lombaire
 - Non infériorité mise en évidence entre rhBMP-2 et autogreffe osseuse
- Depuis, nouvelles études :
 - **Schmidmaier** *Injury 2007* : revue générale
 - **Mulconrey** *Spine 2008* : alternative crête iliaque
 -

Indications actuelles : AMM

traumatologie

chirurgie vertébrale

- **Osigraft®** : traitement des fractures non consolidées du tibia datant d'au moins 9 mois chez des patients dont le squelette est adulte dans les cas où un traitement antérieur par autogreffe a échoué ou quand l'utilisation d'une autogreffe est impossible
- Avis de la commission de transparence Novembre 2001 : SMR important, ASMR importante (niveau II)

AMM (suite)

- **Inductos® :**
 - Fractures du tibia adulte en tant que complément au traitement standard comprenant la réduction et fixation par enclouage
 - Avis de la commission de transparence Octobre 2003 : SMR important, ASMR modéré (niveau III)
 - Arthrodèse lombaire antérieure sur un niveau (L4-S1) chez les adultes présentant une discopathie dégénérative et ayant suivi un traitement non chirurgical pour cette pathologie pdt au moins 6 mois
 - Avis de la commission de transparence Mai 2006 : SMR modéré, pas d'amélioration du service médical rendu (niveau V)

■ Enquête nationale auprès de 24 CHU

- État des lieux sur l'année 2006 par questionnaire

	Osigraft®	Inductos®
Nombre de CHU utilisateurs	17 CHU (10 CHU utilisent les 2 références)	17 CHU
Dépense	272 000 €	578 000 €
Utilisations hors AMM	7 CHU - Fractures d'os long (hors tibia) - Arthrodèse lombaire postéro latérale	11 CHU - Pseudarthrose - Fractures autres que tibia

*C. Combes (CHU St Etienne) pour la commission des pharmaciens de CHU
« groupe innovation thérapeutique » (SNPHPU 2007, résultats en cours de
publication dans le Journal de Pharmacie Clinique)*

Risques et effets indésirables

- Fréquences faibles
- Inductos® : céphalées, tachycardie, hyperamylasémie, hypomagnésémie
- Lyse osseuse (métaphyse), calcifications ectopiques, formation d'AC anti-BMP,...
- Pas de signes de cancérogénèse observés (animal et homme)
- Œdème en chirurgie cervicale

Perspectives

- Techniques injectables (pâte de phosphate calcium)
- « growth factor coating implants »
- Thérapie génique :
 - Méthodes visant à faire sécréter par les cellules des protéines définies
 - Avantage : sécrétion prolongée de la protéine (alors que les protéines déposées chirurgicalement sont rapidement dégradées)
- Association de plusieurs facteurs de croissance
 - BMP+BMP
 - PDGF, IGF.....

