

# Sommaire

<b>Introduction</b>	5
<b>I. Des rappels anatomiques et physiologiques</b>	6
A. Les cellules du tissu osseux	7
1. Les ostéoblastes	8
2. Les ostéocytes	8
3. Les cellules bordantes	9
4. Les ostéoclastes	9
B. La composition de la matrice extracellulaire	10
1. La fraction organique	10
2. la fraction minérale	10
C. L'organisation du tissu osseux	11
1. L'os non lamellaire	11
2. L'os lamellaire	11
a. L'os compact : le tissu osseux haversien	11
b. Le tissu osseux spongieux	12
D. La vascularisation de l'os	16
1. Le système artériel	16
2. Le système capillaire	16
3. Le système veineux	16
<b>II. La physiopathologie des pertes de substance osseuse</b>	18
A. Les différentes étapes de la cicatrisation osseuse	18
1. La phase inflammatoire	18
2. La phase de réparation	20
3. La phase de remodelage	22
B. Les limites de la cicatrisation osseuse	23
1. Les mouvements interfragmentaires	23
2. La vascularisation	26
3. L'infection	26
4. L'éloignement des fragments	27
<b>III. Le comblement des pertes de substance par du tissu osseux</b>	30
A. La problématique du comblement osseux	30
1. La prise en compte de l'influence de facteurs locaux	30
2. Les propriétés du matériau de comblement osseux	31
B. La greffe osseuse	32
1. Les différents types de greffon osseux	32
a. Suivant le lieu de prélèvement	32
b. Suivant la nature du donneur et du receveur	33
b.1. L'autogreffe	33
b.2. L'allogreffe	35
b.3. La xéno greffe	36

2. La biologie des greffes	36
a. L'autogreffe	37
a.1. L'autogreffe spongieuse	37
a.2. L'autogreffe corticale	38
b. L'allogreffe et la xéno greffe	40
3. L'utilisation des greffes osseuses	41
4. Les méthodes de prélèvement d'autogreffe	44
a. Les sites de prélèvement de tissu spongieux	44
b. Les sites de prélèvement de tissu cortico-spongieux	54
c. La mise en place de ces prélèvements	54
5. Les limites et les problèmes liés à la greffe osseuse	55
a. Les réserves naturelles d'os	55
b. Les risques de contamination du site receveur	55
c. Les complications au site de prélèvement	56
d. Les risques immunitaires	56
e. Les risques de transmission de maladies	57
C. Les méthodes d'allongement osseux	58
1. Le principe de la distraction osseuse	58
2. Les complications associées à l'allongement	60
<b>IV. Les méthodes alternatives de comblement</b>	62
A. Les substituts minéraux	62
1. Le plâtre de Paris	62
2. Les squelettes coralliens	62
3. les phosphates tricalciques	64
4. L'hydroxyapatite	64
5. Les ciments phosphocalciques	68
B. Les composés non minéraux	68
1. Les á poly-hydroxyacides dérivés des acides lactique (PLA) et/ou glycolique	68
2. Le polytétrafluoroéthylène (PTFE) expansé (Gore-Tex®)	69
3. Les autres polymères organiques	69
C. Les substances ostéoinductives	70
1. La matrice osseuse déminéralisée (DBM)	70
2. Les protéines ostéoinductives	71
<b>CONCLUSION</b>	73
<b>BIBLIOGRAPHIE</b>	75

# TABLE DES ILLUSTRATIONS

## Figures :

Figure 1 : Organisation histologique de la substance ostéoi de [128]	7
Figure 2 : Structure d'un os lamellaire compact au niveau de la diaphyse [128]	13
Figure 3 : Structure d'un ostéon [128]	13
Figure 4 : Réseau artériel de l'os [9]	15
Figure 5 : Réseau veineux de l'os [9]	15
Figure 6 : Cicatrisation de l'os : phase inflammatoire	19
Figure 7 : Cicatrisation de l'os : phase de réparation	21
Figure 8 : Cicatrisation de l'os : phase de réparation	21
Figure 9 : Cicatrisation de l'os : phase de remodelage	23
Figure 10 : Devenir de l'autogreffe spongieuse (1 <sup>ère</sup> partie)	37
Figure 11 : Devenir de l'autogreffe spongieuse (2 <sup>ème</sup> partie)	38
Figure 12 : Incorporation de l'autogreffe corticale (1 <sup>ère</sup> partie)	39
Figure 13 : Incorporation de l'autogreffe corticale (2 <sup>ème</sup> partie)	40
Figure 14 : Prélèvement de tissu spongieux sur l'humérus	45
Figure 15 : Site de prélèvement du tibia	48
Figure 16 : Site de prélèvement de l'ilium et du fémur	50
Figure 17 : Prélèvement des greffes cortico-spongieuses	53
Figure 18 : Cinétique d'intégration d'une céramique HAP	66

## Photos :

Photo 1 : Aspect radiographique des non-unions	25
Photo 2 : Aspect radiologique des non-unions. Infection du foyer de fracture	27
Photo 3 : Aspect radiologique d'une perte de substance osseuse traumatique	28
Photo 4 : Utilisation de greffe spongieuse autologue sur une fracture comminutive	42
Photo 5 : Exemple de traitement d'une pseudarthrose	42
Photo 6 : Teckel de 2 ans présentant une pseudarthrose	43
Photo 7 : Radiographie post-opératoire	43
Photo 8 : Contrôle radiographique à 1 mois et demi	43
Photo 9 : Contrôle radiographique à 2 mois et demi	43
Photo 10 : Positionnement de l'animal avant le prélèvement	45
Photo 11 : Abord de l'humérus	46
Photo 12 : Perçage de la corticale	46
Photo 13 : Prélèvement d'os spongieux à l'aide d'une curette	46
Photo 14 : Réalisation d'un volet osseux	46
Photo 15 : Positionnement de l'animal avant prélèvement sur le fémur	47
Photo 16 : Incision cutanée et du fascia sous-cutané	47
Photo 17 : Abord du fémur	47
Photo 18 : Incision du périoste avant forage	47
Photo 19 : Vue de l'os après forage	48
Photo 20 : Récolte de l'os spongieux à l'aide d'une curette	48
Photo 21 : Positionnement de l'animal pour prélever le tibia	49
Photo 22 : Vue du site de prélèvement après incision de la peau et du fascia sous-cutané	49

Photo 23 : Forage de la corticale	49
Photo 24 : Récolte de tissu spongieux	49
Photo 25 : Mise en place de l'animal pour le prélèvement sur l'ilium	50
Photo 26 : Incision cutanée sur l'aile de l'ilium	50
Photo 27 : Désinsertion musculaire des muscles fessier moyen et sacro-épineux	51
Photo 28 : Perçage de la corticale du site de prélèvement	51
Photo 29 : Découpe d'un volet osseux au ciseau frappé	51
Photo 30 : Prélèvement de l'os spongieux	51
Photo 31 : Utilisation de la méthode d'allongement pour le comblement d'une résection tumorale	59
Photo 32 : Grains de phosphate tricalcique	63
Photo 33 : Céramiques d'hydroxyapatite	63
Photo 34 : Céramiques à base d'hydroxyapatite mises en place en région sous-périostée	67
Photo 35 : Vue radiographique des céramiques d'hydroxyapatite	67
Photo 36 : Mise en place des céramiques	67
Photo 37 : Radiographie montrant les céramiques réimplantées	67

## Introduction

Le chirurgien orthopédiste doit souvent négocier des pertes de substance osseuse en région diaphysaire ou métaphysaire des os longs. Leur origine est variable. Il peut s'agir de defects d'origine traumatique, à la faveur de fractures ouvertes ou non associées à des lésions tissulaires étendues susceptibles de déterminer la dévitalisation d'un segment entier de diaphyse [3, 154, 195, 198, 237]. La perte de substance peut aussi être consécutive à une résection oncologique [34, 40, 50, 95, 126, 167, 195, 200, 239], ou encore à une correction orthopédique lors de défauts de croissance osseuse chez le jeune [15, 50, 86, 103, 180, 248].

Qu'elles soient accidentelles ou créées par le chirurgien, il existe un éventail de solutions chirurgicales pour traiter ces pertes de substance osseuse diaphysaires. Leur choix raisonné passe par la bonne connaissance de la physiopathologie de ces defects segmentaires, ainsi que des aptitudes, des qualités et des limites de chacune des techniques chirurgicales susceptibles de traiter les defects diaphysaires.

Après quelques rappels sur la cicatrisation et la physiologie de l'os, nous allons faire le point sur la biologie de ces pertes de substance diaphysaires.

Nous étudierons ensuite les différentes techniques de comblement osseux applicables à la diaphyse, pour constater qu'il n'existe pas de solution unique ou universelle au problème constitué par les defects diaphysaires chez les Carnivores.

## I. Rappels anatomiques et physiologiques

Les os des mammifères supérieurs assurent deux fonctions : d'une part, ils constituent le squelette, véritable « charpente » sur laquelle s'insèrent les muscles ce qui permet le mouvement ; d'autre part, l'os est impliqué dans la régulation du métabolisme phosphocalcique [256].

L'os, en tant qu'organe, est composé de plusieurs tissus différents :

- le tissu osseux (os compact ou os spongieux) *sensu stricto*
- le périoste, qui est la couche externe de l'os et qui joue un rôle de contention et d'ostéogenèse chez les jeunes en croissance ainsi que lors de la cicatrisation osseuse [158]
- l'endoste
- la moelle osseuse, qui assure l'hématopoïèse, contient aussi de nombreuses cellules souches fibroblastiques et préostéogéniques. On la localise dans la cavité médullaire mais également dans les lacunes du tissu osseux spongieux épiphysaire.

On peut classer les os en trois catégories en fonction de leur forme et de leur architecture. Les os courts (vertèbres, os du carpe, os du tarse), les os plats (crâne, ilium, scapula) sont tous deux formés en majorité de tissu spongieux environné d'une corticale fine et leur cavité médullaire est inexistante. Le troisième type d'os est l'os long (humérus, fémur ...). L'os long peut être divisé en plusieurs parties :

- les épiphyses, qui supportent le cartilage articulaire et constituées d'os spongieux principalement,
- la diaphyse, formée d'os cortical et d'autre part les métaphyses et épiphyses proximale et distale où l'on trouve majoritairement de l'os spongieux [158],
- Les métaphyses, zones de transition entre diaphyse et épiphyses, où les corticales s'affinent et la cavité médullaire se remplit avec de l'os spongieux.

Le tissu osseux est un tissu conjonctif hautement spécialisé, qui associe des cellules et une matrice extracellulaire minéralisée. Cette dernière est à l'origine des qualités mécaniques de l'os [256]. On dit de l'os qu'il est anisotrope c'est-à-dire que ses propriétés mécaniques varient en fonction de la direction dans laquelle s'exercent les contraintes [152].

Son organisation tridimensionnelle est responsable de ses capacités mécaniques.

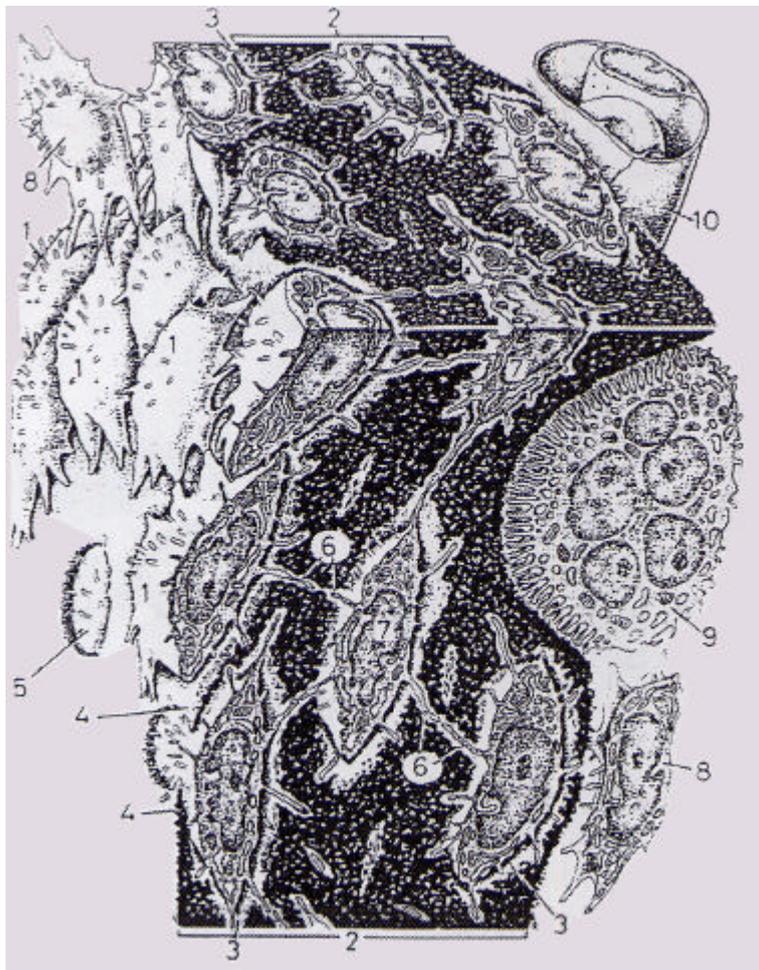
Ce tissu osseux est remodelé en permanence par une succession de phases de destruction (ostéoclasie) et de phases de synthèse osseuse (ostéogenèse)[30, 135, 264]. Et c'est aussi

grâce à ces phénomènes que l'os peut libérer ou fixer du calcium et du phosphore et donc jouer un rôle dans la régulation du métabolisme phosphocalcique [11, 30, 60, 226] à l'échelle de l'organisme tout entier.

Nous allons donc envisager successivement les différents éléments constitutifs de ce tissu conjonctif composite, à savoir ses cellules et sa matrice extra-cellulaire.

### A. Les cellules du tissu osseux

L'os mature héberge plusieurs types cellulaires à vocations diverses (figure 1). Certains sont issues de la lignée ostéoblastique comme les préostéoblastes, les ostéoblastes, les ostéocytes et les cellules bordantes alors que d'autres, comme les ostéoclastes dérivent de précurseurs monocytaires provenant de la lignée hématopoïétique [69, 72] et constituent une population à part.



**Figure 1 : Organisation histologique de la substance ostéoïde (d'après KRSTIC [128])**

- 1-Ostéoblaste ; 2- Travée ; 3- Couche ostéoïde ; 4- Expansion osseuse en ailes recouvrant l'ostéoblaste ; 5- Ostéoblaste en phase d'incarcération ;
- 6- Prolongement cytoplasmique : pont entre les ostéocytes ; 7- Ostéocyte ;
- 8- Cellule mésenchymateuse ; 9- Ostéoclaste ; 10- Vaisseau

## 1. Les ostéoblastes

Ces cellules se présentent dans le tissu osseux sous forme d'une couche monocellulaire ou pluricellulaire au contact de la substance ostéoïde (figure 1).

L'ostéoblaste est une cellule de 7 à 10  $\mu\text{m}$  [155]. Son cytoplasme est riche en réticulum endoplasmique granuleux et en ribosomes ce qui explique l'aspect basophile de cette cellule à la coloration. La présence de ces organites permet la synthèse d'un grand nombre d'éléments parmi lesquels la trame protéique du tissu osseux et des protéines non collagéniques non structurelles. Ces protéines non collagéniques ont des fonctions importantes vis-à-vis de la biologie de l'os et en particulier concernant la minéralisation de la matrice.

On note aussi la présence de microtubules et de microfilaments qui permettent à la cellule de se déplacer au sein de la matrice osseuse [155].

L'ostéoblaste joue également un rôle de régulation et d'information à la surface de l'os [208].

On a pu mettre en évidence l'existence de communications entre les ostéoblastes adjacents et les ostéocytes grâce à des expansions cytoplasmiques circulant dans des canalicules osseux qui permettent la transmission de signaux chimiques et électriques [72].

## 2. Les ostéocytes

Ce sont des ostéoblastes qui ont perdu leur alignement avec les autres suite à la diminution de leur activité de synthèse et qui se retrouvent emmurées dans une logette osseuse de la matrice extracellulaire. Ils gardent des contacts cytoplasmiques avec les autres cellules de l'os (figure 1).

On a longtemps considéré que l'ostéocyte était une cellule quiescente et inactive puisqu'il n'était plus capable de se diviser. Aujourd'hui, cette idée a été abandonnée et de nombreuses hypothèses ont été envisagées [72]. L'ostéocyte pourrait jouer un rôle dans la régulation phosphocalcique entre l'os et le sang et de ce fait contrôler la maturation de la matrice extracellulaire [72].

Une autre hypothèse avancée est que comme l'ostéocyte est une cellule mécanosensible, elle pourrait synthétiser des facteurs de régulations localement qui permettraient un remaniement osseux sous l'effet de contraintes mécaniques auxquelles l'os est exposé [135].

### **3. Les cellules bordantes**

Ces cellules dérivent du même précurseur que l'ostéoblaste, elles expriment les mêmes récepteurs hormonaux, produisent aussi des facteurs de croissance ou des cytokines, mais elles ont perdu une grande partie de leurs fonctions de synthèse. C'est le type cellulaire le plus représenté dans le tissu osseux.

Elles sont disposées en couches à la surface des trabécules d'os mature et sont en position de barrière entre le milieu intra-osseux des espaces médullaires [72].

Elles assurent la communication entre elles, les ostéoblastes et les ostéocytes, via des contacts physiques.

Ces cellules ont une grande importance dans les phénomènes de résorption osseuse : les ostéoclastes ne peuvent avoir accès à la matrice osseuse car les cellules bordantes la recouvrent ; en se rétractant, elles mettent à nu la matrice sous-jacente permettant la fixation des ostéoclastes sur la matrice et sa résorption [155].

### **4. Les ostéoclastes**

L'ostéoclaste est une cellule de grande taille (50 à 100  $\mu\text{m}$ ), multinucléée (2 à 8 noyaux) suite à la fusion de précurseurs mononucléés (figure 1).

Cette cellule peut être observée isolée ou en petit nombre sur un site osseux donné à un moment donné [11, 226]. Sa forme est variable d'autant qu'elle est capable de se déplacer sur le tissu osseux. L'ostéoclaste est une cellule bipolaire chez qui on distingue un pôle informatif et un pôle fonctionnel.

Le pôle informatif et régulateur regroupe de nombreux récepteurs membranaires capables de réguler l'activité de la cellule. L'ostéoclastogénèse est modulée par des signaux biologiques comme certaines hormones et des cytokines (parathormone (PTH), calcitonine, 1-25 di-OH vitamine D3, IL-1, IL-2...)[226]. De plus, on sait que l'activation des ostéoclastes nécessite la présence et la médiation des ostéoblastes [37, 60, 228, 229].

Le pôle fonctionnel se situe dans la cellule à l'opposé du pôle informatif. Il est caractérisé par la présence d'une bordure en brosse. L'organisation de la membrane cytoplasmique en brosse est temporaire et représente une spécificité de l'ostéoclaste [11, 226]. Ce pôle assure la résorption osseuse grâce à la libération au niveau des replis membranaires d'enzymes lysosomiales (collagénases, phosphatases...) et de protons qui vont dégrader la matrice minéralisée en milieu acide.

La biologie de ces cellules du tissu osseux est très complexe et en partie encore inconnue. Un très grand nombre de médiateurs, avec des modes d'action différents (autocrine, paracrine, systémique...) orchestrent et synchronisent l'activité des différentes cellules osseuses.

## **B. La composition de la matrice extracellulaire**

C'est la partie non cellulaire du tissu osseux. Elle correspond à une trame conjonctive ayant la particularité d'être minéralisée. Elle est constituée d'une fraction organique et une fraction minérale.

### **1. La fraction organique**

Cette fraction est composée d'un grand nombre d'éléments. Le composant principal est le collagène que l'on trouve sous forme de fibrilles arrangées en treillis. Le collagène de type I est la forme prédominante mais on observe aussi d'autres types de collagène comme le III, le V et le XII.

On trouve également des protéoglycanes, de l'eau, des électrolytes, des lipides, des protéines non collagéniques dont l'ostéocalcine (Gla-protéine), l'ostéonectine, des sialoprotéines et des phosphoprotéines [218].

La matrice osseuse n'est pas d'emblée un composé organo-minéral.

Dans un premier temps, les éléments protéiques et glycoprotéiques de cette trame organique sont élaborés par les ostéoblastes [29, 69].

Dans un second temps, cette trame organique primitive se minéralise progressivement.

### **2. La fraction minérale**

Cette fraction minérale est composée principalement de phosphate de calcium sous forme d'hydroxyapatite naturelle (non stoechiométrique) mais aussi d'impuretés présentes sous forme de sels de calcium (carbonates, fluorures...)[29, 69].

C'est l'ostéoblaste qui est à l'origine de sa formation. Cette cellule libère au voisinage des protéines non collagéniques des vésicules matricielles qui contiennent des phosphates de calcium à l'état métastable. Le contenu de ces vésicules est libéré et les sels de calcium peuvent alors cristalliser et précipiter. La cristallisation est un phénomène passif ne nécessite pour son induction la présence de certaines protéines non collagéniques [30].

Cette minéralisation est ordonnée, initiée au niveau de foyers de nucléation dans la trame collagénique, puis se fait de proche en proche par augmentation de la cristallinité de l'apatite sans intervention cellulaire directe [30].

A la suite de cette cristallisation, certains ostéoblastes se retrouvent emprisonnés dans le tissu osseux minéralisé et deviennent alors des ostéocytes.

La matrice du tissu osseux résulte donc de l'association d'une fraction minérale et d'une fraction organique dont l'organisation varie en fonction de son degré de maturation : on distingue l'os non lamellaire qui est un tissu inorganisé et l'os lamellaire qui correspond à l'architecture élémentaire de l'os mature.

## **C. L'organisation du tissu osseux**

### **1. L'os non lamellaire**

L'os non lamellaire est un os en devenir. Il se caractérise par une teneur en cellules élevée et un métabolisme intense.

C'est un tissu osseux, minéralisé, mais sans organisation, et où les fibres de collagène sont déposés sans orientation particulière [189]. Dans les conditions physiologiques, son existence est temporaire. En effet, cet os est la première étape dans la mise en place de l'os lamellaire. Il devra être ensuite remanié pour laisser la place à de l'os lamellaire.

### **2. L'os lamellaire**

L'os lamellaire se distingue de l'os non lamellaire par l'existence d'une structure organisée au sein de laquelle le collagène est arrangé en lamelles superposées et parallèles entre elles. L'agencement tridimensionnel de ces lamelles détermine deux architectures : l'os compact et l'os spongieux.

#### **a. L'os compact : le tissu osseux haversien (figure 2)**

L'ostéon ou système haversien (figure 3) est considéré comme la structure élémentaire de l'os compact [72]. Il se caractérise par un arrangement concentrique de lamelles de collagène centré sur un canal central ou canal de Havers.

Le canal de Havers renferme des éléments vasculaires et des terminaisons nerveuses .

La paroi de cet axe vasculaire est tapissée d'ostéoblastes.

Cet ensemble est entouré de plusieurs lamelles de collagène minéralisées de 3 à 7  $\mu\text{m}$  d'épaisseur. Les fibres de collagène décrivent un trajet spiralé autour du canal dont l'orientation diffère entre deux lamelles voisines. Au cours de la minéralisation, certains ostéoblastes se trouvent emprisonnés entre deux lamelles et deviennent des ostéocytes. Ces derniers maintiennent des contacts avec les autres cellules grâce à des expansions cytoplasmiques s'étendant dans la matrice par de fins canalicules.

L'ensemble est entouré d'une zone de 1 à 2  $\mu\text{m}$  d'épaisseur pauvre en collagène appelé ligne cémentante [72]. Un ostéon peut avoir un diamètre compris entre 50 et 100  $\mu\text{m}$ , pour une longueur maximale de 2000  $\mu\text{m}$ .

Tous les ostéons sont orientés parallèlement au grand axe de l'os.

Leur croissance est centrifuge, se fait au dépens d'ostéons plus anciens dont la croissance est terminée et conduit à l'isolement de lamelles anciennes que l'on nomme alors lamelles interstitielles.

Il existe, entre les canaux haversiens, des communications dont l'orientation est perpendiculaire au grand axe : ce sont les canaux de Volkmann. Ils permettent l'anastomose des vaisseaux haversiens grâce aux capillaires qu'ils contiennent.

## **b. Le tissu osseux spongieux**

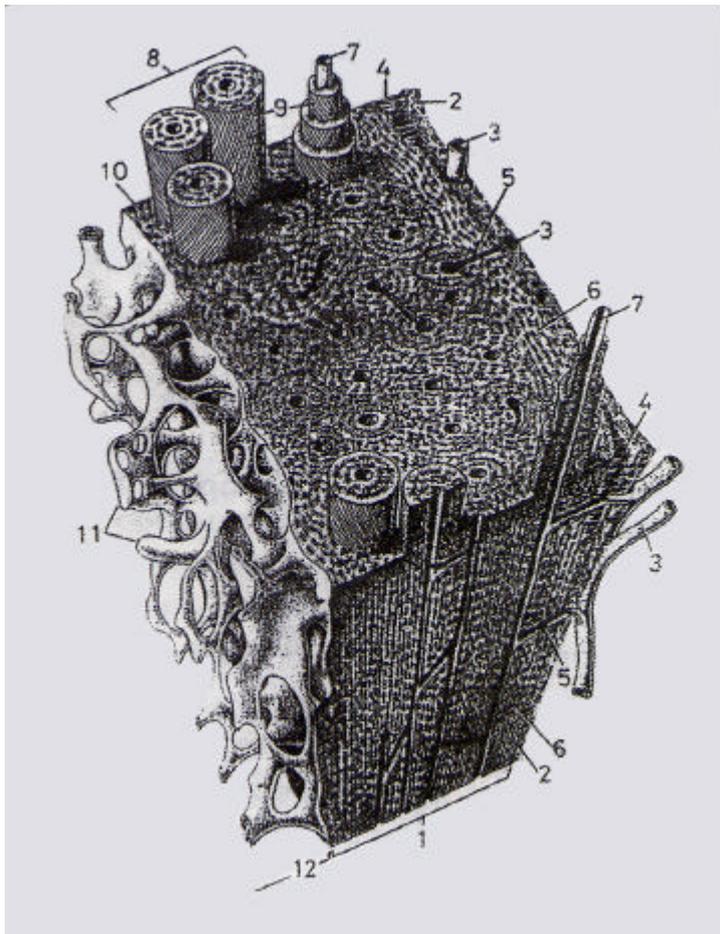
Il est constitué des mêmes éléments que l'os compact mais avec une organisation différente. C'est un os lamellaire particulier dit également trabéculaire [256]

Un trabécule est une superposition de lamelles osseuses dont les fibres de collagène ont la même direction mais une organisation différente. Ces lamelles sont accolées les unes aux autres, emprisonnant parfois des ostéocytes, mais elles ne s'agencent pas de manière cylindrique.

Les trabécules sont recouvertes d'une couche de collagène non minéralisée sur laquelle se fixent des ostéoblastes actifs ou quiescents [256].

Au sein de ce tissu non haversien, on observe des canaux vasculaires à l'aspect dilaté et flexueux. L'espace laissé libre par les trabécules est comblé par de la moelle osseuse, composée de cellules-souches des différentes lignées sanguines, contenues dans un treillis conjonctivo-vasculaire .

L'architecture du système, la taille et l'orientation des trabécules s'organisent selon la valeur et la direction des contraintes mécaniques s'exerçant sur le tissu osseux spongieux [30, 135, 264] .

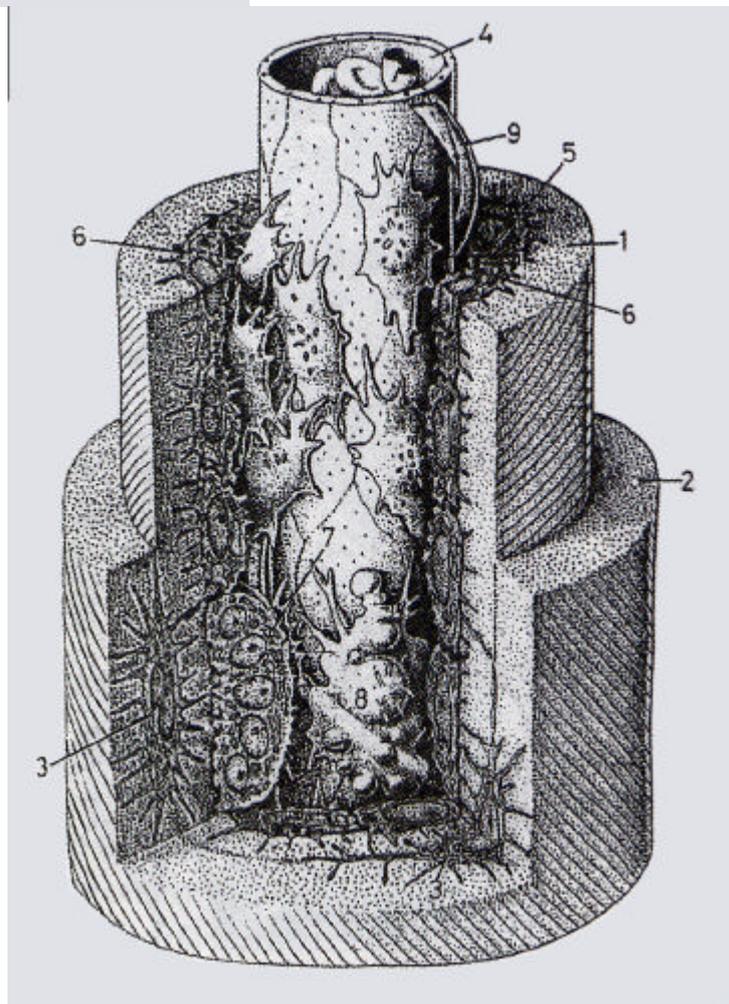


**Figure 2 : Structure d'un os lamellaire compact au niveau de la diaphyse. (D'après KRSTIC [128])**

- 1- Corticale
- 2- Périoste
- 3- Plexus veineux
- 4- Fibres de Sherpey
- 5- Canaux de Wolkman
- 6- Trabécule osseux
- 7- Canal de Havers
- 8- Ostéons
- 9- Lamelles osseuses
- 10- Lamelles interstitielles
- 11- Trabécule osseux formé d'os spongieux
- 12- Os spongieux de l'endoste

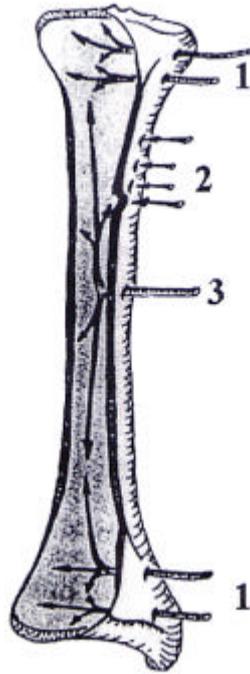
**Figure 3 : Structure d'un ostéon. (D'après KRSTIC [128])**

- 1- Lamelle osseuse centrale
- 2- Lamelle osseuse
- 3- Ostéoblaste imprégné dans la substance fondamentale
- 4- Axe vasculaire
- 5- Canal de Havers
- 6- Ostéoblaste en marge du canal de Havers
- 7- Ostéoclaste au repos
- 8- Macrophage
- 9- Fibre nerveuse



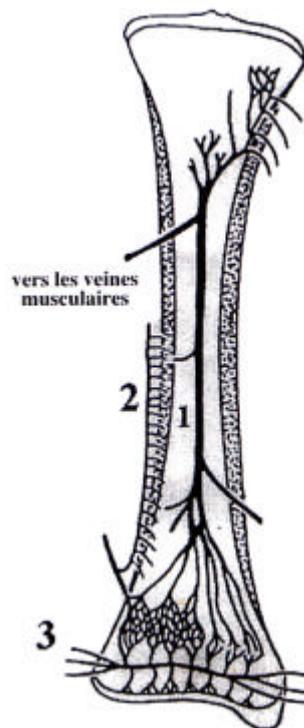
Une fois constitué, le tissu osseux mature devient quiescent avant de subir une étape de remodelage. Une destruction enzymatique et chimique est ensuite effectuée par les ostéoclastes. C'est la phase de résorption osseuse, étape nécessaire avant tout nouveau processus d'ostéogenèse [30].

Malgré une apparente immobilité, le tissu osseux est, dans les conditions physiologiques, l'objet d'un perpétuel renouvellement sous l'influence de facteurs biologiques et mécaniques [77].



**Figure 4 : Réseau artériel de l'os (D'après BAILLAT [9])**

1. Artères épiphyseo-métaphysaires
2. Artères périostées
3. Artère nourricière ou centro-médullaire



**Figure 5 : Réseau veineux de l'os (D'après BAILLAT [9])**

1. Veine centro-médullaire
2. Veines périostéales
3. Veines épiphyseo-métaphysaires

## **D. La vascularisation de l'os**

Comme dans n'importe quel tissu, la vascularisation d'un os long mature comporte un système artériel ou afférent, un système capillaire et un système veineux.

### **1. Le système artériel**

Trois types d'artères composent le système artériel qui assure toute la vascularisation d'un os long (figure 4).

- *L'artère nourricière*, qui est en général unique, pénètre dans l'os par le trou nourricier puis se divise en artère médullaire ascendante et descendante. Celles-ci assurent la quasi totalité de la vascularisation diaphysaire.
- *Les artères épiphyso-métaphysaires* sont multiples, pénètrent dans l'os métaphysaire par les zones d'insertion capsulaires, ligamentaires, musculaires et tendineuses. On peut observer une anastomose à l'étage capillaire entre ces dernières et l'artère nourricière.
- *Les artères périostées* dont le rôle est la nutrition du cortex superficiel. Elles s'anastomosent également avec les terminaisons des artères médullaires dans la corticale [158, 191].

La vascularisation des autres os (courts et plats) est diffuse et se rapproche en cela des réseaux épiphyso-métaphysaires.

### **2. Le système capillaire**

Il se compose de petits vaisseaux intra-corticaux. Le terme de capillaire n'est pas exact car, circulant dans des canalicules osseux rigides, ils sont incapables de se dilater et d'effectuer des échanges directement avec le liquide interstitiel [158, 191]. Ce réseau capillaire emprunte le système haversien, est non anastomosé et irrigue à partir d'une même artériole de petits segments de corticale d'une hauteur d'au maximum 2 mm (figure 5).

### **3. Le système veineux**

Le drainage des épiphyses et des métaphyses est assuré par de nombreuses veines épiphyso-métaphysaires satellites des artères (figure 5).

Le tiers interne de la corticale est drainé par une veine centromédullaire [158, 191].

Du périoste partent de nombreuses veines collectrices qui rejoignent les veines musculaires.

Un système d'anastomoses assure la réunion de ces différents compartiments.

Par rapport à la vascularisation précédemment décrit, l'os des jeunes animaux présente des différences dues à la présence de cartilages de conjugaison et d'un périoste actifs. Le cartilage de croissance reçoit une irrigation à la fois par un cercle épiphysaire et un cercle métaphysaire.

Quant au périoste, il est vascularisé par un système d'artères longitudinales prolongées par de nombreuses artérioles radiées. Tout ce réseau assure la vascularisation de l'os néoformé à partir du périoste (158).

## **II. La physiopathologie des pertes de substance osseuse**

La cicatrisation normale de l'os voit se succéder trois temps : une phase inflammatoire, une phase de réparation et une phase de remodelage. Bien qu'en théorie la cicatrisation soit présentée comme la succession de trois étapes distinctes, dans la réalité on constate que ces différentes phases de la reconstruction osseuse se superposent dans le temps.

### **A. Les différentes étapes de la cicatrisation osseuse**

#### **1. La phase inflammatoire (figure 6)**

Dans des conditions pathologiques telles que fracture, traumatisme chirurgical, évolution d'un foyer septique..., le tissu osseux agressé est le siège d'une réaction inflammatoire. Cette dernière n'a rien de spécifique et fait intervenir les cellules classiquement observées lors de l'inflammation.

Cette première phase permet de dégrader les tissus dévitalisés, laissant une zone favorable à la restauration complète de l'os [7, 186].

Lors de fracture, suite à la rupture de la vascularisation osseuse (vaisseaux haversiens et vascularisation médullaire) et au traumatisme subi par les tissus mous environnants (muscles, fascias), on observe la mise en place d'un hématome fracturaire [18]. Lors du temps vasculaire initial, les phénomènes de thrombose affectant le réseau capillaire intra-osseux ou son interruption par section peuvent être à l'origine d'une nécrose osseuse localisée. Ces évènements pérennisent la réaction inflammatoire.

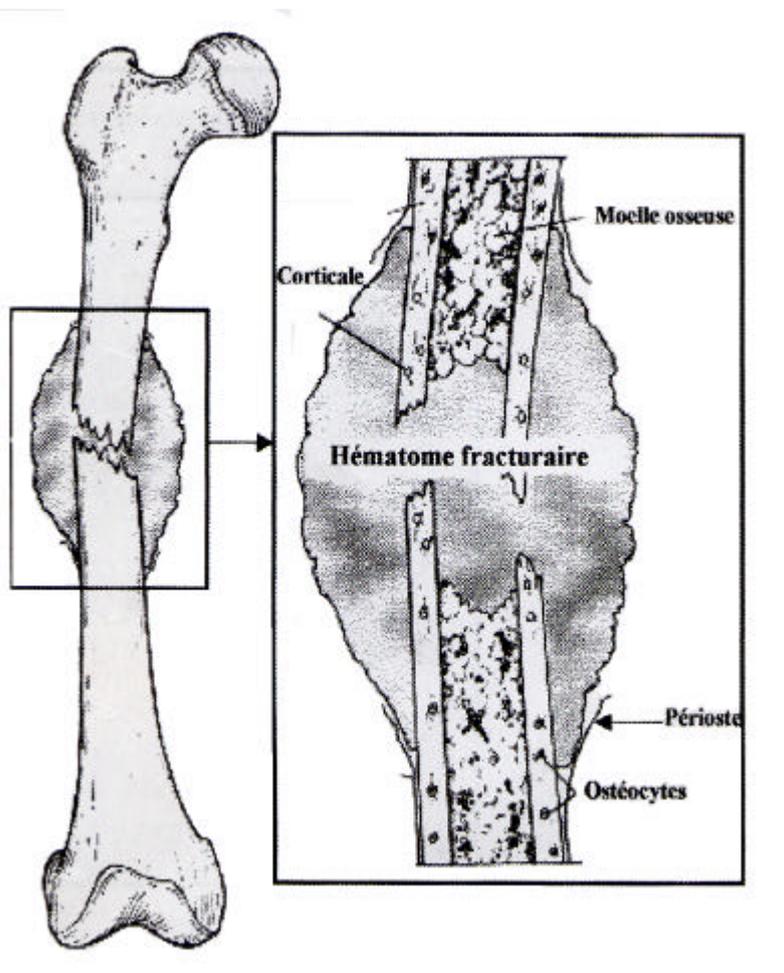
Les cellules de l'inflammation (polynucléaires neutrophiles et macrophages) occupent rapidement le site, assurent l'élimination dans la zone de fracture de tous les tissus lésés [7] et préparent le lit de la revascularisation du foyer de fracture.

Des études ont montré que l'utilisation d'anti-inflammatoires non stéroïdiens (Indométacine) peut inhiber cette phase inflammatoire et perturber la cicatrisation osseuse ce qui ne semble pas être le cas avec la méthylprednisolone [96].

Dès les premières heures qui suivent l'installation de la lésion, on observe une multiplication active des cellules-souches de la couche interne du périoste (couche cambiale)[104, 132], donnant naissance à d'autres cellules multipotentes, susceptibles de se différencier en fibroblastes, chondroblastes ou ostéoblastes [189, 256].

La néovascularisation qui se met en place dans le foyer de fracture possède plusieurs origines [225] : une origine médullaire car la rupture de l'artère médullaire déclenche un processus de revascularisation par formation de néovaisseaux à partir du site de rupture de l'artère médullaire et une origine extra-osseuse car il se met en place un « système extra-osseux d'irrigation » [191]. Ce système prend son origine au sein des tissus mous entourant l'os. Il est temporaire et n'empreinte pas le trajet des insertions musculaires [7, 189].

Dans un premier temps, le « système extra-osseux d'irrigation » alimente exclusivement le cal périosté [191]. Les cals endosté et cortical sont vascularisés par des néoformations en provenance de l'artère médullaire. Sur une fracture sans déplacement, la vascularisation est complète au bout de deux semaines et provient exclusivement de l'artère médullaire. Sur une fracture déplacée, l'artère médullaire et le système extra-osseux d'irrigation participent à part égale à la néovascularisation du foyer de fracture [191].



**Figure 6 : Cicatrisation de l'os: phase inflammatoire (D'après WOODWARD [250])**

Suite au traumatisme initial, la rupture de la vascularisation osseuse (vaisseaux haversiens et vascularisation médullaire) ainsi que le traumatisme des tissus mous environnants (muscles, fascias) entraîne la formation d'un hémotome fracturaire. Les cellules de l'inflammation (polynucléaires neutrophiles et macrophages) colonisent le site et permettent un nettoyage de la zone de fracture de tous les tissus dévitalisés.

## 2. La phase de réparation

Un tissu de granulation sans tenue mécanique remplace rapidement l'hématome (figure 7). Ce tissu abrite un grand nombre de cellules préostéogéniques (fibroblastes, préostéoblastes, chondrocytes)..

Des facteurs de croissance comme le *Transforming Growth Factor beta* (TGF $\beta$ ), les *Insulin Growth Factors* (IGFs) et les *Bone morphogenetic Protein* (BMP)[57, 58] interviennent dans le contrôle de la multiplication et de la différenciation de ces cellules en ostéoblastes [144].

Une fois différenciées, ces cellules montrent une grande activité de synthèse.

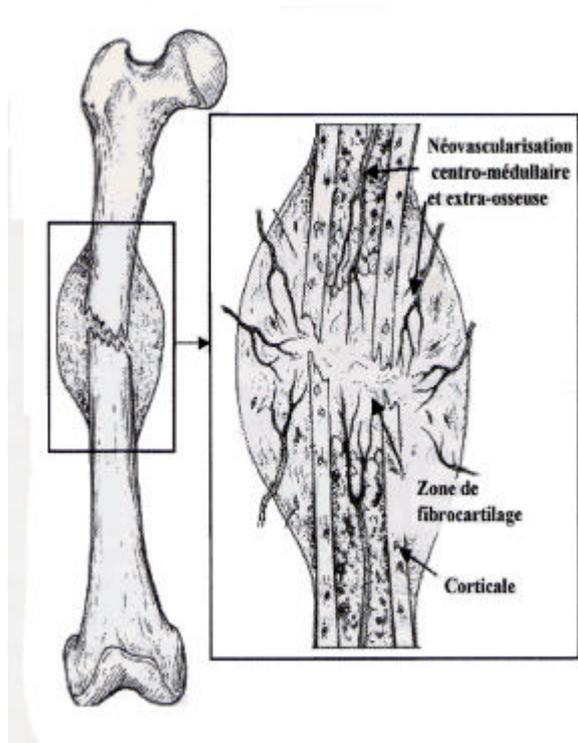
Le tissu conjonctivo-vasculaire initial envahi par des préostéoblastes va évoluer progressivement vers une organisation tridimensionnelle de plus en plus solide appelé cal [199, 263]. Dans le cas où le tissu de granulation serait soumis à un défaut d'apport en oxygène ou à une relative mobilité, les cellules mésenchymateuses se différencient en des chondroblastes et non en ostéoblastes. On observe la formation de foyers de métaplasie cartilagineuse dans le tissu de granulation et l'on parle alors de cal fibrocartilagineux [2] (figure 8).

Si l'oxygène est présent en quantité suffisante, les cellules mésenchymateuses se différencient en ostéoblastes qui vont alors constituer un cal « osseux » [7, 18].

Dans le cas où les conditions de cicatrisation redeviennent favorables, le cal fibrocartilagineux peut évoluer en cal osseux.

La phase d'ostéogénèse s'initie par des dépôts de matrice extracellulaire (collagène I, III, V et XI) au sein du cal [133, 197, 253]. En périphérie des fibres de collagène, un agencement de cristaux se met en place sur un mode radiaire et s'étend de proche en proche jusqu'à confluence [30, 160]. La minéralisation de la trame collagénique se fait d'une façon ordonnée ressemblant à la façon qu'a l'eau de se transformer en glace [30]. La précipitation des cristaux de phosphate de calcium est initiée au sein de la matrice par des protéines non collagéniques. Les sels de calcium métastables proviennent de vésicules matricielles ou directement d'ostéoblastes actifs. Au début, la vitesse de cristallisation est faible puis elle augmente à mesure que le phénomène s'étend [30, 36]. Expérimentalement, on a pu montrer que cette phase d'ostéogénèse peut être accélérée en réalisant un nouveau traumatisme sur le cal (ostéotomie du cal) dans les quatre à douze jours suivants le traumatisme initial [79].

L'installation et la croissance des cristaux d'hydroxyapatite sont aussi régulées par des protéines non collagéniques (ostéopontine, ostéonectine) synthétisées dans le tissu de granulation et le cal [197]. La synthèse de ces protéines est à la fois sous la dépendance de facteurs de croissance (TGF $\beta$ , IGF1 et IGF2)[13, 146] présents dans l'hématome fracturaire,



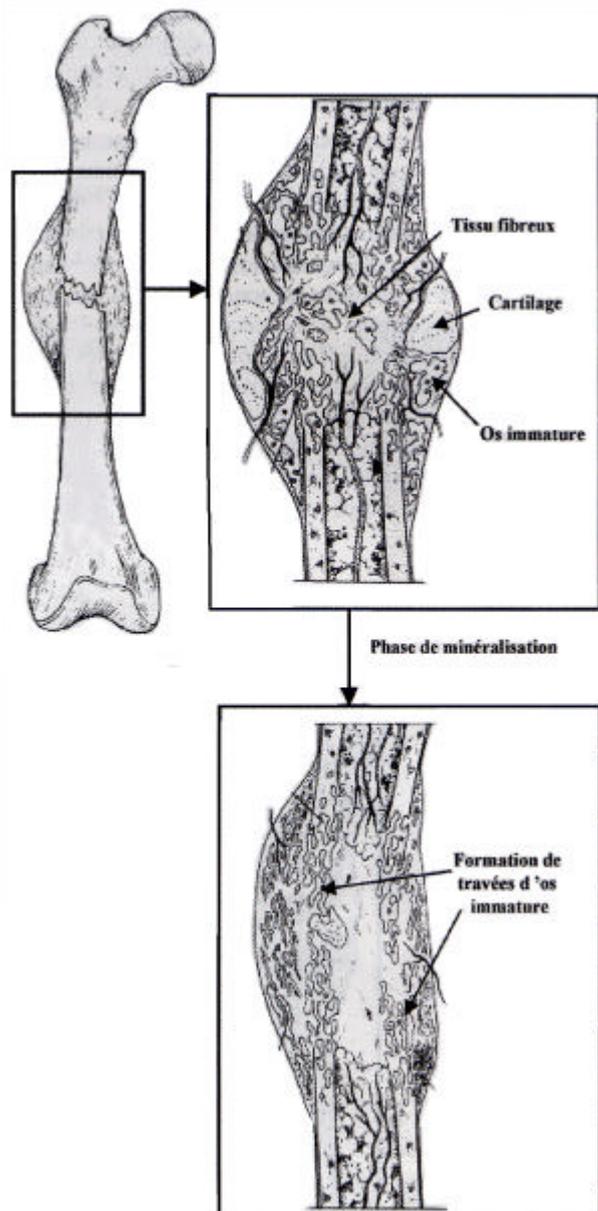
**Figure 7 : cicatrisation de l'os: phase de réparation (D'après WOODWARD [250])**

A. L'hématome fracturaire va être colonisé par une néovascularisation provenant des ramifications de l'artère centro-médullaire et des tissus périphériques. Il sera progressivement remplacé par un tissu de granulation sans tenue mécanique qui abrite les nombreuses cellules préostéogéniques (fibroblastes, préostéoblastes, chondrocytes).

**figure 8 : Cicatrisation de l'os: phase de réparation (D'après WOODWARD [250])**

En fonction de facteurs physiques externes, le tissu de granulation va se transformer en cal. Si le tissu de granulation est soumis à une certaine mobilité ou si l'apport en oxygène est faible, les cellules mésenchymateuses se transforment en chondroblastes et non pas en ostéoblastes et des foyers de métaplasie cartilagineuse apparaissent au sein du tissu de granulation. On parle alors de cal fibrocartilagineux.

Au contraire, si l'apport en oxygène est important, ces cellules donnent naissance à des ostéoblastes. Il se constitue alors un cal osseux.



également sous la dépendance d'hormones systémiques [13, 23] et des conditions mécaniques locales [146, 264]. Le TGF $\beta$  et les BMP induisent la synthèse de nombreux composants matriciels (collagène, protéines non collagéniques, enzymes), ralentissent l'ostéoclastogenèse [13, 23, 146], stimulent la différenciation et la multiplication des cellules préostéoblastiques [199, 217] et déclenchent la collagénogenèse chez les ostéoblastes différenciés [8, 13, 145, 199].

Les cellules osseuses possèdent des récepteurs spécifiques aux protéines morphogènes, dont la quantité et la synthèse sont variables [95, 100]. La synthèse des protéines non collagéniques de la matrice [63] peut être modulée par des signaux d'origine cellulaire ou présents dans la matrice [72]. Les sites actifs des protéines non collagéniques peuvent être inhibés de manière réversible par des protéines « masquantes » [192]. Enfin, des protéines de liaison associées aux facteurs de croissance [146] ou à des cytokines [57, 142] peuvent moduler leurs effets.

A la fin de cette phase, le tissu cicatriciel élaboré ne peut être, même s'il est minéralisé, assimilé à de l'os lamellaire. Il s'agit d'un os encore immature. Pour présenter une organisation lamellaire, il doit être remanié par un processus tissulaire physiologique.

### **3. La phase de remodelage**

A la suite de la mise en place du cal osseux, le tissu cicatriciel subit des cycles de résorption et de reconstruction jusqu'à obtention d'un os de type haversien (en région diaphysaire). Qu'il y ait ou non passage d'abord par la formation d'un cal fibrocartilagineux, le premier tissu osseux formé est toujours un os immature, non lamellaire.

L'étude histologique du cal de fracture d'une perte de substance de 2 mm correctement stabilisée depuis 12 semaines montre que les deux tiers du cal sont formés d'os immature [152]. Pendant une période de 2 à 12 mois suivant sa formation, l'os immature est progressivement réorganisé en os lamellaire mature.

L'os est remodelé par une succession de résorptions des portions inutiles ou inefficaces du cal et par un renforcement des zones sollicitées mécaniquement (figure 9).

Cette réorganisation obéit à la loi de Wolff [7, 186, 189] et permet au tissu cicatriciel d'acquies sa compétence mécanique [39].

En corollaire, la densité minérale du cal, que l'on peut apprécier par radiographie ou mesurer par densitométrie [151], ne reflète pas nécessairement sa résistance mécanique.

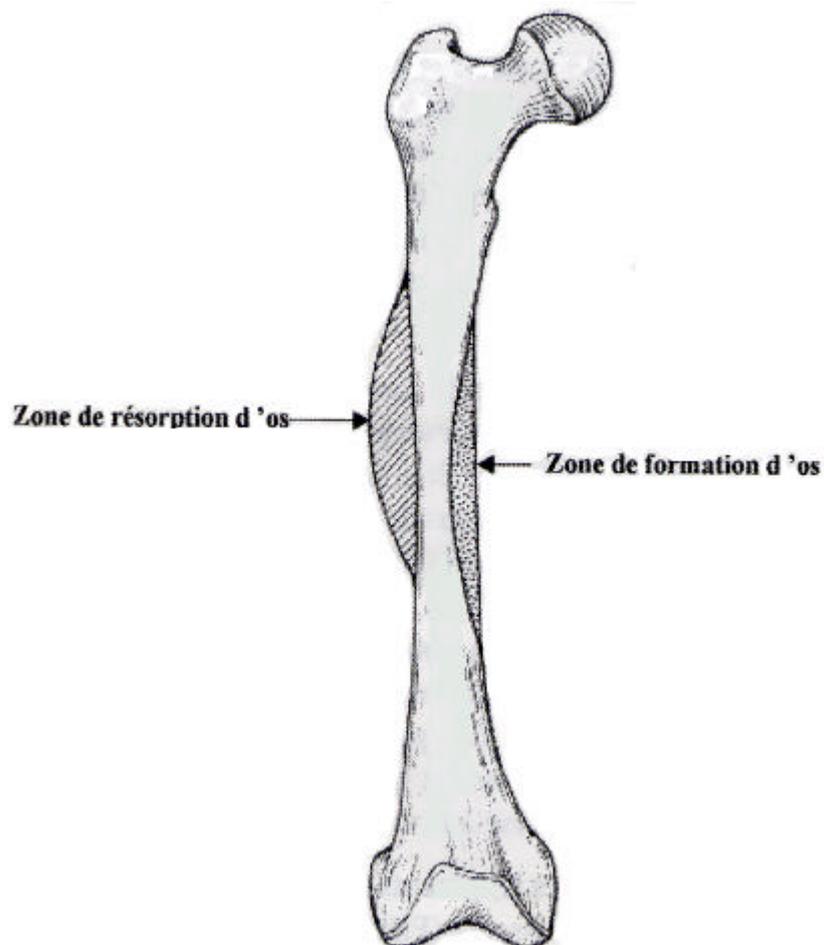
A mesure que l'os se répare, la vascularisation du foyer de fracture se réorganise et la néovascularisation anarchique du début disparaît progressivement [18]. Les éléments

vasculaires vont reprendre de proche en proche le schéma d'un système haversien à mesure que l'os cicatrise. Toute cette étape de revascularisation s'étend sur plusieurs mois [18].

Ainsi, on constate que, en condition normale, le foyer de fracture passe successivement d'un état d'hypovascularisation à une phase d'hypervascularisation puis un retour progressif à la normale [18].

Les différentes phases de la cicatrisation se superposent de façon incomplète mais toujours dans le même ordre.

Selon les fractures, le temps de chaque phase peut varier de façon significative jusqu'à disparition complète dans certains cas. Lors de fractures réduites et mises en compression par un dispositif d'ostéosynthèse approprié, la cicatrisation est directement de type ostéonique sans passage par l'étape du cal fibrocartilagineux [189].



**Figure 9 : Cicatrisation de l'os: phase de remodelage (D'après WOODWARD [250])**

L'os immature déposé au sein du cal de fracture va se remodeler progressivement en un os lamellaire pour s'arranger définitivement sur le mode haversien. Cette réorganisation ultérieure dure de 2 à 12 mois. Ce remodelage consiste en une résorption des portions de cal inutiles ou inefficaces et en un renforcement des zones sollicitées mécaniquement.

## **B. Les limites de la cicatrisation osseuse**

Pour qu'il y ait une bonne réparation du tissu osseux, certaines conditions comme la bonne oxygénation ou la stabilité du site fracturaire sont indispensables.

Dans le cas contraire, on peut alors être confronté à un retard de cicatrisation, un cal vicieux ou une pseudarthrose [62, 110].

### **1. Les mouvements interfragmentaires**

Dans un foyer de fracture, les mouvements interfragmentaires représentent un réel obstacle à la mise en place du cal de fracture en détruisant la néovascularisation qui s'établit entre les deux bouts [216].

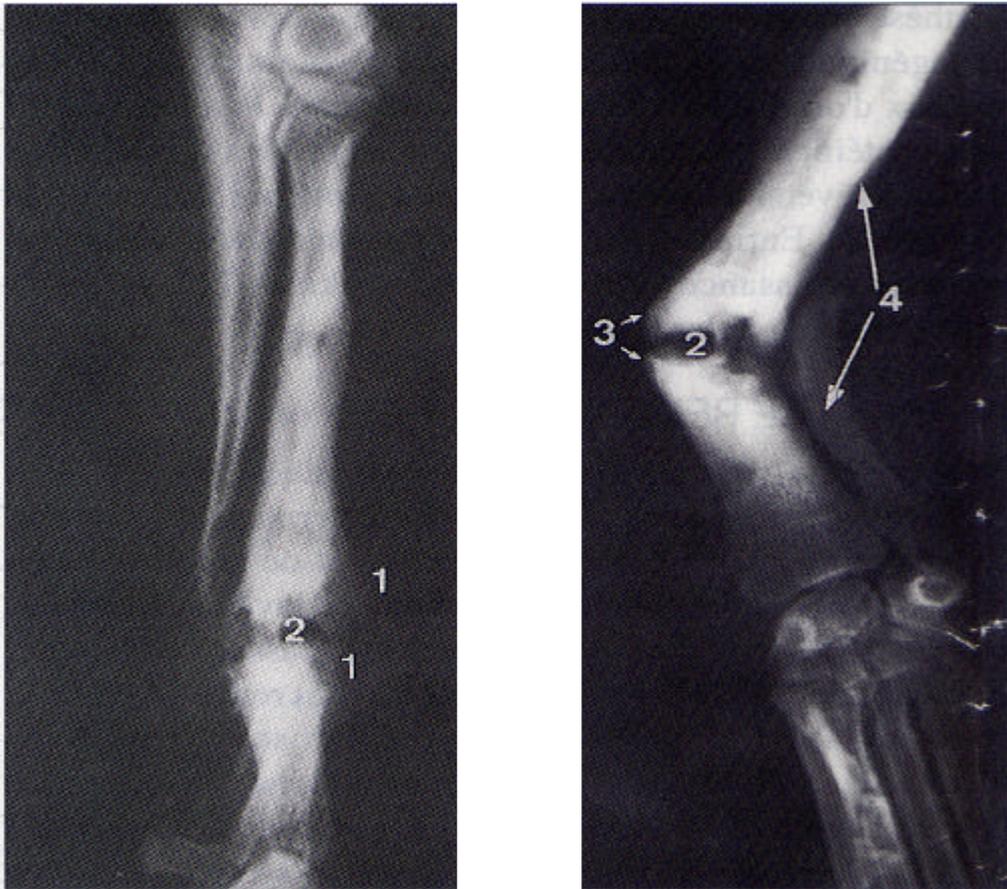
Dans les cas de faible déplacement, les contraintes de compression et de tension axiale ne perturbent que légèrement la cicatrisation osseuse. En revanche, les mouvements de cisaillement, de flexion et surtout de rotation ralentissent voire interrompent la cicatrisation [186].

L'existence d'une instabilité au sein du foyer de fracture entraîne la formation d'un cal dont le volume et la nature varient en fonction de l'amplitude des mouvements entre les deux bouts [56]. D'un point de vue biomécanique, le cal diminue le bras de levier qui tend à faire bailler le foyer de fracture; c'est pourquoi le cal sera d'autant plus volumineux que le foyer est instable.

De plus, la stabilité que procure le cal favorise en quelque sorte le processus d'ostéogénèse [186, 215]. En effet, plus la tenue mécanique est faible, plus les micromouvements préjudiciables à la cicatrisation sont importants car ils sont responsables de la rupture des néovaisseaux qui pontent le foyer de fracture.

La formation d'os ne peut donc se faire que dans des conditions de stabilité suffisante sans quoi le seul tissu capable de se former est un fibrocartilage peu résistant [189]. Il évolue peu ensuite, s'enrichit en fibroblastes peu exigeants sur le plan biologique, et pérennise l'instabilité et l'incompétence mécanique : on s'oriente vers la constitution d'une pseudarthrose (photo 1).

Lorsque l'on réduit puis stabilise parfaitement le foyer de fracture et qu'on le met en compression, on se met en situation d'obtenir une cicatrisation osseuse par première intention car le tissu osseux se met en place directement sans passage par le stade fibrocartilagineux [7].



**Photo 1 : Aspect radiographique des non-unions**

Chien présentant une pseudarthrose suite à la mise en place d'un fixateur externe sur une fracture radius-ulna. Un cal périosté non portant est présent aux marges des abouts fracturaires (1). Il délimite une zone radiotransparente remplie de fibrocartilage (2). Le défaut de consolidation osseuse est matérialisé par la discontinuité des corticales au niveau du site de fracture (3). Une angulation entre les 2 abouts fracturaires est visible (4).

Contrairement aux idées reçues, la compression interfragmentaire ne provoque pas de résorption des abouts et permet même de diminuer le temps de cicatrisation [186].

Si l'on n'obtient pas une réduction anatomique et que l'on n'exerce pas de compression sur la zone fracturaire, une substance ostéoïde comble l'espace laissé vacant entre les deux abouts. Les ostéons ne peuvent donc pas directement traverser le trait de fracture. La cicatrisation nécessite la percée de cette substance par des cônes de forage pour permettre de rétablir une continuité entre les deux fragments.

En règle générale, l'instabilité du foyer de fracture a des effets délétères. Elle peut conduire à la rupture de néovaisseaux et être responsable d'un retard de cicatrisation. Il est une situation où les micromouvements sont bénéfiques : la maturation du cal. Des contraintes mécaniques modérées, comme les micromouvements selon l'axe diaphysaire, peuvent accélérer la minéralisation d'un cal fibrocartilagineux. Il est même possible d'exploiter cliniquement les effets des micro-contraintes sur le cal osseux. Ceci prend habituellement le nom de « dynamisation ».

## **2. La vascularisation**

Comme il a été montré précédemment, la vascularisation des abouts et du site de fracture est un facteur étroitement lié à la stabilité de la zone fracturaire [191]. Or l'os a besoin d'une vascularisation importante pour se développer à la différence du fibrocartilage moins exigeant. Si l'immobilisation est parfaite, la circulation médullaire est prédominante et permet un apport sanguin accru.

La vascularisation permet l'apport des minéraux et de l'oxygène, éléments indispensables de l'ossification. La teneur en oxygène au sein du foyer de fracture a un rôle majeur dans la cicatrisation puisqu'elle influe directement sur la transformation des cellules préostéogéniques. Les cellules-souches se différencient en chondroblastes si la teneur en oxygène est basse et en ostéoblastes si la teneur est élevée [7, 189, 216].

Un déficit vasculaire peut être à l'origine d'un retard voire une absence de cicatrisation. Ce problème peut provenir du traumatisme initial (lésion importante des artères nourricières ou métaphysaires) ou de l'acte chirurgical (lésions iatrogènes).

Lors de pertes de substance, l'éloignement des abouts, notamment en région diaphysaire, contribue au déficit de la vascularisation osseuse. En effet, le site est envahi par un tissu de cicatrisation de type fibreux provenant des tissus mous périphériques [189].

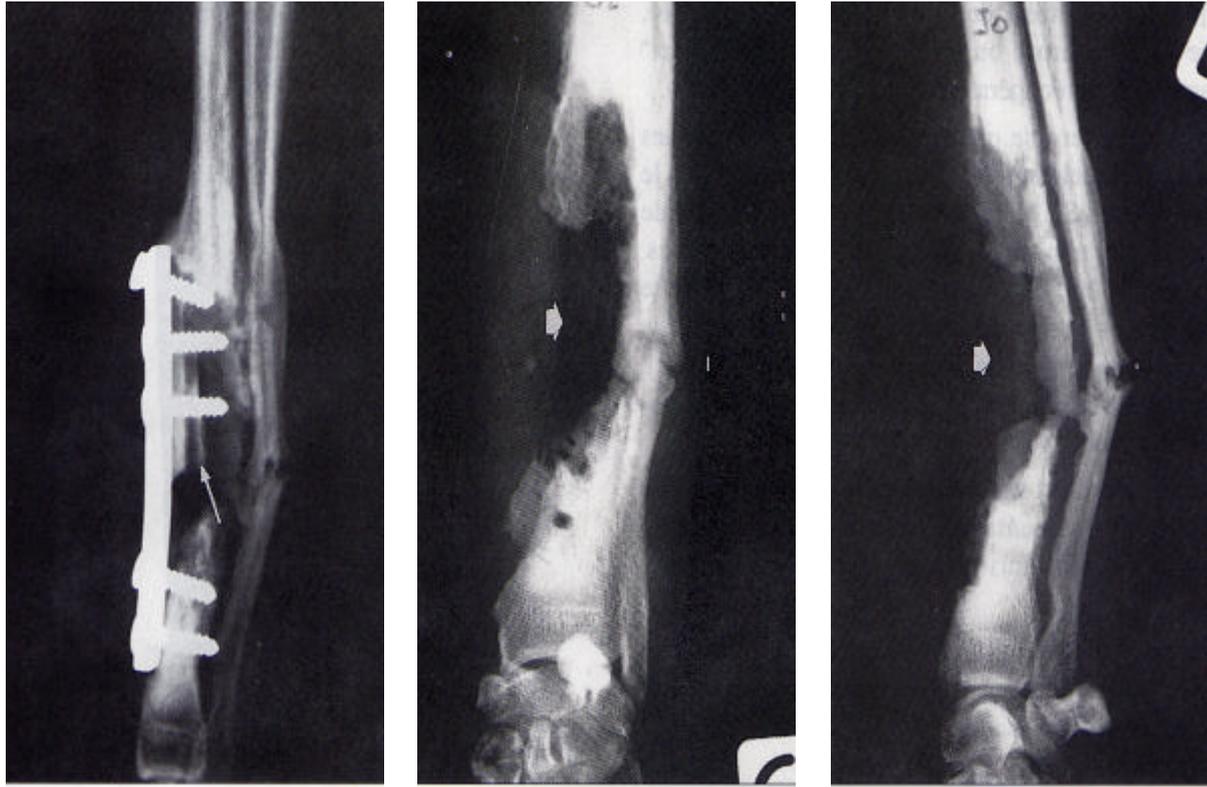
Et comme, ce tissu se met en place plus rapidement que celui assurant la réparation osseuse, il empêche le rétablissement des connections vasculaires entre les deux abouts.

## **3. L'infection**

L'infection des tissus osseux et médullaire (ostéomyélite) survient principalement suite à une fracture ouverte mais elle peut également être iatrogène. L'infection se fixe sur certaines parties de l'os qui peuvent être dévitalisées ou en voie de nécrose. Le sepsis peut être responsable d'un retard ou d'une inhibition de la cicatrisation osseuse [250] (photo 2).

L'infection entretient la phase inflammatoire, accroît la résorption osseuse et induit une nécrose supplémentaire de l'os.

De plus, l'infection peut générer une instabilité, entraîner la formation de séquestres osseux qui vont entretenir le phénomène infectieux et inflammatoire en se comportant comme des corps étrangers.



**Photo 2 : Aspect radiologique des non-unions. Infection du foyer de fracture.**

Infection d'un foyer fracturaire traité par ostéosynthèse. La flèche blanche (photo de gauche) indique la présence d'un séquestre sous la plaque. Après exérèse de la plaque, du séquestre et parage chirurgical, subsiste une perte de substance importante en zone médiadiaphysaire visible sur les 2 radiographies de droite (flèche large).

#### **4. L'éloignement des fragments**

C'est un problème rencontré de façon systématique lors de pertes de substance osseuse [198, 237], d'interposition de tissu mou entre les deux bouts fracturaires ou lorsque le système de contention de la fracture n'assure pas un bon affrontement des surfaces fracturées [250] (photo 3 et 6).

Cet éloignement influence la nature du tissu qui se développe dans le foyer de fracture. Si l'espace ne dépasse pas 0,3 mm de large, il est comblé par de l'os lamellaire.

Si la largeur est comprise entre 0,3 et 1 mm, c'est un os immature qui va se mettre en place dans la zone fracturaire. Dans le cas où l'intervalle dépasse 1 mm, c'est un tissu fibreux qui se dépose en premier entre les deux fragments [7, 60, 189].



**Photo 3 : Aspect radiologique d'une perte de substance osseuse traumatique.**

Chien beauceron de 3 mois victime d'un accident de la voie publique. La moitié de la diaphyse radiale est absente. On peut noter conjointement à la présence de cette perte de substance, une disjonction épiphysaire du cartilage de croissance distal de l'ulna (flèche large). La partie métaphysaire de l'ulna repose sur l'épiphyse du radius (flèche fine).

Si de plus, le foyer de fracture est soumis à des mouvements trop importants, seul un tissu de granulation ou du fibrocartilage sont capables de se développer.

Des recherches ont été menées chez de nombreuses espèces afin de déterminer la distance critique à partir de laquelle la cicatrisation osseuse des deux abouts diaphysaires devient impossible. Toutes ces études s'accordent pour fixer cette distance à 1,4 fois le diamètre diaphysaire moyen de l'os considéré [118, 157, 232, 243], même avec une ostéosynthèse stable.

Lorsque cette distance est dépassée, le défaut de progression de la vascularisation et l'incapacité du foyer de fracture à cicatriser conduisent à une non-union et à la formation d'une pseudarthrose [186, 216].

Dans des conditions biologiques aussi inadéquates, les phénomènes élémentaires d'ostéogénèse ne peuvent se mettre en place. Il semble que les signaux activant la différenciation des cellules ostéogéniques ne sont pas exprimés suffisamment pour être efficaces, compte tenu de leur mode de régulation autocrine et paracrine [72].

Le processus d'ostéogénèse est alors cantonné aux extrémités osseuses, permet la cicatrisation des deux abouts sans les ponter et forme une pseudarthrose [189].

Les facteurs biomécaniques et l'aspect de la revascularisation influent donc considérablement sur la cicatrisation osseuse. La réduction des abouts fracturaires joue aussi un rôle prépondérant. Si celle-ci est imparfaite ou que l'angulation entre les abouts est trop importante [118], on peut assister à un retard de cicatrisation, à la formation d'une pseudarthrose ou la mise en place d'un cal « vicieux » néfaste pour la récupération fonctionnelle [250].

Enfin, il reste à noter que certaines régions du squelette sont prédisposées à la formation de non-union. Cette prédisposition semble être due à un défaut de vascularisation intrinsèque de cette partie de l'os, un défaut de couverture musculaire et une difficulté à neutraliser les forces de rotation et de torsion s'exerçant à cet endroit. Chez le chien, les sites privilégiés de la formation de non-union sont la métaphyse distale du radius [216], puis la métaphyse distale du tibia et la diaphyse du fémur [250].

Tous ces sites sont donc des zones à problème qui seront difficiles à traiter pour le chirurgien et encore plus lors de perte de substance.

### **III. Le comblement des pertes de substance par du tissu osseux**

Les greffes osseuses et les techniques d'allongement sont des méthodes chirurgicales où le defect osseux est traité par et avec du tissu osseux [4, 46, 58, 66, 78, 170, 185].

Pour être intéressantes, ces différentes techniques doivent remplir certaines conditions.

Les objectifs du traitement sont le comblement des zones où le tissu osseux manque, la récupération fonctionnelle rapide et l'assurance d'une cicatrisation et d'une tolérance aux contraintes mécaniques à court, moyen et long terme.

Le problème du comblement osseux ne se limite pas au simple choix d'une méthode de traitement. Il inclut également l'approche biologique et la compréhension de la physiologie de ces defects osseux diaphysaires.

#### **A. La problématique du comblement osseux**

##### **1. Prise en compte de l'influence de facteurs locaux**

Le traitement des pertes de substance osseuses nécessite que l'on tienne compte d'éléments propres à chaque cas [170]. En effet, le defect a une biologie particulière et l'approche thérapeutique variera selon que la perte de substance osseuse est la conséquence d'une résection chirurgicale oncologique, du traitement d'un foyer traumatique, septique [154] ou encore d'une intervention orthopédique correctrice nécessitant une ostéotomie ou une ostectomie [15, 127]. Des traitements adjuvants à la chirurgie (chimiothérapie ou radiothérapie) peuvent également interférer avec la biologie ou la vitalité de ces abouts osseux. Le site osseux atteint a une importance dans le choix de la stratégie de comblement.

Comme on l'a vu dans la partie la vascularisation osseuse, les zones épiphysaire et métaphysaire des os longs sont riches en tissu spongieux ce qui leur confère une aptitude à la cicatrisation plus élevée que le tissu cortical diaphysaire.

La sollicitation mécanique varie aussi en fonction de la localisation de la perte de substance osseuse. En région épiphysaire et métaphysaire, la charge se répartit sur l'ensemble de la section du tissu spongieux. En région diaphysaire, les contraintes sont nettement plus importantes lorsque l'on considère la surface de section du tissu cortical [136].

Plusieurs dispositifs orthopédiques peuvent être employés pour servir de tuteur artificiel pendant que la perte de substance guérit [140, 185]. Mais en fonction du site, certaines

méthodes ne peuvent être retenues à cause d'un problème d'encombrement et de la possibilité d'implantation. La présence d'une articulation, le respect des amplitudes articulaires, la conformation du segment osseux, l'environnement musculaire et ses séquelles potentielles, tous ces éléments doivent être appréciés.

Pour remplacer de l'os, le matériau idéal reste à l'heure actuelle le tissu osseux. C'est pourquoi, on emploie de façon préférentielle et massive la greffe ou plus rarement l'allongement osseux bien que chacune de ces techniques ait des limites génératrices de contraintes majeures pour le chirurgien orthopédiste [55, 190, 197, 260].

## **2. Les propriétés du matériau de comblement osseux**

Les matériaux, destinés à être implantés en site intra-osseux pour combler un defect segmentaire, doivent respecter un cahier des charges correspondant au tissu qu'ils remplacent. C'est pourquoi ce matériau doit présenter certaines propriétés [1, 46, 72, 99, 131, 212, 247]].

La biocompatibilité caractérise la façon dont l'implant est toléré par les tissus receveurs. On l'estime en observant l'importance de la réaction inflammatoire ou immune suite à sa mise en place [1]. Plus l'implant est biocompatible, moins son implantation provoque de réaction cellulaire, surtout inflammatoire, néfaste à son intégration [193].

La bioactivité d'un implant s'estime en observant l'interface entre celui-ci et le tissu hôte. On dit que l'implant est bioactif lorsqu'il se forme spontanément un lien avec l'environnement tissulaire sans interposition de tissu inflammatoire [46, 122].

L'ostéoinduction est la capacité qu'a le matériau à promouvoir l'ostéogénèse au sein d'un tissu non osseux en induisant la conversion de cellules mésenchymateuses en cellules ostéogéniques [65, 165, 238].

L'ostéoconduction se définit comme l'aptitude du matériau à servir de support à la formation d'os natif au sein du site implanté. Ce phénomène est totalement passif [235].

L'ostéogénicité précise si la greffe est porteuse de cellules ostéogéniques (préostéoblastes, ostéoblastes) à sa surface qui survivront à la transplantation [80]. Ce terme indique donc la capacité du matériau à permettre l'ostéogénèse à partir des cellules qu'il transporte. C'est le cas des autogreffes et des substituts bioartificiels [71, 206].

L'absence de toxicité s'évalue en étudiant les produits issus de la dégradation du matériau. Celui-ci ne doit pas conduire à la libération de dérivés toxiques [247].

Le matériau idéal, concurrent de la greffe, devrait donc *a priori* posséder toutes ces qualités, et en particulier être ostéogénique, ostéoinductif et ostéoconductif. Si dans certains cas, une greffe peut en théorie satisfaire à ce cahier des charges, en pratique, c'est souvent bien différent.

## **B. La greffe osseuse**

Historiquement, l'os a été le premier matériau utilisé pour combler des pertes de substance osseuse. C'est au cours du 19<sup>ème</sup> siècle que furent publiées les premières données sur les greffes osseuses en chirurgie humaine (VON WALTER, 1820).

En 1909, ALBEE a été le premier chirurgien à utiliser un greffon pour une arthrodèse de la hanche chez l'homme.

C'est bien plus tard que paraîtra la première publication sur la greffe osseuse en chirurgie vétérinaire. Cet article paru en 1976 décrit comment WADSWORTH et HENRY traitèrent une fracture diaphysaire comminutive chez un chien à l'aide d'une allogreffe spongieuse.

### **1. Les différents types de greffon osseux**

Le nom du type de greffon utilisé provient à la fois de la zone prélevée et du site receveur.

#### **a. Suivant le lieu de prélèvement**

Selon les tissus prélevés, on parle de greffon spongieux, cortico-segmentaire ou cortico-spongieux.

Le greffon spongieux est constitué d'os spongieux. Les principaux sites de prélèvement chez le chien sont la crête iliaque [35], l'épiphyse tibiale proximale ou le grand tubercule huméral [108, 184, 211, 234]. D'autres zones comme la métaphyse proximale du fémur (en région sous-trochantérienne) peuvent être prélevées mais le risque de complications comme une fracture sous-trochantérienne est important [234]. Chez l'homme, le site le plus fréquemment utilisé est la crête iliaque [31].

Il semble que chez le chien, ce soit dans le grand tubercule huméral que l'on puisse récupérer le volume le plus élevé de tissu spongieux [184, 211]. Quel que soit le site prélevé, la qualité de la cicatrisation reste identique [234]. Le greffon spongieux est celui qui est incorporé le plus vite [212]. Son prélèvement se fait extemporanément puis il est placé immédiatement au site receveur. En général, ce sont des autogreffes et dans de rares cas des allogreffes [31].

Le greffon cortico-segmentaire (ou cortical) se compose uniquement d'os cortical prélevé de n'importe quel os long des membres [31, 116, 212]. Il est formé d'un cylindre diaphysaire. On préférera ce type de greffon lorsqu'un support structurel est nécessaire et qu'une compétence mécanique est requise. Il s'agit le plus souvent d'une allogreffe et parfois d'une autogreffe. Cette greffe cortico-segmentaire est ostéoconductive mais totalement dévitalisée et sera donc lentement revascularisée et revitalisée [209, 246].

Le greffon cortico-spongieux est à mi-chemin entre les deux méthodes précédentes. Pour sa réalisation, il nécessite le prélèvement d'un greffon avec une corticale fine et un contenu spongieux suffisant.

On utilise en général un morceau de côte ou de crête iliaque que l'on fragmente si nécessaire. Mais on peut tout aussi bien utiliser un morceau de fibula ou d'os court (vertèbre coccygienne par exemple) accompagné ou non d'éléments vasculaires (greffe vasculaire ou libre)[148, 257].

Cette greffe, employée pour le comblement des pertes de substance osseuse, s'intègre très bien [26, 225, 235, 246] lorsque sa vascularisation est rétablie à la faveur d'une anastomose chirurgicale [106].

Après avoir caractérisé les greffes par leur contenu « tissulaire », nous allons nous intéresser aux différentes sortes de greffe en fonction de la nature du donneur et du receveur.

## **b. Suivant la nature du donneur et du receveur**

b.1. L'autogreffe : elle se définit comme une greffe où receveur et donneur sont génétiquement identiques. Le plus souvent, il s'agit d'un même individu sauf dans le cas de vrais jumeaux ou de lignées monoclonales d'animaux transgéniques.

Cette greffe représente le matériel idéal pour assurer le comblement des pertes de substance osseuse. Elle répond de façon presque idéale au cahier des charges des matériaux de comblement osseux. L'autogreffe cortico-segmentaire reste une réalisation anecdotique, et on réalise généralement des **autogreffes spongieuses** [116, 212, 223, 235]. Leur utilisation est largement répandue pour le comblement de petites pertes de substance en chirurgie osseuse vétérinaire.

Elle permet l'apport de la fraction minérale, de la fraction protéique avec ses protéines collagéniques et non collagéniques matricielles, et parmi elles des signaux morphogènes essentiels dans le processus d'ostéogenèse [58].

Sur le nombre de cellules collectées et greffées, seulement moins de 10% des cellules osseuses survivent à la transplantation. Mais ce pool cellulaire suffit au bon déroulement du processus d'ostéogénèse dans le site de comblement [35].

La revascularisation d'une autogreffe spongieuse en zone corticale prend une quinzaine de jours. Puis, selon l'espèce, un délai de un à six mois est nécessaire pour son intégration complète.

Cette greffe présente l'avantage d'être ostéogène, ostéoinductive, ostéoconductive et sa biocompatibilité est parfaite. De plus, elle se revascularise rapidement [117].

Malheureusement, cette technique n'a pas que des avantages. On constate une augmentation nette de la morbidité post-opératoire surtout au niveau du site de prélèvement [35, 260]. Elle peut se traduire par des boiteries transitoires d'intensité et de durée variables.

Le problème majeur reste la difficulté qu'a le chirurgien à récolter d'importants volumes de tissu spongieux autologue, et c'est pourquoi l'autogreffe spongieuse ne peut s'appliquer qu'au comblement de petits défauts [31].

**L'autogreffe cortico-spongieuse** est une technique moins courante. Elle consiste à transplanter un fragment de côte, d'ilium, d'ulna ou de fibula en ne rétablissant pas obligatoirement les connexions vasculaires.

Cette greffe présente les mêmes avantages que la greffe spongieuse mais l'os cortico-spongieux étant moins riche en cellules, la vitalité du greffon s'en trouve donc diminuée [83]. C'est pourquoi, il arrive qu'on lui associe parfois une autogreffe spongieuse.

Ce type de greffe permet une meilleure tenue mécanique [98] et peut assurer le comblement de pertes de substance osseuse plus importantes.

La morbidité au site de prélèvement est variable.

L'intégration de cette greffe nécessite sa revascularisation puis sa consolidation est tributaire du phénomène de « creeping substitution » [31, 83] d'où une cicatrisation tardive.

Un dispositif orthopédique à effet de soutien est souvent nécessaire afin de protéger le site de greffe, et pour l'immobiliser parfaitement.

**L'autogreffe corticale** reste quelque chose de beaucoup plus rare. Elle est utilisée dans les chirurgies oncologiques du squelette. Après résection « en bloc », le fragment est autoclavé ou irradié puis il est remplacé tel qu'il était [224]. Une ostéosynthèse interne assure une solide fixation de l'autogreffe et éventuellement joue un rôle de soutien.

Ainsi, on obtient une reconstruction parfaite d'un point de vue radiologique, macroscopique et la compétence mécanique de l'ensemble est suffisante à court et moyen terme.

Par contre, la greffe est complètement dévitalisée et on note une modification considérable de ses caractéristiques biologiques [224].

La guérison des zones de contact greffe-os nécessite 1 à 6 mois selon l'espèce (environ 3 mois pour le chien) et la revitalisation totale de la greffe peut prendre plusieurs années.

b.2. L'allogreffe : c'est le transfert de tissu entre deux individus génétiquement différents mais appartenant à la même espèce. C'est la greffe la plus utilisée chez l'homme [31, 163].

Elle présente l'avantage d'être disponible en grande quantité. La forme principale de l'allogreffe est l'os dit «de banque» [163]. Avant de stocker ou de réimplanter ces greffons, on teste les donneurs pour rechercher les porteurs de certains virus ou bactéries (Brucellose, Ehrlichiose et Piroplasmose chez le chien ; le FeLV et le FIV chez le chat ; HIV et Hépatite C chez l'homme) mais aussi différentes affections métaboliques ou tumeurs. Ainsi, seuls les individus indemnes sont gardés après un tri très soigné des donneurs.

Les allogreffes spongieuses (tissu prélevé dans les têtes fémorales) sont fréquemment utilisées. Une étude menée sur 10 chiens [117] a montré que l'association allogreffe et autogreffe spongieuse est préférable à de multiples prélèvements d'os spongieux autologue (temps de chirurgie raccourci, diminution du risque de morbidité associée aux différents lieux prélevés, réduction des douleurs post-opératoires).

Les allogreffes corticales et cortico-spongieuses sont associées au traitement des pertes de substance diaphysaire, à des chirurgies prothétiques articulaires initiales ou de révision, à des interventions chirurgicales oncologiques sur le squelette [31]. Leur pouvoir d'incorporation varie suivant les études. Il est à peu près identique à celui des autogreffes cortico-spongieuses [231], et nettement diminué par rapport aux autogreffes spongieuses [204].

Les greffons sont prélevés sur cadavre de façon aseptique et chirurgicale. Les os de banque subissent ensuite des traitements afin de diminuer voire supprimer leur immunogénicité [28, 32, 54, 127, 230]. On les stérilise soit par irradiation [54], soit par la chaleur, soit encore en utilisant l'oxyde d'éthylène [236]. Pour éviter tout retard à l'intégration, la température limite à ne pas dépasser est de 80 °C [207].

Une fois traité, l'os est stocké dans une banque d'os, soit congelé à -70 °C (conservation maximale 32 semaines), soit lyophilisé à température ambiante (conservation jusqu'à 5 ans).

Les traitements reçus par les os de banque détruisent leurs cellules [170], dénaturent une fraction non négligeable de leurs protéines et altèrent leurs propriétés biologiques ; ce sont les allogreffes spongieuses qui semblent être les plus atteintes [213]. Par contre, à l'exception des prélèvements lyophilisés, il a été démontré que les propriétés mécaniques ne s'en trouvaient pas altérées [54, 236].

L'os de banque est donc une allogreffe complètement dévitalisée dont les qualités ostéoconductive sont largement supérieures aux capacités ostéoinductives.

Son intégration est incertaine et tardive [32], mais cette greffe présente l'avantage d'être disponible en grande quantité pour remplir de grandes pertes de substance osseuse tout en assurant une tenue mécanique satisfaisante lorsqu'on l'associe à une technique d'ostéosynthèse interne.

b.3. La xéno greffe : elle peut se définir comme le transfert d'un tissu entre un donneur et un receveur d'espèces différentes. Pour être utilisable, on doit d'abord faire subir à la xéno greffe un traitement afin d'atténuer sensiblement son caractère immunogène.

L'objectif de ce traitement est de dénaturer les protéines osseuses. Parfois, on extrait aussi les lipides de manière à ne conserver que la fraction minérale et la trame de collagène associée (moins immunogène). La délipidation-déprotéination des xéno greffes est une étape non négligeable car elle permet d'éliminer les antigènes de surface spécifiques et augmente la perméabilité des greffes à l'eau [38]. Cette plus grande perméabilité favorise le passage de substances hydrophiles (protéines) et la pénétration de cellules (cellules préostéogéniques par exemple).

Pour réaliser ce traitement, deux méthodes sont possibles : soit on solubilise les graisses avec du CO<sub>2</sub> à l'état supercritique [61], soit avec une solution à égales parties de chloroforme et de méthanol [105]. Le matériau est ensuite dégraissé avec de l'eau oxygéné. On obtient alors un os déspecifié dont une caractéristique est qu'il est essentiellement ostéoconducteur. Il peut servir de support à des éléments ostéoinducteurs comme par exemple aux cellules de la moelle osseuse [90].

Les xéno greffes osseuses ont connu un grand succès par le passé. Mais depuis la fin des années 70, elles ont progressivement été remplacées par les allogreffes et l'os de banque. Certaines xéno greffes sont commercialisées sous les noms déposés de Surgibone® (Unilab, Canada)[52], Laddec® (Transphyto, France), Oxbone® (Bioland, France). Leur utilisation est anecdotique en médecine vétérinaire et semble devoir le rester suite à l'apparition d'infections et d'agents non conventionnels (prion).

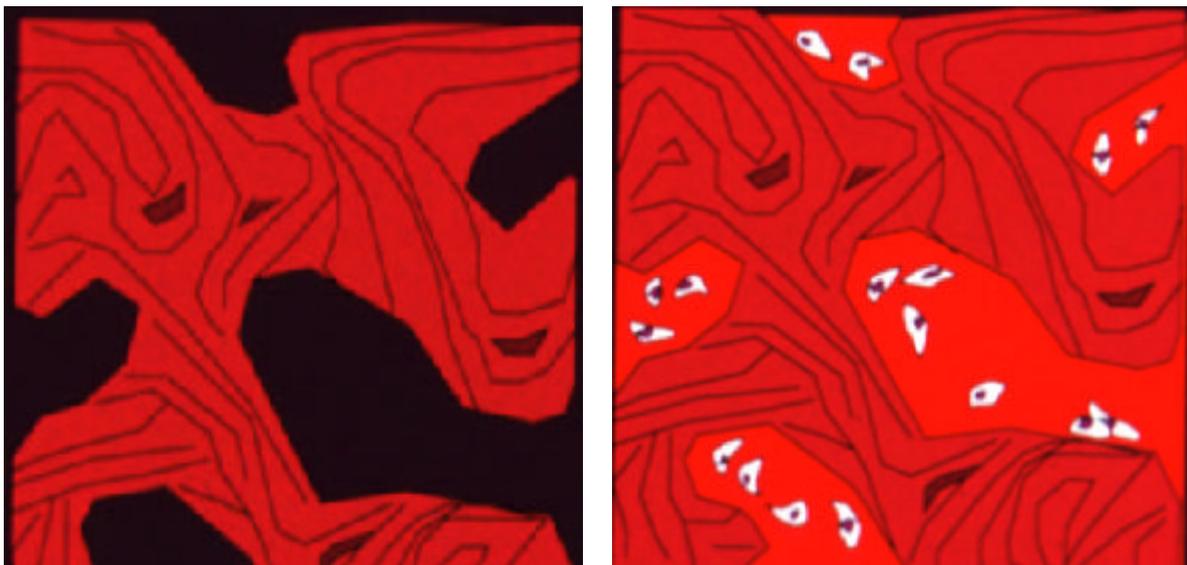
## **2. La biologie des greffes**

Après la réalisation d'une greffe d'os, on assiste à une succession d'évènements au niveau tissulaire et cellulaire. En général, ils permettent l'intégration de la greffe osseuse selon des étapes différentes suivant la nature du tissu greffé. Lorsque toutes les conditions ne sont pas favorables, l'incorporation du greffon peut alors être retardée, absente et même parfois, on assiste à un rejet de la greffe.

## a. L'autogreffe

a.1. L'autogreffe spongieuse : c'est un matériau vivant. Lorsque l'on réalise une greffe libre, l'ischémie qui en résulte entraîne la mort de 90 à 95 % des cellules ostéogéniques apportées [159] (figure 10). Seule la greffe vascularisée garde un potentiel ostéogénique intact.

Un hématome se forme dans le site opératoire puisqu'il est envahi par un tissu de granulation (figure 10). C'est ensuite le greffon qui est colonisé par de nombreux vaisseaux dès la première semaine, et totalement revascularisé en moins de deux semaines.



**Figure 10 : Devenir de l'autogreffe spongieuse (1<sup>ère</sup> partie).**

Après la mise en place chirurgicale, moins de 5 % des cellules survivent (schéma de gauche).

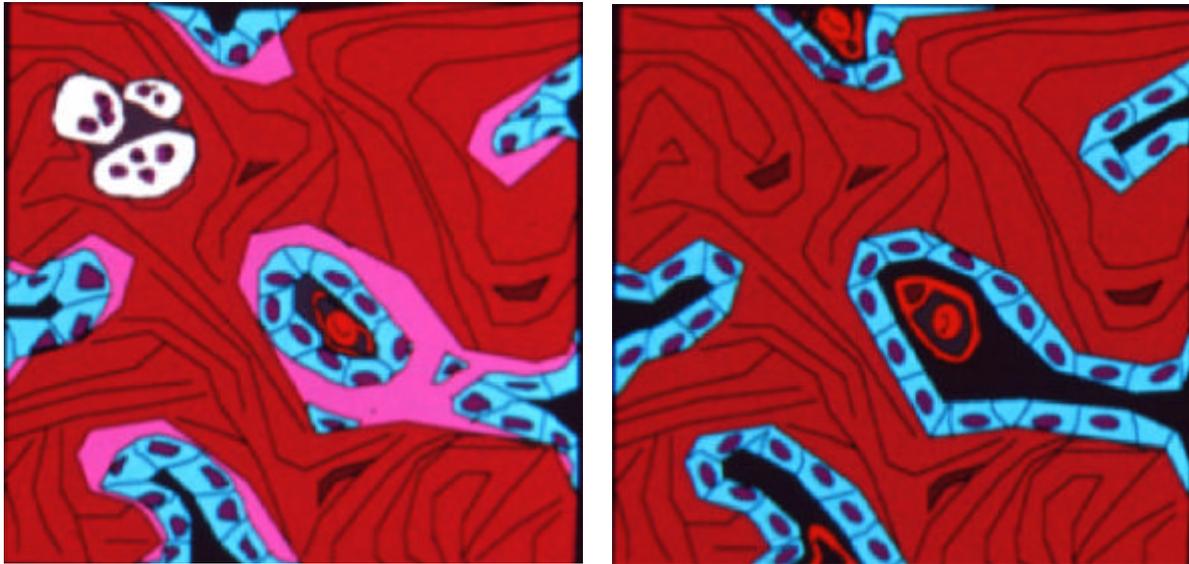
Au bout de 48 h, une néovascularisation et des cellules préostéogéniques envahissent l'hématome.

Dans le greffon, on trouve alors de nombreux ostéoblastes dont l'origine est incertaine (greffe ou tissu receveur). Ces cellules s'alignent alors sur les trabécules de l'os greffé, puis elles synthétisent une substance ostéoïde (figure 11) qui entoure et emprisonne l'os greffé nécrotique. Il y a donc formation d'os nouveau dès la première semaine.

Puis une diminution de la vascularisation s'opère à mesure que la production osseuse progresse.

A la sixième semaine, la production d'os est maximale. Tout le site de greffe est comblé par de l'os spongieux contenant de la moelle entre les trabécules.

A la douzième semaine, la greffe présente une vascularisation quasiment normale. Son aspect radiologique est comparable à celui d'un os spongieux mature et l'union entre les corticales de l'os receveur et l'os spongieux greffé est solide et mécaniquement compétente [159].



**Figure 11 : Devenir de l'autogreffe spongieuse (2<sup>ème</sup> partie).**

Après 7 jours, la surface de la greffe est recolonisée par des ostéoblastes (schéma de gauche). On observe déjà une synthèse matricielle. Au bout de 48 jours, la substance ostéoïde se minéralise et le remodelage débute (schéma de droite).

a.2. L'autogreffe corticale : au début, on observe la même succession d'événements que pour l'os spongieux avec une moins bonne revascularisation en raison de sa structure plus dense. La revascularisation est donc l'étape essentielle de l'incorporation de la greffe. Il faudra donc plus de temps que pour la greffe d'os spongieux à la greffe corticale pour être incorporée. Il faut environ deux mois pour que l'interface os cortical/greffon se revascularise correctement [159] (figure 12). Cette revascularisation se fait à partir de l'os receveur et des tissus environnants et de façon totalement aveugle puisqu'elle n'emprunte que très rarement l'ancien réseau vasculaire de l'os greffé (canaux de Wolkman et de Havers).

L'absence de revascularisation rapide entraîne la mort des cellules du greffon qui de ce fait ne participeront pas à l'ostéogénèse (figure 12).

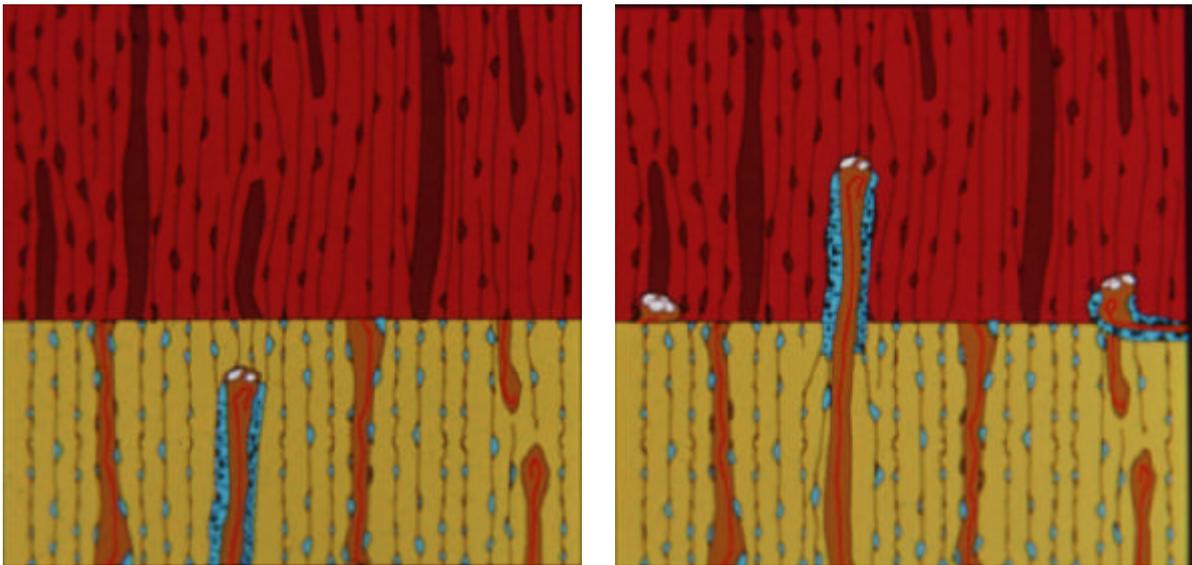
La greffe est donc considérée comme dévitalisée (sauf si elle est pédiculée) et ne sera vivante que lorsqu'elle aura subi un remaniement complet par « creeping substitution » (figure 13) et qu'elle aura été totalement revascularisée ce qui peut prendre plusieurs années.

Les ostéoclastes, amenés par la vascularisation, assurent la résorption de l'os nécrosé. Cette étape de l'incorporation de la greffe est plus importante les huit premières semaines suivant sa mise en place. La résorption augmente la porosité du greffon et diminue donc sa résistance

mécanique. C'est pourquoi on estime que la période critique d'un point de vue résistance mécanique se situe entre la sixième semaine et le sixième mois après la greffe [159].

Dès la huitième semaine, on assiste parallèlement à la phase de résorption une phase de reconstruction et d'ostéogenèse. Vers la douzième semaine, une cicatrisation osseuse de la jonction greffe-hôte est obtenue (plus facilement en zone proximale que distale [159].

Les phénomènes d'ostéoclasie et d'ostéosynthèse continuent à l'intérieur de la greffe jusqu'à ce qu'elle soit totalement remplacée par de l'os nouveau. Cette réhabilitation est longue et généralement 50 à 60 % de l'os greffé a été remplacé au bout d'un an [159] (figure 13).

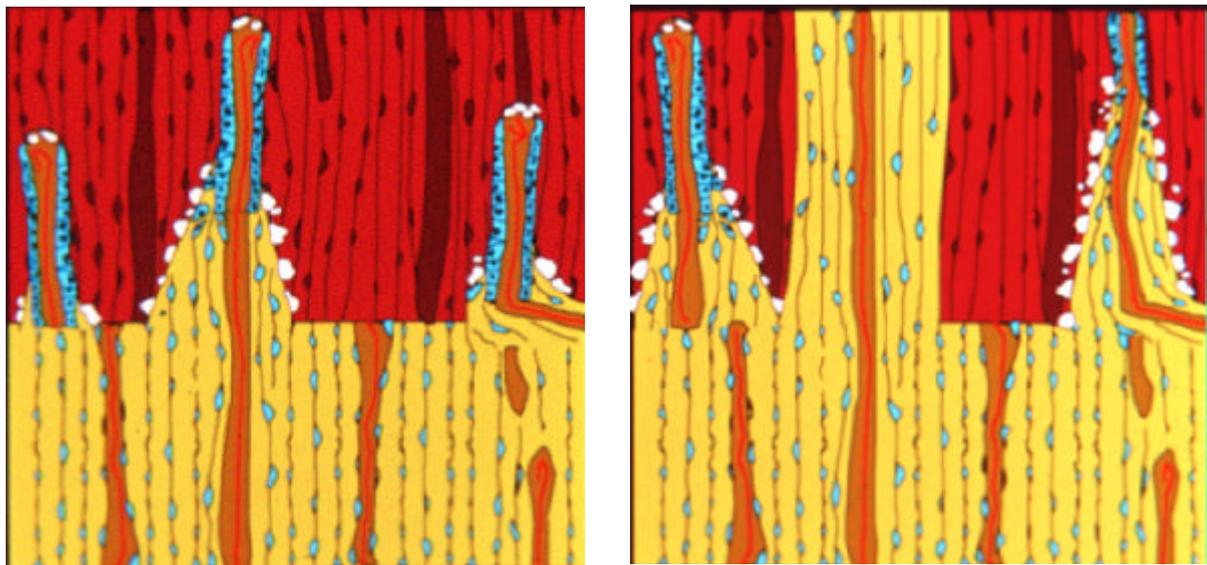


**Figure 12 : Incorporation de l'autogreffe corticale (1<sup>ère</sup> partie).**

A J0, l'autogreffe est complètement dévascularisée (schéma de gauche). Toutes les cellules greffées meurent. Après 50 jours, le processus de revascularisation est initiée de façon hétérogène sur toute la surface de contact.

Dès le neuvième mois, plus de la moitié de l'os non remanié persiste mais le volume d'os nouveau apposé confère à la greffe corticale chez le chien des propriétés mécaniques proches de la normale.

Lors de fractures présentant une esquille dévitalisée, le processus de cicatrisation sera donc identique à celui de la greffe corticale après qu'elle ait été fixée et mise en compression.



**Figure 13 : Incorporation de l'autogreffe corticale (2<sup>ème</sup> partie).**

Au bout d'environ 50 jours, c'est le début du phénomène de « creeping substitution » : on a une revitalisation de la greffe et une consolidation de l'interface greffon-os receveur (schéma de gauche).

Jusqu'à 300 jours, la phase d'ostéogenèse est maximale et la reconstitution d'un système haversien dans le greffon. Ce dernier retrouve sa compétence mécanique alors que 40 à 50 % de son volume est remanié (schéma de droite).

#### b. L'allogreffe et la xéno greffe

En pratique vétérinaire, on ne réalise que des allogreffes corticales. La revascularisation de ces greffons est plus lente que celle des autogreffes, leur résorption est plus tardive (une à deux semaines) et plus marquée alors que la néoformation osseuse est moins importante.

La cicatrisation des interfaces greffe-hôte s'effectue plus tard que pour les autogreffes : quinze semaines contre douze semaines pour l'interface proximale et dix-huit semaines au lieu de douze pour l'interface distale [159].

Suite à la greffe, on constate le développement d'une réaction inflammatoire avec la présence de très nombreux lymphocytes pendant plusieurs semaines (deux mois)[159]. Après cette période, une enveloppe fibreuse isole le greffon et limite les problèmes immunologiques. Ces réactions seront d'autant plus importantes que le greffon sera frais et non traité.

La réaction lymphoplasmocytaire témoigne de la réponse tissulaire face à la présence d'antigènes (cellules, protéines matricielles ou non, lipides...). Elle est systématique mais en général limitée. Elle ne bloque pas la cicatrisation osseuse (sauf si elle est exacerbée) mais la retarde.

### 3. L'utilisation des greffes osseuses

Lorsque l'on souhaite combler une perte de substance osseuse, la greffe d'os reste souvent le premier geste chirurgical effectué (photos 4 et 5)).

En chirurgie humaine, on estime qu'entre 400 000 et 500 000 greffes osseuses sont effectuées chaque année aux Etats-Unis [3, 28, 115].

Certaines interventions, comme les chirurgies oncologiques des membres ou les interventions de révision de prothèse totale de hanche [15] et la traumatologie osseuse nécessitent de grandes quantités d'os à greffer. C'est pourquoi des banques d'os se sont créées dans les hôpitaux pour subvenir à ces besoins croissants de tissus osseux de substitution [163].

En chirurgie vétérinaire, les greffes autologues d'os spongieux ou cortico-spongieux sont les greffes les plus utilisées. Les allogreffes corticales sont les moins courantes puisqu'elles nécessitent de faire appel à d'une banque d'os pour l'espèce concernée.

Les greffes d'os spongieux favorisent la cicatrisation osseuse lors de fractures comminutives (photos 4)[93], de pseudarthroses (photos 5, 6, 7, 8 et 9), de kystes osseux sous-chondraux, d'arthrodèses ou de chirurgie de révision de prothèses totales de hanche [156, 176].

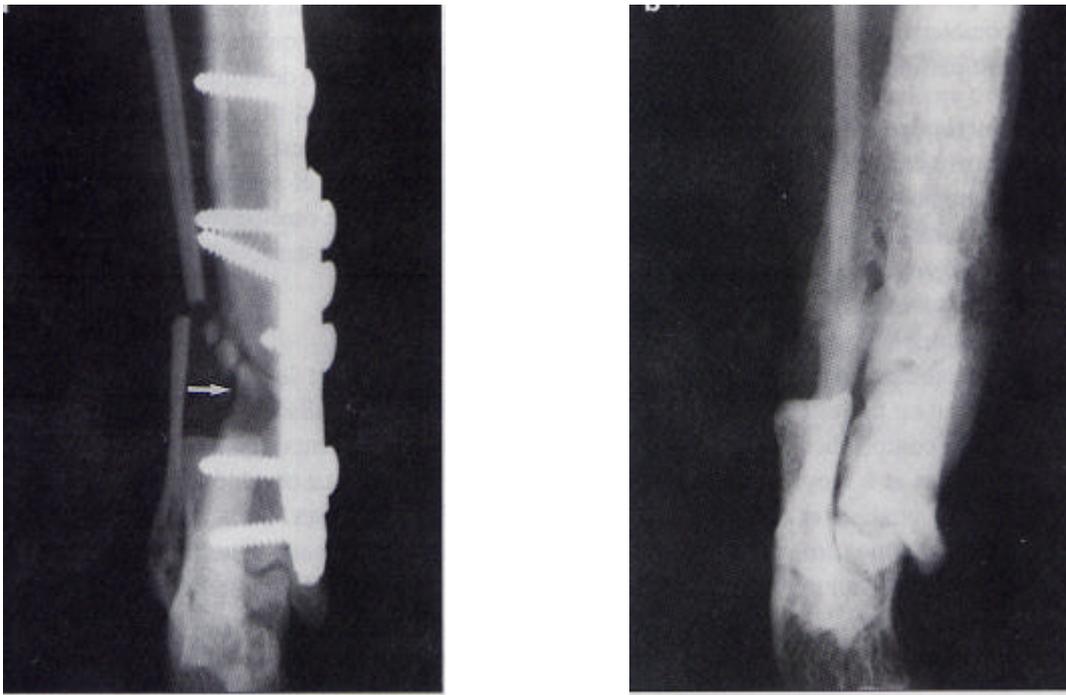
Lors d'ostéomyélite, ces greffes sont toujours associées à un parage chirurgical [10].

Enfin, on peut aussi les utiliser pour combler un defect osseux de taille moyenne en orthodontie (fracture mandibulaire infectée [22, 210], fente palatine congénitale [101]) ou en orthopédie quand l'os restant permet encore l'appui du membre mais qu'un apport ostéogénique est souhaitable [139].

La greffe corticale est envisagée lorsque la perte de substance est plus importante. On l'associe alors à une fixation interne (plaque vissée) afin d'assurer la stabilité de l'ensemble.

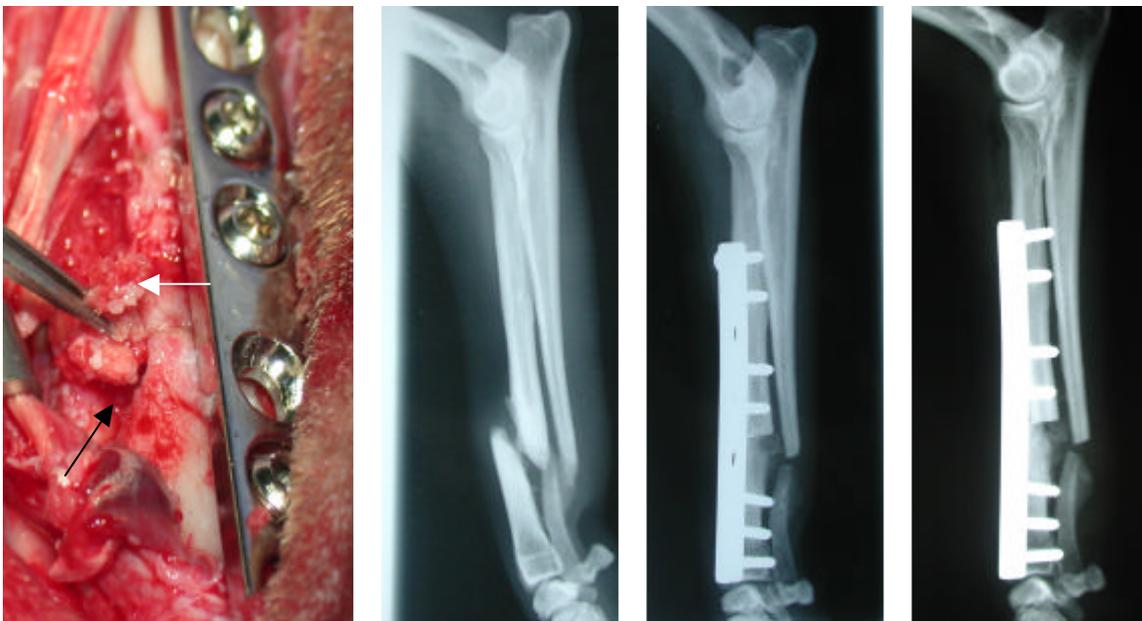
Enfin, depuis quelques années, des techniques d'allogreffe corticale sont employées comme alternative à l'amputation lors de résections larges en chirurgie oncologique du squelette appendiculaire chez le chien [214].

La greffe osseuse reste donc actuellement le geste thérapeutique le plus utilisé en chirurgie vétérinaire pour combler les pertes de substance osseuse.



**Photo 4 : Utilisation de greffe spongieuse autologue sur une fracture comminutive.**

La radiographie de gauche représente la partie distale du tibia d'un chat de 3 ans présentant une fracture comminutive traitée par plaque vissée. La comminution a entraîné un large defect (flèche) qui a été comblé par la greffe d'os spongieux. Au retrait du matériel d'ostéosynthèse 3 mois plus tard (radiographie de droite), on constate la cicatrisation en masse du tibia et de la fibula.



**Photo 5 : Exemple de traitement d'une pseudarthrose :**

Un Pincher présentait une fracture du radius et de l'ulna qui furent traitées par un pansement contentif. 3 semaines plus tard, la radiographie de contrôle (radiographie de gauche) révèle la mise en place d'une pseudarthrose. Après avoir reperméabilisé les bouts osseux, une ostéosynthèse par plaque vissée est réalisée (photo de gauche et radiographie du milieu) et associée à une greffe d'os spongieux (flèche blanche) au niveau de la perte de substance osseuse (flèche noire). Après un mois, une radiographie (à droite) de contrôle est réalisée. On observe un début d'ossification au sein de la zone greffée.



**Photo 6 :** Teckel de 2 ans présentant une pseudarthrose: elle est la conséquence d'un traitement de l'incongruence du coude par ostectomie ulnaire non stabilisée.



**Photo 7 :** Radiographie post-opératoire : une greffe cortico-spongieuse (flèche blanche) prélevée dans la partie dorsale de la palette iliaque a été mise en place dans le defect et est stabilisée par une plaque vissée.



**Photo 8 :** Contrôle radiographique à 1 mois et demi



**Photo 9 :** Contrôle radiographique à 2 mois et demi

#### 4. Les méthodes de prélèvement d'autogreffe

Quelque soit le type de greffon à prélever, il convient tout d'abord de préparer la zone de façon aseptique comme pour toute chirurgie orthopédique.

##### a. Les sites de prélèvement de tissu spongieux

Quatre sites différents s'offrent au chirurgien. Le choix de la zone prélevée est souvent orienté par la quantité d'os spongieux nécessaire et la localisation du site à combler.

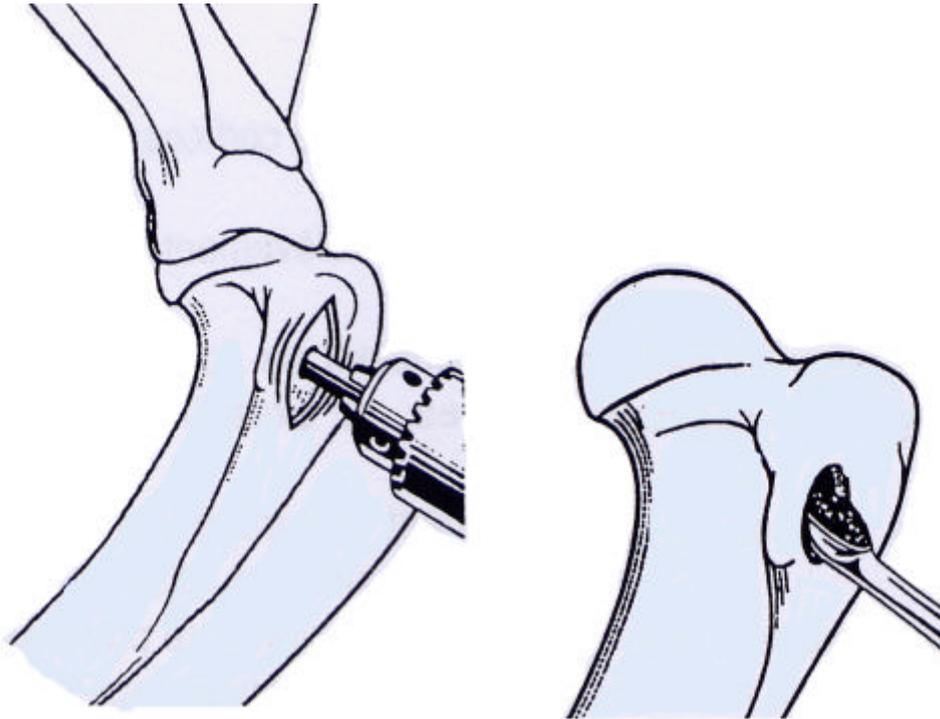
La métaphyse proximale de l'humérus (figure 14)[67, 159]: l'animal est placé en décubitus latéral (photo 10). On réalise un abord crânio-latéral du grand tubercule huméral en incisant la peau sur environ 2 cm. Après dissection du tissu sous-cutané, le chef acromial du muscle deltoïde est récliné caudalement pour dégager l'accès au grand tubercule (photo 11) puis le périoste est incisé. L'accès au tissu spongieux est rendu possible soit en perçant la corticale (photo 12) à l'aide d'une broche ou d'une mèche (diamètre compris entre 3 et 6 mm selon la taille de l'animal) soit en libérant un volet cortical avec un ciseau frappé (photo 14).

Le greffon spongieux peut alors être récolté à l'aide d'une curette (photo 13). Après prélèvement, le site osseux percé est comblé par une compresse pendant quelques minutes pour stopper les saignements puis on referme la zone plan par plan (périoste, tissu sous-cutané, peau).

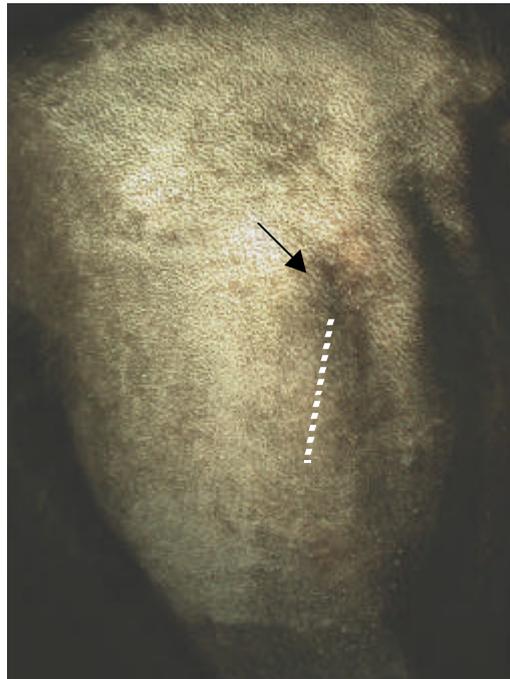
La métaphyse proximale du fémur (figure 16)[159]: comme précédemment, l'animal est placé en décubitus latéral (photo 15). L'incision cutanée est réalisée sur la face latérale du grand trochanter, puis on récline le muscle fessier superficiel crânialement et le biceps fémoral caudalement en incisant le fascia les unissant (photos 16 et 17). On accède alors au grand trochanter, on incise le périoste puis on réalise le prélèvement de la même manière que pour l'humérus proximal (photos 18 à 20).

La métaphyse proximale du tibia (figure 15)[67, 159]: l'animal est couché sur le côté. On réalise un abord crânio-médial de la crête tibiale par une incision cutanée et sous-cutanée d'environ 2 cm sur la surface médiale de la métaphyse du tibia proximal (photos 21 et 22). Après avoir incisé le périoste, on peut percer la corticale et prélever (photos 23 et 24).

La crête iliaque [67, 159]: pour ce prélèvement, l'animal peut être placé en décubitus latéral ou sternal (photo 25). L'incision cutanée est réalisée latéralement et parallèlement au bord dorsal de la crête iliaque. Après dissection du tissu sous-cutané et du fascia, on accède à la

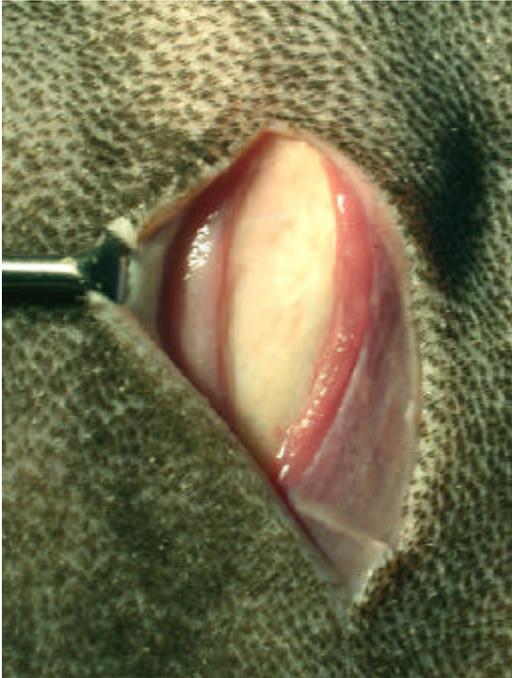


**Figure 14 : Prélèvement de tissu spongieux sur l'humérus**

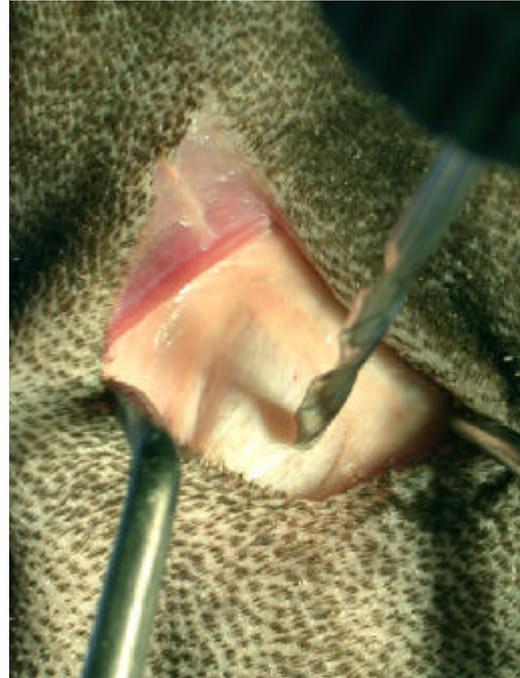


**Photo 10 : Positionnement de l'animal avant le prélèvement:**

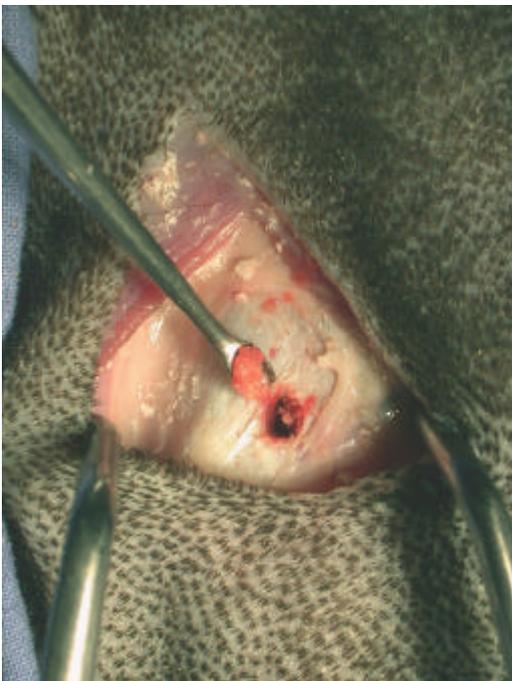
L'animal est placé en décubitus latéral (la tête de l'animal est placée à droite). L'incision cutanée se fait crânialement à la bissectrice de l'humérus, sur le tubercule majeur (ligne en pointillés sur la photo). La flèche noire indique la partie proéminente du tubercule majeur.



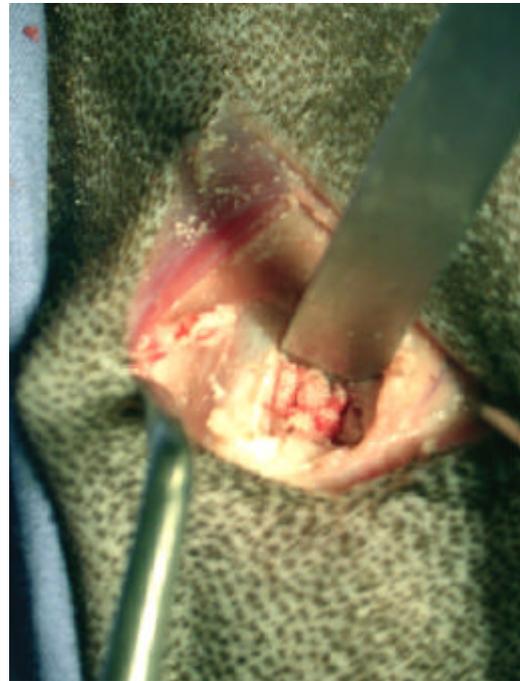
**Photo 11 : Abord de l'humérus :** Après incision de la peau et du fascia profond, on accède au tubercule majeur huméral



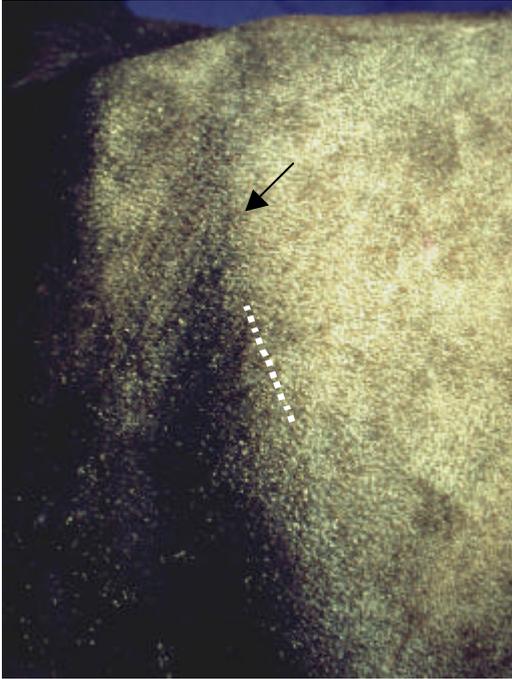
**Photo 12 : Perçage de la corticale**



**Photo 13 : Prélèvement d'os spongieux à l'aide d'une curette**



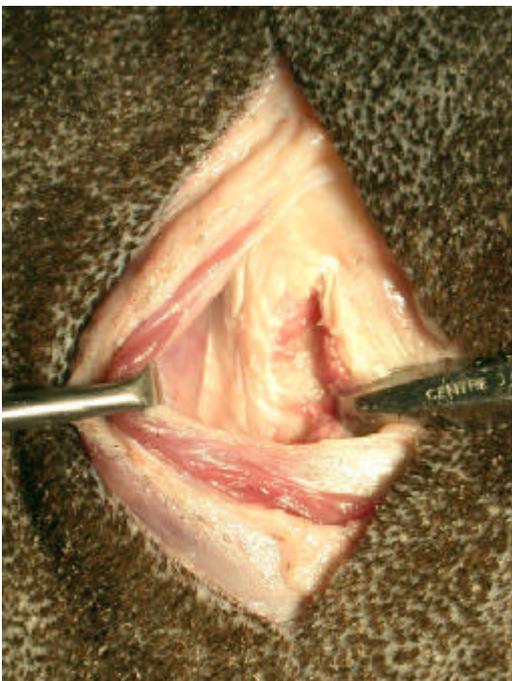
**Photo 14 : Réalisation d'un volet osseux**



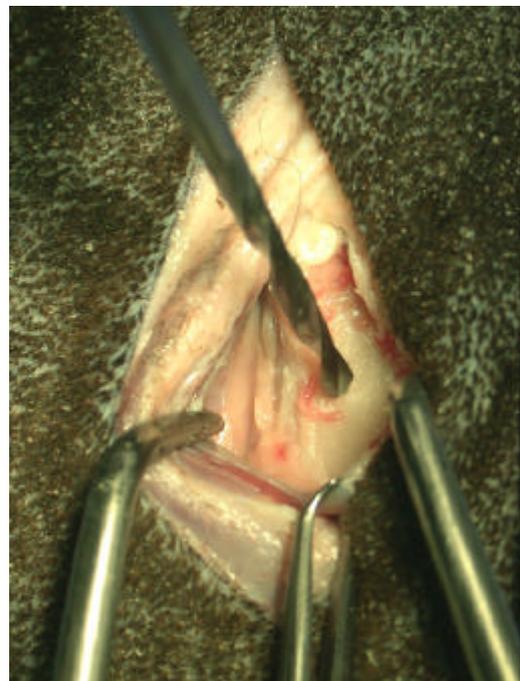
**Photo 15 : Positionnement avant prélèvement sur le fémur :** L'animal est placé en décubitus latéral. L'incision cutanée est représentée par la ligne pointillée. La flèche noire indique la position du grand trochanter.



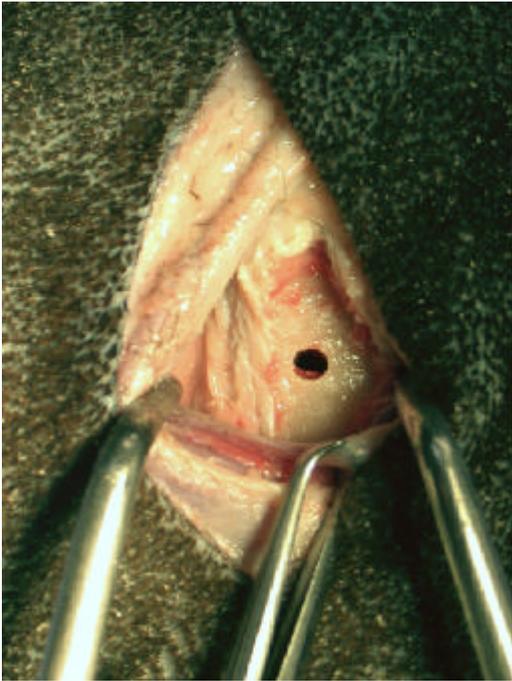
**Photo 16 : Incision cutanée et du fascia sous-cutané**



**Photo 17 : Abord du fémur :** on accède au fémur en incisant le fascia unissant le fessier superficiel et le biceps fémoral.



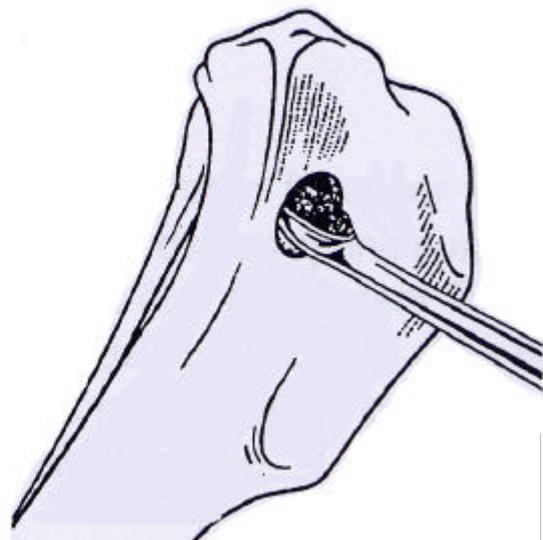
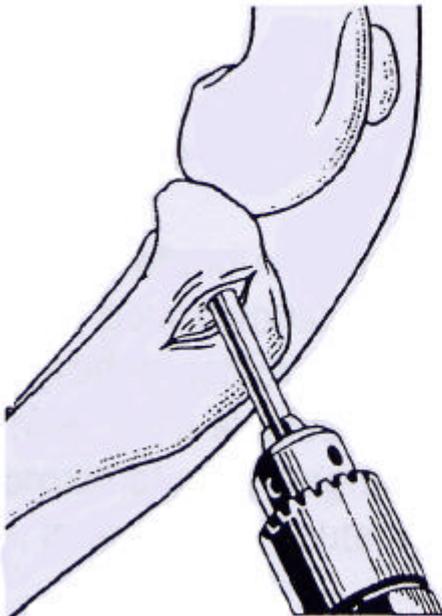
**Photo 18 : Incision du périoste avant forage**



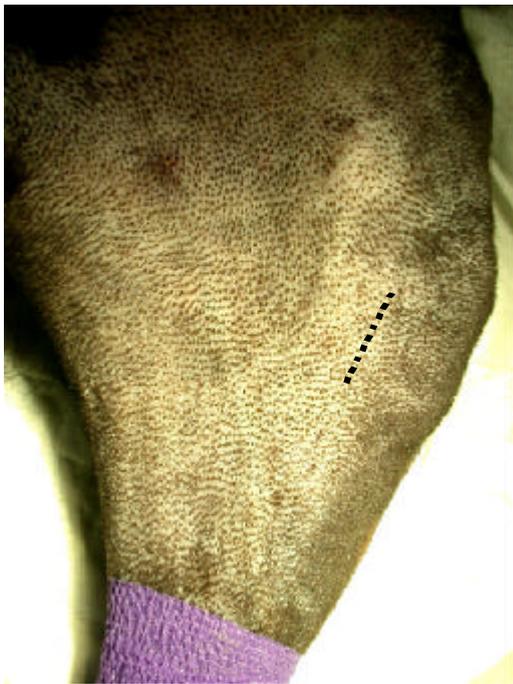
**Photo 19 : Vue de l'os après forage**



**Photo 20 : Récolte de l'os spongieux à l'aide d'une curette**



**Figure 15 : Site de prélèvement du tibia**



**Photo 21 : Positionnement de l'animal pour prélever le tibia :** l'animal est placé en décubitus latéral. L'incision cutanée (ligne pointillée noire) se fait sur la face médiale du tibia, caudalement à la crête tibiale.



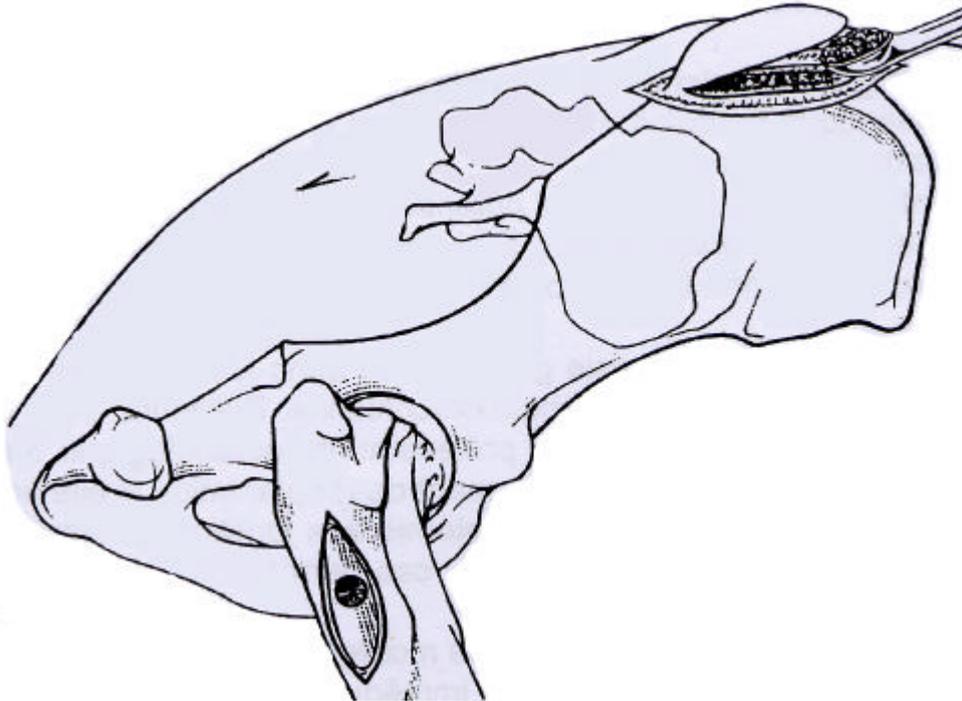
**Photo 22 : Vue du site de prélèvement après incision de la peau et du fascia sous-cutané**



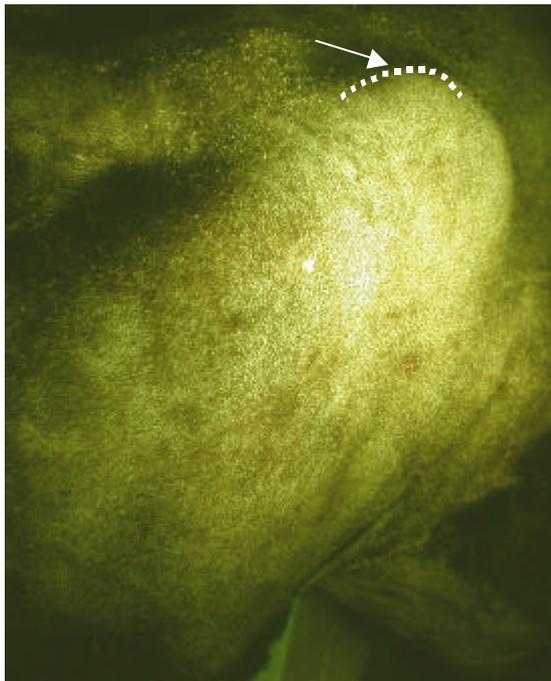
**Photo 23 : Forage de la corticale**



**Photo 24 : Récolte de tissu spongieux**



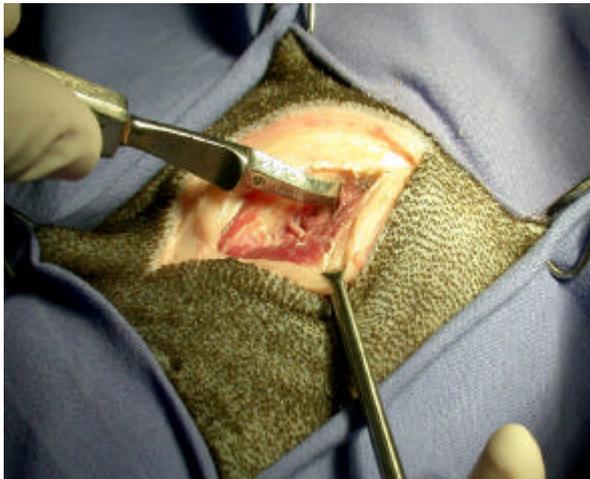
**Figure 16 : Site de prélèvement de l'ilium et du fémur**



**Photo 25 : Mise en place de l'animal pour le prélèvement sur l'ilium :** l'animal est placé en décubitus latéral. L'incision cutanée est réalisée sur la partie dorsale de l'aile de l'ilium (ligne pointillée). La flèche blanche indique le sommet de la palette iliaque.



**Photo 26 : Incision cutanée sur l'aile de l'ilium**



**Photo 27 : Désinsertion musculaire des muscles fessier moyen et sacro-épineux**



**Photo 28 : Perçage de la corticale du site de prélèvement**



**Photo 29 : Découpe d'un volet osseux au ciseau frappé : l'attache caudale est maintenue lors de greffe d'os spongieux. Ce volet sera détaché en cas de greffe cortico-spongieuse.**

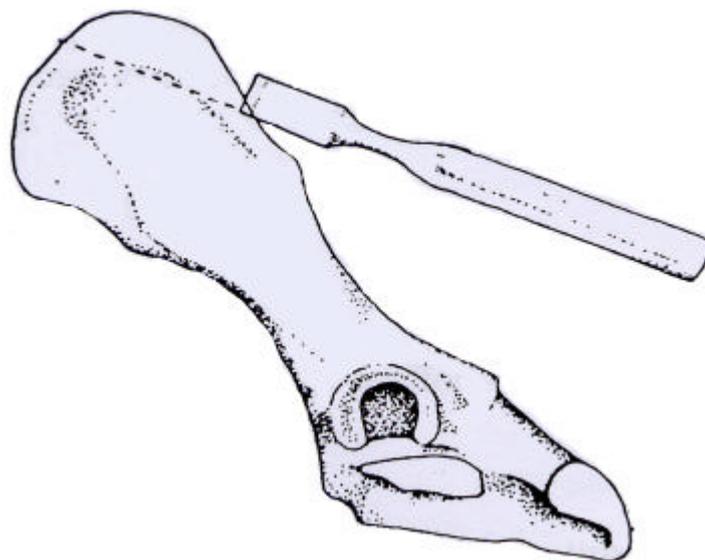
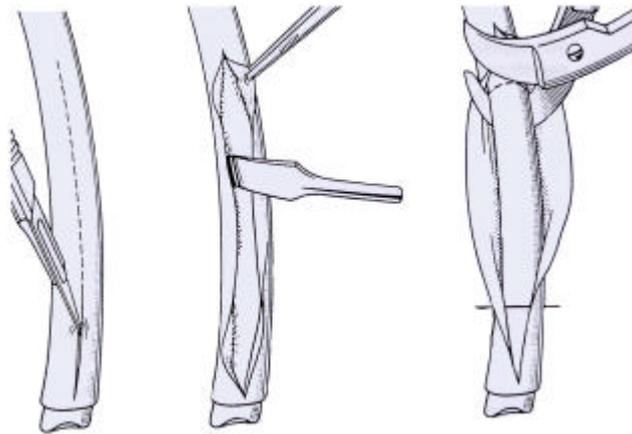
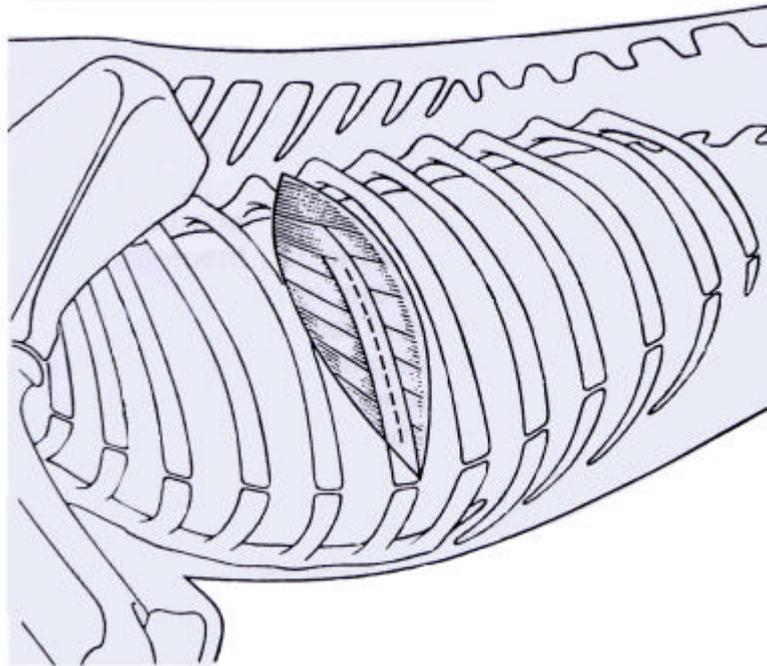


**Photo 30 : Prélèvement de l'os spongieux**

crête iliaque (photo 26). On incise alors les insertions périostées des muscles fessier moyen (latéralement) et sacroépineux (médialement) puis on rugine afin de dégager la partie crânio-dorsale de l'ilium (photo 27). Un volet osseux est partiellement détaché (laisser une attache caudalement) à l'aide d'un ciseau frappé (photo 29) ou on perce un trou dans la corticale (photo 28). On se sert alors d'une curette pour prélever de l'os spongieux (photo 30). Une fois la récolte effectuée, on replace le volet osseux que l'on suture si possible puis on resuture les muscles ensemble. Enfin le tissu sous-cutané et la peau sont refermés.

Parmi tous ces sites de prélèvement décrits, tous ne sont pas capable de fournir la même quantité de tissu spongieux. Ainsi la métaphyse proximale du fémur est connue pour être un site ne permettant pas de recueillir un grand volume de tissu à greffer.

Les trois autres zones possibles à prélever semblent pouvoir fournir des quantités supérieures de tissu spongieux.



**Figure 17 : Prélèvement des greffes cortico-spongieuses.**

## **b. Les sites de prélèvement de tissu cortico-spongieux**

Le nombre de sites disponibles pour ce type de prélèvement sont moins nombreux. On étudiera ici les deux principales zones de l'organisme fournissant des greffes cortico-spongieuses chez les carnivores (le chien en particulier).

La crête iliaque (figure 17) [67, 159] : la voie d'abord à réaliser pour ce prélèvement est identique à celle décrite précédemment pour la collecte de tissu spongieux. Le volet osseux, qui était découpé partiellement (photo 29), est dans ce cas complètement détaché et fournira le greffon.

Les côtes : on réalise préférentiellement ce type de prélèvement chez des animaux de 4 à 6 mois. La ou les côtes à prélever sont abordées de façon aseptique, le périoste est incisé dans le sens de la longueur de la côte puis récliné. La côte est libérée par section au costotome ou à la pince de Liston puis on resuture soigneusement le périoste et la plaie de façon classique. Rapidement, une nouvelle côte sera reconstituée à partir des cellules présentes dans le périoste (figure 17).

## **c. La mise en place de ces prélèvements**

De manière générale, il est conseillé d'implanter la greffe spongieuse immédiatement après sa récolte. Cependant, on réalise souvent le prélèvement avant d'aborder le site receveur pour limiter les risques de contamination du site donneur par des agents infectieux ou des cellules tumorales.

Le tissu spongieux prélevé ne doit jamais être conservé dans une solution de NaCl à 0,9 ‰ ou dans un milieu contenant des antibiotiques. Il est conseillé de le conserver dans une compresse humidifiée avec du Lactate de Ringer ou mieux encore conservé dans du sang [159]. Cette dernière méthode présente l'avantage que l'utilisation du sang entraîne la formation d'un coagulat modelable et plus facile à manipuler que l'os spongieux seul. Quelle que soit la méthode employée pour conserver le prélèvement, il convient de garder en mémoire qu'il ne faut jamais laisser plus de 20 minutes la future greffe hors de l'animal (au bout de 30 minutes, on considère que la totalité des cellules collectées sont mortes) [67, 159].

Lors de la mise en place, le maximum de tissu spongieux doit être placé dans le defect afin d'apporter le plus possible de cellules ostéogènes vivantes. Le problème est qu'à la notion de quantité s'oppose l'idée de perméabilité. En effet, plus on veut amener un grand nombre de cellules, plus on va chercher à tasser un maximum de tissu spongieux dans le site à combler. De ce fait, on augmente la densité du greffon ainsi que son imperméabilité à la pénétration

vasculaire ce qui limite la capacité d'ostéosynthèse. Après avoir placé le greffon, il est important de bien suturer les tissus mous environnants afin de stabiliser la greffe et permettre une meilleure revascularisation.

Une étape intermédiaire est nécessaire lorsque l'on réalise une greffe cortico-spongieuse. On est en effet obligé de retravailler le prélèvement avant de le réimplanter. Pour le volet osseux provenant de la crête iliaque, on l'utilisera soit après l'avoir retaillé pour qu'il corresponde à la forme du defect à combler soit après qu'il ait été divisé en petits morceaux à la pince gouge. La côte, elle, est d'abord fendue dans sa longueur avant d'être réimplantée pour favoriser la colonisation et la revascularisation du tissu spongieux.

Les allogreffes corticales doivent être fixées en compression axiale par l'intermédiaire d'une plaque vissée sur les abouts proximal et distal.

## **5. Les limites et les problèmes liés à la greffe osseuse**

### **a. Les réserves naturelles d'os**

Dans l'organisme, les réserves d'os et notamment d'os spongieux pour les greffes autologues sont rapidement dépassées lorsqu'il s'agit de combler une large perte de substance [31].

Les greffes corticales sont plus délicates à mettre en œuvre. Elles nécessitent la sélection de donneurs puis une préparation assez laborieuse pour prélever les greffons corticaux. De plus, cette méthode implique la gestion d'une banque d'os « canine » ce qui est particulièrement lourd et coûteux.

Toutes ces contraintes semblent représenter les obstacles majeurs au développement de cette technique ou la rendent extrêmement onéreuse lorsqu'elle est accessible.

### **b. Les risques de contamination du site receveur**

Lors des premières greffes, la principale cause d'échec était l'infection.

De nos jours, son incidence a fortement diminué. Ce risque d'infection, propre à toute chirurgie, représente lors de greffes un facteur encore plus grave dans la mesure où ce type d'intervention est souvent réalisé après une résection osseuse ou un retrait de matériel ayant entraîné une infection (ostéomyélite). Après la mise en place de la greffe, un processus inflammatoire se développe dans le site d'implantation [1]. Cette phase inflammatoire crée des conditions favorables à la fixation de bactéries et au développement d'une infection.

Après analyse, les germes les plus fréquemment rencontrés à ce niveau sont des bactéries du genre *Staphylococcus*.

### **c. Les complications au site de prélèvement**

Des complications septiques peuvent parfois avoir lieu dans le site de prélèvement d'os. On considère qu'elles résultent du risque septique inhérent à toute chirurgie ou qu'elles sont la conséquence d'une faute d'asepsie.

Le prélèvement chez l'animal est à l'origine d'une morbidité nettement inférieure et de beaucoup moins de complications que chez l'homme [35]. Elles se résument le plus souvent à des fractures secondaires. On trouve dans la littérature vétérinaire un cas de fracture spirale de l'humérus suite à un prélèvement d'os spongieux [64].

La collecte d'os spongieux épiphysaire contribue à fragiliser l'extrémité de l'os. Ce type de complication doit être pris très au sérieux (notamment chez l'homme) lors de prélèvement sur des sujets âgés, déminéralisés ou ostéoporotiques [31].

### **d. Les risques immunitaires**

Suite à l'incorporation d'un matériau étranger à l'organisme (greffe autologue ou hétérologue, implants métalliques, substituts divers...), une réaction inflammatoire et immunitaire d'intensité et de durée variable se met en place [193].

La réaction à corps étranger est une forme particulière et pérenne de la réaction inflammatoire. Sa persistance est liée au maintien du corps étranger et à la volonté qu'a l'organisme d'essayer de l'isoler faute d'arriver à l'éliminer.

Suite à l'implantation d'une greffe, une réaction inflammatoire se développe. Après le temps vasculaire initial non spécifique, la phase cellulaire implique d'abord des polynucléaires et des lymphocytes. Progressivement, cette population est remplacée par des macrophages et des cellules géantes issues de la fusion de cellules monocytaires circulantes ou d'histiocytes. Ces différents éléments cellulaires se retrouvent au contact du corps étranger et ont pour but de l'éliminer.

Puis finalement, si l'organisme n'a pu se débarrasser de cet élément étranger et que des antigènes maintiennent une réaction inflammatoire, on observe la formation d'une capsule fibreuse de collagène synthétisée par des fibroblastes. On estime que l'épaisseur de cette dernière est grossièrement proportionnelle à l'incompatibilité du matériau.

Dans le cas des hétéogreffes, c'est la libération d'antigènes qui entretient la réponse inflammatoire. Pour diminuer le risque d'échec, il faut s'efforcer de limiter les sources d'antigènes dans la greffe. On doit donc chercher à en extraire toutes les cellules (surtout de la moelle osseuse), les protéines en particulier non collagéniques et les lipides [193, 213]. En effet, le collagène est relativement peu immunogène.

#### **e. Les risques de transmission de maladies**

Avec l'utilisation croissante d'allogreffes et de xéno-greffes, il se pose le problème du risque de transmission de maladies principalement virales via ces greffes [163, 171].

C'est pourquoi on a rapidement abandonné les xéno-greffes non traitées.

Avec l'apparition de maladies dues à des agents non conventionnels comme la Bovine Spongiform Encephalopathy (BSE) ou maladie de la « vache folle » [25], le sujet est redevenu une priorité. En effet, il semble que le prion résiste à des températures supérieures à 200 °C et que son action soit renforcée au lieu d'être neutralisée lors de traitement par les solvants classiques (hypochlorites, ...). Seul un passage à l'autoclave pendant une heure à 132 °C permet sa destruction [25].

Redoutant toute transmission à l'homme de cette maladie via les xéno-greffes, la greffe d'os bovin est donc sur le point d'être abandonnée.

Pour les maladies virales (HIV, Hépatites B et C), on essaie de surmonter ce problème en réalisant un grand nombre de prélèvements de contrôle (cœur, foie, poumon) que l'on teste avec les méthodes de détection les plus sensibles. On espère ainsi ne sélectionner que des donneurs sains [3].

Les chirurgiens vétérinaires sont confrontés au même problème lorsqu'ils réalisent des greffes osseuses. Des essais cliniques, comme ceux réalisés en 1994 par NEMZEC et ARNOCZKY [171], ont prouvé qu'il était possible de transmettre le virus leucémogène félin (FeLV) par l'intermédiaire de greffes d'os ou d'autres tissus (le ligament patellaire et les ménisques tibiaux par exemple) traités préalablement par le froid et/ou la dessiccation.

Ainsi, on a pu mettre en évidence que les virus comme le FeLV et par extension le HIV chez l'homme ne sont pas transmis exclusivement par la greffe d'os mais également par les tissus mous péri-osseux.

Enfin, il a été décrit dans la littérature vétérinaire des cas d'ostéosarcome suite à des greffes autologues [240].

## C. Les méthodes d'allongement osseux

### 1. Le principe de la distraction osseuse

Dans le cas du comblement de defects osseux par allongement, c'est la capacité de régénération de l'os, lorsqu'il est soumis à une distraction, qui est utilisée [112].

Le comblement par allongement s'appuie sur la théorie du régénérat et la méthode d'ILIZAROV [138, 153, 237]. Ainsi, il est possible de traiter de manière plus élégante des pertes de substance osseuse en région diaphysaire sur des os longs [27, 84, 138].

La méthode d'ILIZAROV exploitée grâce à la mise en place d'un système de distraction osseuse par fixation externe. On peut la mettre en œuvre avec des fixateurs externes hémifixants ou circulaires [154, 181, 183] et plus récemment avec des clous centromédullaires verrouillés [12, 27, 89].

Ces différents appareillages permettent un éloignement relatif et progressif d'un massif osseux par rapport à un autre, après les avoir isolés par ostéotomie ou corticotomie [140].

Lorsque l'on écarte les deux bouts osseux, un tissu appelé régénérat se met en place entre les deux segments. Pour son développement, le régénérat nécessite l'apport de cellules ostéogènes. Les principales sources de cellules sont l'endoste et le périoste. Mais les tissus environnants comme les fascias, les muscles et la néovascularisation fournissent aussi des cellules ostéogènes au régénérat [3, 140, 141].

Le maintien d'une vascularisation centromédullaire fonctionnelle est la condition nécessaire à la réalisation de l'allongement. C'est pourquoi, lorsque l'on isole les deux fragments, on réalise de préférence une corticotomie qui préserve le vaisseau centromédullaire tandis que lorsqu'on fait une ostéotomie, on doit attendre que la vascularisation se rétablisse.

Cette technique est utilisée principalement chez le chien pour la correction de déformations angulaires de l'avant-bras et plus rarement du tibia [150].

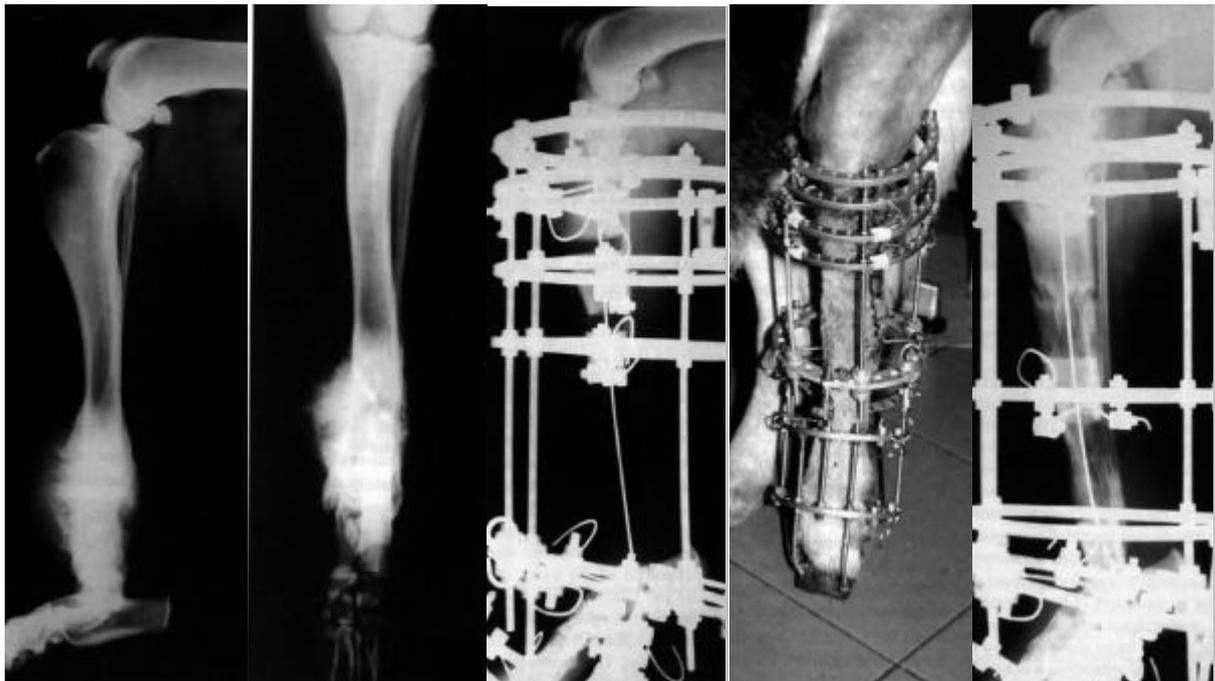
Pour traiter une perte de substance osseuse en région diaphysaire, deux méthodes sont envisageables :

- la première technique se réalise en mettant en compression le site fracturaire puis, dans un second temps, on allonge le cal déjà formé.
- la deuxième méthode nécessite la mise en place d'un appareillage destiné à maintenir le segment fracturé à sa taille initiale. Ensuite, on déplace un massif osseux attendant au defect et isolé par ostéotomie ou corticotomie jusqu'à remplacement intégral du segment diaphysaire manquant. Cette technique est dite de « l'ascenseur » ou « bone transport » en anglais (photo 31)[84, 138, 154, 237].

Chez l'homme, la distraction doit être modérée, s'effectue en continu et varie entre 0,5 et 0,75 mm par jour.

Chez le chien, on peut aller parfois jusqu'à 2 mm par jour. La distraction est réalisée manuellement soit en une seule fois par jour soit en divisant cet allongement en deux ou trois opérations réparties sur la journée.

Cette méthode permet de combler des défauts de taille faible ou moyenne et donne de très bons résultats. La stabilisation et le remodelage du régénérat peuvent nécessiter de quelques mois à plus d'un an en fonction de la longueur d'os allongée.



**Photo 31 : Utilisation de la méthode d'allongement pour le comblement d'une résection tumorale :**

Un chien présentant une tumeur osseuse des extrémités distales du tibia et de la fibula (radiographies de gauche) est traité par résection de la tumeur. Une fixation externe permettant de réaliser un allongement est mis en place (radiographie du centre et photo). Une double ostéotomie est effectuée dans l'about proximal du tibia afin de réaliser un allongement double par la méthode dite de l'ascenseur. Un contrôle (radiographie de droite) est réalisé un mois plus tard. On peut observer la formation d'un tissu osseux à mesure que les segments d'os isolés sont déplacés [196].

## 2. Les complications associées à l'allongement

Dans la littérature, de nombreuses complications sont évoquées suite à l'utilisation d'un fixateur externe circulaire d'ILIZAROV ou hémifixant comme l'Orthofix® lors d'allongement osseux. Malgré un principe simple, la réalisation de l'allongement présente certaines difficultés. Le problème principal rencontré avec cette méthode est le rythme auquel on réalise cet allongement. Si la vitesse de distraction osseuse est trop élevée, on observera la mise en place d'une pseudarthrose [154]. Lorsque la vitesse de distraction est trop faible, un cal pontant s'installe et bloque la poursuite de cette distraction.

Associé à ce problème osseux, on rencontre aussi des difficultés lors de l'étirement des tissus mous environnants. Les vaisseaux, les nerfs et les tendons par exemple sont des tissus présentant une adaptation remarquable aux conditions imposées lors de l'allongement. Ils sont capables de présenter des processus de néoformation qui permettront de supporter la distraction sans séquelle.

Malheureusement, ce n'est pas toujours le cas et parfois, on est obligé de stopper la procédure suite à des problèmes de rétractions musculaires et tendineuses, pour des complications septiques [237] ou simplement parce que la douleur provoquée par la distraction devient insupportable.

Quelques fois, de sévères arthralgies accompagnent la phase de distraction et affectent la locomotion du patient.

Des complications nerveuses (paralysie), consécutives à l'étirement des nerfs périphériques, peuvent survenir et sont très préoccupantes [73].

Cette méthode interdisant toute pause au cours de la phase d'allongement, l'émergence d'une des complications évoquées nécessite un arrêt définitif de la distraction. Le cal se met rapidement en place et interdit toute reprise du processus [140].

Le montage peut être laissé en place plusieurs mois. Cela représente une durée très importante et de ce fait un coût d'entretien non négligeable (pansements et soins locaux). De plus, le patient doit être disponible tout au long du traitement ce qui est difficile chez l'homme et encore plus compliqué chez les carnivores domestiques.

L'allongement osseux est impossible dans certaines régions anatomiques comme à proximité des articulations à grand débattement car l'appareillage utilisé est encombrant et peut gêner les mouvements et léser des tissus mous.

Une des autres contre-indications majeures à l'emploi de fixateurs externes est l'ostéoporose pour laquelle le comblement osseux sera problématique si des substituts de greffe ne sont pas utilisés.

Les indications des méthodes d'allongement et des techniques conventionnelles de comblement chirurgical sont très proches [84].

Pour certains auteurs, l'allongement semble être préférable lorsque la lésion osseuse est compliquée d'un déficit vasculaire majeur [237] ou d'un sepsis [153, 154].

Actuellement, la tendance est d'associer en fin d'allongement une autogreffe spongieuse au site de cicatrisation osseuse terminale [4].

Mais attention, les méthodes d'allongement osseux peuvent devenir coûteuses à long terme et insuffisantes lors de larges pertes de substance. En chirurgie vétérinaire, la lourdeur de la gestion des animaux porteurs de tels montages constitue un frein à leur utilisation. En corollaire, le fort taux de complications (sepsis sur broches, rupture de broches, réactions musculo-tendineuses...) est également un obstacle à la mise en œuvre fréquente de ces méthodes.

## **IV. Les méthodes alternatives de comblement**

Rapidement, il a fallu constater la faible quantité de matériel de greffe fourni par les réserves d'os spongieux de l'organisme. On s'est donc intéressé aux possibilités d'employer des substituts non osseux et de nombreuses recherches ont été menées afin de déterminer quels matériaux seraient susceptibles de remplacer au mieux les greffes d'os.

Il fallait développer des matériaux présentant un maximum de caractéristiques parmi celles citées dans la partie décrivant les propriétés du matériau de comblement (biocompatible, bioactif, ostéoinducteur, ostéoconducteur et surtout non toxique). La littérature fournit un important catalogue de substituts de greffe d'os. Nous allons envisager les principaux.

### **A. Les substituts minéraux**

Les substituts osseux minéraux présentent la caractéristique d'avoir une composition proche de celle de la matrice osseuse c'est à dire à base de sels de calcium [46, 115].

#### **1. Le plâtre de Paris**

A la fin du dix-neuvième siècle, et jusqu'au lendemain de la deuxième guerre mondiale, le plâtre de Paris était utilisé pour « remplir » des pertes de substance osseuse chez l'homme (cavités osseuses tuberculeuses). Plus récemment, il a été employé comme vecteur de molécules antibiotiques en milieu osseux [182].

KEY l'utilisa en 1934 lors de son expérimentation sur le comblement des defects ostéopériostés chez le chien [118].

Il est biocompatible, et sa composition à base de sulfate de calcium permet la formation d'os au cours de sa résorption au site implantaire [59, 182].

Cependant, ce plâtre n'est ni ostéoconducteur ni ostéoinducteur [59, 182].

#### **2. Les squelettes coralliens**

Ils sont composés essentiellement de carbonate de calcium à l'état cristallin et d'un nombre réduit d'acides aminés [149]. Ce sont des sels qui présentent l'inconvénient de se solubiliser trop rapidement. L'architecture et la porosité du matériau varient en fonction de l'espèce considérée (*Porites*, *Labophyllia*, *Acrospora*).



**Photo 32 : Grains de phosphate tricalcique**



**Photo 33 : Céramiques d'hydroxyapatite**

En revanche, la biocompatibilité et l'intégration en site osseux sont bonnes et ce quel que soit le type de corail [52, 74].

Chez l'animal, ils ont été largement utilisés et évalués dans des situations expérimentales de perte de substance osseuse en région diaphysaire et les résultats obtenus semblent intéressants [74, 202, 203, 258] lorsqu'ils ne sont pas mis en charge car les qualités mécaniques des squelettes coralliens sont médiocres.

### **3. Les phosphates tricalciques**

Ces substituts sont actuellement très employés [68, 71, 75, 85, 109].

Ils se présentent sous de multiples formes comme des céramiques, des granules (photo 32) ou du ciment.

Les phosphates tricalciques  $\hat{\alpha}$  ( $\hat{\alpha}$ -TCP), en particulier, de formule  $\beta$ -Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> sont des composés très bien tolérés par l'organisme.

La résorption du  $\hat{\alpha}$ -TCP ne provoque pas plus d'élévation de la calcémie que de réaction inflammatoire majeure bien que ce substitut soit riche en calcium.

Quand on les implante au sein d'un defect osseux, la résorption des  $\hat{\alpha}$ -TCP est associée à un dépôt progressif d'os [47, 49, 123]. Ce sont donc des composés présentant un caractère ostéoconducteur.

Leurs propriétés biologiques permettent leur utilisation là où l'on réalise une autogreffe et sert de support de cultures cellulaires ou de transporteur de protéines morphogènes [75, 80, 81, 82, 113, 143]. La principale utilisation des phosphates tricalciques se fait en orthodontie (couverture pulpaire, comblement alvéolaire) car leur résistance mécanique est moyenne.

### **4. L'hydroxyapatite**

Ce composé phosphocalcique cristallin (Ca<sub>10</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>6</sub>(OH)) se présente essentiellement sous forme de granules ou de céramiques (photo 33). C'est un constituant normal de l'os et présente la caractéristique de pouvoir être synthétisé artificiellement [52, 74, 178, 259]. Les hydroxyapatites artificielle et naturelle présentent toutefois quelques différences.

La production industrielle des céramiques phosphocalciques est définie par un cahier des charges en précisant la composition chimique, la granulométrie et la porosité.

Elles sont donc disponibles en grande quantité, très bien tolérées et ostéoconductrices [68, 71]. Des études ont mis à jour un potentiel ostéoinducteur [194] qui ne semble pas être reconnu par tous. Bien que totalement inerte, ces matériaux sont bioactifs [51, 252]. Grâce à

leur composition exclusivement minérale, les céramiques phosphocalciques à base d'hydroxyapatite ne déclenchent aucune réaction immunologique. Leur vieillissement et leur dégradation progressive ne provoquent pas de réaction tissulaire anormale au site d'implantation [71]. Le composé est spontanément doté d'une bonne ostéoconductivité [177]. La cinétique de la résorption tissulaire et celle du processus d'ostéogénèse sont superposables (figure 18)[71, 72]. Les céramiques phosphocalciques à base d'hydroxyapatite supportent toutes les méthodes conventionnelles de stérilisation et sont faciles à manipuler. En revanche, ce matériau est acellulaire, il ne présente donc aucune activité ostéogénique et c'est donc le site receveur qui doit assurer l'ostéogénèse [252]. Récemment, différentes études se sont penchées sur la capacité des céramiques à base d'hydroxyapatite à acquérir un potentiel biologique. Pour cela, on les a imprégnées de protéines morphogènes [75, 111] ou de cellules stromales [174, 175]. Les résultats de ces études semblent intéressants mais certaines incertitudes demeurent quant à la maîtrise des effets biologiques des protéines morphogènes, ce qui freine pour l'instant leur utilisation de façon plus étendue.

En chirurgie humaine, l'hydroxyapatite (HAP) s'utilise aussi en orthodontie, en chirurgie réparatrice maxillo-faciale ou en orthopédie lorsqu'il faut combler des défauts osseux où la mise en charge est faible (région épiphysaire ou métaphysaire par exemple) [19].

L'HAP peut aussi s'utiliser sous forme de céramiques pour stabiliser des implants ou pour réaliser une arthrodeuse vertébrale en chirurgie rachidienne [19, 168].

Dans la littérature vétérinaire, on trouve des articles sur des études expérimentales menées sur le chien [202, 203] mais pas de cas clinique ou d'étude rétrospective.

L'hydroxyapatite est biocompatible, non immunogène et plus ostéoconductrice que les phosphates tricalciques. Mais actuellement, aucune étude n'a pu montrer une quelconque aptitude à induire l'ostéogénèse [70, 72].

Sa dégradation est la résultante de l'action combinée de la dissolution extracellulaire et de la phagocytose. L'hydroxyapatite est peu soluble et se dégrade lentement.

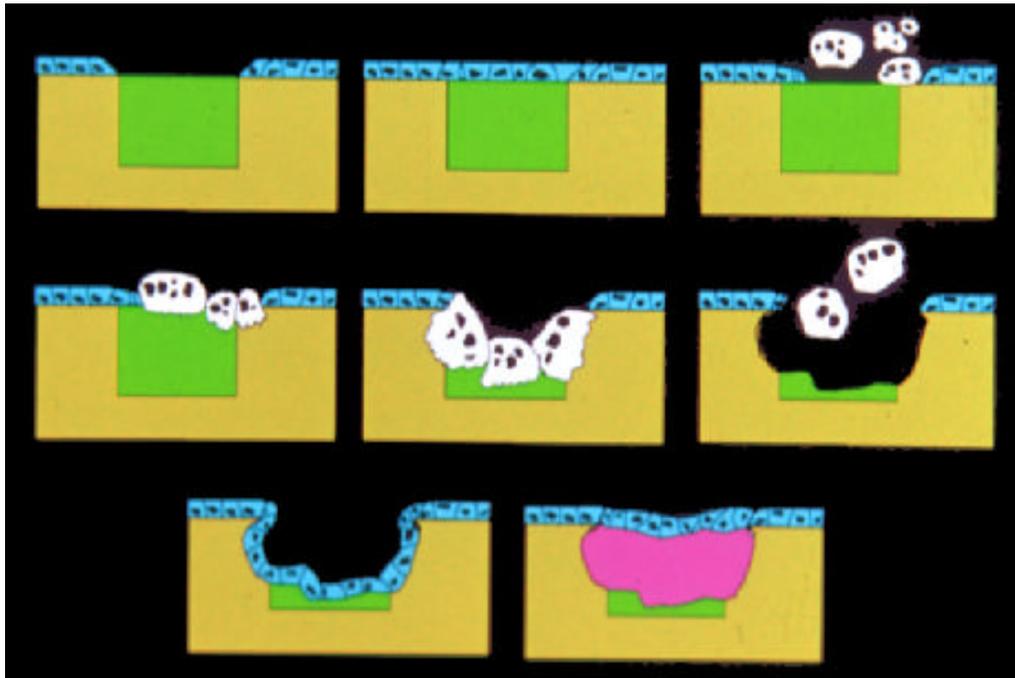
Le  $\beta$ -TCP étant plus soluble, il disparaît spontanément et sa résorption par les macrophages et les cellules géantes est plus rapide.

Lorsque l'on utilise des céramiques biphasées associant de l'hydroxyapatite et des phosphates tricalciques, la vitesse de dégradation de l'ensemble est alors fonction de la proportion relative de chaque constituant (figure 18) [68].

Suite à sa dégradation, des particules se détachent de la céramique phosphocalcique et sont phagocytées par les macrophages sans que ces derniers ne libèrent de facteurs de l'inflammation [71, 241].

Il a été montré que le dépôt d'os néoformé se faisait précocement et directement au contact du matériau. Dans un second temps, l'ostéoclasie assure une résorption de la céramique et de l'os néoformé qui s'est mis en place [47, 51, 241] puis l'ensemble est remplacé par de l'os lamellaire [70]. Lorsque l'on utilise de l'hydroxyapatite, la phase de résorption peut s'étendre sur plusieurs années [241].

Ces céramiques sont donc parfaitement biocompatibles et ostéoconductrices, mais leur inconvénient majeur est qu'elles présentent des qualités mécaniques insuffisantes [221].



**Figure 18 : Cinétique d'intégration d'une céramique HAP.**

Après implantation, le matériau est recouvert par des ostéoblastes ; après que la couche cellulaire se soit écartée, des ostéoclastes activés se fixent sur la zone et lysent l'os et la céramique indifféremment ; une fois qu'ils repartent, les ostéoblastes recouvrent la surface de la lacune et synthétisent une nouvelle matrice extracellulaire.

La tendance actuelle est de vouloir associer ces céramiques avec des protéines ostéoinductives. Cette association permettrait une libération progressive de facteurs de croissance et une accélération des phénomènes de cicatrisation. Cependant, il reste un obstacle à lever avant son utilisation massive : la connaissance du comportement de l'ensemble dans l'organisme et la limite des effets de ces protéines ostéoinductrices (risque de production exacerbée d'os ou de tumeur...).

Une autre voie d'élaboration de matériaux de comblement est celle des substituts bioartificiels : des céramiques monophasées ou biphasées (HAP+TCP) macroporeuses reçoivent (*in vivo* ou *in vitro*) des cellules ostéogéniques et préostéogéniques qui assurent la néoformation osseuse dans les pores de la céramiques (photos 34 et 35). Le composite obtenu est alors en mesure de jouer le rôle d'une autogreffe spongieuse (photos 36 et 37).



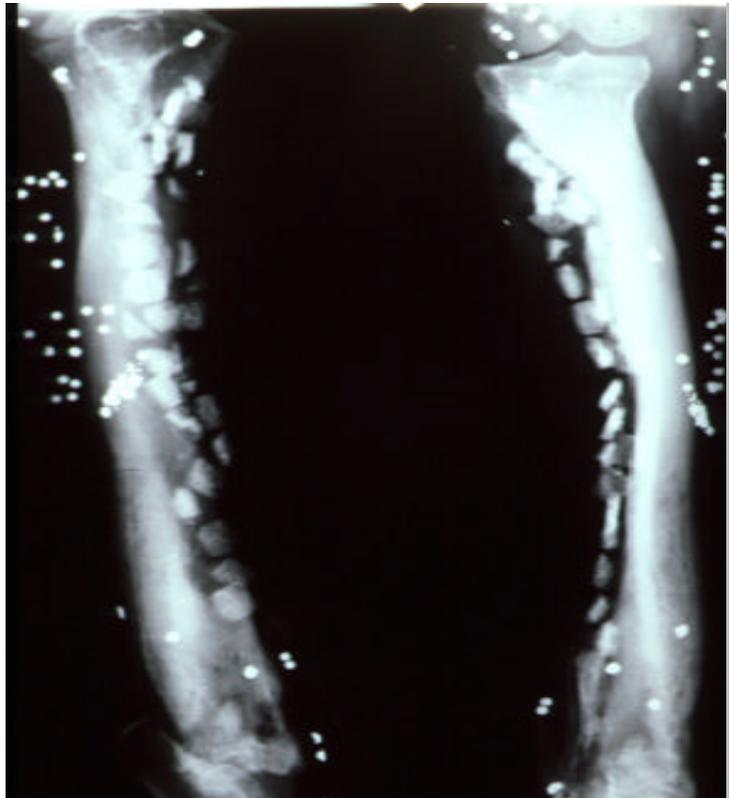
**Photo 34 : Céramiques à base d'hydroxyapatite mises en place en région sous-périostée**



**Photo 35 : Vue radiographique des céramiques d'hydroxyapatite**



**Photo 36 : Mise en place des céramiques**



**Photo 37 : Radiographie montrant les céramiques réimplantées**

## **5. Les ciments phosphocalciques**

Ils représentent une solution alternative quand il faut traiter une perte de substance osseuse [111, 129, 259]. Ces ciments de phosphate de calcium ou ciments «hydrauliques» prennent et durcissent en milieu humide sans échauffement. Initialement, on a une poudre composée d'un mélange de phosphate de calcium acide et basique [130]. Après durcissement, on obtient une apatite hydroxylée, moyennement cristallisée, biocompatible, lentement dégradable et dont les propriétés mécaniques sont insuffisantes pour qu'on l'utilise sans un matériel d'ostéosynthèse à effet de soutien [130]. Son autre inconvénient est une moins bonne biocompatibilité que les céramiques. En effet, on peut observer que suite à son implantation, des signes de réaction à corps étranger sont observés à sa surface [205].

C'est sa plasticité temporaire qui rend son utilisation intéressante car ainsi, on peut lui donner la forme de la perte de substance osseuse [70, 129, 130].

Actuellement, des études sont menées afin d'améliorer ses qualités mécaniques [130].

### **B. Les composés non minéraux**

Plusieurs polymères ont été testés comme substitut de greffe osseuse ou en tant qu'aide à la cicatrisation osseuse [46, 119, 124, 165, 166, 187, 188, 233]. Mais leur utilisation reste encore anecdotique. Dans ce paragraphe, nous ne nous intéresserons essentiellement qu'à deux groupes de polymères de synthèse puis nous verrons rapidement d'autres polymères organiques.

#### **1. Les poly-hydroxyacides dérivés**

##### **des acides lactique (PLA) et/ou glycolique (PGA)**

Ces composés sont connus depuis plus d'une vingtaine d'années comme constituants de fils résorbables. Actuellement, la chimie de ces polymères permet de synthétiser des systèmes PLA/PGA résorbables sous forme de poudres, de pâtes visqueuses, de films, de blocs dont les qualités mécaniques et la vitesse de dégradation varient sensiblement.

Les PLA/PGA sont des matériaux biodégradables et biorésorbables. Ils s'hydrolysent au contact des liquides interstitiels et les produits issus de leur dégradation sont métabolisés et excrétés par voie rénale. Leur application potentielle au comblement osseux soulève des problèmes dus à leur processus de dégradation chimique et la réaction inflammatoire qui l'accompagne. En effet, une hydrolyse acide assure la dégradation des PLA/PGA et les

produits issus de cette réaction sont des composés acides ce qui permet à ce phénomène de s'auto-entretenir. Tout ceci conduit à une dégradation préférentielle et accélérée du cœur des pièces massives dont le pH chute sensiblement. Lorsque la surface de l'implant est à son tour dégradée, elle s'effondre et la partie centrale est alors mise en contact avec les tissus avoisinants, déclenchant la formation d'abcès aseptiques. C'est un problème important posé par l'utilisation des implants (vis, broches, plaques) en PLA/PGA. Les composés lactiques et glycoliques ont été testés pour renforcer les céramiques (corail synthétique) avec des résultats satisfaisants [227]. On a également essayé d'imprégner les PLA/PGA avec des protéines morphogènes afin d'obtenir un dispositif capable de réaliser une libération différée et pouvoir traiter des pertes de substance osseuse [25, 97, 166, 262].

## **2. Le polytétrafluoroéthylène (PTFE) expansé (Gore-Tex®)**

Ce matériau peut être utilisé sous forme de membranes avec lesquelles on forme un manchon sur un defect segmentaire. Ainsi, on peut protéger et orienter le processus d'ostéogénèse [20, 33, 44, 45, 53, 92, 137, 173]. L'utilisation des protéines morphogéniques en association avec ces membranes de PTFE a été explorée *in vivo* sur des pertes de substance osseuse mandibulaire chez des rongeurs [262]. Il a été testé récemment sur des defects segmentaires sur brebis [88]. Ce n'est pas un substitut osseux au sens strict, mais il est utilisé en complément.

## **3. Les autres polymères organiques**

Il existe d'autres composés bioactifs qui permettent l'apposition de tissu ostéoi de à leur surface [16, 162]. Il a notamment été réalisé des études expérimentales avec des copolymères PEO/PBT [187, 188] utilisé en orthodontie, le BOP® (Bioactive Osteoinductive Polymer) [233] ou les bioverres (45S5 Bioglass®) qui se présentent sous forme de granules et sont utilisés en orthodontie pour leurs qualités de résorption et de substitution osseuse supérieures aux hydroxyapatites [122, 179, 222, 242].

Les matériaux minéraux ne présentent aucun potentiel ostéoinducteur alors que c'est une propriété importante dans le cadre du comblement osseux. La tendance actuelle est au développement de systèmes associant des substituts minéraux et des facteurs de croissance élaborés par génie génétique [13, 46, 75, 111].

## C. Les substances ostéoinductives

Pendant longtemps, on a parlé d'implants ostéoinducteurs. Puis avec les progrès de la science, on a pu affiner cette notion jusqu'à l'identification chimique des signaux morphogènes.

### 1. La matrice osseuse déminéralisée (DBM)

La matrice osseuse déminéralisée (Demineralised Bone Matrix) est la première substance ostéoinductive qui fût découverte et exploitée. Ses capacités d'ostéoinduction ont été démontrées et utilisées jusqu'à récemment [5, 6, 17, 57, 219, 220, 244, 249, 254].

En 1967, URIST *et al.* établirent qu'une substance, provenant d'un segment osseux dépourvu de toute cellule vivante, était capable d'induire une formation osseuse et que lorsqu'on implantait cet élément dans une perte osseuse, celui-ci finissait par favoriser la synthèse d'os au sein du defect [238].

Pour obtenir cette matrice, on réalise une déminéralisation de l'os avec de l'acide chlorhydrique [102]. Ainsi, le pouvoir ostéoinductif de l'os est augmenté du fait que les protéines sont séparées de leur trame minérale et sont alors plus en contact avec le tissu receveur [17, 91, 244]. Cette propriété peut être utilisée sur n'importe quel type de support (autogreffe, allogreffe, composés minéraux ou synthétiques) [6, 57, 125, 244]. On estime que le pouvoir ostéoinductif de l'os déminéralisé est dû à la présence de certaines cytokines de la famille du TGF- $\beta$  appelées protéines morphogènes (ou Bone Morphogenic Proteins :BMP). Ils semble que ces protéines ne soient pas trop modifiées par les différents traitements chimiques de déminéralisation [105, 201].

De plus, ces protéines morphogènes présentent une ostéoinductivité sensiblement identique à celle de l'os spongieux [5, 91].

Les présentations de cette matrice osseuse déminéralisée sont multiples : on peut la trouver en poudre ou en fins morceaux [6] pour les pertes de substance sur les os du crâne par exemple (chirurgie maxillo-faciale) ; mais on la trouve aussi sous forme de blocs pour les defects segmentaires.

Lorsqu'elle est utilisée en chirurgie maxillo-faciale et orthopédique, la matrice est placée au sein d'un support qui peut être de l'os autologue et le plus fréquemment des céramiques [98].

## 2. Les protéines ostéoinductives

Dans la matrice déminéralisée, on a réussi à isoler des protéines ostéoinductives appartenant à la superfamille du Transforming Growth Factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) appelées les Bone Morphogenic Proteins (BMP)[13, 46, 59, 120]. On a actuellement identifié 13 BMP différentes.

La conversion phénotypique des cellules mésenchymateuses indifférenciées en chondroblastes ou ostéoblastes est contrôlée par ces protéines [59, 65, 251]. La concentration moyenne de BMP est de 1  $\mu\text{g}$  / kg de matrice osseuse déminéralisée.

Ces protéines sont synthétisées par les cellules de l'os et de façon beaucoup plus anecdotique par les odontoblastes, les neuroblastes et les cellules cancéreuses lors d'ostéosarcomes et de chondrosarcomes [197]. On a réussi à reproduire certaines de ces BMP grâce au génie génétique.

Leurs effets ont été essentiellement évalués *in vitro*. Des études *in vivo* ont été menées sur des modèles de non-cicatrisation osseuse sur rongeurs, lapin, chien, mouton et primates [21, 41, 42, 43, 76, 94, 258] et ont permis de mettre en évidence l'importance de ces molécules pour le comblement des pertes de substance osseuse. Les BMP-2 et BMP-7 humaines recombinantes stimulent par exemple la transformation et la multiplication de cellules indifférenciées en cellules ostéoprogénitrices. Etant donné leurs effets sur la cicatrisation, elles représentent donc un outil potentiel très intéressant pour le comblement osseux [21, 41, 42, 43, 94, 114, 251, 255, 261]. Le seul élément, qui empêche une utilisation massive de ces BMP, est qu'on ne connaît pas encore les limites de leurs effets biologiques et quels types d'interactions sont possibles entre ces facteurs de croissance et le reste de l'organisme [166, 197, 251]. Une fois que l'on aura pu garantir leur totale innocuité, de nombreuses applications cliniques se présenteront.

Actuellement, on cherche à utiliser ces protéines associées à des support divers (minéraux, ...) [256] afin d'obtenir un dispositif à libération lente. On espère ainsi pouvoir utiliser au mieux les propriétés ostéoconductive et permettre un comblement des pertes de substance osseuse [75, 97, 111, 114, 165, 166].

Suite à de nombreuses expérimentations sur des modèles animaux, on a pu démontrer l'aptitude des BMP recombinantes à stimuler la cicatrisation osseuse [41, 42, 76, 94, 121, 134, 161, 255, 261, 262]. Mais on a aussi pu constater que dans certaines conditions environnementales, la BMP-2 pouvait agir comme un inhibiteur de la cicatrisation lors de fractures [107]. Ce fait n'est pas surprenant car il a déjà été révélé des faits similaires avec le TGF- $\beta$  *in vitro* [14].

Depuis qu'on maîtrise la synthèse des BMP par génie génétique, on envisage de l'utiliser dans de nombreux domaines en clinique. La rh-BMP2 (protéine morphogène recombinante humaine) a servi à traiter avec succès une pseudarthrose fémorale chez un chien, en association avec un dispositif de fixation interne [102].

Les associations hydroxyapatite-BMP, phosphate tricalcique-BMP et plâtre de Paris-BMP semblent être des moyens prometteurs de traitement : synthèse de dentine pour combler les extractions dentaires ; accélération de la cicatrisation lors de rupture de l'insertion osseuse d'un tendon ; mise en place de BMP autour des vis lors d'ostéosynthèse par vis pour compenser les effets délétères (nécrose thermique osseuse) provoqués par le perçage de l'os [120].

Des recherches sur l'os et certains tissus mous (rein, placenta) ont permis d'identifier de nouveaux facteurs de croissance non spécifiques mais potentiellement ostéoinducteurs. Des essais sont menés sur des défauts osseux avec le Platelet Derived Growth Factor (PDGF), l'Epidermal Growth Factor (EGF), les Fibroblast Growth Factors (FGFs), les Insulin Growth Factors 1 et 2 (IGF-1 et IGF-2) ainsi que d'autres cytokines intervenant dans la cicatrisation osseuse [13, 120, 143, 169]. Le bFGF (basic Fibroblast Growth Factor) a été testé en association avec l'hydroxyapatite et les résultats montrent une accélération de la vitesse d'intégration de cette dernière par le tissu osseux [245].

De même, il a été montré que, l'utilisation de somatotropine canine recombinante sur des défauts segmentaires du radius chez le chien, assurait une cicatrisation plus rapide [164].

## CONCLUSION

L'os est donc un tissu particulier en remodelage constant. Suite à un traumatisme, un processus de cicatrisation peut se mettre en place que si certaines conditions sont réunies. Dans le cas contraire, l'os est incapable de cicatriser spontanément et une pseudarthrose peut se mettre en place. Ce problème est la complication la plus fréquemment rencontrée lors de pertes de substance osseuse en région diaphysaire. Suite à un defect de taille critique ou des lésions importantes de l'os et des tissus environnants, le comblement biologique et spontané ne peut s'effectuer, il convient alors d'intervenir pour favoriser la cicatrisation. La greffe osseuse est la technique la plus fréquemment utilisée. L'autogreffe spongieuse reste pour l'instant la référence mais le volume disponible est faible et des prélèvements répétés augmentent les risques de complication.

Les os de banque (allogreffe, xéno greffe) sont eux disponibles en plus grande quantité mais leurs propriétés immunogènes résiduelles représentent un risque de rejet difficile à gérer. L'incorporation de ces greffes est tardive et l'on ne peut pas complètement écarter le risque de transmission de maladies [170]. Enfin, le doute persiste sur la capacité des techniques classiques à permettre la stérilisation des os de banque vis-à-vis des agents non conventionnel.

Les techniques d'allongement sont tributaires des conditions biologiques locales et de la vitalité des tissus environnants. Parfois, cette méthode ne peut être mise en œuvre pour des raisons anatomiques ou techniques. Les complications associées à ces techniques sont nombreuses, fréquentes et difficiles à gérer [66] ce qui explique qu'on ne les utilise que rarement.

Les substituts de greffe osseuse sont maintenant essentiellement issus des productions industrielles. Leur utilisation est intéressante mais des qualités mécaniques insuffisantes et une vitesse de résorption variable représentent des freins majeurs à leur emploi au niveau des zones de charge du squelette des carnivores domestiques.

Quant aux substances ostéoinductives, une meilleure connaissance de leurs effets et surtout de leurs limites sont indispensables pour permettre leur utilisation en clinique.

Il semble donc qu'aucune méthode, dont on dispose, ne puisse s'imposer comme la solution. On peut donc s'attendre à ce que la recherche continue à essayer de développer de nouvelles techniques comme l'os bio-artificiel. C'est un matériau de comblement basé sur l'association de cellules ostéogéniques du patient et d'un support de culture organo-minéral jouant un rôle de véhicule lors de la « transplantation ». Il présente l'avantage d'être vivant comme l'autogreffe spongieuse, disponible en quantité comme l'os de banque et les matériaux. Cette alternative à l'autogreffe d'os spongieux fait actuellement l'objet de nombreuses études [16,

52, 172, 175] et l'utilisation de cette méthode pourrait bien devenir un outil important pour combler les pertes de substance osseuse en chirurgie vétérinaire dans les prochaines années.

# BIBLIOGRAPHIE

1. ANDERSON J.M. : Mechanisms of inflammation and infection with implanted devices. *Cardiovasc. Pathol.*, 1993, **2**, 3, 33S-41S.
2. ARO H., WIPPERMANN B., HODGSON S. et CHAO E. : Prediction of properties of fractures callus by measurement of mineral density using micro-bone densitometry. *J. Bone Joint Surg.* 1989, **71-A**, 1020-1028.
3. ARO H.T. et AHO A.J. : Clinical use of bone allografts. *Ann. Med.* 1993, **25**, 404-411.
4. ARONSON J. : Current Concept Review : Limb-Lengthening, Skeletal Reconstruction, and Bone Transport with the Ilizarov Method. *J. Bone Joint Surg.*, 1997, **79-A**, 8, 1243-1258.
5. ASPENGER P., WITTBGER J. et THORNGREN K.G. : Bone matrix and marrow versus cancellous bone in rabbit radial defects. *Arch. Orthop. Trauma. Surg.*, 1987, **106**, 6, 335-340.
6. ASPENGER P., WITTBGER J. et THORNGREN K.G. : Pulverised bone matrix as an injectable bone graft in rabbit radius defects. *Clin. Orthop.*, 1986, **206**, 261-269.
7. AUTEFAGE A. : La consolidation des fractures, CES de traumatologie ostéo-articulaire et orthopédie animals, Cours polycopié, 07-11 Novembre 1994, ENVT
8. BAB I., PASSI-EVEN L., GAZIT D. *et al.* : Osteogenesis in in vivo diffusion chamber cultures of human marrow cells, *Bone and Mineral*, 1988, **4**, 373-386.
9. BAILLAT X. et TEOT L. : La circulation sanguine de l'os. In : TEOT L., VIDAL J., DOSSA J. (eds): *Le tissu osseux*, Sauramps Médical, Montpellier, 1989.
10. BARDET J.F., HOHN R.B. et BASINGER R. : Open drainage and delayed autogenous cancellous bone grafting for treatment of chronic osteomyelitis in dogs and cats. *J. Am. Vet. Assoc.*, 1983, **183**, 3, 312-317.
11. BARON R., CHAKRABORTY M., CHATTERJEE D., HORNE W., LOMRI A. et RASELOOT J.-H. : Biology of the osteoclast. In: MUNDY G., MARTIN T. (eds): *Physiology and Pharmacology of bone*, Springer-Verlag, Berlin, 1993, 111-147.
12. BAUMGART R., BETZ A. et SCHWEIBERER L. : A fully implantable motorized intramedullary nail for limb lengthening and bone transport. *Clin. Orthop.*, 1997, **343**, 135-143.
13. BAYLINK D.J., FINKELMAN R.D. et MOHAN S. : Growth factors to stimulate bone formation. *J. Bone Min. Res.*, 1993, **8**, 2, 565-572.
14. BECKL.S., WONG R.L., DEGUZMAN L., LEE W.P., ONGPIPAT-TANAKUL B. et NGUYEN T.H. : Combination of bone marrow and TGF-beta1 augment the healing of critical-sized bone defects. *J. Pharm. Sci.*, 1998, **87**, 11, 1379-1386.
15. BETTIN D. : The use of allografts in Revision Hip Alloarthroplasty. In: CZITROM A.A., WINKLER H. (eds): *Orthopaedic Allograft Surgery*. Springer-Verlag, Vienne, 1996, 83-90.
16. BIZIOS R. : Mini-review : Osteoblasts: An *in vitro* model of bone-implant interactions. *Biotech. Bioeng.*, 1994, **43**, 582-585.
17. BOLANDER M.E. et BALIAN G. : The use of demineralized bone matrix in the repair of segmental defects. *J. Bone and Joint Surg. (Am)*, 1986, **68**, 1264-1274.
18. BONNEL F. et TACHOT B. : Biologie de la cicatrisation des fractures. In : TEOT L., VIDAL J., DOSSA J. (eds): *Le tissu osseux*. Sauramps Médical, Montpellier, 1989, 171-179.
19. BONNEVIALLE P. : Biomatériaux synthétiques de comblement osseux: Applications cliniques en orthopédie, communication personnelle non publiée.
20. BOSCH C., MELSEN B. et VARGERVIK K. : Guided bone regeneration in calvarial bone defects using polytetrafluoroethylene membranes, *Cleft Palate Craniofac. J.*, 1995, **32**, 4, 311-317.

21. BOSTROM M., LANE J.M., TOMIN E., BROWNE M., BERBERIAN W., TUREK T., SMITH J., WOZNEY J. et SCHILDHAPUER T. : Use of bone morphogenetic protein-2 in the rabbit ulnar nonunion model. *Clin. Orthop.*, 1996, **327**, 272-282.
22. BOUDRIEAU R.J., TIDWELL A.S., ULLMAN S.L. et GORES B.R. : Correction of mandibular nonunion and malocclusion by plate fixation and autogenous cortical bone grafts in two dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1994, **204**, 5, 744-750.
23. BOURQUE W., GROSS M. et HALL B. : Expression of four growth factors during fracture repair. *Int. J. Dev. Biol.*, 1993 , **37**, 4, 573-579.
24. BOYAN B.D., LOHMANN C.H., SOMERS A., NIEDERAUER G.G., WOZNEY J.M., DEAN D.D., CARNES D.L. Jr et SCHWARTZ Z. : Potential of porous poly-D,L-lactide-co-glycolide particles as a carrier for recombinant human bone morphogenetic protein-2 during osteoinduction *in vivo*. *J. Biomed. Mater. Res.*, 1999, **46**, **1**, 51-59.
25. BRADLEY R. : Bovine spongiform encephalopathy epidemiology: A brief review. *Livestock Production Science*, 1994, **38**, 5-16.
26. BRUNELLI G., GUIZZI P.A., BATTISTON B. et VIGASIO A. : A comparison of vascularized and non-vascularized bone transfert in rabbits: a roentgenographic, scintigraphic, and histologic evaluation. *J. Reconstr. Microsurg.*, 1987, **3**, 4, 301-307.
27. BRUNNER U.H., CORDEY J., SCHWEIBERER L. et PERREN S.M. : Force required for bone segment transport in the treatment of large bone defects using medullary nail fixation. *Clin. Orthop.*, 1994, **301**, 147-155.
28. BUCK B.E. et MALININ T.I. : Human bone and tissue allografts. Preparation and safety. *Clin. Orthop.*, 1994, **303**, 8-17.
29. BUCKWALTER J.A., GLIMCHER M.J., COOPER R.R. et RECKER R. : Bone biology. Part 1: Structure, blood supply, cells, matrix and mineralisazion. *J. Bone Joint Surg. (Am)*, 1995, **77** (8),1256-1274.
30. BUCKWALTER J.A., GLIMCHER M.J., COOPER R.R. et RECKER R. : Bone biology. Part 2: Formation, form, modeling, remodeling, and regulation of cell function. *J. Bone Joint Surg (Am)*, 1985, **77**, 8, 1276-1289.
31. BURCHARDT H. : Current concepts in bone grafting. *In* CZITROM A.A., WINKLER H.: *Orthopaedic Allograft Surgery*. Springer-Verlag, Vienne, 1996,3-10.
32. BURCHARDT H., JONES H., GLOWCZEWSKIE F., RUDNER C. et ENNEKING W.F. : Freezed-dried allogenic segmental cortical-bone grafts in dogs. *J. Bone Joint Surg.*, 1978, **60-A**, 8, 264-272.
33. CAFFESSE R.G., NASJLETTI C.E., MORRISON E.C. et SANCHEZ R. : Guided tissue regeneration : comparison of bioabsorbable and non-bioabsorbable membranes. Histologic and histometric study in dogs. *J. Periodont.*, 1994, **65**, 6, 583-591.
34. CAMPANACCI D.A., CAPANNA R., CERUSO M. *et al.* : Indications for Combined Grafts (Allografts + Vascularized Fibula) after Intercalary Resections for Bone Tumor. *In*: CZITROM A.A., WINKLER H. : *Orthopaedic Allograft Surgery*. Springer-Verlag, Vienne, 1996, 149-156.
35. CANADY J.W., ZEITLER D.P., THOMPSON S.A. et NICHOLAS C.D. : Suitability of the iliac crest as a site for harvest or autogenous bone grafts. *Cleft Palate-Craniofacial J.*, 1993, **30**, 6, 579-581.
36. CHAI B., TANG X., LI H. : Ultrastructural investigation of calcification and ossification in experimental fracture healing with special reference to osteogenic role of fibroblasts. *Clin. Med. J.*, 1987, **110**, 4, 274-278.
37. CHAMBERS. T. : The pathobiology of the osteoclast. *J. Clin. Pathol.*, 1985, **38**, 241-252.
38. CHAPPARD D., FRESSONNET C., GENTY C., BASLE M.F. et REBEL A. : Fat in bone xenografts: importance of purification procedures on cleanliness, wetability and biocompatibility. *Biomaterials*, 1993, **14**, 7, 507-512.

39. CLAES L.E., WILKE H.J. et KIEFFER H. : Osteonal structure better predicts tensile strength of healing than the volume fraction. *J. Biochem.*, 1995, **28**, 11, 1377-1390.
40. CLAYER M. et OAKESHOTT R. : Allograft Bone in the Treatment of Desmoplastic Fibroma. A case Report. *Clin. Orthop.*, 1994, **300**, 219-224.
41. COOK S.D., BAFFES G.C., WOLFE M.W., KUBER SAMPATH T., RUEGER D.C. et WHITECLOUD T.S. : The effect of recombinant human osteogenic protein-1 on healing of large segmental defects. *J. Bone Joint Surg. (Am)*, 1994, **76-A**, 6, 827-838.
42. COOK S.D., BAFFES G.C., WOLFE M.W., SAMPATH T.K. et RUEGER D.C. : Recombinant human bone morphogenetic protein-7 induces healing in a canine long-bone segmental defect model. *Clin. Orthop.*, 1994, **301**, 302-312.
43. COOK S.D., WOLFE M.W., SALKELD S.L. et RUEGER D.C. : Effect of Recombinant Human Osteogenic Protein-1 on healing of Segmental Defects in Non-Human Primates. *J. Bone Joint Surg. (Am)*, 1995, **77**, **5**, 734-750.
44. DAHLIN C., SANDBERG E., ALBERIUS P. et LINDE A. : Restoration of mandibular nonunion bone defects. An experimental study in rats using an osteopromotive membrane method. *Int. J. Oral Maxillifac. Surg.*, 1994, **23**, **4**, 237-242.
45. DAHLIN C., LINDE A., GOTTLOW J. et NYMAN S. : Healing of bone defects by guided tissue regeneration. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 1988, 672-676.
46. DAMIEN C.J. et PARSONS J.R. : Bone grafts and bone grafts substitutes : a review of current technology and applications. *Journal of Applied Biomaterials*, 1991, **2**, 187-208.
47. DAVIES J.E., SHAPIRO G. et LOWENBERG B.F. : Osteoclastic resorption of calcium phosphate ceramic thin films. *Cells and Materials*, 1993, **3**, 245-256.
48. de BRUIJN J.D. : Calcium phosphate biomaterials : bone-bonding and biodegradation properties. Thèse de Doctorat de l'Université de Leiden, 1993, ed. Havenker BV, Alblasterdam.
49. DECKER B., BARTELS H. et DECKER S. : Relationship between endothelial cells, pericytes, and osteoblasts during bone formation in the sheep femur following implantation of tricalciumphosphate-ceramic. *Anat. Rec.*, 1995, **242**, **3**, 310-320.
50. DELEPINE G., DELEPINE N et GOUTALLIER D. : Allograft Prosthetic Reconstruction : Review of 120 Composite Protheses (1984-1992), A Monocentric Study. In: CZITROM A.A., WINKLER H. : Orthopaedic Allograft Surgery. Springer-Verlag, Vienne, 1996, 175-180.
51. DERSOT J.M., SEPTIER D., LLORENS A. et SAFFAR J.L. : Multinucleated giant cells-hydroxyapatite interactions: A time-related quantitative study in a rat skull defect. *Cells and Materials*, 1993, **3** (4), 395-405.
52. DOHERTY M.J., SCHLAG G., SCHWARZ N., MOLLAN R.A.B., NOLAN P.C. et WILSON D.J. : Biocompatibility of xenogeneic bone, commercially available coral, a bioceramic and tissue sealant for human osteoblasts. *Biomaterials*, 1994, **15**, **8**, 601-608.
53. DYER B.L., CAFFESSE R.G., NASJLETI C.E. et MORRISON E.C. : Guided tissue regeneration with dentin biomodification. *J. Periodontol.*, 1993, **64**, **11**, 1052-1060.
54. DZIEDZIC-GOCLAWSKA A., OSTROWSKI K., STACHOWICZ W., MICHALIK J. et GRZESIK W. : Effect of radiation sterilization on the osteoinductive properties and the rate of remodeling of bone implants preserved by lyophilization and deep-freezing. *Clin. Orthop.*, 1991, **272**, 30-37.
55. EASTLUND T. : Infectious hazards of bone allograft transplantation: reducing the risk, 11-23.
56. EGGER E.L., HISTANG M.B., NORRDIN R.W., KONDE L.J. et SCHWARZ P.D. : Canine osteotomy healing when stabilized with decreasingly rigid fixation compared to constantly rigid fixation. *Vet. Comp. Orthop. And Traumatol.*, 1993, **6**, 182-187.

57. EINHORN T.A., LANE J.M., BURNSTEIN A.H., KOPMAN C.R. et VIGORITA V.J. : The healing of segmental bone defects induced by demineralized bone matrix. *J. Bone and Joint Surg. (Am)*, 1984, **66-A**, 2, 274-279.
58. ELIMA K. : Osteoinductive proteins. *Ann. Med.*, 1993, **25**, 395-402.
59. ELKINS A.D. et JONES L.P. : The effects of plaster of Paris and autogenous cancellous bone in the healing of cortical defects in the femurs of dogs. *Vet. Surg.*, 1988, 17, **2**, 71-76.
60. EVEL Y.R., BONOMO A., SCHNEIDER H.G., MOSELEY J., GALLAGHER J. et MARTIN T. : Structural requirements for the action of parathyroid hormoned-related protein (PTHrP) on bone resorption by isolated osteoclasts. *J. Bone Miner. Res.*, 1991, **6**, 85-94.
61. FAGES J., MARTY A., DELGA C., CONDORET J.S., COMBES D. et FRAYSSINET P. : Use of supercritical CO<sub>2</sub> for bone delipidation. *Biomaterials*, 1994, 15, **9**, 650-656.
62. FAYOLLE P. : Complications fracturaires, CES de traumatologie ostéo-articulaire et orthopédie animales, Cours photocopié, 07-11 Novembre 1994, ENVVT.
63. FELDING-HABERMANN B. et CHERESH D. : Vitronectin and its receptors, *Curr. Opin. Cell. Biol.*, 1993, **5**, 5, 864-868.
64. FERGUSON J.F. : Fracture of the humerus after cancellous bone graft harvesting in a dog. *J. Small Anim. Pract.*, 1996, 37, **5**, 232-234.
65. FORELL E.B. et STRAW R.C. : Bone Morphogenetic Proteins and Bone Derived Growth Factors. *Vet. Comp. Orthop. Traumat.*, 1993, **6**, 166-171.
66. FORRIOL F., SOLCHAPGA L., MORENO J.L. et CANADELL J. : The effect of shockwaves on mature and healing cortical bone. *Int. Orthop.*, 1994, 18, **5**, 325-329.
67. FRAYSSINET P. et AUTEFAGE A. : Hybrid materials for use of bone substitutes. Preliminary results and prospects for the future. *Rev. Rhum. Engl. Ed*, 1993, 60, **5**, 302-310.
68. FOSSUM T. W., HEDLUND C. S., HULSE D.A. *et al* : Small animal surgery, 28, **3**, 760-762.
69. FRAYSSINET P., CONTE P., CAHUZAC J.P., BONNEVIALLE P. et MANSAT M. : Prélèvement d'ostéoblastes chez l'êtré humain. Optimisation des modes de prélèvement et d'extraction. *Cahier de la SOFCOT* , 1994.
70. FRAYSSINET P., GINESTE L., PRIMOUT I. et GUILHEM A. : Phosphatase Acide Tartrate-résistante et cytoglogie des membranes pseudosynoviales. Bulletin des anatomistes à paaître.
71. FRAYSSINET P., TROUILLET J.-L., ROUQUET N., ASIMUS E. et AUTEFAGE A. : Osseointegration of macroporous calcium phosphate ceramics having a different chemical composition. *Biomaterials*, 1993, 14, **6**, 423-429.
72. FRAYSSINET P. : Réactions cellulaires et tissulaires à l'implantation de matériaux à usage orthopédique en sites osseux et médullaire. Evolution des matériaux implantés en site osseux. Toulouse : Laboratoire de Génie biologique-Bioland, 1994.
73. GALARDI G., COMI G., LOZZA L. *et al*. : Peripheral nerve damage during limb lengthening. *J. Bone Joint Surg. (Br)*, 1990, **72-B**, 1, 121-124.
74. GAO T., TUOMINEN T.K., LINDHOLM T.S., KOMMONEN B. et LINDHOLM T.C. : Morphological and biomechanical difference in healing in segmental tibial defects implanted with Biocora© or tricalcium phosphate cylinders. *Biomaterials*, 1997, 18, **3**, 219-223.
75. GAO T.J., LINDHOLM T.S., KOMMONEN B., RAGNI P., PARONZINI A., LINDHOLM T.C., JAMSA T. et JALOVAARA P. : Enhanced healing of segmental tibial defects in sheep by a composite bone substitute composed of tricalcium phosphate cylinder, bone morphogenetic protein, and type IV collagen, *J. Biomedical Materials Research*, 1996, **32**, 505-512.

76. GERHART T.N., KIRKER-HEAD C.A., KRIZ M.J., HOLTROP M.E. , HENNING G.E., HIPPI J., SCHELLING S.H. et WANG E. : Healing segmental femoral defects in sheep using Recombinant Human Bone Morphogenetic. *Protein. Clin. Orthop.*, 1993, **293**, 317-326.
77. GOODMAN S. et ASPENBERG P. : Effects of mechanical stimulation on the differentiation of hard tissues. *Biomaterials*, 1993, **14**, 8, 563-569.
78. GORASSON H., VUOLA J., LINDEN M., PATIALA H. et ROKKANEN P. : Filling the bone defect with osteogenic material. An experimental study. *Arch. Orthop. Trauma Surg.*, 1995, **114**, **3**, 172-178.
79. GORANSSON H. : Callus formation after re-injury to experimental bone defect. *Arch. Orthop. Trauma. Surg.*, 1993, **112**, 5, 232-235.
80. GOSHIMA J., GOLDBERG V. et CAPLAN A. : Osteogenic potential of culture-expanded rat marrow cells as assayed *in vivo* with porous calcium phosphate ceramics. *Biomaterials*, 1991, **12**, **2**, 253-258.
81. GOSHIMA J., GOLDBERG V. et CAPLAN A. : The origin of bone formed in composite grafts of porous calcium phosphate ceramic loaded with marrow cells. *Clin. Orthop.*, 1991, **269**, 274-283.
82. GOSHIMA J., GOLDBERG V. et CAPLAN A. : The osteogenic potential of culture-expanded rat marrow mesenchymal cells assayed *in vivo* in calcium phosphate ceramic blocks. *Clin. Orthop.*, 1991, **262**, 298-311.
83. GRECO F., DE PALMA L., SPECCHIA N. et SANTUCCI A. : Biological aspect of repair osteogenesis in corticospongy homologous grafts (Ital), *J. Orthop. Traumatol.*, 1989, **15**, **4**, 491-499.
84. GREEN S.A. : Skeletal defects a comparison of bone grafting and bone transport for segmental skeletal defects. *Clin. Orthop.*, 1994, **301**, 111-117.
85. GRIGORIAN A.S., IVANOV V.S., PANIKAROVSKII V.V., SABANTESVA E.G., ANTIPOVA Z.P. et KHAPMREAV T.K. : An experimental study of the action of an intraosseous implant hydroxylapatite ceramic granules on the processes of reparative bone formation experimental morphological research. *Stomatologiya Mosk.*, 1994, **73**, **3**, 7-10.
86. GROSS A.E., GARBUZ D. et MORSI E.S. : Revision Arthroplasty of the Acetabulum with Restoration of Bone Stock. In: CZITROM A.A., WINKLER H. : Orthopaedic Allograft Surgery. Springer-Verlag, Vienne 1996, 101-112.
87. GRUNDNES O. et REIKERAS O. : Effects of instability on bone healing. Femoral osteotomies studies in rats. *Acta Orthop. Scand.*, 1992, **64**, 55-58.
88. GUGALA Z. et GOGOLEWSKI : Regeneration of segmental of segmental diaphyseal defects in sheep tibiae using resorbable polymeric membranes: a preliminary study. *J. Orthop. Trauma.*, 1999 Mar-Apr, **13** (**3**), 187-195.
89. GUICHET J. et CASAR R. : Mechanical Characterization of a totally Intramedullary Gradual Elongation. *Nail. Clin. Orthop.*, 1997, **337**, 281-290.
90. GUPTA D., KHAPNNA S. et TULI S.M. : Bridging large bone defects with a xenograft composited with autologous bone marrow. An experimental study. *Int. Orthop.*, 1982, **6**, **2**, 79-85.
91. GUPTA D. et TULI S.M. : Osteoinductivity of partially decalcified alloimplants in healing of large osteoperiosteal defects. *Acta Orthop. Scand.*, 1982, **53**, **6**, 857-865.
92. HANEY J.M., NILVCUS R., MCMILLAN P.J. et WIKESJ U.M.E. : Periodontal repair in dogs: expanded polytetrafluoroethylene barrier membranes support wound stabilization and enhance bone regeneration. *J. Periodontol.*, 1993, **64**, **9**, 883-890.
93. HARASEN G. : Repair of a comminuted femoral fracture in a cat using cortical and cancellous bone grafting techniques. *Can. Vet. J.*, 1997, **38**, **9**, 574-575.

94. HECKMAN J.D., BOYAN B., AUFDEMORTE T.B. et ABBOTT J.T. : The use of Bone Morphogenetic Protein in the treatment of nonunion in a canine model. *J. Bone Joint Surg.(Am)*, 1991, 73, 5, 751-764.
95. HERNIGOU P., DELEPINE G., GOUTALLIER D. et JULIERON A. : Massive allografts sterilised by irradiation. *J. Bone Joint Surg. (Br)*, 1993, 75, 6, 904-913.
96. HOGEVOLD H.E., GROGAARD B. et REIKERAS O. : Effects of short term treatment with corticosteroids and indomethacin on bone healing. A mechanical study of osteotomies in rats. *Acta Orthop. Scand.*, 1992, 63, 6, 607-611.
97. HOLLINGER J.O. et LEONG K. : Poly (a-hydroxy acids); carriers for the bone morphogenetic proteins. *Biomaterials*, 1996, 17, 187-194.
98. HOPP S.G., DAHNERS L.E. et GILBERT J.A. : A study of the mechanical strenght of long bone defect treated with various autografts substitutes: an experimental investigation in the rabbit. *J. Orthop. Res.*, 1989, 7, 4, 579-584.
99. HUNT J.A., ABRAMS K.R. et WILLIAMS D.F. : Modeling the pattern of cell distribution around implanted materials. *Analytical Cellular Pathology Cellular Pathology*, 1994, 7, 43-52.
100. ISHDOU Y., KITAJIMA I., OBAMA H. *et al.* : Enhanced expression of type I receptors for bone morphogenic proteins during bone formation. *J. Bone Miner. Res.*, 1995, 10, 11, 1651-1659.
101. ISHIKAWA Y., GORIS R.C. et NAGAOKA K. : Use of acortico-cancellous bone graft in the repair of a cleft palate in a dog. *Vet. Surg.*, 1994, 23, 3, 201-205.
102. ITOH T., MOCHIZUKI M., FUDA K., NISHIMURA R., MATSUNAGA S., KADOSAWA T. et SASAKI N. : Femoral nonunion fracture treated with recombinant human bone morphogenetic protein-2 in a dog. *J. Vet. Med. Sci.*, 1998, 60, 4, 535-538.
103. ITOMAN M. et SEKIGUCHI M. : Allograft Reconstruction of Acetabular Bone Defect Combined with Reinforcement Ring in Revision Total Hip Arthroplasty, *In: CZITROM A.A., WINKLER H. : Orthopaedic Allograft Surgery. Springer-Verlag, Vienne 1996, 119-124.*
104. IWAKI A., JINGUSHI S., ODA Y. *et al.* : Localization and quantification of proliferating cells during rat fracture repair : detection of proliferating cell nuclear antigen by immunochemistry. *J. Bone Miner. Res.*, 12, 1, 96-102.
105. JANOVEC M. et DVORAK K. : Autolysed Antigen-extracted Allogeneic bone for bridging segmented diaphyseal bone defects in rabbits. *Clin. Orthop.*, 1988, 229, 249-256.
106. JANOWSKI E.M., MAZER N., BARBIERI C.H. et GONCALVES R.P. : The effect of venous occlusion on the integration of vascularized cortical bone grafts. *J. Reconstr. Microsurg.*, 1993, 9, 3, 219-225.
107. JEPPSON C. et ASPENGER P. : BMP-2 can inhibit bone healing. *Acta. Orthop. Scand.*, 1996, 67, 6, 589-592.
108. JOHNSON A.L., EURELL J.A.O. et SCHAPEFFER D.J. : Evaluation of canine cortical bone graft remodeling. *Vet. Surg.*, 1992, 21, 4, 293-298.
109. JOHNSON K.D., FRIERSON K.E., KELLER T.S. *et al.* : Porous Ceramics as Bone Graft Substitutes in Long Bones Defects: A Biomechanical, Histological and Radiographic Analysis. *J. Orthop. Res.*, 1996, 14, 351-369.
110. KADERLY R.E. : Delayed union, nonunion and malunion, *In: SLATTER D. (ed): Textbook of Small Animal Surgery, WB Sauders Company, Philadelphia.1993, 1676-1683.*
111. KAMEGAI A., SHIMAMURA N., NAITOU K., NAGAHAPRA K., KANEMATSU N. et MORI M. : Bone formation under the influence of bone morphogenetic protein/self setting apatite cement composite as a delivery system. *Biomed. Mater. Eng.*, 1994, 4, 4, 291-307.

112. KARAHARJU E.O., AALTO K., KAHRI A., LINDBERG L.-A., KALLIO T., KARAHARJU-SUVANTO T., VAUHKONEN M. et PELTONEN J. : Distraction bone healing. *Clin. Orthop.*, 1993, **297**, 38-43.
113. KATOH T., KAWAMURA M., ITAWA H. et MIURA T. : Osteogenesis in sintered bone combined with bovine morphogenetic protein. *Clin. Orthop.*, 1993, **287**, 266-275.
114. KAWAKAMI T., KAWAI T., TAKEI N., KISE T., EDA S. et URIST M.R. : Evaluation of Heterotopic Bone Formation Induced by Squalane and Bone Morphogenetic Protein Composite. *Clin. Orthop.*, 1996, **337**, 261-266.
115. KENLEY R.A., YIM K., ABRAMS J., RON E., TUREK T., MARDEN L.J. et HOLLINGER J.O. : Biotechnology and bone graft substitutes. *Pharmaceutical Research*, 1993, 10, **10**, 1393-1401.
116. KERWIN S.C., LEWIS D.D. ET ELKINS A.D. : Bone grafting and banking. *Compend. Cont. Educ. Pract. Vet.*, 1991, 13, **10**, 1558-1566.
117. KERWIN S.C., LEWIS D.D., DERREL ELKINS A., OLIVER J., PECHMAN R., McCARTHY R.J. ET HOSGOOD G. : Deep-frozen allogenic cancellous bone grafts in 10 dogs: a case series. *Vet. Surg.*, 1996, **25**, 18-28.
118. KEY J.A.: The effect of calcium depot on osteogenesis and healing of fracture. *J. Bone Joint Surg.*, 1934, **16**, 176-184.
119. KINOSHITA Y., KIRIGAKUBO M., KOBAYASHI M., TABATA T., SHIMURA K. et IKADA Y. : Study on the efficacy of biodegradable poly (L-lactide) mesh for supporting transplanted particulate cancellous bone and marrow: experiment involving subcutaneous implantation in dogs. *Biomaterials*, 1993, 14, **10**, 729-736.
120. KIRKER-HEAD C.A. : Recombinant bone morphogenetic proteins: novel substances for enhancing bone healing. *Vet. Surg.*, 1995, **24**, 408-419.
121. KIRKER-HEAD C.A., GERHART T.N., SCHELLING S.H., HENNING G.E., WANG E. et HOLTRP M.E. : Long-term healing of bone using recombinant human bone morphogenetic protein 2. *Clin. Orthop.*, 1995, **318**, 222-230.
122. KITSUGI T., YAMAMURO T. et KOKUBO T. : Bonding behavior of a glass apatite and wollastonite in segmental replacement of the rabbit tibia under load-bearing conditions. *J. Bone Joint Surg.*, 1989, **71-A**, 2, 264-272.
123. KNAACK D., GOAD M.E., AIOLOVA M., REY C., TOFIGHI A., CHAKRAVARTHY P. et LEE D.D. : Resorbable calcium phosphate bone substitute, *J. Biomed. Mater. Res.*, 1998, 43, **4**, 399-409.
124. KNOWLES J.C., HASTINGS G.W., OHTA H., NIWA S. et BOETEE N. : Development of a degradable composite for orthopaedic use: *in vivo* biomechanical and histological evaluation of two bioactive degradable composites based on the polyhydroxybutyrate polymer. *Biomaterials*, 1992, **13**, 491-496.
125. KÖHLER P., GLAS J.E., LARSSON S. et KREICBERGS A. : Incorporation of nonviable bone grafts. Autoclaved autogeneic and frozen allogenic bone grafts compared in the rabbit. *Acta Orthop. Scand.*, 1987, **58**, 54-60.
126. KÖHLER P. et KREICBERGS A. : Chondrosarcoma Treated by Reimplantation of Resected Bone after Autoclaving and Supplementation with Allogenic Bone Matrix. *Clin. Orthop.*, 1993, **294**, 281-284.
127. KOMENDER J., MALCZEWSKA H. et KOMENDER A. : Preserved, allogeneic Bone Grafts in Orthopaedic Reconstructions. In CZITROM A.A., WINKLER H. : Orthopaedic Allograft Surgery. Springer-Verlag, Vienne 1996, 39-44.
128. KRISTIC R.V. : In: «Atlas d'histologie générale», Ed. Masson Paris, 1988.
129. KURASHINA K., KURITA H., HIRANO M., KOTANI A., KLEIN C. et GROOT K.D. : *In vivo* study of calcium phosphate cements: implantation of an a-tricalcium phosphate/dicalcium phosphate dibasic/tetracalcium phosphate monoxide cement paste. *Biomaterials*, 1997, **18**, 539-543.

130. LACOUT J.L., MEJDOUBI E. et MICHAUD P. : Ciment hydraulique à base de phosphate de calcium, *in* Actualités en biomatériaux : les ciments chirurgicaux, 1996, Vol. III, 247-255.
131. LAING P.G. : World standards for surgical implants: an American perspective. *Biomaterials*, 1994, **15** (6), 403-407.
132. LANDRY P., MARINO A., SADASIVAN K. et ALBRIGHT J. : Bone injury response. An animal model for testing theories of regulation. *Clin. Orthop.*, 1996, **33**, 260-273.
133. LANE J., SUDA M., MARK K.V.D. et TIMPL R. : Immunofluorescent localization of structural collagen types in endochondral fractures repairs. *J. Orthop. Res.*, 1986, **4**, 318-327.
134. LANE J.M., YASKO A.W., TOMIN E., COLE B.J., WALLER S., BROWNE M., TUREK T. et GROSS J. : Bone marrow and recombinant human bone morphogenetic protein-2 in osseous repair. *Clin. Orthop.*, 1999, **361**, 216-227.
135. LANYON L. : Skeletal responses to physical loading. *In*: MUNDY G., MARTIN T. (eds): Physiology and Pharmacology of Bone. Springer-Verlag, Berlin, 1993, 485-505.
136. LEGGON R.E., LINDSEY R.W. et PANJABI M.M. : Strength reduction and the effects of treatment of long bones diaphyseal defects involving 50 % of the cortex. *J. Orthop. Res.*, 1988, **6**, 540-546.
137. LEKOVIC V. et KENNEY E.B. : Guided tissue regeneration using calcium phosphate implants together with 4 different membranes. A study on furcations in dogs. *J. Periodontol.*, 1993, **64**, **11**, 1154-1156.
138. LESSER A.S. : Segmental bone transport for the treatment of bone deficits. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1994, **30**, 322-330.
139. LESSER A.S. : Cancellous bone grafting at plate removal to counteract stress protection. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1986, **15**, **6**, 696-699.
140. LEWIS D.D., BRONSON D.G., SAMCHUKOV M.L., WELCH R.D. et STALLINGS J.T. : Biomechanics of circular external skeletal fixation. *Vet. Surg.*, 1998, **27**, 454-464.
141. LI G., SIMPSON A., KENWRIGHT J. et TRIFFIT J. : Assessment of cell proliferation in regenerating bone during distraction osteogenesis at different distraction rates. *J. Orthop. Res.*, 1997, **15**, 765-772.
142. LIND M., DELEURAN B., YSSEL H., FINK-ERIKSEL E. et THESTRUP-PETERSEN K. : IL-4 AND IL-13, but not IL-10, are chemotactic factors for human osteoblasts. *Cytokine*, 1995, **71**, 78-82.
143. LIND M., OVERGAARD S., SOBALLE K., NGUYEN T., ONGPIPATTANAKUL B. et BÜNGER C. : Transforming growth factor- $\beta$ 1 enhances bone healing to unloaded tricalcium phosphate coated implants: an experimental study in dogs. *J. Orthop. Res.*, 1996, **14**, **3**, 343-350.
144. LIND M., SCHUMACKER B., SØBALLE K., KELLER J., MELSEN F. et BÜNGER C. : Transforming growth factor- $\beta$  enhances fracture healing in rabbit tibiae. *Acta Orthop. Scand.*, 1993, **64**, **5**, 553-556.
145. LIND M. : Growth factors: possible new clinical tools. A review. *Acta Orthop. Scand.*, 1996, **67**, 407-417.
146. LINKHART T., MOHAN S. et BAYLINK D. : Growth factors for bone growth and repair: IGF, TGF beta and BMP. *Bone*, 1996, **19**, 1S-12S.
147. LIU G. et FU Y. : Repair of large bone defect by transplanting xenografts implanted with autovessels. *Chin. Med. Sci.*, 1993, **8**, **4**, 235-239.
148. LIU J.Y., WANG D. et CHENG H.H. : Use of revascularized periosteal allografts for repairing bony defects: an experimental study. *Microsurgery*, 1994, **15**, **2**, 93-97.

149. MAINARD D., DELAGOUTTE J.P. et WEPIERRE G. : Les substituts de l'os : possibilités actuelles, *in* Actualités en biomatériaux : Le corail naturel, biomatériau de substitution aux autogreffons osseux (Partie 4), 1990, Vol. I, 127-151.
150. MARCELLIN-LITTLE D.J., FERRETTI A., ROE S.C. et DeYOUNG D.J. : Hinged ilizarov external fixation for correction of antebrachial deformities. *Vet. Surg.*, 1998, **27**, 231-245.
151. MARKEL M. et BOGDANSKE J.J. : The effect of increasing gap width on localized densitometric changes within tibial osteotomies in a canine model. *Calcif. Tissue Int.*, 1994, **54**, 155-159.
152. MARKEL M.D., WIKENHEISER M.A. et CHAO E.Y.S. : Formation of bone in tibia defects in a canine models. *J. Bone Joint Surg.*, 1991, **73-A**, 6, 914-923.
153. MARSH D.R., SHAH S., ELLIOTT J. et KURDY N. : The ilizarov method in nonunion, malunion, and infection of fractures. *J. Bone Joint Surg.*, 1997, **79-B** (2), 273-279.
154. MARSH J.L., PROKUSKI M.D. et BIERMANN S. : Chronic infected tibial nonunions with bone loss. Conventional techniques *versus* bone transport. *Clin. Orthop.*, 1994, **301**, 139-146.
155. MARTIN T., FINDLAY D., HEATH J. et NG K. : Osteoblasts: Differentiation and Function. *In*: MUNDY G., MARTIN T. (ed): Physiology and Pharmacology of Bone. Springer-Verlag, Berlin, 1993: 149-183.
156. MASSAT B.J., MILLER R.T., DEYOUNG B.A., SCHILLER R.A., ABERMAN H.M. et DeYOUNG D.J. : Single-stage revision using an uncemented, porous-coated, anatomic endoprosthesis in two dogs : case report. *Vet. Surg.*, 1998, **27**, **3**, 268-277.
157. MATHON D., FRAYSSINET P., ASIMUS E., CHANOIT G., COLLARD P. et AUTEFAGE A. : Development of a segmental long-bone defect in sheep. *Vet. Comp. Orthop. Traumatol.*, 1998, **11**, 1-7.
158. MATHON D. : Anatomie et physiologie de l'os, CES de traumatologie ostéo-articulaire et orthopédie animales, 07-11 Novembre 1994, ENVT.
159. MATHON D. : Greffes et substituts de l'os, CES de traumatologie ostéo-articulaire et orthopédie animales, 18-22 Février 2002, ENVT.
160. Mc KEE M.D. et NANJI A. : Ultrastructural, cytochemical and immunocytochemical studies o bone and its interfaces. *Cells and Materials*, 1993, **3** (3), 219-243.
161. MEYER RA J.R., GRUBER H.E., HOWARD B.A., TABOR OB J.R., MURAKAMI T., KWIATKOWSKI T.C., WOZNEY J.M. et HANLEY E.N. Jr : Safety of recombinant human bone morphogenetic protein-2 after spinal laminectomy in the dog. *Spine*, 1999, **15**, **24**, **8**, 747-754.
162. MEYER U., SZULCEWSKI D.H., MILLER K., HEIDE H. et JONES D.B. : Attachment kinetics and differentiation of osteoblasts on different biomaterials. *Cell and Materials*, 1993, **3**, **2**, 129-140.
163. MICHAUD R.J. et KRABU K.J. : Bone allograft banking in the united kingdom. *J. Bone Joint Surg.*, 1994, **76-B**, 350-351.
164. MILLIS D.L., WILKENS B.E., DANIEL G.B., HUBNER K., MATHEWS A., BUONOMO F.C., PATELL K.R. et WEIGEL J.P. : Radiographic, densitometric, and biomechanical effects of recombinant somatotropin in an unstable osteotomy gap model of bone healing in dogs. *Vet. Surg.*, 1998, **27**, 85-93.
165. MIYAMOTO S., TAKAOKA K., YOSHIKAWA H., HASHIMOTO J., SUZUKI S. et ONO K. : Polylactic acid-polyethylene glycol block copolymer. *Clin. Orthop.*, 1993, **194**, 333-343.
166. MIYAMOTO S. et TAKAOKA K. : Bone induction and bone repair by composites of bone morphogenetic protein and biodegradable synthetic polymers. *Ann. Chir. Gynaecol. Suppl.*, 1993, **207**, 69-75.

167. MNAYMNEH W., MALININ T.I., LACKMAN R.D., HORNICEK F.J. et GHANDUR-MNAYMNEH L. : Massive distal femoral osteoarticular allografts after resection of bone tumor. *Clin. Orthop.*, 1994, **303**, 103-115.
168. MOONEY V., MASSIE J.B., LIND B.I., RAH J.H., NEGRI S. et HOLMES R.E. : Comparison of hydroxyapatite granules to autogenous bone graft in fusion cages in a goat model. *Surg. Neurol.*, 1998, 49, **6**, 628-633.
169. NAKAMURA K., KAWAGUSHI H. et AOYAMA I. : Stimulation of Bone Formation by Intraosseous Application of Recombinant Basic Fibroblast Growth Factor in Normal and Ovariectomized Rabbits. *J. Orthop. Res.*, 1997, 15, **2**, 307-313.
170. NASR H.F., AICHELMANN-REIDY M.E. et YUKNA R.A. : Bone and bone substitutes. *Periodontol.*, 2000, 1999, **19**, 74-86.
171. NEMZEK J.A., ARNOSKY S.P. et SWENSON C.L. : Retroviral transmission by the transplantation of connective-tissue allografts. *J. Bone Joint Surg.*, 1994, **76-A**, 7, 1036-1041.
172. NIEDZWIEDZKI T., DABROWSKI Z., MISZTA H. et PAWLIKOWSKI M. : Bone healing after bone marrow cell transplantation to the bone defect. *Biomaterials*, 1993, 14, **2**, 115-121.
173. NYMAN R., MAGNUSSON M., SENNERBY L., NYMAN S. et LUNDGREN D. : Membrane-guided bone regeneration. Segmental radius defects studied in rabbit. *Acta Orthop. Scand.*, 1995, 66, **2**, 169-173.
174. OHGUSHI H., GOLDBERG V. et CAPLAN A. : Heterotopic osteogenesis in porous ceramics induced by marrow cells. *J. Orthop. Res.*, 1989, **7**, 568-578.
175. OHGUSHI H., GOLDBERG V. et CAPLAN A. : Repair of bone defects with marrow cells and porous ceramic. Experiment in rats. *Acta Orthop. Scand.*, 1989, 60, **3**, 334-339.
176. OKADA Y., SUKA T., SIM F.H., GORSKI J.P. et CHAPO E.Y.S. : Comparison of replacement prostheses for segmental defects of bone. *J. Bone Joint Surg.*, 1988, **72-A**, 2, 160-172.
177. OKUMURA M., OHGUSHI H. et DOHI Y. : Osteoblastic phenotype expression on the surface of hydroxyapatite ceramics. *J. Biomed. Mater. Res.*, 1997, 37, **1**, 122-129.
178. OKUMURA M., OHGUSHI H. et TAMAI S. : Bonding osteogenesis in coralline hydroxyapatite combined with bone marrow cells. *Biomaterials*, 1991, 12, **4**, 411-416.
179. OONISHI H., KUTSHITANI S., YASUKAWA E., IWAKI H., HENCH L.L., WILSON J., TSUJI E. et SUGIHAPRA T. : Particulate bioglass compared with hydroxyapatite as bone graft substitute. *Clin. Orthop.*, 1997, **334**, 316-325.
180. OTTO K.B., NIEDER E. et KLÜBER D. : Major Loss of Acetabular Bone Stock at Revision Total Hip Arthroplasty. In : CZITROM A.A., WINKLER H.: Orthopaedic Allograft Surgery. Springer-Verlag, Vienne 1996, 292-296.
181. PABLOS J.D., BARRIOS C., ALFARO C. et CANADELL J. : Large experimental bone defects treated by bone transportation with monolateral external fixators. *Clin. Orthop.*, 1994, **298**, 259-265.
182. PELTIER L.F. : The use of plaster of Paris to fill defect in bone, Nicolas Andry Award.
183. PENNING D. : The place of unilateral external fixator in the treatment of tibial fracture. *Int. J. Orthop. Trauma.*, 1991, 1, **3**, 121-128.
184. PENWICK R.C., MOSIER D.A. et CLARK D.M. : Healing of canine autogenous cancellous bone graft donor sites. *Vet. Surg.*, 1991, **20**, 229-234.
185. PERRY C.R. : Bone repair techniques, bone graft, and bone graft substitutes. *Clin. Orthop.*, 1999 Mar, **360**, 71-86.
186. PRIEUR W.D. et SUMNER-SMITH G. : Fracture healing processes. In : BRINKER W.O., HOHN R.B., PRIEUR W.D. (ed) : Manual of internal fixation in small animal. Springer-Verlag, Berlin, 1984, 8-11.

187. RADDER A.M., LEENDERS H. et VAN BLITTERWIJK C.A.V. : Interface reaction to PEO/PBT copolymers Polyactive, after implantation in a cortical bone. *J. Biomed. Mater. Res.*, 1994, **28**, 141-151.
188. RADDER A.M., DAVIES J.E., LEENDERS H. et VAN BLITTERWIJK C.A.V. : The PEO/PBT copolymer mineralized matrix interface *in vitro*, *Cells and Materials*, 1993, **3**, **4**, 367-376.
189. RAHN B.A. : Bone healing: histologic and physiologic concept. *In*: SUMNER-SMITH G. (ed): Bone in clinical orthopaedics, WB Saunders Company, Philadelphia, 1982, 335-386.
190. REMES A. et WILLIAMS D.F. : Immune response in biocompatibility. *Biomaterials*, 1992, **13**, **11**, 731-743.
191. RHINELANDER F.W. et WILSON J.W. : Blood supply to developing, mature and healing bone. *In*: SUMNER-SMITH G. (ed) : Bone in clinical orthopaedics, WB Saunders Company, Philadelphia, 1982, 81-157.
192. RIIKONEN T., KOIVISTO L., VIHINEN P. et HEINO J. : Transforming growth factor-beta regulates collagen gel contraction by increasing alpha 2 beta 1 integrin expression in osteogenic cells. *J. Biol. Chem.*, 1995, **270**, 376-382.
193. RINGDEN O. : Management of graft-versus-host disease. *Eur. J. Hematol.*, 1993, **51**, 1-12.
194. RIPAMONTI U. : Osteoinduction in porous hydroxyapatite implanted in heterotopic sites of different animal models. *Biomaterials*, 1995, **17**, 31-35.
195. ROCK M.G. : Intercalary Allograft Reconstruction. *In* : CZITROM A.A., WINKLER H.: Orthopaedic Allograft Surgery. Springer-Verlag, Vienne 1996, 181-192.
196. ROVESTI G. L., BASCUTCCI M., SCHMIDT K. et al.: Limb Sparing Using a Double Bone-Transport Technique for Treatment of a Distal Tibial Osteosarcoma in a Dog. *Vet. Surg.*, 2002, **31** (1), 70-77.
197. SAKANO S., MURATA Y., IWATA H. et al. : Protooncogene expression in osteogenesis induced by Bone Morphogenetic Protein. *Clin. Orthop.*, 1997, **338**, 240-246.
198. SALAI M., AMIT Y., VELKKES S. et HOROWSKI H. : The Role of Massive Bone Allografts in Traumatic Bone Loss. *In* : CZITROM A.A., WINKLER H.: Orthopaedic Allograft Surgery. Springer-Verlag, Vienne 1996, 219-226.
199. SANDBERG M., ARO H. et VUORIO E.: Gene expression during bone repair. *Clin. Orthop.*, 1993, **289**, 292-312.
200. SANJULIAN M., AMILLO S. et CANADELL J. :Allografts in Malignant Bone Tumors. *In* : CZITROM A.A., WINKLER H. : Orthopaedic Allograft Surgery. Springer-Verlag, Vienne 1996, 157-164.
201. SARAF S.K., AGARWAL K., TULI S.M. et KHAPNNA S. : Autoclaved partially decalcified bone as osteogenic substances, an experimental study. *Indian J. Exp. Biol.*, 1991, **29**, 39-42.
202. SARTORIS D.J., HOLMES R.E., BUCHOLZ R.W. et RESNICK D. : Coralline hydroxyapatite bone graft substitutes in a canine diaphyseal defect model, radiographic features of failed and succesful union. *Skeletal. Radiol.*, 1986, **15**, 642-647.
203. SARTORIS D.J., HOLMES R.E., BUCHOLZ R.W., MOONEY V. et RESNICK D. : Coralline hydroxyapatite bone graft substiitute in a canine metaphyseal defect model: radiographic-histometric correlation. *Invest. Radiol.*, 1986, **21**, **11**, 851-857.
204. SCHENA C., MITTEN R. et HOEFLE W. : Segmental freeze-dried and fresh cortical allografts in the canine femur. I. A sequential radiographic comparison over a one-year time interval. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, 1983, **20**, 911-925.
205. SHALABY S.W., JOHNSON R.A. et DENG M. : Degradation of polymeric biomaterials. *Cells and materials*, 1993, **3**, **4**, 419-424.

206. SHARMA S., GARG N.K., VELIATH A.J., SUBRAMANIAN S. et SRIVASTA K.K. : Percutaneous bone-marrow grafting of osteotomies and bony defects in rabbits. *Acta Orthop. Trauma. Surg.*, 1999, 119, **1-2**, 57-61.
207. SHIMIZU K., MAZUMI S., YANO H., FUKUNAGA T., IKEBE S. et SHIN S. : Revascularization and new bone formation in heat-treated bone graft. *Archa. Orthop. Trauma. Surg.*, 1999, 119, **1-2**, 57-61.
208. SHUTO T., SARKAR G., BRONK J., MATSUI N. et BOLANDER M. : Osteoblasts express types I and II activin receptors during early intramembranous and endochondral bone formation. *J. Bone Miner. Res.*, 1997, **12** (3): 403-411.
209. SIGHOLM G., GENDLER E., McKELLOP H., MARSHAPLL G.J., MOORE T.M. et SARMIENTO A. : Graft perforation favor osteoinduction. Studies of rabbit cortical grafts sterilized with ethylene oxide. *Acta Orthop. Scand.*, 1992, **63**, 177-182.
210. SMITH M.M. : Treatment of a mandibular periodontal interproximal defect with a bone graft in dog. *J. Vet. Dent.*, 1995, **2**, 59-62.
211. STALLINGS J.T., PARKER R.B., LEWIS D.D., WRONSKI Th.J. et SHIROMA J. : A comparison of autogenous cortico-cancellous bone graft obtained from the wing of the ilium with an acetabular reamer to autogenous cancellous bone graft obtained from the proximal humerus in dogs. *Vet. Comp. Orthop. And Traumatol.*, 1997, **10**, 79-87.
212. STEVENSON S. : Bone grafting, *In*: SLATTER D. (éd.): Textbook of Small Animal Surgery, W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1993, 1694-1702.
213. STEVENSON S., LI X.Q. et MARTIN B. : The fate of cancellous and cortical bone after transplantation of fresh and frozen tissue-matched and mismatched osteochondral allografts in dogs. *J. Bone Joint Surg.*, 1991, 1143-1455, **73-B**, 8.
214. STRAW R.C. ET WITHROW S.J. : Limb –sparing surgery *versus* amputation for dogs with bone tumors. *Vet. Clin. North. Am. (Small Anim. Pract.)*, 1996, **26**, 135-143.
215. SUMMER B.N. et EISENSTEIN SM. : Donor site pain from the ilium: A complication of lumbar spine fusion. *J. Bone Joint Surg. (Br)*, 1989, **71**, 677-684.
216. SUMNER-SMITH G. et BISHOPH.M. : Nonunion: pathogenesis and treatment. *In*: SUMNER-SMITH G. (ed): Bone in clinical orthopaedics, WB Saunders Company, Philadelphia, 1982, 399-425.
217. SUN Y., ZHANG W., LU Y., MA F. et CHENG W. : Role of transforming growth factor beta (TGF-beta) in repairing of bone defects. *Chin. Med. Sci.*, 1996, **11**, 4, 2039-214.
218. SUZUKI Y., KUBOTA T., KOIZUMI T. *et al.* : Extracellular processing of bone and dentin proteins in matrix mineralization. *Connective Tissue Res.*, 1996, **35**, 223-229.
219. SWEENEY T.M., OPPERMAN L.A., PERSING J.A. et OGLE R.C.: Repair of critical size rat calvarial defects using extracellular matrix protein gels. *J. Neurosurg.*, 1995, **83**, **4**, 710-715.
220. SZABO G. et ILLES T. : Experimental stimulation of osteogenesis induced by bone matrix. *Orthopedics*, 1993, **14**, 63-67.
221. SZABO G. et SCHMIDT B. : Mechanical properties of bone after grafting with coralline hydroxyapatite, an experimental study. *Orthopedics*, 1993, **16**, 197-198.
222. TAGUSHI Y., YAMAMURO T., NAKAMURA T. *et al.* : A bioactive glass powder-Ammonium Hydrogen Phosphate composite for repairing bone defects. *J. Appl. Biomaterials*, 1990, **1**, 217-223.
223. TAGUSHI Y., PEREIRA B.P., KOUR A.K., PHO R.W. et LEE Y.S. : Autoclaved autograft bone combined with vascularized bone and bone marrow. *Clin. Orthop.*, 1995, **320**, 220-230.
224. TAKAHASHI S., SUGIMOTO M., KOTOURA Y., YAMAKURO T., OKA M., SHIBAMOTO Y. et TAKAHAPSHI M. : Incorporation of cortical bone autografts

- following intraoperative extracorporeal irradiation in rabbits. *Int. J. Radiation Oncology, Biology, Physics*, 1991, **21**, 1221-1230.
225. TAKATO T., HAPRII K., NAKATSUKA T. et OHTAKE T. : Experimental study of vascularised bone: quantitative analysis of bone scintigraphy and histology, *J. Reconstr. Microsurg.*, 1988, **4**, 5, 391-397.
226. TEITELBAUM S., TONDRAVI M. et ROSS F. : Osteoclast Biology. In: MARCUS R., FELDMAN D., KELSEY J., (ed): Osteoporosis. Academic Press, San Diego, 1996: 61-94.
227. TENCER A.F., WOODARD P.L., SWENSON J. et BROWN K.L. : Mechanical and bone ingrowth properties of a polymzr-coated, porous, synthetic, coralline hydroxyapatite bone-graft material. *Ann N. Y. Acad. Sci.*, 1988, **523**, 157-172.
228. THOMSON B., MUNDY G. et CHAMBERS T. : Tumor necrosis factor á et â induce osteoblastic cells to stimulate osteoblastic bone resorption. *J. Immunol.*, 1987, **138**, 775-779.
229. THOMSON B., SAKLATVALA J. et CHAMBERS T. : Osteoblasts mediate interleukon 1 responsiveness of bone resorption by rat osteoclasts. *J. Exp. Med.*, 1986, **164**, 104-112.
230. THOREN K., ASPENBERG P. et THORNGREN K.G. : Lipid extraction decreases the specific immunologic response to bone allgrafts in rabbits. *Acta Orthop. Scand.*, 1993, **64**, **1**, 44-46.
231. TOOMBS J.P. et WALLACE L.J. : Evaluation of autogeneic and allogeneic cortical chip grafting in a feline tibial nonunion model. *Am. J. Vet. Res.*, 1985, **46**, 519-528.
232. TOOMBS J.P., WALLACE L.J., BJORLING D.E. et ROWLAND G.N. : Evaluation of Key's hypothesis in a feline tibia: an experimental model for augmented bone healing studies. *Am. J. Vet. Res.*, 1985, **46**, 2, 513-517.
233. TREVOR P.B., STEVENSON S., CARRIG C.B., WALDRON D.R. ET SMITH M.M. : Evaluation of biocompatible osteoinductive polymer as an orthopedic implant in dogs, *Am. J. Vet. Med. Assoc.*, 1992, **11**, 1651-1660.
234. TREVOR P.B., SMITH M.M., STEVENSON S. et CARRIG C.B. : Evaluation of the proximal portion of the femur as an autogenous cancellous bone donor site in dogs. *Am. J. Vet. Med. Assoc.*, 1992, **53**, 1599-1603.
235. TSHALAMA M. : La greffe osseuse. *Ann. Méd. Vet.*, 1993, **137**, 415-424.
236. TSHALAMA M., VAN BREE H. et MATTHEEUWS D. : Biomechanical properties of ethylene oxide sterilized and cryopreserved cortical bone grafts. *Vet. Comp. Orthop. Trauma.*, 1994, **7**, 25-30.
237. TUKIANEN E. et ASKO-SELJAVAARA S. : Use of Ilizarov after free microvascular muscle flap transplantation in massive trauma of the lower leg. *Clin. Orthop.*, 1993, **297**, 129-134.
238. URIST M.R. : Bone formation by autoinduction. *Science*, 1965, **150**, 893-899.
239. USHIDA A., ARAKI N., SHINTO Y., YOSHIKAWA H., ONO K. et KURISAKI E. : The use of calcium hydroxyapatite ceramic in bone tumor surgery. *J. Bone Joint Surg. (Br)*, 1990, **72**, 2, 298-302.
240. VASSEUR P.B. et STEVENSON S. : Osteosarcoma at the site of a cortical bone allograft in a dog. *Vet. Surg.*, 1987, **16**, 70-74.
241. VINCE D.G., HUNT J.A. et WILLIAMS D.F. : Quantitative assessment of the tissue response to implanted biomaterials. *Biomaterials*, 1991, **12**, 731-736.
242. VIROLAINEN P., HEIKKIL J., YLI-URPO A., VUORIO E. et ARO H. : Histomorphometric and molecular biologic comparison of bioactive glass granules and autogenous bone grafts in augmentation of bone defect healing. *Biomed. Mater. Res.*, 1997, **35**, 9-17.
243. VOLPON J.B. : Nonunion using a canine model. *Arch. Orthop. Trauma Surg.*, 1994, **113**, 6, 312-317.

244. VOLPON J.B., XAVIER C.A. et GONCALVES R.P. : The use of calcified granulated homologous cortical bone matrix in the correction of diaphyseal bone defect. An experimental study in rabbits. *Arch. Orthop. Trauma Surg.*, 1982, **99**, 199-207.
245. WANG J.S. et ASPENGER P. : Basic fibroblast growth factor promotes bone ingrowth in porous hydroxyapatite. *Clin. Orthop.*, 1996, **33**, 252-260.
246. WEILAND A.J., PHILIPS T.W. et RANDOLPH M.A. : Bone grafts, a radiologic, histologic and biomechanical model comparing autografts, allografts, and free vascularized bone grafts. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 1984, **74**, 368-379.
247. WILLIAMS D.F. : A model for biocompatibility and its evaluation. *J. Biomed. Eng.*, 1989, **11**, 185-191.
248. WINKLER H., BOHMANN F. et SCHWÄGERL W. : Acetabular Reconstruction Technique. In: CZITROM A.A., WINKLER H. : Orthopaedic Allograft Surgery. Springer-Verlag, Vienne 1996, 135-148.
249. WITTBJER J., PALMER B. et THORNGREN K.G. : Osteogenic properties of reimplanted decalcified bone in the rabbit radius. *Scand. J. Plast. Reconstr. Surg.*, 1982, **16**, 239-244.
250. WOODWARD J.C. et RISER W.H. : Morphology of fracture nonunion and osteomyelitis, in fractures complications. *Vet Clin. North. Am. ( Small Anim. Pract.)*, 1991, **21**, 4, 813-844.
251. WOSNEY J. et ROSEN V. : Bone morphogenetic Protein and Bone Morphogenetic Protein Gene Family in Bone Formation and Repair. *Clin. Orthop.*, 1998, **346**, 26-37.
252. YAMAZAKI M. et SAKAI H. : Osteogenic response to porous hydroxyapatite ceramics under the skin of dogs. *Biomaterials*, 1992, **13**, 308-312.
253. YAMAZAKI M., MAJESKA R., YOSHIOKA H., MORIYA H. et EINHORN T. : Spatial and temporal expression of fibril-forming minor collagen genes (type V and XI) during fracture healing. *J. Orthop. Res.*, 1997, **15**, 5, 757-764.
254. YANG C., SIMMONS D.J. et LOZANO R. : The healing of grafts combining freeze-dried and demineralized allogeneic bone in rabbits. *Clin. Orthop.*, 1994, **298**, 286-295.
255. YASKO A.W., LANE J.M., FELLINGER E.J., ROSEN V., WOZNEY J.M. et WANG E.A. : The healing of segmental bone defects, induced by recombinant Human Bone Morphogenetic Protein rhBMP-2. *J. Bone Joint Surg.*, 1992, **74-A**, 5, 659-671.
256. YASZEMSKI M.J., PAYNE R.G., HAYES W.C., LANGER R. et MIKOS A.G. : Evolution of bone transplantation: molecular, cellular and tissue strategies to engineer human bone. *Biomaterials*, 1996, **17**, 2, 175-185.
257. YEH L.S. et HOU S.M. : Repair of a mandibular defect with a free vascularized coccygeal vertebra transfer in a dog. *Vet. Surg.*, 1994, **23**, 281-285.
258. YOSHIKAWA T., OHGUSHI H. et TAMAI S. : Immediate bone forming capability of prefabricated osteogenic hydroxyapatite. *J. Biomed. Mater. Res.*, 1996, **32**, 481-492.
259. YOSHIMINE Y., AKAMINE A. et MUKAI M. : Biocompatibility of tetracalcium phosphate cement used as a bone graft substitute. *Biomaterials*, 1993, **14**, 403-406.
260. YOUNGER E.M. et CHAPMAN M.W. : Morbidity at bone graft donor sites. *J. Orthop. Trauma.*, 1989, **3**, 192-195.
261. ZEGZULA D., BUCK D., BREKKE J., WOZNEY J. et HOLLINGER J. : Bone formation with use of rhBMP-2, Recombinant Human Bone Morphogenetic Protein-2. *J. Bone Joint Surg.*, 1997, **79-A**, 12, 1778-1790.
262. ZELLIN G., HEDNER E. et LINDE A. : Bone regeneration by a combination of osteopromotive membranes with different BMP preparations, A Review. *Connective Tissue Research*, 1996, **35**, 279-284.
263. ZHOU H., CHOONG P., McCARTHY R., CHOU S., MARTIN T. et NG K. : *In situ* hybridization to show sequential expression of osteoblast gene markers during bone formation *in vivo*. *J. Bone Miner. Res.*, 1994, **9**, 9, 1489-1499.

264. ZIHUANG H., WANG W., TAHERNIA A., LEVITZ C., LUCHETTI W. et  
BRIGHTON C. : Mechanical strain-induced proliferation of osteoblastic cells parallels  
increased TGF-beta 1 mRNA. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1996, **229**, 2-11.