

RÉPUBLIQUE ALGERIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ BATNA 1 -BATNA-
INSTITUT DES SCIENCES VÉTÉRINAIRES
ET DES SCIENCES AGRONOMIQUES



THÈSE

Pour l'obtention du diplôme de

DOCTORAT EN SCIENCES

Filière

Sciences vétérinaires

Option

Chirurgie des petits animaux

Présentée Par :

KALBAZA Ahmed Yassine

THÈME

ÉTUDE COMPARATIVE ENTRE LA SUBSTITUTION
OSSEUSE À BASE D'HYDROXYAPATITE ET SA
COMBINAISON AVEC LA MOELLE OSSEUSE

JURY

Président : AISSI Adel
Examineur : BENNOUNE Omar
Examineur : BOUDJOURAF Nouar
Examineur : DERDOUS Chaouki
Rapporteur : AMARA Karim
Co-rapporteur : MELIZI Mohamed

Grade et Université

Pr – Université BATNA 1
Pr – Université BATNA 1
Pr – Université BATNA 2
Pr – Université BATNA 2
Pr – Université TIARET
Pr – Université BATNA 1

ANNÉE UNIVERSITAIRE : 2017/2018

Dédicace

Au nom de Dieu clément et miséricordieux.

Au prophète de la paix et de la miséricorde.

A celle qui m'a transmis la vie, l'amour et le courage, à ma très **chère maman** toutes mes joies, mon amour et ma reconnaissance.

A mon très **cher père** pour qui je prie dieu ardemment pour la conservation de sa santé et de sa vie.

Qu'Allah vous protège pour nous.

A ma très **chère femme Asma**, Que dieu réunisse nos chemins pour un long commun serein et que ce travail soit témoignage de ma reconnaissance et de mon amour sincère et fidèle.

Aux flammes qui éclaircissent ma vie, aux visages d'intelligence et d'innocence, mes adorables frère et sœurs : **Mohamed El Amine, Amina** et **Khadidja**, je vous souhaite tout le bonheur du monde.

A mes chers et meilleurs amis **BELFEDHAL Nadji** et **GHERIBI Madjid**.

A tous mes proches.

J'espère que vous trouviez dans ce travail toute ma reconnaissance et tout mon amour.

Remerciements

Je remercie en premier lieu **le grand Dieu** de m'avoir aidé à réaliser ce travail.

Louange à vous **Dieu** jusqu'à ce que vous soyez satisfait et louange à vous si vous êtes satisfait.

Je tiens à remercier sincèrement **Monsieur AMARA Karim**, qui, en tant que Directeur de thèse, s'est toujours montré à mon écoute et très disponible tout au long de la réalisation de cette thèse, ainsi que pour l'inspiration, l'aide et le temps qu'il a bien voulu me consacrer et sans qui ce travail n'aurait jamais vu le jour.

Mes remerciements s'adressent également à mon Co-directeur de thèse **Monsieur MELIZI Mohamed** pour ses encouragements, son aide précieuse et la patience dont il a su faire preuve malgré ses charges académiques.

Je tiens à remercier **Monsieur AISSI Adel** d'avoir accepté de présider le jury.

Mes remerciements s'adressent également à **Monsieur BENNOUNE Omar**, **Monsieur BOUDJOURAF Nouar** et **Monsieur DERDOUS Chaouki** d'avoir accepté de juger ce modeste travail.

Un merci spécial à mon beau-père **Monsieur CHIBA Naaman** pour son aide et ses encouragements.

Mes plus sincères remerciements s'adressent à **Monsieur BENCHOHRA Mokhtar** pour sa générosité et sa collaboration dans ce modeste travail.

Toute ma gratitude s'adresse à **Monsieur HEMIDA Houari** pour son aide précieuse et ses conseils.

Je remercie également **Monsieur DELLAL Abdelkader**, qui, en tant que Directeur de laboratoire, a veillé à ce que tous les moyens nécessaires à la réalisation de cette thèse soient disponibles.

Un merci spécial à **Monsieur BOULENOUAR Mourad**, pour ses conseils et son aide précieuse.

Mes plus vifs remerciements s'adressent à **Monsieur OUCIF Ahmed** et tout le personnel de son cabinet.

Toute ma gratitude s'adresse à **Monsieur DJAABA** et tout le personnel de la clinique IBN-SINA.

Je remercie également tout le personnel de l'université IBN-KHALDOUN – TIARET et de l'université BATNA 1.

Liste des tableaux et des figures

Liste des tableaux :

Tableau n° 01 : Le système AO VET de classification morphologique alphanumérique des fractures	15
Tableau n° 02 : Taux d'union en termes d'union clinique	21
Tableau n° 03 : Système de score radiologique et histo-pathologique modifié par LANE & SANDHU (1987) et HEIPLE <i>et al.</i> (1987).....	66
Tableau n° 04 : Moyennes \pm écarts-types des scores radiologiques.	71
Tableau n° 05 : Moyennes \pm écarts-types des scores histo-pathologiques.....	73

Liste des figures :

Figure n° 01 : Section sagittale d'un os long.....	3
Figure n° 02 : Diagramme d'une section d'un os compact au niveau de la diaphyse.....	5
Figure n° 03 : Section d'un os compact au niveau de la diaphyse	5
Figure n° 04 : Diagramme d'une section d'un ostéon en développement.....	5
Figure n° 05 : Section du mur d'un os long montrant l'os compact et spongieux	6
Figure n° 06 : Section d'un os lamellaire	6
Figure n° 07 : Types de cellules osseuses	8
Figure n° 08 : Stages de développement des ostéoblastes et des ostéocytes à partir des cellules souches et facteurs et marqueurs contributeurs	8
Figure n° 09 : Stages du développement des ostéoclastes à partir de la lignée des monocyte/macrophage et les facteurs contributeurs	9
Figure n° 10 : Etapes du cycle de remodelage	10
Figure n° 11 : Réduction de la densité de l'os résultant d'un déséquilibre du remodelage	11
Figure n° 12 : Types de fractures diaphysaires	15
Figure n° 13 : Types de fractures proximale et distale d'un os long.	15
Figure n° 14 : Nomenclature descriptive des fractures diaphysaires	17
Figure n° 15 : Nomenclature descriptive des zones de fracture proximale et distale.....	18
Figure n° 16 : Radiographie d'un chien avec une pseudarthrose hypertrophique du fémur	24
Figure n° 17 : Radiographie d'un chien avec une pseudarthrose atrophique dans la partie radiale distale.....	25
Figure n° 18 : Radiographie du tibia d'un chien avec une ostéomyélite.....	25
Figure n° 19 : Déformations osseuses.	26
Figure n° 20 : Vue dorso-palmaire de la patte antérieure d'un chien avec une ostéopathie hypertrophique.....	27
Figure n° 21 : Radiographie latérale du fémur d'un chien immature avec un panostéite	28
Figure n° 22 : Radiographie de la partie distale du radius du chien avec un ostéosarcome.....	32
Figure n° 23 : Radiographie d'un chien avec une ostéomyélite aiguë après réduction ouverte et stabilisation d'une fracture fémorale	36
Figure n° 24 : Instruments chirurgicaux utilisés.....	57
Figure n° 25 : Matériel utilisé.....	57
Figure n° 26 : Mise de l'animal en décubitus latéral, mise en place du champ opératoire et antisepsie du site opératoire	60
Figure n° 27 : Incision du plan cutané et sous-cutané	60
Figure n° 28 : Détachement des insertions musculaires et exposition de la diaphyse radiale..	61
Figure n° 29 : Incision du périoste et son excision sur la partie d'os à enlever.	61
Figure n° 30 : Création de la première ostéotomie par sciage du radius.	62
Figure n° 31 : Réalisation de la deuxième ostéotomie.	62

Figure n° 32 : Comblement du déficit par la poudre d'hydroxyapatite.....	63
Figure n° 33 : Introduction de l'aiguille dans la crête iliaque et aspiration de la moelle osseuse.....	63
Figure n° 34 : Ajout de trois gouttes de moelle osseuse à la poudre d'hydroxyapatite	64
Figure n° 35 : Rapprochement des deux muscles par un surjet simple.....	64
Figure n° 36 : Suture cutanée et protection de la plaie par une pulvérisation d'un cicatrisant à base d'Aluminium	65
Figure n° 37 : Appareil de radiographie et paramètres utilisés.....	66
Figure n° 38 : Désarticulation de l'avant-bras et détachement de ses muscles.....	68
Figure n° 39 : Conservation des échantillons dans une solution de formaline à 10%.....	69
Figure n° 40 : Radiographie de l'avant-bras chez le groupe « HA » à 30 jours.....	72
Figure n° 41 : Radiographie de l'avant-bras chez le groupe « HA+MO » après 30 jours	72
Figure n° 42 : Radiographie du groupe « HA » à 60 jours.....	72
Figure n° 43 : Radiographie du groupe « HA+MO » à 60 jours.....	72
Figure n° 44 : Radiographie du groupe « HA » à 90 jours.....	72
Figure n° 45 : Radiographie du groupe « HA+MO » à 90 jours.....	72
Figure n° 46 : Section histologique du site du déficit chez le groupe « HA » après 1 mois	74
Figure n° 47 : Coupe histologique du tissu osseux nouvellement formé chez le groupe « HA+MO » après 1 mois	75
Figure n° 48 : Section histologique chez le groupe « HA » après une durée de 2 mois	75
Figure n° 49 : Coupe histologique chez le groupe « HA+MO » après 60 jours.....	76
Figure n° 50 : Section histologique chez un sujet du groupe « HA » après une durée de 3 mois	76
Figure n° 51 : Section histologique chez le groupe « HA » après 3 mois.....	77
Figure n° 52 : Section histologique du groupe « HA+MO » après une durée de 90 jours.....	77

Liste des abréviations

Abréviations	Désignations
°C	Degré Celsius
µg	Microgramme
ACTH	Adrenocorticotropin hormone
ARN	Acide ribonucléique
B ₂ O	Oxyde de borique
BCP	Biphasic calcium phosphate
BMPs	Bone morphogenic proteins
CaO	Oxyde de calcium
EMEA	European Medicines Evaluation Agency
FDA	Food and drug administration
FGFRs	Fibroblast growth factor receptors
FGFs	Fibroblast growth factors
H&E	Hématoxyline et éosine
HAp	Hydroxyapatite
IGF	Insulin-like growth factor
IL-1	Interleukine 1
IL-6	Interleukine 6
IRM	Imagerie par resonance magnétique
K ₂ O	Oxyde de potassium
kg	Kilogramme
kv	Kilovolt
mAs	Milliampère seconde
mg	Milligramme
MgO	Oxyde de magnésium
ml	Millilitre
MMPs	Matrix metalloproteinases
Na ₂ O	Oxyde de sodium
NO	Oxyde nitrique
Op-1	Osteogenic protein 1
OPG	Osteoprotegerin
P ₂ O ₅	Pentoxyde de phosphore
PDGF	Platelet-deriving growth factor
PMMA	Poly (méthacrylate de méthyle)
PRP	Plasma riche en plaquettes
PTH	Parathormone
RANKL	Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand
rhBMP-2	Recombinant human bone morphogenic protein 2
rhBMP-7	Recombinant human bone morphogenic protein 7
rhFGF	Recombinant human fibroblast growth factor
RIA	Reamer-irrigator-aspirator
SiO ₂	Dioxyde de silicium
Sol-gel	Solution-gélification
STH	Somatotropin hormone
TCP	Tricalcium phosphate
TGF	Transforming growth factor
TGF-β	Transforming growth factor beta

TNF	Tumor necrosis factor
TNF α	Tumor necrosis factor alpha
TSG-6	Tumor necrosis factor stimulated gene-6
TSH	Thyroid-stimulating hormone
VEGF	Facteur de croissance de l'endothélium vasculaire
WNT	Wingless integration site

Sommaire

Dédicace	I
Remerciements	II
Liste des tableaux et des figures	III
Liste des abréviations	IV
Sommaire.....	V
Introduction	1
PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE	
I. Physiologie et histologie du tissu osseux	3
1. Généralités	3
2. Formes du tissu osseux	4
3. Classification des os	6
3.1. Os longs	6
3.2. Os plats	6
3.3. Os courts	7
3.4. Os sésamoïdes	7
4. Contrôle du remodelage osseux et cellules osseuses	7
4.1. Ostéoblastes (cellules de formation osseuse)	7
4.2. Ostéoclastes (résorption osseuse)	7
4.3. Ostéocytes	9
5. Cycle de remodelage	9
5.1. Quiescence/activation	9
5.2. Résorption	9
5.3. Formation	10
6. Déséquilibre du remodelage	10
7. Loi de Wolff	10
8. Consolidation osseuse	11
8.1. Réponse tissulaire en cas de fracture	11
8.2. Analyse de la consolidation osseuse	12
8.2.1. Phase inflammatoire	12
8.2.2. Formation d'un cal mou	12
8.2.3. Formation d'un cal dur	13
8.2.4. Remodelage osseux	13
8.3. Modifications vasculaires	13
II. Pathologies osseuses	14
1. Fracture	14
1.1. Définition	14

1.2. Classification des fractures	14
1.2.1. Facteur causal	14
1.2.2. Présence d'une plaie externe communicante	14
1.2.3. Localisation, morphologie et sévérité de la fracture	14
1.2.4. Stabilité après réduction en position anatomique normale	18
1.3. Diagnostic des fractures et principes du traitement	18
1.3.1. Signes cliniques	18
1.3.2. Examen radiographique	19
1.4. Traitement	19
1.4.1. Retour à la fonction	19
1.4.2. Réduction et fixation	20
1.5. Taux d'union osseuse et union clinique	20
1.6. Réduction des fractures	22
1.7. Immobilisation (fixation)	22
1.8. Complications des fractures	23
1.8.1. Retard de consolidation	23
1.8.2. Pseudarthrose	23
1.8.3. Ostéomyélite	25
1.8.4. Mal-union (consolidation vicieuse)	25
2. Ostéopathie hypertrophique	26
2.1. Définition	26
2.2. Considérations générales et physiopathologie	26
2.3. Diagnostic	27
2.4. Diagnostic différentiel	27
2.5. Traitement	27
2.6. Pronostic	27
3. Panostéite	28
3.1. Définition	28
3.2. Considérations générales et physiopathologie	28
3.3. Diagnostic	28
3.4. Diagnostic différentiel	29
3.5. Traitement	29
3.6. Pronostic	29
4. Ostéo-dystrophie hypertrophique	29
4.1. Définition	29
4.2. Considérations générales et physiopathologie	29
4.3. Diagnostic	30
4.4. Diagnostic différentiel	30
4.5. Traitement	30

4.6. Pronostic	30
5. Néoplasie osseuse	30
5.1. Définition	30
5.2. Considérations générales et physiopathologie	31
5.3. Diagnostic	31
5.4. Diagnostic différentiel	33
5.5. Traitement	33
5.5.1. Médical	33
5.5.2. Chirurgical	33
5.6. Pronostic	33
6. Ostéomyélite	34
6.1. Définition	34
6.2. Considérations générales et physiopathologie	34
6.3. Diagnostic	35
6.4. Diagnostic différentiel	37
6.5. Traitement	37
6.5.1. Médical	37
6.5.1. Chirurgical	37
6.6. Pronostic	37
III. Greffes et substituts osseux	38
1. Les greffes osseuses naturelles	38
1.1. Les autogreffes	38
1.1.1. L'autogreffe spongieuse	39
1.1.2. L'autogreffe corticale	39
1.2. Les allogreffes	40
1.2.1. L'allogreffe spongieuse	41
1.2.2. L'allogreffe corticale	41
1.2.3. Matrice osseuse déminéralisée	41
2. Les greffes osseuses synthétiques	42
2.1. Sulfate de calcium	43
2.2. Les céramiques phosphocalciques	43
2.2.1. Hydroxyapatite (HAp)	43
2.2.2. Phosphate tricalcique (TCP)	44
2.2.3. Phosphate de calcium biphasique (BCP)	45
2.3. Les ciments phosphocalciques	45
2.4. Le verre bioactif	46
2.5. Le ciment osseux Poly (méthyl méthacrylate)	48
2.6. Les facteurs de croissance	48
2.6.1. Protéines osseuses morphogénétiques	48

2.6.2. Les facteurs de croissance des fibroblastes (FGFs)	49
2.6.3. Le facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGF)	50
2.6.4. La parathormone (PTH)	51
2.6.5. Le plasma riche en plaquettes (PRP)	52
PARTIE EXPERIMENTALE	
IV. Matériel et méthodes	54
1. Objectif de l'expérimentation	54
2. Choix de l'espèce et du site opératoire	55
3. Matériel	56
3.1. Animaux d'expérimentation	56
3.2. Matériel et instruments chirurgicaux	56
4. Méthodes	56
4.1. Description de l'expérimentation	56
4.2. Intervention chirurgicale	58
4.2.1. Préparatifs opératoires	58
4.2.2. Anesthésie de l'animal	58
4.2.3. Temps opératoire	59
4.2.4. Suivi post-opératoire	65
4.3. Etude clinique	65
4.4. Etude radiographique	65
4.5. Etude histo-pathologique	68
4.6. Etude statistique	70
V. Résultats et discussion	71
1. Résultats	71
1.1. Résultats cliniques	71
1.2. Résultats radiographiques	71
1.3. Résultats histo-pathologiques	73
2. Discussion	78
IV. Conclusion et recommandations	83
1. Conclusion	83
2. Recommandations	84
Références bibliographiques	86

INTRODUCTION

Introduction :

La consolidation des fractures est un processus complexe, qui commence avec un traumatisme initial, et qui continue pendant plusieurs années après l'union clinique et radiologique jusqu'à ce que l'os retrouve sa structure et sa fonction d'origine (MEYRUEIS & CAZENAVE, 2003).

En chirurgie orthopédique, les pertes osseuses sont considérées comme un problème technique majeur. Les fractures des os longs, telles que celles atteignant la partie humérale proximale, la partie radiale distale, ou le plateau tibial, conduisent souvent à une impaction de l'os et par conséquent un déficit osseux résulte après la réduction. Les pertes osseuses peuvent être également d'origine traumatique comme celles causées par les fractures multifragmentaires dans les diaphyses des os longs, ou d'origine chirurgicale suite à la résection des tumeurs osseuses. La greffe osseuse autologue est largement acceptée comme la technique standard pour le traitement de ces déficits osseux (LANE *et al.*, 1999). Cependant, l'autogreffe, a certains graves inconvénients, tels que le prolongement du temps opératoire et la morbidité du site donneur dans à peu près 10 à 30% des cas (BUCHOLZ *et al.*, 1989 ; CHAPMAN *et al.*, 1997). En outre, ce traitement connaît des limites à cause de la disponibilité des greffes. Même si l'allogreffe représente une solution alternative et est fréquemment utilisée, les risques de son échec par rejet immunitaire sont importants, ce qui conduit le plus souvent à un retard voire un arrêt du processus de consolidation osseuse (MINARD, 2013).

Le retard ou l'arrêt de guérison en cas de fracture, dus en partie à la dévascularisation du foyer fracturaire, aux défauts de réduction et aux problèmes d'immobilisation, peuvent finir par causer de graves complications telles que la pseudarthrose. En effet, si cette dernière est de type hypertrophique, son traitement se résume en une simple stimulation du processus de consolidation osseuse par des moyens médicaux ; comme les ondes de choc ou la stimulation électrique et magnétique, et il est rarement nécessaire d'intervenir chirurgicalement. Néanmoins, si la pseudarthrose est de type hypotrophique, le traitement serait beaucoup plus difficile et un suivi particulier et rigoureux est nécessaire pour mener à terme la consolidation osseuse, d'autant plus s'il s'agit d'une pseudarthrose septique (CAUWENBERGE *et al.*, 2007).

L'impossibilité de l'appréciation radiographique des problèmes de dévascularisation, la gravité des complications qui peuvent faire suite au retard de consolidation osseuse, ainsi que les risques d'échec accompagnant les greffes osseuses et les autres démarches thérapeutiques instaurées pour traiter les cas de pseudarthrose, exigent la recherche de nouvelles stratégies de traitement.

L'utilisation des greffes osseuses synthétiques a connu un intérêt continu au cours des dernières décennies. Les greffes osseuses synthétiques les plus fréquemment utilisées sont les céramiques à base de phosphate de calcium, tels que l'hydroxyapatite, connue pour son excellente biocompatibilité. Toutefois, ce matériau est plutôt inerte et avec peu ou sans activité ostéoinductrice intrinsèque, nécessaire pour le traitement des pseudarthroses (LIN & CHANG, 2015).

Afin d'améliorer les caractéristiques des greffes osseuses synthétiques, plusieurs techniques ont été proposées. L'utilisation des cellules souches mésenchymateuse dérivées de la moelle osseuse est l'une des techniques récemment proposées dans le domaine de l'ingénierie tissulaire (UDEHIYA *et al.*, 2013 ; DILOGO *et al.*, 2015). Cette stratégie thérapeutique nécessite malheureusement des procédures d'isolement et de culture cellulaire coûteuses et reste donc indisponible dans le terrain vétérinaire et dans les pays en voie de développement.

L'utilisation de la moelle osseuse représente une solution alternative prometteuse vue sa richesse en cellules souches mésenchymateuses (BRUDER & FOX, 1999 ; D'IPPOLITO *et al.*, 1999). De même, la moelle osseuse est considérée comme une importante source de plusieurs facteurs de croissances et de multiples lignées cellulaires, responsables de la formation du tissu osseux et cartilagineux lors de la réparation osseuse (SUNUNLIGANON *et al.*, 2014). Cependant, rares sont les études qui ont utilisé la moelle osseuse fraîche en combinaison avec les substituts osseux pour le traitement des défauts osseux segmentaires.

Le but de cette étude est de réaliser un comblement d'un déficit radial, créé chirurgicalement chez le lapin, avec un substitut osseux biosynthétique, obtenu par ajout d'un aspirât de moelle osseuse autologue à une poudre d'hydroxyapatite. Afin de prouver que cette technique représente une bonne stratégie de traitement des déficits osseux et des pseudarthroses et pour s'assurer de l'absence de tout risque de morbidité ou d'échec de consolidation, un suivi de l'évolution du processus de comblement osseux par des études clinique, radiographique et histo-pathologique sera réalisé après des durées de 30, 60 et 90 jours, et les résultats obtenus seront comparés à ceux du remplissage osseux avec une poudre d'hydroxyapatite.

PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I

**PHYSIOLOGIE
ET HISTOLOGIE DU
TISSU OSSEUX**

I. Physiologie et histologie du tissu osseux :

1. Généralités :

L'os et le cartilage forment le réseau de support de l'organisme. Ils assurent la locomotion et protègent les organes de la région thoracique et pelvienne, ainsi que ceux du système nerveux central en recouvrant le cerveau et la moelle épinière. L'os est considéré comme un organe hématopoïétique, du moment qu'il contient la moelle osseuse rouge, qui produit les globules rouges et les différents types de globules blancs. Chez l'adulte, il est aussi le lieu de stockage de la graisse. Il sert également de stock pour le calcium, le phosphore et les autres minéraux (figure n° 01). Le squelette a ainsi trois différentes fonctions majeures : le support, la protection et la fonction métabolique. La structure spécifique d'un os reflète le rôle qu'il joue dans la vie mais de manière générale le squelette osseux influence largement l'architecture du corps. La structure d'un os s'adapte aux conditions mécaniques qu'il subit par des changements métaboliques. Cette adaptation est achevée par une résorption continue et un dépôt de matériel osseux.

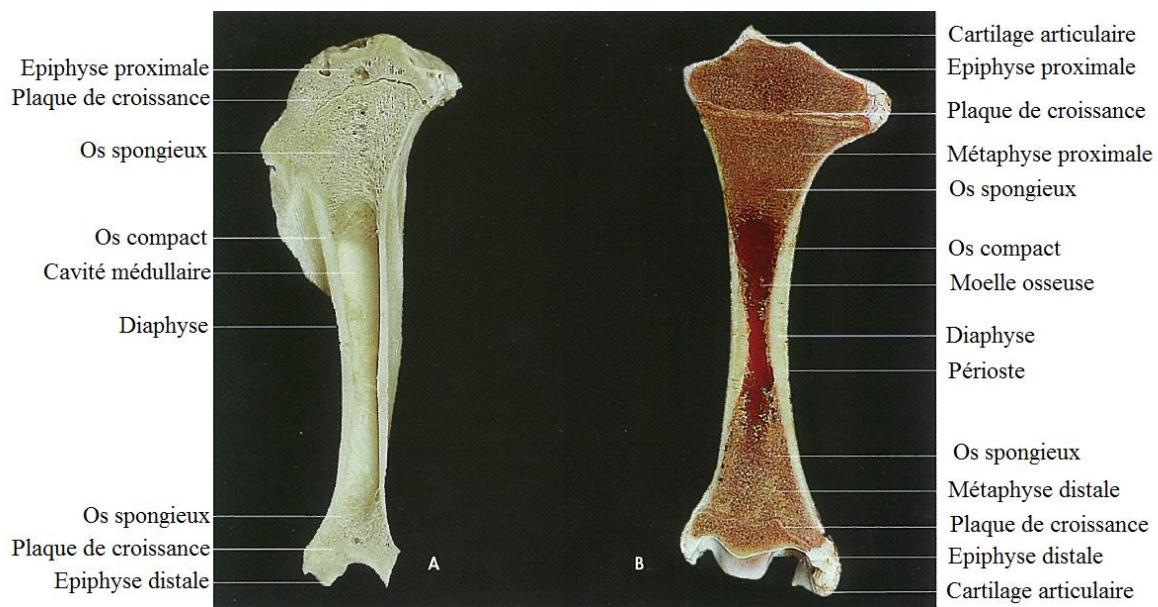


Figure n° 01 : Section sagittale d'un os long, A : après macération, B : dans un état frais (LIEBICH, 2004).

Chaque os est soumis à des processus adaptatifs durant la vie. Les os répondent aux changements causés par le stress ou la pression après un temps court par des processus de remodelage. Les os des membres, de la colonne vertébrale ou du pelvis subissent un remodelage plus intensif que ceux du crâne. Le développement de l'os compact est en relation directe avec le stress que l'os subit. C'est pourquoi il est épais dans la partie moyenne (diaphyse) des os longs et mince dans les extrémités (épiphyse). Des régions locales d'épaisseur augmentée sont présentes dans les endroits subissant une tension importante des tendons et des ligaments.

La fonction de l'os est aussi influencée par la membrane de tissu mou, le périoste, qui revête la surface externe de l'os. Le périoste est absent dans certains endroits, où les tendons et les ligaments s'insèrent et il ne couvre pas les surfaces articulaires. Il est composé de deux couches, une couche fibreuse externe de protection et une couche cellulaire interne ostéogénique. La couche interne inclut un grand nombre de fibres nerveuses sensibles et un réseau de vaisseaux sanguins et lymphatiques, qui assurent l'irrigation de l'os. Cette couche a le potentiel de produire le tissu osseux durant la vie. Elle joue un rôle important dans la croissance des os, le remodelage physiologique et la réparation des fractures. Cette couche peut

aussi réagir de façon excessive aux stimuli et produit des gonflements osseux (exostose) au niveau du site de la lésion. Une fonction majeure de l'os est le stockage du calcium et du phosphore. L'os spongieux de plusieurs os contient des dépôts de calcium qui peuvent être facilement mobilisés, lorsqu'ils sont nécessaires pour le maintien du taux de calcium circulant, qui est important pour les fonctions du corps. Le métabolisme du calcium et du phosphore est régulé par des mécanismes endogènes et exogènes.

La parathormone sécrétée par la glande parathyroïde active les cellules de destruction osseuse, les ostéoclastes, causant une augmentation dans la concentration du calcium sanguin. Elle ralentit également l'excrétion du calcium par les reins et, avec la vitamine D₃ (1,25-Dihydroxycholecalciférol), stimule l'absorption du calcium au niveau des intestins. La calcitonine est produite par les cellules C de la thyroïde et agit comme un antagoniste de la parathormone. Elle active les ostéoblastes, ce qui cause un taux élevé de déposition osseuse et une importante réduction des concentrations du calcium circulant. La croissance osseuse est également influencée positivement par l'hormone STH, ACTH et TSH, ainsi que par les hormones sexuelles (KÖNIG & LIEBICH, 2004).

2. Formes du tissu osseux :

Il y a deux différents types de tissu osseux, l'os spongieux, et l'os lamellaire. L'os spongieux (fibreux, immature) est considéré comme l'ancienne forme et consiste en un os mou ossifié. Il est produit durant le développement fœtal du nouvel os et il est remplacé après la naissance par un os lamellaire plus complexe. Certains os, tels que ceux du labyrinthe de l'oreille, et dans les os longs, où les tendons ou les ligaments s'insèrent, restent spongieux durant toute la vie. L'os lamellaire est caractérisé par des fibres de collagène, arrangées en lignes parallèles et concentriques. Cette forme de tissu osseux est la plus commune chez l'animal adulte et forme les os longs ainsi que les os courts et plats. Il est composé d'unités cylindriques appelées ostéons ou systèmes haversiens.

Chaque ostéon consiste en un canal central vasculaire (canal Haversien), entouré par des couches de fibres de collagène et une matrice calcifiée, arrangées de manière concentrique (lamelle Haversienne). Chaque couche est orientée à de différents angles à la couche précédente. Les ostéons sont joints par des structures osseuses transverses, résultant en une construction résistante au stress et à la pression (figure n° 02, 03 et 04).

Les cellules osseuses sont localisées entre les lamelles concentriques entourant le canal Haversien. Elles envoient des processus cytoplasmiques dans les canaux osseux, qui vont dans différentes directions pour s'anastomoser avec ceux des cellules adjacentes. Ainsi, ils forment un système de contact continu entre les cellules osseuses, par lequel les substances essentielles à leur nutrition sont transportées à partir du canal Haversien central vers la matrice osseuse. Le canal Haversien ou nutritif des ostéons communique avec la cavité de moelle et la surface externe via des canaux transverses, canaux de Volkmann. Par le biais de ce réseau dense de vaisseaux, l'os devient un tissu hautement vascularisé. Les changements dans les forces mécaniques agissant sur l'os causent une adaptation fonctionnelle de la structure de l'os. Les ostéons superflus sont détruits, et leurs fragments forment l'os interstitiel. Vers la surface externe de l'os, les lamelles forment la couche circonférentielle externe, qui entoure l'os et est couverte par le périoste. Un arrangement similaire, la lamelle circonférentielle interne se trouve près de la cavité médullaire, qui est limitée par une mince membrane fibreuse appelée l'endoste (KÖNIG & LIEBICH, 2004).

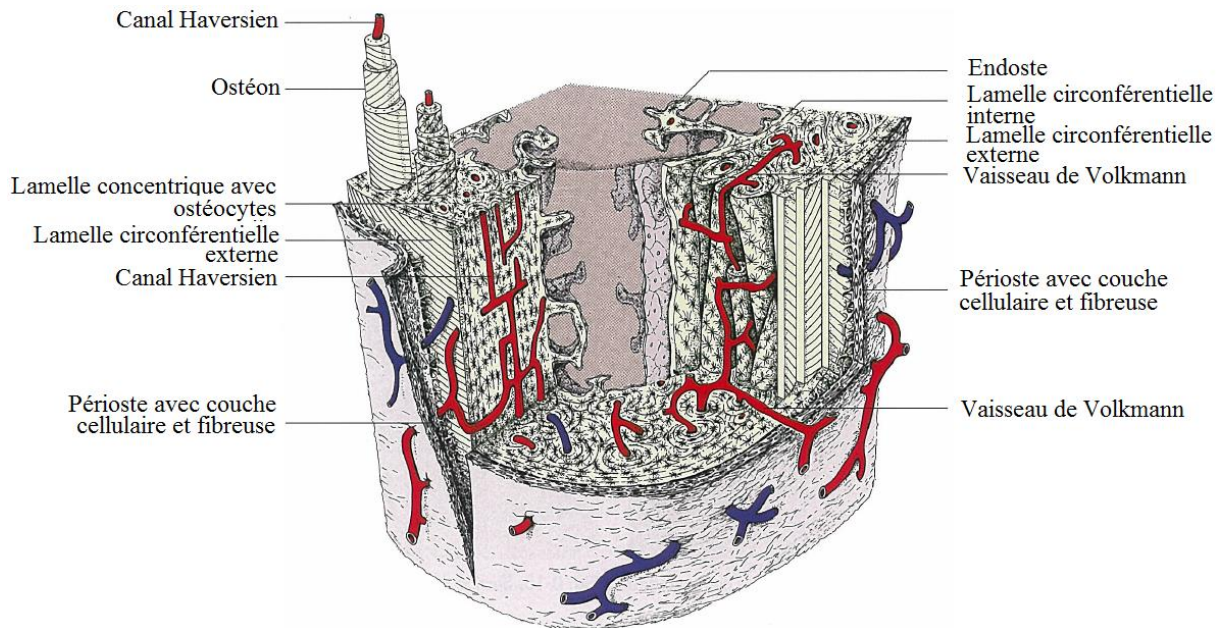


Figure n° 02 : Diagramme d'une section d'un os compact au niveau de la diaphyse (LIEBICH, 2004).

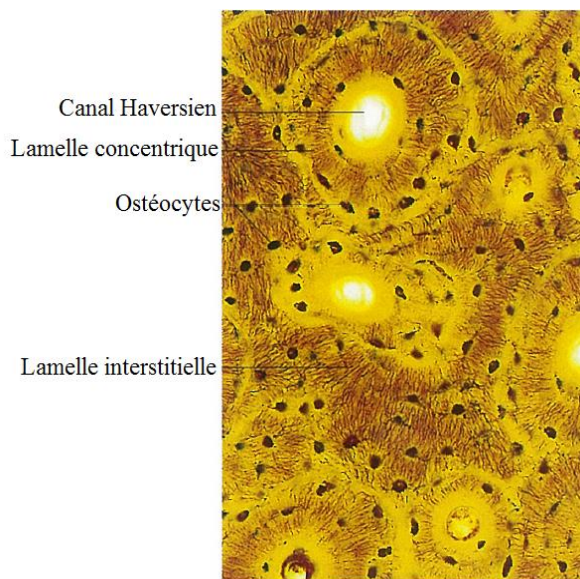


Figure n° 03 : Section d'un os compact au niveau de la diaphyse, X100, Schmorl (LIEBICH, 2004).

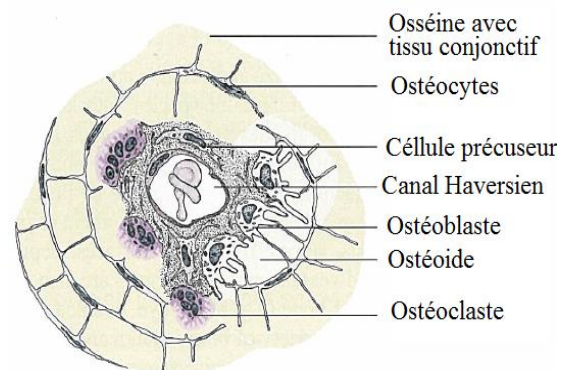


Figure n° 04 : Diagramme d'une section d'un ostéon en développement (LIEBICH, 2004).

Une adhérence ferme entre le périoste et l'os est assurée par des fibres de collagène, qui irradient dans la lamelle externe générale (fibres de Sharpey). Ces fibres collagèneuses sont formées par les tendons d'insertion et sont essentielles pour la transmission de la force à partir du muscle vers l'os.

L'os lamellaire est composé de matrices minérale et organique :

- **La matrice organique :** Le collagène de type I forme la majorité de la matrice organique (95% approximativement) et donne à l'os une certaine résistance aux forces de tractions. Le reste est constitué de protéoglycanes et de protéines non collagéniques incluant l'ostéonectine et l'ostéopontine.

- **La matrice minérale** : Constitue approximativement les 2/3 de la totalité de la matrice osseuse et est principalement constituée d'ions de calcium et de phosphore sous forme de cristaux d'hydroxyapatite. D'autres ions sont le magnésium, le sodium, le potassium et le fluorure. Ils donnent à l'os une résistance aux forces de compression (BAYLISS *et al.*, 2011).

3. Classification des os :

Les os diffèrent généralement dans la forme, la taille et la force selon les espèces, mais aussi selon les individus dans une même espèce. Ceci est causé par une détermination génétique du développement des os, ainsi que par les influences statiques ou dynamiques chez l'animal en croissance et adulte. Une large insertion des plateaux musculaires ou des attachements ponctuels des tendons sur les os causent le développement de processus, tubercules, crêtes, épines, surfaces rigoureuses, dépressions et entailles. Les vaisseaux sanguins, les nerfs ou les organes sont aussi capables de contourner la surface de l'os (cerveau, œil, cochlée de l'oreille interne). Malgré les différentes variétés d'os, ils peuvent être classifiés selon la forme comme suit :

3.1. Os longs :

Sont caractérisés par un arbre ou un corps (diaphyse) et des fins proximale et distale (épiphyse). La forme de la diaphyse est déterminée par une gaine ou un cortex d'os compact, renfermant une cavité médullaire centrale. Les deux extrémités consistent en un os spongieux, qui forme un treillis tridimensionnel de plaques entrelaçantes, de tubes et de spicules par lesquels le cortex continue en une fine couche (figure n° 05 et 06). Les os longs sont typiques dans les membres (figure n° 01).

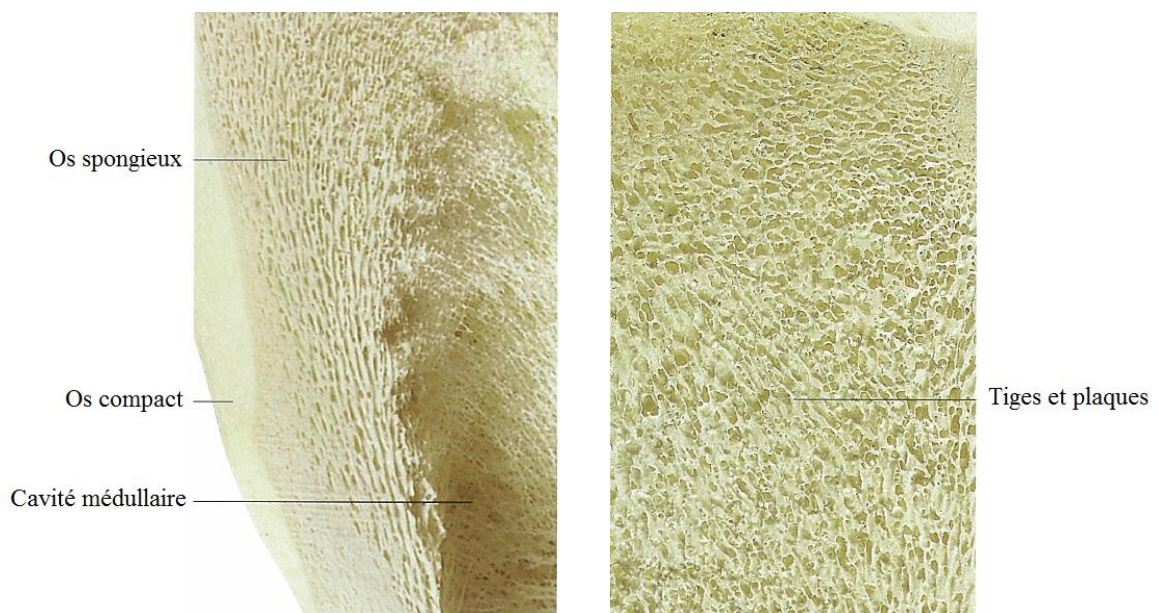


Figure n° 05 : Section du mur d'un os long montrant l'os compact et spongieux (LIEBICH, 2004).

Figure n° 06 : Section d'un os lamellaire (LIEBICH, 2004).

3.2. Os plats :

Consistent en deux couches d'os solide (tubule) avec un os spongieux ou des cavités remplies d'air entre-elles. Ce groupe inclue la scapula et plusieurs os du crâne. Quelques os plats du crâne sont pneumatisés.

3.3. Os courts :

Variet largement dans la forme, ils peuvent être cylindriques, cuboïdes ou sphéroïdes. Ils peuvent être occupés par un treillis tridimensionnel ou un os spongieux avec un tissu hémoréticulaire s'interposant. Les os du carpe, du tarse et de la colonne vertébrale sont classés comme des os courts.

3.4. Os sésamoïdes :

Se développent dans les capsules de certaines articulations ou dans les tendons (la patella ou comme une partie des articulations digitales).

Certains os ne font pas partie de l'appareil locomoteur et sont localisés dans les organes, tels que l'os dans le pénis du chien ou dans le cœur du bovin (KÖNIG & LIEBICH, 2004).

4. Contrôle du remodelage osseux et cellules osseuses :

Le remodelage osseux s'effectue au niveau du squelette adulte et jeune où il permet la croissance de l'os, la réparation des fractures et l'adaptation aux stimuli mécaniques. Le processus de remodelage assure la réparation des endommagements de la microarchitecture de l'os. Les principaux types cellulaires impliqués dans ce processus sont les ostéoblastes, les ostéoclastes et les ostéocytes (BAYLISS *et al.*, 2011).

4.1. Ostéoblastes (cellules de formation osseuse) :

Les ostéoblastes (figure n° 07) sont des cellules polarisées et mononucléaires, responsables de la formation de l'os. Ils dérivent des cellules mésenchymateuses pluripotentes. Leur principale fonction est la synthèse et la minéralisation de l'ostéoïde et ainsi de la matrice organique. De ce fait, ils sont toujours trouvés collés à la couche de matrice osseuse qu'ils sont en train de produire. La minéralisation de la matrice osseuse commence approximativement dix jours après sa production. Une fois emprisonnés dans la matrice minéralisée, ils deviennent des ostéocytes. Les facteurs affectant la différenciation de ces cellules sont illustrés dans la figure n° 08. Les ostéoblastes expriment des agents pro-ostéogéniques tels que l'ostéocalcine, dont le taux sérique augmente durant la formation de l'os. La stimulation et le contrôle de la conversion des cellules mésenchymateuse pluripotentes en cellules pro-ostéogénitrices, pré-ostéoblastes et finalement en ostéoblastes matures sont gouvernés par des voies complexes d'interactions entre des régulateurs transcriptionnels, des facteurs de croissances, des hormones et d'autres molécules de signal. Ces cytokines incluent les BMPs (bone morphogenic preteins), le PDGF (platelet-deriving growth factor) et le TGF- β (transforming growth factor beta). Le groupe de protéines WNT joue aussi un rôle dans l'augmentation de la masse osseuse à travers un nombre de voies incluant l'ostéoblastogénèse et l'inhibition de l'apoptose des ostéoblastes (BAYLISS *et al.*, 2011).

4.2. Ostéoclastes (résorption osseuse) :

Les ostéoclastes sont de grandes cellules multi-nucléées dérivant de la lignée des monocytes/macrophages. Leur fonction est la dégradation localisée de la matrice osseuse et des minéraux durant la résorption osseuse où ceci est régulé par des facteurs hôtes tels que l'OPG (osteoprotegerin), le TSG-6 (tumor necrosis factor stimulated gene-6) et la calcitonine. Le taux d'activité ostéoclastique est réduit par l'OPG et la calcitonine. Les cellules para-folliculaires dans la glande thyroïde secrètent la calcitonine en réponse à l'augmentation des taux de calcium et de la gastrine. La calcitonine se lie directement aux récepteurs des ostéoclastes et inhibe le taux de leur activité. Les ostéoblastes secrètent l'OPG, qui se lie au RANKL (receptor activator of nuclear factor kappa-B ligant). Le RANKL est un membre de la famille de cytokines de TNF (tumor necrosis factor) et agit comme un différenciateur clé de la fonction des ostéoclastes

lorsqu'il est lié à son récepteur ; l'OPG se liant au RANKL inhibe la stimulation des ostéoclastes et le renouvellement osseux résultant. Le TSG-6 se lie aussi au RANKL pour inhiber l'activité ostéoclastique où il est sécrété par ces cellules de façon autocrine pour limiter leur habilité de résorption osseuse. Les ostéoclastes ont aussi une voie de différenciation complexe (figure n° 09) (BAYLISS *et al.*, 2011).

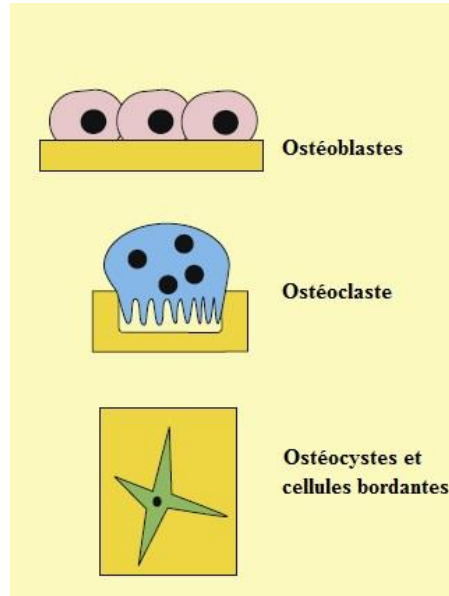


Figure n° 07 : Types de cellules osseuses (BAYLISS *et al.*, 2011).

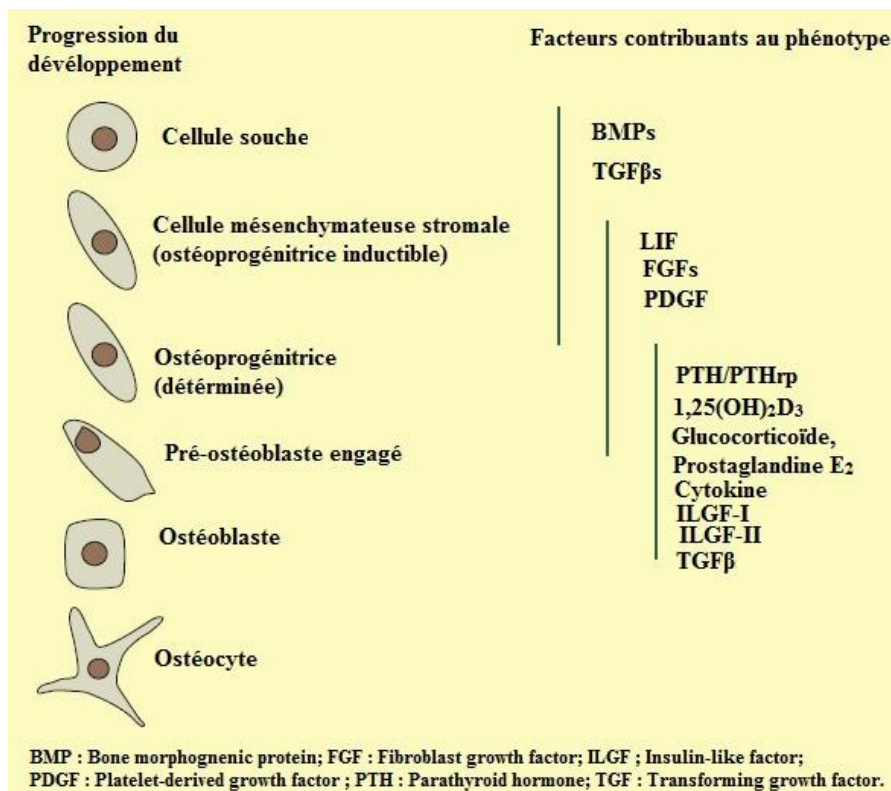


Figure n° 08 : Stages de développement des ostéoblastes et des ostéocytes à partir des cellules souches et facteurs et marqueurs contribuant (BAYLISS *et al.*, 2011).

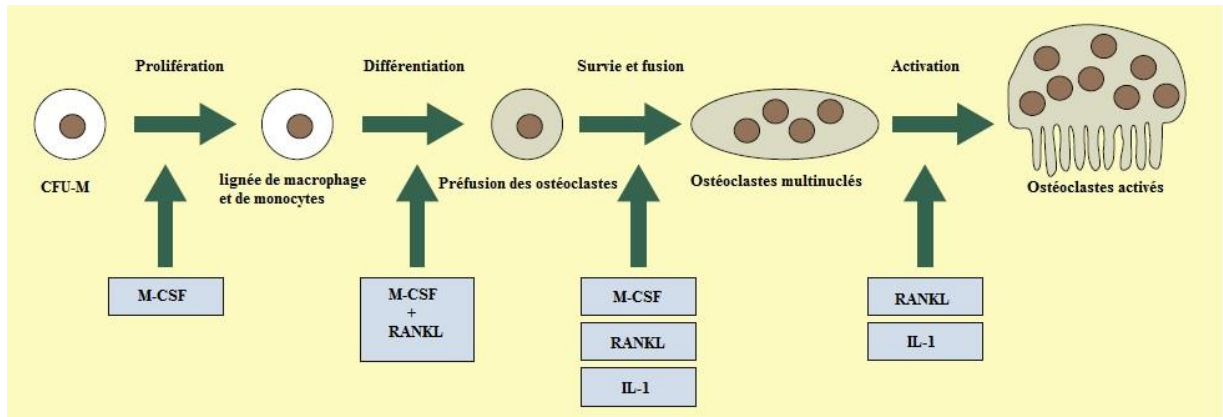


Figure n° 09 : Stages du développement des ostéoclastes à partir de la lignée des monocyte/macrophage et les facteurs contributifs (BAYLISS *et al.*, 2011).

4.3. Ostéocytes :

Les ostéocytes sont des cellules finalement différenciées, en forme étoilée, dérivant des ostéoblastes emprisonnés dans la matrice osseuse qu'ils ont produite. Ils forment le plus grand constituant de l'os, et sont dix fois plus nombreux que les ostéoblastes. Les ostéocytes agissent principalement comme des mécano-senseurs et ainsi transforment les stimuli de la charge mécanique en signaux biochimiques. Ces cellules occupent les lacunes intégrées dans la matrice osseuse et sont interconnectées via des extensions cytoplasmiques qui courent dans un réseau canaliculaire ; les jonctions entre les cellules permettent le transfert de petites molécules de signal intercellulaire, comme l'oxyde nitrique (NO) et les prostaglandines. On pensait auparavant que la fonction des ostéocytes est rapide mais de courte durée dans la dégradation de l'os par un processus connu sous le nom d'ostéolyse ostéocytaire. Ils sont maintenant reconnus comme essentiels dans la régulation de la balance ostéoblastes/ostéoclastes, qui est un point clé dans le renouvellement osseux (BAYLISS *et al.*, 2011).

5. Cycle de remodelage :

Dans le squelette adulte, 10% approximativement de l'os subit un renouvellement annuel, malgré cela le volume total de l'os est maintenu. L'unité de remodelage osseux est formée d'ostéoblastes et d'ostéoclastes organisés en un « cône de coupe » avec une résorption ostéoclastique de l'os au niveau de son apex et un nouveau ostéoïde ostéoblastique déposé à la base. Le nombre total de ces unités et ainsi les taux de résorption et de nouvelle formation d'os sont relativement constants à n'importe quel moment donné (BAYLISS *et al.*, 2011).

Il y a de nombreuses étapes clés dans le cycle de remodelage osseux (figure n° 10) :

5.1. Quiescence/activation :

L'os quiescent (ne subissant pas de remodelage) commence le processus de remodelage après l'activation, avec la séparation des cellules bordantes pour exposer l'os et le recrutement des cellules précurseurs des ostéoclastes.

5.2. Résorption :

C'est une période d'augmentation de l'activité des ostéoclastes, régulée par des cytokines locales et par des hormones. La matrice organique est détruite par les enzymes des lysosomes et la matrice minérale est dégradée suite à la libération de l'ion hydrogène (le pH bas dissout le contenu cristallin de la matrice ensuite les cathepsines et les MMPs résorbent la

matrice elle-même). Les ostéocytes bordent ensuite la cavité résultante, appelée lacune de Howship. L'apoptose des ostéoclastes est l'étape finale de cette phase.

5.3. Formation :

Un nouvel os est formé par les ostéoblastes qui assurent la production de la matrice organique et le contrôle de la minéralisation. A la fin de chaque cycle de remodelage un nouveau ostéon est créé. Le maintien de la masse osseuse entre les cycles est achevé par le couplage de la fin de la résorption et l'initiation de la formation. Ceci est sous le contrôle des protéinases et des facteurs de croissance (BAYLISS *et al.*, 2011).

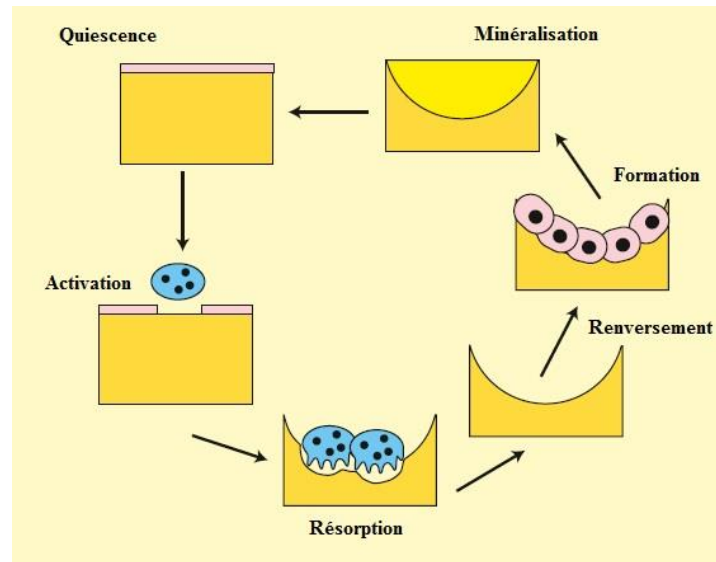


Figure n° 10 : Etapes du cycle de remodelage (BAYLISS *et al.*, 2011).

6. Déséquilibre du remodelage (figure n° 11) :

Le déséquilibre du remodelage est une conséquence du déséquilibre entre les activités relatives des ostéoblastes et des ostéoclastes. L'augmentation de l'activité des ostéoclastes cause un renouvellement osseux exagéré. Ceci peut être le résultat du contrôle hormonal ou une conséquence de la diminution des stimuli mécaniques tels que l'immobilité suivant une maladie spinale, ou un phénomène local résultant d'une immobilité du membre. Le résultat est une réduction dans la masse osseuse et des demandes métaboliques. Suite à l'augmentation de l'activité ostéoclastique, il se produit une réduction disproportionnée de la résistance osseuse causée par la perte relative de la masse osseuse associée à la formation de colonies de stress au niveau de la matrice trabéculaire, ce qui augmente le risque d'atteinte par des fractures ostéoporotiques. Ces fractures sont considérées comme pathologiques puisqu'elles se produisent dans des os anormaux. La diminution de l'activité ostéoblastique est également une cause de ce déséquilibre. Ceci est le mécanisme par lequel les glucocorticoïdes causent une ostéoporose induite par les stéroïdes, comme démontre la diminution des taux d'ostéocalcine (un marqueur de l'activité ostéoblastique) suite à une administration des stéroïdes (BAYLISS *et al.*, 2011).

7. Loi de Wolff :

Wolff (1836-1902) a déclaré que : « chez un individu en bon état de santé, la forme ou la fonction d'un os est suivie par des changements adaptatifs dans son architecture interne et sa forme extérieure ». Subséquemment, une charge persistante sur un os aura pour résultat l'augmentation de la résistance et de la force de ce dernier. Similairement, la résorption osseuse

augmente en cas de réduction de la charge placée sur un os, causant ainsi son affaiblissement mais avec moins de demandes métaboliques (BAYLISS *et al.*, 2011).

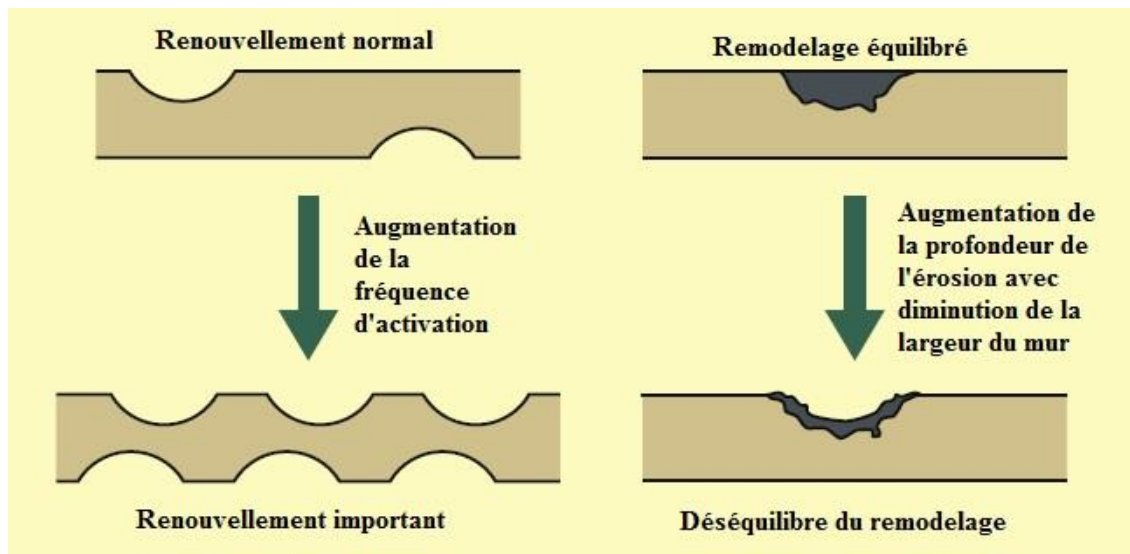


Figure n° 11 : Réduction de la densité de l'os résultant d'un déséquilibre du remodelage (BAYLISS *et al.*, 2011).

8. Consolidation osseuse :

La consolidation osseuse est un processus de réparation tissulaire unique qui concerne un tissu en perpétuel renouvellement et qui aboutit dans la majorité des cas à la restitution complète du tissu osseux après fracture, ostéotomie ou greffe osseuse (EINHORN, 1998). Les mécanismes mis en jeu sont complexes, et suivent une séquence spatio-temporelle bien définie, comparable à celle observée au sein du cartilage de croissance chez les jeunes, ou lors de l'embryogenèse. Ils font intervenir différents types cellulaires agissant sous le contrôle de cytokines, d'hormones, et de facteurs de croissance locaux ou systémiques. La découverte par URIST (1965) de facteurs de croissance matriciels appelés : BMPs (bone morphogenetic proteins) et ayant des capacités ostéo-inductrices constitue une étape clé dans la compréhension de la cascade biologique à l'origine de la consolidation osseuse (REDDI, 1998).

8.1. Réponse tissulaire en cas de fracture :

La survenue d'une fracture va initier une réponse tissulaire dans la moelle osseuse, la région corticale, le périoste et les parties molles adjacentes (GIANNOUDIS *et al.*, 2007). L'intensité de la réponse dans chacun des tissus varie en fonction du temps, du segment osseux concerné et des conditions biomécaniques locales. Dans les heures qui suivent le traumatisme, la moelle osseuse se réorganise avec des zones de densité cellulaire variable. Dans les zones à forte densité cellulaire, proches des extrémités fracturaires, les cellules ostéoprogénitrices de la moelle se différencient en ostéoblastes en 24 heures et commencent à apposer une matrice osseuse. L'activité de la moelle semble peu influencée par les contraintes mécaniques locales.

À l'inverse, la réponse tissulaire des corticales osseuses est très dépendante des conditions mécaniques. Elle vise à obtenir une union osseuse directe des deux corticales, sans formation de cal périphérique. Elle n'est réellement observée qu'en cas de réduction anatomique, de mise en compression des fragments osseux, et de stabilisation par un moyen de fixation rigide comme une plaque d'ostéosynthèse. La réponse la plus importante semble être celle du périoste et, à un moindre degré, celle des tissus entourant le foyer de fracture.

Le périoste contient en effet des cellules ostéoprogénitrices qui vont se différencier en chondrocytes, puis en ostéoblastes, à l'origine de la formation du cal osseux. Le volume du cal périosté dépend étroitement des contraintes appliquées au foyer : schématiquement, il est plus important lorsqu'il existe une certaine mobilité du foyer, et diminue en cas de fixation rigide (HANNOUCHE, 2008).

8.2. Analyse de la consolidation osseuse :

Le processus de consolidation comporte quatre phases (EINHORN, 2005) : inflammation, formation d'un cal mou, formation d'un cal dur, et remodelage osseux. Les phases de cal mou et dur correspondent à la phase proliférative de la cicatrisation tissulaire (HANNOUCHE, 2008).

8.2.1. Phase inflammatoire :

La phase inflammatoire débute immédiatement après la fracture et dure environ 4 jours. Elle est caractérisée par la formation d'un hématome local, issu des extrémités osseuses et des tissus mous environnants, et d'un caillot riche en fibrine. La rupture des vaisseaux endostés et périostés au niveau de la fracture entraîne une hypoxie locale, une acidose, et une nécrose des extrémités fracturaires pouvant aller jusqu'à 1 cm de part et d'autre de la fracture. Les premières cellules à apparaître sont les plaquettes, les monocytes, les polynucléaires neutrophiles, affluant localement par voie hématogène, ainsi que des macrophages provenant de l'environnement local. Ces cellules sont attirées par des prostaglandines. Elles sécrètent un certain nombre de cytokines (IL-1, IL-6, TNF- α) stimulant les macrophages et les ostéoclastes, dont le rôle est la déterision des extrémités fracturaires (ostéoclastes) et des débris présents dans l'hématome (macrophages). La libération des facteurs de croissance plaquettaires ; PDGF (platelet derived growth factor) et TGF- β (transforming growth factor β) et des facteurs de croissance osseux matriciels ; TGF- β , IGF (insulin-like growth factor), FGFb (basic fibroblast growth factor), et BMPs va permettre le recrutement, puis la prolifération et la différenciation de cellules ostéoprogénitrices provenant du périoste et de la moelle osseuse (LIEBERMAN *et al.*, 2002). Les BMPs jouent à ce stade un rôle primordial dans la différenciation des cellules ostéo-compétentes (HANNOUCHE, 2008).

8.2.2. Formation d'un cal mou :

Durant cette phase de 3 à 4 semaines, se développe un cal osseux entre et autour des extrémités osseuses. Il apparaît sur les fragments osseux dans le décollement du périoste, et a pour but de réduire la mobilité du foyer, préalable et indispensable à l'étape de minéralisation. L'hématome fracturaire est envahi par des fibroblastes, des chondroblastes, et des pré-ostéoblastes qui vont proliférer de manière importante et produire une matrice fibreuse puis fibro-cartilagineuse très vascularisée, riche en glycoprotéines et collagène de type II. Le collagène de type II est l'un des composants majeurs du tissu cartilagineux. Le pic de sécrétion de collagène de type II survient au 8^{ème} au 10^{ème} jour chez les rongeurs, et dure jusqu'au 14^{ème} jour. Le tissu fibro-cartilagineux est ensuite progressivement remplacé par une matrice osseuse riche en collagène de type I, en particulier dans les zones proches des extrémités osseuses. Le cal mou peut artificiellement être divisé en deux parties, un cal interne et un cal externe. Le premier résulte de la prolifération des cellules ostéoprogénitrices provenant de la moelle ou de la région endostée, le second, de la prolifération des cellules présentes dans la couche profonde du périoste, appelée couche ostéogénique du périoste. À ce stade, les corticales ne participent pas à la production du cal. La proportion de cellules cartilagineuses ou osseuses observées au sein du cal est très variable, et dépend de plusieurs paramètres. Plus le foyer est stable, plus l'environnement est riche en oxygène, et plus la différenciation se fait directement vers les cellules osseuses sans passer par un stade cartilagineux. On parle alors d'ossification

membranaire, par opposition à l'ossification enchondrale, surtout visible dans le cal externe, et faisant suite à la formation d'une matrice cartilagineuse. Dans les deux cas, l'os néoformé est un os jeune, de type lamellaire, non haversien. En cas de stabilisation par plaque d'ostéosynthèse, on observe un troisième mode d'ossification, appelé « ossification ostéonale per primam » (primary direct bone healing), conduisant à l'union directe des extrémités osseuses par un os remodelé de type haversien, sans formation de cal (CHAO *et al.*, 1998). À ce stade, tout facteur inhibant la néo-angiogenèse, peut retarder la consolidation osseuse (HARVEY *et al.*, 2002).

8.2.3. Formation d'un cal dur :

Cette phase débute à la 4^{ème} semaine et dure 2 à 3 mois en fonction de l'âge. La matrice cartilagineuse est progressivement remplacée par une matrice osseuse lamellaire, qui va unir les extrémités fracturaires de façon à assurer une stabilité mécanique. La minéralisation apparaît secondairement, et se fait de proche en proche (HANNOUCHE, 2008).

8.2.4. Remodelage osseux :

Cette phase dure plusieurs mois voire des années chez le sujet adulte et a pour but de rétablir une architecture histologique normale. L'os lamellaire, remis en charge, est progressivement transformé en os de type haversien, corticalisé, aux propriétés mécaniques identiques à celles d'un os normal. Le canal médullaire est reperméabilisé par les ostéoclastes, les corticales osseuses s'épaississent, tandis que le cal osseux périphérique s'amincit avec le temps. Le modelage équivaut au remodelage osseux de l'os cortical, mais à une échelle macroscopique. Il correspond à une résorption progressive du cal externe, et une restauration du cal médullaire (HANNOUCHE, 2008).

8.3. Modifications vasculaires :

L'os est vascularisé par des artères périostées, prédominant dans la région épiphysaire et métaphysaire, et par des artères endostées, provenant des artères nourricières. En cas de fracture, le réseau endosté est totalement interrompu, et une hémostase spontanée est obtenue par une vasoconstriction réflexe. Cette phase de quelques heures est suivie d'une vasodilatation importante, et d'une multiplication capillaire, qui se traduit par une augmentation considérable du flux vasculaire dans les 2 semaines qui suivent le traumatisme. Le flux vasculaire diminue ensuite pour atteindre des niveaux physiologiques à partir de 12 semaines. Cette hypervascularisation transitoire augmente la prolifération cellulaire et la néoformation osseuse, vraisemblablement par le biais d'une augmentation relative de la pression en oxygène. Néanmoins, la teneur en oxygène dans le cal n'est pas directement proportionnelle à l'importance du flux vasculaire. Malgré l'importante néo-vascularisation constatée au stade initial, la pression en oxygène demeure très faible dans le cal cartilagineux, et à moindre degré dans l'os néoformé. Cela est expliqué par l'intensité de la prolifération cellulaire, état d'hypoxie relative. Il semble qu'une concentration optimale en oxygène (35%) soit nécessaire à l'apparition du tissu osseux au sein du cal, et qu'une sursaturation en oxygène soit au contraire délétère et inhibe la consolidation (BRIGHTON *et al.*, 1991).

Le mode d'ostéosynthèse proposé pour traiter la fracture modifie nécessairement la vascularisation locale. L'enclouage centromédullaire à frottement dur, a fortiori après alésage, interrompt la vascularisation endostée, mais celle-ci est compensée au-delà de trois mois par le développement d'une vascularisation périostée plus importante (HANNOUCHE, 2008).

CHAPITRE II

PATHOLOGIES OSSEUSES

II. Pathologies osseuses :

1. Fracture :

1.1. Définition :

Une fracture est une rupture complète ou incomplète de la continuité de l'os ou du cartilage. Elle est accompagnée de degrés variables de blessures des tissus mous adjacents, y compris l'irrigation sanguine, et d'une altération de la fonction locomotive. L'examineur manipulant la fracture doit prendre en considération les conditions locales et globales du patient (DECAMP *et al.*, 2016).

1.2. Classification des fractures (DECAMP *et al.*, 2016) :

Les fractures peuvent être classifiées en se basant sur différents critères, tous utiles dans sa description (BRINKER, 1975 ; ADAMS, 1978 ; UNGER *et al.*, 1990). Ces critères sont le facteur causal, la présence d'une plaie externe communicante, la localisation, la morphologie et la sévérité de la fracture, et enfin sa stabilité après réduction axiale des fragments.

1.2.1. Facteur causal :

- A- Force directe appliquée à l'os :** Les statistiques indiquent qu'au moins 75 à 80% de toutes les fractures sont causées par des accidents de voitures ou d'engins motorisés.
- B- Force indirecte :** La force est transmise à travers l'os ou le muscle vers un point distant où la fracture se produit (fracture de la tête fémorale, arrachement du tubercule tibial, fracture des condyles de l'humérus ou du fémur).
- C- Maladies osseuses :** Certaines maladies de l'os causent une destruction osseuse ou un affaiblissement au point où un traumatisme banal peut provoquer une fracture (néoplasmes osseux, déséquilibres nutritionnels affectant l'os).
- D- Stress répété :** Les fractures de fatigue chez les petits animaux sont plus fréquemment rencontrées dans les os de l'avant ou de l'arrière du pied (os métacarpiens ou métatarsiens chez le lévrier de course par exemple).

1.2.2. Présence d'une plaie externe communicante :

- A- Fracture fermée :** La fracture ne communique pas avec le milieu externe.
- B- Fracture ouverte :** Le site de la fracture communique avec le milieu externe. Ces fractures sont contaminées ou infectées, et la guérison peut être au mieux compliquée et retardée (figure n° 14 - A).

1.2.3. Localisation, morphologie et sévérité de la fracture :

Le système utilisé pour la localisation, la morphologie et la sévérité des fractures des os longs est basé sur le système de classification adopté par AO Vet, qui a été développé pour permettre une codification alphanumérique des fractures pour permettre une récupération facile des données par l'ordinateur (UNGER *et al.*, 1990). Il est basé sur le système utilisé par « Arbeitsgemeinschaft für Osteosynthese » et le groupe de l'association pour l'étude de la fixation externe (AO/ASIF) pour la documentation des fractures humaines (MÜLLER, 1991). Il permet de faire un classement de la complexité de la configuration de la fracture et la stabilité relative après réduction, fournissant ainsi des informations en relation avec le traitement approprié et le pronostic (tableau n° 01).

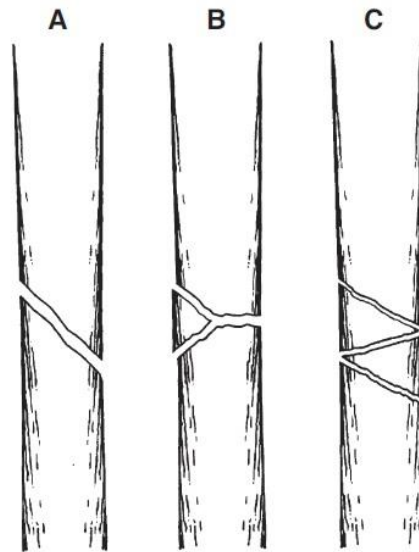


Figure n° 12 : Types de fractures diaphysaires (A : simple, B : comminutive, C : complexe) (UNGER *et al.*, 1990).

La localisation de la fracture est fournie en donnant un numéro à chaque os (1 : humérus, 2 : radius/ulna, 3 : fémur, 4 : tibia/fibula) et en divisant chaque os en régions (1 : proximale, 2 : corps, 3 : distale). Comme une mesure de sévérité, chaque fracture est typée comme A : simple, B : compressive, C : complexe (figure n° 12). Chaque grade est ultérieurement groupé en trois degrés de complexité (A1, A2, A3) dépendant du type et de l'étendu de la fragmentation osseuse. Ainsi, la plus simple fracture de l'humérus est caractérisée « 1 2 A1 ». Les zones proximale et distale peuvent nécessiter une description individuelle pour s'accommoder à la morphologie osseuse spécifique (figure n° 13).

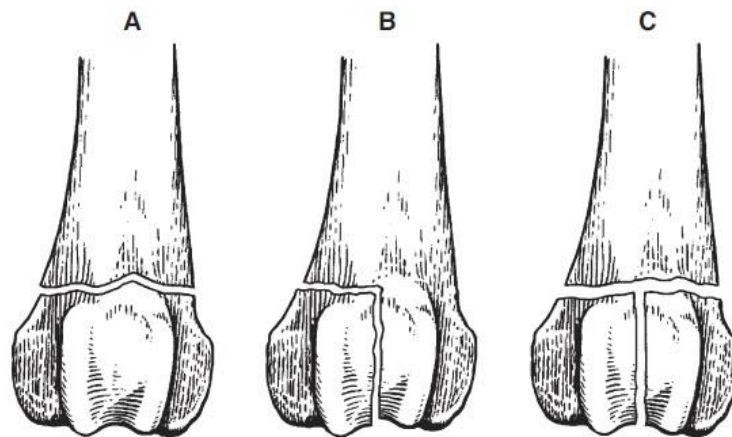


Figure n° 13 : Types de fractures proximale et distale d'un os long (A : extra-articulaire, B : articulaire partielle, C : articulaire complète) (UNGER *et al.*, 1990).

Tableau n° 01 : Le système AO VET de classification morphologique alphanumérique des fractures (UNGER *et al.*, 1990).

Localisation		Morphologie de la fracture	
Os 1 2 3 4	Segment 1 2 3	Type A B C Groupe A1, A2,..., C3	Subdivision 1 2 3

Une nomenclature additionnelle spécifique peut être appliquée à chacune de ces descriptions pour communiquer plus d'informations. L'orientation de la ligne de fracture relative à l'axe longitudinal de l'os permet de faire les descriptions suivantes :

- A- Fracture transverse :** La fracture traverse l'os à un angle de moins de 30° par rapport à l'axe longitudinal de l'os (figure n° 14 - D).
- B- Fracture oblique :** La fracture décrit un angle de plus de 30° par rapport à l'axe longitudinal de l'os (figure n° 14 - E).
- C- Fracture spirale :** C'est un cas spécial de la fracture oblique dans lequel la ligne de fracture courbe autour de la diaphyse (figure n° 14 - F).

L'étendu du dommage peut être décrit comme suit :

- A- Fracture incomplète :** Plus souvent utilisée pour décrire une fracture qui touche une corticale uniquement, une fracture incomplète est appelée en « bois vert » chez les jeunes animaux à cause de la flexion de la corticale non fracturée (figure n° 14 - B). Les fissures présentent de fines lignes qui pénètrent dans la corticale en direction linéaire ou spirale. Chez les animaux avec un squelette immature le périoste est généralement intact (figure n° 14 - C).
- B- Fracture complète :** Une fracture complète décrit une rupture circonférentielle unique de l'os. N'importe quelle fragmentation qui cause un déficit au niveau du site fracturaire doit être plus petite que le tiers du diamètre de l'os après réduction de la fracture (figure n° 14 - D).
- C- Fracture multi-fragmentaire :** Connue aussi sous le nom de fracture comminutive, ce type de fracture a un ou plusieurs fragments complètement séparés de taille intermédiaire. Ces fractures peuvent être décrites comme suit :
 - a- Fracture comminutive :** Une fracture multi-fragmentaire avec un certain contact entre les principaux fragments après réduction (figure n° 12 - B et 14 - C).
 - b- Fracture comminutive réductible :** Les fragments ont une longueur et une largeur plus grandes que le tiers du diamètre de l'os (figure n° 14 - G). Après réduction et fixation des fragments, le résultat est une simple fracture.
 - c- Fracture comminutive non-réductible :** Les fragments ont une longueur et une largeur inférieures au tiers du diamètre de l'os et ceci résulte en un déficit entre les principaux fragments après réduction de plus que le tiers du diamètre (figure n° 14 - H).
 - d- Fracture multiple ou segmentaire :** L'os est fracturé en trois segments ou plus ; les lignes de fracture ne se rejoignent pas en un point commun (figure n° 14 - I). Ceci est un cas spécial de la fracture comminutive réductible.

Les régions métaphysaires proximale et distale nécessitent une nomenclature spécifique pour décrire la grande variété des fractures extra et intra-articulaires vues dans ces localisations comme suit :

- A- Fracture extra-articulaire :** La surface articulaire n'est pas fracturée mais elle est séparée de la diaphyse (figure n° 13 - A). Ce type de fracture est typiquement appelé fracture métaphysaire. Dans les fractures physaires, la fracture-séparation se produit au niveau de la ligne physaire ou la plaque de croissance. Ce type est observé uniquement chez les jeunes animaux ou en croissance (figure n° 15 - C).

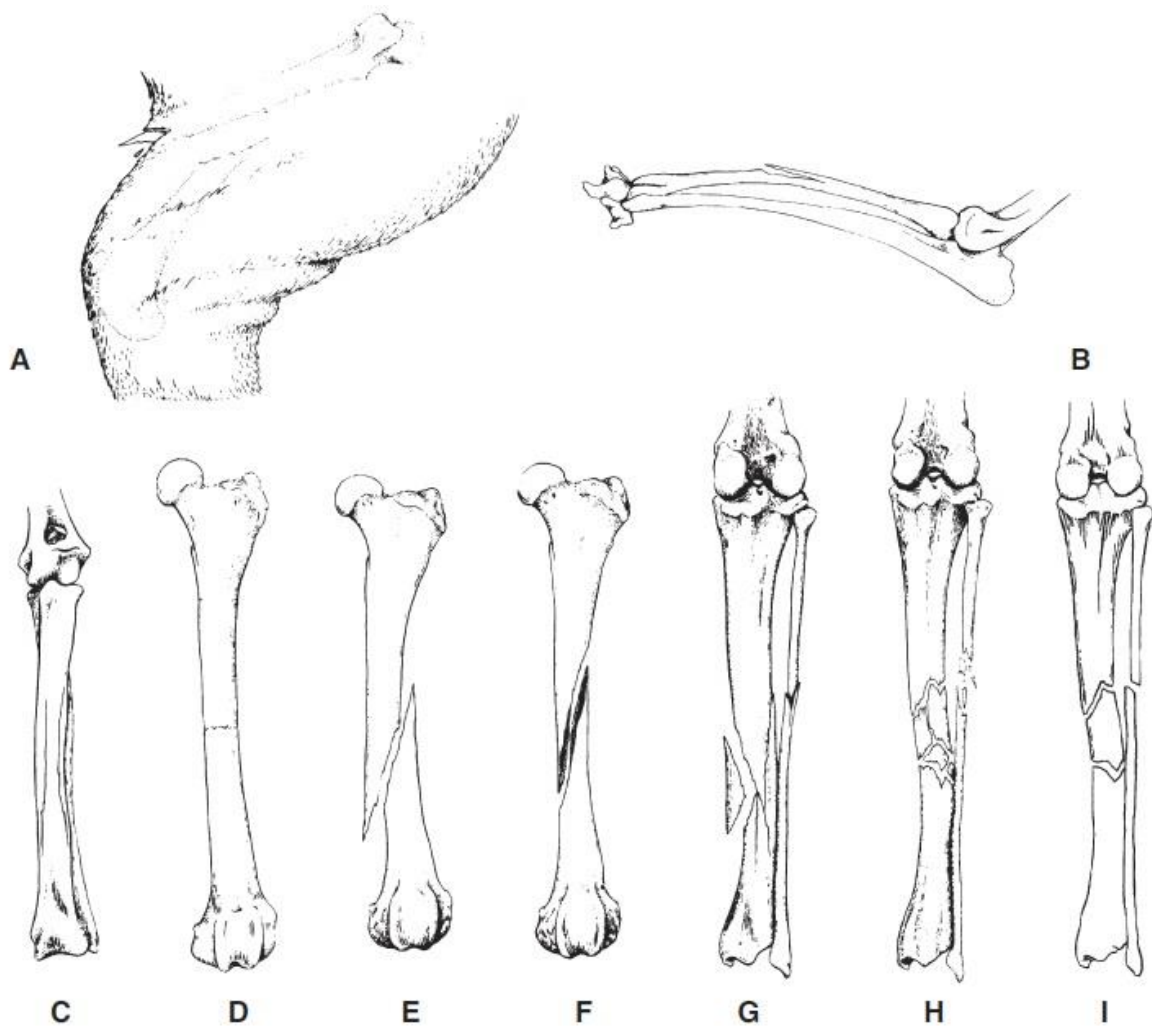


Figure n° 14 : Nomenclature descriptive des fractures diaphysaires (A : ouverte, B : en bois vert, C : fissure, D : transverse, E : oblique, F : spiroïde, G : comminutive réductible, H : comminutive non-réductible, I : multiple ou segmentaire) (UNGER *et al.*, 1990).

B- Fracture articulaire partielle : Seulement une partie de la surface articulaire est impliquée, avec la partie restante attachée à la diaphyse (figure n° 13 - B). Les fractures uni-condyliennes sont l'exemple le plus commun de ce type de fracture (figure n° 15 - D).

C- Fracture articulaire complète : La surface articulaire est fracturée et complètement détachée de la diaphyse (figure n° 13 - C). Les fractures humérales en T ou en en Y sont représentatives de ce type (figure n° 15 - E).

Les termes descriptifs additionnels suivants sont appliqués à certaines fractures :

A- Fracture impactée : Les fragments osseux sont fermement entraînés ensemble (figure n° 15 - A).

B- Fracture par arrachement : Un fragment osseux, qui est le site d'insertion d'un muscle, tendon, ou ligament est détaché comme résultat d'une forte traction (figure n° 15 - B).

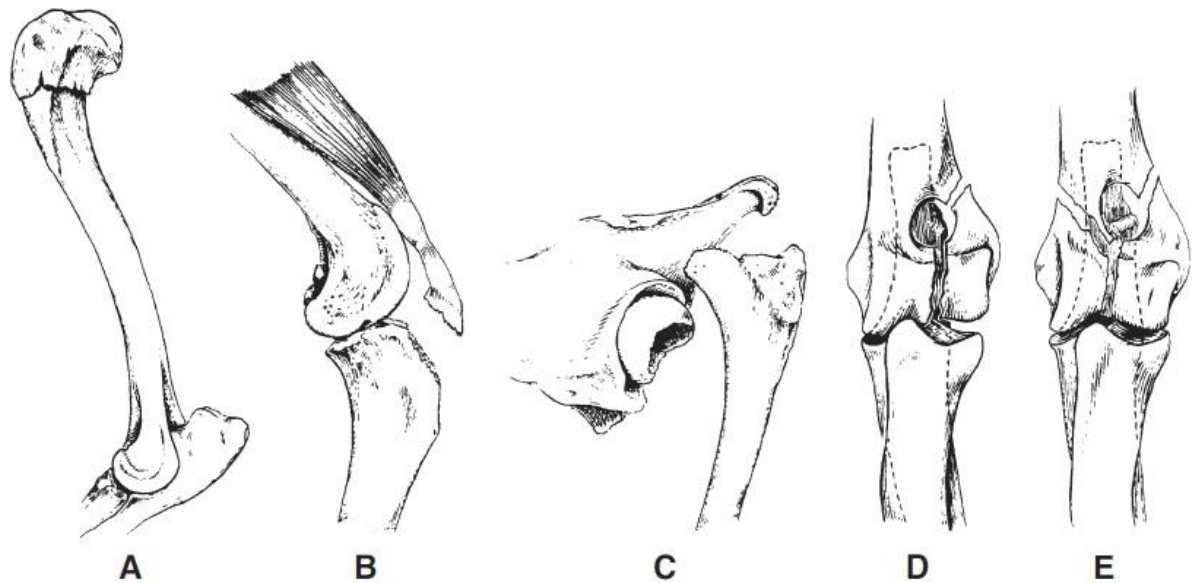


Figure n° 15 : Nomenclature descriptive des zones de fracture proximale et distale (A : métaphysaire, impactée, B : arrachement métaphysaire, C : physaire, D : articulaire partielle ou uni-condylienne, E : articulaire complète ou bi-condylienne) (UNGER *et al.*, 1990).

1.2.4. Stabilité après réduction en position anatomique normale :

- A- Fracture stable :** Les fragments s'inter-verrouillent et résistent aux forces de raccourcissement (transverse, en bois vert, impactée). L'objectif principal de la fixation est de prévenir l'angulation et la rotation.
- B- Fracture instable :** Les fragments ne s'inter-verrouillent pas et glissent ainsi les uns sur les autres en dehors de la position (oblique, comminutive non réductible). La fixation est indiquée pour maintenir la longueur et l'alignement et pour prévenir la rotation.

1.3. Diagnostic des fractures et principes du traitement :

L'historique et les signes cliniques indiquent généralement la présence d'une fracture, cependant, les radiographies sont essentielles pour la détermination précise de sa nature.

Tout d'abord, il est important de préserver la vie du patient ; la réparation des tissus et la restauration de la fonction étant d'importance secondaire. Le traitement du choc, de l'hémorragie, et des plaies des tissus mous, si présentes, doit être institué immédiatement, et le patient doit être mis dans un confort le maximum possible.

L'examen d'un animal avec une fracture ou suspecté d'être fracturé doit inclure les éléments suivants :

- Evaluation de l'état de santé général de l'animal ;
- Détermination de la présence et de l'extension des dommages tissulaires et des organes adjacents à la fracture ;
- Recherche de la présence des fractures, d'instabilités ligamentaires, et de déboitements dans les autres régions du corps ;
- Evaluation précise de la ou des fractures (HOULTON & DUNNING, 2005).

1.3.1. Signes cliniques :

Même s'ils ne sont pas toujours facilement décelables, des signes pouvant être visibles au niveau du site fracturaire sont :

- Douleur ou sensibilité localisée ;
- Déformation ou angulation ;
- Mobilité anormale ;
- Gonflement local (ceci peut apparaître immédiatement ou quelques heures après voire un jour après l'accident. Il persiste généralement pour 7 à 10 jours à cause de la perturbation du flux sanguin et lymphatique) ;
- Perte de fonction ;
- Crépitation (HOULTON & DUNNING, 2005).

1.3.2. Examen radiographique :

Les radiographies d'au moins deux incidences perpendiculaires sont essentielles pour un diagnostic précis et pour la sélection des meilleures techniques de réduction et d'immobilisation. Du moment que le mouvement de la fracture soit algique, l'examen radiographique nécessite souvent une sédation ou un agent anesthésique de courte durée d'action. Si cela présente un problème à cause d'une fonction respiratoire compromise par un traumatisme pulmonaire, il pourrait être nécessaire de retarder la réalisation des radiographies. Dans cette situation, il est souvent utile d'obtenir la seule vue qui peut être réalisée sans anesthésie pour confirmer la localisation et la sévérité de la fracture. Ceci permettra ensuite d'élaborer le plan basique du traitement. Il faut garder à l'esprit que la deuxième incidence doit être réalisée avant la réduction et l'immobilisation. Chez l'animal immature ou déformé, l'interprétation des radiographies peut présenter des problèmes spéciaux à cause de la présence de différents centres de croissance osseuse et de leurs stages de développement. Les radiographies du membre opposé sont généralement utiles (HOULTON & DUNNING, 2005).

1.4. Traitement :

Le but du traitement de fracture est la mobilité précoce et le retour complet à la fonction.

1.4.1. Retour à la fonction : Les principes du traitement de fracture ont été le mieux articulés par AO/ASIF comme suit :

- Réduction anatomique des fragments de la fracture, spécialement dans les fractures articulaires ;
- Immobilisation stable, convenable pour la situation biomécanique et clinique ;
- Préservation de l'irrigation sanguine vers les fragments de l'os et les tissus mous adjacents en effectuant une réduction et une technique chirurgicale atraumatique ;
- Activer de manière précoce la mobilisation, sans douleur, des muscles et des articulations adjacents à la fracture pour prévenir le développement des maladies (HOULTON & DUNNING, 2005).

L'interprétation et l'accentuation de ces principes ont fait l'objet d'un changement progressif durant ces dernières années comme l'AO/ASIF a promu le concept de l'immobilisation biologique. La principale considération dans ce concept est la protection des tissus mous et de l'irrigation sanguine vers les fragments osseux. Ceci veut dire que la réduction anatomique, dans le sens d'une totale reconstruction de toutes les lignes de fractures, est jugée nécessaire seulement pour les fractures articulaires ou diaphysaires traitées par une compression inter-fragmentaire en utilisant des vis ou des cerclages, qui sont ensuite protégés par une plaque de neutralisation. Une union osseuse directe sans cal est attendue sous ce protocole. D'autres fractures diaphysaires sont traitées en laissant les fragments non déplacés pour protéger leur irrigation sanguine. La zone de fracture est soit couverte par une plaque de pontage (bridging) attachée à chaque côté de l'os ou stabilisée par un fixateur externe ou un enclouage intramédullaire verrouillé. La guérison dans ce cas se fait par voie indirecte, avec formation

précoce d'un cal responsable de la majorité de la stabilisation. HULSE & ARON (1994) ont proposé le terme « ostéosynthèse par bridging » qui est utile et descriptif et il est ainsi utilisé dans ce contexte. La réduction anatomique veut dire dans ces circonstances la restauration de l'alignement axial dans les deux plans frontal et sagittal, l'élimination des déformations par torsion, et le maintien de la longueur dans la mesure du possible, même si cela ne soit pas si important chez un quadrupède qu'un bipède (HOULTON & DUNNING, 2005).

Le concept de la fixation interne stable doit aussi être réévalué en tenant compte des objectifs de l'ostéosynthèse par bridging. Toutes les immobilisations doivent maintenir l'alignement axial et la longueur et fournir une stabilité rotationnelle. La stabilisation par compression inter-fragmentaire demande une stabilité absolue des petits vides fracturaires restants afin de permettre un bridging haversien direct. Lorsque l'objectif est une ostéosynthèse par bridging, la fixation doit être seulement solide au point de permettre une formation du cal. Les petits mouvements inter-fragmentaires sont non seulement probables mais aussi désirables pour la formation du cal, qui rentre activement dans le rôle de stabilisateur de la fracture, protégeant ainsi la fixation interne des charges mécaniques et de l'échec.

Le concept de technique atraumatique a reçu une grande importance dans l'utilisation des stratégies d'ostéosynthèse par bridging, en particulier telle qu'elle est appliquée pour préserver l'irrigation sanguine des fragments osseux. Fournir une stabilisation suffisamment forte pour permettre une mobilisation précoce et sans douleur du membre a toujours été et continue d'avoir une importance capitale pour le chirurgien vétérinaire orthopédiste. Ceci permet non seulement d'aider la consolidation osseuse, mais l'intégrité des tissus mous est aussi mieux maintenue, et le suivi de l'animal est nettement simplifié (DECAMP *et al.*, 2016).

1.4.2. Réduction et fixation :

La réduction et la fixation de fracture doivent être réalisées aussitôt possible que les conditions du patients le permettent (ALLGÖWER, 1985 ; SEIBEL *et al.*, 1985). Tout retard risque de rendre la réduction plus difficile à cause des contractions spastiques des muscles et le gonflement inflammatoire des tissus mous. Dans certains cas, l'immobilisation peut être faite lorsque le patient est présenté ; dans d'autres, il peut être conseillé de la retarder pour un jour ou plus jusqu'à ce que le patient ait un risque anesthésique acceptable. Il est déconseillé d'attendre la disparition de l'enflure pour entamer la réduction et l'immobilisation. A ce moment, l'organisation de l'hématome et la formation du cal sont bien en cours. La formation du cal cause aussi une obscuration de la ligne de fracture, des nerfs et des vaisseaux sanguins. En outre, l'hémorragie chirurgicale est aggravée à cause de la réaction circulatoire dans la région. Cette réponse circulatoire est généralement évidente vers le 4^{ème} jour après le traumatisme. La chirurgie doit être effectuée bien avant pour réduire le risque hémorragique (HOULTON & DUNNING, 2005).

1.5. Taux d'union osseuse et union clinique :

Quand la fracture se produit, les changements dans les tissus adjacents préparent le milieu pour la réparation, et plusieurs facteurs peuvent influencer la rapidité du processus de réparation. Le chirurgien ne peut guère faire pour modifier des facteurs tels que l'âge, le caractère de la fracture, l'état des tissus mous entourant la région, et certaines maladies systémiques ou locales de l'os. Cependant, des facteurs défavorables comme une mauvaise réduction, une immobilisation inadéquate, un traumatisme opératoire excessif, et une technique opératoire septique, sont dans le contrôle du chirurgien. Ces facteurs, ainsi que la complaisance du propriétaire ou la disposition de l'animal, peuvent retarder voire même interrompre le processus de guérison. Lorsque d'autres facteurs sont égaux et la fracture est traitée de manière optimale, l'âge du patient reste le facteur le plus influençant affectant le taux de guérison.

L'union clinique fait référence à la période dans le processus de guérison où la consolidation a progressé au point de force permettant l'enlèvement de la fixation. Le tableau n° 02 montre les périodes moyennes de guérison prévues pour la fracture simple, non compliquée et traitée de façon optimale. Ces temps de guérison varient légèrement en fonction du type de fixation utilisée. Les fractures immobilisées avec un fixateur externe, fixation interne, et broche intramédullaire guérissent avec développement d'un cal interne et externe (médullaire et cortical). Le cal donne une résistance initiale au site de fracture. Les fractures immobilisées avec une fixation rigide (plaque osseuse) guérissent principalement par union directe et peu de cal cortical, et les animaux fracturés traités par cette méthode doivent rester immobiles pour une plus longue période (DECAMP *et al.*, 2016).

Tableau n° 02 : Taux d'union en termes d'union clinique (DECAMP *et al.*, 2016).

Age de l'animal	Fixation externe et intramédullaire	Fixation avec plaque osseuse
Moins de 3 mois	2-3 semaines	4 semaines
3-6 mois	4-6 semaines	2-3 mois
6-12 mois	5-8 semaines	3-5 mois
Vers 1 an	7-12 semaines	5 mois - 1 an

Ce tableau n'est pas à interpréter comme une indication qu'une méthode de fixation est meilleure que l'autre. Chaque méthode a sa place, ses indications, et contre-indications.

L'évaluation des radiographies durant la consolidation doit être effectuée de façon routinière au temps de l'union prévue, comme indiqué dans le tableau n° 02. Le mnémonique « AAAA » est utile pour l'évaluation de telles radiographies comme suit :

- **Alignement** : Ceci est fondamentalement une évaluation de la restauration de l'os dans son ensemble. L'alignement est évalué en termes de déplacements angulaires ou de rotations, relatifs à la normale. Le retour à l'alignement normal est nécessaire pour une fonction normale à long terme.
- **Apposition** : En regardant directement le site de fracture, l'examineur est ici en train d'évaluer le degré de réalignement des fragments de la fracture. Un certain degré d'apposition est nécessaire pour une consolidation osseuse, mais ce degré est hautement dépendant du type de la fixation employée, ainsi, aucune seule définition ne peut être utilisée dans toutes les situations.
- **Apparatus (équipement)** : Est-ce que le dispositif de fixation fonctionne comme prévu pour maintenir la stabilité de la fracture jusqu'à sa guérison ? Les protocoles appliqués pour le moyen de fixation ont-ils été suivis ? Y a-t-il des preuves de desserrage de l'implant ? Y a-t-il des preuves d'un échec imminent de l'implant, tels que le pliage ou le desserrage des vis ?
- **Activité** : Ceci est l'activité biologique de l'os en réponse à la fixation utilisée. Pour évaluer l'activité, il est nécessaire de connaître l'âge de l'animal, la durée depuis la stabilisation de la fracture, et le degré de l'utilisation fonctionnelle du membre. Il est également utile de considérer de tels facteurs comme une infection préexistante et une plaie ou d'autres blessures causant une dévascularisation. C'est ici que le type et la quantité du cal formé sont évalués. L'examineur doit chercher les signes d'infection (lyse osseuse), de réaction périostée et de nouvelle formation de l'os.

La résorption de l'os est évaluée pour décider si ceci représente une normale revascularisation des coins des fragments osseux ou indique une infection ou un desserrage de l'implant (DECAMP *et al.*, 2016).

1.6. Réduction des fractures :

La réduction d'une fracture fait référence au processus du remplacement des segments fracturés dans leur position anatomique originale. Les fractures peuvent être réduites par réduction fermée avec traction et manipulation des fragments ou par réduction ouverte et une reconstruction visuelle directe de l'os. Les os avec leurs muscles attachés peuvent être assimilés à un système de leviers à ressort attachés. Les muscles sont constamment contractés (tonus normal). Lorsqu'un os est fracturé, tous les muscles s'opposant se contractent au maximum, causant ainsi un chevauchement des abouts osseux et un raccourcissement. Les contractions spastiques des muscles sont intensifiées par la blessure des tissus mous de la région. La traction causée par le spasme musculaire est constante et continue, même sous anesthésie générale. Initialement, la contraction est principalement musculaire et répond à l'effet de l'anesthésie générale. Après plusieurs jours, la réaction inflammatoire dans la région avec les changements prolifératifs qui l'accompagnent conduisent vers une contraction de nature plus permanente, ainsi, plus de difficulté est rencontrée dans la réduction (AUER, 2012).

L'anesthésie gazeuse (Halothane, Méthoxyflurane ou Isoflurane) est meilleure que les barbituriques dans l'effet myorelaxant du spasme musculaire. L'ajout des myorelaxants est utile pour surmonter la contraction spastique lorsqu'ils sont utilisés en addition à l'anesthésie générale durant les trois premiers jours après la production de la fracture. Le Succinylcholine (0.44 mg/kg) ou le Pancuronium (0.05 – 0.1 mg/kg) ont été utilisés chez les petits animaux. Aux doses citées, ces produits causent aussi une paralysie respiratoire. La durée d'action est d'environ 20 à 30 minutes.

Dans une large mesure, la consolidation est influencée par la manipulation des tissus mous, l'apport sanguin vers les fragments osseux, la précision de la réduction, et l'efficacité de l'immobilisation. Tous ces facteurs peuvent être influencés ou améliorés par le chirurgien.

La situation idéale est le remplacement anatomique des abouts osseux, parce que ceci donne la possibilité d'une stabilité maximale lorsque la fixation est appliquée. L'apposition anatomique est toujours préférée mais pas toujours nécessaire, particulièrement en cas de fractures diaphysaires. L'alignement rotationnel doit être restauré entre les articulations distalement et proximale à la fracture pour assurer une bonne fonction. La flexion axiale en direction crâniale ou caudale (plan sagittal) est bien tolérée dans le plan frontal, mais une angulation latérale provoque généralement des problèmes fonctionnels significatifs.

Lorsqu'une surface articulaire est impliquée dans la fracture, les fragments articulaires doivent toujours être réduits anatomiquement pour restaurer la congruence articulaire et éliminer ainsi ou minimiser au moins une usure anormale ou une ostéo-arthrose secondaire. Le secret de la réduction est l'application d'une pression stable et continue durant le temps. Ceci fatigue les muscles et apporte une relaxation et un allongement (DECAMP *et al.*, 2016).

1.7. Immobilisation (fixation) :

L'immobilisation implique la fixation des fragments osseux de sorte qu'ils soient immobiles avec respect de leur position anatomique durant le processus de consolidation. Les objectifs sont la stabilisation des fragments et la prévention de leur déplacement, angulation et rotation. De manière idéale, la méthode d'immobilisation utilisée doit accomplir une stabilisation non-interrompue au moment de la chirurgie, permettre une ambulation précoce, et permettre l'utilisation du maximum d'articulations durant la période de consolidation. Les particularités de chaque fracture vont dicter ou suggérer la méthode d'immobilisation à utiliser. Certaines fractures permettent l'utilisation d'une variété de méthodes, tandis que dans d'autres, le choix est vraiment limité afin d'avoir un résultat satisfaisant.

Les méthodes d'immobilisation peuvent être classifiées comme suit :

- Immobilisation du membre (plâtres, attelles de thomas) ;
- Immobilisation de l'os (broche intramédullaire, fixateur externe, plaque osseuse) ;
- Compression (vis, cerclage/fil inter-fragmentaire, bandage, plaque de compression).

La fixation par attelle stabilise l'os indirectement comme le plâtre ou directement comme l'enclouage, les fixateurs ou les plaques qui sont attachés à l'os. Il y a une certaine mobilité au niveau du site fracturaire à cause de la flexibilité inhérente de ces types de dispositifs. Le chirurgien doit s'assurer que cette mobilité est dans les limites et n'altère pas la formation du cal. La fixation par compression utilise un frottement inter-fragmentaire produit par des implants relativement petits pour produire une stabilité des surfaces osseuses. La compression peut être de nature statique, comme avec les vis ou le cerclage, avec lesquels un changement de la compression n'est pas prévu. La compression dynamique, par contre, change de manière cyclique avec les charges du membre, du moment que ce dernier porte périodiquement les charges. Une tension induite fonctionnellement sur les fragments osseux est transformée en forces de compression par le bandage ou le plâtre (AUER, 2012).

1.8. Complications des fractures :

1.8.1. Retard de consolidation :

Les fractures qui se consolident plus lentement que prévu sont classées comme union retardée. La majorité des fractures osseuses ont des signes radiographiques de bridging de la ligne de fracture en 12 semaines, ce qui rend le chirurgien sûr qu'une guérison va se produire. En cas d'union retardée, les signes d'une activité osseuse progressive sont visibles sur les radiographies séquentielles, et l'union osseuse est prévue, mais pas assurée. Les facteurs contributifs sont le statut systémique du patient (malnutrition, anémie), la nature du traumatisme (fracture ouverte, blessures excessives des tissus mous), la réponse locale post-traumatique (réponse cellulaire inadéquate), le traitement de la fracture (présence d'un grand déficit osseux, implants instables, ou trop rigides), et les facteurs pharmacologiques (anti-inflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens).

Aussi longtemps que les implants sont adéquats et restent intacts, l'animal doit avoir une activité strictement supervisée (réhabilitation physique) en absence du besoin d'une chirurgie additionnelle. Les autogreffes spongieuses peuvent être ajoutées pour accélérer la consolidation osseuse avant qu'un échec de l'implant se produise. Les implants se desserrant ou migrant doivent être éliminés, puis une stabilisation appropriée de la fracture et une application d'une autogreffe spongieuse sont effectuées. Les implants stables supportent les charges, ce qui accélère la guérison et renforce l'union (JOHNSON, 2013).

1.8.2. Pseudarthrose :

La pseudarthrose est définie comme un arrêt du processus de réparation d'une fracture, ce qui nécessite une intervention chirurgicale pour créer un environnement conducteur vers la guérison. La majorité des pseudarthroses sont plutôt le résultat d'un échec technique attribué au chirurgien qu'un échec biologique relatif au patient. L'instabilité au niveau du site fracturaire est la principale raison de la pseudarthrose. Les scénarios fréquents sont les fractures diaphysaires distales du radius chez les petites races de chiens stabilisées par des fixateurs externes, un enclouage centromédullaire utilisé avec une stabilité axiale et rotationnelle inadéquate, des tailles et des diamètres de vis inadéquats, un desserrage du fil de cerclage avec migration vers le site de fracture, et des plaques et vis de taille inadéquate pour le patient. Un mauvais environnement biologique, incluant la localisation de la fracture, l'importance des dégâts tissulaires, et une intervention chirurgicale assez traumatique contribuent au

développement d'une pseudarthrose. Les facteurs de risques sont un âge important, les fractures ouvertes et les fractures proximales de l'ulna et du tibia (NOLTE *et al.*, 2005).

Les pseudarthroses sont diagnostiquées lorsqu'il y a une absence d'activité sur les radiographies séquentielles. Un liseré dans la fracture, représentant le tissu cartilagineux et fibreux, et la formation d'un cal inefficace au niveau du site de la fracture sont caractéristiques de l'apparence radiographique d'une pseudarthrose vasculaire. Les pseudarthroses hypertrophiques sont des pseudarthroses vasculaires avec de large quantité de cal mais sans bridging (figure n° 16). Ce genre de pseudarthroses a besoin de stabilité pour s'unir et sont bien traitées par élimination de l'implant et des tissus nécrotiques corticaux, alignement des articulations, et mise en place d'une plaque compressive. Les greffes spongieuses peuvent être utilisées, même si le cal hypertrophique fournit généralement un os spongieux adéquat pour la consolidation osseuse. Si l'os séquestré est retiré, le déficit résultant est rempli par une autogreffe spongieuse, qui peut être placée durant la procédure de plaquage ou après 5 à 7 jours du traitement de la plaie. Ce délai permet la formation d'un tissu de granulation sain qui va servir de lit pour la greffe. Des écouvillonnages pour culture bactérienne doivent être effectués lorsque la pseudarthrose est traitée parce qu'une ostéomyélite concomitante est fréquente. Si le diagnostic radiographique ou clinique d'une ostéomyélite est fait, le traitement doit inclure une thérapie antimicrobienne appropriée. Le retrait de la plaque est recommandé après la guérison d'une pseudarthrose infectée parce qu'elle peut servir de nid pour une infection continue.

Les pseudarthroses atrophiques sont biologiquement des pseudarthroses inactives. Radiographiquement, il n'y aucune évidence de réaction osseuse au niveau du site de la fracture, et les bouts osseux apparaissent sclérotiques (figure n° 17). La scintigraphie peut confirmer le manque de vascularisation au niveau de la fracture. Histologiquement, le vide fracturaire est rempli par un tissu fibreux, un os nécrotique et un cartilage. Les cavités médullaires sont scellées par l'os cortical. La pseudarthrose atrophique nécessite une chirurgie pour enlever le tissu fibreux et ouvrir les canaux médullaires. Une résection en bloque de l'os inactif au niveau du site fracturaire crée un contact osseux suffisant pour permettre une excellente compression de la fracture avec une plaque osseuse. Les plaques et vis sont généralement les implants de choix pour stabiliser une pseudarthrose atrophique, avec la mise en place d'une autogreffe spongieuse. Des écouvillonnages pour culture bactérienne doivent être effectués lorsque les pseudarthroses atrophiques sont traitées parce qu'une ostéomyélite concomitante se produit également (JOHNSON, 2013).



Figure n° 16 : Radiographie d'un chien avec une pseudarthrose hypertrophique du fémur (JOHNSON, 2013).

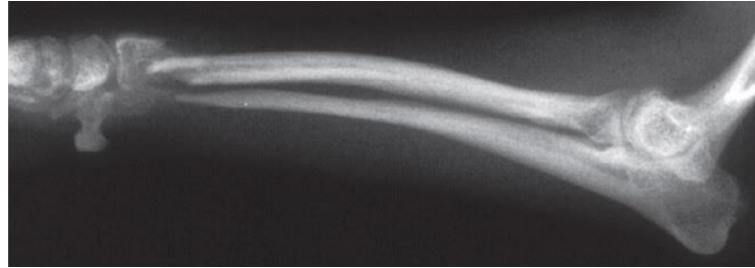


Figure n° 17 : Radiographie d'un chien avec une pseudarthrose atrophique dans la partie radiale distale (JOHNSON, 2013).

1.8.3. Ostéomyélite :

L'ostéomyélite est strictement définie comme une condition inflammatoire de l'os et du canal médullaire. En ostéomyélite post-traumatique associée avec une union retardée et une pseudarthrose, la cause principale est l'infection bactérienne, favorisée par l'instabilité au niveau de la fracture et les interfaces de l'implant. Les fractures ouvertes fournissent une grande opportunité pour l'ostéomyélite, tout comme fait l'ischémie tissulaire et le manque d'apport sanguin. L'ostéomyélite post-traumatique se produit avec colonisation microbienne des implants et des tissus adjacents endommagés. Un biofilm se produit avec formation d'un film conditionnant sur la surface de l'implant, ce qui encourage l'adhésion des microorganismes. En outre, les bactéries produisent un glycocalyx, qui assiste les cellules dans leur adhérence à l'implant. Le biofilm (bactéries, glycocalyx, et la surface de l'implant) protège les microorganismes des défenses de l'hôte et des effets antimicrobiens.

Les signes radiographiques de l'ostéomyélite sont une formation osseuse périostée et endostée, et une résorption osseuse. Il peut aussi y avoir la présence d'un implant desserré ou brisé avec des fragments osseux non viables (séquestrât) (figure n° 18). Les signes radiographiques et cliniques de l'ostéomyélite, associés à une culture bactérienne positive permettent de confirmer le diagnostic. Le traitement de l'ostéomyélite post-traumatique doit inclure une restauration de l'environnement favorable pour la guérison de la fracture (suppression de l'implant desserré et de l'os séquestré, interruption du biofilm et stabilisation de la fracture) et une thérapie antimicrobienne appropriée pour au moins 4 semaines (JOHNSON, 2013).

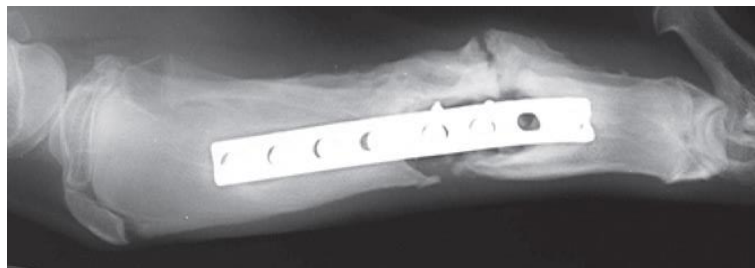


Figure n° 18 : Radiographie du tibia d'un chien avec une ostéomyélite (JOHNSON, 2013).

1.8.4. Mal-union (consolidation vicieuse) :

Les mal-unions sont des fractures consolidées dans lesquelles l'alignement osseux anatomique n'a pas été achevé ou maintenu durant la guérison. Les mal-unions doivent avoir un effet délétère sur la fonction. Les déformations angulaires sont caractérisées par la perte de la relation parallèle correcte entre les articulations en amont et en aval de l'os fracturé. Les déformations peuvent être classifiées comme valgus (angulation latérale du segment distal de l'os), varus (angulation médiale), antecurvatum (angulation caudale), ou recurvatum

(angulation crâniale du segment osseux distal) (figure n° 19 - A au D). Lorsque ces déformations sont sévères, elles peuvent affecter la fonction du membre et peuvent causer une arthrite des articulations adjacentes. Des déformations en translation (déplacement d'un segment osseux distal avec une surface articulaire parallèle) et en rotation (latérale ou médiale du segment osseux distal) peuvent aussi se produire (figure n° 19 - E et F). La rotation se produit plus souvent dans des fractures fémorales inadéquatement stabilisées et peut affecter défavorablement la fonction de la hanche et du grasset. Un raccourcissement des os affectés peut également se produire. Un os raccourci dans un système osseux unique (fémur et humérus) peut être compensé par extension des articulations adjacentes, cependant, un raccourcissement d'un seul os dans un système osseux apparié (radius-ulna, tibia-fibula) cause une incongruité dans l'alignement des articulations adjacentes. Les mal-unions doivent être traitées par une ostéotomie correctrice si elles affectent négativement la capacité de l'animal à s'ambuler (JOHNSON, 2013).

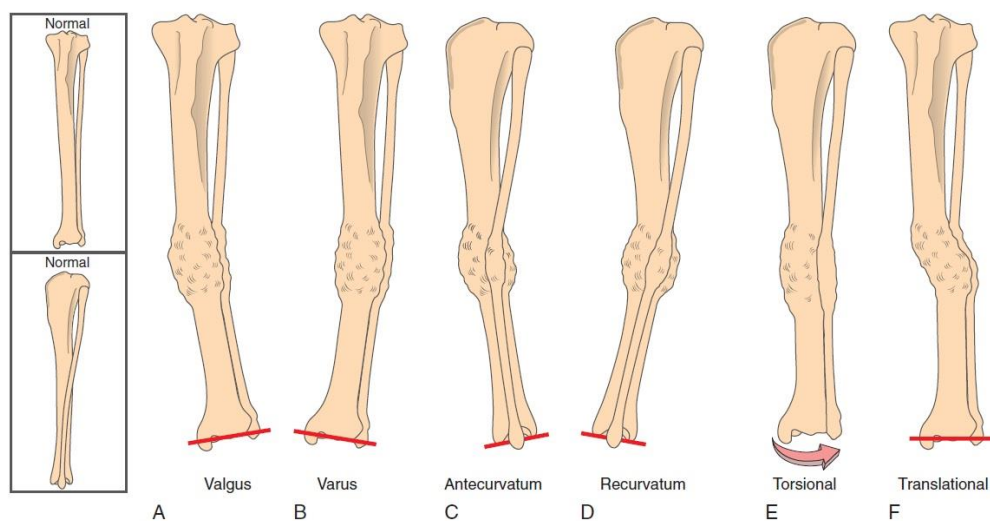


Figure n° 19 : Déformations osseuses, A : Valgus, B : Varus, C : Antecurvatum, D : Recurvatum, E : Torsion, F : Translation (JOHNSON, 2013).

2. Ostéopathie hypertrophique :

2.1. Définition :

L'ostéopathie hypertrophique est une réaction périostée diffuse résultant de la formation osseuse autour des os longs, métacarpiens et métatarsiens. Elle est encore appelée ostéoarthropathie pulmonaire (CRAIG *et al.*, 2016).

2.2. Considérations générales et physiopathologie :

L'ostéopathie hypertrophique peut affecter tous les membres. Elle peut être un syndrome paranéoplasique (tumeurs pulmonaires primaires et métastatiques, rhabdomyosarcome de la vésicule biliaire, néphroblastome), ou elle peut être associée à d'autres maladies (lésions granulomateuses, méga-œsophage chronique, endocardite bactérienne) (HAMMOND *et al.*, 2009). La physiopathologie précise de cette maladie est inconnue. Des altérations dans la fonction pulmonaire ont été suggérées responsables d'une augmentation du débit sanguin périphérique, causant une congestion du tissu conjonctif. Le flux sanguin périphérique augmenté peut être à médiation neurologique. Le périoste répond par une formation de nouvel os sur les surfaces corticales du métacarpe, métatarse et les os longs. Ce nouvel os peut être de nature diffuse ou nodulaire. Histologiquement, la région affectée est faite

de bandes de nouvel os cortical qui contiennent de petits espaces fibreux de moelle (VEGAD & SWAMY, 2010).

2.3. Diagnostic :

N'importe quelle race de chien peut être affectée, cependant, comme cette maladie est associée aux néoplasies, l'ostéopathie hypertrophique est généralement observée chez les animaux âgés. Cette condition a été rarement rapportée chez les chats. Les animaux sont généralement amenés en clinique à cause de la léthargie, la réticence à se déplacer, et un gonflement des extrémités distales. Le début des signes cliniques peut être aigu ou progressif. Les membres touchés sont chauds et gonflés. Comme cette condition se produit de façon secondaire à d'autres maladies dans le corps, un effort devrait être fait pour identifier les facteurs étiologiques sous-jacents. Un examen physique complet est essentiel pour évaluer les animaux touchés (SCHULZ, 2013).



Figure n° 20 : Vue dorso-palmaire de la patte antérieure d'un chien avec une ostéopathie hypertrophique (prolifération périostée sur les surfaces abaxiales des os métacarpiens et du radius/ulna (flèches), articulation carpienne épargnée) (SCHULZ, 2013).

Les radiographies des membres révèlent une prolifération périostée uniforme, que l'on voit d'abord sur les phalanges et les os métacarpiens et métatarsiens (figure n° 20). Lorsque la maladie progresse, la prolifération périostée progresse proximale (radius/ulna et tibia/fibula). Les surfaces articulaires des os longs sont généralement épargnées et semblent normales. Les radiographies thoraciques sont utilisées pour identifier une maladie pulmonaire ou médiastinale sous-jacente (néoplasie primaire ou métastatique, lésions granulomateuses, dirofilariose). L'échographie abdominale doit être effectuée pour identifier la maladie abdominale sous-jacente si la maladie thoracique n'est pas identifiée. Les résultats des analyses de laboratoire reflètent généralement la maladie sous-jacente. Une thrombocytose peut être présente chez certains animaux, cependant, la cause est mal comprise (SCHULZ, 2013).

2.4. Diagnostic différentiel :

Cette affection doit être différenciée des néoplasies osseuses.

2.5. Traitement :

Le traitement vise à combattre la maladie sous-jacente. Une rémission de la prolifération périostée peut se produire après la résolution ou la résection de la lésion primaire (SCHULZ, 2013).

2.6. Pronostic :

Le pronostic dépend de la possibilité de résolution complète du processus de la maladie sous-jacente. Si la maladie primaire peut être traitée, l'ostéopathie hypertrophique secondaire guérit souvent. Bien que les signes cliniques disparaissent en 1 à 2 semaines après le traitement, les lésions osseuses peuvent prendre des mois pour se remodeler (SCHULZ, 2013).

3. Panostéite :

3.1. Définition :

La panostéite est une maladie des jeunes chiens qui provoque une boiterie, une douleur osseuse, une production d'os endostéal, et occasionnellement une production d'os sous-périosté. Cette maladie est aussi appelée énostose, panostéite éosinophile, ostéomyélite juvénile, et l'ostéomyélite des jeunes bergers allemands (CRAIG *et al.*, 2016).

3.2. Considérations générales et physiopathologie :

La panostéite est une entité idiopathique provoquant la formation de nouvel os endosté et périosté. Le syndrome du compartiment osseux dû à une alimentation riche en protéines et riche en calories a été proposé comme une cause potentielle. L'excès de protéines peut causer un œdème intra-osseux, une augmentation de la pression médullaires et une ischémie. Bien qu'une partie du nouvel os périosté soit souvent évidente, le changement prédominant est la formation osseuse endostée et l'envahissement de la moelle par des travées osseuses. La moelle reste très cellulaire avec des degrés de fibrose variable, et aucun signe d'inflammation chronique, d'infection aiguë, ou de tumeur maligne n'est noté (VEGAD & SWAMY, 2010).

3.3. Diagnostic :

La panostéite affecte principalement les chiens mâles (80%) de grande race. Les jeunes chiens (moins de 2 ans) sont le plus souvent affectés, cependant, cette maladie a été occasionnellement diagnostiquée chez des chiens âgés. Les bergers allemands sont souvent affectés. Le signe pathognomonique de la panostéite est une boiterie d'une jambe en déplacement associée à la douleur en cas de palpation profonde de l'os. Bien que l'animal puisse présenter une boiterie aiguë d'un seul membre durant les premiers épisodes de panostéite, l'historique typique se compose de boiterie chronique, intermittente en déplacement.

Les animaux affectés sont généralement boiteux d'un seul membre. Une palpation ferme des os longs affectés provoque usuellement de la douleur. Les signes radiographiques de la panostéite sont progressifs. Les radiographies des membres affectés sont souvent normales durant les premiers stades, et les signes cliniques peuvent précéder de 10 jours les anomalies radiographiques. Si les signes cliniques sont compatibles avec la panostéite mais les radiographies sont normales, l'examen radiographique doit être répété dans 7 à 10 jours. La scintigraphie nucléaire est un test de diagnostic plus sensible que la radiographie. Les premiers signes radiographiques comprennent l'élargissement du foramen nourricier et la présence d'un flou et d'une accentuation des motifs trabéculaires (qui sont souvent difficiles à identifier) ; ces signes sont suivis par l'apparition d'os radio-opaque, inégal, ou tacheté dans les canaux médullaires (figure n° 21). Finalement, un remodelage des canaux médullaires se produit, et l'épaississement cortical peut rester comme la seule lésion résiduelle. Aucune anomalie ne peut être décelée au laboratoire (SCHULZ, 2013).

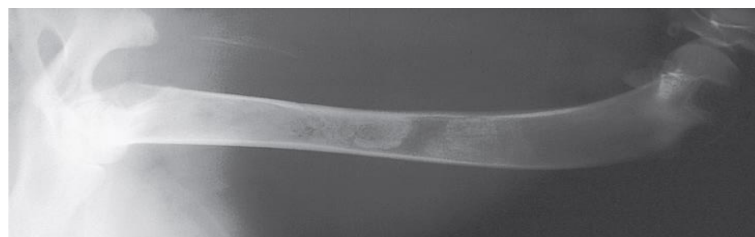


Figure n° 21 : Radiographie latérale du fémur d'un chien immature avec un panostéite (SCHULZ, 2013).

3.4. Diagnostic différentiel :

La panostéite doit être différenciée des autres maladies orthopédiques des grands chiens immatures (ostéochondrite disséquante, processus coronoïde fragmenté, processus anconé non consolidé dans les membres antérieurs, dysplasie de la hanche, ostéochondrite des membres postérieurs). Lorsque des signes radiologiques de panostéite et d'autres maladies orthopédiques sont présents en même temps, la panostéite est habituellement supposée d'être à l'origine des signes cliniques aigus (SCHULZ, 2013).

3.5. Traitement :

Le traitement de cette maladie est de type médical et consiste en un contrôle de la douleur. Les anti-inflammatoires non-stéroïdiens sont généralement administrés au cours des épisodes aigus de boiterie. La restriction d'exercice est recommandée lorsque l'animal est boiteux. Les propriétaires doivent être avertis de la probabilité de récurrence, mais le pronostic est excellent à long terme pour une récupération complète. Le traitement chirurgical de panostéite n'est pas indiqué (SCHULZ, 2013).

3.6. Pronostic :

La plupart des animaux retrouvent finalement une fonction normale des membres atteints sans preuve de douleur. Cependant, la maladie peut continuer à affecter des membres différents, causant de la douleur et des boiteries jusqu'à ce que l'animal soit mature. Les signes cliniques persistent rarement après la maturité (SCHULZ, 2013).

4. Ostéo-dystrophie hypertrophique :

4.1. Définition :

L'ostéo-dystrophie hypertrophique est une maladie qui provoque des perturbations de trabécules métaphysaires dans les os longs des chiens jeunes en croissance rapide. Elle est également appelée : scorbut squelettique, scorbut canin, maladie de Moeller-Barlow, types I et II d'ostéo-dystrophie, ostéopathie métaphysaire et dysplasie métaphysaire (CRAIG *et al.*, 2016).

4.2. Considérations générales et physiopathologie :

La cause de l'ostéo-dystrophie hypertrophique est inconnue. Les facteurs étiologiques proposés comprennent la carence en vitamine C, la grande supplémentation en calcium alimentaire, et des organismes infectieux. Une relation avec l'hépatite canine a été suggérée mais n'a pas été prouvée par des études épidémiologiques. Expérimentalement, les protocoles de vaccination ont été associés au développement d'une ostéo-dystrophie hypertrophique chez les chiots de race braque de Weimar, toutefois, aucun vaccin spécifique n'a été identifié (CRUMLISH *et al.*, 2006). La pathogénie est ambiguë, mais une perturbation apparente de l'irrigation sanguine métaphysaire conduit à des changements dans la physe et l'os métaphysaire adjacent, provoquant un retard d'ossification de la zone physaire hypertrophique. La phase aiguë dure environ 7 à 10 jours. Les animaux atteints présentent des signes allant de la boiterie légère à l'anorexie, la fièvre, la léthargie, la boiterie sévère, le refus de monter, et la perte de poids généralisée. Les signes cliniques peuvent croître et décroître. De manière générale, les régions métaphysaires des os longs sont élargies avec des gonflements pré-métaphysaires des tissus mous. Une ligne de séparation des trabécules métaphysaires est présente parallèlement à la plaque de croissance. Des micro-fractures histologiques des trabécules sont évidentes et sont entourées par des cellules inflammatoires et une nécrose. Un défaut de dépôt osseux sur le réseau de cartilage calcifié de l'os métaphysaire est évident (VEGAD & SWAMY, 2010).

4.3. Diagnostic :

Cette maladie affecte les jeunes chiens de grande race en croissance rapide, et les mâles sont plus souvent atteints que les femelles. Les signes cliniques sont généralement d'abord notés à l'âge de 3 à 4 mois, cependant, ils peuvent se produire dès le 2^{ème} mois. Les rechutes peuvent se produire jusqu'à l'âge de 8 mois. La plus forte incidence est à l'automne. Les braques de Weimar peuvent être à risque accru. Un début aigu de la boiterie est souvent signalé, et les chiots peuvent être si sévèrement atteints qu'ils refusent de marcher. Une inappétence et une léthargie sont fréquemment signalées par les propriétaires. Une récente diarrhée peut précéder l'apparition de boiterie. Les constatations en examen clinique vont d'une boiterie légère à sévère affectant les quatre membres. Les animaux plus sévèrement affectés sont souvent incapables de se tenir debout ou de marcher. Les métaphyses des os longs sont gonflées, chaudes et douloureuses à la palpation. Le gonflement est souvent présent dans les quatre membres, cependant, le gonflement des membres antérieurs peut être plus évident, en particulier dans les parties métaphysaires distales du radius. Les chiens sévèrement affectés peuvent être déprimés, anorexiques et souffrent d'une hyperthermie (température corporelle allant jusqu'à 41 °C).

Les radiographies des os longs atteints révèlent une zone radio-transparente irrégulière dans la métaphyse, parallèlement et proximale à la physe, ce qui donne l'apparence d'une double ligne physaire. Un élargissement métaphysaire et une opacité accrue se produisent à cause de la prolifération périostée dans les derniers stades de la maladie. Cette réaction diminue avec le temps, mais peut laisser une métaphyse élargie de manière permanente. Les changements des paramètres biochimiques ne sont pas habituellement trouvés. Une hypocalcémie a été notée chez quelques animaux atteints, mais sa signification est inconnue. Une bactériémie a été rarement rapportée (SCHULZ, 2013).

4.4. Diagnostic différentiel :

Cette maladie doit être différenciée de l'arthrite septique, la physite septique et la panostéite (SCHULZ, 2013).

4.5. Traitement :

Des analgésiques doivent être administrés pour contrôler la douleur. Occasionnellement, les animaux sévèrement débilisés nécessitent une fluïdo-thérapie. Des corticoïdes, des antibiotiques et de la vitamine C ont été administrés mais ils n'ont pas diminué la sévérité de la maladie. La probabilité de bactériémie doit être exclue avant d'administrer des corticoïdes (SCHULZ, 2013).

4.6. Pronostic :

La plupart des animaux se rétablissent complètement dans les 7 à 10 jours suivant l'apparition des signes cliniques, toutefois, de multiples rechutes peuvent survenir. Occasionnellement, des rechutes sévères poussent les propriétaires à demander l'euthanasie des animaux concernés. L'interférence avec le développement physaire normal peut provoquer une déformation permanente des os longs (SCHULZ, 2013).

5. Néoplasie osseuse :

5.1. Définition :

Les néoplasies osseuses primaires proviennent des cellules localisées à l'intérieur de la structure osseuse. Les tumeurs osseuses métastatiques sont celles qui se propagent à l'os à partir d'autres localisations primaires. Les tumeurs primaires et métastatiques peuvent se produire

dans le squelette appendiculaire (os longs) ou axial (crâne, vertèbres, côtes et pelvis) (CRAIG *et al.*, 2016).

5.2. Considérations générales et physiopathologie :

Les tumeurs osseuses primaires comprennent l'ostéosarcome, le chondrosarcome, le fibrosarcome, l'hémangiosarcome, les tumeurs des cellules géantes, le liposarcome, l'ostéosarcome périosté, le fibrosarcome périosté, l'ostéosarcome parostéal, l'ostéome, l'ostéome multilobulaire, le chondrome multilobulaire, l'ostéochondrome et le chondrome. Les tumeurs osseuses primaires du squelette appendiculaire proviennent fréquemment de la métaphyse radiale distale, humérale proximale, fémorale proximale ou distale, et tibiale distale. Les tumeurs bénignes (ostéome, fibrome ossifiant, ostéome et chondrome multilobulaires, ostéochondrome, enchondrome, chondrome) ont généralement une croissance lente. Selon l'accessibilité de la tumeur, l'exérèse chirurgicale complète des tumeurs bénignes de l'os est généralement curative (VEGAD & SWAMY, 2010).

5.3. Diagnostic :

Les grandes races ont la grande incidence de néoplasies osseuses appendiculaires. L'âge moyen des animaux avec des ostéosarcomes est de 7 ans. Un petit pic précoce est observé chez les chiens de 18-24 mois d'âge. La grande taille est un critère plus déterminant du risque que la race (ROSENBERGER *et al.*, 2007). Les mâles peuvent être un peu plus fréquemment affectés que les femelles. Les tumeurs osseuses primaires du squelette axial sont plus fréquentes que les tumeurs appendiculaires chez les animaux de petite race. L'âge moyen des animaux affectés est de 8,7 ans. L'âge moyen d'ostéosarcome chez les chats est de 8 à 10 ans. Aucune prédilection de race ou de sexe n'a été identifiée chez les autres espèces.

Les animaux avec des néoplasies osseuses primaires affectant le squelette appendiculaire sont généralement examinés pour une boiterie et/ou un gonflement localisé du membre. Une fracture pathologique peut causer une boiterie aiguë et sévère. Les animaux avec des tumeurs osseuses primaires du squelette axial ont généralement une douleur, refusent de marcher, et un gonflement visible. Les signes cliniques peuvent être aigus ou chroniques et progressifs. Les signes d'une néoplasie axiale dépendent de la localisation. Les néoplasies du crâne peuvent causer des difficultés à manger et un gonflement visible. Les néoplasies de la colonne vertébrale peuvent conduire vers une douleur ou un déficit neurologique. Enfin, les néoplasies primaires chez les chats peuvent causer une déformation et une boiterie.

Les animaux avec des tumeurs appendiculaires sont souvent boiteux. Le membre peut être agrandi et ferme. Des signes généraux de maladie (fièvre, anorexie, perte de poids) sont rares dans les stades aigus de la maladie. Les tumeurs du squelette axial sont souvent fermes et gonflées à la palpation. Les tumeurs affectant la colonne vertébrale peuvent provoquer de graves signes de boiterie ou de paralysie. Les anomalies respiratoires associées avec métastases pulmonaires sont rares jusqu'aux stades tardifs de la maladie. Les chats atteints de néoplasie osseuse appendiculaire primaire peuvent souffrir de boiterie et de gonflement ferme et douloureux. Les chats avec une néoplasie axiale peuvent présenter des difficultés à manger, des déficits neurologiques, et une tuméfaction ferme et douloureuse (SCHULZ, 2013).

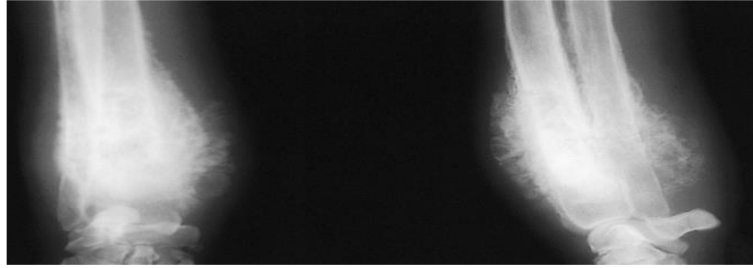


Figure n° 22 : Radiographie de la partie distale du radius du chien avec un ostéosarcome montrant la lyse corticale, la prolifération périostée et l'œdème des tissus mous (SCHULZ, 2013).

Les radiographies des os et du thorax atteints doivent être évaluées. Les signes radiographiques de l'ostéosarcome comprennent la lyse de l'os cortical et trabéculaire, la prolifération osseuse périostée, et l'œdème des tissus mous (figure n° 22). Les radiographies thoraciques doivent inclure une incidence dorso-ventrale ou ventro-dorsale et les deux incidences latérales (incidences droite et gauche). Ces radiographies doivent être soigneusement examinées afin de déceler des signes de métastases tumorales. Alternativement, la tomographie assistée par ordinateur à contraste amélioré du thorax peut remplacer les radiographies ; la tomographie est plus sensible que la radiographie dans la détection de petites lésions métastatiques. Bien que les signes radiographiques liés à la néoplasie osseuse primaire ne puissent être différenciés de ceux associés à une ostéomyélite fongique, une association des signes radiographiques avec le signalement et l'historique peut aider à déterminer si une néoplasie doit être considérée comme étant probable. En fin de compte, l'histopathologie est nécessaire pour la confirmation. Si une chirurgie pour préserver le membre est envisagée, l'imagerie par résonance magnétique (IRM) doit être utilisée pour déterminer l'étendue de la maladie. La scintigraphie osseuse peut aider à identifier les lésions osseuses multifocales chez les chiens avec une néoplasie. L'ostéosarcome affecte rarement plusieurs os, toutefois, des lésions métastatiques ont été identifiées sur la scintigraphie au moment du diagnostic initial. La scintigraphie peut également être indiquée lorsque d'autres formes de cancer (le myélome multiple et le cancer osseux métastatique) sont soupçonnées.

Les changements de paramètres biochimiques ne sont pas régulièrement trouvés en cas de néoplasie osseuse primaire ou métastatique. Une augmentation préopératoire de la phosphatase alcaline sérique totale et de l'iso-enzyme osseuse de la phosphatase alcaline sérique sont associées à des intervalles de survie et de maladie raccourcis. Une diminution dans l'activité de l'iso-enzyme osseuse de la phosphatase alcaline après la chirurgie peut être associée à une plus longue durée de survie.

Une ponction avec une aiguille fine et une cytologie peuvent être suggestives de néoplasie osseuse dans un grand pourcentage de cas. Un guidage échographique peut aider à identifier les zones de lyse osseuse et faciliter l'aspiration. La cytologie à l'aiguille fine peut fournir des preuves suffisantes de tumeur osseuse primaire pour permettre l'initiation du traitement, cependant, le diagnostic définitif de néoplasie osseuse nécessite une évaluation histologique des échantillons obtenus par biopsie ou par exérèse. L'identification réussie d'une tumeur nécessite l'obtention des échantillons tissulaires adéquats et un pathologiste avec expertise dans l'interprétation des prélèvements osseux. De multiples échantillons doivent être obtenus pour augmenter la précision du diagnostic. Les dernières biopsies sont communément interprétées comme os réactif. La fluoroscopie ou d'autres techniques d'imagerie avancées pour choisir le site de la biopsie augmentent les chances d'obtenir des biopsies diagnostiques optimales. Alternativement, les radiographies obtenues après biopsie peuvent servir pour confirmer l'emplacement de biopsie. Des biopsies doivent être obtenues de telle manière que

les cellules tumorales potentiellement ensemencées seront supprimées au cours des chirurgies ultérieures (SCHULZ, 2013).

5.4. Diagnostic différentiel :

Les lésions néoplasiques primaires soupçonnées doivent être différenciées de l'ostéomyélite bactérienne, l'ostéomyélite fongique, les tumeurs osseuses métastatiques (carcinome prostatique), l'extension directe des tumeurs des tissus mous, l'ostéopathie pulmonaire hypertrophique, l'infarctus osseux, l'hyper-vitaminose A, la réponse périostée aux traumatismes, et les kystes osseux (SCHULZ, 2013).

5.5. Traitement :

5.5.1. Médical :

La plupart des animaux avec une néoplasie du squelette finissent par mourir à cause de la maladie métastatique, ainsi plusieurs recherches ont exploré l'utilisation de la chimiothérapie pour traiter les micro-métastases. Les traitements couplés (amputation et chimiothérapie) ont prolongé la durée de vie des animaux avec un ostéosarcome à un taux moyen de 300 jours avec 40% de chance de survie d'un an. La chimiothérapie d'appoint consiste habituellement en une administration de carboplatine ou de doxorubicine peu après l'amputation. De nombreux protocoles sont disponibles pour l'administration d'un ou d'une combinaison de ces médicaments. Les effets secondaires d'une thérapie au cisplatine (lésions rénales, nausées, vomissements, anorexie, et suppression de la moelle osseuse) mettent potentiellement la vie en danger et nécessitent une surveillance attentive durant le traitement ; cette thérapie est ainsi rarement utilisée. Les effets secondaires indésirables de la doxorubicine peuvent impliquer une suppression de la moelle osseuse, des vomissements, des nausées, une anorexie, et une toxicité cardiaque. L'extravasation de la doxorubicine peut entraîner une destruction tissulaire catastrophique. La formule et numération sanguine complète, la numération plaquettaire, le taux d'azote uréique sanguin, la créatinine sérique et la densité urinaire doivent être régulièrement évalués. Dans les cas où la résection tumorale est impossible, la radiothérapie palliative peut soulager la douleur. Les bisphosphonates ont été utilisés pour aider à diminuer la douleur osseuse associée à l'ostéosarcome (SCHULZ, 2013).

5.5.2. Chirurgical :

Le traitement des tumeurs osseuses appendiculaires suppose l'amputation du membre ou une résection tumorale combinée avec les techniques de préservation du membre et une chimiothérapie. Les techniques de préservation du membre sont des procédures chirurgicales difficiles et doivent être effectuées uniquement par des chirurgiens expérimentés avec une formation avancée. Les tumeurs maxillaires et mandibulaires sont traitées par mandibulectomie, ainsi qu'une chimiothérapie ou une radiothérapie appropriée. Les tumeurs de la colonne vertébrale peuvent parfois être traitées par une résection en bloc, mais la procédure est difficile. Les tumeurs des côtes sont traitées par une résection en bloc (SCHULZ, 2013).

5.6. Pronostic :

Les animaux traités pour un ostéosarcome avec une amputation seulement ont une durée moyenne de survie de 3 à 4 mois. Les animaux traités par amputation et cisplatine ont une durée de survie moyenne de 260 à 400 jours et un taux de survie pour un an de 38 à 62%. La carboplatine résulte en un temps de survie moyen de 321 jours et 35% de chance de survie à un an. Dans une étude d'ostéosarcomes appendiculaires chez 35 chiens traités par chimiothérapie combinée au cisplatine et doxorubicine, le temps de survie moyen était de 300 jours, toutefois, les 10 chiens qui ont survécu jusqu'à une année ont vécu pour une période moyenne de 510

jours. Même si une métastase des ganglions régionaux est rare chez les chiens avec ostéosarcome appendiculaire, les chiens avec métastase ganglionnaire ont un pronostic moins bon que les chiens sans métastase ganglionnaire (moyenne de survie de 59 jours contre 318 jours, respectivement). L'euthanasie est habituellement demandée par les propriétaires lorsque les métastases pulmonaires causent la dépression, l'anorexie et/ou d'une détresse respiratoire.

Les procédures de préservation du membre avec traitement par le cisplatine ont abouti à une bonne fonction du membre voire satisfaisante dans environ 80% des cas traités. Aucune différence dans le taux de survie n'est évidente entre les animaux traités par amputation en association avec une chimiothérapie et ceux traités par procédures de préservation du membre en association avec une chimiothérapie. Les complications associées aux techniques traditionnelles de préservation du membre varient considérablement selon l'étude citée et incluent la récurrence de la tumeur locale (15 à 60%), des complications de l'implant (11 à 60%), et l'infection de l'allogreffe (39 à 70%) (WITHROW & VAIL, 2007). L'amélioration de la survie a été observée chez les animaux traités avec une procédure de préservation du membre lorsque le site chirurgical est devenu infecté. Une petite longueur initiale du radius impliqué et un poids corporel inférieur ont également eu une influence positive sur la survie dans l'étude susmentionnée.

En revanche à l'ostéosarcome, les animaux avec des chondrosarcomes appendiculaires peuvent être traités efficacement par l'amputation seule avec un temps de survie moyen de 979 jours (FARESE *et al.*, 2009). Le temps de survie est associé de façon significative au grade histologique. La durée moyenne de survie pour les chats traités par amputation pour des ostéosarcomes appendiculaires est de 24 à 44 mois (WITHROW & VAIL, 2007). Une chimiothérapie adjuvante n'a pas été efficace dans la gestion de l'ostéosarcome chez les chats. Le pronostic pour les chats diagnostiqués avec plusieurs exostoses cartilagineuses est mauvais en se basant sur la tendance de ces lésions à réapparaître après l'excision chirurgicale (SCHULZ, 2013).

6. Ostéomyélite :

6.1. Définition :

L'ostéomyélite est une inflammation du tissu osseux, bien que le terme soit plus fréquemment utilisé pour décrire l'inflammation due à l'infection. L'ostéomyélite aiguë est caractérisée par une maladie systémique, une douleur, et un œdème des tissus mous sans modifications radiographiques visibles dans l'os. L'ostéomyélite chronique existe lorsque les signes cliniques systémiques et aigus sont moins sévères, mais l'infection se manifeste par des fistules, une cellulite récurrente, une formation d'abcès, et des changements osseux progressifs, destructifs et prolifératifs. Un séquestrât est un morceau d'os dévitalisé qui est devenu séparé du tissu environnant (CRAIG *et al.*, 2016).

6.2. Considérations générales et physiopathologie :

La plupart des infections osseuses chez les chiens et les chats sont d'origine bactérienne. La majorité de ces infections sont mono-microbiennes, avec prédominance des bactéries productrices de β -lactamase, *Staphylococcus aureus* ou *Staphylococcus pseudintermedius*. Les infections poly-microbiennes sont également fréquentes et peuvent abriter des mélanges de *Streptococcus spp.*, *Proteus spp.*, *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.* et *Pseudomonas spp.* Les bactéries anaérobies sont une cause importante de l'ostéomyélite ; elles sont présentes dans plus de deux tiers des infections osseuses. Les bactéries anaérobies peuvent exister seules, comme le seul agent causal, ou plus fréquemment comme le seul organisme dans une infection poly-microbienne. Les bactéries anaérobies isolées à partir des infections osseuses incluent

Actinomyces spp., *Clostridium spp.*, *Peptostreptococcus spp.*, *Bacteroides spp.*, et *Fusobacterium spp.* Les caractéristiques des infections anaérobiques sont l'odeur fétide, la séquestration des fragments osseux, et l'existence de bactéries avec différentes morphologies sur des frottis Gram colorés (VEGAD & SWAMY, 2010).

L'ostéomyélite bactérienne est souvent classée comme hématogène ou post-traumatique, toutefois, la division entre les deux est souvent floue dans le fait qu'un ensemencement hématogène des fractures par des agents infectieux puisse se produire et induire une ostéomyélite. L'ostéomyélite métaphysaire hématogène est rarement signalée chez des chiens (GREEN, 2011). L'ostéomyélite associée à une fracture a été rapportée plus fréquemment dans le radius/ulna (41,5% des cas) et le fémur (28,5% des cas) (GREEN, 2011). L'os est normalement résistant à l'infection, de sorte que des facteurs prédisposants sont requis pour qu'une ostéomyélite survienne. Les facteurs associés à l'ostéomyélite comprennent une nécrose osseuse ou une séquestration, l'instabilité de la fracture, l'ischémie, les prothèses ou d'autres corps étrangers, et l'altération de la réponse immunitaire locale ou systémique (GREEN, 2011). Une source fréquente de l'inoculation bactérienne est la contamination du site opératoire lors de la réduction d'une fracture ouverte. Bien que le type et la quantité des bactéries inoculées soient des facteurs importants dans le développement de l'infection osseuse, les bactéries seules ne causent pas nécessairement une ostéomyélite. Les autres facteurs importants dans la pathogenèse de l'ostéomyélite post-traumatique sont l'étendue des dommages des tissus mous et l'altération de l'approvisionnement en sang, la formation d'un biofilm (glycocalyx), et la stabilité de réparation des fractures. Les lésions tissulaires peuvent être causées par la blessure ou peuvent se produire au cours de la procédure chirurgicale. Les tissus mous endommagés et l'os dévitalisé servent d'excellents milieux de culture pour les bactéries. La prolifération bactérienne est également potentialisée par la présence des corps étrangers dans la plaie (matériaux de suture synthétiques ou implants). Le glycocalyx est une combinaison de productions bactériennes et de débris cellulaires de l'hôte qui entourent les colonies bactériennes et facilite l'adhérence bactérienne. Le biofilm protège également les bactéries de la phagocytose, les anticorps de l'hôte, et l'efficacité des antibiotiques. L'ostéomyélite est aggravée par l'instabilité de la fracture. Le mouvement continu altère la revascularisation des espaces entre les bouts osseux, qui à son tour empêche les mécanismes de défense de l'hôte dans la protection de la région.

Les infections osseuses mycosiques sont acquises par le biais de dissémination hématogène des spores inhalés. Les organismes impliqués sont endémiques dans certains emplacements géographiques et comprennent *Blastomyces dermatitidis*, *Coccidioides immitis*, et, moins couramment, *Histoplasma capsulatum*, *Cryptococcus neoformans*, et *Aspergillus spp.* Bien qu'une ostéomyélite virale soit considérée comme peu fréquente, de nouvelles preuves suggèrent que certaines maladies osseuses canines peuvent être d'origine virale. Des séquences d'ARN homologues avec l'ARN du virus de l'hépatite canine ont été détectées dans les ostéoblastes des chiens atteints d'ostéopathie métaphysaire (ostéopathie hypertrophique). D'autres causes de l'ostéomyélite comprennent les parasites, les corps étrangers, et la corrosion des implants métalliques. Le diagnostic de l'ostéomyélite est souvent suspecté en se basant sur l'historique, les signes cliniques et les résultats radiographiques (SCHULZ, 2013).

6.3. Diagnostic :

Des animaux de n'importe quel âge, race ou sexe peuvent être affectés. Les conclusions historiques peuvent inclure de récentes réductions ouvertes et une stabilisation de fracture, des morsures, des plaies traumatiques ouvertes, ou une habitation dans une région fongique endémique, toutefois, l'ostéomyélite fongique ne doit jamais être simplement éliminée parce que le patient ne vit pas dans une région endémique.

Les caractéristiques cliniques de l'ostéomyélite varient selon le stade de la maladie. La réponse initiale de l'os à l'infection est l'inflammation ; les tissus mous de la région peuvent devenir chauds, rouges, enflés et douloureux. L'animal est souvent hyperthermique, déprimé et partiellement ou totalement anorexique. La distinction entre une ostéomyélite aiguë et l'inflammation associée à une intervention chirurgicale est souvent difficile. La persistance d'une température élevée pendant plus de 48 heures après l'intervention ou une élévation du nombre de neutrophiles augmentent la probabilité que l'infection est présente plutôt qu'un simple traumatisme induit chirurgicalement. Toutefois, l'absence de l'une de ces constatations n'exclue pas l'infection. Les animaux avec une ostéomyélite chronique sont généralement amenés pour l'évaluation d'une boiterie. L'hyperthermie, l'anorexie, et d'autres signes cliniques associés aux maladies systémiques sont souvent absents.

Les résultats radiographiques spécifiques varient selon le stade de la maladie, le site d'infection, et la pathogénicité des organismes infectieux. L'œdème des tissus mous est le premier signe d'une ostéomyélite aiguë et peut être observé dès 24 heures après l'infection. Les signes radiographiques peuvent être en retard par rapport à la présentation clinique. Les premiers changements radiographiques comprennent une prolifération du périoste avec dépôt de nouvel os dans un modèle lamellaire orienté perpendiculairement à l'axe longitudinal de l'os. Les réactions périostées lamellées sont habituellement associées à une ostéomyélite, tandis que la formation de nouvel os périosté solide n'est généralement pas associée à l'infection (figure n° 23). À mesure que l'infection progresse, la lyse de la cavité médullaire devient apparente. Le séquestrât peut se développer si l'os a été dévitalisé, et la sclérose et la lyse deviennent parsemées dans l'os cortical et médullaire, au niveau du site d'infection, sous forme d'une enveloppe (néoformation osseuse autour du séquestrât). L'os séquestré apparaît, à la radiographie, plus opaque que l'os environnant.

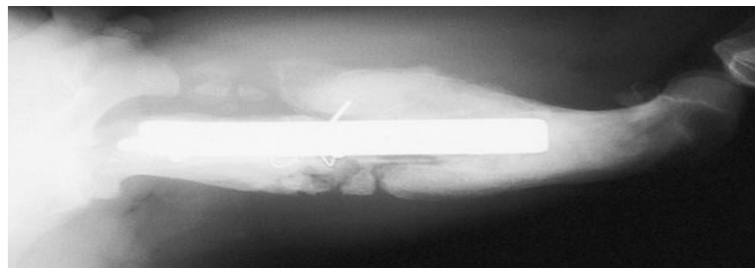


Figure n° 23 : Radiographie d'un chien avec une ostéomyélite aiguë après réduction ouverte et stabilisation d'une fracture fémorale montrant une réaction excessive du périoste et formation d'un séquestrât (SCHULZ, 2013).

Avec une ostéomyélite aiguë, des signes d'infection systémique sont souvent présents, et sont confirmés par la présence d'un taux élevé de globules blancs et une neutrophilie. Les paramètres de laboratoire chez les animaux atteints d'une ostéomyélite chronique sont habituellement normaux. La culture microbiologique est définitive pour les ostéomyélites bactériennes et est essentielle à la détermination de la susceptibilité de l'organisme vis-à-vis des médicaments antimicrobiens *in vitro*. L'échantillon pour culture ne doit pas être recueilli à partir des tractus drainant. Les organismes cultivés à partir des drainages sont corrélés aux pathogènes isolés au cours de la chirurgie dans moins de la moitié des patients. De préférence, des cultures aérobies et anaérobies doivent être obtenues à partir des os recueillis au cours de l'intervention chirurgicale. Subsidièrement, la collecte des échantillons de culture par aspiration, avec une aiguille fine, de matériau entourant directement les os impliqués peut être utile. Les cultures fongiques et l'évaluation histologique et cytologique des biopsies peuvent être diagnostiques de l'ostéomyélite fongique. La sérologie peut être utile pour diagnostiquer la blastomycose et la coccidiose. La cryptococcose est mieux diagnostiquée par la détection

d'antigènes utilisant l'agglutination au latex. L'excrétion urinaire d'antigènes peut diagnostiquer la blastomycose (sensibilité de 93% selon SPECTOR *et al.* (2008)) et l'histoplasmosse. La sérologie de l'histoplasmosse ou de l'aspergillose systémique est douteuse sur le plan de sensibilité et de spécificité (SCHULZ, 2013).

6.4. Diagnostic différentiel :

L'ostéomyélite doit être différenciée des néoplasies osseuses. Les modifications radiographiques de l'ostéomyélite sont semblables à celles suivant la chirurgie dans laquelle le traumatisme périosté a été excessif. L'ostéomyélite métaphysaire hématogène doit être différenciée de l'ostéo-dystrophie hypertrophique (SCHULZ, 2013).

6.5. Traitement :

6.5.1. Médical :

La gestion médicale consistant de l'antibiothérapie et l'application des packs chauds peut être efficace chez les patients avec une ostéomyélite hématogène ou chez ceux avec une ostéomyélite postopératoire, bien que l'infection puisse rarement être traitée tant que des implants restent en place. La thérapie médicale est raisonnable lorsque la zone concernée présente des signes d'inflammation, mais le séquestrât, les tissus nécrosés, ou les poches d'exsudat minimisent les chances de réussite de la thérapie médicale seule. En outre, si le patient a une ostéomyélite postopératoire, la stabilité des os et de l'implant doit être présente pour que le traitement médical soit efficace. Après la consolidation osseuse, le retrait de l'implant est habituellement nécessaire pour résoudre l'infection. L'antibiothérapie appropriée est déterminée par la culture et la sensibilité et est maintenue pour une période d'au moins 28 jours (SCHULZ, 2013).

6.5.1. Chirurgical :

Si un séquestrât ou des poches d'exsudat sont présents, le drainage et le débridement des tissus nécrosés sont nécessaires. La fracture doit être stable, et un traitement antimicrobien approprié doit être instauré sur la base de la culture et des tests de sensibilité. Le traitement de l'ostéomyélite chronique implique le maintien de stabilité de la fracture, l'élimination des implants desserrés et de l'os séquestré, le greffage des déficits osseux par un os spongieux, et un traitement antimicrobien approprié. Les supports bactériens implantés (polyméthacrylate ou un polymère biodégradable) ont été largement utilisés chez les humains et chez les chevaux, mais leur utilisation chez les petits animaux est limitée (SCHULZ, 2013).

6.6. Pronostic :

Si tous les os séquestrés sont supprimés et les fractures sont correctement stabilisées, le pronostic de résolution de l'infection et le retour à l'activité normale du patient est bon. Le retrait de tous les implants osseux suivants l'union osseuse est habituellement nécessaire pour résoudre complètement l'infection (SCHULZ, 2013).

CHAPITRE III

GREFFES

ET

SUBSTITUTS

OSSEUX

III. Greffes et substituts osseux :

Le remplacement des pertes osseuses est un défi pour les chirurgiens orthopédistes et la prise de décision est en relation avec la disponibilité de la matière de remplacement. La préférence est souvent donnée aux autogreffes sous forme spongieuse, corticale ou cortico-spongieuse à partir des sites donneurs, tels que la crête iliaque, et la partie distale du radius. Cependant, le volume disponible à partir de tels sites reste limité surtout en cas de complications potentielles. Les progrès réalisés dans le traitement chirurgical et dans la recherche médicale ont produit une grande variété de substances qui peuvent être utilisées pour la substitution osseuse. Le choix des greffes et substituts osseux doit prendre en considération les caractéristiques, la disponibilité, la morbidité du patient, la transmission potentielle des maladies, l'immunogénicité et le coût. Les dernières décennies ont connu une relance axée sur le marché à utiliser des produits de substitution osseuse malgré le peu de données comparatives pour les indications et la sécurité. Chacun a associé des avantages et des inconvénients potentiels, et les orthopédistes doivent soigneusement peser le rapport bénéfice/risque avant de faire leurs choix. Toute discussion sur les greffes et les substituts osseux devrait commencer par les objectifs de remplacement osseux. Les propriétés suivantes sont primordiales pour l'examen de la greffe osseuse, et la greffe devrait idéalement les fournir (CYPHER & GROSSMAN, 1996 ; MOORE *et al.*, 2001 ; HARTIGAN & COHEN, 2005).

- **Ostéogénèse** : les greffes avec des cellules ostéogènes ont « la machine synthétique nécessaire » : les ostéoblastes, ou les cellules ostéoprogénitrices capables de survivre durant le processus de transplantation pour produire un nouvel os ;
- **Ostéoinduction** : l'environnement des protéines de croissance nécessaires pour induire la différenciation des cellules progénitrices en cellules productrices d'os. Ceci est un processus complexe impliquant la médiation de nombreux facteurs de signalisation, incluant la famille des TGF- β ;
- **Ostéoconduction** : une matrice bioactive qui fournit une structure appropriée pour la croissance de l'os. Cette matrice sert de support et facilite la croissance des fibres et des vaisseaux, la migration des cellules progénitrices dans la charpente, l'attachement des ostéoblastes et l'éventuelle fabrication d'un nouvel os. Cette capacité passive dépend du contact avec les surfaces osseuses exposées ;
- **Intégrité structurale** : la force structurale du matériel greffé et sa résistance aux forces de compression et de torsion ;
- **Capacité d'ostéointégration** : l'habileté de la greffe de s'intégrer et de se lier à l'os hôte (BHATT & ROZENTAL, 2012).

1. Les greffes osseuses naturelles :

1.1. Les autogreffes :

Une autogreffe est une greffe osseuse récoltée à partir d'un site anatomique et transplantée dans un autre site du même individu (GOLDBERG & AKHVAN, 2005 ; ROBERT & ROSENBAUM, 2012). Avec la possession de propriétés ostéoinductives, ostéoconductives et ostéogéniques, une greffe osseuse autologue peut intégrer complètement et plus rapidement dans l'os hôte (GOLDBERG & AKHVAN, 2005). Elle est donc considérée comme le « gold standard » dans le traitement des défauts osseux et le modèle de référence dans l'évaluation des autres greffes et substituts osseux. Cependant, les inconvénients de l'autogreffe ont été largement rapportés et sont liés au processus de récolte, y compris la morbidité et la douleur du site donneur, l'augmentation de la perte de sang, l'augmentation du temps opératoire, la potentielle infection du site donneur, le volume limité du matériel disponible, les problèmes de cicatrisation des plaies, les hernies, les blessures des nerfs locaux, les hémorragies et la

perforation abdominale (KHAN *et al.*, 2005 ; FLYNN, 2011 ; ROBERT & ROSENBAUM, 2012 ; CHIARELLO *et al.*, 2013). En effet, des études rétrospectives et prospectives ont montré que les complications les plus observées après un prélèvement d'une greffe à partir de la crête iliaque sont la douleur suivie d'une perte de la sensation au niveau du site donneur (HALL *et al.*, 1999 ; ROBERTSON & WRAY, 2001). En outre, la récolte d'une autogreffe n'est pas possible chez les patients avec une crête iliaque compromise (ayant subi une récolte récente ou une fracture) ou qui ne permet pas de donner un volume adéquat (ostéoporose) (BURKUS *et al.*, 2005).

Le développement du système RIA (reamer-irrigator-aspirator) offre une alternative aux autres options traditionnelles de greffe osseuse autologue (crête iliaque, tubercule tibial latéral, partie distale du tibia, partie ulnaire proximale, et radiale distale) comme ce système permet la récolte de greffe à partir du canal intramédullaire du fémur ou du tibia (KOVAR & WOZASEK, 2011). Dans une étude sur 6000 patients, le taux de complications lié à l'usage du système RIA a été réduit à 6% par rapport à 19,37% pour la crête iliaque (DIMITRIOU *et al.*, 2011) ; alors que le volume de l'os a été augmenté à partir d'une moyenne de 15-20 ml avec la récolte à partir de la crête iliaque, à plus de 40 ml après utilisation du système RIA (BELTHUR *et al.*, 2008 ; PAPE & TARKIN, 2008). En comparant les greffes osseuses récoltées à partir de différentes parties d'un même organisme, des niveaux supérieurs d'expression des gènes associés aux tissus vasculaires, squelettiques et hématopoïétiques ont été identifiés dans les échantillons RIA par rapport à ceux de la crête iliaque. Similairement, les cellules souches et les facteurs de croissance dans les échantillons RIA étaient plus abondants (SAGI *et al.*, 2012). Néanmoins, des complications du système RIA ont également été documentées, et comprennent principalement la fracture iatrogène, la perforation corticale antérieure, l'exsanguination et l'ossification hétérotopique (DIMITRIOU *et al.*, 2011 ; MAUFFREY *et al.*, 2015).

1.1.1. L'autogreffe spongieuse :

Ce type est la forme la plus communément utilisée de greffe osseuse autologue. Il contient peu d'ostéoblastes et d'ostéocytes, mais des cellules souches mésenchymateuses abondantes qui survivent à la suite d'une ischémie pendant la transplantation, ce qui contribue à maintenir le potentiel ostéogénique et la capacité à générer un nouvel os à partir de la greffe (TORRES *et al.*, 2011). En outre, la grande surface d'une autogreffe spongieuse facilite la revascularisation et l'incorporation de la greffe à l'os hôte (KHAN *et al.*, 2005). Les protéines dérivées de la greffe, qui sont responsables de son pouvoir ostéoinductif, sont également conservées et présentes lorsque les autogreffes sont traitées de manière appropriée (GOLDBERG & AKHVAN, 2005 ; KHAN *et al.*, 2005). Dans la première phase de transplantation de l'autogreffe, l'hématome et l'inflammation se produisent rapidement avec le recrutement des cellules souches mésenchymateuses pour établir un tissu de granulation fibreux. Pendant ce temps, le tissu de greffe nécrotique est lentement éliminé par les macrophages et la néo-vascularisation commence à se former. Ensuite, lors de l'incorporation de l'autogreffe, les « coutures » d'ostéoïde sont produites par une ligne d'ostéoblastes entourant le tissu nécrotique, ce qui est simultané à la formation du nouvel os par des cellules hématopoïétiques accumulées dans l'os transplanté (GOLDBERG & AKHVAN, 2005 ; KHAN *et al.*, 2005, ROBERT & ROSENBAUM, 2012). Ce processus, qui conduit à la résorption et au remplacement complet de la greffe, dure habituellement 6 à 12 mois (BURCHARDT, 1987).

1.1.2. L'autogreffe corticale :

Elle possède une excellente intégrité structurale et apporte un soutien mécanique, en raison du nombre limité de cellules ostéoprogénitrices qu'elle contient (ROBERT & ROSENBAUM, 2012). Contrairement à la greffe autologue spongieuse, la substitution de

l'autogreffe corticale est principalement assurée par les ostéoclastes après la formation rapide d'hématome et la réponse inflammatoire dans la phase précoce de la régénération osseuse, car les processus de revascularisation et de remodelage sont strictement entravés par l'architecture dense (GOLDBERG & AKHVAN, 2005). Par conséquent, et suite à la résorption de la greffe par les ostéoclastes, la croissance osseuse par apposition sur un noyau nécrotique est le principal moyen d'incorporation de l'autogreffe corticale (ABBOTT *et al.*, 1947 ; HEIPLE *et al.*, 1963). Ce processus peut prendre des années, en fonction de la taille de la greffe et du site d'implantation (GOLDBERG & AKHVAN, 2005 ; KHAN *et al.*, 2005).

1.2. Les allogreffes :

La greffe osseuse allogénique se réfère à un tissu osseux récolté chez un individu et transplanté à un individu génétiquement différent de la même espèce (GOLDBERG & AKHVAN, 2005 ; ROBERT & ROSENBAUM, 2012). Compte tenu des limites des greffes osseuses autologues, l'allogreffe osseuse est considérée comme la meilleure alternative aux autogreffes et a été utilisée efficacement dans la pratique clinique dans de nombreuses circonstances, en particulier pour les patients présentant un faible potentiel de guérison, une pseudarthrose et une fragmentation importante après des fractures (GOLDBERG & AKHVAN, 2005). L'allogreffe peut être usinée et personnalisée, et est donc disponible sous diverses formes, y compris les dérivés osseux corticaux, spongieux et hautement transformés (matrice osseuse déminéralisée) (ROBERT & ROSENBAUM, 2012). Comparées aux autogreffes, les allogreffes se révèlent immunogènes et démontrent un taux d'échec plus élevé, qui est censé être causé par l'activation des principaux antigènes du complexe d'histocompatibilité (STEVENSON & HOROWITZ, 1992). La phase initiale d'ostéoinduction est détruite par la réponse immunitaire et les cellules inflammatoires, qui entourent rapidement la néovascularisation, provoquant la nécrose des cellules ostéoprogénitrices (STEVENSON, 1987 ; STEVENON *et al.*, 1991). Même le mécanisme exact de la réponse immunitaire au cours de l'incorporation de l'allogreffe n'est pas clair ; les études ont trouvé que l'acceptation de l'allogreffe est améliorée quand l'immunogénicité est réduite lorsque l'allogreffe est modifiée pour réduire les différences de l'histocompatibilité (GOLDBERG & AKHVAN, 2005). Un autre problème est le risque de transmission virale, qui a été considérablement amélioré par le développement des banques de tissus modernes (KHAN *et al.*, 2005) et l'amélioration de la technologie de traitement (VOGGENREITER *et al.*, 1994). Sur la base de ces situations, l'application d'allogreffes fraîches est toujours limitée, et les allogreffes modifiées conservées (congelées ou lyophilisées) sont habituellement préférées dans les pratiques cliniques (URIST, 1980).

Les allogreffes congelées sont principalement préparées par congélation, alors que les allogreffes lyophilisées sont préparées par congélation puis déshydratation à 5% approximativement. La stérilisation ultérieure des allogreffes peut être réalisée à l'oxyde d'éthylène ou les radiations gamma pour rendre les allogreffes moins immunogènes et limiter les risques de transmission des particules virales, des bactéries et des cellules malignes. Cependant, ce traitement réduit leurs capacités ostéoinductives, leur force structurale, et leur capacité d'incorporation dans l'os. Les radiations gamma sont susceptibles d'affecter beaucoup plus la stabilité mécanique, alors que l'oxyde d'éthylène affecte la capacité ostéoinductive. Les allogreffes congelées sont légèrement plus immunogènes et ont une courte durée de vie que celles lyophilisées (jusqu'à 5 ans si le stockage est correcte, par rapport à une durée de vie indéfinie pour la forme lyophilisée) mais les allogreffes lyophilisées ont moins de force structurale et de capacités ostéoinductives. Les allogreffes congelées peuvent être utilisées immédiatement après décongélation, alors que les formes lyophilisées peuvent subir de microfractures et sont plus faibles après réhydratation (SANDHU *et al.*, 1999 ; JAHANGIR *et al.*, 2008).

1.2.1. L'allogreffe spongieuse :

C'est le type le plus courant de greffes allogéniques commerciales. Elle est fournie principalement sous la forme de blocs cuboïdes (ROBERT & ROSENBAUM, 2012). En raison de la propriété mécanique de la litière qu'elle confère et de sa faible capacité de promotion de la guérison relative, l'allogreffe spongieuse modifiée et conservée est principalement appliquée dans des scénarios tels que la fusion spinale et comme matériau de remplissage pour les défauts squelettiques cavitaires (GOLDBERG & AKHVAN, 2005 ; KHAN *et al.*, 2005). Comparé aux autogreffes, une séquence d'événements similaire mais plus lente se produit dans le processus d'incorporation des allogreffes (GOLDBERG & AKHVAN, 2005). Cependant, il a été trouvé dans moins de 10% des cas que l'ostéointégration peut être retardée par une réponse inflammatoire de l'hôte qui conduit à la formation de tissu fibreux autour de la greffe (KOTZ & POITOUT 2013). Pendant ce temps, les allogreffes restent piégées et ne sont jamais complètement résorbées plusieurs années après la transplantation (KHAN *et al.*, 2005 ; FLYNN, 2011).

1.2.2. L'allogreffe corticale :

Elle confère des propriétés mécaniques rigides et est principalement appliquées au niveau de la colonne vertébrale pour le remplissage de grands défauts squelettiques où une résistance immédiate aux charges est nécessaire (ROBERT & ROSENBAUM, 2012). Compte tenu des réponses immunitaires et de la sécurité, les produits congelés ou lyophilisés qui sont exempts de moelle et de sang sont généralement transplantés. L'incorporation d'une allogreffe corticale est également précédée d'une substitution rampante, semblable à celle de son homologue autogène. En général, le processus est initié par la résorption ostéoclastique et suivi par la formation sporadique d'un nouvel os par ostéoconduction (GOLDBERG & AKHVAN, 2005).

1.2.3. Matrice osseuse déminéralisée :

C'est une sorte d'allogreffe hautement transformée avec au moins 40% de la teneur en minéraux de la matrice osseuse éliminés par un acide doux, alors que le collagène, les protéines non collagéniques et les facteurs de croissance restent présents (BOYCE *et al.*, 1999). La matrice osseuse déminéralisée se caractérise d'intégrité structurelle inférieure ce qui indique qu'elle soit principalement utilisée pour le remplissage des défauts osseux (FINKEMEIER, 2002). L'ostéoconductivité de la matrice osseuse déminéralisée est assurée en fournissant un cadre pour la population cellulaire et pour générer un nouvel os après le traitement de déminéralisation. La propriété ostéoinductive de la matrice osseuse déminéralisée est principalement attribuée aux facteurs de croissance restants, qui sont directement liés aux méthodes de préparation. L'acide chlorhydrique est l'agent décalcifiant le plus souvent utilisé comme agent déminéralisant. L'incorporation de la matrice osseuse déminéralisée est similaire à celle de l'autogreffe, cependant, l'élimination de la phase minérale permet d'améliorer la disponibilité et le potentiel des facteurs de croissance, qui déclenchent une cascade d'ossification endochondrale et jouent un rôle culminant dans la nouvelle formation osseuse sur le site d'implantation (KHAN *et al.*, 2005). La charpente de la matrice osseuse déminéralisée permet la croissance des nouveaux vaisseaux et l'infiltration des cellules mésenchymateuses et précurseurs. Les protéines de croissance ostéoinductives disponibles dans la matrice extracellulaire induisent la différenciation des cellules mésenchymateuses en cellules productrices d'os, mais cette capacité est variable en fonction du stockage, le traitement et la capacité inhérente du tissu du donneur (WANG & YEUNG, 2017).

Les matrices osseuses déminéralisées actuelles sont produites avec des supports porteurs, tels que le glycérol, l'amidon, l'acide hyaluronique, le collagène, et le sel. Elles sont commercialisées sous différentes formes dans le marché telles que des pâtes modulables, du mastic, des bandes, en gel, en poudre lyophilisée et sous forme de granulés. Elles sont souvent mélangées aux autogreffes récoltées ou à la moelle osseuse pour augmenter et améliorer la consolidation osseuse et pour étendre le volume de l'autogreffe. La matrice osseuse déminéralisée a été combinée également avec le sulfate de calcium ; ces agents étant largement utilisés pour combler les déficits après les fractures (déficits métaphysaires), les pseudarthroses dans les fractures des os longs et les cavités osseuses après curettage. La matrice osseuse déminéralisée peut être utile pour le traitement des fractures distales du radius où en cas de faible potentiel de consolidation osseuse (BHATT & ROZENTAL, 2012).

Les inconvénients de la matrice osseuse déminéralisée sont le manque de force structurale causée par la présence de certains supports, tels que le glycérol, et le risque important de transmission de maladies comparée à l'autogreffe standard (KEATING *et al.*, 2003 ; GIANNOUDIS *et al.*, 2005 ; DE LONG *et al.*, 2007). SASSARD *et al.* (2000) ont comparé une autogreffe récoltée à partir de la crête iliaque avec une greffe construite de matrice osseuse déminéralisée et d'une autogreffe (greffon), utilisées pour une spondylodèse lombaire postéro-latérale. Les taux de fusion n'ont pas varié significativement entre les deux groupes. Leurs résultats ont amené l'idée que le greffon peut être un extenseur utile de l'autogreffe. HIERHOLZER *et al.* (2006) ont comparé l'utilisation du greffon et la matrice osseuse déminéralisée sur des consolidations retardées et des pseudarthroses de l'humérus. L'union osseuse était de 97% pour le groupe de matrice osseuse déminéralisée et de 100% dans le groupe de l'autogreffe et le temps moyen de consolidation était le même dans les deux groupes. Le groupe de l'autogreffe a eu un taux de complication de 44% comportant la douleur prolongée et l'infection superficielle. Leur conclusion était que les deux techniques sont utiles dans le traitement des cas de consolidation retardée et de pseudarthrose des fractures de la diaphyse humérale, avec un taux élevé de complications dans le groupe de l'autogreffe. En matière de fracture distale du radius, les pseudarthroses sont rares parce que cet os est typiquement bien vascularisé. De petites études rétrospectives suggèrent que les indications de la matrice osseuse déminéralisée dans le traitement des fractures du radius sont limitées aux patients avec un mauvais potentiel de consolidation ou ceux avec des désordres auto-immuns (SEGALMAN *et al.*, 1998). Il est difficile de faire des recommandations en chirurgie du membre thoracique, vue la rareté des essais cliniques utilisant ces produits ; la plupart des essais publiés sont des petites études rétrospectives (KELLY *et al.*, 2001).

2. Les greffes osseuses synthétiques :

Afin d'éviter la morbidité du site du donneur, les problèmes de disponibilité du volume adéquat, la potentielle immunogénicité et la transmission de maladies, une variété de substituts osseux a été développée. Il n'existe pas encore un substitut parfait qui présente toutes les qualités idéales de l'autogreffe. A part les protéines osseuses morphogénétiques (BMPs : Bone Morphogenic Proteins), ces produits n'ont généralement pas de propriétés ostéogéniques ou ostéoinductives sauf s'ils sont accompagnés par une autogreffe ou des BMPs. La majorité de ces agents ont des capacités ostéoconductive, créant une matrice pour les cellules hôtes pour pouvoir régénérer l'os. Ils sont aussi ostéointégratifs. Les substituts osseux idéaux sont résorbables et ont un profil de force similaire à celui de l'os cortical ou spongieux, mais ceci reste variable selon les différents produits. Le prix est également très variable. Il y a une multitude de compositions dans le marché et le choix de la substance dépend des caractéristiques de la blessure du patient. Ces produits sont pour la plupart utiles pour traiter les déficits osseux bien vascularisés avec une bonne couverture de tissu mou. Les produits

actuellement disponibles comportent des dérivés minéraux des greffes, des ciments, du sulfate de calcium, des verres bioactifs, et des facteurs de croissance (BHATT & ROZENTAL, 2012).

2.1. Sulfate de calcium :

Le sulfate de calcium ($\text{Ca} [\text{SO}_4]$; plâtre de Paris) a été utilisé comme un produit de comblement pour plus de 100 ans. Le sulfate de calcium est un plâtre chauffé et produit sous forme de poudre, avec une éventuelle structure cristalline décrite comme alpha-hémihydrate. Il est de nature ostéoconductive principalement, avec une meilleure force compressive que l'os spongieux, mais sa résistance à la force de tension est pauvre. Le support structurel du sulfate de calcium semble être inférieur aux formulations phosphocalciques. Les inconvénients primaires incluent l'inconsistance de la structure cristalline durant la mise en place et la résorption rapide par dissolution du produit, ce qui peut créer un déséquilibre entre le remplacement et la résorption osseuse. Il y a aussi une association avec le drainage séreux de la plaie après l'utilisation (LADD & PLIAM, 2003 ; MAUFFERY *et al.*, 2011).

Les formes disponibles sont des granules, des blocs et plus récemment des pâtes injectables. Les indications des produits de combinaison du sulfate de calcium sont similaires à celles des ciments osseux et des céramiques ; incluant les blessures métaphysaires, les fractures acétabulaires, les vides après résections tumorales et les fractures patellaires et du calcanéum (HELGESON *et al.*, 2009).

Le domaine des produits de sulfate de calcium a été élargi pour inclure du sulfate de calcium mélangé avec d'autres produits de substitution osseuse, des matrices osseuses déminéralisées et des antibiotiques. Le sulfate de calcium est assez souvent utilisé pour étendre le volume des autogreffes dans les blessures des os longs. Les produits de sulfate de calcium imprégnés d'antibiotiques sont utilisés pour remplir les vides osseux ostéomyélitiques (BHATT & ROZENTAL, 2012).

2.2. Les céramiques phosphocalciques :

Les céramiques de phosphate de calcium sont constituées par une hydroxyapatite de calcium, qui est une composition chimique similaire à la phase minérale des tissus calcifiés (ZWINGENBERGER *et al.*, 2013). Ce sont des sels minéraux synthétiques et généralement produits par frittage à haute température avec exclusion de la vapeur d'eau et ensuite moulés par compression à haute pression (CARSON & BOSTROM, 2007). Les implants poreux, les implants denses non poreux et les particules granuleuses avec des pores sont des formes courantes disponibles dans le commerce. Comme une sorte de céramique biorésorbable avec une excellente ostéoconductivité, les céramiques phosphocalciques ont reçu une grande attention et ont été expérimentés de manière approfondie dans les études cliniques (OONISHI *et al.*, 1997 ; GAASBEEK *et al.*, 2005 ; SCHWARTZ & BORDEI, 2005 ; NICH & SEDEL, 2006 ; SCHEER & ADOLFSSON, 2009). Contrairement au rapport calcium/phosphate (Ca/P) du phosphate de calcium biphasique (BCP), le rapport de l'hydroxyapatite et du phosphate tricalcique (TCP), qui sont les plus largement utilisés en orthopédie, peut être identifié. Plusieurs paramètres clés des céramiques phosphocalciques, tels que le taux d'absorption et les propriétés mécaniques, sont strictement liés aux rapports Ca/P. En outre, la structure cristalline et poreuse est un facteur très apprécié dans le choix des céramiques phosphocalciques (WANG & YEUNG, 2017).

2.2.1. Hydroxyapatite (HAp) :

C'est une forme minérale naturelle d'apatite de calcium avec la formule de $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ et comprend environ 50% du poids de l'os, ce qui explique ses excellentes

propriétés ostéoconductive et sa parfaite ostéointégration (BHATT & ROZENTAL, 2012 ; ROBERT & ROSENBAUM, 2012). L'hydroxyapatite a une propriété mécanique initiale similaire à celle du squelette, faible sous tension et de cisaillement mais résistante aux charges compressives (ZWINGENBERGER *et al.*, 2013). Cette propriété peut diminuer de 30 à 40% *in situ* après l'implantation pendant plusieurs mois (BUCHOLZ *et al.*, 1987). La macroporosité (pore avec des diamètres > 100 nm) et l'interconnexion des pores de l'hydroxyapatite synthétique permettent l'adhérence, la prolifération et la différenciation des cellules ostéoprogénitrices, ainsi que la revascularisation, puis la croissance du nouvel os, lorsqu'elle est implantée *in vivo* (EGGLI *et al.*, 1988 ; HUEC *et al.*, 1995). Cependant, le rapport Ca/P et la cristallinité relativement élevés retardent le taux de résorption de l'hydroxyapatite qui est un processus prédéterminé par les macrophages (WENISCH *et al.*, 2003). Il a été démontré que lorsque des cylindres d'hydroxyapatite poreux ont été implantés dans l'os spongieux, seulement 5,4% de réduction de volume a été observée après six mois, alors que le taux de réduction pour les céramiques de phosphate tricalcique était de 85,4% dans les mêmes conditions (TONINO *et al.*, 2009). Par conséquent, les greffes d'hydroxyapatite restantes à l'intérieur de l'os hôte compromettraient la résistance intrinsèque de l'os au niveau du cal à cause de la diminution des propriétés mécaniques précitées (CARSON & BOSTROM, 2007). Par conséquent, l'hydroxyapatite seule est plus souvent appliquée comme un revêtement sur les implants et les broches des fixateurs externes ou dans les sites à faible contrainte mécanique (TONINO *et al.*, 2009 ; BHATT & ROZENTAL, 2012).

Ces inconvénients peuvent être partiellement surmontés par le développement récent d'hydroxyapatite nanocristalline, avec laquelle un plus grand rapport surface/volume est conféré. Ce grand rapport surface/volume a non seulement réduit de manière significative la température de frittage de l'hydroxyapatite, mais a également conduit à une augmentation du taux de résorption (KATTIMANI & LINGAMANENI KONDAKA, 2016). Cependant, cette augmentation n'est pas visible dans l'observation clinique (DUBOK, 2000). D'autre part, des efforts ont également été faits pour améliorer les performances mécaniques de la nano-hydroxyapatite par incorporation de nanotubes de carbone (CNT) (KATTIMANI *et al.*, 2016 ; LI *et al.*, 2016 ; MUKHERJEE *et al.*, 2016). L'addition de ces nanotubes a augmenté d'une part la porosité ouverte d'environ 2,52% (nano-hydroxyapatite pure) à plus de 7,93% (avec addition de 2% en poids de nanotube), d'autre part, une ténacité à la rupture similaire à celle de l'os spongieux humain, a été atteinte lorsque la quantité d'addition était de 1% du poids (MUKHERJEE *et al.*, 2016). Une amélioration de la formation d'os a également été observée sur un modèle de défauts osseux du fémur du lapin, avec absence de toxicité dans le foie et les reins. Néanmoins, le taux de résorption de ce nano-composite n'a pas été entièrement étudié et les propriétés mécaniques améliorées sont insuffisantes pour étendre son application en clinique (WANG & YEUNG, 2017).

2.2.2. Phosphate tricalcique (TCP) :

Ce substitut a attiré une attention accrue depuis qu'il a été signalé pour la première fois en 1920 par ALBEE (1920). Avec la formule chimique de $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, le β -TCP a un rapport Ca/P de 1,5 et est donc inférieur à celui de l'hydroxyapatite ce qui peut accélérer partiellement sa dégradation et son absorption (TORRES *et al.*, 2011). Comme l'hydroxyapatite, le TCP a encore plus de structures poreuses interconnectées qui peuvent faciliter l'invasion fibrovasculaire et le remplacement osseux (BHATT & ROZENTAL, 2012), mais en même temps affaiblissent les propriétés mécaniques (OGOSE *et al.*, 2006). En raison du pH physiologique thermodynamiquement instable, une partie du TCP se transforme inévitablement en hydroxyapatite après implantation et entrave partiellement sa dégradation (BUCHANAN, 2008), la majorité est ensuite résorbée par une phagocytose après 6 à 24 mois, mais peut rester

pendant des années (BOHNER, 2001). Cela rend le TCP efficace pour remplir les défauts osseux causés par des traumatismes et des tumeurs bénignes, mais ce dernier n'est pas favorisé en tant que substitut de greffe osseuse vu qu'il possède un profil de biodégradation imprévisible (FINKEMEIER, 2002). Des recherches récentes ont commencé à se concentrer sur l'angiogenèse améliorée dans laquelle le phosphate tricalcique s'appliquerait pour combler les défauts osseux (CHEN *et al.*, 2015 ; MALHOTRA & HABIBOVIC, 2016). En comparant la capacité de néo-vascularisation *in vitro* de quatre types différents de céramiques phosphocalciques, à savoir l'hydroxyapatite, le phosphate de calcium biphasique BCP-1 (HAp/ β -TCP = 70/30), BCP-2 (HAp/ β -TCP = 30/70) et le β -TCP, il a été constaté que les cellules endothéliales de la veine ombilicale humaine démontrent une prolifération et une angiogenèse significativement régulées lors de la culture avec β -TCP et BCP-2, contenant une quantité plus élevée de la phase β -TCP (CHEN *et al.*, 20015). De même, dans le modèle d'implantation intramusculaire chez la souris, les céramiques phosphocalciques contenant une teneur élevée en β -TCP ont induit une densité de micro-vaisseaux plus élevée (MALHOTRA & HABIBOVIC, 2016). Une variété d'hypothèses, telles que la structure poreuse (KLENKE *et al.*, 2008 ; BAI *et al.*, 2010 ; XIAO *et al.*, 2015), les effets du transfert ionique lors de la dégradation des céramiques phosphocalciques et l'homéostasie (BARRERE *et al.*, 2006 ; SHANAHAN *et al.*, 2011 ; Di MARCO *et al.*, 2013), des souches potentielles imposées sur les céramiques phosphocalciques pendant la dégradation (SANDINO *et al.*, 2010 ; JUFRI *et al.*, 2015) ont été proposées pour expliquer le mécanisme, néanmoins, une enquête cruciale est encore manquante et d'autres études sont nécessairement importantes (WANG & YEUNG, 2017).

2.2.3. Phosphate de calcium biphasique (BCP) :

C'est une autre céramique commerciale largement utilisée obtenue en mélangeant l'hydroxyapatite et le phosphate tricalcique à différentes concentrations dans le but de combiner les avantages des deux sels de calcium (DACULSI *et al.*, 1989). En ajustant la formulation, le taux de dissolution et les propriétés mécaniques peuvent être contrôlés dans des plages et ensuite appliqués en vrac ou en tant que revêtement d'implant (WILLIAMS, 2014).

2.3. Les ciments phosphocalciques :

Les ciments à base de phosphate de calcium, à la différence des céramiques phosphocalciques, impliquent habituellement deux composés dont l'un est un agent de durcissement aqueux. Ils ont été inventés par BROWN & CHOW, (1983) dans le but d'étendre l'adaptabilité et la moulabilité des substituts osseux phosphocalciques dans les années 1980. Ils ont été approuvés par la FDA des États-Unis en 1996. Ils peuvent être facilement injectés pour remplir des défauts de diverses formes et ensuite solidifiés par mélange avec une phase aqueuse par réaction isothermique. Les ciments phosphocalciques auto-endurcis sont généralement très microporeux, biocompatibles et assurent un support mécanique avec une faible résistance à la flexion (ALKHRAISAT *et al.*, 2010). Cependant, ils se dégradent couche par couche comme par dissolution dans des conditions physiologiques et une activité de résorption d'ostéoclastes ; subséquemment, une croissance interne du tissu néo-vasculaire et osseux est théoriquement gênée par rapport aux autres céramiques phosphocalciques qui supportent la macroporosité interconnectée (ZWINGENBERGER *et al.*, 2013).

Selon la composition, des ciments phosphocalciques apatitiques et des ciments phosphocalciques brushitiques peuvent être identifiés. Les propriétés des ciments phosphocalciques en termes de taux de fixation et de biodégradation sont fortement liées à leur composition. Les ciments phosphocalciques apatitiques sont visqueux, ce qui indique une capacité injectable relativement faible, mais une possibilité de réglage de leur réaction à la

valeur du pH physiologique et des propriétés mécaniques légèrement plus fortes que celles des ciments phosphocalciques brushitiques. En raison de la faible structure cristalline de l'hydroxyapatite déficiente en calcium obtenue après durcissement, un taux de dégradation plus élevé a été démontré mais toujours incomplet (ISHIKAWA, 2014). Les ciments phosphocalciques brushitiques sont indiqués pour l'injection et solidifient rapidement à une faible valeur de pH (<6) (ALKHRAISAT *et al.*, 2010). Ils démontrent une plus grande dégradabilité, mais une dégradation imprévisible a été signalée en raison de la transformation cinétique favorable à l'hydroxyapatite (BUCHANAN, 2008). En fonction de leur comportement d'écoulement avant l'utilisation, les ciments phosphocalciques sont cliniquement favorisés pour le remplacement osseux, en particulier dans la vertébro-plastie percutanée (TARSUSLUGIL *et al.*, 2013 ; NAKANO *et al.*, 2014 ; VERRON *et al.*, 2014) et la cypho-plastie (MAESTRETTI *et al.*, 2014 ; ZARYANOV *et al.*, 2014), mais pas comme substituts osseux.

Similairement aux céramiques phosphocalciques, et afin de promouvoir les propriétés mécaniques et les performances biologiques des ciments phosphocalciques, la préparation du phosphate de calcium nano-structuré a été développée. Même si l'adjonction et la prolifération régulées des cellules, ainsi que la régénération osseuse *in vivo*, ont été réalisées dans plusieurs recherches (DOROZHKIN, 2010 ; ZHOU *et al.*, 2013 ; WANG *et al.*, 2014), la motivation de l'application de ciments phosphocalciques nano-structurés est principalement attribuée à l'architecture nano du tissu osseux natif et du processus de formation osseuse (ALIVISATOS, 2000 ; TANG *et al.*, 2004 ; OLSZTA *et al.*, 2007 ; KIM & HONG, 2009), alors que le mécanisme cellulaire et moléculaire n'ont pas été entièrement élaborés (ZHOU *et al.*, 2013). L'incorporation des fibres, qui s'inspire également de la hiérarchie nano-structurée de l'os, est une autre approche qui a été largement étudiée pour améliorer la résistance mécanique des ciments phosphocalciques (GEFFERS *et al.*, 2015). Cependant, la preuve que ces modifications sont bénéfiques à la pratique clinique manque encore (O'HARA *et al.*, 2012).

La séparation des phases, qui signifie la séparation de la poudre et des composants liquides pendant l'injection, est une autre préoccupation importante associée aux applications cliniques des ciments phosphocalciques (SUGAWARA *et al.*, 2013). En distrayant d'autres propriétés cruciales des ciments phosphocalciques, plusieurs méthodes ont connu un succès clinique dans certaines applications après les études abondantes au cours des deux dernières décennies (KEATING *et al.*, 2003 ; ISHIGURO *et al.*, 2010 ; NAKANO *et al.*, 2012 ; YIN *et al.*, 2013 ; NAKAMURA *et al.*, 2016). Cependant, les recherches récentes ont eu tendance à obtenir la relation entre ces paramètres critiques des ciments phosphocalciques par des calculs théoriques et des analyses (BENBOW & BRIDGWATER, 1993 ; YARAS *et al.*, 1994 ; COUSSOT & ANCEY, 1999 ; ROUGH *et al.*, 2002 ; BOHNER & BAROUD, 2005 ; PATEL, 2008 ; O'NEILL *et al.*, 2017), en raison de l'optimisation extrêmement difficile par un seul travail expérimental.

2.4. Le verre bioactif :

Le verre bioactif, également connu sous le nom de « bioglass », est le nom d'un groupe de céramique à base de silicate synthétique et qui était originellement constitué par le dioxyde de silicium (SiO₂), l'oxyde de sodium (Na₂O), l'oxyde de calcium (CaO) et le pentoxyde de phosphore (P₂O₅) lors du premier développement dans les années 1970 (HENCH *et al.*, 1971). Ceci a ensuite été modifié pour une composition plus stable par addition de l'oxyde de potassium (K₂O), l'oxyde de magnésium (MgO) et l'oxyde de bore (B₂O) ; le composant clé, le silicate, constitue 45 à 52% de son poids (BHATT & ROZENTAL, 2012). Les constitutions optimisées conduisent à une forte liaison physique entre le verre bioactif et l'os hôte. Ce phénomène, à savoir la bioactivité, a d'abord été trouvé sur ce type de substituts osseux

(HENCH & PASCHALL, 1973). Cette propriété liée à l'os est due à la lixiviation et à l'accumulation d'ions silicium lorsqu'ils sont exposés aux fluides corporels lors de l'implantation et à la formation ultérieure d'un revêtement d'hydroxyapatite à la surface du verre bioactif (VÄLIMÄKI & ARO, 2006). Ce mince revêtement d'hydroxyapatite absorbe les protéines et attire les cellules ostéoprogénitrices. De plus, cette couche d'apatite biologique est partiellement remplacée par un os à travers un processus de substitution au fluage dans l'implantation à long terme (NEO *et al.*, 1994). La porosité et le taux relatif de résorption rapide dans les deux premières semaines d'implantation permettent une croissance interne du dépôt néo-vasculaire du nouvel os (TORRES *et al.*, 2011 ; KURIEN *et al.*, 2013). Une étude a démontré que les charpentes de fibres de verre bioactif peuvent être complètement résorbées en six mois *in vivo* avec peu de réponse inflammatoire (MOIMAS *et al.*, 2006). Comme les autres céramiques, les propriétés mécaniques du verre bioactif sont fragiles et faibles. Par conséquent, il a été principalement appliqué dans la reconstruction des défauts de la face (JONES, 2013 ; AZENHA *et al.*, 2015) lorsqu'il est combiné avec des facteurs de croissance (CHU *et al.*, 2013 ; LIU *et al.*, 2014).

Le verre bioactif 45S5 (46,1% mol de SiO₂, 24,4% mol de Na₂O, 26,9% mol de CaO et 2,6 mol de P₂O₅, vendu par NovaBone Products, USA) et S53P4 (53,8% mol de SiO₂, 22,7% mol de Na₂O, 21,8% mol de CaO et 1,7% mol de P₂O₅, maintenant commercialisé par BonAlive Biomaterials, Finlande) sont les deux types de verre bioactif commerciaux les plus reconnus qui peuvent être utilisés comme substituts de greffe osseuse sur le marché. Ils sont fabriqués en utilisant la voie traditionnelle de trempage à haute température (généralement au-dessus de 1300 °C) et ne peuvent donc pas être fabriqués sous forme de charpentes amorphes en raison de la cristallisation pendant le frittage à cette température. L'une des exceptions est le 13-93, (54,6% mol de SiO₂, 6% mol de Na₂O, 22,1% mol de CaO, 1,7% mol de P₂O₅, 7,9% mol de K₂O et 7,7% mol de MgO) qui ne cristallise pas pendant le frittage. Cependant, la bioactivité du 13-93 a été considérablement réduite en prolongeant la formation de la couche d'hydroxyapatite dans les tests d'immersion du fluide corporel stimulé (SBF), à partir de 8 h à la surface du verre bioactif 45S5 à 7 jours sur celle du 13-93 (WATTS *et al.*, 2010). Plusieurs essais cliniques ont démontré un bon contact avec l'os de l'hôte lorsque le S53P4 et le 45S5 ont été appliqués pour traiter un défaut osseux, respectivement (LINDFORS *et al.*, 2010 ; GAISSER & HENCH, 2013), alors que la résorption réduite du S53P4 a été exposée en raison de la teneur plus élevée en silice (HUPA *et al.*, 2010 ; JONES, 2013). En outre, des résultats de guérison inférieurs ont également été rapportés par rapport aux greffes autologues (FRANTZEN *et al.*, 2011 ; PERNA *et al.*, 2011).

Le développement du traitement sol-gel offre une autre voie pour produire du verre bioactif avec une structure poreuse allant des mésopores aux macropores (LI *et al.*, 1991 ; HENCH, 2006 ; BRINKER & SCHERER, 2013), dans lesquels le 58S (60% mol de SiO₂, 36% mol de CaO et 4% mol de P₂O₅) et le 77S (80% mol de SiO₂, 16% mol de CaO et 4% mol de P₂O₅) sont des représentants. Dans une recherche impliquant la prise en charge d'un défaut de taille critique au condyle fémoral des lapins, la capacité de régénération osseuse et la dégradation *in vivo* du verre bioactif 45S5, et des dérivés sol-gel 77S et 58S ont été comparés. (WHEELER *et al.*, 2000). En raison de la nano-porosité et de la surface améliorée, les dérivés sol-gel ont démontré une vitesse de dégradation plus rapide par rapport au verre bioactif 45S5, qui était entre 4 et 24 semaines après l'implantation, alors que le défaut osseux rempli de verre bioactif 45S5 contenait plus d'os que ceux remplis de 77S ou de 58S à 8 semaines après l'opération, mais ensuite égalisé après l'implantation pendant 12 semaines (WHEELER *et al.*, 2000). Il semble que la dégradation rapide du verre bioactif peut conduire à une valeur de pH plus élevée et des ions accumulés dans le microenvironnement, ce qui n'est pas favorisé par les cellules, et donc compromet la croissance osseuse (JONES, 2013).

2.5. Le ciment osseux Poly (méthyl méthacrylate) :

D'abord utilisé par les chirurgiens orthopédistes il y a 60 ans (JUDET & JUDET, 1950), le poly (méthacrylate de méthyle) (PMMA) reste un élément clé de la pratique moderne et peut être l'un des matériaux les plus durables dans la chirurgie orthopédique (WEBB & SPENCER, 2007). Il est non biodégradable et non résorbable, ce qui le rend comme jointeur plutôt qu'un ciment, et ne peut donc pas être considéré comme un matériau de substitution osseuse même s'il est le matériau synthétique le plus couramment utilisé dans les cliniques (HERNANDEZ *et al.*, 2009). En raison de ses bonnes propriétés mécaniques et de la facilité de son utilisation, le ciment osseux PMMA auto-polymérisant en deux parties a été largement utilisé dans le remplacement total des articulations (KÜHN *et al.*, 2005) et la vertébro-plastie percutanée (GALIBERT *et al.*, 1986 ; MCGRAW *et al.*, 2002). Le ciment acrylique chargé d'antibiotiques est également considéré comme une partie de la prophylaxie antimicrobienne dans l'arthroplastie primaire afin d'éviter les infections causées par des articulations prothétiques (WEBB & SPENCER, 2007). Cependant, les inconvénients du ciment PMMA sont clairs. La polymérisation du PMMA est exothermique et peut endommager les tissus adjacents (LARSSON, 2006 ; AHN *et al.*, 2009). De plus, l'inadéquation mécanique et la propriété inerte inhérente (CHARNLEY, 2012), sont inévitables dans le port à long terme et ont donc entraîné l'échec des arthroplasties à l'aide du ciment PMMA (KENNY & BUGGY, 2003).

2.6. Les facteurs de croissance :

La plupart des substituts osseux, en particulier les céramiques synthétiques et les ciments, ne possèdent aucune propriété ostéoinductive. La capacité à améliorer la guérison osseuse de ces substituts osseux dépend principalement de moyens ostéoconductifs (ROBERT & ROSENBAUM, 2012). En général, l'ostéoconduction du substitut osseux facilite la migration et soutient la fixation des cellules ostéoprogénitrices, qui sécrètent alors des facteurs de croissance pour stimuler la formation osseuse (BHATT & ROZENTAL, 2012). Cependant, dans les situations où l'environnement idéal pour la formation du cal est perturbé, la sécrétion des facteurs de croissance manque, ce qui prédispose à une union retardée ou même à une pseudarthrose (HARWOOD & FERGUSON, 2015). Pendant ce temps, la présence des facteurs ostéoinductifs au niveau du site de la fracture lors de la guérison osseuse est également d'une importance critique. Par conséquent, l'application directe de facteurs de croissance, dont certains sont impliqués dans le processus de guérison naturelle des lésions osseuses, a été largement étudiée et acceptée comme une sorte de stratégie thérapeutique dans les cliniques (DANIEL MARK *et al.*, 2013). Il faut remarquer que seulement quelques facteurs biologiques, tels que les protéines osseuses morphogénétiques (BMPs), les facteurs de croissance des fibroblastes (FGF), les facteurs de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGF), la PTH et le plasma riche en plaquettes (PRP), ont fait l'objet de tests précliniques rigoureux et des essais cliniques (EINHORN & GERSTENFELD, 2015).

2.6.1. Protéines osseuses morphogénétiques :

Les protéines morphogénétiques osseuses (BMPs), en particulier la BMP-2 (y compris BMP-2 humaine recombinante, rhBMP-2) et la BMP-7 (y compris BMP-7 humaine recombinante, rhBMP-7), sont des membres de la superfamille du facteur de croissance transformant bêta (TGF- β) avec des propriétés ostéoinductives supérieures et sont probablement les facteurs de croissance les plus étudiés dans le traitement des défauts squelettiques (EINHORN & GERSTENFELD, 2015). La BMP-2 est capable d'induire une différenciation ostéoblastique à partir de cellules souches mésenchymateuses, et la BMP-7 peut directement favoriser l'angiogenèse. Le plus grand essai dans l'utilisation des BMPs était dans le traitement des fractures ouvertes du tibia, et qui impliquait de multiples centres cliniques

(GOVENDER *et al.*, 2002). Au cours de l'essai, 450 patients ont été répartis au hasard en trois groupes, un groupe a reçu 0,75 mg/ml de BMP-2, le deuxième groupe a reçu 1,5 mg/ml et le troisième était le groupe témoin. Un enclouage centromédullaire a été appliqué universellement. Douze mois après la chirurgie, une formation plus rapide du cal osseux et une fermeture de la plaie avec une infection plus faible et moins de douleur ont été observées chez les patients traités par 1,5 mg/ml de rhBMP-2 par rapport au témoin, ce qui indique l'efficacité de la BMP-2 dans le traitement des fractures tibiales ouvertes mais avec un effet dépendant de la dose.

Dans une étude antérieure de FRIEDLAENDER *et al.* (2001), 124 pseudarthroses tibiales ont été fixées par une broche intramédullaire avant de recevoir au hasard soit une dose rhBMP-7 dans une éponge de collagène ou une autogreffe de la crête iliaque lors d'une chirurgie de révision. Neuf mois plus tard, 81% des patients du groupe rhBMP-7 et 85% de ceux du groupe de l'autogreffe pouvaient supporter tout leur poids sans douleur significative. À un suivi final de deux ans, aucune différence statistiquement significative n'a été observée entre ces deux groupes. L'utilisation de l'éponge de collagène trempée dans la rhBMP-2 ou la rhBMP-7 dans le traitement des pseudarthroses tibiales a démontré des résultats équivalents à l'autogreffe de crête iliaque, tout en réduisant également la douleur persistante des donneurs. Après avoir été testée dans de nombreux modèles animaux (MAUFFREY *et al.*, 2011) et après des essais cliniques (DIMAR *et al.*, 2006 ; JONES *et al.*, 2006 ; KANAKARIS *et al.*, 2008 ; VACCARO *et al.*, 2008), la rhBMP-2 (INFUSE™, Medtronic, US) a été approuvée par la FDA et l'Agence européenne d'évaluation des médicaments (EMA) pour l'application dans la fusion spinale lombaire antérieure et les fractures tibiales ouvertes (FLYNN, 2011 ; HARWOOD & FERGUSON, 2015), alors que la rhBMP-7 (OP-1™, Stryker, US) a reçu l'approbation dans le traitement de la fusion postérieure de la colonne lombaire (KANKARIS *et al.*, 2008 ; VACCARO *et al.*, 2008). Cependant, en raison de l'absence d'ostéoconductivité, les formes commerciales disponibles de BMPs sont toujours combinées avec un support ostéoconducteur, comme le collagène, l'allogreffe ou même la greffe osseuse autologue, afin d'améliorer leur efficacité (WANG & YEUNG, 2017).

Après tout, il est généralement admis que les résultats cliniques équivalents à ceux de l'autogreffe de la crête iliaque sont atteints lors de l'utilisation des BMPs pour traiter certains défauts osseux complexes, tels que la fusion spinale et la fracture tibiale ouverte, cependant, le taux élevé de complications reste une inquiétude (COURVOISIER *et al.*, 2014). Les BMPs sont en particulier des protéines solubles et ont tendance à se disséminer à partir de leur emplacement prévu (ROBERTS & ROSENBAUM, 2012) et entraînent plusieurs complications. Il existe généralement un effet dépendant de la dose dans l'application des BMPs (COWAN *et al.*, 2007). La dissémination des protéines dilue leur concentration locale et par conséquent leur efficacité. De plus, les BMPs peuvent influencer plusieurs types de cellules et organes, ce qui entraîne une formation osseuse hétérotopique. BORALIAH *et al.* (2009) ont signalé 10 cas, de formation d'os ectopique sur une fracture complexe du tibia, sur 17 traitées par la rhBMP-2 ; quatre d'entre-elles ont eu besoin d'une excision chirurgicale supplémentaire. Dans certaines conditions extrêmes, comme un cas rapporté par RITTING *et al.* (2012), l'utilisation de la BMP-2 dans une pseudarthrose ulnaire chez un patient de neuf ans a entraîné une réponse inflammatoire persistante et a finalement provoqué une ostéolyse. De plus, la rentabilité est une autre question importante lors de l'utilisation des BMPs (TANNOURY & AN, 2014).

2.6.2. Les facteurs de croissance des fibroblastes (FGFs) :

Il existe 22 membres de la famille des facteurs de croissance des fibroblastes et 4 récepteurs des facteurs de croissance des fibroblastes (FGFRs) identifiés. Ces facteurs sont sécrétés par les monocytes, les macrophages, les cellules souches mésenchymateuses, les ostéoblastes et les chondrocytes, à partir des premiers stades de la guérison des fractures et

durant l'ensemble du processus de guérison (DIMITRIOU *et al.*, 2005). Le rôle des FGFs dans la guérison des fractures n'est pas bien compris, mais il a été démontré qu'ils jouent non seulement un rôle critique dans l'angiogenèse (MONTESANO *et al.*, 1986 ; HAYEK *et al.*, 1987 ; COLLIN-OSDOBY *et al.*, 2002), mais ont également des effets mitogènes puissants sur les cellules mésenchymateuses ostéoprogénitrices (COUTU *et al.*, 2011), qui sont tous médiatisés par la signalisation FGFs/FGFRs. Parmi tous ces FGFs et FGFRs, les FGF1, FGF2 et FGFR1-3 ont été trouvés étroitement liés à la régénération osseuse dans de nombreuses études (PACICCA *et al.*, 2003 ; HAQUE *et al.*, 2007 ; SCHMID *et al.*, 2009 ; SU *et al.*, 2010), dans lesquelles le FGFR1 et le FGFR2 ont des expressions plus fortes dans les cellules ostéoprogénitrices et les ostéoblastes tandis que le FGFR3 est plus lié à la chondrogénèse (DU *et al.*, 2012). Par conséquent, l'efficacité du FGF2 dans le traitement des défauts osseux a été étudiée par de nombreuses études chez les animaux *in vivo* (NAKAMURA *et al.*, 1998 ; CHEN *et al.*, 2004), dont deux études sur les primates (RADOMSKY *et al.*, 1999 ; KAWAGUCHI *et al.*, 2010), et les résultats ont également montré une consolidation améliorée des fractures, alors que cet effet dépend de la dose et du temps (DU *et al.*, 2012 ; FEI *et al.*, 2013). Un essai clinique représentatif du rhFGF dans le traitement des fractures tibiales diaphysaires chez 70 patients a été rapporté par KAWAGUCHI *et al.* (2010). Après la fixation par un système d'enclouage centromédullaire, les patients ont reçu des injections au niveau du site de la fracture au hasard, soit avec de l'hydrogel de gélatine (placebo, 24 patients) soit avec 0,8 mg de rhFGF-2 dans de l'hydrogel de gélatine (groupe de dosage faible, 23 patients) ou 2,4 mg de rhFGF-2 dans de l'hydrogel de gélatine (groupe de dosage fort, 23 patients). L'analyse radiographique a démontré une guérison accélérée des fractures et une union plus élevée dans les deux groupes traités avec le rhFGF par rapport au groupe traité uniquement par l'hydrogel de gélatine, alors qu'aucune différence entre le groupe de dosage faible et le groupe de dosage élevé n'a été trouvée. Cependant, en raison du manque de compréhension des schémas d'expression spatiotemporels des signaux FGFs/FGFRs signalant la consolidation osseuse, d'autres études sont encore demandées avant l'essai clinique. En outre, les résultats des FGFs dans le traitement des fractures osseuses en comparaison avec les BMPs et les autogreffes sont également indisponibles (WANG & YEUNG, 2017).

2.6.3. Le facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGF) :

La vascularisation locale au niveau du site fracturaire a été reconnue comme l'un des paramètres les plus significatifs affectant la régénération osseuse, et le VEGF est une voie dominante dans les deux voies hormonales principales qui contrôlent l'angiogenèse, la voie du VEGF et la voie de l'angiopoïétine (GERSTENFELD *et al.*, 2003 ; TSIRIDIS *et al.*, 2007). Sauf pour l'angiogenèse, le VEGF a également été démontré comme étant ostéogène (KERAMARIS *et al.*, 2008). Dans le processus de consolidation osseuse, le VEGF est initialement libéré à partir de l'hématome et favorise le développement de cellules endothéliales pour induire une invasion vasculaire (ROBERT & ROSENBAUM, 2012) sous l'hypoxie de l'environnement (WAN *et al.*, 2008). Par conséquent, lors du processus d'ossification endochondrale, le VEGF est sécrété par des chondrocytes hypertrophiques dans la plaque de croissance épiphysaire pour favoriser l'invasion des vaisseaux sanguins dans le cartilage et le flux sanguin qui facilite la nouvelle formation osseuse (ECKARDT *et al.*, 2003 ; KERAMARIS *et al.*, 2008). De nombreuses études sur les animaux ont montré l'efficacité du VEGF exogène pour favoriser la consolidation osseuse (ECKARDT *et al.*, 2005 ; KAIGLER *et al.*, 2006 ; KENT *et al.*, 2006 ; GEIGER *et al.*, 2007 ; GARCIA *et al.*, 2016). Dans une étude rapportée par KAIGLER *et al.* (2006), des rongeurs ayant un défaut osseux crânien de taille critique ont été traités par le verre bioactif seul ou par le verre bioactif contenant du VEGF. Une augmentation de la vascularisation et de la qualité de la consolidation osseuse ont été observées dans le groupe contenant du VEGF mais aucune différence significative n'a été observée lors

de la comparaison de la quantité de l'os nouvellement formé. Un résultat similaire a été documenté dans d'autres recherches publiées à partir du même laboratoire (KENT *et al.*, 2006), ce qui impliquerait que le VEGF tend à contribuer à la maturation osseuse, mais n'améliore pas la quantité de nouvelle formation osseuse (KERAMARIS *et al.*, 2008).

Dans une étude sur des lapins, le VEGF et l'autogreffe, ont été comparés au groupe contrôle (fracture vide) dans le traitement des pseudarthroses expérimentales (ECKARDT *et al.*, 2005). Par rapport au groupe de contrôle, une nouvelle formation osseuse importante et des propriétés mécaniques améliorées ont été observées à partir d'une évaluation radiologique et d'essais biomécaniques, respectivement, alors qu'aucune différence significative n'a été démontrée dans le flux sanguin et la vascularisation. Toutes les preuves confirment l'importance de la collaboration de l'angiogenèse et des facteurs ostéoinductifs dans la régénération osseuse (HANKENSON *et al.*, 2011). Bien que le rôle du VEGF dans l'angiogenèse pendant la consolidation osseuse ait été confirmé et que des résultats prometteurs de régénération osseuse ont été démontrés dans la recherche préclinique, le VEGF est en fait très instable et de courte durée de vie *in vivo*, de sorte qu'un dispositif de distribution est habituellement employé. En outre, concernant le risque d'hémangiomes ou de récurrence des tumeurs stimulées par le VEGF, en particulier pour les patients après la radiothérapie ou l'excision tumorale, l'application du VEGF dans les essais cliniques et son effet direct sur la consolidation osseuse est strictement limitée (GARCIA *et al.*, 2016) et l'application du VEGF doit être très précise en terme de dosologie (KERAMARIS *et al.*, 2008).

2.6.4. La parathormone (PTH) :

L'hormone parathyroïdienne (PTH) est une hormone endocrine naturelle contenant 84 acides aminés et fonctionne comme un médiateur de l'homéostasie du calcium et du phosphate (BABU *et al.*, 2015). Il a également été démontré qu'elle augmente la masse osseuse, la résistance osseuse et réduit la perte osseuse, et l'analyse structure-fonction de la PTH a suggéré que ces activités sont principalement attribuées au fragment N-terminal (englobant les acides aminés 1-34 et appelé PTH (1-34)) (PER, 2013). Ainsi, il existe deux produits dérivés de la PTH disponibles aujourd'hui, la protéine de longueur complète PTH (1-84), avec le nom commercial Natpara™ (Shire-NPS Pharmaceuticals, USA) et un segment de protéine PTH (1-34), qui a été autorisé par la FDA en 2002 sous le nom de Teriparatide (Forteo™, USA) (BABU *et al.*, 2015), et ils ont été développés comme médicaments pour augmenter la masse osseuse et réduire le risque de fracture vertébrale et non-vertébrale chez les patients atteints d'ostéoporose. Bien que le mécanisme détaillé ne soit pas encore pleinement compris, il a été constaté que plusieurs voies de signalisation étaient impliquées et l'effet anabolique de la PTH est exercé principalement par l'inhibition de l'apoptose des pré-ostéoblastes, l'augmentation de la fonction ostéoblastique et de leur durée de vie, ce qui a conduit à un nombre accru de ces cellules osseuses (JILKA, 2007).

Suivant le fait que la PTH augmente la masse osseuse et prévient la survenue de fracture dans l'os ostéoporotique (NEER *et al.*, 2001), un nombre croissant d'études ont suggéré la capacité de la PTH à accélérer la guérison des fractures même si la plupart d'entre-elles étaient centrées sur les animaux. Dans un modèle de fracture fémorale diaphysaire impliquant 270 rats mâles Sprague Dawley, soit un placebo soit 5 µg/kg ou 30 µg/kg de PTH (1-34) ont été injectés par voie sous-cutanée par jour pendant 35 jours (ALKHIARY *et al.*, 2005). Le groupe traité par 30 µg/kg de PTH (1-34) a montré une augmentation de la résistance à la rotation, de la rigidité, de la quantité de matrice minérale osseuse, de la densité minérale osseuse et de la formation de cartilage par rapport au groupe témoin pendant 21 jours, cependant, aucune différence dans la densité des ostéoclastes n'a été détectée. D'autres expériences sur les animaux ont confirmé les effets positifs de la PTH sur la consolidation osseuse chez différentes espèces, localisations et

sous diverses conditions pathologiques (RALF & PER, 2004). Comme un résumé de ces enquêtes menées dans le modèle animal, il est confirmé que le traitement intermittent avec la PTH a des effets anabolisants sur l'os et conduit ainsi à la récupération de la masse osseuse et à une augmentation de la propriété mécanique, alors que l'exposition continue à la PTH entraîne en contre-mesure une perte osseuse (WRONSKI *et al.*, 1993 ; JEROME *et al.*, 2001 ; SATO *et al.*, 2004 ; ELLEGAARD *et al.*, 2010 ; PER, 2013).

ASPENBERG *et al.* (2010) ont mené un essai clinique prospectif et aléatoire utilisant 102 femmes ménopausées atteintes de fractures radiales distales, et elles ont été randomisées pour recevoir un placebo, 20 µg de PTH par jour (dose d'ostéoporose ordinaire) ou 40 µg par injection quotidienne (double dose). Aucune différence entre le groupe de 20 µg et le groupe de 40 µg n'a été trouvée, mais un temps plus court pour la première évidence radiographique du pontage cortical a été trouvé, soit 9,1, 7,4 et 8,8 semaines dans le groupe placebo, 20 µg et 40 µg, respectivement. Une analyse plus poussée a démontré que la PTH augmente principalement la formation précoce du cal avec un effet dose-dépendant, alors que le pontage cortical n'est pas nécessairement stimulé par la PTH (ASPENBERG & JOHANSSON, 2010). Dans une autre étude impliquant des fractures de la branche pelvienne chez 65 femmes ostéoporotiques, le pontage radiographique de l'os cortical a été raccourci de 12,6 semaines dans le groupe témoin à 7,8 semaines dans le groupe traité par la PTH (1-84) (PEICHL *et al.*, 2011). Plus récemment, l'effet de la Teriparatide dans le traitement des patients âgés atteints d'une fracture trochantérique de la hanche a été comparé à celui utilisant le risédronate, qui est un médicament bisphosphonate (utilisé pour le traitement de l'ostéoporose), dans un essai clinique randomisé (ASPENBERG *et al.*, 2016 ; MALOUF-SIERRA *et al.*, 2017). Chez 171 patients, 86 ont reçu 20 µg de Teriparatide tous les jours et d'autres ont reçu 35 µg de risédronate une fois par semaine, en commençant dans les deux semaines suivant la chirurgie. Soixante-douze semaines plus tard, plusieurs résultats, y compris la densité minérale osseuse à la colonne vertébrale, le col fémoral et la hanche, la fonctionnalité, la douleur de la hanche, la qualité de vie, les résultats radiologiques et la sécurité, ont été analysés de manière exhaustive. Une augmentation significative de la densité minérale osseuse de la colonne vertébrale et du col fémoral, moins de douleur et des résultats de fonctionnalité plus rapides ont été enregistrés lorsque les patients ont été traités avec Teriparatide par rapport à ceux traités par le risédronate (MALOUF-SIERRA *et al.*, 2017). En conclusion, il ne fait aucun doute que la PTH a une influence positive sur la consolidation osseuse, mais il faut remarquer que la PTH n'est pas un facteur de différenciation et il est peu probable qu'elle aide si la cicatrisation des fractures n'est pas démarrée correctement (WANG & YEUNG, 2017).

2.6.5. Le plasma riche en plaquettes (PRP) :

L'étude du plasma riche en plaquettes (PRP) pour la régénération osseuse représente des tentatives visant à exploiter la puissance de la cascade de facteurs de croissance libérés par l'agrégation et la dégranulation des plaquettes dans l'hématome de fracture (NAUTH *et al.*, 2011). Le PRP est principalement produit en isolant et en concentrant les plaquettes du sang périphérique avec des dispositifs disponibles dans le commerce. C'est la fraction plasmatique du sang autologue ayant une concentration plaquettaire au-dessus de la normale (MARX, 2001). Il contient divers facteurs de croissance mitogènes et chimiotactiques clés qui incluent le facteur de croissance dérivé des plaquettes (PDGF), le facteur de croissance insuline-like (IGF), les facteurs de croissance des fibroblastes (FGFs), le facteur de croissance transformant bêta (TGF-β) et d'autres facteurs (SAMPSON *et al.*, 2008). Pour les patients recevant un traitement orthopédique conservateur suite à une affection causée par le vieillissement et la dégénérescence, telles que les douleurs au genou et le coude, le PRP est fréquemment utilisé et présente de bons résultats cliniques (MISHRA & PAVZLKO, 2006 ; GOSENS *et al.*, 2011 ;

MANDEEP *et al.*, 2011). Cependant, lors de l'étude de l'effet du PRP sur la guérison osseuse, en particulier dans la guérison osseuse humaine, les résultats cliniques sont contradictoires et de fortes preuves de soutien font défaut (FLYNN, 2011).

CALORI *et al.* (2008) ont mené un essai prospectif randomisé comparant l'effet de la rhBMP-7 et le PRP sur le traitement de pseudarthroses des os longs chez 120 patients. Ils ont trouvé une union dans 68,3% des cas (41 des 60 patients) dans le groupe traité par le PRP tandis que le nombre était de 86,7% (52 sur 60 patients) dans le groupe traité par la rhBMP-7. Le temps moyen de guérison clinique était de quatre mois dans le groupe PRP par rapport à 3,5 mois dans le groupe rhBMP-7. Ces résultats impliquent une guérison significativement inférieure lorsque les patients ont été traités avec le PRP. Une autre recherche a étudié l'efficacité du PRP dans le traitement de 132 patients avec une union retardée après création chirurgicale des fractures des os longs à l'institut médical militaire à Varsovie entre 2009 et 2012 (GOLOS *et al.*, 2013). L'union osseuse a été établie chez 108 patients (81,8%) après l'utilisation du PRP, cependant, 24 patients (18,2%) n'ont présenté aucune amélioration. Ils ont également conclu que l'efficacité du PRP dépend de la localisation puisque 100% de l'union (en moyenne 3,5 mois) a été observée au niveau de la partie proximale du tibia, alors que l'union au niveau de la partie humérale proximale n'a été que de 63,64% (en moyenne 3,2 mois). L'efficacité du PRP dans le traitement des pseudarthroses des os longs a été également prouvée dans un rapport plus récent impliquant 94 patients (MALHOTRA *et al.*, 2015). Le PRP autologue (> 2 000 000 plaquettes/ml) avec une dose de 15 à 20 ml a été directement injecté sur les sites défectueux et le pontage a été évalué par radiographie par rayons X à un intervalle mensuel jusqu'à 4 mois. Une union des fractures a été observée chez 82 patients (87,23%) au bout de 4 mois et aucune complication n'a été mentionnée. Néanmoins, l'effet négatif du PRP sur la guérison osseuse n'était pas rare (ORYAN *et al.*, 2016 ; ROFFI *et al.*, 2017). RANLY *et al.* (2005) et RANLY *et al.* (2007) ont rapporté que le PRP peut inhiber la formation osseuse par inhibition de l'ostéoinduction chez les souris.

Dans ce nombre limité d'essais cliniques humains impliquant l'utilisation du PRP dans le traitement des défauts orthopédiques, une guérison osseuse plus rapide a été démontrée, alors que son efficacité reste encore inférieure à celle des BMPs. Néanmoins, ce sont encore des preuves insuffisantes pour soutenir son utilisation de routine dans les traumatismes orthopédiques et des essais de contrôle randomisés bien planifiés sont encore nécessaires (ALSOUSOU *et al.*, 2009 ; GRIFFIN *et al.*, 2009). Pendant ce temps, il faut remarquer que l'activité plaquettaire est influencée par de nombreux facteurs liés à l'individu dont le sang est recueilli (HAN *et al.*, 2009) et, par conséquent, la concentration normalisée et la quantification biologique du PRP dans le traitement de la guérison osseuse nécessitent d'autres études (WANG & YEUNG, 2017).

PARTIE
EXPERIMENTALE

CHAPITRE IV

MATERIEL

ET

METHODES

IV. Matériel et méthodes :

1. Objectif de l'expérimentation :

Les déficits osseux causés par les fractures ou les résections des tumeurs osseuses sont fréquemment rencontrés en pratique orthopédique vétérinaire et humaine.

En cas de perte osseuse, la méthode standard pour le traitement des déficits osseux et des pseudarthroses est l'autogreffe ; où une pièce osseuse est prélevée à partir d'un autre site dans l'organisme, et est transplantée pour combler le déficit. Même si l'efficacité de cette méthode est nettement satisfaisante, il est important de souligner ses limites liées à sa faible disponibilité et le grand risque de morbidité du site donneur.

Le deuxième choix pour remédier aux problèmes de pertes osseuses importantes est l'allogreffe, utilisant un tissu provenant d'un autre animal de la même espèce après avoir subi un traitement particulier afin de réduire son antigénicité. Ce traitement conduit cependant à une diminution des capacités d'incorporation de la greffe avec le tissu hôte et comporte le grand risque de rejet immunitaire et de transmission d'agents pathogènes vers le receveur.

Ces faits ont poussé les orthopédistes à chercher des techniques alternatives ayant une partie des caractéristiques essentiels de la greffe osseuse ordinaire mais avec plus de disponibilité et moins de risque infectieux et de rejet immunitaire ; ainsi fut les premiers essais d'utilisation des substituts osseux comme moyens de comblement. Un substitut osseux idéal doit être biocompatible, biorésorbable, ostéogénique, ostéoinductif, ostéoconductif, facile à utiliser et avec une structure similaire à celle de l'os afin d'avoir une bonne ostéointégration.

Les substituts osseux, qu'ils soient d'origine naturelle ou synthétique, ont offert l'ostéoconduction et l'ostéointégration recherchées, ce qui a servi à la résolution de la majeure partie du problème, toutefois, l'absence de capacités ostéoinductives, jugées nécessaires pour le traitement des pseudarthroses et des retards ou arrêts de consolidation, a suscité encore les praticiens à chercher des moyens permettant d'ajuster les caractéristiques de ces substituts afin qu'ils puissent répondre aux besoins cliniques.

Le premier essai d'amélioration de ces substituts était leur enrichissement par les facteurs de croissance (BMPs majoritairement) nécessaires pour la consolidation osseuse vu leurs propriétés ostéoinductives. Malheureusement, comme l'utilisation de ces produits est dangereuse et contre-indiquée chez certains patients, ils ne sont pas approuvés par la FDA.

La découverte du haut potentiel régénératif des cellules mésenchymateuses a révolutionné le domaine d'ingénierie tissulaire et tous les autres domaines de science médicale. En effet, il est estimé qu'une cellule sur 100.000 cellules dans la moelle osseuse est une cellule mésenchymateuse. Cette dernière a montré la capacité de se différencier en diverses lignées cellulaires comportant l'os (JAISWAL *et al.*, 1997 ; KADIYALA *et al.*, 1997 ; PITTENGER *et al.*, 1999), le cartilage (JOHNSTONE *et al.*, 1998 ; MACKAY *et al.*, 1998 ; PITTENGER *et al.*, 1999) ainsi que d'autres types de tissus (PITTENGER *et al.*, 1999). L'utilisation de ces cellules implique cependant des procédures d'isolation et de purification nécessitant des techniques de laboratoires coûteuses, et donc non disponibles dans le terrain vétérinaire ou dans les pays en voie de développement.

L'utilisation d'un aspirât de moelle osseuse en combinaison avec les substituts osseux semble être une potentielle alternative et mérite de faire l'objet d'une expérimentation, vu qu'elle peut offrir à la fois aux substituts osseux, un caractère ostéogénique et ostéoinductif grâce à sa richesse en cellules mésenchymateuses et en facteurs de croissance.

Le but de notre étude est de comparer une substitution osseuse à base d'hydroxyapatite avec sa combinaison à un aspirât de moelle osseuse autologue dans un modèle de perte osseuse provoquée chirurgicalement dans le radius du lapin. L'hydroxyapatite est un substitut osseux biocompatible, biorésorbable, ostéoconductif et ostéointégrant. La combinaison de ce substitut à la moelle osseuse a donc pour objectif d'apporter l'ostéoinductivité et l'ostéogénicité manquantes afin d'avoir un substitut osseux biosynthétique et idéal permettant de traiter les grands déficits osseux dans un temps court, avec une technique non coûteuse et facile à réaliser.

2. Choix de l'espèce et du site opératoire :

Avant de certifier la possibilité d'utiliser un substitut osseux chez l'être humain ou les animaux domestiques, ce dernier doit être utilisé *in vivo* et *in vitro*, afin d'être sûr qu'il sera efficace et sans danger. C'est pourquoi, le choix du modèle animal approprié est une étape indispensable pour évaluer les propriétés mécaniques et la biocompatibilité d'un substitut osseux.

Plusieurs études ont été effectuées sur diverses espèces animales, telles que les rats ou les souris (SKALICZKI *et al.*, 2012 ; ZANCHETTA *et al.*, 2012 ; ZWINGENBERGER *et al.*, 2013), les lapins (SCHNEIDER *et al.*, 2010 ; HUSSAIN *et al.*, 2012 ; ZHANG *et al.*, 2012), les carnivores (JANG *et al.*, 2008 ; LEE *et al.*, 2009 ; YANO *et al.*, 2012), les ovins (REICHERT *et al.*, 2010 ; ZHU *et al.*, 2011 ; YANG *et al.*, 2012) et les caprins (YU *et al.*, 2008 ; KOETER *et al.*, 2009 ; LIPPENS *et al.*, 2010), afin de simuler l'environnement *in vivo* et ses conditions physiques pour tester la disponibilité et la possibilité de comparer les biomatériaux utilisés comme substituts osseux.

Plusieurs facteurs doivent être considérés pour choisir une espèce animale comme modèle de test. Premièrement et avant tout, le modèle animal choisi doit clairement démontrer les analogies physiologiques et physiopathologiques importantes en comparaison avec l'être humain et les autres espèces animales. Deuxièmement, il doit être gérable en matière d'utilisation et d'observation des multiples paramètres post-chirurgicaux sur une période de temps relativement courte (LIEBSCHNER, 2004). D'autres critères de sélection comprennent le coût d'acquisition et de suivi, la disponibilité de l'animal et la facilité d'habitation (PEARCE *et al.*, 2007). Selon les normes internationales, on doit également prendre en considération le nombre d'animal possible par échantillon et la durée du test (UPMAN, 2006).

Le lapin est l'un des modèles les plus fréquemment choisis dans les recherches médicales, et il est classé premier parmi les autres espèces utilisées pour des recherches musculo-squelettiques (NEYT *et al.*, 1998). Malgré sa petite taille, il a été rapporté que de multiples similarités, en matière de densité minérale et de ténacité de fractures diaphysaires, sont présentes entre le lapin et l'être humain ainsi que les autres animaux domestiques, ce qui fait de lui un choix idéal (WANG *et al.*, 1998). En outre, en comparaison avec d'autres espèces, telles que les primates ou certains rongeurs, le lapin se caractérise par un changement squelettique et un remodelage osseux plus rapides, ce qui permet de réduire considérablement la durée de l'étude et du suivi (CASTANEDA *et al.*, 2006). De même, les lapins ont des systèmes haversiens similaires à celui de l'être humain, ce qui constitue un avantage important en ce qui concerne l'extrapolation des résultats obtenus avec ces animaux pour la réparation osseuse humaine (NUNAMAKER, 1998). Enfin, cet animal est disponible, et facile à élever et à manipuler ; il est ainsi le premier choix pour les recherches orthopédiques.

Plusieurs sites opératoires ont été utilisés pour tester les différents substituts osseux. Le tibia, le fémur, la clavicule, le radius et l'ulna sont parmi les os les plus choisis pour réaliser de telles études (LI *et al.*, 2015). Notre choix du radius comme site opératoire est justifié par la facilité de l'accès chirurgical à cet os, et la possibilité de créer un déficit osseux important, tout

en garantissant une stabilité post-opératoire adéquate du site fracturaire, parce que l'ulna, est capable de supporter la totalité des charges mécaniques et d'empêcher les mouvements d'angulation pouvant retarder considérablement la consolidation osseuse. En outre, l'absence des mouvements de rotation (pronation et supination) chez le lapin renforce cette immobilisation et permet le non recours à un dispositif de fixation, qu'il soit interne ou externe, risquant d'entraver le cal endosté ou périosté. Enfin le lapin est un animal qui utilise majoritairement ses membres postérieurs ce qui diminue la sollicitation du membre opéré ; ceci est également renforcé par notre utilisation d'un type de cage étroit permettant une certaine immobilisation post-opératoire de l'animal.

3. Matériel :

3.1. Animaux d'expérimentation :

Pour la réalisation de notre expérimentation, nous avons utilisé 36 lapins Néo-Zélandais, mâles, adultes et d'un poids moyen de 2,25 kg. Durant la première semaine d'expérimentation, les lapins ont été adaptés au nouveau régime alimentaire. Ils ont été ensuite identifiés avec des boucles à oreilles après désinfection de ces derniers par un antiseptique iodé, et ont reçu enfin un supplément vitaminique¹ par voie orale, un traitement antiparasitaire à base d'Ivermectine², une vaccination contre l'entérotaxémie³, et une antibiothérapie préventive à base d'Oxytétracycline⁴ à la dose de 15 mg/kg par voie intramusculaire.

Durant toute la période expérimentale, les animaux ont été placés dans des cages individuelles (avec des dimensions de 20X60X40 cm permettant une immobilisation post-opératoire) installées dans une chambre calme, propre, et à température et lumière contrôlées. Les animaux ont eu accès à un abreuvement *ad-libitum* et une alimentation à base de granulé de lapins⁵ avec une ration journalière de l'ordre de 130 g/animal.

3.2. Matériel et instruments chirurgicaux :

Le matériel et les instruments chirurgicaux utilisés dans notre expérimentation sont illustrés dans les figures n° 24 et 25.

4. Méthodes :

4.1. Description de l'expérimentation :

Après la première étape de préparatifs, les animaux ont été répartis en deux groupes :

- **1^{er} groupe** : consiste en un groupe témoin ou contrôle « HA » et qui a subi une double ostéotomie dans la partie diaphysaire du radius afin de créer un déficit osseux de 5 mm de long. Ce vide a été ensuite comblé par une poudre d'hydroxyapatite⁶.
- **2^{ème} groupe** : les individus de ce groupe « HA+MO » ont également subi une double ostéotomie pour créer le même déficit osseux, cependant, ce dernier a fait l'objet d'un comblement par une poudre d'hydroxyapatite à laquelle sont additionnées trois gouttes de moelle osseuse autologue fraîchement prélevée par ponction de la crête iliaque.

¹ ESERVIT AD3EK+8® (VETOQUINOL – ITALY).

² IVOMEK® (MERIAL – CANADA).

³ COGLAVAX® (CEVA PHYLAXIA – Budapest, HONGRIE).

⁴ OXYTETRAVIT 5%® (PANTEX – HOLLAND).

⁵ Exploitation Agricole Collective n° 07 OUCHEFOUNE (Boumèdes, ALGERIE).

⁶ HYDROXYAPATITE® (SIGMA-ALDRICH – GERMANY).

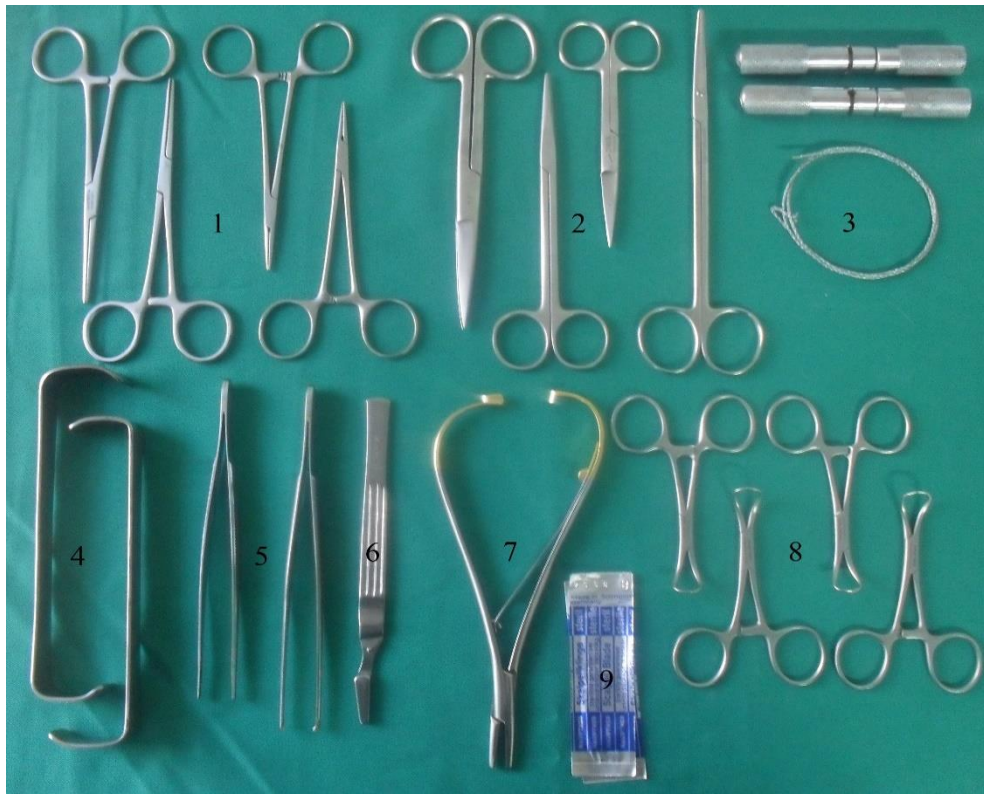


Figure n° 24 : Instruments chirurgicaux utilisés. 1 : Pincés hémostatiques, 2 : Ciseaux Mayo, 3 : Scie-fil avec poignets, 4 : Ecarteurs de Farabeuf, 5 : Pincés à dissection, 6 : Bras porte-lame, 7 : Pince porte-aiguille Mathieu, 8 : Pincés à champs Backhaus, 9 : Lame bistouri.



Figure n° 25 : Matériel utilisé. 1 : Hydroxyapatite en poudre, 2 : Cicatrisant à base d'Aluminium, 3 : Antiseptique iodé, 4 : Seringues, 5 : Cathéters, 6 : Champ opératoire en tissu, 7 : Compresses stériles, 8 : Produits anesthésiques, 9 : Fils de suture non résorbable, 10 : Gants stériles, 11 : Fils de suture résorbable.

Chacun de ces deux traitements a été appliqué chez 18 sujets, desquels, 6 animaux ont été sacrifiés à des durées de 30, 60 et 90 jours, où deux incidences radiographiques, antéro-postérieure et médio-latérale, des membres opérés ont été effectuées après prélèvement de ces derniers.

Les membres prélevés à chaque période ont été débarrassés de leurs parties musculaires et le squelette de l'avant-bras a été conservé dans une solution de formaline à 10%, afin de réaliser une ultérieure étude histo-pathologique du déficit.

Les procédures chirurgicales et le suivi expérimental ont été réalisés au niveau du laboratoire d'Agro-Biotechnologie et de Nutrition en Zones Semi-Arides de l'université IBN KHALDOUN – TIARET, l'étude radiographique a été faite au sein du cabinet du docteur OUCIF Ahmed – TIARET et l'étude histo-pathologique dans la clinique IBN-SINA – BATNA.

4.2. Intervention chirurgicale :

4.2.1. Préparatifs opératoires :

Avant toute procédure chirurgicale, les animaux ont subi une diète hydrique de 2 heures. La région de l'avant-bras droit a été largement tondu au ciseau puis une eau savonneuse a été appliquée et le site opératoire a été rasé. L'avant-bras a été ensuite complètement rincé afin d'éliminer les poils et la souillure et une solution antiseptique iodée⁷ a été enfin appliquée sur la totalité de la région opératoire. Chez les animaux du groupe « HA+MO », une préparation supplémentaire du site de ponction iliaque a été faite suivant la même procédure (tonte, rasage, rinçage et application d'antiseptique).

Le matériel chirurgical nécessaire a été détergé, brossé et stérilisé par autoclavage à 121°C et 1 bar pendant 20 minutes. Finalement, on s'est préparé à l'acte chirurgical en mettant des gants et une tenue chirurgicale stériles.

4.2.2. Anesthésie de l'animal :

Afin de préparer l'animal à l'anesthésie et pour éviter la survenue de toute acidose métabolique ou hypoglycémie peropératoires, les lapins ont été privés d'aliment solide pendant uniquement 2 heures avant l'intervention. Une injection intramusculaire d'Acépromazine⁸ à la dose de 1 mg/kg était nécessaire pour tranquilliser les animaux en vue de leur préparation aseptique. Une fois la préparation terminée, l'induction de l'anesthésie a été obtenue par l'injection intramusculaire de la moitié d'un mélange anesthésique composé de Xylazine⁹ et de Kétamine¹⁰ données à la dose de 1 mg/kg et 40 mg/kg respectivement.

L'animal anesthésié a été mis en décubitus latéral droit, et un champ opératoire quadrillant la région médiale de l'avant-bras droit, et le site pour la ponction iliaque chez les animaux du groupe « HA+MO », a été posé (figure n° 26). Une infiltration directe de ces sites par une solution de Lidocaïne¹¹ 2% a été effectuée afin d'assurer une analgésie multimodale.

Avant toute procédure chirurgicale, il a été nécessaire de maintenir l'anesthésie générale en injectant la deuxième moitié du mélange anesthésique. Ce protocole anesthésique permet d'obtenir une anesthésie chirurgicale de 45 minutes, largement suffisante pour couvrir le temps

⁷ DERMADINE® (LABIOCO – ALGERIE).

⁸ CALMIVET® (VETOQUINOL – FRANCE).

⁹ XYLA® (INTERCHEMIE – HOLLAND).

¹⁰ KETAMILE® (EL KENDI – ALGERIE).

¹¹ XILONIBSA 2%® (INIBSA – Barcelona, ESPAGNE).

opératoire. L'appréciation de la profondeur de l'anesthésie a été basée sur la surveillance des réflexes de l'animal et si nécessaire un supplément anesthésique est administré à l'animal.

4.2.3. Temps opératoire :

Après la première étape de préparatifs, l'animal anesthésié a été placé en décubitus latéral droit, le champ opératoire a été mis en place et une solution antiseptique iodée a été appliquée (figure n° 26). Quelques minutes après, une incision cutanée dans la partie médiale de l'avant-bras droit a été faite dans un sens longitudinal. L'hémorragie des petits vaisseaux cutanés a été contrôlée et une incision du plan sous-cutané a été effectuée (figure n° 27). Une petite incision a été faite entre le muscle pronateur rond et le muscle fléchisseur profond des doigts et une paire de ciseau à extrémités mousses a été ensuite utilisée pour agrandir cette incision. Le muscle pronateur rond ainsi que l'artère et la veine médiane ont été écartés vers le bord antérieur de l'avant-bras, tandis que le muscle fléchisseur profond des doigts a été poussé vers le côté postérieur afin d'exposer la partie diaphysaire du radius (figure n° 28). Les insertions des muscles pronateur rond et fléchisseur profond des doigts sur le radius ont été détachées à l'aide d'une paire de ciseau à extrémités mousses afin d'exposer l'espace interosseux. Deux incisions du périoste ont été effectuées afin de faciliter son excision chirurgicale, ce qui permet d'exclure l'interférence de l'ostéogénèse périostique dans l'étude et de simuler les conditions cliniques dans lesquelles le périoste est enlevé le long de l'os pendant la résection des tumeurs (figure n° 29). Une scie-fil a été introduite dans l'espace interosseux, et par des mouvements de sciage répétés, deux ostéotomies ont été réalisées au niveau de la diaphyse radiale (figure n° 30) afin de créer un déficit osseux de 0.5 cm de long (figure n° 31). Dans le groupe « HA », ce déficit osseux a été comblé par une poudre d'hydroxyapatite (figure n° 32), cependant, chez les individus du groupe « HA+MO », une compresse stérile a été utilisée pour couvrir la plaie opératoire, le temps de faire une aspiration de la moelle osseuse par ponction iliaque. Après repérage de la crête iliaque, une aiguille 18 G a été introduite jusqu'au contact de l'aile de l'ilium. Cette dernière a été perforée par des mouvements rotatifs de l'aiguille, ensuite, les trabécules osseuses ont été brisées par des mouvements circulaires de l'aiguille et une seringue a été montée pour aspirer quelques gouttes de moelle osseuse (figure n° 33). Trois gouttes de l'aspirât fraîchement récolté ont été déposées dans le déficit osseux rempli de poudre d'hydroxyapatite (figure n° 34) et les deux muscles, pronateur rond et fléchisseur profond des doigts, ont été rapprochés par un surjet simple au fil acide polyglycolique¹² 3/0 (figure n° 35). La plaie cutanée a été fermée par des points simples séparés au fil polyamide¹³ 3/0 puis désinfectée par une solution antiseptique et protégée par une pulvérisation d'un cicatrisant à base d'aluminium¹⁴ (figure n° 36).

¹² VICRYL® (ETHICON – Bruxelles, BELGIQUE).

¹³ PRACTIGUT® (SUPRAMID – HOLLAND).

¹⁴ ALUSPRAY® (VETOQUINOL – FRANCE).

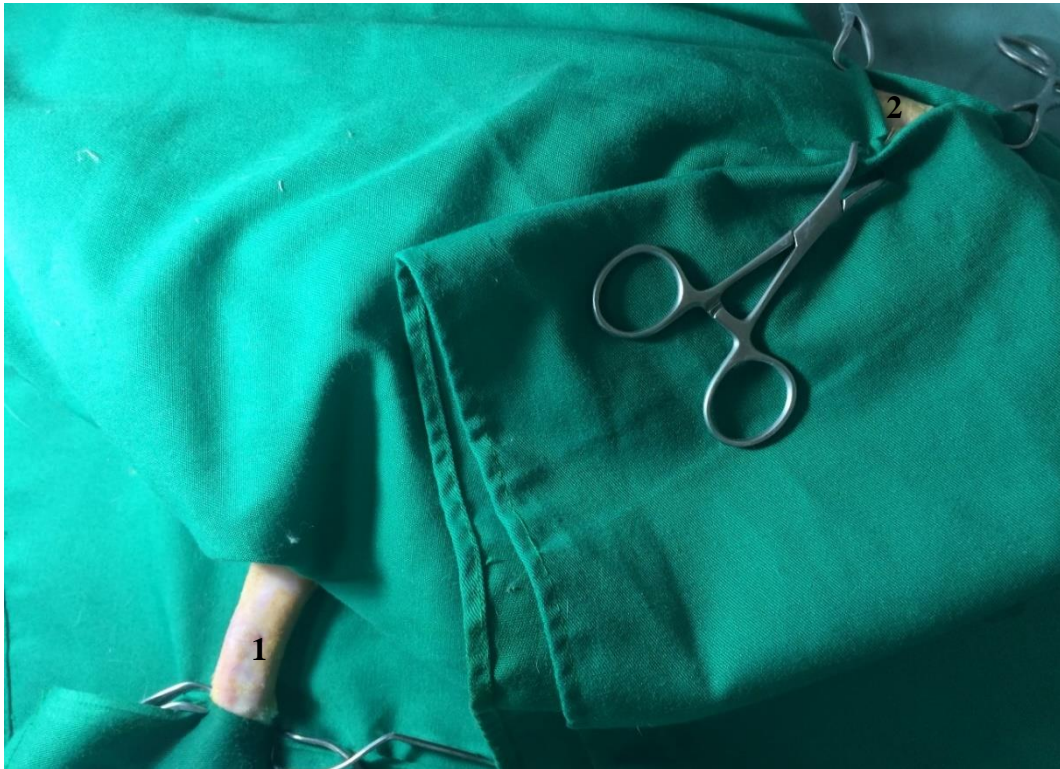


Figure n° 26 : Mise de l'animal en décubitus latéral, mise en place du champ opératoire et antisepsie du site opératoire ; 1 : face médiale de l'avant-bras, 2 : crête iliaque.

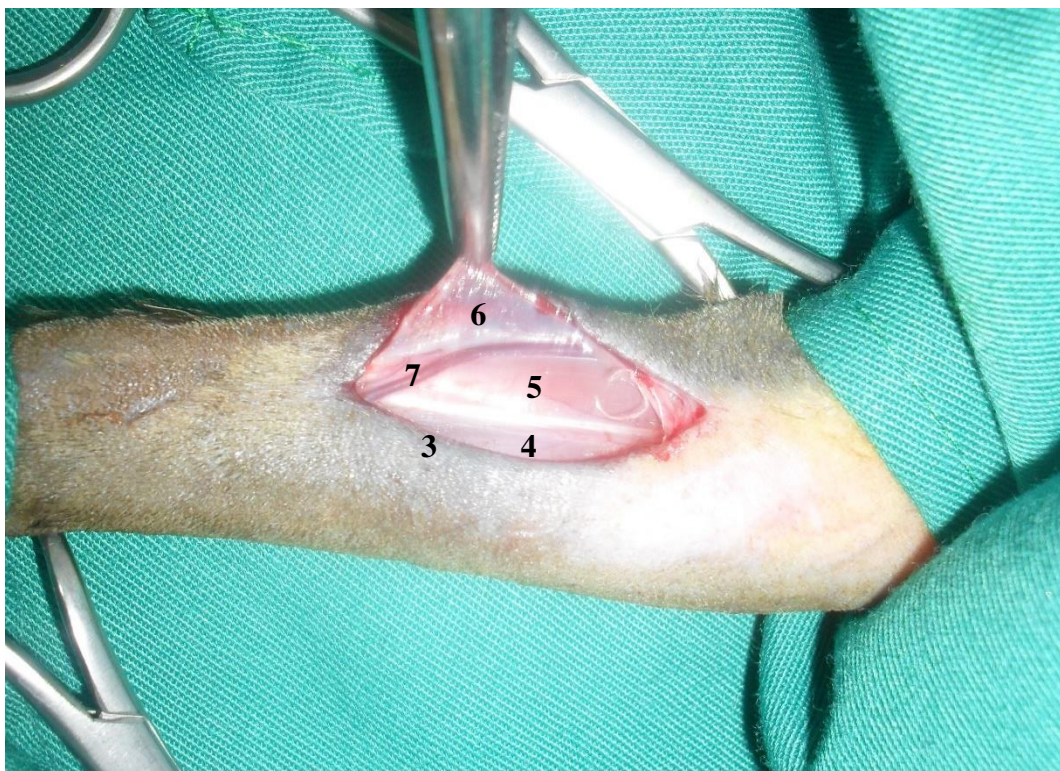


Figure n° 27 : Incision du plan cutané et sous-cutané ; 3 : plan cutané, 4 : muscle pronateur rond, 5 : muscle fléchisseur profond des doigts, 6 : plan sous-cutané, 7 : veine médiane.

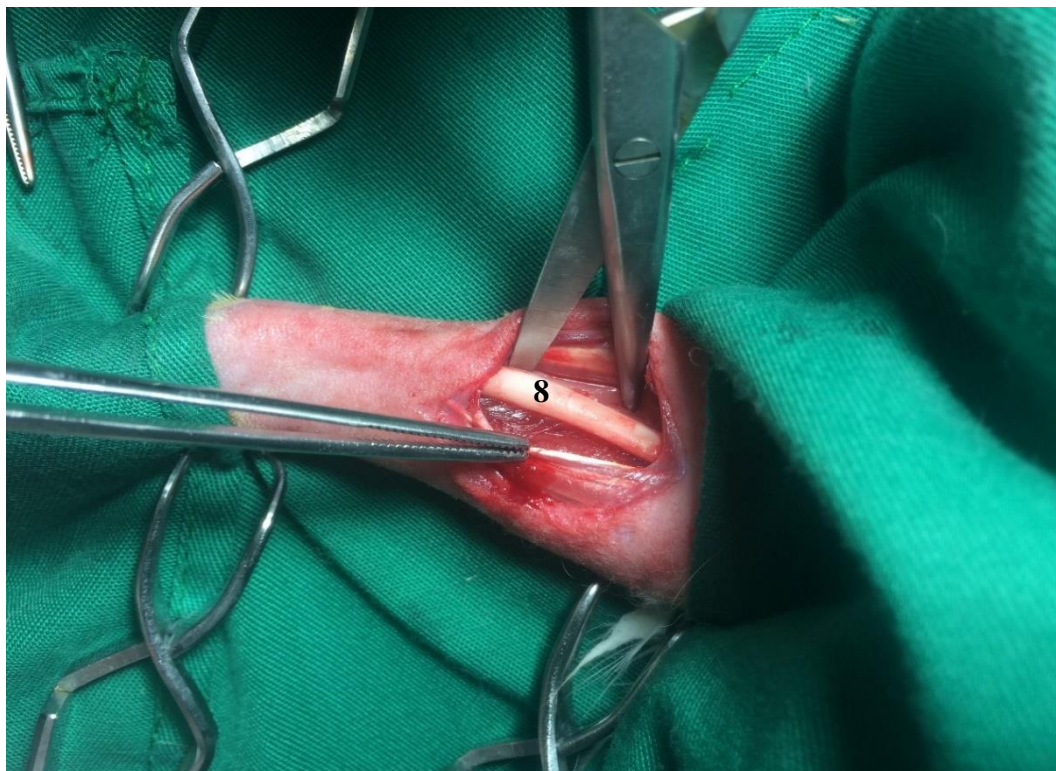


Figure n° 28 : Détachement des insertions musculaires et exposition de la diaphyse radiale ;
8 : diaphyse radiale.

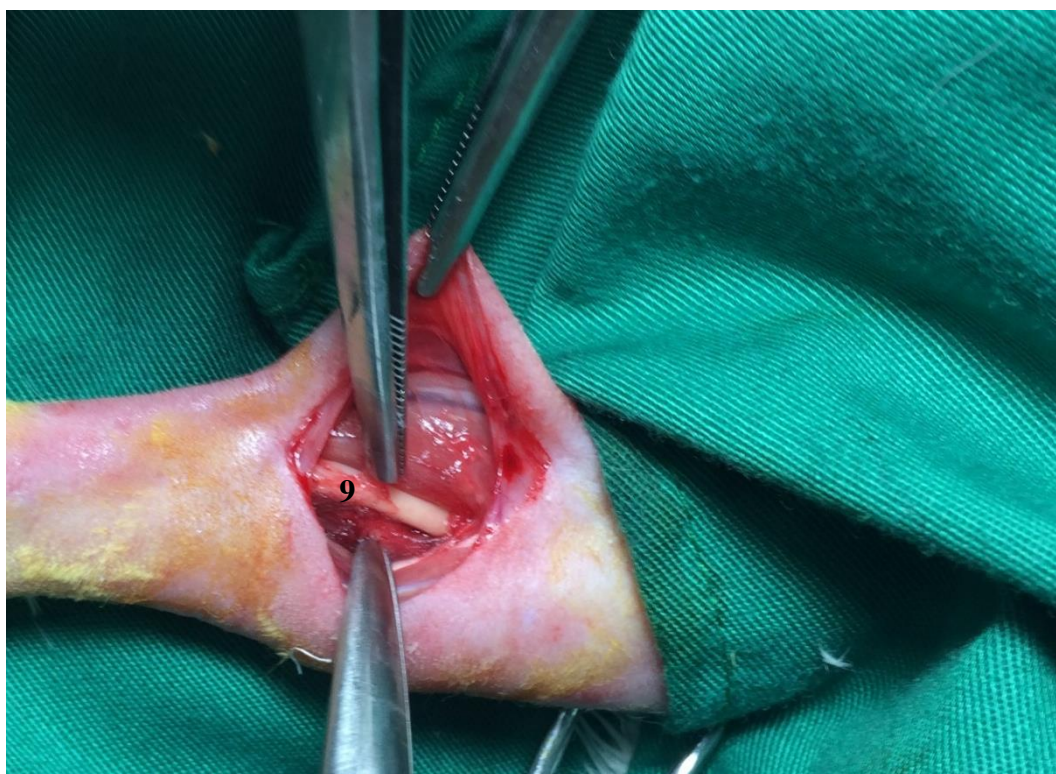


Figure n° 29 : Incision du périoste et son excision sur la partie d'os à enlever ; 9 : périoste.



Figure n° 30 : Création de la première ostéotomie par sciage du radius ; 10 : 1^{ère} ostéotomie.

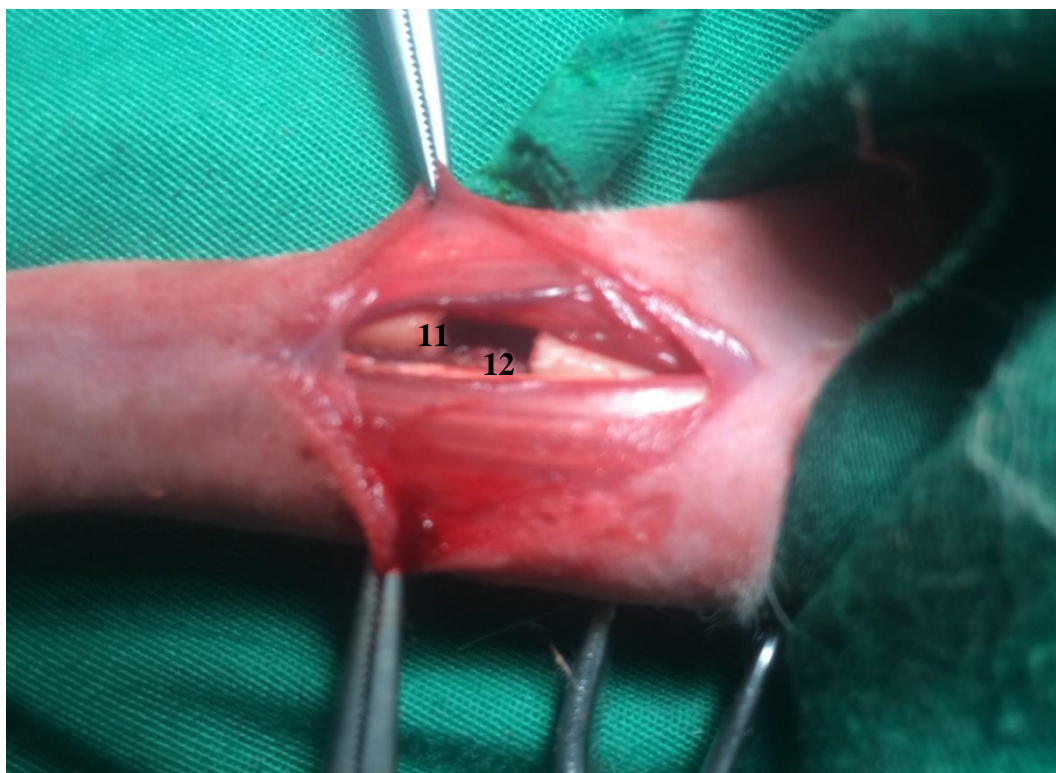


Figure n° 31 : Réalisation de la deuxième ostéotomie ; 11 : 2^{ème} ostéotomie, 12 : déficit osseux.

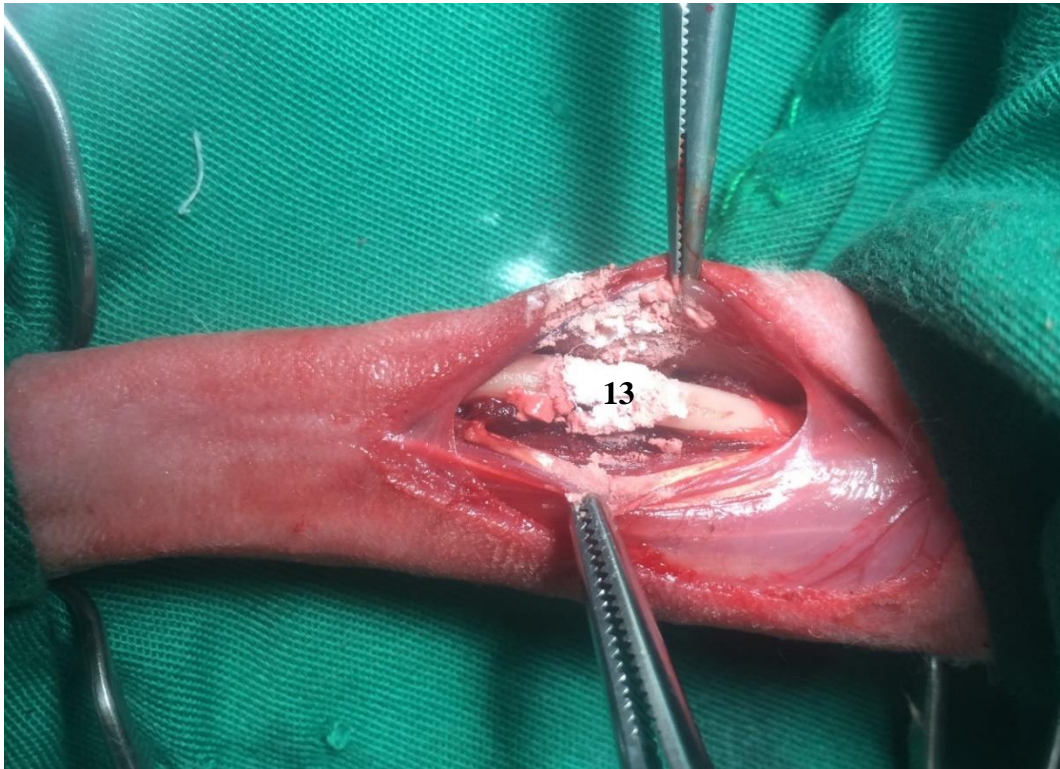


Figure n° 32 : Comblement du déficit par la poudre d'hydroxyapatite ; 13 : hydroxyapatite.

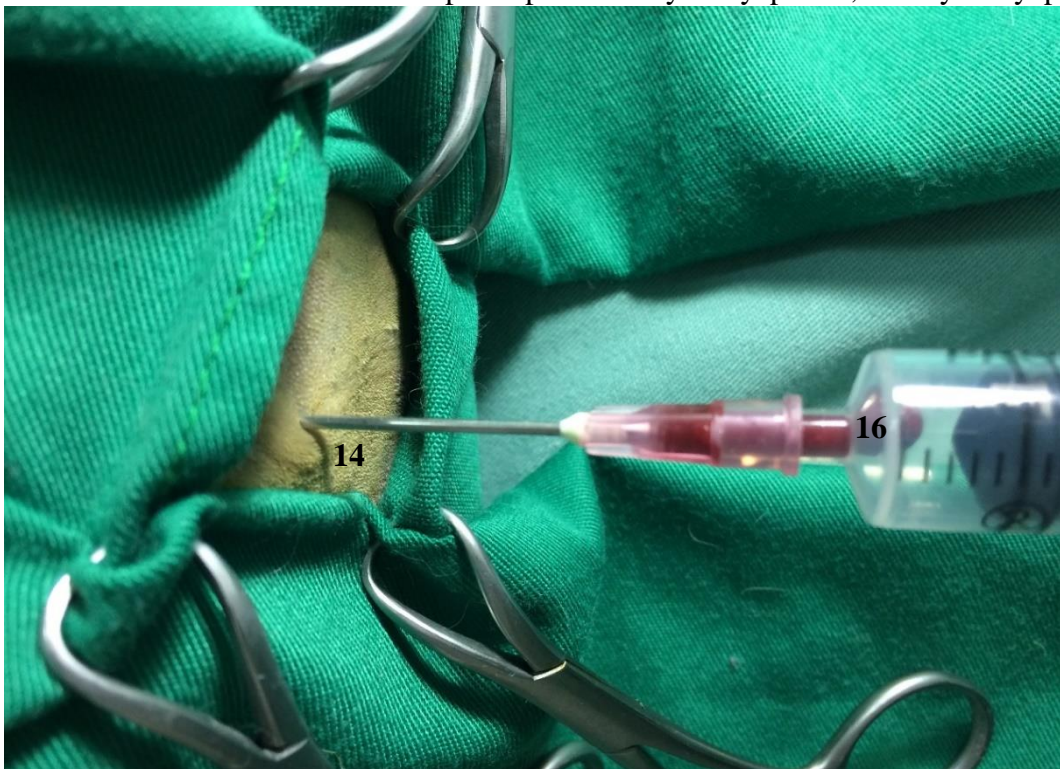


Figure n° 33 : Introduction de l'aiguille dans la crête iliaque et aspiration de la moelle osseuse ; 14 : ponction iliaque.

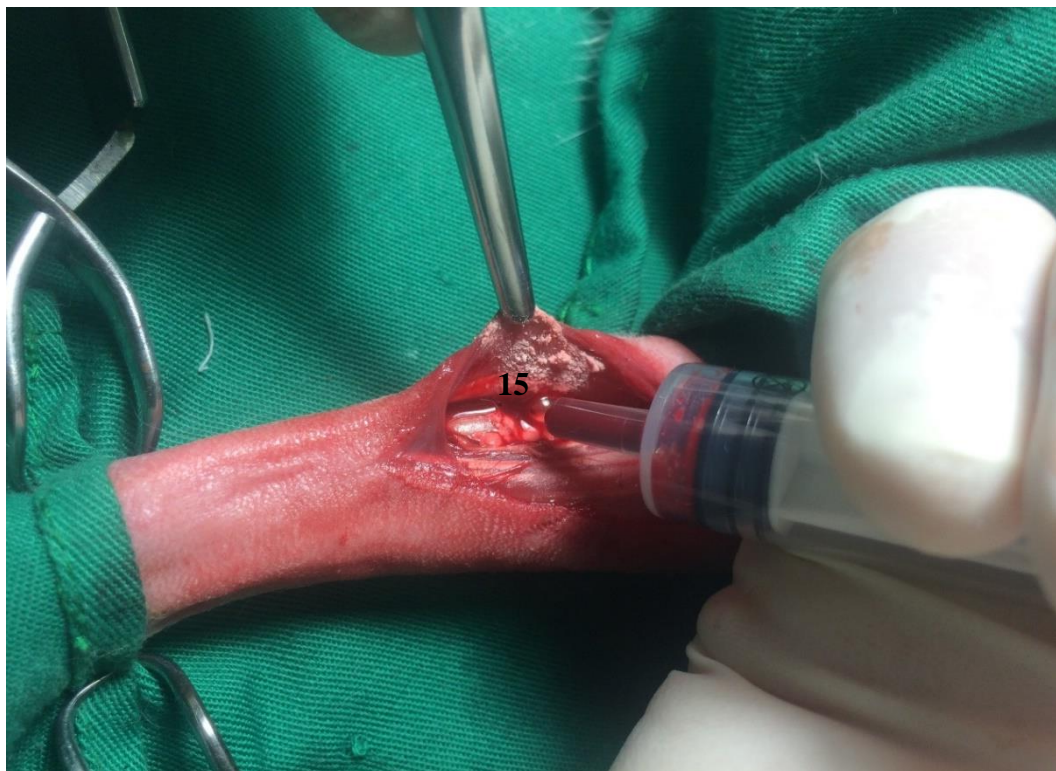


Figure n° 34 : Ajout de trois gouttes de moelle osseuse à la poudre d'hydroxyapatite ; 15 : mélange d'hydroxyapatite et de moelle osseuse.



Figure n° 35 : Rapprochement des deux muscles par un surjet simple ; 16 : suture musculaire résorbable.



Figure n° 36 : Suture cutanée et protection de la plaie par une pulvérisation d'un cicatrisant à base d'Aluminium ; 17 : suture cutanée non résorbable, 18 : spray à base d'aluminium.

4.2.4. Suivi post-opératoire :

Après fin de l'intervention, les animaux opérés ont été mis dans un endroit calme et chaud en attendant leur réveil. Une fois réveillés, ils ont été remis dans leurs cages individuelles afin d'assurer une immobilisation post-opératoire. Une désinfection des plaies opératoires et une antibiothérapie à base d'Oxytétracycline à la dose de 15 mg/kg ont été établies durant une période de 7 jours afin d'éviter toute infection post-opératoire.

4.3. Etude clinique :

Durant la période post-opératoire, les animaux ont été examinés cliniquement afin de suivre la cicatrisation des plaies chirurgicales et de chercher la présence d'œdème, d'infection ou de déhiscence cutanée. Un examen quotidien des animaux a été également nécessaire pour définir le moment de la récupération de l'appui complet et normal.

4.4. Etude radiographique :

Afin de réaliser une étude radiographique permettant de suivre l'évolution radiographique du déficit osseux créé, six animaux de chaque groupe ont été sacrifiés après des durées de 30, 60 et 90 jours. Le membre opéré a été récupéré et deux incidences orthogonales, médio-latérale et antéro-postérieure ont été faites avec un appareil de radiographie numérique¹⁵ à une tension de 65 kv, une charge de 50 mA et un temps d'exposition de 1/63 seconde (figure n° 37).

¹⁵ ENIE RADIOLOGIE® (ENIE – ALGERIE).

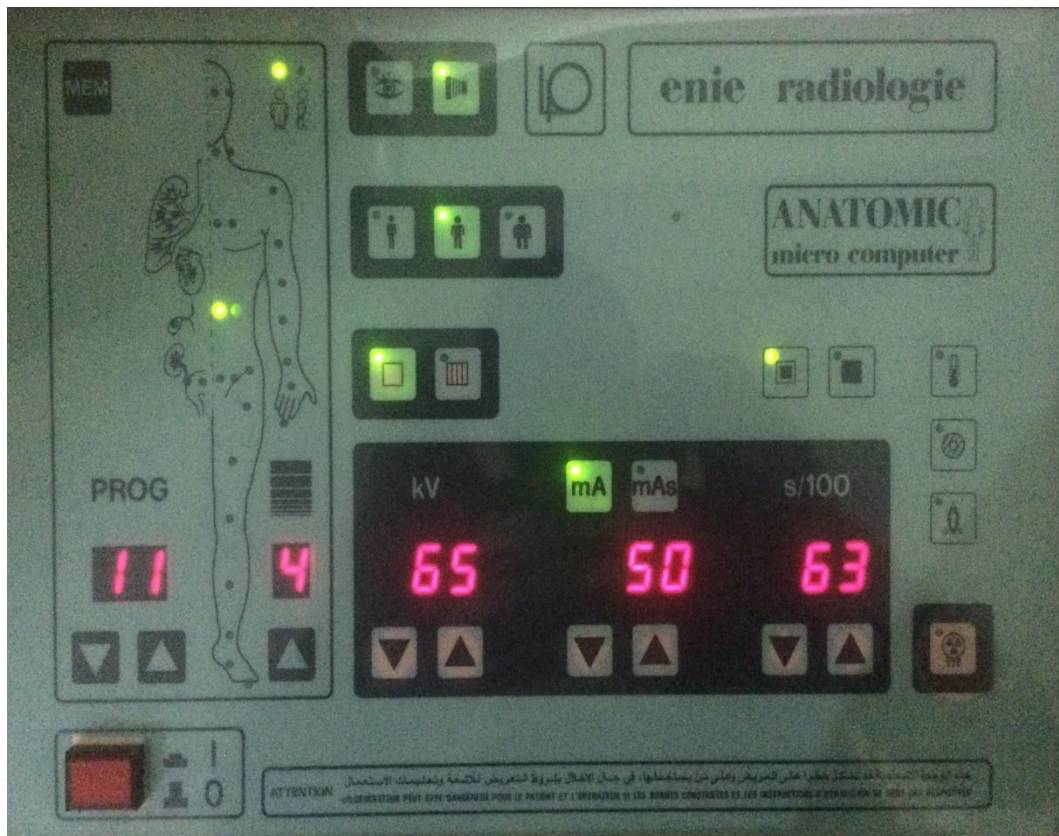


Figure n° 37 : Appareil de radiographie et paramètres utilisés.

Les clichés radiographiques ont été ensuite examinés afin d'évaluer la nouvelle formation osseuse, l'étendu et la taille du cal formé, le comblement du déficit osseux, la densité radiographique et les signes de remodelage.

Les résultats radiographiques ont été transformés en scores selon le système de score de rayons-X modifié par LANE & SANDHU (1987) et HEIPLE *et al.* (1987) (tableau n° 03). Les scores moyens de chaque paramètre radiographique ont été calculés et le score radiologique total a été obtenu par addition de ces derniers, afin de permettre une quantification de la consolidation osseuse dans chaque groupe. Le groupe ayant le plus haut score radiologique total a été considéré comme celui ayant eu une meilleure consolidation.

Tableau n° 03 : Système de score radiologique et histo-pathologique modifié par LANE & SANDHU (1987) et HEIPLE *et al.* (1987).

	Paramètres	Scores
I	Score radiologique	
1	Réduction du déficit osseux	
	Moins de 25% de réduction	1
	25-50% de réduction	2
	50-75% de réduction	3
	Plus de 75% de réduction	4
	Absence de déficit	5
2	Densité radiographique	
	Aucune densité	0
	Faible	1
	Modérée	2

	Dense	3
3	Remodelage osseux	
	Pas de remodelage	0
	Moins de 25% de réduction dans la taille du cal	1
	25-50% de réduction dans la taille du cal	2
	50-75% de réduction dans la taille du cal	3
	Plus de 75% de réduction dans la taille du cal et canalisation de la cavité médullaire	4
	Score radiologique maximal possible	12
II	Score histo-pathologique	
1	Ostéogénèse	
	Pas d'ostéogénèse	0
	Ostéogénèse faible	1
	Ostéogénèse moyenne	2
	Bonne ostéogénèse	3
	Ostéogénèse parfaite	4
2	Union	
	Aucun signe d'union	0
	Union fibreuse	1
	Union ostéocondrale	2
	Union osseuse	3
	Organisation complète de la diaphyse	4
3	Moelle osseuse	
	Aucune dans la zone de résection	0
	Commence à apparaître	1
	Présente dans plus que la moitié du déficit	2
	Colonisation complète par la moelle rouge	3
	Moelle osseuse grasse mature	4
4	Os spongieux/os médullaire	
	Aucune activité osseuse cellulaire	0
	Apposition précoce du nouvel os	1
	Apposition active du nouvel os	2
	Os spongieux réorganisant	3
	Réorganisation complète de l'os spongieux	4
5	Os cortical/compact	
	Aucun	0
	Apparence précoce	1
	En voie de formation	2
	Majoritairement réorganisé	3
	Complètement formé	4
	Score histologique maximal possible	20

4.5. Etude histo-pathologique :

Afin de suivre l'évolution histo-pathologique du comblement du déficit osseux, les membres ayant subi des fractures ont été récupérés après réalisation des clichés radiographiques. L'avant-bras a été ensuite désarticulé au niveau du coude et du carpe, et ses muscles ont été détachés. Les échantillons du squelette de l'avant-bras ont été ensuite rincés à l'eau distillée puis conservés dans une solution de formaline à 10%¹⁶ (figure n° 38 et 39).

La préparation des coupes histologiques a nécessité une procédure de décalcification, durant laquelle les spécimens ont été mis dans une solution d'acide formique 5%, changée tous les trois jours. La dureté des échantillons a été appréciée par des pinces à dissection afin de déterminer la possibilité de réaliser des coupes histologiques au microtome.

Une fois décalcifiés, les spécimens ont été lavés à l'eau du robinet, puis une déshydratation des tissus a été obtenue par passage dans une série de bains d'alcool (éthanol) aux gradients ascendants : 70°, 96° et 100° pendant des durées de 7 heures, 17 heures et 4 heures respectivement. Les échantillons ont été ensuite clarifiés par passage dans deux bains de chloroforme (1^{er} bain : 50% chloroforme + 50% alcool pendant 4 heures, 2^{ème} bain : chloroforme pur pendant 4 heures). Cette clarification consiste en un remplacement du déshydratant par une substance miscible avec la paraffine ce qui rend les échantillons plus transparents.



Figure n° 38 : Désarticulation de l'avant-bras et détachement de ses muscles.

¹⁶ FORMALDEHYDE® (Sigma-Aldrich – GERMANY).



Figure n° 39 : Conservation des échantillons dans une solution de formaline à 10%.

Les spécimens ont été mis dans des cassettes pour être imprégnés à chaud par une paraffine de routine (dont le point de fusion est de l'ordre de 54 à 56 °C), ensuite, la paraffine a été coulée au quart dans des moules en acier inoxydable chauffés à 60 °C et les fragments d'os y ont été déposés. Après solidification de la paraffine, les blocs formés ont été congelés à -20 °C pour être réduits en coupe microscopiques d'épaisseur de 5 µm grâce à un microtome. Les coupes ont été ensuite étalées dans un bain marie d'histologie (à 50 °C) puis collées sur des lames grâce à l'albumine et séchées à 60 °C pendant 1 heure pour éliminer la paraffine, puis on a procédé à la coloration par les étapes suivantes :

- Déparaffinage par passage dans deux bains de xylène de 15 minutes chacun ;
- Réhydratation par passage dans deux bains d'alcool absolu de 5 minute chacun puis dans un bain d'alcool à 70% pendant 5 minutes ;
- Coloration avec l'hématoxyline de Mayer pendant 25 minutes ;
- Rinçage dans l'eau du robinet pendant 15 minutes ;
- Réduction de la coloration (du cytoplasme) par trempage rapide (1-2 secondes) dans l'acide chlorhydrique à 1% ;
- Lavage rapide à l'eau pour éliminer l'excès d'acide ;
- Coloration à l'éosine pendant 15 minutes ;
- Lavage à l'eau pour éliminer l'excès de colorant ;
- Déshydratation dans l'alcool à 70° pendant 10 minutes puis dans l'alcool absolu pendant 3 minutes ;
- Séchage des lames dans du papier buvard ;
- Clarification dans le xylène pendant 15 minutes ;
- Montage des lamelles à l'aide du baume de Canada en prenant soin de dégager les bulles d'air ;
- Séchage des lames à 60 °C pendant une nuit.

Les coupes histologiques ont été ensuite étudiées au microscope afin d'évaluer le tissu formé au niveau du déficit osseux et l'état de son activité ostéogénique ainsi que le type d'union entre l'os hôte et le nouveau tissu, la nature de moelle osseuse formée et la présence d'os compact.

Les observations histo-pathologiques ont été également transformées en scores selon le système de score de rayons-X modifié par LANE & SANDHU (1987) et HEIPLE *et al.* (1987) (tableau n° 03). Après avoir calculé les scores moyens des différents paramètres histo-pathologiques, ils ont été additionnés pour obtenir le score histo-pathologique total. Le groupe atteignant le plus haut score histo-pathologique total a été considéré comme celui ayant eu une meilleure consolidation osseuse.

4.6. Etude statistique :

Les scores des paramètres radiographiques et histo-pathologiques des deux groupes de notre expérimentation ont été traités statistiquement en utilisant la 8^{ème} version du logiciel STATISTICA sur Windows. Le test *t student* a été utilisé afin de comparer les moyennes des scores enregistrés pour les paramètres radiographiques et histo-pathologiques des deux groupes de l'étude et un $P < 0,05$ est considéré comme significatif.

CHAPITRE V

RESULTATS

ET

DISCUSSION

V. Résultats et discussion :

1. Résultats :

1.1. Résultats cliniques :

De manière générale, les interventions chirurgicales se sont déroulées dans de bonnes conditions. Le protocole anesthésique utilisé nous a permis d'effectuer une chirurgie sans douleur, cependant, une dose supplémentaire d'analgésique était nécessaire pour effectuer la ponction de la crête iliaque du moment que cette procédure est trop douloureuse.

Le réveil des animaux s'est produit de façon spontanée dans les deux heures suivant l'opération et la reprise de l'appétit a été faite de manière progressive. Les bonnes conditions de déroulement de l'intervention et l'antisepsie quotidienne des plaies chirurgicales a permis leur cicatrisation par première intention, toutefois, un petit gonflement a été noté chez certains individus du groupe « HA » et qui a disparu spontanément quelques jours après. Les plaies sont devenues sèches au bout de 4 jours, cependant, les animaux n'arrivaient toujours pas à utiliser leurs membres opérés de manière adéquate, et une durée de 15 jours en moyenne était nécessaire pour arriver à un appui complet et normal. Enfin un seul animal a provoqué une déhiscence cutanée, ce qui a nécessité une deuxième suture pour fermer la plaie.

1.2. Résultats radiographiques :

Les valeurs moyennes \pm écarts-types des scores radiologiques de réduction du déficit osseux, de la densité radiographique, des signes de remodelage et du score radiologique total des deux groupes sont représentées dans le tableau n° 04.

Tableau n° 04 : Moyennes \pm écarts-types des scores radiologiques.

Groupes	Jours	Réduction du déficit osseux	Densité radiographique	Remodelage	Score radiologique total
HA	30	1,66 \pm 0,51*	1,16 \pm 0,40**	0,00 \pm 0,00	2,83 \pm 0,75**
HA+MO	30	2,33 \pm 0,51	2,66 \pm 0,51	0,00 \pm 0,00	5,00 \pm 0,89
HA	60	1,83 \pm 0,75*	1,33 \pm 0,51**	1,00 \pm 0,89*	4,17 \pm 1,64**
HA+MO	60	3,83 \pm 1,47	2,50 \pm 0,54	2,83 \pm 1,17	9,17 \pm 2,93
HA	90	2,00 \pm 1,26**	1,00 \pm 1,10*	0,83 \pm 1,17**	3,83 \pm 3,19**
HA+MO	90	4,16 \pm 0,75	2,67 \pm 0,51	3,50 \pm 0,54	10,33 \pm 1,63

* : (P<0,05), ** : (P<0,01) entre les deux groupes.

Au 30^{ème} jour après l'intervention, une nouvelle formation osseuse et une importante réaction périostée étaient présentes chez le groupe « HA+MO », cependant les clichés radiographiques du groupe « HA » n'ont montré qu'une légère réaction périostée. En outre, le taux de réduction du déficit osseux chez le groupe « HA » était faible par rapport au groupe « HA+MO » et la comparaison des moyennes du score de réduction du déficit osseux chez les deux groupes a révélé une différence significative (P<0,05). La densité radiographique au niveau du site de déficit osseux était également plus augmentée chez le groupe « HA+MO ». En effet, la différence était hautement significative entre les score de densité radiographique des deux groupes (P<0,01). Enfin, on a noté l'absence de tout signe de remodelage du cal ou de canalisation de la cavité médullaire chez les deux groupes à cette période (figure n° 40 et 41).

Le taux du déficit osseux est resté inchangé à 60 jours chez le groupe « HA », toutefois une nette réduction de ce déficit était observée chez le groupe « HA+MO ». De même, la densité radiographique était plus importante chez le groupe « HA+MO » et avec une

différence hautement significative par rapport au groupe contrôle ($P < 0,01$). Un début de remodelage a été observé à cette période chez le groupe « HA+MO » alors que presque aucun signe de remodelage n'a été observé chez le groupe « HA » (figure n° 42 et 43).

A 90 jours, un comblement complet était observé chez le groupe « HA+MO », tandis que le groupe « HA » présentait toujours un déficit osseux. La différence en terme de score moyen de réduction de déficit osseux des deux groupes était hautement significative ($P < 0,01$). En outre, la densité radiographique était encore plus importante chez le groupe « HA+MO » par rapport au groupe « HA » ($P < 0,05$). Des signes de remodelage radiographique étaient nettement plus évidents chez le groupe « HA+MO » par rapport au groupe contrôle. Effectivement, le score de réduction du cal et de canalisation de la cavité médullaire était plus haut chez le groupe « HA+MO » comparé au groupe « HA » ($P < 0,01$) (figure n° 44 et 45).

Enfin, la différence entre les moyennes du score radiographique total des deux groupes était hautement significative durant toutes les périodes ($P < 0,01$).



Figure n° 40 : Radiographie de l'avant-bras chez le groupe « HA » à 30 jours montrant une légère réaction périostée (flèche) et une faible densité.



Figure n° 41 : Radiographie de l'avant-bras chez le groupe « HA+MO » après 30 jours montrant une importante réaction périostée (flèche), une nouvelle formation osseuse dense permettant un début de réduction du déficit osseux (tête de flèche).



Figure n° 42 : Radiographie du groupe « HA » à 60 jours montrant une faible réduction du déficit osseux et une faible densité du tissu formé (flèche).



Figure n° 43 : Radiographie du groupe « HA+MO » à 60 jours montrant une réduction presque complète du déficit osseux (flèche) avec un cal dense et de taille réduite.



Figure n° 44 : Radiographie du groupe « HA » à 90 jours montrant la présence du déficit osseux et une faible densité (flèche).



Figure n° 45 : Radiographie du groupe « HA+MO » à 90 jours montrant une consolidation osseuse complète avec des signes de remodelage évidents ; réduction de la taille du cal (tête de flèche) et canalisation de la cavité médullaire (flèche).

1.3. Résultats histo-pathologiques :

Les valeurs moyennes \pm écarts-types des scores histo-pathologiques de l'ostéogénèse, l'union, la moelle osseuse, l'os médullaire, l'os compact et le score histo-pathologique total des deux groupes sont résumés dans le tableau n° 05.

Tableau n° 05 : Moyennes \pm écarts-types des scores histo-pathologiques.

Groupes	Jours	Ostéogénèse	Union	Moelle osseuse	Os médullaire	Os compact	Score histo-pathologique total
HA	30	1,33 \pm 0,81**	1,50 \pm 0,54*	0,50 \pm 0,54**	1,33 \pm 0,81	0,00 \pm 0,00	4,67 \pm 2,66**
HA+MO	30	3,00 \pm 0,63	2,16 \pm 0,40	2,33 \pm 0,51	2,16 \pm 0,40	0,00 \pm 0,00	9,66 \pm 0,81
HA	60	2,00 \pm 0,63*	2,33 \pm 0,51	2,00 \pm 0,63*	2,16 \pm 0,75*	0,66 \pm 0,81*	9,17 \pm 1,94**
HA+MO	60	2,66 \pm 0,51	2,66 \pm 0,51	3,16 \pm 0,98	3,16 \pm 0,40	2,16 \pm 0,98	13,83 \pm 3,13
HA	90	1,83 \pm 1,17*	2,16 \pm 0,75*	1,67 \pm 0,75**	1,33 \pm 1,03**	0,83 \pm 0,75**	7,33 \pm 3,93**
HA+MO	90	3,16 \pm 0,40	3,16 \pm 0,40	3,50 \pm 0,83	3,16 \pm 0,40	3,33 \pm 0,81	16,17 \pm 1,72

* : (P<0,05), ** : (P<0,01) entre les deux groupes.

De manière générale, les résultats histo-pathologiques sont en accordance avec les observations radiographiques. Au 30^{ème} jour post-opératoire, une différence hautement significative en terme d'ostéogénèse a été observée entre les deux groupes de l'étude (P<0,01). En effet, une bonne ostéogénèse a été notée au niveau du site du déficit osseux chez le groupe « HA+MO », tandis que celui du groupe « HA » n'a montré qu'une moyenne activité ostéogénique. L'union entre le tissu hôte et le nouveau tissu osseux était de nature fibreuse à ostéocondrale chez le groupe traité par hydroxyapatite, alors qu'elle était purement ostéocondrale chez le groupe « HA+MO », et la comparaison entre les scores histo-pathologiques moyens en matière d'union a révélé une différence significative entre les deux groupes de l'étude (P<0,05). De même, un début d'apparition de moelle osseuse a été observé en zone de résection chez les individus du groupe « HA », alors que chez ceux du groupe « HA+MO », plus que la moitié du déficit osseux a été remplie de moelle osseuse, avec une différence significative entre les scores moyens des deux groupes (P<0,05). Une apposition précoce du nouvel os était observée chez le groupe « HA » tandis que chez le groupe « HA+MO », le tissu osseux spongieux, formé au niveau du déficit, était histologiquement plus actif. Même si le score moyen en termes de formation d'os spongieux était plus haut chez le groupe « HA+MO », la comparaison entre les deux groupes n'a révélé aucune différence significative. En plus de ces constatations, aucune formation d'os compact n'a été observée chez les deux groupes à cette période (figure n° 46 et 47). De manière générale, le score histo-pathologique total était nettement plus important chez le groupe « HA+MO » par rapport au groupe « HA », et la comparaison des scores totaux des deux groupes a révélé une différence hautement significative (P<0,01).

Au 60^{ème} jour, une ostéogénèse moyenne et une union ostéocondrale ont été observées chez les deux groupes. Cependant, une moelle osseuse était observée dans seulement plus que la moitié du déficit chez les animaux du groupe « HA » alors que ce dernier était sujet à une colonisation complète par une moelle osseuse rouge chez le groupe « HA+MO » et la comparaison a révélé une différence significative entre les deux groupes (P<0,05). En plus de ça, l'os spongieux nouvellement formé dans le déficit osseux n'a montré qu'un début d'activité chez le groupe « HA », tandis que chez le groupe « HA+MO » ce dernier était beaucoup plus réorganisé. En effet, une différence significative était présente entre les deux groupes en matière d'activité de l'os médullaire formé (P<0,05). Une apparition précoce d'os compact a été observée chez le groupe « HA », alors que chez le groupe « HA+MO », l'os compact était déjà

en voie de formation (figure n° 48 et 49) et la comparaison a révélé une différence significative entre les scores moyens de formation d'os compact et entre les scores histo-pathologiques totaux des deux groupes ($P < 0,05$).

Après une période de 90 jours, le site du déficit osseux a présenté une ostéogénèse moyenne chez le groupe « HA » par rapport à une bonne ostéogénèse chez le groupe « HA+MO » et la comparaison a révélé une différence significative entre les scores moyens des deux groupes ($P < 0,05$). De même, l'union était toujours de type ostéocondral (parfois fibreuse même (figure n° 50)) chez le groupe « HA » tandis qu'une union osseuse a été observée chez le groupe « HA+MO ». Effectivement, une différence significative était présente entre les scores moyens des deux groupes ($P < 0,05$). Similairement, une différence hautement significative a été révélée en terme de formation de moelle osseuse, puisque celle observée chez le groupe « HA » était plutôt immature et en petite quantité par rapport à une moelle osseuse mature et grasse dans les cavernes du tissu spongieux nouvellement formé du groupe « HA+MO » ($P < 0,01$). En plus de ça, il y avait une différence hautement significative après comparaison des scores moyens en termes de tissu spongieux, vu que seulement une apposition précoce du tissu spongieux était présente chez le groupe « HA » alors que plus d'organisation et d'activité ont été observée chez le groupe « HA+MO ». Une nette réorganisation et formation du tissu osseux compact a été observée chez le groupe « HA+MO », alors que chez le groupe « HA », seulement une apparition précoce était décelée à cette période (figure n° 51 et 52). Finalement, ces observations ont conduit à une différence hautement significative entre les scores histo-pathologiques totaux des deux groupes ($P < 0,01$).

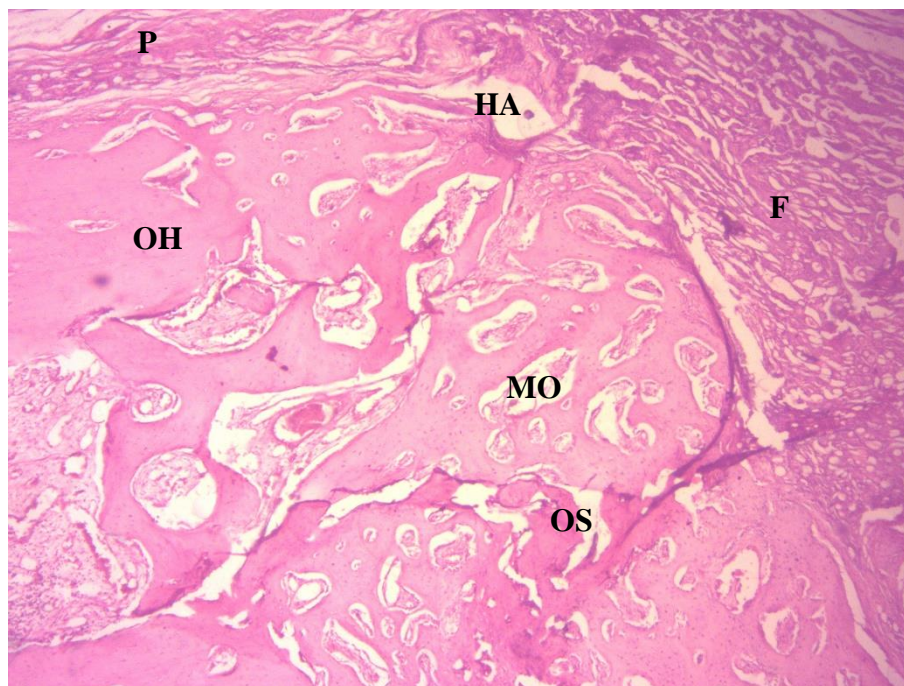


Figure n° 46 : Section histologique du site du déficit chez le groupe « HA » après 1 mois, montrant une ostéogénèse moyenne, un début d'apparition de moelle osseuse et une apposition précoce de l'os spongieux nouvellement formé, lapin ; 100X ; H&E ; F : Tissu fibreux, HA : Hydroxyapatite, MO : Moelle osseuse, OH : Os hôte, OS : Os spongieux formé, P : Périoste.

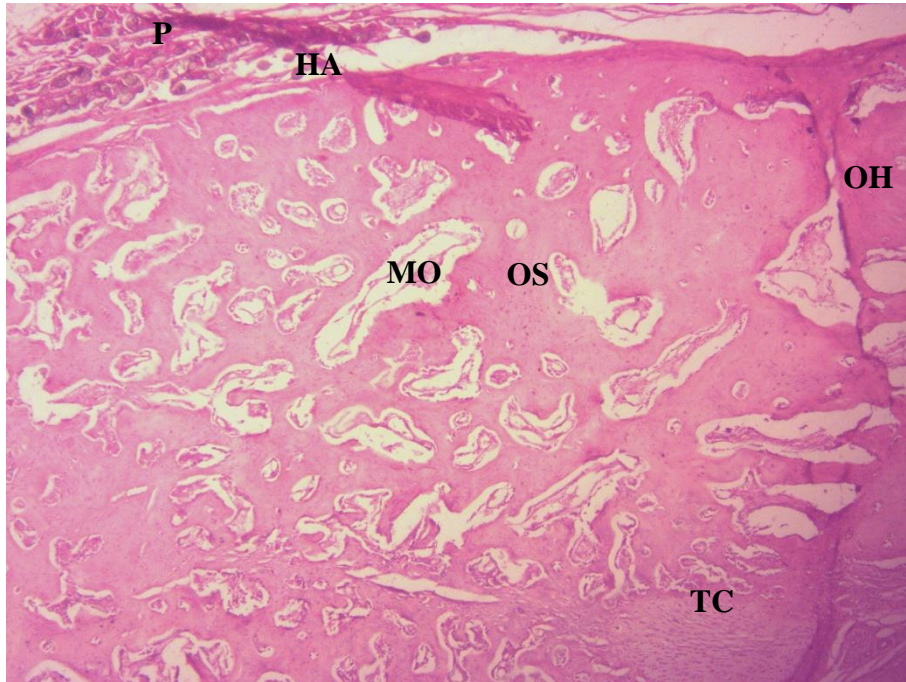


Figure n° 47 : Coupe histologique du tissu osseux nouvellement formé chez le groupe « HA+MO » après 1 mois, montrant une bonne ostéogénèse, une union ostéocondrale, un os spongieux actif avec remplissage de plus de la moitié de ses cavernes avec la moelle osseuse, lapin ; 100X ; H&E ; HA : Hydroxyapatite, MO : Moelle osseuse, OH : Os hôte, OS : Os spongieux formé, P : Périoste, TC : Tissu cartilagineux.

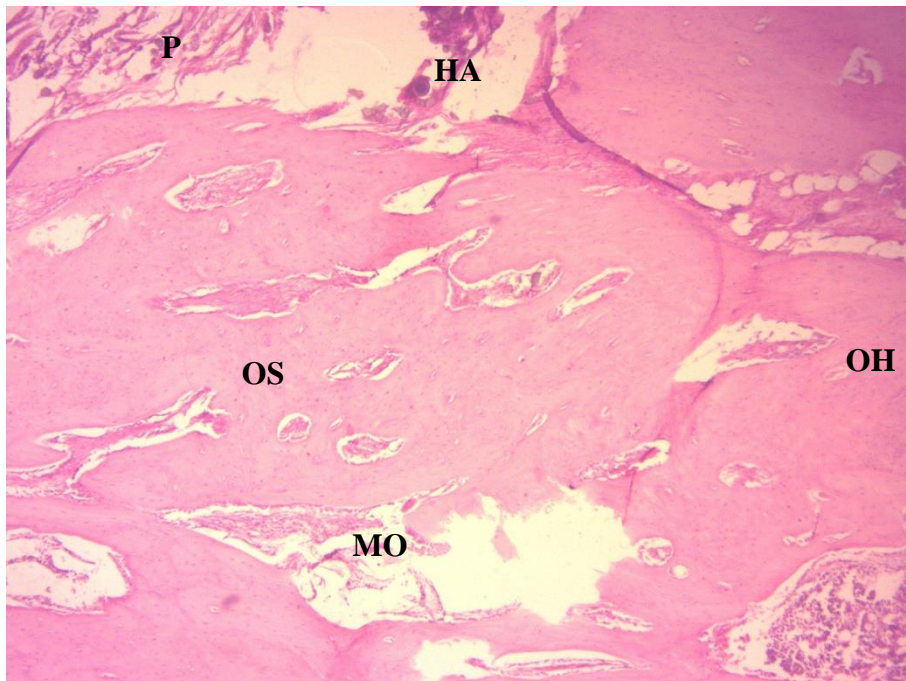


Figure n° 48 : Section histologique chez le groupe « HA » après une durée de 2 mois, montrant un tissu osseux nouvellement formé actif, avec une ostéogénèse moyenne et des cavernes à moitié remplies de moelle osseuse, lapin ; 100X ; H&E ; HA : Hydroxyapatite, MO : Moelle osseuse, OH : Os hôte, OS : Os spongieux formé, P : Périoste

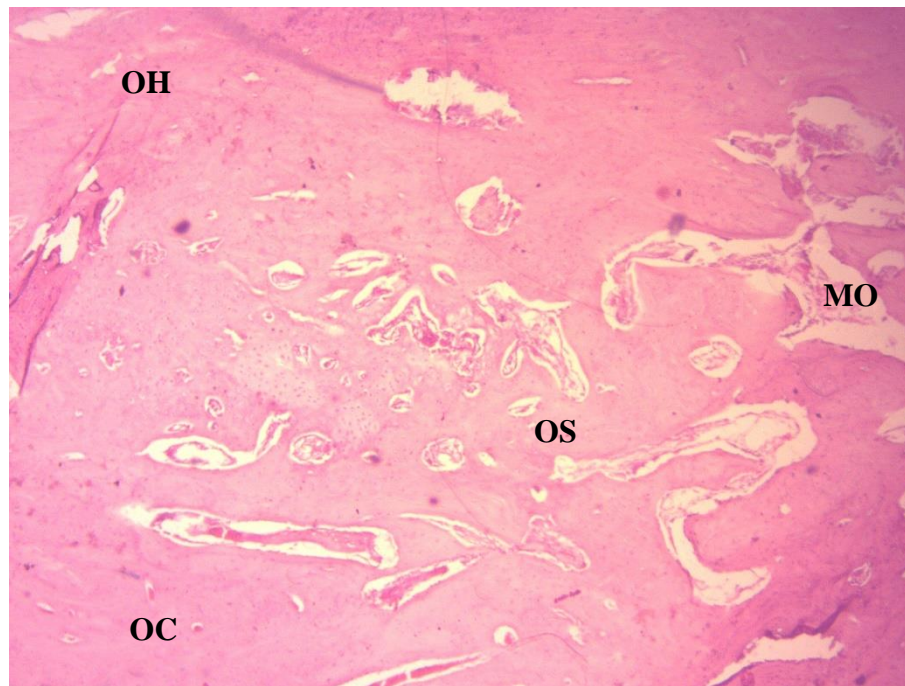


Figure n° 49 : Coupe histologique chez le groupe « HA+MO » après 60 jours, montrant un os spongieux plus réorganisé, complètement colonisé par une moelle osseuse rouge, présentant une activité ostéogénique moyenne, et une transformation plus importante en os compact, lapin ; 100X ; H&E ; MO : Moelle osseuse, OC : Os compact, OH : Os hôte, OS : Os spongieux formé.

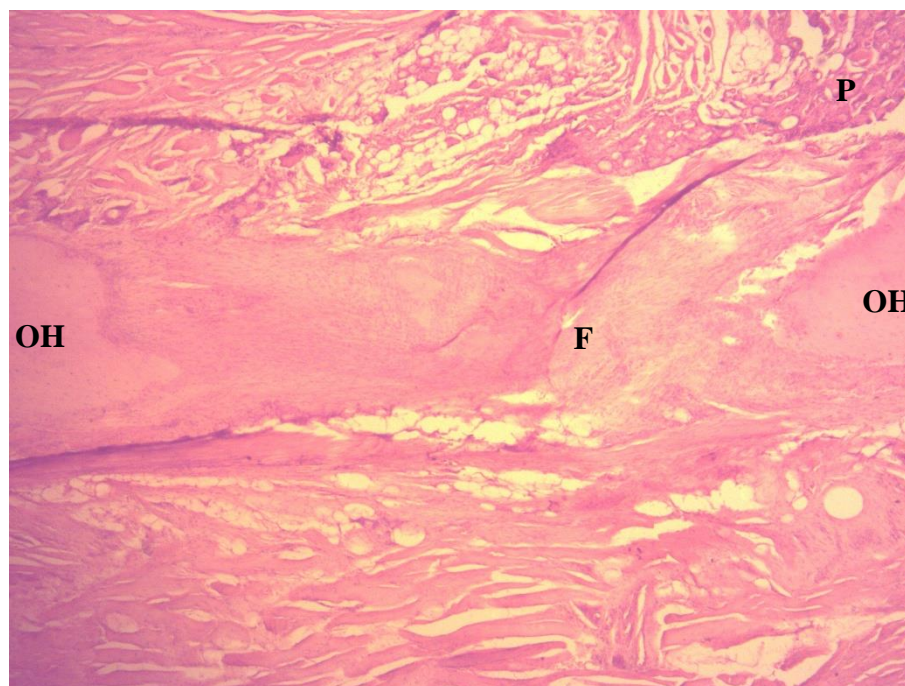


Figure n° 50 : Section histologique chez un sujet du groupe « HA » après une durée de 3 mois, montrant un déficit osseux rempli de tissu fibreux, lapin, 40X, H&E ; F : Tissu fibreux, OH : Os hôte, P : Périoste.

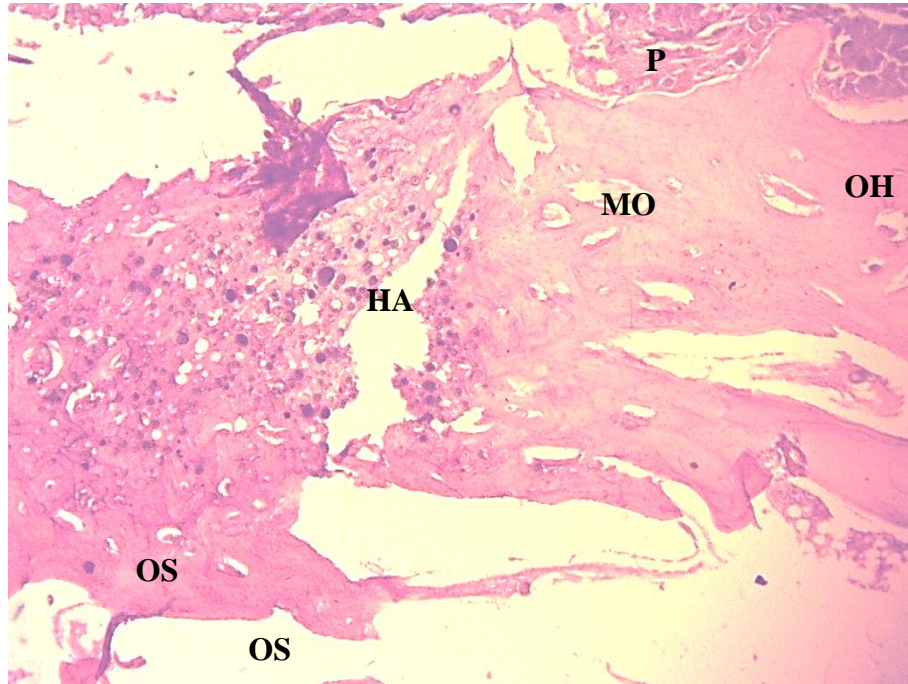


Figure n° 51 : Section histologique chez le groupe « HA » après 3 mois, montrant une ostéogénèse moyenne, un début d'apparition d'os spongieux avec une moelle osseuse immature et en petite quantité, lapin ; 40X ; H&E ; HA : Hydroxyapatite, MO : Moelle osseuse, OH : Os hôte, OS : Os spongieux formé, P : Périoste.

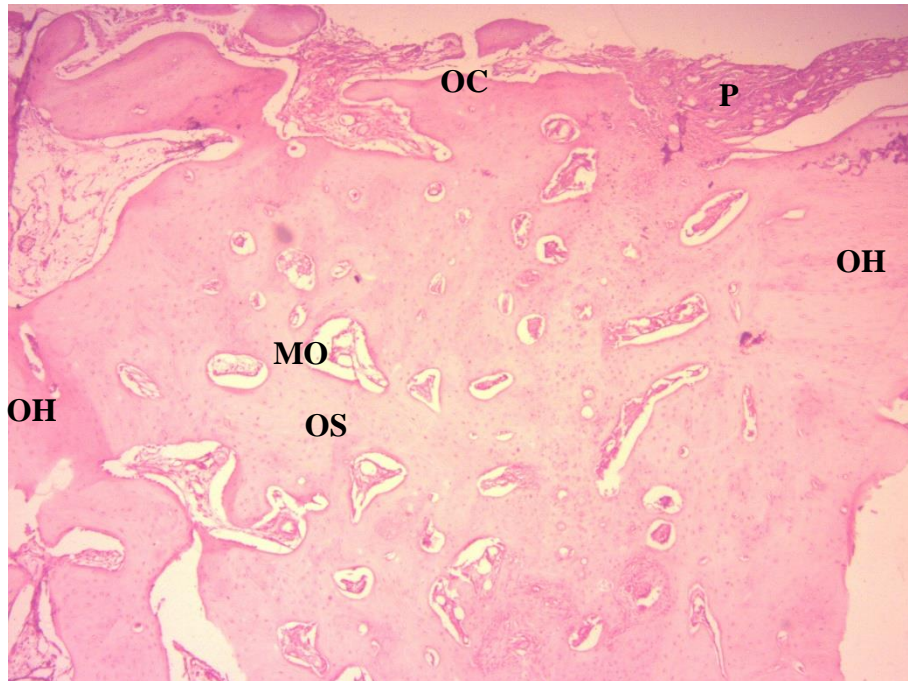


Figure n° 52 : Section histologique du groupe « HA+MO » après une durée de 90 jours, montrant une union osseuse entre le tissu hôte et le tissu spongieux formé, dont l'activité ostéogénique est bonne et les cavernes sont bien remplies de moelle osseuse mature et grasse, lapin ; 100X ; H&E ; MO : Moelle osseuse, OC : Os compact, OH : Os hôte, OS : Os spongieux formé, P : Périoste.

2. Discussion :

Les déficits osseux, accompagnant les fractures ou les résections des lésions osseuses pathologiques, représentent une préoccupation majeure en chirurgie orthopédique. En effet ces dernières sont souvent compliquées en pseudarthroses si le processus de consolidation est interrompu suite à une perte d'intégrité structurale ou par manque d'apport sanguin au niveau du site du déficit. Le succès de la consolidation osseuse dépend principalement de la présence d'une stabilisation mécanique adéquate, de la compétence biologique de l'organisme assurée par les cellules pro-ostéogéniques, des charpentes osseuses qui permettent une croissance osseuse (ostéoconduction), des facteurs de croissances (ostéoinduction) et d'une bonne vascularisation pour permettre un approvisionnement approprié en éléments nutritifs (PORTAL-NUNEZ *et al.*, 2012). La greffe osseuse autologue, principalement récoltée à partir de la crête iliaque du patient et implantée dans le site du déficit, est considéré comme le « gold standard » pour le traitement des déficits osseux et des pseudarthroses (BERNER *et al.*, 2012). Même si cette dernière a fait l'objet de multiples études avec des résultats prometteurs (FRIEDLAENDER, 1987 ; SHAFIEI-SARVESTANI *et al.*, 2009), plusieurs inconvénients associés à son utilisation sont à signaler tels que la morbidité du site donneur et le risque d'infection ainsi que la douleur postopératoire. L'allogreffe, qui représentait à une époque, la meilleure alternative à l'autogreffe, est également de moins en moins utilisée à cause des importants taux de rejets immunitaires et du faible potentiel ostéointégratif liés au processus de sa préparation et de sa conservation (BHATT & ROZENTAL, 2012). Ces faits ont incité les chercheurs à trouver d'autres alternatives aux greffes osseuses naturelles. A ce jour, l'utilisation des minéraux de substitution, des ciments osseux, des facteurs de croissance et des cellules est considérée comme une solution alternative à la transplantation (NOTODIHARDJO *et al.*, 2012).

L'hydroxyapatite, de formule chimique $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, largement acceptée comme un matériel biocompatible vue la similitude entre sa composition et la matrice minérale des os et des dents (HENCH, 1991), a été introduite pour la première fois en clinique dans les années 1980 (PATKA, 1984). Ce matériau a attiré un grand nombre de chercheurs, et a été largement utilisé dans le remplissage des déficits osseux (XIA *et al.*, 2013), et pour l'ingénierie tissulaire osseuse (DOROZHKIN, 2009). Son importance est due en premier lieu à son excellente biocompatibilité, ses propriétés ostéoconductive, la similitude de sa composition avec le composant minéral du tissu osseux (DOROZHKIN, 2009) et sa bonne intégration au déficit osseux (KLINGE *et al.*, 1992). En outre, l'utilisation de céramiques à base d'hydroxyapatite permet d'éviter un bon nombre de problèmes liés à l'autogreffe ou l'allogreffe, tels que la morbidité du site de récolte et la transmission de maladies infectieuses.

En dépit des multiples avantages de l'application des substituts osseux phosphocalciques, plusieurs inconvénients liés à leur utilisation sont à signaler tels que le manque de propriétés mécaniques en relation avec leur structure granuleuse (LIN *et al.*, 2012), la difficulté de leur dégradation en environnement physiologique et enfin l'absence de propriétés ostéoinductives ; nécessaires pour l'induction d'une différenciation ostéogénique des cellules souches et des ostéoblastes (essentielle pour la régénération des grands déficits osseux, la régénération osseuse sénile, et l'ingénierie tissulaire) (LIN *et al.*, 2013 ; ZHANG *et al.*, 2014).

La moelle osseuse qui représente une source potentielle des cellules ostéoprogénitrices, jouant un rôle primordial dans la régénération osseuse, a été largement utilisée dans le traitement des fractures (WEEL *et al.*, 2015 ; HARFORD *et al.*, 2016). Cependant, à notre connaissance, rare sont les études qui l'ont utilisée sous forme d'aspirât dans le traitement des déficits osseux.

Avec l'hypothèse que l'ajout d'un aspirât de moelle osseuse autologue pourrait avoir un effet positif sur la formation osseuse, on a procédé à une comparaison entre le potentiel de consolidation osseuse de deux groupes de lapins traités par une poudre d'hydroxyapatite et sa combinaison avec un aspirât de moelle osseuse autologue, après avoir créé un déficit osseux radial. Ce type de déficit constitue un modèle idéal pour ce genre d'études du moment qu'il ne nécessite pas une fixation interne ou externe, dont la présence constitue une gêne pour le déroulement du processus de consolidation osseuse (AN & FRIEDMAN, 1999).

Dans notre étude, l'inspection du site chirurgical durant les premiers jours postopératoires n'a révélé aucun œdème ou signes apparents d'infection. Ces observations indiquent que le matériel et la technique utilisés pour le remplissage osseux sont biocompatibles. En plus de ça, le seul cas de déhiscence cutanée détecté dans notre étude était le résultat d'une automutilation. Nos résultats sont en concordance avec ceux rapportés par BRANDT *et al.* (2010), KANTHARIA *et al.* (2014) et DUTTA *et al.* (2015).

Dans le groupe contrôle, l'hydroxyapatite a montré une bonne intégration à l'os hôte mais n'a procuré qu'une faible formation osseuse. Des résultats similaires ont été rapportés par LUCHETTI (2014) et ZHOU & LEE (2011) qui ont utilisé une poudre d'hydroxyapatite pour traiter des fractures radiales chez l'homme. De faibles scores radiographiques ont été néanmoins enregistrés en termes de réduction du déficit osseux, ce qui peut être expliqué par la faible différenciation ostéogénique des cellules mésenchymateuses en ostéoblastes dans le déficit osseux, conduisant ainsi à une pauvre nouvelle formation osseuse. Ces résultats confirment donc l'absence d'activité ostéoinductive chez les matériaux phosphocalciques. Par ailleurs, les faibles scores radiographiques de densité observés chez le groupe contrôle peuvent être expliqués par l'incapacité des quelques ostéoblastes, activés durant le faible processus d'ostéogénèse, de synthétiser et de minéraliser suffisamment de matrice osseuse pour remplir le déficit osseux. En outre, les faibles scores obtenus en termes de remodelage dans le groupe témoin, peuvent être expliqués par un processus de réparation incomplet et n'aboutissant pas à cette phase de consolidation osseuse, principalement réalisée par les ostéoclastes. Ces résultats, confirmant l'échec de guérison même après une période de 90 jours, sont similaires à ceux rapportés dans différentes études animales ayant testé les performances de l'hydroxyapatite dans le comblement osseux. En effet, de mauvaises performances ont été signalées par JOHNSON *et al.* (1996) et BRTIDER *et al.* (1998) après utilisation d'implants d'hydroxyapatite chez l'espèce canine. Cet échec de la consolidation osseuse est en accord avec la supposition générale que l'hydroxyapatite ne fournit aucune activité ostéogénique (JARCHO, 1981 ; DEN BOER *et al.*, 2003) et que dans les déficits remplis par l'hydroxyapatite seulement, le processus de consolidation dépend largement des propriétés ostéoconductive de ce matériau. Des résultats semblables ont été rapportés par MOUSSAVI & REZAIE (2011), UDEHIYA *et al.* (2013), BIGHAM-SADEGH *et al.* (2015) et KIM *et al.* (2016).

Plusieurs études ont été réalisées afin d'améliorer les performances des céramiques phosphocalciques. L'ajout de sang total (OHBA *et al.*, 2016), de plasma riche en plaquettes (SHAFIEI-SARVESTANI *et al.*, 2012 ; OHBA *et al.*, 2016) de BMPs (NOTODIHARDJO *et al.*, 2012 ; YAMAMOTO *et al.*, 2015) de collagène (MASAOKA *et al.*, 2016) de cellules mésenchymateuses (DILOGO *et al.*, 2015) et de moelle osseuse (HOGEL *et al.*, 2015 ; GALI *et al.*, 2017) sont parmi les techniques les plus proposées.

A notre connaissance, un rare nombre d'études a utilisé une combinaison d'aspirât de moelle osseuse et d'hydroxyapatite pour traiter les déficits osseux ; la majorité des chercheurs se sont concentrés sur l'utilisation des cellules souches mésenchymateuses et sur d'autres facteurs de croissance. Cependant, la possible coopération entre les différentes cellules de la moelle osseuse dans la réparation tissulaire (URBAN *et al.*, 2008 ; YASUHARA *et al.*, 2010),

suggère qu'un aspirât de moelle osseuse, plutôt que des cellules souches mésenchymateuses purifiées et étendues, soit préférable pour le traitement des déficits osseux. En outre, cette technique permet de court-circuiter et de contourner le processus difficile et chronophage de l'expansion des cellules souches mésenchymateuses, qui doivent être étendues *in vitro* pour plusieurs semaines afin d'atteindre un nombre élevé de cellules permettant une transplantation, ce qui non seulement retarde le traitement mais augmente aussi le coût et les risques de contamination en relation avec la culture cellulaire (GALI *et al.*, 2017).

Dans notre étude, une consolidation osseuse complète a été observée chez le groupe traité par une combinaison d'aspirât de moelle osseuse autologue et de poudre d'hydroxyapatite. La réduction du déficit osseux a commencé précocement ; de sorte qu'après 30 jours, 25 à 50% du déficit osseux était déjà réduite. Cette nouvelle formation osseuse a continué jusqu'à ce que le déficit fût complètement rempli à 90 jours. En plus de ça, la densité osseuse était plus importante que celle observée chez le groupe contrôle. Ces résultats peuvent être expliqués par une importante activité ostéogénique, ce qui a conduit à une synthèse et une minéralisation importante de matrice osseuse pour remplir le déficit osseux. Par ailleurs, les signes précoces de remodelage qui peuvent être expliqués par une activité ostéoclastique ont été déjà évidents à 60 jours et plus importants à 90 jours chez ce groupe ce qui peut être expliqué par une évolution effective du processus de guérison.

De même, la comparaison des scores radiographiques totaux des deux groupes a révélé une différence hautement significative durant toutes les périodes de l'étude. Ces observations confirment donc que l'addition d'un aspirât de moelle osseuse autologue à la poudre d'hydroxyapatite a conduit à une importante amélioration de la consolidation osseuse. Cette dernière est indubitablement due au potentiel ostéogénique de la moelle osseuse, cité pour la première fois par MCGRAW & HARBIN (1934) qui ont utilisé la moelle osseuse comme greffe pour remplir un déficit fibulaire chez les chiens et l'ont comparé avec le déficit non greffé sur le fibula controlatéral. Leurs résultats ont indiqué que le côté greffé avec la moelle osseuse était beaucoup plus rempli d'os que le côté non-greffé. En premier lieu, cet effet bénéfique de la moelle osseuse sur la consolidation peut être attribué aux cellules souches mésenchymateuses ostéogéniques. Secondairement, le caillot associé à la moelle osseuse contient les facteurs de croissance, et les cellules de la moelle osseuse secrètent en elles-mêmes des facteurs inductifs, qui stimulent l'ostéogénèse et activent la conversion des cellules souches mésenchymateuses en ostéoblastes ; considérés comme les principaux acteurs de la consolidation osseuse (DEN BOER *et al.*, 2003). Enfin, la moelle osseuse contient une fraction de cellules mononucléées qui contribue à la fois à la vascularisation et à la cascade de consolidation osseuse (JIANG *et al.*, 2010).

Cette accélération de la guérison est due également, comme rapporté par CHEN *et al.* (2009), au fait que les cellules souches mésenchymateuses sécrètent plusieurs cytokines et chimiokines jouant un rôle important dans la consolidation osseuse tels que le facteur de croissance de l'endothélium vasculaire, le facteur de croissance insuline-like 1, le facteur de croissance épidermale, le facteur de croissance des kératinocytes, l'angiopoïétine 1, les protéines inflammatoires alpha-1 des macrophages et l'érythropoïétine.

Nos résultats sont en concordance avec ceux rapportés par DEN BOER *et al.* (2003) qui ont utilisé un aspirât de moelle osseuse autologue en combinaison avec des granules d'hydroxyapatite sur des fractures tibiales chez l'espèce ovine, et à ceux de YASUHARA *et al.* (2010) qui ont utilisé une combinaison de moelle osseuse et de rh-BMP7 pour le traitement d'un déficit fémoral chez le lapin. Finalement, nos observations sont en accordance avec ceux obtenus par SAAD *et al.* (2015) qui ont utilisé des cellules souches mésenchymateuses

implantées sur des granules de β -TCP pour le traitement des déficits mandibulaires chez le lapin.

Les résultats de notre étude histo-pathologique compliment ceux de l'étude radiographique. Effectivement, nos observations ont révélé une bonne biocompatibilité du matériel utilisé dans le comblement osseux, vu qu'aucune réaction inflammatoire n'a été décelée dans les sections histo-pathologiques des deux groupes. Ces résultats confirment ceux obtenus dans plusieurs études utilisant des substituts osseux phosphocalciques (SPIES *et al.*, 2009 ; BRANDT *et al.*, 2010 ; ALT *et al.*, 2016).

Nos résultats histo-pathologiques indiquent également que le processus de régénération osseuse a démarré de façon précoce dans le groupe traité par combinaison d'aspirât de moelle osseuse autologue et d'hydroxyapatite, vu que la majorité du tissu était formée prématurément et en grande quantité depuis le début. Tandis que, chez le groupe témoin, même si le tissu osseux formé a montré une augmentation graduelle en volume dans le temps, nos observations histo-pathologiques ont révélé qu'il a été développé de manière tardive par rapport à l'autre groupe. Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par KON *et al.* (2000). De même, une union fibreuse était observée dans certaines sections histologiques du groupe témoin même durant l'évaluation tardive à 3 mois, suggérant un échec de la consolidation osseuse. Cependant, chez le deuxième groupe, l'union était ostéocondrale au début puis osseuse dans les coupes histologiques réalisées après 90 jours. Ces résultats sont en accord avec ceux de SUNUNLIGANON *et al.* (2014) et SAAD *et al.* (2015).

En outre, l'activité ostéogénique du tissu osseux nouvellement formé était toujours faible chez le groupe témoin par rapport au deuxième groupe, ce qui s'est traduit sur les coupes histologiques, réalisées à 3 mois, par un os spongieux avec de petites cavernes et avec une faible quantité de moelle osseuse immature chez le groupe témoin par rapport à des cavernes larges et remplies de moelle osseuse mature et grasse chez le deuxième groupe. Ceci peut être expliqué par le fait que les cellules souches mésenchymateuses de la moelle osseuse, et grâce aux différents facteurs de croissance qu'elle contient, ont été transformées en nombre important de chondroblastes et d'ostéoblastes permettant ainsi une meilleure consolidation, alors que dans le groupe témoin, le nombre d'ostéoblastes était petit et insuffisant du moment qu'il provenait du périoste uniquement. Nos résultats sont en concordance avec ceux rapportés par YAMAMOTO *et al.* (2015).

On a également noté la présence des granules d'hydroxyapatite dans les sections histologiques du groupe témoin par rapport à leur disparition presque complète chez le deuxième groupe après une durée de 90 jours. Ceci peut être expliqué par une minéralisation précoce du tissu spongieux formé par conversion des ostéoblastes en ostéocytes et relargage des ions Ca de l'hydroxyapatite dans la matrice osseuse formée, tandis que le groupe témoin, et vu l'absence d'un nombre suffisant de cellules, est resté au stade d'union ostéocondrale (ou fibreuse même chez certains individus). Des résultats similaires ont été obtenus par BRANDT *et al.* (2010) et ALT *et al.* (2016). UDEHIYA *et al.* (2013) ont également obtenu des résultats semblables après utilisation de combinaison de poudre d'hydroxyapatite à des cellules souches mésenchymateuses autogéniques et allogéniques pour le traitement d'un déficit osseux radial.

Les signes de remodelage étaient presque absents chez le groupe témoin puisqu'une faible formation d'os compact a été décelée chez certains individus, cependant, les bords du tissu spongieux formé dans le deuxième groupe ont présenté un début de transformation en os compact ce qui peut être expliqué par une activation des ostéoclastes. Ces observations sont similaires à ceux rapportées par UDEHIYA *et al.* (2013).

Enfin, nous avons remarqué que le tissu spongieux formé a causé une synostose entre les diaphyses du radius et de l'ulna. Cette observation qu'on a confirmée après examen des sections histologiques, n'a pas été citée dans les recherches ultérieures. Nous n'avons pas trouvé d'explication à ce phénomène, cependant, il est possible que cette synostose soit causée par une participation du périoste de l'ulna dans le processus de consolidation osseuse radiale.

**CONCLUSION
ET
RECOMMANDATIONS**

IV. Conclusion et recommandations :

1. Conclusion :

L'étude comparative entre la substitution osseuse à base d'hydroxyapatite et sa combinaison avec la moelle osseuse a démontré l'efficacité du substitut osseux biosynthétique proposé par rapport à la poudre d'hydroxyapatite. La technique de comblement osseux utilisée dans cette étude est facile, reproductible et également biocompatible.

Le lapin représente le modèle animal le plus utilisé pour des recherches musculo-squelettiques. Vue la facilité de sa réalisation chez cette espèce, le déficit osseux radial est l'un des modèles les plus proposés pour des études de comblement osseux. De même, cette technique permet d'éviter l'utilisation de tout dispositif de fixation interne ou externe pour l'immobilisation du membre opéré, assurant ainsi une meilleure étude du processus de consolidation osseuse.

L'hydroxyapatite, grâce à ses différentes qualités, est un matériau phosphocalcique largement utilisé de nos jours. La similitude structurale à la fraction minérale de l'os fait de ce substitut osseux le premier matériau choisi parmi les autres moyens de comblement osseux. Cependant, il est impératif de rappeler que l'absence de propriétés ostéoinductives chez l'hydroxyapatite limite son utilisation pour le traitement des déficits osseux segmentaires et des pseudarthroses.

L'aspiration de moelle osseuse à partir de la crête iliaque est une procédure courante, sans difficulté ou morbidité, réalisable au moment de l'opération même et permet d'obtenir une quantité adéquate pour effectuer une greffe spongieuse. Néanmoins, la vive douleur ressentie au cours de cette procédure nécessite le recours à de forts antalgiques pour éviter tout inconfort de l'animal opéré. L'utilisation de moelle osseuse sous forme d'aspirât permet également de réduire le coût de l'intervention, d'éviter le processus chronophage d'isolement et de purification des cellules souches mésenchymateuses et réduit considérablement les risques de transmission des maladies liés à la possible contamination des cultures cellulaires.

Les études radiographiques et histo-pathologiques effectuées après des durées de 30, 60 et 90 jours ont démontré que la moelle osseuse a fourni les cellules souches mésenchymateuses et les facteurs de croissance indispensables pour le traitement du déficit osseux. En effet ces cellules se sont transformées en ostéoblastes actifs et capables de synthétiser une matrice osseuse suffisante pour combler la perte osseuse provoquée durant cette expérimentation.

Il est donc possible de conclure que la technique proposée dans cette étude représente une bonne stratégie de traitement des déficits osseux et des pseudarthroses. En effet, ce substitut osseux biosynthétique est biocompatible, non coûteux, sans risque de morbidité, facile à préparer et n'allonge donc pas le temps opératoire.

2. Recommandations :

- Tester l'efficacité de ce substitut osseux biosynthétique chez les autres espèces animales afin de pouvoir extrapoler les résultats à l'être humain ;
- Utiliser d'autres matériaux de substitution osseuse en combinaison avec un aspirât de moelle osseuse autologue et comparer les résultats obtenus avec ceux de la présente étude afin de choisir le meilleur substitut osseux biosynthétique ;
- Effectuer un comblement osseux avec ce substitut chez des animaux ostéoporotiques afin d'élargir ses applications thérapeutiques ;
- Réaliser une étude de substitution osseuse sur d'autres os tels que l'humérus ou le fémur, afin d'explorer les possibilités de combinaison de cette technique avec un moyen de fixation interne ou externe ;
- Réaliser un comblement osseux avec des combinaisons d'hydroxyapatite à des moelles osseuses autologues, hétérologues et xénologues et comparer les résultats afin d'explorer les possibilités de traitement chez les individus atteints d'aplasies médullaires.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques :

1. ABBOTT, L. C., SCHOTTSTAEDT, E. R. & ET AL. 1947. The evaluation of cortical and cancellous bone as grafting material; a clinical and experimental study. *J Bone Joint Surg Am*, 29, 381-414.
2. ADAMS, J. C. 1978. Outline of fractures 7th ed. Edinburgh, *F&S Livingstone*, 4-8.
3. AHN, D. K., CHOI, D. J., LEE, S., KIM, K. S., KIM, T. W. & CHUN T. H. 2009. Spinal cord injury caused by bone cement after percutaneous vertebroplasty-one case of longterm follow-up and the result of delayed removal, *J. Korean Orthop. Assoc.*44, 386-390.
4. ALBEE, F. H. 1920. Studies in Bone Growth: Triple Calcium Phosphate as a Stimulus to Osteogenesis. *Ann Surg*, 71, 32-9.
5. ALIVISATOS, A. P. 2000. Biomineralization. Naturally aligned nanocrystals. *Science*, 289, 736-7.
6. ALKHIARY, Y. M., GERSTENFELD, L. C., KRALL, E., WESTMORE, M., SATO, M., MITLAK, B. H. & EINHORN, T. A. 2005. Enhancement of experimental fracture-healing by systemic administration of recombinant human parathyroid hormone (PTH 1-34). *J Bone Joint Surg Am*, 87, 731-41.
7. ALKHRAISAT, M. H., RUEDA, C., JEREZ, L. B., TAMIMI MARINO, F., TORRES, J., GBURECK, U. & LOPEZ CABARCOS, E. 2010. Effect of silica gel on the cohesion, properties and biological performance of brushite cement. *Acta Biomater*, 6, 257-65.
8. ALLGÖWER, M. 1985. Scientific basis of "aggressive traumatology" in lesions of the locomotor system. *Am J Surg*, 155, 537-9.
9. ALSOUSOU, J., THOMPSON, M., HULLEY, P., NOBLE, A. & WILLETT, K. 2009. The biology of platelet-rich plasma and its application in trauma and orthopaedic surgery: a review of the literature. *J Bone Joint Surg Br*, 91, 987-96.
10. ALT, V., CHEUNG, W. H., CHOW, S. K., THORMANN, U., CHEUNG, E. N., LIPS, K. S., SCHNETTLER, R. & LEUNG, K. S. 2016. Bone formation and degradation behavior of nanocrystalline hydroxyapatite with or without collagen-type 1 in osteoporotic bone defects - an experimental study in osteoporotic goats. *Injury*, 47 Suppl 2, S58-65.
11. AN, Y. H., & FRIEDMAN, R. J. 1999. Animal models in orthopedic research. *CRC Press Inc.*, Boca Raton, Florida.
12. ASPENBERG, P. & JOHANSSON, T. 2010. Teriparatide improves early callus formation in distal radial fractures. *Acta Orthop*, 81, 234-6.
13. ASPENBERG, P., GENANT, H. K., JOHANSSON, T., NINO, A. J., SEE, K., KROHN, K., GARCIA-HERNANDEZ, P. A., RECKNOR, C. P., EINHORN, T. A., DALSKY, G. P., MITLAK, B. H., FIERLINGER, A. & LAKSHMANAN, M. C. 2010. Teriparatide for acceleration of fracture repair in humans: a prospective, randomized, double-blind study of 102 postmenopausal women with distal radial fractures. *J Bone Miner Res*, 25, 404-14.
14. ASPENBERG, P., MALOUF, J., TARANTINO, U., GARCIA-HERNANDEZ, P. A., CORRADINI, C., OVERGAARD, S., STEPAN, J. J., BORRIS, L., LESPESSAILLES, E., FRIHAGEN, F., PAPAVALIIOU, K., PETTO, H., CAEIRO, J. R. & MARIN, F. 2016. Effects of Teriparatide Compared with Risedronate on Recovery After Pertrochanteric Hip Fracture: Results of a Randomized, Active-Controlled, Double-Blind Clinical Trial at 26 Weeks. *J Bone Joint Surg Am*, 98, 1868-1878.
15. AUER, J. A. 2012. Principles of fracture treatment. In : AUER, J. A. & STICK J. A. ed. *Equine surgery (third edition)*. Elsevier Inc. S1000-1029.

16. AZENHA, M. R., DE LACERDA, S. A., MARAO, H. F., FILHO, O. P. & FILHO, O. M. 2015. Evaluation of Crystallized Biosilicate in the Reconstruction of Calvarial Defects. *J Maxillofac Oral Surg*, 14, 659-65.
17. BABU, S., SANDIFORD, N. A. & VRAHAS, M. 2015. Use of Teriparatide to improve fracture healing: What is the evidence? *World J Orthop*, 6, 457-61.
18. BAI, F., WANG, Z., LU, J., LIU, J., CHEN, G., LU, R., WANG, J., LIN, K., ZHANG, J. & HUANG, X. 2010. The correlation between the internal structure and vascularization of controllable porous bioceramic materials in vivo: a quantitative study, *Tissue Eng. Part A* 16, 3791-3803.
19. BARRERE, F., VAN BLITTERSWIJK, C. A. & DE GROOT, K. 2006. Bone regeneration: molecular and cellular interactions with calcium phosphate ceramics. *Int J Nanomedicine*, 1, 317-32.
20. BAYLISS, L., MAHONEY, D. J. & MONK P. 2011. Normal bone physiology, remodelling and its hormonal regulation. *Surgery*, 30 Suppl 2, S47-53.
21. BELTHUR, M. V., CONWAY, J. D., JINDAL, G., RANADE, A. & HERZENBERG, J. E. 2008. Bone graft harvest using a new intramedullary system. *Clin Orthop Relat Res*, 466, 2973-80.
22. BENBOW, J. & BRIDGWATER, J. 1993. Paste Flow and Extrusion. Oxford.
23. BERNER, A., REICHERT, J. C., MULLER, M. B., ZELLNER, J., PFEIFER, C., DIENSTKNECHT, T., NERLICH, M., SOMMERVILLE, S., DICKINSON, I. C., SCHUTZ, M. A. & FUCHTMEIER, B. 2012. Treatment of long bone defects and pseudarthroses: from research to clinical practice. *Cell Tissue Res*, 347, 501-19.
24. BHATT, R. A. & ROZENTAL, T. D. 2012. Bone graft substitutes. *Hand Clin*, 28, 457-68.
25. BIGHAM-SADEGH, A., KARIMI, I., SHADKHAST, M. & MAHDAVI, M. H. 2015. Hydroxyapatite and demineralized calf fetal growth plate effects on bone healing in rabbit model. *J Orthop Traumatol*, 16, 141-9.
26. BLOKHUIS, T. J., TERMAAT, M. F., DEN BOER, F. C., PATKA, P., BAKKER, F. C. & HAARMAN, H. J. 2000. Properties of calcium phosphate ceramics in relation to their in vivo behavior. *J Trauma*, 48, 179-86.
27. BOHNER, M. & BAROUD, G. 2005. Injectability of calcium phosphate pastes. *Biomaterials*, 26, 1553-63.
28. BOHNER, M. 2001. Physical and chemical aspects of calcium phosphates used in spinal surgery. *Eur Spine J*, 10 Suppl 2, S114-21.
29. BORAIAH, S., PAUL, O., HAWKES, D., WICKHAM, M. & LORICH, D. G. 2009. Complications of recombinant human BMP-2 for treating complex tibial plateau fractures: a preliminary report. *Clin Orthop Relat Res*, 467, 3257-62.
30. BOYCE, T., EDWARDS, J. & SCARBOROUGH, N. 1999. Allograft bone. The influence of processing on safety and performance. *Orthop Clin North Am*, 30, 571-81.
31. BRANDT, J., HENNING, S., MICHLER, G., HEIN, W., BERNSTEIN, A. & SCHULZ, M. 2010. Nanocrystalline hydroxyapatite for bone repair: an animal study. *J Mater Sci Mater Med*, 21, 283-94.
32. BRIGHTON, C. T., SCHAFFER, J. L., SHAPIRO, D. B., TANG, J. J. & CLARK, C. C. 1991. Proliferation and macromolecular synthesis by rat calvarial bone cells grown in various oxygen tensions. *J Orthop Res*, 9, 847-54.
33. BRINKER, C.J. & SCHERER, G.W. 2013. Sol-gel science: the physics and chemistry of solgel processing, Academic press.

34. BRINKER, W. O. 1975. Fractures. In : ARCHIBALD, J. ed. *Canine surgery 2nd ed*, Santa Barbara, California, American Veterinary Publications, S957-1048.
35. BROWN, W. & CHOW, L. 1983. A new calcium-phosphate setting cement, *J. Dent. Res.* 62, 672-672.
36. BRUDER, S. P. & FOX, B. S. 1999. Tissue engineering of bone. Cell based strategies. *Clin Orthop Relat Res*, S68-83.
37. BRUDER, S. P., KRAUS, K. H., GOLDBERG, V. M. & KADIYALA, S. 1998. The effect of implants loaded with autologous mesenchymal stem cells on the healing of canine segmental bone defects. *J Bone Joint Surg Am*, 80, 985-96.
38. BUCHANAN, F. J. 2008. Degradation Rate of Bioresorbable Materials: Prediction and Evaluation, Elsevier.
39. BUCHOLZ, R. W., CARLTON, A. & HOLMES, R. E. 1987. Hydroxyapatite and tricalcium phosphate bone graft substitutes. *Orthop Clin North Am*, 18, 323-34.
40. BURCHARDT, H. 1987. Biology of bone transplantation. *Orthop Clin North Am*, 18, 187-96.
41. BURKUS, J. K., SANDHU, H. S., GORNET, M. F. & LONGLEY, M. C. 2005. Use of rhBMP-2 in combination with structural cortical allografts: clinical and radiographic outcomes in anterior lumbar spinal surgery. *J Bone Joint Surg Am*, 87, 1205-12.
42. CALORI, G. M., TAGLIABUE, L., GALA, L., D'IMPORZANO, M., PERETTI, G. & ALBISETTI, W. 2008. Application of rhBMP-7 and platelet-rich plasma in the treatment of long bone pseudarthroses: a prospective randomised clinical study on 120 patients. *Injury*, 39, 1391-402.
43. CARSON, J. S. & BOSTROM, M. P. 2007. Synthetic bone scaffolds and fracture repair. *Injury*, 38 Suppl 1, S33-7.
44. CASTANEDA, S., LARGO, R., CALVO, E., RODRIGUEZ-SALVANES, F., MARCOS, M. E., DIAZ-CURIEL, M. & HERRERO-BEAUMONT, G. 2006. Bone mineral measurements of subchondral and trabecular bone in healthy and osteoporotic rabbits. *Skeletal Radiol*, 35, 34-41.
45. CAUWENBERGE, H. V., HAUZEUR, J. P. & GILLET, P. H. 2007. Actualités dans le traitement des pseudarthroses aseptiques. *Rev Med Liège*, 62, 344-351.
46. CHAO, E. Y., INOUE, N., ELIAS, J. J. & ARO, H. 1998. Enhancement of fracture healing by mechanical and surgical intervention. *Clin Orthop Relat Res*, S163-78.
47. CHAPMAN, M. W., BUCHOLZ, R. & CORNELL, C. 1997. Treatment of acute fractures with a collagen-calcium phosphate graft material. A randomized clinical trial. *J Bone Joint Surg Am*, 79, 495-502.
48. CHARNLEY, J. 2012. Low Friction Arthroplasty of the Hip: Theory and Practice, Springer Science & Business Media.
49. CHEN, W. J., HUANG, J. W., NIU, C. C., CHEN, L. H., YUAN, L. J., LAI, P. L., YANG, C. Y. & LIN, S. S. 2009. Use of fluorescence labeled mesenchymal stem cells in pluronic F127 and porous hydroxyapatite as a bone substitute for posterolateral spinal fusion. *J Orthop Res*, 27 Suppl 12, 1631-6.
50. CHEN, W. J., JINGUSHI, S., AOYAMA, I., ANZAI, J., HIRATA, G., TAMURA, M. & IWAMOTO, Y. 2004. Effects of FGF-2 on metaphyseal fracture repair in rabbit tibiae. *J Bone Miner Metab*, 22, 303-9.
51. CHEN, Y., WANG, J., ZHU, X. D., TANG, Z. R., YANG, X., TAN, Y. F., FAN, Y. J. & ZHANG, X. D. 2015. Enhanced effect of beta-tricalcium phosphate phase on neovascularization of porous calcium phosphate ceramics: in vitro and in vivo evidence. *Acta Biomater*, 11, 435-48.

52. CHIARELLO, E., CADOSSO, M., TEDESCO, G., CAPRA, P., CALAMELLI, C., SHEHU, A. & GIANNINI, S. 2013. Autograft, allograft and bone substitutes in reconstructive orthopedic surgery. *Aging Clin Exp Res*, 25 Suppl 1, S101-3.
53. CHU, T. M. G., LEU, M. C., ROBU, I. S., LIU, W. -C. & VALEZ, M. 2013. Effects of Bioactive Glass Scaffold and BMP-2 in Segmental Defects.
54. CRAIG, L. E., DITTMER, K. E. & THOMPSON, K. G. 2016. Bones and joints. In : JUBB, K. V. F., KENNEDY, P. C. & PALMER, N. C. ed. *Pathology of domestic animals, 6th edition*. Elsevier, Inc, S17-146.
55. COLLIN-OSDOBY, P., ROTHE, L., BEKKER, S., ANDERSON, F., HUANG, Y. & OSDOBY, P. 2002. Basic fibroblast growth factor stimulates osteoclast recruitment, development, and bone pit resorption in association with angiogenesis in vivo on the chick chorioallantoic membrane and activates isolated avian osteoclast resorption in vitro. *J Bone Miner Res*, 17, 1859-71.
56. COURVOISIER, A., SAILHAN, F., LAFFENETRE, O. & OBERT, L. 2014. Bone morphogenetic protein and orthopaedic surgery: can we legitimate its off-label use? *Int Orthop*, 38, 2601-5.
57. COUSSOT, P. & ANCEY, C. 1999. Rheophysical classification of concentrated suspensions and granular pastes, *Phys. Rev. E*, 59, 4445.
58. COUTU, D. L., FRANCOIS, M. & GALIPEAU, J. 2011. Inhibition of cellular senescence by developmentally regulated FGF receptors in mesenchymal stem cells. *Blood*, 117, 6801-12.
59. COWAN, C. M., AGHALOO, T., CHOU, Y. F., WALDER, B., ZHANG, X., SOO, C., TING, K. & WU, B. 2007. MicroCT evaluation of three-dimensional mineralization in response to BMP-2 doses in vitro and in critical sized rat calvarial defects. *Tissue Eng*, 13, 501-12.
60. CRUMLISH, P. T., SWEENEY, T., JONES, B. & ANGLES, J. M. 2006. Hypertrophic osteodystrophy in the Weimaraner dog: lack of association between DQA1 alleles of the canine MHC and hypertrophic osteodystrophy. *Vet J*, 171, 308-13.
61. CYPHER, T. J. & GROSSMAN, J. P. 1996. Biological principles of bone graft healing. *J Foot Ankle Surg*, 35, 413-7.
62. D'IPPOLITO, G., SCHILLER, P. C., RICORDI, C., ROOS, B. A. & HOWARD, G. A. 1999. Age-related osteogenic potential of mesenchymal stromal stem cells from human vertebral bone marrow. *J Bone Miner Res*, 14, 1115-22.
63. DACULSI, G., LEGEROS, R. Z., NERY, E., LYNCH, K. & KEREDEL, B. 1989. Transformation of biphasic calcium phosphate ceramics in vivo: ultrastructural and physicochemical characterization. *J Biomed Mater Res*, 23, 883-94.
64. DANIEL MARK, F., JAMES MIN-LEONG, W., CONOR, C. & KHAN, W. S. 2013. Preclinical and clinical studies on the use of growth factors for bone repair: a systematic review, *Curr. Stem Cell Res. Ther.* 8, 260-268.
65. DE LONG, W. G., JR., EINHORN, T. A., KOVAL, K., MCKEE, M., SMITH, W., SANDERS, R. & WATSON, T. 2007. Bone grafts and bone graft substitutes in orthopaedic trauma surgery. A critical analysis. *J Bone Joint Surg Am*, 89, 649-58.
66. DECAMP, C. E., JOHNSTON, S. A., DÉJARDIN, L. M. & SCHAEFER, S. L. 2016. Fractures: Classification, diagnosis, and treatment. In : BRINKER, W. O., PIERMATTEI, D. L. & FLO, G. L. ed. *Handbook of Small Animal Orthopedics and Fracture Repair 5th ed.* Elsevier, S25-160.
67. DEN BOER, F. C., WIPPERMANN, B. W., BLOKHUIS, T. J., PATKA, P., BAKKER, F. C. & HAARMAN, H. J. 2003. Healing of segmental bone defects with granular porous

- hydroxyapatite augmented with recombinant human osteogenic protein-1 or autologous bone marrow. *J Orthop Res*, 21, 521-8.
68. DI MARCO, G. S., KONIG, M., STOCK, C., WIESINGER, A., HILLEBRAND, U., REIERMANN, S., REUTER, S., AMLER, S., KOHLER, G., BUCK, F., FOBKER, M., KUMPERS, P., OBERLEITHNER, H., HAUSBERG, M., LANG, D., PAVENSTADT, H. & BRAND, M. 2013. High phosphate directly affects endothelial function by downregulating annexin II. *Kidney Int*, 83, 213-22.
69. DILOGO, I. H., KAMAL, A. F., GUNAWAN, B. & RAWUNG, R. V. 2015. Autologous mesenchymal stem cell (MSCs) transplantation for critical-sized bone defect following a wide excision of osteofibrous dysplasia. *Int J Surg Case Rep*, 17, 106-11.
70. DIMAR, J. R., GLASSMAN, S. D., BURKUS, K. J. & CARREON, L. Y. 2006. Clinical outcomes and fusion success at 2 years of single-level instrumented posterolateral fusions with recombinant human bone morphogenetic protein-2/compression resistant matrix versus iliac crest bone graft. *Spine (Phila Pa 1976)*, 31, 2534-9; discussion 2540.
71. DIMITRIOU, R., MATALIOTAKIS, G. I., ANGOULES, A. G., KANAKARIS, N. K. & GIANNOUDIS, P. V. 2011. Complications following autologous bone graft harvesting from the iliac crest and using the RIA: a systematic review. *Injury*, 42 Suppl 2, S3-15.
72. DIMITRIOU, R., TSIRIDIS, E. & GIANNOUDIS, P. V. 2005. Current concepts of molecular aspects of bone healing. *Injury*, 36, 1392-404.
73. DONON, I. 1984. Studies on the Antigenicity of Bone.
74. DOROZHKIN, S. V. 2010. Nanosized and nanocrystalline calcium orthophosphates. *Acta Biomater*, 6, 715-34.
75. DOROZHKIN, S., 2009. Nanodimensional and nanocrystalline apatites and other calcium orthophosphates in biomedical engineering, biology and medicine. *Materials* 2, 1975–2045.
76. DU, X., XIE, Y., XIAN, C. J. & CHEN, L. 2012. Role of FGFs/FGFRs in skeletal development and bone regeneration. *J Cell Physiol*, 227, 3731-43.
77. DUBOK, V.A. 2000. Bioceramics - yesterday, today, tomorrow, *Powder Metal Ceram*, 39, 381-394.
78. DUTTA, S. R., PASSI, D., SINGH, P. & BHUIBHAR, A. 2015. Ceramic and non-ceramic hydroxyapatite as a bone graft material: a brief review. *Ir J Med Sci*, 184, 101-6.
79. ECKARDT, H., BUNDGAARD, K. G., CHRISTENSEN, K. S., LIND, M., HANSEN, E. S. & HVID, I. 2003. Effects of locally applied vascular endothelial growth factor (VEGF) and VEGF-inhibitor to the rabbit tibia during distraction osteogenesis. *J Orthop Res*, 21, 335-40.
80. ECKARDT, H., DING, M., LIND, M., HANSEN, E. S., CHRISTENSEN, K. S. & HVID, I. 2005. Recombinant human vascular endothelial growth factor enhances bone healing in an experimental nonunion model. *J Bone Joint Surg Br*, 87, 1434-8.
81. EGGLI, P. S., MULLER, W. & SCHENK, R. K. 1988. Porous hydroxyapatite and tricalcium phosphate cylinders with two different pore size ranges implanted in the cancellous bone of rabbits. A comparative histomorphometric and histologic study of bony ingrowth and implant substitution. *Clin Orthop Relat Res*, 127-38.
82. EINHORN, T. A. & GERSTENFELD, L. C. 2015. Fracture healing: mechanisms and interventions. *Nat Rev Rheumatol*, 11, 45-54.
83. EINHORN, T. A. 1998. The cell and molecular biology of fracture healing. *Clin Orthop Relat Res*, S7-21.
84. EINHORN, T. A. 2005. The science of fracture healing. *J Orthop Trauma*, 19, S4-6.

85. EKROL, I., HAJDUCKA, C., COURT-BROWN, C. & MCQUEEN, M. M. 2008. A comparison of RhBMP-7 (OP-1) and autogenous graft for metaphyseal defects after osteotomy of the distal radius. *Injury*, 39 Suppl 2, S73-82.
86. ELLEGAARD, M., JORGENSEN, N. R. & SCHWARZ, P. 2010. Parathyroid hormone and bone healing. *Calcif Tissue Int*, 87, 1-13.
87. FARESE, J. P., KIRPENSTEIJN, J., KIK, M., BACON, N. J., WALTMAN, S. S., SEGUIN, B., KENT, M., LIPTAK, J., STRAW, R., CHANG, M. N., JIANG, Y. & WITHROW, S. J. 2009. Biologic behavior and clinical outcome of 25 dogs with canine appendicular chondrosarcoma treated by amputation: a Veterinary Society of Surgical Oncology retrospective study. *Vet Surg*, 38, 914-9.
88. FEI, Y., GRONOWICZ, G. & HURLEY, M. M. 2013. Fibroblast growth factor-2, bone homeostasis and fracture repair. *Curr Pharm Des*, 19, 3354-63.
89. FINKEMEIER, C. G. 2002. Bone-grafting and bone-graft substitutes. *J Bone Joint Surg Am*, 84-A, 454-64.
90. FLYNN, J. 2011. Fracture Repair and Bone Grafting, OKU 10: *Orthopaedic Knowledge Update*, 11-21.
91. FRANTZEN, J., RANTAKOKKO, J., ARO, H. T., HEINANEN, J., KAJANDER, S., GULLICHSEN, E., KOTILAINEN, E. & LINDFORS, N. C. 2011. Instrumented spondylodesis in degenerative spondylolisthesis with bioactive glass and autologous bone: a prospective 11-year follow-up. *J Spinal Disord Tech*, 24, 455-61.
92. FRIEDLAENDER, G. E. 1987. Bone grafts. The basic science rationale for clinical applications. *J Bone Joint Surg Am*, 69, 786-90.
93. FRIEDLAENDER, G. E., PERRY, C. R., COLE, J. D., COOK, S. D., CIERNY, G., MUSCHLER, G. F., ZYCH, G. A., CALHOUN, J. H., LAFORTE, A. J. & YIN, S. 2001. Osteogenic protein-1 (bone morphogenetic protein-7) in the treatment of tibial nonunions. *J Bone Joint Surg Am*, 83-A Suppl 1, S151-8.
94. GAASBEEK, R. D., TOONEN, H. G., VAN HEERWAARDEN, R. J. & BUMA, P. 2005. Mechanism of bone incorporation of beta-TCP bone substitute in open wedge tibial osteotomy in patients. *Biomaterials*, 26, 6713-9.
95. GAISSER, D. M. & HENCH, L. L. 2013. Clinical applications of bioactive glass: orthopaedics. In : L.L. HENCH, ed. *An Introduction to Bioceramics*, World Scientific Publishing Co Inc. S151-158.
96. GALI, R. S., DEVIREDDY, S. K., MOHAN RAO, N., KISHORE KUMAR, R. V., KANUBADDY, S. R., DASARI, M., SOWJANYA, K. & PATHAPATI, R. M. 2017. Autogenous Bone Marrow Aspirate Coated Synthetic Hydroxyapatite for Reconstruction of Maxillo-Mandibular Osseous Defects: A Prospective Study. *J Maxillofac Oral Surg*, 16, 71-78.
97. GALIBERT, P., DERAMOND, H., ROSAT, P. & LE GARS, D. 1987. [Preliminary note on the treatment of vertebral angioma by percutaneous acrylic vertebroplasty]. *Neurochirurgie*, 33, 166-8.
98. GARCIA, J. R., CLARK, A. Y. & GARCIA, A. J. 2016. Integrin-specific hydrogels functionalized with VEGF for vascularization and bone regeneration of critical-size bone defects. *J Biomed Mater Res A*, 104, 889-900.
99. GEFFERS, M., GROLL, J. & GBURECK, U. 2015. Reinforcement strategies for load-bearing calcium phosphate biocements, *Mater.* (Basel) 8, 2700-2717.

100. GEIGER, F., LORENZ, H., XU, W., SZALAY, K., KASTEN, P., CLAES, L., AUGAT, P. & RICHTER, W. 2007. VEGF producing bone marrow stromal cells (BMSC) enhance vascularization and resorption of a natural coral bone substitute. *Bone*, 41, 516-22.
101. GERSTENFELD, L. C., CULLINANE, D. M., BARNES, G. L., GRAVES, D. T. & EINHORN, T. A. 2003. Fracture healing as a post-natal developmental process: molecular, spatial, and temporal aspects of its regulation. *J Cell Biochem*, 88, 873-84.
102. GIANNOUDIS, P. V., DINOPOULOS, H. & TSIRIDIS, E. 2005. Bone substitutes: an update. *Injury*, 36 Suppl 3, S20-7.
103. GIANNOUDIS, P. V., EINHORN, T. A. & MARSH, D. 2007. Fracture healing: a harmony of optimal biology and optimal fixation? *Injury*, 38 Suppl 4, S1-2.
104. GOLDBERG, V.M. & AKHAVAN, S. 2005. Biology of bone grafts. In : LIEBERMAN, J.R. & FRIEDLAENDER, G.E. ed. *Bone Regeneration and Repair*, Springer, S57-65.
105. GOLOS, J., WALINSKI, T., PIEKARCZYK, P. & KWIATKOWSKI, K. 2013. Results of the use of platelet rich plasma in the treatment of delayed union of long bones, *Ortop. Traumatol. Rehabil.* 16, 397-406.
106. GOSENS, T., PEERBOOMS, J. C., VAN LAAR, W. & DEN OUDSTEN, B. L. 2011. Ongoing positive effect of platelet-rich plasma versus corticosteroid injection in lateral epicondylitis: a double-blind randomized controlled trial with 2-year follow-up. *Am J Sports Med*, 39, 1200-8.
107. GOVENDER, S., CSIMMA, C., GENANT, H. K., VALENTIN-OPRAN, A., AMIT, Y., ARBEL, R., ARO, H., ATAR, D., BISHAY, M., BORNER, M. G., CHIRON, P., CHOONG, P., CINATS, J., COURTENAY, B., FEIBEL, R., GEULETTE, B., GRAVEL, C., HAAS, N., RASCHKE, M., HAMMACHER, E., VAN DER VELDE, D., HARDY, P., HOLT, M., JOSTEN, C., KETTERL, R. L., LINDEQUE, B., LOB, G., MATHEVON, H., MCCOY, G., MARSH, D., MILLER, R., MUNTING, E., OEVRE, S., NORDSLETTEN, L., PATEL, A., POHL, A., RENNIE, W., REYNDERS, P., ROMMENS, P. M., RONDIA, J., ROSSOUW, W. C., DANEEL, P. J., RUFF, S., RUTER, A., SANTAVIRTA, S., SCHILDHAUER, T. A., GEKLE, C., SCHNETTLER, R., SEGAL, D., SEILER, H., SNOWDOWNE, R. B., STAPERT, J., TAGLANG, G., VERDONK, R., VOGELS, L., WECKBACH, A., WENTZENSEN, A. & WISNIEWSKI, T. 2002. Recombinant human bone morphogenetic protein-2 for treatment of open tibial fractures: a prospective, controlled, randomized study of four hundred and fifty patients. *J Bone Joint Surg Am*, 84-A, 2123-34.
108. GREEN, C. E. 2011. Infectious diseases of the dog and cat, 4th ed, *St Louis, Saunders*.
109. GRIFFIN, X. L., SMITH, C. M. & COSTA, M. L. 2009. The clinical use of platelet-rich plasma in the promotion of bone healing: a systematic review. *Injury*, 40, 158-62.
110. HALL, S. L., DIMAI, H. P. & FARLEY, J. R. 1999. Effects of zinc on human skeletal alkaline phosphatase activity in vitro. *Calcif Tissue Int*, 64, 163-72.
111. HAMMOND, T. N., TUREK, M. M. & REGAN, J. 2009. What is your diagnosis? Metastatic anal sac adenocarcinoma with paraneoplastic hypertrophic osteopathy. *J Am Vet Med Assoc*, 235, 267-8.
112. HAN, B., WOODSELL-MAY, J., PONTICIELLO, M., YANG, Z. & NIMNI, M. 2009. The effect of thrombin activation of platelet-rich plasma on demineralized bone matrix osteoinductivity. *J Bone Joint Surg Am*, 91, 1459-70.
113. HANKENSON, K. D., DISHOWITZ, M., GRAY, C. & SCHENKER, M. 2011. Angiogenesis in bone regeneration. *Injury*, 42, 556-61.
114. HANNOUCHE, D. 2008. Consolidation osseuse. Conférence d'enseignement de la SOFCOT. *Elsevier-Masson*, Paris, 321-333.

115. HAQUE, T., AMAKO, M., NAKADA, S., LAUZIER, D. & HAMDY, R. C. 2007. An immunohistochemical analysis of the temporal and spatial expression of growth factors FGF 1, 2 and 18, IGF 1 and 2, and TGFbeta1 during distraction osteogenesis. *Histol Histopathol*, 22, 119-28.
116. HARFORD, J. S., DEKKER, T. J. & ADAMS, S. B. 2016. Bone Marrow Aspirate Concentrate for Bone Healing in Foot and Ankle Surgery. *Foot Ankle Clin*, 21, 839-845.
117. HARTIGAN, B. J. & COHEN, M. S. 2005. Use of bone graft substitutes and bioactive materials in treatment of distal radius fractures. *Hand Clin*, 21, 449-54.
118. HARVEY, E. J., AGEL, J., SELZNICK, H. S., CHAPMAN, J. R. & HENLEY, M. B. 2002. Deleterious effect of smoking on healing of open tibia-shaft fractures. *Am J Orthop (Belle Mead NJ)*, 31, 518-21.
119. HARWOOD, P. J. & FERGUSON, D. O. 2015. An update on fracture healing and nonunion, *Orthop. Trauma*. 29, 228-242.
120. HAYEK, A., CULLER, F. L., BEATTIE, G. M., LOPEZ, A. D., CUEVAS, P. & BAIRD, A. 1987. An in vivo model for study of the angiogenic effects of basic fibroblast growth factor. *Biochem Biophys Res Commun*, 147, 876-80.
121. HEIPLE, K. G., CHASE, S. W. & HERNDON, C. H. 1963. A Comparative Study of the Healing Process Following Different Types of Bone Transplantation. *J Bone Joint Surg Am*, 45, 1593-616.
122. HEIPLE, K. G., GOLDBERG, V. M., POWELL, A. E., BOS, G. D. & ZIKA, J. M. 1987. Biology of cancellous bone grafts. *Orthop Clin North Am*, 18, 179-85.
123. HELGESON, M. D., POTTER, B. K., TUCKER, C. J., FRISCH, H. M. & SHAWEN, S. B. 2009. Antibiotic-impregnated calcium sulfate use in combat-related open fractures. *Orthopedics*, 32, 323.
124. HENCH, L. L. & PASCHALL, H. A. 1973. Direct chemical bond of bioactive glass-ceramic materials to bone and muscle, *J. Biomed. Mater. Res.* 7, 25-42.
125. HENCH, L. L. 2006. The story of Bioglass. *J Mater Sci Mater Med*, 17, 967-78.
126. HENCH, L. L., SPLINTER, R. J., ALLEN, W. C. & GREENLEE, T. K. 1971. Bonding mechanism at interface of ceramic prosthetic materials, *J. Biomed. Mater. Res.* 5, 117-141.
127. HENCH, L.L., 1991. Bioceramics: from concept to clinic. *J Am Ceram Soc*, 74, 1487-1510.
128. HERNANDEZ, L., GURRUCHAGA, M. & GONI, I. 2009. Injectable acrylic bone cements for vertebroplasty based on a radiopaque hydroxyapatite. Formulation and rheological behaviour. *J Mater Sci Mater Med*, 20, 89-97.
129. HIERHOLZER, C., SAMA, D., TORO, J. B., PETERSON, M. & HELFET, D. L. 2006. Plate fixation of ununited humeral shaft fractures: effect of type of bone graft on healing. *J Bone Joint Surg Am*, 88, 1442-7.
130. HILL, N. M., HORNE, J. G. & DEVANE, P. A. 1999. Donor site morbidity in the iliac crest bone graft. *Aust N Z J Surg*, 69, 726-8.
131. HOGEL, F., HOFFMANN, S., HUNGERER, S., FLEISCHACKER, E., ULLAMANN, T., BETZ, O. B. & AUGAT, P. 2015. Bone healing of critical size defects of the rat femur after the application of bone marrow aspirate and two different rh-BMP7 concentrations. *Eur J Trauma Emerg Surg*, 41, 557-63.
132. HOULTON, J. E. F & DUNNING D., 2005. Perioperative patient management. In : JOHNSON, A. L., HOULTON, J. E. F. & VANNINI, R. ed. *AO Principles of Fracture Management in the Dog and Cat*. AO Publishing, Switzerland. S1-27.
133. HULSE, D. A. & ARON, D. N. 1994. Advances in small animal orthopedics, *Compendium*, 16, 831-832.

134. HUPA, L., KARLSSON, K. H., HUPA, M. & ARO, H.T. Comparison of bioactive glasses in vitro and in vivo, *Glass Technol. Part A* 51, 89-92.
135. HUSSAIN, I., MOHARAMZADEH, K., BROOK, I. M., JOSE DE OLIVEIRA NETO, P. & SALATA, L. A. 2012. Evaluation of osteoconductive and osteogenic potential of a dentin-based bone substitute using a calvarial defect model. *Int J Dent*, 2012, 396316.
136. ISHIGURO, S., KASAI, Y., SUDO, A., IIDA, K. & UCHIDA, A. 2010. Percutaneous vertebroplasty for osteoporotic compression fractures using calcium phosphate cement. *J Orthop Surg (Hong Kong)*, 18, 346-51.
137. ISHIKAWA, K. 2014. Calcium phosphate cement. In : BEN-NISSAN, B. ed. *Advances in Calcium Phosphate Biomaterials*, Springer, S199-227.
138. JAHANGIR, A. A., NUNLEY, R. M., MEHTA, S., SHARAN, A. & THE WASHINGTON HEALTH POLICY FELLOWS. 2008. Bone-graft substitutes in orthopaedic surgery. *AAOS Now*, 2, 1-5.
139. JAISWAL, N., HAYNESWORTH, S. E., CAPLAN, A. I. & BRUDER, S. P. 1997. Osteogenic differentiation of purified, culture-expanded human mesenchymal stem cells in vitro. *J Cell Biochem*, 64, 295-312.
140. JANG, B. J., BYEON, Y. E., LIM, J. H., RYU, H. H., KIM, W. H., KOYAMA, Y., KIKUCHI, M., KANG, K. S. & KWEON, O. K. 2008. Implantation of canine umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells mixed with beta-tricalcium phosphate enhances osteogenesis in bone defect model dogs. *J Vet Sci*, 9, 387-93.
141. JARCHO, M. 1981. Calcium phosphate ceramics as hard tissue prosthetics. *Clin Orthop Relat Res*, 259-78.
142. JEROME, C. P., BURR, D. B., VAN BIBBER, T., HOCK, J. M. & BROMMAGE, R. 2001. Treatment with human parathyroid hormone (1-34) for 18 months increases cancellous bone volume and improves trabecular architecture in ovariectomized cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *Bone*, 28, 150-9.
143. JIANG, X., ZOU, S., YE, B., ZHU, S., LIU, Y. & HU, J. 2010. bFGF-Modified BMMSCs enhance bone regeneration following distraction osteogenesis in rabbits. *Bone*, 46, 1156-61.
144. JILKA, R. L. 2007. Molecular and cellular mechanisms of the anabolic effect of intermittent PTH. *Bone*, 40, 1434-46.
145. JOHNSON, A. L. 2013. Fundamentals of Orthopedic Surgery and Fracture Management. In : FOSSUM T.W. ed. *Small animal surgery, 4th ed. Mosby, Inc., an affiliate of Elsevier Inc*, S1033-1105.
146. JOHNSON, K. D., FRIERSON, K. E., KELLER, T. S., COOK, C., SCHEINBERG, R., ZERWEKH, J., MEYERS, L. & SCIADINI, M. F. 1996. Porous ceramics as bone graft substitutes in long bone defects: a biomechanical, histological, and radiographic analysis. *J Orthop Res*, 14, 351-69.
147. JOHNSTONE, B., HERING, T. M., CAPLAN, A. I., GOLDBERG, V. M. & YOO, J. U. 1998. In vitro chondrogenesis of bone marrow-derived mesenchymal progenitor cells. *Exp Cell Res*, 238, 265-72.
148. JONES, A. L., BUCHOLZ, R. W., BOSSE, M. J., MIRZA, S. K., LYON, T. R., WEBB, L. X., POLLAK, A. N., GOLDEN, J. D. & VALENTIN-OPRAN, A. 2006. Recombinant human BMP-2 and allograft compared with autogenous bone graft for reconstruction of diaphyseal tibial fractures with cortical defects. A randomized, controlled trial. *J Bone Joint Surg Am*, 88, 1431-41.
149. JONES, J. R. 2013. Review of bioactive glass: from Hench to hybrids. *Acta Biomater*, 9, 4457-86.

150. JUDET, J. & JUDET, R. 1950. The use of an artificial femoral head for arthroplasty of the hip joint. *J Bone Joint Surg Br*, 32-B, 166-73.
151. JUFRI, N. F., MOHAMEDALI, A., AVOLIO, A. & BAKER, M. S. 2015. Mechanical stretch: physiological and pathological implications for human vascular endothelial cells. *Vasc Cell*, 7, 8.
152. KADIYALA, S., YOUNG, R. G., THIEDE, M. A. & BRUDER, S. P. 1997. Culture expanded canine mesenchymal stem cells possess osteochondrogenic potential in vivo and in vitro. *Cell Transplant*, 6, 125-34.
153. KAIGLER, D., WANG, Z., HORGER, K., MOONEY, D. J. & KREBSBACH, P. H. 2006. VEGF scaffolds enhance angiogenesis and bone regeneration in irradiated osseous defects. *J Bone Miner Res*, 21, 735-44.
154. KANAKARIS, N. K., CALORI, G. M., VERDONK, R., BURSSSENS, P., DE BIASE, P., CAPANNA, R., VANGOSA, L. B., CHERUBINO, P., BALDO, F., RISTINIEMI, J., KONTAKIS, G. & GIANNOUDIS, P. V. 2008. Application of BMP-7 to tibial pseudarthroses: a 3-year multicenter experience. *Injury*, 39 Suppl 2, S83-90.
155. KANTHARIA, N., NAIK, S., APTE, S., KHEUR, M., KHEUR, S. & KALE, B. 2014. Nano hydroxyapatite and its contemporary applications. *J Dent Res Sci Dev*, 1 Suppl 1, 15-19.
156. KATTIMANI, S. & LINGAMANENI KONDAKA, K. P. 2016. Hydroxyapatite - Past, Present, and Future in Bone Regeneration, *Bone and Tissue Regeneration Insights*, 9.
157. KAWAGUCHI, H., OKA, H., JINGUSHI, S., IZUMI, T., FUKUNAGA, M., SATO, K., MATSUSHITA, T. & NAKAMURA, K. 2010. A local application of recombinant human fibroblast growth factor 2 for tibial shaft fractures: A randomized, placebo-controlled trial. *J Bone Miner Res*, 25, 2735-43.
158. KEATING, J. F., HAJDUCKA, C. L. & HARPER, J. 2003. Minimal internal fixation and calcium-phosphate cement in the treatment of fractures of the tibial plateau. A pilot study. *J Bone Joint Surg Br*, 85, 68-73.
159. KELLY, C. M., WILKINS, R. M., GITELIS, S., HARTJEN, C., WATSON, J. T. & KIM, P. T. 2001. The use of a surgical grade calcium sulfate as a bone graft substitute: results of a multicenter trial. *Clin Orthop Relat Res*, 382, 42-50.
160. KENNY, S. M. & BUGGY, M. 2003. Bone cements and fillers: a review. *J Mater Sci Mater Med*, 14, 923-38.
161. KENT, L. J., DARNELL, K., ZHUO, W., KREBSBACH, P. H. & MOONEY, D. J. 2006. Coating of VEGF releasing scaffolds with bioactive glass for angiogenesis and bone regeneration, *Biomaterials* 27, 3249-3255.
162. KERAMARIS, N. C., CALORI, G. M., NIKOLAOU, V. S., SCHEMITSCH, E. H. & GIANNOUDIS, P. V. 2008. Fracture vascularity and bone healing: a systematic review of the role of VEGF. *Injury*, 39 Suppl 2, S45-57.
163. KHAN, S. N., CAMMISA, F. P., JR., SANDHU, H. S., DIWAN, A. D., GIRARDI, F. P. & LANE, J. M. 2005. The biology of bone grafting. *J Am Acad Orthop Surg*, 13, 77-86.
164. KIM, H. & HONG, K.S. 2009. Simple large-scale synthesis of hydroxyapatite nanoparticles: in situ observation of crystallization process, *Langmuir*. 26, 384-388.
165. KIM, R. W., KIM, J. H. & MOON, S. Y. 2016. Effect of hydroxyapatite on critical-sized defect. *Maxillofac Plast Reconstr Surg*, 38, 26.
166. KLENKE, F. M., LIU, Y., YUAN, H., HUNZIKER, E. B., SIEBENROCK, K. A. & HOFSTETTER, W. 2008. Impact of pore size on the vascularization and osseointegration of ceramic bone substitutes in vivo. *J Biomed Mater Res A*, 85, 777-86.

167. KLINGE, B., ALBERIUS, P., ISAKSSON, S. & JONSSON, J. 1992. Osseous response to implanted natural bone mineral and synthetic hydroxylapatite ceramic in the repair of experimental skull bone defects. *J Oral Maxillofac Surg*, 50, 241-9.
168. KOETER, S., TIGCHELAAR, S. J., FARLA, P., DRIESSEN, L., VAN KAMPEN, A. & BUMA, P. 2009. Coralline hydroxyapatite is a suitable bone graft substitute in an intra-articular goat defect model. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 90, 116-22.
169. KON, E., MURAGLIA, A., CORSI, A., BIANCO, P., MARCACCI, M., MARTIN, I., BOYDE, A., RUSPANTINI, I., CHISTOLINI, P., ROCCA, M., GIARDINO, R., CANCEDDA, R. & QUARTO, R. 2000. Autologous bone marrow stromal cells loaded onto porous hydroxyapatite ceramic accelerate bone repair in critical-size defects of sheep long bones. *J Biomed Mater Res*, 49, 328-37.
170. KÖNIG, H.E & LIEBICH, H.G. 2004. Veterinary anatomy of domestic mammals: Textbook and colour atlas. *Schattauer GmbH*, Stuttgart, Germany.
171. KOTZ, R. & POITOUT, D.G. 2013. Biomechanics and Biomaterials in Orthopedics, Springer Science & Business Media.
172. KOVAR, F. M. & WOZASEK, G. E. 2011. Bone graft harvesting using the RIA (reaming irrigation aspirator) system: a quantitative assessment, *Wien. Klin. Wochenschr.* 123, 285-290.
173. KÜHN, K. D., BREUSCH, S. & MALCHAU, H. 2005. Properties of Bone Cement: what Is Bone Cement? Springer Medizin Verlag, Berlin.
174. KURIEN, T., PEARSON, R. G. & SCAMMELL, B. E. 2013. Bone graft substitutes currently available in orthopaedic practice: the evidence for their use. *Bone Joint J*, 95-B, 583-97.
175. LADD, A. L. & PLIAM, N. B. 2003. Bone graft substitutes in the radius and upper limb. *J Hand Surg*, 3, 227-45.
176. LANE, J. M. & SANDHU, H. S. 1987. Current approaches to experimental bone grafting. *Orthop Clin North Am*, 18, 213-25.
177. LANE, J. M., TOMIN, E. & BOSTROM, M. P. 1999. Biosynthetic bone grafting. *Clin Orthop Relat Res*, S107-17.
178. LARSSON, S. 2006. Cement augmentation in fracture treatment. *Scand J Surg*, 95, 111-8.
179. LE HUEC, J. C., SCHAEVERBEKE, T., CLEMENT, D., FABER, J. & LE REBELLER, A. 1995. Influence of porosity on the mechanical resistance of hydroxyapatite ceramics under compressive stress. *Biomaterials*, 16, 113-8.
180. LEE, J., TRAN, Q., SEEBA, G., WIKESJO, U. M. & SUSIN, C. 2009. The critical-size supraalveolar peri-implant defect model: reproducibility in histometric data acquisition of alveolar bone formation and osseointegration. *J Clin Periodontol*, 36, 1067-74.
181. LI, H., ZHAO, Q., LI, B., KANG, J., YU, Z., LI, Y., SONG, X., LIANG, C. & WANG, H. 2016. Fabrication and properties of carbon nanotube-reinforced hydroxyapatite composites by a double in situ synthesis process, *Carbon N. Y.* 101, 159-167.
182. LI, R., CLARK, A. E. & HENCH, L. L. 1991. An investigation of bioactive glass powders by sol-gel processing. *J Appl Biomater*, 2, 231-9.
183. LI, Y., CHEN, S. K., LI, L., QIN, L., WANG, X. L. & LAI, Y. X. 2015. Bone defect animal models for testing efficacy of bone substitute biomaterials. *Journal of Orthopaedic Translation*, 3, 95-104.
184. LIEBERMAN, J. R., DALUISKI, A. & EINHORN, T. A. 2002. The role of growth factors in the repair of bone. Biology and clinical applications. *J Bone Joint Surg Am*, 84-A, 1032-44.

185. LIEBICH, H. G. 2004. Locomotor system. In : KÖNIG, H. E. & LIEBICH, H. G. ed. *Veterinary anatomy of domestic mammals: Textbook and colour atlas*. Schattauer GmbH, Stuttgart, Germany, S2-10.
186. LIEBSCHNER, M. A. 2004. Biomechanical considerations of animal models used in tissue engineering of bone. *Biomaterials*, 25, 1697-714.
187. LIN, K. & CHNAG, J. 2015. Structure and properties of hydroxyapatite for biomedical applications. In : MUCALO, M. ed. *Hydroxyapatite (HAp) for Biomedical Applications*. Elsevier, S3-19.
188. LIN, K., CHEN, L. & CHANG, J. 2012. Fabrication of dense hydroxyapatite nanobioceramics with enhanced mechanical properties via two-step sintering process. *Int J Appl Ceram Technol*, 9, 479-485.
189. LIN, K., XIA, L., GAN, J., ZHANG, Z., CHEN, H., JIANG, X. & CHANG, J. 2013. Tailoring the nanostructured surfaces of hydroxyapatite bioceramics to promote protein adsorption, osteoblast growth, and osteogenic differentiation. *ACS Appl Mater Interfaces*, 5, 8008-17.
190. LINDFORS, N. C., HYVONEN, P., NYSSONEN, M., KIRJAVAINEN, M., KANKARE, J., GULLICHSEN, E. & SALO, J. 2010. Bioactive glass S53P4 as bone graft substitute in treatment of osteomyelitis. *Bone*, 47, 212-8.
191. LIPPENS, E., VERTENTEN, G., GIRONES, J., DECLERCQ, H., SAUNDERS, J., LUYTEN, J., DUCHATEAU, L., SCHACHT, E., VLAMINCK, L., GASTHUYS, F. & CORNELISSEN, M. 2010. Evaluation of bone regeneration with an injectable, in situ polymerizable Pluronic F127 hydrogel derivative combined with autologous mesenchymal stem cells in a goat tibia defect model. *Tissue Eng Part A*, 16, 617-27.
192. LIU, W. C., ROBU, I. S., PATEL, R., LEU, M. C., VELEZ, M. & CHU, T. M. 2014. The effects of 3D bioactive glass scaffolds and BMP-2 on bone formation in rat femoral critical size defects and adjacent bones. *Biomed Mater*, 9, 045013.
193. LUCHETTI, R. 2004. Corrective osteotomy of malunited distal radius fractures using carbonated hydroxyapatite as an alternative to autogenous bone grafting. *J Hand Surg Am*, 29, 825-34.
194. MACKAY, A. M., BECK, S. C., MURPHY, J. M., BARRY, F. P., CHICHESTER, C. O. & PITTENGER, M. F. 1998. Chondrogenic differentiation of cultured human mesenchymal stem cells from marrow. *Tissue Eng*, 4, 415-28.
195. MAESTRETTI, G., SUTTER, P., MONNARD, E., CIARPAGLINI, R., WAHL, P., HOOGEWOU, H. & GAUTIER, E. 2014. A prospective study of percutaneous balloon kyphoplasty with calcium phosphate cement in traumatic vertebral fractures: 10-year results. *Eur Spine J*, 23, 1354-60.
196. MALHOTRA, A. & HABIBOVIC, P. 2016. Calcium Phosphates and Angiogenesis: Implications and Advances for Bone Regeneration. *Trends Biotechnol*, 34, 983-992.
197. MALHOTRA, R., KUMAR, V., GARG, B., SINGH, R., JAIN, V., COSHIC, P. & CHATTERJEE, K. 2015. Role of autologous platelet-rich plasma in treatment of long-bone nonunions: a prospective study. *Musculoskelet Surg*, 99, 243-8.
198. MALOUF-SIERRA, J., TARANTINO, U., GARCIA-HERNANDEZ, P. A., CORRADINI, C., OVERGAARD, S., STEPAN, J. J., BORRIS, L., LESPESSAILLES, E., FRIHAGEN, F., PAPAVALIOU, K., PETTO, H., ASPENBERG, P., CAEIRO, J. R. & MARIN, F. 2017. Effect of Teriparatide or Risedronate in Elderly Patients With a Recent Pertrochanteric Hip Fracture: Final Results of a 78-Week Randomized Clinical Trial. *J Bone Miner Res*, 32, 1040-1051.

199. MANDEEP, D., SANDEEP, P. & KAMAL, B. 2011. Platelet-rich plasma intra-articular knee injections for the treatment of degenerative cartilage lesions and osteoarthritis, *Knee Surg. Sports Traumatol. Arthrosc.* 19, 528-535.
200. MASAOKA, T., YAMADA, T., YUASA, M., YOSHII, T., OKAWA, A., MORITA, S., KOZAKA, Y., HIRANO, M. & SOTOME, S. 2016. Biomechanical evaluation of the rabbit tibia after implantation of porous hydroxyapatite/collagen in a rabbit model. *J Orthop Sci*, 21, 230-6.
201. MAUFFREY, C., BARLOW, B. T. & SMITH, W. 2015. Management of segmental bone defects. *J Am Acad Orthop Surg*, 23, 143-53.
202. MAUFFREY, C., SELIGSON, D., LICHTER, P., PAPE, H. C. & AL-RAYYAN, M. 2011. Bone graft substitutes for articular support and metaphyseal comminution: what are the options? *Injury*, 42 Suppl 2, S35-9.
203. MCGAW, W. H. & HARBIN, M. 1934. The role of bone marrow and endosteum in bone regeneration. An experimental study of bone marrow and endosteal transplants. *J Bone Joint Surg*, 16, 816-821.
204. MCGRAW, J. K., LIPPERT, J. A., MINKUS, K. D., RAMI, P. M., DAVIS, T. M. & BUDZIK, R. F. 2002. Prospective evaluation of pain relief in 100 patients undergoing percutaneous vertebroplasty: results and follow-up. *J Vasc Interv Radiol*, 13, 883-6.
205. MEYRUEIS, J. P. & CAZENAVE, A. 2003. Consolidation des fractures. *EMC-Appareil locomoteur*, 14, 1-17.
206. MINARD, D. 2013 Substituts osseux. *EMC-Appareil locomoteur*, 8 Suppl 3, S1-10.
207. MISHRA, A. & PAVELKO, T. 2006. Treatment of chronic elbow tendinosis with buffered platelet-rich plasma. *Am J Sports Med*, 34, 1774-8.
208. MOIMAS, L., BIASOTTO, M., DI LENARDA, R., OLIVO, A. & SCHMID, C. 2006. Rabbit pilot study on the resorbability of three-dimensional bioactive glass fibre scaffolds. *Acta Biomater*, 2, 191-9.
209. MONTESANO, R., VASSALLI, J. D., BAIRD, A., GUILLEMIN, R. & ORCI, L. 1986. Basic fibroblast growth factor induces angiogenesis in vitro. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 83, 7297-301.
210. MOORE, W. R., GRAVES, S. E. & BAIN, G. I. 2001. Synthetic bone graft substitutes. *ANZ J Surg*, 71, 354-61.
211. MOUSAVI, G. & REZAIE, A. 2011. Biomechanical Effects of Calcium Phosphate Bone Cement and Bone Matrix Gelatin Mixture on Healing of Bone Defect in Rabbits. *World Appl Sci J*, 13, 2042-6.
212. MUKHERJEE, S., NANDI, S. K., KUNDU, B., CHANDA, A., SEN, S. & DAS, P. K. 2016. Enhanced bone regeneration with carbon nanotube reinforced hydroxyapatite in animal model. *J Mech Behav Biomed Mater*, 60, 243-255.
213. MÜLLER, M. 1991. The comprehensive classification of fractures of the long bones. In : ALLGÖWER, M. ed. *Manual of internal fixation: techniques recommended by the AO-ASIF group*, 3rd ed. Berlin, Springer-Verlag, S118-150.
214. NAKAMURA, T., HARA, Y., TAGAWA, M., TAMURA, M., YUGE, T., FUKUDA, H. & NIGI, H. 1998. Recombinant human basic fibroblast growth factor accelerates fracture healing by enhancing callus remodeling in experimental dog tibial fracture. *J Bone Miner Res*, 13, 942-9.
215. NAKAMURA, T., MATSUMINE, A., ASANUMA, K., MATSUBARA, T. & SUDO, A. 2016. Treatment of bone defect with calcium phosphate cement subsequent to tumor curettage in pediatric patients. *Oncol Lett*, 11, 247-252.

216. NAKANO, M., HIRANO, N., ZUKAWA, M., SUZUKI, K., HIROSE, J., KIMURA, T. & KAWAGUCHI, Y. 2012. Vertebroplasty using calcium phosphate cement for osteoporotic vertebral fractures: study of outcomes at a minimum follow-up of two years, *Asian Spine J.* 6, 34-42.
217. NAKANO, M., KAWAGUCHI, Y., KIMURA, T. & HIRANO, N. 2014. Transpedicular vertebroplasty after intravertebral cavity formation versus conservative treatment for osteoporotic burst fractures. *Spine J.* 14, 39-48.
218. NAUTH, A., RISTEVSKI, B., LI, R. & SCHEMITSCH, E. H. 2011. Growth factors and bone regeneration: how much bone can we expect? *Injury*, 42, 574-9.
219. NEER, R. M., ARNAUD, C. D., ZANCHETTA, J. R., PRINCE, R., GAICH, G. A., REGINSTER, J. Y., HODSMAN, A. B., ERIKSEN, E. F., ISH-SHALOM, S., GENANT, H. K., WANG, O. & MITLAK, B. H. 2001. Effect of parathyroid hormone (1-34) on fractures and bone mineral density in postmenopausal women with osteoporosis. *N Engl J Med*, 344, 1434-41.
220. NEO, M., NAKAMURA, T., OHTSUKI, C., KASAI, R., KOKUBO, T. & YAMAMURO, T. 1994. Ultrastructural study of the A-W GC-bone interface after long-term implantation in rat and human bone. *J Biomed Mater Res*, 28, 365-72.
221. NEYT, J. G., BUCKWALTER, J. A. & CARROLL, N. C. 1998. Use of animal models in musculoskeletal research. *Iowa Orthop J*, 18, 118-23.
222. NICH, C. & SEDEL, L. 2006. Bone substitution in revision hip replacement. *Int Orthop*, 30, 525-31.
223. NOLTE, D. M., FUSCO, J. V. & PETERSON, M. E. 2005. Incidence of and predisposing factors for nonunion of fractures involving the appendicular skeleton in cats: 18 cases (1998-2002). *J Am Vet Med Assoc*, 226, 77-82.
224. NOTODIHARDJO, F. Z., KAKUDO, N., KUSHIDA, S., SUZUKI, K. & KUSUMOTO, K. 2012. Bone regeneration with BMP-2 and hydroxyapatite in critical-size calvarial defects in rats. *J Craniomaxillofac Surg*, 40, 287-91.
225. NUNAMAKER, D. M. 1998. Experimental models of fracture repair. *Clin Orthop Relat Res*, S56-65.
226. OGOSE, A., KONDO, N., UMEZU, H., HOTTA, T., KAWASHIMA, H., TOKUNAGA, K., ITO, T., KUDO, N., HOSHINO, M., GU, W. & ENDO, N. 2006. Histological assessment in grafts of highly purified beta-tricalcium phosphate (OSferion) in human bones. *Biomaterials*, 27, 1542-9.
227. O'HARA, R. M., ORR, J. F., BUCHANAN, F. J., WILCOX, R. K., BARTON, D. C. & DUNNE, N. J. 2012. Development of a bovine collagen-apatitic calcium phosphate cement for potential fracture treatment through vertebroplasty. *Acta Biomater*, 8, 4043-52.
228. OHBA, S., SUMITA, Y., UMEBAYASHI, M., YOSHIMURA, H., YOSHIDA, H., MATSUDA, S., KIMURA, H., ASAHINA, I. & SANNO, K. 2016. Onlay bone augmentation on mouse calvarial bone using a hydroxyapatite/collagen composite material with total blood or platelet-rich plasma. *Arch. Oral Biol*, 61, 23-27.
229. OLSZTA, M. J., CHENG, X., JEE, S. S., KUMAR, R., KIM, Y.-Y., KAUFMAN, M. J., DOUGLAS, E. P. & GOWER, L. B. 2007. Bone structure and formation: a new perspective, *Mater. Sci. Eng. R. Rep.* 58, 77-116.
230. O'NEILL, R., MCCARTHY, H. O., MONTUFAR, E. B., GINEBRA, M. P., WILSON, D. I., LENNON, A. & DUNNE, N. 2017. Critical review: Injectability of calcium phosphate pastes and cements. *Acta Biomater*, 50, 1-19.

231. OONISHI, H., IWAKI, Y., KIN, N., KUSHITANI, S., MURATA, N., WAKITANI, S. & IMOTO, K. 1997. Hydroxyapatite in revision of total hip replacements with massive acetabular defects: 4- to 10-year clinical results. *J Bone Joint Surg Br*, 79, 87-92.
232. ORYAN, A., ALIDADI, S. & MOSHIRI, A. 2016. Platelet-rich plasma for bone healing and regeneration. *Expert Opin Biol Ther*, 16, 213-32.
233. PACICCA, D. M., PATEL, N., LEE, C., SALISBURY, K., LEHMANN, W., CARVALHO, R., GERSTENFELD, L. C. & EINHORN, T. A. 2003. Expression of angiogenic factors during distraction osteogenesis. *Bone*, 33, 889-98.
234. PAPE, H.-C. & TARKIN, I.S. 2008. Reamer irrigator aspirator: a new technique for bone graft harvesting from the intramedullary canal, *Oper. Tech. Orthop.* 18, 108-113.
235. PATEL, M.J. 2008. Theoretical Aspects of Paste Formulation for Extrusion, University of Cambridge.
236. PATKA, P. 1984. Bone replacement by calcium phosphate ceramics. Amsterdam. *Vrije Universiteit*.
237. PEARCE, A. I., RICHARDS, R. G., MILZ, S., SCHNEIDER, E. & PEARCE, S. G. 2007. Animal models for implant biomaterial research in bone: a review. *Eur Cell Mater*, 13, 1-10.
238. PEICHL, P., HOLZER, L. A., MAIER, R. & HOLZER, G. 2011. Parathyroid hormone 1-84 accelerates fracture-healing in pubic bones of elderly osteoporotic women. *J Bone Joint Surg Am*, 93, 1583-7.
239. PER, A. 2013. Annotation: parathyroid hormone and fracture healing, *Acta Orthop.* 84, 4-6.
240. PERNAK, K., KOSKI, I., MATTILA, K., GULLICHSEN, E., HEIKKILA, J., AHO, A. & LINDFORS, N. 2011. Bioactive glass S53P4 and autograft bone in treatment of depressed tibial plateau fractures - a prospective randomized 11-year follow-up. *J Long Term Eff Med Implants*, 21, 139-48.
241. PITTENGER, M. F., MACKAY, A. M., BECK, S. C., JAISWAL, R. K., DOUGLAS, R., MOSCA, J. D., MOORMAN, M. A., SIMONETTI, D. W., CRAIG, S. & MARSHAK, D. R. 1999. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science*, 284, 143-7.
242. PORTAL-NUNEZ, S., LOZANO, D. & ESBRIT, P. 2012. Role of angiogenesis on bone formation. *Histol Histopathol*, 27, 559-66.
243. RADOMSKY, M. L., AUFDEMORTE, T. B., SWAIN, L. D., FOX, W. C., SPIRO, R. C. & POSER, J. W. 1999. Novel formulation of fibroblast growth factor-2 in a hyaluronan gel accelerates fracture healing in nonhuman primates. *J Orthop Res*, 17, 607-14.
244. RALF, S. & PER, A. 2004. Parathyroid hormone drug for orthopedic surgery? *Acta Orthop. Scand.* 75, 654-662.
245. RANLY, D. M., LOHMANN, C. H., ANDREACCHIO, D., BOYAN, B. D. & SCHWARTZ, Z. 2007. Platelet-rich plasma inhibits demineralized bone matrix-induced bone formation in nude mice. *J Bone Joint Surg Am*, 89, 139-47.
246. RANLY, D. M., MCMILLAN, J., KELLER, T., LOHMANN, C. H., MEUNCH, T., COCHRAN, D. L., SCHWARTZ, Z. & BOYAN, B. D. 2005. Platelet-derived growth factor inhibits demineralized bone matrix-induced intramuscular cartilage and bone formation. A study of immunocompromised mice. *J Bone Joint Surg Am*, 87, 2052-64.
247. REDDI, A. H. 1998. Initiation of fracture repair by bone morphogenetic proteins. *Clin Orthop Relat Res*, S66-72.
248. REICHERT, J. C., EPARI, D. R., WULLSCHLEGER, M. E., SAIFZADEH, S., STECK, R., LIENAU, J., SOMMERVILLE, S., DICKINSON, I. C., SCHUTZ, M. A., DUDA, G. N. & HUTMACHER, D. W. 2010. Establishment of a preclinical ovine model for tibial segmental

- bone defect repair by applying bone tissue engineering strategies. *Tissue Eng Part B Rev*, 16, 93-104.
249. RITTING, A. W., WEBER, E. W. & LEE, M. C. 2012. Exaggerated inflammatory response and bony resorption from BMP-2 use in a pediatric forearm nonunion. *J Hand Surg Am*, 37, 316-21.
250. ROBERTS, T. T. & ROSENBAUM, A. J. 2012. Bone grafts, bone substitutes and orthobiologics: the bridge between basic science and clinical advancements in fracture healing. *Organogenesis*, 8, 114-24.
251. ROBERTSON, P. A. & WRAY, A. C. 2001. Natural history of posterior iliac crest bone graft donation for spinal surgery: a prospective analysis of morbidity. *Spine (Phila Pa 1976)*, 26, 1473-6.
252. ROFFI, A., DI MATTEO, B., KRISHNAKUMAR, G. S., KON, E. & FILARDO, G. 2017. Platelet-rich plasma for the treatment of bone defects: from pre-clinical rational to evidence in the clinical practice. A systematic review. *Int Orthop*, 41, 221-237.
253. ROSENBERGER, J. A., PABLO, N. V. & CRAWFORD, P. C. 2007. Prevalence of and intrinsic risk factors for appendicular osteosarcoma in dogs: 179 cases (1996-2005). *J Am Vet Med Assoc*, 231, 1076-80.
254. ROUGH, S., WILSON, D. & BRIDGWATER, J. 2002. A model describing liquid phase migration within an extruding microcrystalline cellulose paste, *Chem. Eng. Res. Des.* 80, 701-714.
255. SAAD, K. A., ABU-SHAHBA, A. G., EL-DRIENY, E. A. & KHEDR, M. S. 2015. Evaluation of the role of autogenous bone-marrow-derived mesenchymal stem cell transplantation for the repair of mandibular bone defects in rabbits. *J Craniomaxillofac Surg*, 43, 1151-60.
256. SAGI, H. C., YOUNG, M. L., GERSTENFELD, L., EINHORN, T. A. & TORNETTA, P. 2012. Qualitative and quantitative differences between bone graft obtained from the medullary canal (with a Reamer/Irrigator/Aspirator) and the iliac crest of the same patient. *J Bone Joint Surg Am*, 94, 2128-35.
257. SAMPSON, S., GERHARDT, M. & MANDELBAUM, B. 2008. Platelet rich plasma injection grafts for musculoskeletal injuries: a review. *Curr Rev Musculoskelet Med*, 1, 165-74.
258. SANDHU, H. S., GREWAL, H. S. & PARVATANENI, H. 1999. Bone grafting for spinal fusion. *Orthop Clin North Am*, 30, 685-98.
259. SANDINO, C., CHECA, S., PRENDERGAST, P. J. & LACROIX, D. 2010. Simulation of angiogenesis and cell differentiation in a CaP scaffold subjected to compressive strains using a lattice modeling approach. *Biomaterials*, 31, 2446-52.
260. SASSARD, W. R., EIDMAN, D. K., GRAY, P. M., BLOCK, J. E., RUSSO, R., RUSSELL, J. L. & TABOADA, E. M. 2000. Augmenting local bone with Grafton demineralized bone matrix for posterolateral lumbar spine fusion: avoiding second site autologous bone harvest. *Orthopedics*, 23, 1059-64; discussion 1064-5.
261. SATO, M., WESTMORE, M., MA, Y. L., SCHMIDT, A., ZENG, Q. Q., GLASS, E. V., VAHLE, J., BROMMAGE, R., JEROME, C. P. & TURNER, C. H. 2004. Teriparatide [PTH(1-34)] strengthens the proximal femur of ovariectomized nonhuman primates despite increasing porosity. *J Bone Miner Res*, 19, 623-9.
262. SCHEER, J. H. & ADOLFSSON, L. E. 2009. Tricalcium phosphate bone substitute in corrective osteotomy of the distal radius. *Injury*, 40, 262-7.
263. SCHMID, G. J., KOBAYASHI, C., SANDELL, L. J. & ORNITZ, D. M. 2009. Fibroblast growth factor expression during skeletal fracture healing in mice. *Dev Dyn*, 238, 766-74.

264. SCHNEIDER, G., BLECHSCHMIDT, K., LINDE, D., LITSCHKO, P., KORBS, T. & BELEITES, E. 2010. Bone regeneration with glass ceramic implants and calcium phosphate cements in a rabbit cranial defect model. *J Mater Sci Mater Med*, 21, 2853-9.
265. SCHULZ, K. S. 2013. Other Diseases of Bones and Joints. In : FOSSUM T. W. ed. *Small animal surgery, 4th ed. Mosby, Inc., an affiliate of Elsevier Inc*, S1391-1410.
266. SCHWARTZ, C. & BORDEI, R. 2005. Biphasic phospho-calcium ceramics used as bone substitutes are efficient in the management of severe acetabular bone loss in revision total hip arthroplasties. *Eur. J. Orthop. Surg. Traumatol*, 15, 191-196.
267. SEGALMAN, K. A. & CLARK, G. L. 1998. Un-united fractures of the distal radius: a report of 12 cases. *J Hand Surg Am*, 23, 914-9.
268. SEIBEL, R., LADUCA, J., HASSETT, J. M., BABIKIAN, G., MILLS, B., BORDER, D. O. & BORDER, J. R. 1985. Blunt multiple trauma (ISS 36), femur traction, and the pulmonary failure-septic state. *Ann Surg*, 202, 283-95.
269. SHAFIEI-SARVESTANI, Z., ORYAN, A., BIGHAM, A. S. & MEIMANDI-PARIZI, A. 2012. The effect of hydroxyapatite-hPRP, and coral-hPRP on bone healing in rabbits: radiological, biomechanical, macroscopic and histopathologic evaluation. *Int J Surg*, 10, 96-101.
270. SHANAHAN, C. M., CROUTHAMEL, M. H., KAPUSTIN, A. & GIACHELLI, C. M. 2011. Arterial calcification in chronic kidney disease: key roles for calcium and phosphate. *Circ Res*, 109, 697-711.
271. SKALICZKI, G., WESZL, M., SCHANDL, K., MAJOR, T., KOVACS, M., SKALICZKI, J., REDL, H., SZENDROI, M., SZIGETI, K., MATE, D., DOBO-NAGY, C. & LACZA, Z. 2012. Compromised bone healing following spacer removal in a rat femoral defect model. *Acta Physiol Hung*, 99, 223-32.
272. SPECTOR, D., LEGENDRE, A. M., WHEAT, J., BEMIS, D., ROHRBACH, B., TABOADA, J. & DURKIN, M. 2008. Antigen and antibody testing for the diagnosis of blastomycosis in dogs. *J Vet Intern Med*, 22, 839-43.
273. SPIES, C. K., SCHNURER, S., GOTTERBARM, T. & BREUSCH, S. 2009. The efficacy of Biobon and Ostim within metaphyseal defects using the Gottinger Minipig. *Arch Orthop Trauma Surg*, 129, 979-88.
274. STEVENSON, S. & HOROWITZ, M. 1992. The response to bone allografts. *J Bone Joint Surg Am*, 74, 939-50.
275. STEVENSON, S. 1987. The immune response to osteochondral allografts in dogs. *J Bone Joint Surg Am*, 69, 573-82.
276. STEVENSON, S., LI, X. Q. & MARTIN, B. 1991. The fate of cancellous and cortical bone after transplantation of fresh and frozen tissue-antigen-matched and mismatched osteochondral allografts in dogs. *J Bone Joint Surg Am*, 73, 1143-56.
277. SU, N., SUN, Q., LI, C., LU, X., QI, H., CHEN, S., YANG, J., DU, X., ZHAO, L., HE, Q., JIN, M., SHEN, Y., CHEN, D. & CHEN, L. 2010. Gain-of-function mutation in FGFR3 in mice leads to decreased bone mass by affecting both osteoblastogenesis and osteoclastogenesis. *Hum Mol Genet*, 19, 1199-210.
278. SUGAWARA, A., ASAOKA, K. & DING S.-J. 2013. Calcium phosphate-based cements: clinical needs and recent progress. *J. Mater. Chem. B* 1, 1081-1089.
279. SUNUNLIGANON, L., PENG, L., SINGHATANADGIT, W. & CHEUNG, L. K. 2014. Osteogenic efficacy of bone marrow concentrate in rabbit maxillary sinus grafting. *J Craniomaxillofac Surg*, 42, 1753-65.

280. TANG, R., WANG, L., ORME, C. A., BONSTEIN, T., BUSH, P. J. & NANCOLLAS, G. H. 2004. Dissolution at the nanoscale: self-preservation of biominerals. *Angew Chem Int Ed Engl*, 43, 2697-701.
281. TANNOURY, C. & AN, H. S. 2014. Complications with use of bone morphogenetic Protein-2 (BMP-2) in spine surgery, *Spine J.* 3, 552-559.
282. TARSUSLUGIL, S. M., O'HARA, R. M., DUNNE, N. J., BUCHANAN, F. J., ORR, J. F., BARTON, D. C. & WILCOX, R. K. 2013. Development of calcium phosphate cement for the augmentation of traumatically fractured porcine specimens using vertebroplasty. *J Biomech*, 46, 711-5.
283. TONINO, A. J., VAN DER WAL, B. C., HEYLIERS, I. C. & GRIMM, B. 2009. Bone remodeling and hydroxyapatite resorption in coated primary hip prostheses. *Clin Orthop Relat Res*, 467, 478-84.
284. TORRES, J. TAMIMI, F. ALKHRAISAT, M. PRADOS-FRUTOS, J.C. & LOPEZ-CABARCOS, E. 2011. Bone substitutes. In : TURKYILMAZ, I. ed. *Implant Dentistry - the Most Promising Discipline of Dentistry, InTech*, S4-108.
285. TSIRIDIS, E., UPADHYAY, N. & GIANNOUDIS, P. 2007. Molecular aspects of fracture healing: which are the important molecules? *Injury*, 38 Suppl 1, S11-25.
286. UDEHIYA, R. K., AMARPAL, AITHAL, H. P., KINJAVDEKAR, P., PAWDE, A. M., SINGH, R. & TARU SHARMA, G. 2013. Comparison of autogenic and allogenic bone marrow derived mesenchymal stem cells for repair of segmental bone defects in rabbits. *Res Vet Sci*, 94, 743-52.
287. UNGER, M., MONTAVON, P. M. & HEIM, U. F. 1990. Classification of fractures of the long bones in the dog and cat: introduction and clinical application, *Vet Comp Orthop Trauma*, 3, 41-50.
288. UPMAN, P. J. 2006. ISO 10993-6: test for local effects after implantation. *Bone Zone*, 5, 50-52.
289. URBAN, V. S., KISS, J., KOVACS, J., GOCZA, E., VAS, V., MONOSTORI, E. & UHER, F. 2008. Mesenchymal stem cells cooperate with bone marrow cells in therapy of diabetes. *Stem Cells*, 26, 244-53.
290. URIST, M. 1980. *Fundamental and Clinical Bone Physiology*, Lippincott.
291. URIST, M. R. 1965. Bone: formation by autoinduction. *Science*, 150, 893-9.
292. VACCARO, A. R., WHANG, P. G., PATEL, T., PHILLIPS, F. M., ANDERSON, D. G., ALBERT, T. J., HILIBRAND, A. S., BROWER, R. S., KURD, M. F., APPANNAGARI, A., PATEL, M. & FISCHGRUND, J. S. 2008. The safety and efficacy of OP-1 (rhBMP-7) as a replacement for iliac crest autograft for posterolateral lumbar arthrodesis: minimum 4-year follow-up of a pilot study. *Spine J*, 8, 457-65.
293. VALIMAKI, V. V. & ARO, H. T. 2006. Molecular basis for action of bioactive glasses as bone graft substitute. *Scand J Surg*, 95, 95-102.
294. VEGAD, J. L. & SWAMY, M. 2010. *A textbook of veterinary systemic pathology*. Ibdc Publishers. India.
295. VERRON, E., PISSONNIER, M. L., LESOEUR, J., SCHNITZLER, V., FELLAH, B. H., PASCAL-MOUSSELLARD, H., PILET, P., GAUTHIER, O. & BOULER, J. M. 2014. Vertebroplasty using bisphosphonate-loaded calcium phosphate cement in a standardized vertebral body bone defect in an osteoporotic sheep model. *Acta Biomater*, 10, 4887-4895.
296. VOGGENREITER, G., ASCHERL, R., BLUMEL, G. & SCHMIT-NEUERBURG, K. P. 1994. Effects of preservation and sterilization on cortical bone grafts. A scanning electron microscopic study. *Arch Orthop Trauma Surg*, 113, 294-6.

297. WAN, C., GILBERT, S. R., WANG, Y., CAO, X., SHEN, X., RAMASWAMY, G., JACOBSEN, K. A., ALAQL, Z. S., EBERHARDT, A. W., GERSTENFELD, L. C., EINHORN, T. A., DENG, L. & CLEMENS, T. L. 2008. Activation of the hypoxia-inducible factor-1alpha pathway accelerates bone regeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 105, 686-91.
298. WANG, P., ZHAO, L., LIU, J., WEIR, M. D., ZHOU, X. & XU, H. H. 2014. Bone tissue engineering via nanostructured calcium phosphate biomaterials and stem cells. *Bone Res*, 2, 14017.
299. WANG, W. & YEUNG, K. W. K. 2017. Bone grafts and biomaterials substitutes for bone defect repair: A review, *Bioactive Materials*. 1-24.
300. WANG, X., MABREY, J. D. & AGRAWAL, C. M. 1998. An interspecies comparison of bone fracture properties. *Biomed Mater Eng*, 8, 1-9.
301. WATTS, S., HILL, R., O'DONNELL, M. & LAW, R. 2010. Influence of magnesia on the structure and properties of bioactive glasses, *J. Non Cryst. Solids*. 356, 517-524.
302. WEBB, J. C. & SPENCER, R. F. 2007. The role of polymethylmethacrylate bone cement in modern orthopaedic surgery. *J Bone Joint Surg Br*, 89, 851-7.
303. WEEL, H., MALLEE, W. H., VAN DIJK, C. N., BLANKEVOORT, L., GOEDEGEBUURE, S., GOSLINGS, J. C., KENNEDY, J. G. & KERKHOFFS, G. M. 2015. The effect of concentrated bone marrow aspirate in operative treatment of fifth metatarsal stress fractures; a double-blind randomized controlled trial. *BMC Musculoskelet Disord*, 16, 211.
304. WENISCH, S., STAHL, J. P., HORAS, U., HEISS, C., KILIAN, O., TRINKAUS, K., HILD, A. & SCHNETTLER, R. 2003. In vivo mechanisms of hydroxyapatite ceramic degradation by osteoclasts: fine structural microscopy. *J Biomed Mater Res A*, 67, 713-8.
305. WHEELER, D. L., ESCHBACH, E. J., HOELLRICH, R. G., MONTFORT, M. J. & CHAMBERLAND, D. L. 2000. Assessment of resorbable bioactive material for grafting of critical-size cancellous defects. *J Orthop Res*, 18, 140-8.
306. WILLIAMS, D. F. 2014. There is no such thing as a biocompatible material. *Biomaterials*, 35, 10009-14.
307. WITHROW, S. & VAIL, D. 2007. Small animal clinical oncology, 4th ed, *St Louis, Saunders*.
308. WRONSKI, T. J., YEN, C. F., QI, H. & DANN, L. M. 1993. Parathyroid hormone is more effective than estrogen or bisphosphonates for restoration of lost bone mass in ovariectomized rats. *Endocrinology*, 132, 823-31.
309. XIA, L., LIN, K., JIANG, X., XU, Y., ZHANG, M., CHANG, J. & ZHANG, Z. 2013. Enhanced osteogenesis through nano-structured surface design of macroporous hydroxyapatite bioceramic scaffolds via activation of ERK and p38 MAPK signaling pathways. *J Mater Chem B*, 1, 5403-16.
310. XIAO, X., WANG, W., LIU, D., ZHANG, H., GAO, P., GENG, L., YUAN, Y., LU, J. & WANG, Z. 2015. The promotion of angiogenesis induced by three-dimensional porous beta-tricalcium phosphate scaffold with different interconnection sizes via activation of PI3K/Akt pathways. *Sci Rep*, 5, 9409.
311. YAMAMOTO, M., HOKUGO, A., TAKAHASHI, Y., NAKANO, T., HIRAOKA, M. & TABATA, Y. 2015. Combination of BMP-2-releasing gelatin/beta-TCP sponges with autologous bone marrow for bone regeneration of X-ray-irradiated rabbit ulnar defects. *Biomaterials*, 56, 18-25.
312. YANG, H. L., ZHU, X. S., CHEN, L., CHEN, C. M., MANGHAM, D. C., COULTON, L. A. & AIKEN, S. S. 2012. Bone healing response to a synthetic calcium sulfate/beta-tricalcium

- phosphate graft material in a sheep vertebral body defect model. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 100, 1911-21.
313. YANO, K., NAMIKAWA, T., UEMURA, T., HOSHINO, M., WAKITANI, S., TAKAOKA, K. & NAKAMURA, H. 2012. Regenerative repair of bone defects with osteoinductive hydroxyapatite fabricated to match the defect and implanted with combined use of computer-aided design, computer-aided manufacturing, and computer-assisted surgery systems: a feasibility study in a canine model. *J Orthop Sci*, 17, 484-9.
314. YARAS, P., KALYON, D. & YILMAZER U. 1994. Flow instabilities in capillary flow of concentrated suspensions, *Rheol. Acta*. 33, 48-59.
315. YASUHARA, S., YASUNAGA, Y., HISATOME, T., ISHIKAWA, M., YAMASAKI, T., TABATA, Y. & OCHI, M. 2010. Efficacy of bone marrow mononuclear cells to promote bone regeneration compared with isolated CD34+ cells from the same volume of aspirate. *Artif Organs*, 34, 594-9.
316. YIN, X., LI, J., XU, J., HUANG, Z., RONG, K. & FAN, C. 2013. Clinical assessment of calcium phosphate cement to treat tibial plateau fractures. *J Biomater Appl*, 28, 199-206.
317. YU, D., LI, Q., MU, X., CHANG, T. & XIONG, Z. 2008. Bone regeneration of critical calvarial defect in goat model by PLGA/TCP/rhBMP-2 scaffolds prepared by low-temperature rapid-prototyping technology. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 37, 929-34.
318. ZANCHETTA, P., LAGARDE, N., UGUEN, A. & MARCORELLES, P. 2012. Mixture of hyaluronic acid, chondroitin 6 sulphate and dermatan sulphate used to completely regenerate bone in rat critical size defect model. *J Craniomaxillofac Surg*, 40, 783-7.
319. ZARYANOV, A. V., PARK, D. K., KHALIL, J. G., BAKER, K. C. & FISCHGRUND, J. S. 2014. Cement augmentation in vertebral burst fractures. *Neurosurg Focus*, 37, E5.
320. ZHANG, N., ZHAI, D., CHEN, L., ZOU, Z., LIN, K. & CHANG, J. 2014. Hydrothermal synthesis and characterization of Si and Sr co-substituted hydroxyapatite nanowires using strontium containing calcium silicate as precursors. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 37, 286-91.
321. ZHANG, X., CAI, Q., LIU, H., HENG, B. C., PENG, H., SONG, Y., YANG, Z. & DENG, X. 2012. Osteoconductive effectiveness of bone graft derived from antler cancellous bone: an experimental study in the rabbit mandible defect model. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 41, 1330-7.
322. ZHOU, C., HONG, Y. & ZHANG, X. 2013. Applications of nanostructured calcium phosphate in tissue engineering, *Biomater. Sci*. 1, 1012.
323. ZHOU, H. & LEE, J. 2011. Nanoscale hydroxyapatite particles for bone tissue engineering. *Acta Biomater*, 7, 2769-81.
324. ZHU, X. S., ZHANG, Z. M., MAO, H. Q., GENG, D. C., ZOU, J., WANG, G. L., ZHANG, Z. G., WANG, J. H., CHEN, L. & YANG, H. L. 2011. A novel sheep vertebral bone defect model for injectable bioactive vertebral augmentation materials. *J Mater Sci Mater Med*, 22, 159-64.
325. ZWINGENBERGER, S., NIEDERLOHMANN, E., VATER, C., RAMMELT, S., MATTHYS, R., BERNHARDT, R., VALLADARES, R. D., GOODMAN, S. B. & STIEHLER, M. 2013. Establishment of a femoral critical-size bone defect model in immunodeficient mice. *J Surg Res*, 181, 7-14.

ملخص:

البحث عن بديل العظام المثالي لعلاج عيوب العظام الكبيرة، والتأخير من الاتحاد وعدم الاتحاد لا يزال يشكل تحدياً لجراحي العظام والباحثين. تم إجراء العديد من الدراسات حول تجديد العظام. لكل منها مزاياه وعيوبه. كان الغرض من هذه الدراسة تقييم تأثير مزيج من مسحوق هيدروكسي أباتيت مع نخاع العظم الذاتي على إصلاح الخلل القطعي في الكعبرة في نموذج الأرنب. تم استخدام ستة وثلاثون أرنب ذكر بالغ من فصيلة نيوزيلندا ذو وزن متوسط يقدر بـ 2.25 كغم في هذه الدراسة. تم إنشاء عيب من 5 ملم في منتصف رمح الكعبرة، لملئها بمسحوق هيدروكسي أباتيت في المجموعة الضابطة "HA" (ن = 18) وبمزيج من مسحوق هيدروكسي أباتيت ونخاع العظم الذاتي في المجموعة الإختبار "HA + MO" (ن = 18). وقد رُوِّقبت هذه الحيوانات يومياً لرصد الشفاء بواسطة فحص الموقع الجراحية ثم تم التضحية بستة أرانب من كل مجموعة بعد 30، 60 و 90 يوماً من العملية الجراحية لإجراء تقييم شعاعي ونسيجي لموقع العيب. كشفت النتائج تجديد عظام أسرع وأفضل في مجموعة الاختبار: حيث أن العيب العظمي امتلأ بسرعة وبشكل كامل بنسيج عظمي ناضج بعد 90 يوماً. بناءً على هذه النتائج، يمكننا أن نستنتج أن إضافة نخاع العظم لهيدروكسي أباتيت مسؤولة عن عملية تجديد أفضل مما يؤدي إلى ملء كامل للعيب.

كلمات البحث: نخاع العظام الذاتي، تجديد العظام، هيدروكسي أباتيت، أرنب، عيب الكعبرة.

Résumé :

La recherche d'un substitut osseux idéal pour traiter les grands défauts osseux, les retards d'union et les pseudarthroses demeure un défi pour les chirurgiens orthopédistes et les chercheurs. Plusieurs études ont été menées sur la régénération osseuse ; chacun a ses propres avantages et inconvénients. Le but de la présente étude était d'évaluer l'effet d'une combinaison de poudre d'hydroxyapatite avec un aspirât de moelle osseuse autologue sur la réparation d'un défaut segmentaire radial chez un modèle de lapin. Trente-six lapins Néo-Zélandais mâles et adultes avec un poids moyen de 2,25 kg ont été utilisés dans cette étude. Un déficit de 5 mm a été créé au milieu de la diaphyse radiale, et a été rempli avec une poudre d'hydroxyapatite dans le groupe témoin « HA » (n = 18) et avec une combinaison de poudre d'hydroxyapatite et d'aspirât de moelle osseuse autologue dans le groupe test « HA+MO » (n = 18). Les animaux ont été observés tous les jours pour surveiller la guérison par inspection du site chirurgical et six lapins de chaque groupe ont été sacrifiés à 30, 60 et 90 jours postopératoires pour effectuer une évaluation radiographique et histo-pathologique du site défectueux. Les résultats obtenus ont révélé une régénération osseuse meilleure et plus rapide dans le groupe test : puisque le défaut a été rapidement et complètement rempli avec du tissu osseux mature après 90 jours. Sur la base de ces résultats, nous pourrions en déduire que l'ajout d'un aspirât de moelle osseuse à l'hydroxyapatite est responsable d'un meilleur processus de régénération conduisant à un remplissage complet du défaut.

Mots-clés : Aspirât de moelle osseuse autologue, régénération osseuse, hydroxyapatite, lapin, déficit radial.

Abstract :

Finding an ideal bone substitute to treat large bone defects, delayed union and pseudarthroses remains a challenge for orthopedic surgeons and researchers. Several studies have been conducted on bone regeneration; each has its own advantages and disadvantages. The aim of the present study was to evaluate the effect of a combination of hydroxyapatite powder with autologous bone marrow aspirate on the repair of segmental radial defect in a rabbit model. Thirty-six male and adult New-Zealand rabbit with a mean weight of 2.25 kg were used in this study. An 5 mm defect was created in the mid-shaft of the radius, to be filled with hydroxyapatite powder in the control group « HA » (n=18), and with a combination of hydroxyapatite powder and autologous bone marrow aspirate in the test group « HA+MO » (n=18). Animals were observed daily for healing by inspection of surgical site and six rabbits of each group were sacrificed at 30, 60 and 90 postoperative days to perform a radiographic and histopathologic evaluation of defect site. Obtained results revealed a better and more rapid bone regeneration in the test group: since the defect was rapidly and completely filled with mature bone tissue after 90 days. Based on these findings, we could infer that adding a bone marrow aspirate to hydroxyapatite is responsible of a better regeneration process leading to a complete filling of the defect.

Key words: Autologous bone marrow aspirate, Bone regeneration, Hydroxyapatite, Rabbit, Radial defect.