

---

# Devenir à long terme des allogreffes osseuses et ostéo-cartilagineuses massives cryopréservées

---

D.Poitout<sup>1</sup>, E. Nouaille de Gorce<sup>2</sup>,  
P. Tropiano<sup>1</sup>, B. Ripoll<sup>1</sup>, G.Marck<sup>1</sup>

1 Service de Chirurgie Orthopédique et de Traumatologie  
Pr Dominique POITOUT  
CHU Marseille NORD  
Chemin des BOURRELY  
13015 MARSEILLE – France

2 Etablissement Français des Greffes  
Responsable Banque de Tissus de MARSEILLE  
147 Bd BAILLE  
13006 MARSEILLE

Correspondance :

Pr Poitout  
Service de Chirurgie Orthopédique et de Traumatologie  
Pr Dominique POITOUT  
CHU Marseille NORD  
Chemin des BOURRELY  
13015 MARSEILLE – France

---

## Résumé

Depuis 1978, la Banque de Tissus de Marseille a conservé 6 762 fragments osseux dont 458 allogreffes massives (445 ont été utilisées)

Ces greffons conservés dans l'azote liquide, avec un cryopréservateur et non stérilisés par la suite (par irradiation) ont été utilisés pour reconstruire des pertes de substances après exérèse tumorale, pertes de substances traumatiques ou disparition osseuse liée à la chirurgie prothétique itérative.

Le recul pour les 259 patients opérés entre 1983 et 1993 est de 10 ans et l'on observe une intégration tout à fait satisfaisante du greffon dans 82% des cas.

Les problèmes inflammatoires immunologiques ont été observés dans 14% des cas et ils furent souvent confondus avec un sepsis amicrobien qui réagit bien à l'utilisation des immunosuppresseurs.

Le greffon a dû être remplacé par un autre dans 4,2% des cas et par une prothèse articulaire en cas de greffe ostéo-articulaire dans 6,4% des cas

**Mots clés :** Allogreffe / greffe d'os massif / greffe cartilagineuse / intégration des greffons/ zone de jonction / revascularisation / complications des allogreffes

---

## Abstract

### Long-term results in massive bone and osteo-chondral allografts

Since 1978, the Bone Tissue Bank of Marseille has stored 6 762 bone pieces, 458 were massive allografts (445 have been used)

These grafts, stored in liquid nitrogen with a cryo-preservator are not secondarily sterilized by irradiation. They were used to rebuild lack of substance after tumoral exeresis, traumatic lack of substance, or iterative reconstructive surgery

Between 1983 and 1993, 259 patients were operated on. With a 10-year follow-up, good integration was observed in 82% of the cases.

Inflammatory problems have been seen in 14% of the cases, they were often confused with infection without germs, good results were obtained after using immunosuppressive treatment.

Replacement of the graft was necessary in 4, 2% of the cases, an articular prosthesis had to be used in 6, 4% of the cases

**Key words :** Massive allografts / osteochondral allografts / bone integration / junction areas / revascularisation / allografts complications

---

## INTRODUCTION

Les greffons utilisés depuis le début de notre expérience sont des greffons massifs conservés dans le froid profond dans la banque de Tissus de Marseille et qui ne sont pas stérilisés secondairement.

Cette technique nous a donné d'excellents résultats qui sont corroborés par la survie et l'intégration à long terme des greffons qu'ils soient d'os cortical, d'os spongieux ou de cartilage.

Si les cellules osseuses n'ont théoriquement pas besoin d'être conservées, les structures architecturales de l'os doivent être préservées au même titre que les cellules cartilagineuses, celles-ci ne sont pas remplacées par des cellules de l'hôte et, du fait de leur production de colla-

gène sur lequel se fixent les protéoglycans hydrophiles, garant de la turgescence cartilagineuse, doivent continuer à assurer leur fonction même très longtemps après que le greffon ait été intégré dans l'os.

---

## MATERIEL ET METHODE

### 1. Les techniques de conservation

Ces techniques sont déterminantes pour la bonne conservation des tissus et sont capitales pour l'intégration de ceux-ci. Toute utilisation incomplète de ces techniques entraînera invariablement une destruction à plus ou moins long terme des tissus placés dans une atmosphère de congélation.

Nous avons choisi dès le début de notre pratique de conserver les allogreffes à  $-196^{\circ}\text{C}$  dans de l'azote liquide après une imbibition de 4 heures dans un cryo-protecteur, ce qui a pour but d'éviter la formation de macrocristaux de glace à l'intérieur des cellules.

### **Les cryo-préservateurs**

Plusieurs produits ont été testés au début de notre expérience, par exemple le simple sérum, mais c'est le DMSO à 10% qui pénètre le mieux dans les cellules du fait de son faible poids moléculaire, et qui donne les meilleurs résultats sur le pourcentage de cellules survivantes

Le DMSO à 10% n'évite pas la formation de microcristaux de glace dans la cellule, mais évite que ceux-ci ne se recombinaient en macrocristaux, qui eux, vont faire éclater les structures cellulaires, comme d'ailleurs les autres macrostructures osseuses.

Ce DMSO est un produit toxique pour les tissus à température ambiante et doit donc être refroidi jusqu'à moins de 8 degrés pour être mis en contact avec les tissus qui eux-mêmes doivent être réfrigérés

Si l'on place les tissus directement dans une solution de DMSO à température ambiante il y aura une destruction cellulaire, et dans le cas du cartilage articulaire une destruction du greffon.

Le DMSO a, par ailleurs, un point Eutectique, situé aux environs de  $-60^{\circ}\text{C}$ . Cela veut dire que ce produit, qui empêche la formation de macrocristaux de glace est surtout efficace au-dessous de cette température. En effet, même si l'eau est liquide en très faible quantité à ces températures très basses, il en existe toujours un peu et le fait que le DMSO ait son point Eutectique à  $-60^{\circ}\text{C}$  indique qu'au-dessus de cette température il ne pourra pas empêcher toute l'eau liquide de se transformer en macro-cristaux de glace et donc de détruire une part de plus en plus importante des cellules immergées dans ce produit.

Les congélateurs qui atteignent au maximum une température de  $-80^{\circ}\text{C}$  doivent être particulièrement surveillés car toute élévation de température (ouverture de la porte, arrêt de courant) fait entrer ce produit dans sa phase critique

### **La descente en température**

C'est aussi un élément déterminant de la conservation cellulaire. On ne peut pas seulement plonger les tissus dans l'azote liquide, car ils seraient brûlés et détruits. Il faut descendre progressivement leur température.

Un programmeur de descente en température est nécessaire pour que la température descende d'abord doucement, puis plus rapidement.

La courbe optimale est la suivante :  $-2^{\circ}\text{C}$  par minute à partir de  $+6^{\circ}\text{C}$ ,  $-5^{\circ}\text{C}$  par minute ensuite jusqu'à  $-140^{\circ}\text{C}$ . Puis le fragment est placé en vapeur d'azote à  $-150^{\circ}\text{C}$  ou directement dans la cuve d'Azote liquide à  $-196^{\circ}\text{C}$

L'efficacité de cette programmation de la descente en température est attestée par le pourcentage de cellules survivantes après décongélation. Les études portèrent sur l'étude de la survie des cellules cartilagineuses qui furent soumises à des cryo-préservateurs différents et des courbes de descente en température de forme et de rapidité

variables.

La survie des cellules était attestée par leur possibilité, après décongélation, à fixer le bleu de méthylène et à produire de novo des protéoglycans.

Le pourcentage de cellules vivantes après décongélation allait de 20% à plus de 82% lorsque nous utilisons la méthodologie susmentionnée.

### **La décongélation**

C'est une étape importante dans la conservation des cellules osseuses et cartilagineuses. Elle doit, au contraire de la descente en température, être rapide pour que les cellules retrouvent rapidement une fonction normale et que les macrocristaux de glace ne puissent pas se former.

De plus, le séjour dans du sérum chaud ou du Ringer-Lactate, à  $40^{\circ}\text{C}$ , durant environ 30 minutes permet à la greffe de se débarrasser du DMSO toxique

Le greffon peut être utilisé en moyenne dans l'heure qui suit sa sortie du container d'azote liquide.

En cas de nécessité de transport, il peut être décongelé à la banque de tissus si son utilisation se fait dans les heures suivant celle-ci, ou n'être décongelé qu'en salle d'opération, ce qui semble être préférable pour des raisons de commodité technique. Le transport s'effectue alors dans un container d'azote liquide ou dans une boîte contenant de la glace carbonique.

Si on prévoit de n'utiliser qu'une partie du greffon, il est possible, après avoir changé de blouse et de gants, avec des instruments neufs et sur une table opératoire spécifique et isolée, de couper le greffon encore congelé et de renvoyer dans le container la partie inutile du greffon, qui servira pour un autre patient. (Les fragments osseux sont tellement rares et précieux!)

## **2. Stérilité primaire ou stérilisation secondaire ?**

Ce fut pendant longtemps un sujet de polémique. Actuellement, une ligne générale de bonnes pratiques est généralement reconnue.

### **Les prélèvements doivent être stériles. Ils ne doivent pas être faits à la morgue !**

En effet, il est techniquement extrêmement difficile d'effectuer des prélèvements parfaitement stériles dans une pièce de la morgue, même bien aménagée et surveillée.

Le matériel nécessaire pour effectuer ces prélèvements, comme le personnel, est situé, en règle, dans un autre endroit de l'hôpital et il est parfois difficile de le faire transporter à la morgue

Par ailleurs les prélèvements multi-organes s'effectuent en salle d'opération et comme il est rare que de simples prélèvements osseux soient effectués, tout nous incite à effectuer ces prélèvements osseux en salle d'opération orthopédique.

Par conséquent, les seuls prélèvements qui soient véritablement réalisables et sûrement stériles sont ceux qui sont effectués en salle d'opération.

Pour éviter qu'après des prélèvements multiples l'intervention osseuse ne soit contaminée, car étant en règle

pratiquée en dernier, il paraît être nécessaire de transférer le corps dans une autre salle d'opération stérile, après que les autres équipes aient effectué les prélèvements souhaités.

Le sujet est de nouveau rasé et la paroi refaite avec une solution iodée, les champs replacés comme pour une opération orthopédique habituelle, de nouveaux instruments sont donnés au chirurgien.

Aucune faute d'asepsie n'est tolérable, car les germes que l'on enverra avec la pièce à congeler reviendront identiques et aussi virulents après décongélation.

Des prélèvements seront effectués, sur chacun des greffons, sur le sang, sur les urines, dans les poumons et sur toute autre sérosité suspecte, afin d'éliminer l'existence ou même le simple risque d'une infection patente.

### **Le conditionnement des greffons**

Il est très important et les sacs en plastique GAMBRO\* semblent actuellement être les mieux adaptés à la conservation de greffons de différentes tailles dans l'azote liquide.

Ils sont résistants, faciles à fermer de façon étanche, ne relarguent pas de produits toxiques et résistent bien aux manipulations et au froid profond. Leur structure permet de plus d'introduire le cryopréservateur et les antibiotiques de même qu'elle permet d'effectuer régulièrement des prélèvements bactériologiques.

Afin de manipuler facilement le greffon en salle d'opération après décongélation ou au cours de celle-ci, 2 sacs placés l'un sur l'autre stérilement, permettent la manipulation stérile du 2ème sac qui contient le greffon, sans difficulté majeure.

Les têtes fémorales, sources de tissus spongieux, sont quant à elles prélevées dans des boîtes en plastique stériles puis placées dans de petits sacs GAMBRO\* dans la Banque d'Os après préparation

### **L'irradiation des greffons.**

L'irradiation des greffons ne paraît pas être une méthode à retenir

En effet, pour que la stérilisation soit efficace il faut atteindre une dose de rayons B ou Y d'au moins 2,6 Mrads, dose légale en France. Mais cette dose doit être plus importante si l'on se trouve en présence de produits situés en phase pâteuse dans un soluté congelé, comme c'est le cas des greffons congelés.

Il est donc plus facile d'effectuer l'irradiation du tissu frais, mais il faut attendre d'en avoir assez, et il est alors difficile de conserver les os et surtout le cartilage dans de bonnes conditions pendant plusieurs heures ou jours !

Sinon il faut accepter de congeler l'os, puis de le décongeler, puis de l'irradier, puis de le recongeler. Nous n'accepterions pas que ces manipulations soient effectuées sur notre nourriture, alors sur des produits servant à des greffes humaines !

Par ailleurs, si l'on s'intéresse aux mécanismes d'action de la stérilisation par irradiation, on remarque que les rayons sont efficaces quand ils détruisent les molécules d'ARN ou d'ADN virales par choc direct ou par transfor-

mation des liquides péri-viraux. Il faut donc des doses importantes d'électrons ou de rayons pour détruire toutes les particules virales, et surtout celles intracellulaires.

La destruction des virus ne sera jamais totale et ce n'est qu'un pourcentage, certes de plus en plus important de virus que l'on détruira en augmentant la dose d'irradiation, mais il en restera toujours et ce n'est qu'à des doses prohibitives que l'on peut être sûr d'avoir stérilisé toute la pièce.

Les chaînes protéiques constituant l'architecture de l'os et du cartilage, de même que toutes les cellules cartilagineuses, seront détruites et le greffon ne sera plus qu'un morceau de craie inerte.

Le cartilage dont les cellules seront détruites ne pourra conserver ses molécules d'eau et du fait des réactions immunologiques en rapport avec l'élargissement des mailles de sa couche superficielle se désagrègera rapidement, source d'arthrose et d'instabilité.

Il ne faut pas alors s'étonner que le greffon ainsi traité ne s'intègre pas aux structures sur lesquelles il est greffé, et qu'il se délite progressivement, à la différence des greffons simplement conservés dans le froid profond, sans adjonction de stérilisation secondaire.

Ces 2 types de greffons sont de qualité très différente et ne peuvent en rien être comparés.

### **La stérilisation par la chaleur**

Celle-ci ne nous paraît pas être non plus une méthode recommandable pour des fragments osseux devant supporter une charge parfois importante.

Si la stérilité des greffons par cette méthode n'est pas contestable, le procédé employé entraîne une destruction de toutes les cellules, ainsi que la coagulation de toute l'architecture protéique qui est ainsi détruite.

On ne peut plus de ce fait utiliser ces greffons dans des zones soumises à des contraintes, et les greffons spongieux traités de cette manière ne seront utilisés que dans le cas du comblement des kystes osseux ou de petites pertes de substances ostéosynthésées par ailleurs

- D'autres procédés ont été proposés

Ils n'ont pour la plupart pas fait la preuve de leur efficacité tant dans le domaine de leur résistance mécanique (lyophilisation) que dans celui de leur intégration (céramisation). L'utilisation de CO<sub>2</sub> supercritique par exemple, semble être une voie de recherche intéressante mais qui n'est pas encore utilisée en pratique courante.

### **3. Indications**

Les greffons peuvent être utilisés dans différentes circonstances en fonction de leur nature.

Il faut cependant souligner l'absence de possibilité d'activité ostéoformatrice pour ces greffons quels qu'ils soient, puisqu'ils sont constitués d'os mort.

Ce qui sera greffé ne sera toujours qu'un fragment de tissu osseux dévascularisé qui ne peut, au mieux, qu'être une trame et un support à la recolonisation par les cellules de l'hôte.

Les greffons massifs corticaux ou cortico-spongieux ayant une tenue mécanique propre et une résistance satisfaisante pourront être utilisés en remplacement de segments osseux volumineux

Les greffons cartilagineux, doivent contenir des cellules cartilagineuses vivantes, qui garderont la trophicité du cartilage

Dans quels cas pourrions-nous proposer l'utilisation de ces greffons ? :

#### **Les greffons spongieux**

Ils sont surtout utilisés :- pour combler des pertes de substances de petit volume (kystes, tumeurs bénignes curetées) ; -pour compléter un volume insuffisant de greffons autologues (Papineau) ; -surtout sous forme de coins d'ostéotomies (fémorale ou tibiale) ; et sous forme de comblement en cas de reprise de cotyle lors de la mise en place des prothèses totales de hanche. Là où les têtes fémorales de banque sont conformées grâce à une fraise inversée aux dimensions du forage du cotyle et vissées dans ce defect. Une cupule est alors cimentée après aménagement et conformation des têtes de banques remplissant le cotyle.

#### **Les greffons corticaux**

Ils peuvent être nécessaires pour reconstruire : -un corps vertébral et l'on utilisera surtout une portion du col fémoral ; -un fragment de diaphyse pour remplacer une perte de substance traumatique ou tumorale ; -une portion plus ou moins importante d'extrémité supérieure ou inférieure d'un os long (fémur, tibia, humérus) ayant due être réséquée à la suite de l'exérèse d'une tumeur ou après perte de substance traumatique ou chirurgie itérative. Des greffons de taille comparable à la perte de substance mesurée en peropératoire servent à manchonner une prothèse métallique massive de reconstruction.

#### **Les greffons cortico-spongieux**

Ils sont extrêmement utiles pour reconstruire : -le cotyle lorsqu'il est largement détruit par des interventions répétées ; -le bassin, en cas de tumeurs siégeant, tant au niveau de l'aile iliaque que du cadre obturateur ; -les épiphyses et métaphyses des os longs quand on peut conserver le cartilage articulaire ; -les vertèbres quand elles ont pu être prélevées.

#### **Les greffons ostéo-cartilagineux**

Ils sont utilisés de plus en plus fréquemment à la place de prothèses métalliques, que ce soit : -le genou, lieu de prédilection de l'utilisation des allogreffes cartilagineuses, surmontées de plus ou moins de tissus spongieux. Les reconstructions de fragments cartilagineux de condyle, de trochlée ou de plateau tibial sont devenues en quelques années d'utilisation courante, et donnent d'excellents résultats à distance, -au niveau du cotyle, l'utilisation de fragments ostéo-cartilagineux plus ou moins volumineux permet d'éviter la mise en place de prothèses métalliques. Ils s'intègrent de façon tout à fait satisfaisante, sans que des signes cliniques ou radiologiques d'arthrose n'apparaissent ; -le pilon tibial peut également être remplacé par une greffe ostéochondrale massive avec souvent un excellent résultat fonctionnel.

En revanche les articulations des membres supérieurs, du fait de l'absence de contraintes qui s'exercent dessus, et de la laxité articulaire qui se produit, ne donnent pas les résultats escomptés.

#### **Les greffes capsulaires, ligamentaires et tendineuses**

Ces greffons posent le problème de leur revascularisation et donc à terme de leur tenue mécanique, liée à leur élasticité ou à leur nécrose.

En effet, les greffons comportant une partie de capsule ou de ligament attaché à l'os et refixés sur les ligaments ou l'os du receveur semblent donner initialement, durant les mois qui suivent leur mise en place, une bonne stabilité à l'articulation.

Mais du fait de l'absence de leur vascularisation ou de leur nécrose, ils se distendent progressivement, ce qui est source de laxité articulaire et donc d'altération du cartilage, du fait de la fonction progressivement non physiologique de l'articulation.

La seule exception semble être le tendon rotulien qui s'attache fermement sur la tubérosité tibiale antérieure et permet ainsi de réaliser des sutures solides sur l'appareil extenseur du receveur.

Il est certainement préférable de refixer, quand cela est possible, les ligaments ou la capsule du receveur sur l'allogreffe que l'inverse, c'est à dire les ligaments ou la capsule de l'allogreffe sur l'os du receveur.

Quant à l'utilisation de tendons conservés, ceux-ci n'ont également pas de tenue mécanique suffisante pour être utilisés isolément.

Il est donc nécessaire en cas d'utilisation de ligaments, capsules, ou de tendons conservés de les doubler d'emblée par un ligament artificiel, qui cassera sans doute dans les 5 années après leur mise en place, mais aura protégé leur revascularisation et prévenu leur distension.

### **4. Modalités de l'ostéosynthèse**

Il est capital, lorsque l'on veut faire une étude sur le devenir des greffons, de bien étudier les modalités de l'ostéosynthèse réalisée et d'analyser la qualité du contact entre l'os receveur et l'allogreffe, ainsi que la stabilité du montage, de même que l'environnement musculaire de celui-ci.

En effet, si le contact entre les extrémités osseuses n'est pas parfait il n'y aura pas de creeping-substitution, mais la formation d'une pseudarthrose.

Un clou centro-médullaire, la queue d'une prothèse, ou une plaque mise en compression permettront d'avoir un contact optimal, si les coupes osseuses sont parfaitement congruentes

Si une zone du greffon n'est pas protégée par un clou ou une plaque, on constatera la survenue d'une fracture du greffon à la jonction os-plaque

Il est paradoxal de constater qu'au niveau d'une fracture de l'os de banque, celle-ci consolide dans des délais seulement un peu plus longs.

En cas de greffon ostéo-cartilagineux, il sera nécessaire, en plus de greffer un cartilage cryo-préservé, de mettre en

place ce greffon supporté par un tissu spongieux de bonne qualité, en compression, sur un tissu receveur spongieux très bien vascularisé.

Le tissu spongieux s'intègre très vite si la synthèse est correcte ; beaucoup plus vite qu'un os cortical, qui du fait de sa structure, mettra beaucoup plus de temps à être pénétré par les vaisseaux et les cellules de l'hôte

Souvent, quand on parle de complications (fractures du greffon, pseudarthrose, lyse etc...) celles-ci sont en fait liées à un déficit du matériel d'ostéosynthèse et à un mauvais montage. Le greffon n'y est souvent pour rien !

## 5. Les chiffres

Dans cette étude nous avons souhaité analyser les cas de greffes spongieuses et massives corticales et ostéo-chondrales mises en place entre 1983 et 1993.

Les résultats des patients plus récents confirment tout à fait ces constatations.

Depuis que la Banque de tissus a été créée en 1978 à Marseille, 6762 fragments osseux dont 458 allogreffes massives ont été prélevés et conservés.

Seuls 5633 greffons ont été utilisés (83,3 %), dont 445 greffons massifs (97,1 %)

Si l'on étudie la période allant de 1983 à 1993 (recul de 10 à 20 ans !) on note que l'activité de prélèvements fut de 3978 greffons spongieux et de 270 os massifs. L'activité de greffe est quant à elle de 2658 greffons spongieux et de 259 greffons massifs.

C'est seulement cette période qui a été prise en compte pour l'analyse des résultats.

Selon les indications :

Les greffons spongieux ont été utilisés : sur 2658 greffons : -pour reconstruire un cotyle : 1235 cas ; -pour combler une cavité : 586 cas ; -en tant que coin d'ostéotomie ; 213 cas ; -divers (Papineau, fond de cotyle, greffes morcelées) : 624 cas ;

Les os massifs ont été utilisés : sur 259 greffons : -pour reconstruire une diaphyse / métaphyse / épiphyse : 79 cas (31 fémurs, 27 tibias, 19 humérus, 1 radius, 1 cubitus) ; -pour reconstruire une articulation : 53 cas (16 fémurs inférieurs (condyles, trochlée), 10 tibias supérieurs (plateaux tibiaux, extrémité supérieure du tibia), 4 genoux totaux (avec LCA, LCP, ménisque, rotule et capsule), 4 rotules, 4 tibias inférieurs, 9 épaules, 7 coudes) ; -pour reconstruire un bassin : 34 cas dont 17 cotyles (4 cotyles ostéo-articulaires (sans Prothèse de hanches), 13 cotyles + PTH, 12 héli-bassins + PTH, 3 ailes iliaques dont une + 2 héli-vertèbres, 2 cadres obturateurs) ; -pour manchonner une prothèse de reconstruction : 91 cas (52 fémurs supérieurs, 28 fémurs inférieurs, 11 tibias supérieurs) ; -divers : 2 cas

Selon les étiologies :

Les patients traités avec ces greffes relèvent principalement de 3 étiologies différentes :

-Tumorales : et l'on retrouve dans plus de 50% des cas des chondrosarcomes au niveau du bassin ou des tu-

meurs d'EWING. Au niveau du fémur et du tibia, les étiologies sont plutôt des sarcomes ostéogéniques ou également des EWING.

Il est rare de traiter des tumeurs bénignes par des résections-greffes massives sauf peut-être des tumeurs à cellules géantes de grade 1 ou 2 ;

-Traumatiques : elles s'observent plutôt au niveau des membres inférieurs, bien que des traumatismes des membres supérieurs fassent également partie de notre statistique (bras de portière). Les pertes de substances osseuses s'accompagnent habituellement de vastes délabrements cutané-musculaires septiques, qui nécessitent d'abord une stérilisation de la plaie puis un geste de couverture musculo-cutanée avant de réaliser secondairement après cicatrisation, une greffe osseuse en décollant le lambeau musculo-cutané.

-Chirurgie itérative : les prothèses de hanche ou de genou qui ont été placées il y a 15 ou 20 ans ont tendance à se desceller, et certaines de ces interventions itératives se compliquent de sepsis qui nécessite d'abord l'ablation complète du matériel, l'exérèse de tout le tissu osseux nécrotique, puis une fois que la VS et la PCR sont normalisées, le membre étant placé sous traction, la mise en place d'une nouvelle prothèse ; en général une prothèse de reconstruction manchonnée par de l'os de banque sur laquelle les muscles peuvent se refixer .

## RESULTATS

### 1. Devenir du tissu greffé :

Greffon osseux

-Immunologie

Seule l'architecture de l'os est greffée. Les cellules osseuses et médullaires ont été ou vont être détruites. Ce n'est pas pour autant que les réactions inflammatoires et les réactions de rejet vont être inexistantes. On les trouve dans 14% des cas et surtout quand on greffe une grande quantité de matériel et particulièrement des tissus immunocompétents comme le sont la synoviale ou la capsule et les ligaments (un peu moins). Ces phénomènes immunologiques de rejet, car c'est bien de cela qu'il s'agit, sont parfois confondus avec une infection du greffon. Ils se traduisent en effet par un épanchement séreux péri-osseux parfois de quantité abondante aboutissant à une fistulisation cutanée. Cette fistule parfois très productive accompagne la survenue d'une lyse progressive du greffon

Si des prélèvements bactériologiques sont effectués sur les compresses ou sur l'orifice cutané de cette fistule, on retrouve des germes qui sont en fait en rapport avec la pullulation des germes saprophytes cutanés. Les prélèvements opératoires profonds sont stériles et le liquide contient des groupes HLA immuns non spécifiques.

Un traitement immunosuppresseur comme le SANDIMUM\* ou comme la chimiothérapie utilisée dans le traitement des ostéosarcomes ou des sarcomes d'EWING permet de diminuer ou de stopper ces manifestations.

- Biologie

Le greffon, une fois décongelé et fixé en bonne position

au contact intime de l'os du receveur (sans interposition de ciment par exemple), et la jonction allogreffe-os receveur manchonnée d'autogreffes, va progressivement s'intégrer au squelette, surtout s'il est entouré d'un manchon musculaire de bonne qualité.

A terme, la jonction entre l'os receveur et le greffon ne sera plus visible. C'est ce que nous avons constaté dans 89,8% des cas.

En effet la vascularisation du greffon va provenir des muscles adjacents, et les micro-vaisseaux vont pénétrer directement dans la partie superficielle de la corticale, perpendiculairement à celle-ci.

Un pseudo-périoste va entourer le greffon. Il faudra d'ailleurs le ruginer si l'on veut enlever un matériel d'ostéosynthèse

Cette notion est particulièrement intéressante pour ce qui concerne la refixation de certains muscles sur le greffon (comme par exemple le moyen fessier).

Cette refixation musculaire, en faisant disparaître la chambre péri-prothétique, diminue le bras de levier qui existait à la jonction entre une prothèse de reconstruction métallique massive et sa queue fixée dans l'os.

Les descellements de la queue prothétique sont exceptionnels : à peine 1,2 %, et nous n'avons pas observé de rupture de la queue d'une prothèse de reconstruction.

#### -Biomécanique

Quand on utilise un os congelé, celui-ci, même après décongélation, est plus dur, mais plus fragile qu'un os normal (110 % à 125%), il faut donc être très prudent quand on effectue un alésage pour introduire un clou centro-médullaire ou que l'on fore un trou de vis.

L'introduction du clou centro-médullaire ou de la queue de la prothèse doit se faire à frottement très faible si l'on ne veut pas casser brutalement l'os de banque.

Dans le cas de l'utilisation d'un os de banque manchonnant une prothèse de reconstruction, il nous paraît nécessaire de cimenter la prothèse tant dans l'os de banque que dans l'os du receveur.

L'utilisation d'une prothèse recouverte d'hydroxy apatite et non cimentée est une hérésie puisqu'il n'y a pas de revascularisation de la partie intra-médullaire de l'os, et donc aucune possibilité de fixation de la prothèse sur cet os mort et qui le restera sans doute un certain temps.

Dans les 8-18 mois après la greffe, le greffon passe par une phase de diminution de sa résistance mécanique, liée à la pénétration des vaisseaux dans les couches superficielles de la greffe. Il faut recommander la prudence au patient qui devra éventuellement reprendre des cannes anglaises.

Après 2 ans, le greffon commence à bien être intégré à l'os du receveur. Cette intégration n'est cependant que très superficielle. Ce ne sera qu'après plusieurs années de l'on sera certain de la solidité du membre et encore ! L'ablation du matériel ne pourra être pratiquée, si elle est absolument nécessaire, qu'après la 5e année. Certains auteurs auraient remarqué une lyse progressive du greffon, après quelques années (en particulier au niveau du

bassin). Il faut signaler que ces greffons sont en général des greffons stérilisés secondairement par irradiation ou par la chaleur. Ces greffons, dont l'architecture a été détruite, ne possèdent plus la résistance mécanique suffisante pour supporter les charges appliquées sur eux et surtout ne donnent pas aux cellules de l'hôte la possibilité de reconstruire une architecture solide comparable à celle d'un os normal.

Cette constatation nous a fait persister dans la voie de la conservation de greffons stérilement prélevés dans de l'azote liquide, sans autre mode de stérilisation secondaire

#### Greffons cartilagineux

- Immunologie :

Le cartilage peut être greffé s'il est greffé en totalité, si ses cellules ne sont pas détruites et si l'hydrophilie des protéoglycans est conservée. C'est cette turgescence qui diminue la taille des pores superficiels du cartilage et empêche les macroglobulines immunologiquement compétentes de pénétrer au sein de ce cartilage et de détruire les chondrocytes.

Substance immunologiquement privilégiée puisque non vascularisée, comme la cornée, le cartilage sain n'induit aucune réaction immunologique de rejet.

- Biologie :

N'ayant pas besoin de vascularisation pour survivre, et les chondrocytes inclus dans le cartilage ayant un turnover de plusieurs centaines d'années, le cartilage garde une structure et une tenue mécanique tout à fait étonnantes, à condition que ses cellules soient préservées lors des épisodes de conservation.

Le procédé que nous utilisons donne environ 80% de survie cellulaire, ce qui permet de retrouver plusieurs années et même 20 ans après la greffe des cellules vivantes et un cartilage d'épaisseur satisfaisante.

Les cellules contenues dans ce cartilage et que nous retrouvons lors des biopsies endoscopiques ou lors de l'ablation de matériel, sont les cellules initialement greffées puisque aucune cellule de l'hôte ne peut venir les coloniser de l'extérieur (Tissu avasculaire).

- Biomécanique :

Le cartilage sain et jeune est turgescent du fait de la grande quantité de molécules d'eau fixées sur les glyco-amino-glycans situés dans la substance fondamentale constituant ce tissu

La greffe d'une portion de cartilage complète avec ses diverses structures est donc une nécessité, et en particulier les cellules qui ont la charge de fixer ces molécules d'eau sur les glyco-protéines.

Il est également capital que les conditions biomécaniques articulaires soient parfaitement respectées car à la moindre anomalie, comme par exemple lors de la survenue d'une laxité articulaire, le cartilage se détruit très rapidement, beaucoup plus rapidement qu'un cartilage normal .

D'où la nécessité de doubler les ligaments greffés par des ligaments artificiels durant la phase de leur revascularisation.

Si les greffes isolées de cartilage et les greffes ostéo-chondrales partielles donnent d'excellents résultats (condyle, trochlée, plateau tibial) dans plus de 97,4 % des cas, les greffes totales d'une partie de l'articulation donnent des résultats variables, en fonction de la stabilité secondaire de cette articulation : -quand on peut conserver les ligaments du receveur la stabilité est en général excellente dans 96% des cas ; -quand, n'ayant pas pu conserver les ligaments, ni la capsule du receveur, il a fallu greffer une héli-articulation avec ses ligaments propres qui ont été refixés sur l'os du receveur, les résultats à terme ont été beaucoup moins bons avec seulement 58% de bons résultats ; -quand il a fallu pratiquer une reconstruction des 2 parties de l'articulation avec ses ligaments. La consolidation osseuse a été en règle acquise mais l'instabilité articulaire nous a obligé à pratiquer une nouvelle ligamentoplastie, voire une prothèse contrainte, dans plus de 87% des cas.

Pour ce qui concerne les greffes effectuées au niveau du membre supérieur (épaule, coude), nous n'avons eu que de rares bons résultats avec souvent un aspect radiologique de dislocation qui nous a incités dans plus de 96% des cas à pratiquer un geste complémentaire de mise en place d'une prothèse, ou même une amputation.

## 2 – Complications

Lorsque l'on considère l'évolution des greffons en dehors des complications liées à la pathologie traitée, on constate que ceux-ci s'intègrent de façon tout à fait satisfaisante dans plus de 85% des cas

### Les décès

En dehors des décès liés à l'évolution fatale d'une tumeur maligne, les décès sont à redouter lors des remplacements du bassin ou lors d'exérèses tumorales extrêmement volumineuses et hémorragiques. Nous avons eu à déplorer 3 décès précoces, au début de notre expérience

A posteriori, la durée excessive de l'opération comme le remplissage trop massif du patient par des solutés et du sang (parfois plus de 30 litres !), expliquent cette issue fatale. Ayant acquis une expérience plus importante dans cette chirurgie ces complications vitales sont maintenant évitées

### Immunologie

Il y a, en définitive peu de pathologies propres à l'utilisation d'un greffon en dehors des risques immunologiques (14 % des cas) Ces phénomènes se traduisent souvent par des épanchements de liquide séreux péri-osseux qui peuvent faire croire à une infection, surtout en cas de fistulisation cutanée, mais ce n'est pas le cas et il suffit de prescrire un traitement immunosuppresseur (Sandimum\*).

### Sepsis

Ces infections ne se rencontrent pas plus fréquemment en cas de mise en place d'un greffon qu'en cas de mise en place d'une prothèse métallique massive après exérèse tissulaire large et intervention prolongée (environ 2,4 % des cas) .

A partir du moment où le greffon mis en place est stérile, il n'entraînera pas d'accroissement du risque septique et certaines fistulisations cutanées sont à tort attribuées à

une infection profonde, alors qu'elles sont le témoin d'une réaction immunitaire.

Le risque infectieux est majoré lorsqu'on utilise en postopératoire une chimiothérapie, source de mauvaise cicatrisation cutanée. Si la peau est fermée sous tension, l'ouverture de la cicatrice sera pratiquement inévitable et il est bien préférable, dans ces cas, de faire d'emblée un lambeau musculo-cutané de recouvrement.

### Fractures et pseudarthroses

Les fractures du greffon sont liées, comme les pseudarthroses, à des erreurs de montage ou à l'utilisation de matériel inapproprié (2 % des cas)

### Arthrose et destruction articulaire

Si l'articulation est reconstruite de façon stable et si les ligaments sont de bonne qualité et évitent la survenue d'une laxité, le cartilage articulaire se comportera tout à fait normalement et gardera une épaisseur et une fonction tout à fait normales, si ce n'est pas le cas, c'est qu'il est soumis à des pressions excessives et il se détruira rapidement source d'arthrose. Cette arthrose sera souvent peu sensible, voire indolore, du fait de l'absence d'innervation des tissus greffés.

Ce n'est cependant pas comme une articulation tabétique puisqu'au contraire des lésions de cette syphilis tertiaire, seuls les os ne sont pas innervés. Les tissus adjacents, capsule, ligaments, muscles, tendons, tissus sous-cutané et peau ont eux une innervation normale et permettent au patient de « sentir » son articulation.

En cas de destruction articulaire massive, une prothèse est souvent nécessaire au niveau des membres inférieurs (78 %). Au niveau du coude, on note souvent (92 %) une dislocation articulaire qui est parfois bien tolérée et ne justifie pas de thérapeutique complémentaire.

Toutes les greffes articulaires complètes, utilisant les ligaments de l'allogreffe, se sont disloquées et ont dû être remplacées à plus ou moins court terme, par des prothèses articulaires totales.

En revanche, les greffes partielles sur lesquelles ont été refixés les ligaments du receveur se sont, en règle, bien intégrées et sont actuellement encore tout à fait fonctionnelles.

### . Selon l'indication

Compte tenu de la diversité des indications, il nous paraît licite de dissocier l'évolution des greffons en fonction de l'indication de leur mise en place.

En effet, les suites opératoires et l'évolution à distance sont très variables selon que l'on se trouve en présence d'une pathologie tumorale, une pathologie chronique ou une pathologie traumatique.

En règle générale il faut considérer les greffes massives comme des prothèses massives qui risquent elles-aussi de se compliquer. Les complications de ces greffes ne sont pas plus importantes et même beaucoup moins fréquentes qu'avec les autres traitements utilisés pour traiter ces pathologies souvent très lourdes.

### - Pathologie Tumorale

Selon le type de pathologie et sa localisation, l'évolution sera également très variable :

- dans les cas de tumeur cartilagineuse ou de tumeur bénigne, ne nécessitant pas l'utilisation de chimiothérapie, l'intégration du greffon est excellente correspondant à une greffe en secteur non tumoral ;

- lorsque la tumeur est enlevée en totalité la récurrence est exceptionnelle, (3,7 % pour les chondrosarcomes grade 1 et 2 du bassin) ;

- les tumeurs malignes d'autre nature (ostéosarcomes, Ewing, fibrosarcomes ...) n'ont pas un bon pronostic lorsqu'elles atteignent le bassin (97% de mortalité à 10 ans) ;

- lorsque les tumeurs siègent au niveau des os longs, les greffons s'intègrent souvent très bien à condition que la chimiothérapie n'entraîne pas de troubles de la cicatrisation cutanée, source d'infection (3,2 %), aboutissant souvent à la nécessité de changer le greffon, voire de pratiquer une amputation (rare : 0,6 %).

#### - Pathologie Infectieuse

Lorsqu'on a à traiter une pathologie infectieuse, il faut d'abord procéder à l'exérèse complète de tous les tissus infectés ou nécrotiques et de tout le matériel métallique, susceptible de fixer les germes. Cette exérèse est en général très délabrante et nécessite une coopération active du patient qui va rester sous traction souvent plusieurs mois

La mise en place d'un spacer en ciment contenant des antibiotiques n'est pas indiquée car seuls les antibiotiques superficiels sont relargués et dès qu'il n'y a plus d'activité bactériolytique, le spacer redevient un corps étranger qui risque de pérenniser l'infection.

Ce n'est qu'une fois l'infection jugulée que l'on peut envisager de remettre en place un matériel volumineux comme pour une prothèse massive manchonnée par une greffe osseuse également massive. Lorsque la place du matériel de reconstruction est difficile à conserver du fait de la rétraction des masses musculo-aponévrotiques, un ballon gonflable, placé in situ permettra de conserver la place du futur implant.

Si l'on est assez patient pour ne replacer un implant que lorsque la VS est inférieure à 20 à la première heure et la PCR inférieure à 5, on obtient en général un excellent résultat qui se maintient dans le temps.

#### - Pathologie traumatique

Lorsqu'il existe une perte de substance traumatique importante, il existe plusieurs possibilités pour reconstruire le squelette ;

un PAPINEAU qui associe, après la mise en place d'un clou centro-médullaire ou plus habituellement d'un fixateur externe, des greffes autologues à des greffons allogéniques (pas plus de 50%) si la quantité de greffon autologue est insuffisante. Ces techniques, utilisées il y a quelques années sont longues et nécessitent une grande patience de la part du malade et également du chirurgien ! Après un temps de bourgeonnement cutané au fond de la perte de substance, puis le remplissage de la perte de substance par de l'os strictement spongieux, on attend le

recouvrement de celui-ci par un bourgeon de tissus qu'il faudra par la suite greffer. Cette technique a permis d'éviter un certain nombre d'amputations, au prix de séquelles fonctionnelles, parfois incompatibles avec la marche ;

une autogreffe vascularisée (péroné vascularisé, ou aile iliaque avec son pédicule) peut, surtout chez l'enfant, permettre de reconstituer une perte de substance osseuse parfois importante dans d'excellentes conditions. Ce fragment osseux vascularisé s'intègre souvent très bien et grossit progressivement avec la croissance de l'os. Des fractures sont cependant parfois à craindre, en cas de reprise trop précoce de la mise en charge sans protection ;

une allogreffe massive peut être indiquée lorsque la perte de substance est importante chez un adulte. Il faudra d'abord recouvrir la perte de substance cutanée par un lambeau musculo-cutané vascularisé et branché en terminolateral sur une artère de proximité, après avoir contrôlé que la vascularisation du membre s'effectue grâce à plusieurs pédicules veineux et artériels de taille suffisante. Secondairement, lorsque le lambeau aura bien pris (3 mois plus tard) on envisagera de le décoller et d'introduire dans le lit osseux une allogreffe massive qui sera fixée à l'aide d'un clou centro-médullaire plutôt qu'avec une ou deux plaques qui favorisent moins la revascularisation du greffon. Douze lambeaux de ce type (grand dorsal) ont été effectués en cas de fractures avec perte de substance du tibia., 3 lambeaux ont été pratiqués au niveau du genou pour recouvrir une perte de substance en regard d'une prothèse totale manchonnée par de l'os de banque, 3 lambeaux musculocutanés ont été pratiqués au niveau du bras et du coude dans les mêmes indications

Les résultats furent excellents.

## DISCUSSION

Dès que l'on aborde le chapitre des allogreffes, la polémique s'engage car les intervenants utilisent des techniques souvent très différentes les unes des autres pour ce qui concerne : -le prélèvement des greffons, -leurs modalités de conservation, -leur stérilisation ou non, -leur stockage en azote liquide ou non, - la délivrance de ces greffons, lyophilisés ou congelés, -l'indication de leur utilisation, - les techniques de pose, -le matériel utilisé, -les traitements adjuvants, -les procédés de rééducation etc ...

Il nous paraît extrêmement important de procéder comme nous l'avons indiqué, et les résultats à 10 ans se confirment à 20 ans pour les plus anciens.

Les greffons mis en place ne sont pas les mêmes s'ils ont été lyophilisés, irradiés, chauffés, ou congelés.

Ils ne sont pas les mêmes s'ils ont été congelés à température ordinaire, sans cryoprotecteur, sans descente progressive en température, sans antibiotique de protection et décongelés sans précautions.

Ils ne peuvent pas être comparés si les techniques de mise en place ont été approximatives et insuffisantes.

On ne peut pas reprocher à un greffon de s'infecter s'il n'a pas été prélevé stérilement.

Ces thérapeutiques sont d'un apport considérable en cas de pathologie lourde, qu'elle soit, tumorale, traumatique



ou chirurgicale. Il n'y a aucune autre possibilité actuellement durable pour remplacer une perte de substance très importante. Ce ne sont pas les substituts osseux ou les prothèses métalliques massives qui vont pouvoir se substituer à ces greffes massives.

Elles sont anatomiques, permettent de reconstruire parfaitement le squelette et d'obtenir une marche rapide et d'excellente qualité

De plus, ces procédés s'ils sont lourds à mettre en place, et par là même onéreux, deviennent rentables lors de la mise en place d'un greffon qui coûte environ 10 fois moins cher qu'une prothèse métallique réalisée sur mesure.

Autre avantage et non des moindres : quand on est amené à procéder à l'exérèse d'une tumeur de localisation difficile, comme au niveau d'un bassin par exemple, il est souvent difficile d'effectuer rigoureusement les mêmes coupes que celles programmées sur le schéma préopératoire qui a servi à la réalisation d'une prothèse sur mesure, et il faut donc couper l'os tumoral aux dimensions de la prothèse sur mesure réalisée. Alors qu'en cas de greffe osseuse, on procède à l'exérèse de la tumeur sans se poser de questions quant à la direction des coupes et une fois que la pièce est tombée, on découpe l'allogreffe selon les dimensions de l'exérèse et il ne reste plus qu'à la remettre en place et la fixer.

L'utilisation d'allogreffes n'est certes pas une technique récente, mais les procédés actuels de conservation et de congélation des greffons ont permis de faire rentrer ces techniques dans l'ère moderne.

Quand on parle des allogreffes et de leur devenir, il faut toujours avoir à l'esprit les circonstances dans lesquelles elles ont été utilisées et leurs résultats doivent être comparés aux techniques qui auraient pu être proposées pour traiter ce patient .

Lorsqu'on ne tient pas compte des pathologies qui ont justifié la mise en place d'un greffon, et que l'on ne s'attache qu'à analyser l'évolution de celui-ci, on s'aperçoit qu'il s'intègre parfaitement au squelette dans plus de 85 % des cas, en donnant un excellent résultat fonctionnel.

Il faut garder en mémoire que même si fonctionnellement les greffons articulaires du membre supérieur sont considérés par certains patients comme satisfaisants, du fait de l'absence de contraintes biomécaniquement suffisantes s'exerçant sur le membre supérieur, il existe souvent à partir de la 2e / 3e année une dislocation majeure .

Au niveau du membre inférieur, les greffons, même cartilagineux et même du bassin s'intègrent très bien et permettent d'obtenir une fonction très satisfaisante

Les greffes articulaires complètes, du fait de la mauvaise intégration et de la tenue mécanique insuffisante des ligaments et de la capsule, voient leur stabilité articulaire diminuer, ce qui est source d'instabilité, aboutissant à plus ou moins long terme à une destruction du cartilage articulaire. Mais on peut alors n'utiliser qu'une petite prothèse de resurfaçage.

Les moyens d'union des surfaces articulaires sont les limites actuelles de l'utilisation de ces allogreffes.

Pour ce qui concerne les allogreffes méniscales, ainsi que les allogreffes nerveuses, nous n'avons pas encore d'expérience suffisante pour faire part de notre opinion.

Nous avons été très intéressés par le devenir des greffes articulaires du cotyle qui semblent bien s'intégrer et ne donnent pas d'arthrose dans les cas réalisés dans le service. L'un d'entre eux est ancien : 18 ans, ce patient va très bien, sans nécessité de mise en place d'une prothèse à ce jour, pour les autres qui sont un peu plus récents, ils vont également très bien, ce qui est intéressant chez des sujets jeunes .

Les greffons sont cependant très difficiles à obtenir et c'est très certainement le frein le plus puissant à ces techniques.