

Les protéines inductrices de l'os .

Philippe Chiron
Professeur des Universités - Praticien Hospitalier.
CHU Rangueil Toulouse.

Coordonnées professionnelles :
Service d'Orthopédie-Traumatologie
CHU Rangueil
1 avenue Jean Poulhès
31059 Toulouse cedex 9
Tel: 05 61 32 27 12
Fax : 05 61 32 22 32
@mail : orthrang@free. fr

Coordonnées personnelles :
22 route de saint Simon
31100 Toulouse.
Tel: 05 61 86 76 90
Tel: 06 83 22 07 83

Résumé : Dans le cadre de la grande famille des facteurs de croissance TGF Bêta, des protéines qui ont une action plus spécifique sur l'ostéogénèse, les BMPs, ont été isolées. L'identification de ces protéines permet de mieux comprendre le processus de la formation de l'os depuis l'activation de cellules progénitrices jusqu'à la formation de la trame calcique ; il est aujourd'hui possible de les produire par génie génétique. Le produit obtenu est actif, pur, concentré, à dose stable, stérile, facile d'emploi et peut être conservé un an à température ambiante. Ces protéines recombinantes ont permis de multiplier les expériences animales dans les années 90; ces expériences ont montré que les résultats sont dose-dépendants, que le type de support et le temps de relargage est très important, que le délai de consolidation d'une fracture est raccourci, que le taux de succès de comblement d'une perte de substance osseuse se rapproche de celui des auto-greffes spongieuses, que ces protéines peuvent être utilisées de manière injectable par voie percutanée et qu'elles n'ont que des effets secondaires mineurs sans risque notamment cancérigène.

Deux protéines recombinantes BMP 2 et 7 sont actuellement commercialisées par deux Sociétés différentes. Les autorisations de mise sur le marché, aux USA et en Europe, ont pu être obtenues grâce à des études multi-centriques randomisées chez l'homme dont l'analyse permet de mieux évaluer l'efficacité réelle et les indications de ce type de produit. Les principales études ont porté sur les fractures ouvertes de jambes enclouées, les pseudarthroses des os longs, les arthrodèses rachidiennes. Des études ont également été faites sur les ostéonécroses de la tête fémorale et l'épaississement des sinus maxillaires sans qu'elles permettent d'obtenir d'autorisations officielles. Il semble que, chez l'homme, l'efficacité soit moins évidente que lors des expériences animales mais qu'il devrait exister de bonnes indications de l'utilisation curative et préventive de ces protéines inductrices si celles-ci ne sont pas limitées par un prix trop élevé.

1 Introduction

Le tissu osseux, par l'intermédiaire du système squelettique, a pour rôle de lutter contre un facteur constant de notre planète, la pesanteur. Il est formé pour 95 % d'une trame calcique d'hydroxyapatite et pour 5 % d'une matrice protéinique et cellulaire. Il est l'objet de phénomènes globaux, croissance, régénérescence, et de phénomènes locaux, consolidation, réorganisation en fonction des contraintes, mais également comblement d'une perte de substance osseuse. Cette dernière action est cependant souvent vouée à l'échec lorsque les **facteurs mécaniques et biologiques** qui favorisent la formation osseuse sont altérés qu'il s'agisse d'une perte de **substance osseuse cavitaire ou segmentaire**.

Le traitement chirurgical d'une perte de substance osseuse fraîche ou ancienne peut s'appuyer soit sur les propriétés **ostéoconductrices** de l'os, soit sur ses propriétés **ostéoinductrices**, soit enfin sur les deux. Le tissu osseux peut en effet par **ostéoconduction** réhabiliter progressivement une trame naturelle ou artificielle à condition qu'elle soit entourée d'un tissu vivant bien vascularisé et qu'elle subisse des contraintes en compression ; la réhabilitation se fait par colonisation cellulaire à partir des berges dans le cas d'une perte de substance osseuse cavitaire, ou des jonctions dans le cas d'une perte de substance osseuse segmentaire ; Le pouvoir de réhabilitation à partir des berges est de l'ordre du centimètre, soit par exemple 2 cm au maximum dans le cadre d'une perte de substance osseuse segmentaire. L'ostéosynthèse à foyer ouvert favorise la conduction en permettant un contact osseux de telle manière que les contraintes en compression soient transmises ; La plupart des matériaux de comblement que nous utilisons actuellement (autogreffes corticales non vascularisées, allogreffes spongieuses ou corticales, substituts osseux céramiques ou à base d'hydroxyapatite, de phosphate tricalcique ou de phosphate de calcium) sont essentiellement ou entièrement ostéoconducteurs. **L'ostéoinduction** est la capacité de former du tissu osseux en tout point d'un foyer de fracture ou d'une perte de substance osseuse, dans les premières semaines qui suivent la fracture ; Les techniques d'ostéosynthèse à foyer fermé favorisent essentiellement l'ostéoinduction en conservant, voire en augmentant par alésage, l'hématome périfracturaire ; Seule l'autogreffe spongieuse est un matériau de comblement ostéoconducteur qui a aussi un pouvoir ostéoinducteur [11]. Elle sert de référence à toute étude visant à démontrer l'efficacité d'un substitut ; Le prélèvement d'os spongieux ou corticospongieux autologue est accusé, de manière plus ou moins objective d'être à l'origine de complications multiples : douleurs, hématome, infection, boiteries, lésion du nerf cutané latéral de la cuisse ; En fait, c'est surtout la qualité du tissu prélevé qui va en diminuant avec l'âge et la quantité nécessaire dans certains cas qui justifie des recherches sur un produit de substitution ayant des propriétés inductives et conductives.

L'induction du tissu osseux débute par la différenciation de cellules progénitrices sous l'action de facteurs de croissance plus ou moins spécifiques, cellules qui vont participer à **l'ostéogenèse**. Des **protéines pures ostéoinductrices**, dénommées « Bone Morphogenetic proteins » ou BMPs, ont été isolées ces 20 dernières années. Deux d'entre elles, fabriquées par génie génétique, sont actuellement commercialisées. Il convient de faire le point sur leur nature et les résultats des études expérimentales et cliniques pour utiliser ces produits nouveaux à bon escient et éviter qu'un engouement passager par l'effet de mode conduise ensuite à un rejet non justifié.

2 Aspects fondamentaux

21 Historique

* Nicolas Senn a utilisé dès la fin du siècle dernier de l'os décalcifié dans le traitement des ostéomyélites [34]. Au début des années 50, Pierre Lacroix avait pressenti par déduction l'existence d'un facteur local inducteur de l'ostéogenèse qu'il a dénommé l'ostéogénine [22].

* Des médecins militaires Français, Leriche et Policar, ont expérimenté, durant la guerre de 1914-18, les effets d'un broyat osseux qu'ils ont appelé « le jus lapidifique ».

* Marshal Urist (1914-2001) dès le début des années 60, inspirés par les écrits sur ce jus lapidifique, a fait de nombreux travaux expérimentaux dans le cadre du laboratoire de recherche osseuse de l'Université de Californie visant à démontrer que ce facteur inducteur de l'ostéogenèse devait être présent dans la partie non minérale de la matrice. Il a après déminéralisation obtenu une substance dénommée « matrice osseuse déminéralisée » (Demineralized Bone Matrix : DBM ; 94 % de protéines- 6 % HA) capable d'induire une néoformation osseuse implantée dans un muscle [35]. Reddi et Huggins ont pu décrire les différentes étapes de la formation osseuse en observant les effets de l'introduction de DBM sous la peau de rats [30]. Le terme de Bone Morphogenetic Protein a été introduit toujours par Urist en 1971 dans le but d'insister sur la nature protéique probable des facteurs inducteurs de la formation du tissu osseux contenus dans la DBM [36]. La DBM est aujourd'hui commercialisée bien que différents travaux cliniques n'aient pas fait réellement la preuve de son efficacité chez l'homme. Elle est extraite de résidus d'os de banques, traitement par acides et lyophilisation avec un risque réel de transmission d'une maladie virale de l'un des donneurs au receveur ; le pooling est utilisé dans de nombreux cas ce qui rend la traçabilité très difficile à faire avec ce type de technique multidonneurs ; Allomatrix* et Osteoset fournissent des lots provenant d'un seul donneur connu ce qui améliore la sécurité. Au début des années quatre-vingt M. Urist a isolé au sein de cette matrice osseuse déminéralisée une première glycoprotéine à bas poids moléculaire qu'il a dénommée BMP3 ou ostéogénine [37]. Cependant au sein des protéines actuellement isolées la BMP3 est l'une des moins efficace pour induire la formation osseuse.

* Kumber Sampath et Hari Reddi [32], biochimistes du national Institute of dental Research, ont mis au point également au début des années 80 une méthode d'analyse de la croissance des cellules osseuses par quantification de l'activité phosphatase alcaline qui a permis de commencer à purifier les protéines inductrices de l'os. E. A. Wang et J. M. Wozney [38, 40] de l'équipe de Genetic's Institute (actuellement Wyeth Research-Cambridge- Massachussts- USA) ont isolé, purifié et publié les formules des huit premières protéines ostéoinductrices. Wozney a mis au point le clonage moléculaire de ces protéines. Les équipes se sont ensuite séparées. L'étude de la BMP2 (Inductos ou InFuse) a été poursuivie par l'équipe de Genetics Institute rachetée par Wyeth Research (commercialisée par Medtronic Sofamor Danek, Memphis, Tennessee) et celle de la BMP7 (Osteogenic-protein 1 /OP1/Osigrift/ eptotermin alpha) et de la BMP 8 (Osteogenic-protein 2/OP2) avec l'équipe de Creative Biomolecules, commercialisée par Stryker Biotech (Hoptington, Massachusetts).

* A la suite de ces découvertes, de nombreuses études expérimentales ont été réalisées, in vitro dans les années 80, animales dans les années 90.

* Actuellement quatre études principales chez l'homme ont été menées à leur fin, dont trois ont permis d'obtenir les autorisations de mise sur le marché aux États-Unis et au Canada dans les indications de **d'arthrodèse rachidienne** (FDA, 02 juillet 2002) [9] et en Europe dans les indications de **pseudarthrose** (FDA, 17 octobre 2001) [15] et de **fracture ouverte de jambes** (AMM en Europe, Novembre 2003) [17] ; des études cliniques dans des indications de nécroses de hanche n'ont pas encore aboutit.

* Les recherches s'orientent aussi de nos jours vers les inhibiteurs des BMP qui pourraient jouer un rôle thérapeutique dans le traitement de certaines calcifications

hétérotropiques tendineuses, musculaires et ligamentaires, et de certaines maladies héréditaires ou de métastases [18, 19, 27].

22 Origine

Les protéines osteoinductrices sont excrétées physiologiquement par les cellules de la moelle hématopoïétique, par les plaquettes, par les ostéoclastes, et par les cellules musculaires, du périoste et de l'endoste. C'est le chromosome 20 qui est par exemple à l'origine de la production cellulaire des protéines 2 et 7 [29].

Elles font partie de la superfamille des facteurs de croissance TGF Bêta (Transforming growth factors Beta) qui agit en association avec d'autres familles, FGF 1-2 (fibroblast growth factor), IGF-1 (Insulin growth factors), PDGF (Platelet growth factors).

Ces facteurs de croissance réalisent de longues chaînes polypeptidiques composées d'une partie active et d'une partie inhibitrice. L'hypoxie et l'acidose favorisent la coupure de ces séquences et libèrent la portion active de la chaîne. Ces protéines sont stockées à l'état actif dans la matrice osseuse ; elles peuvent être libérées progressivement lors d'une lyse osseuse physiologique comme la résorption ostéoclastique, favorisant ensuite la reconstruction ultérieure par les ostéoblastes. C'est la destruction par acidification de la trame osseuse calcique qui libère les protéines actives qui confèrent à la DBM un pouvoir inducteur. Lors d'une fracture les conditions de l'hématome, acidose et hypoxie, favorise l'activation des facteurs de croissance en général et la libération des BMP en particulier [21].

Ces facteurs de croissance libérés stimulent la production de nouveaux facteurs et de nouvelles protéines inductrices par les cellules productrices anciennes et de cellules nouvellement formées. Les facteurs de croissance en général activent plus la croissance des tissus interstitiels que celle du tissu osseux lui-même ; les protéines osteoinductrices de la famille des BMPs, directement actives, sont plus spécifiques du tissu osseux et cartilagineux chez l'adulte ; l'on rapproche actuellement des BMPs les Growth/differentiation factors ou cartilage derived morphogenetic proteins (GDF 5-6 ou CDMP 5-6) [10] ce qui porte à seize le nombre de protéines de la famille des BMPs individualisées en 2001 [29].

À l'état libre circulant, elles sont rapidement détruites par le foie ; leur demi-vie est de l'ordre de six heures.

Elles n'ont a priori pas d'action générale chez l'adulte ; elles agissent sur le lieu de leur libération.

23 Nature moléculaire des BMPs

Les protéines inductrices de la famille des BMP sont des glycoprotéines à bas poids moléculaire non collagéniques que l'on peut dissocier en deux chaînes polypeptidiques de près de 400 aminoacides, une chaîne propeptidique qui différencie les différentes protéines entre elles et une chaîne distale carboxylée commune dite mature à l'ensemble des BMP, avec sept liaisons cystéines caractéristiques de la superfamille TGF bêta. La BMP 1 ne fait pas partie de la sous famille des protéines osteoinductrices ; elle a un rôle dans le processus de lyse du collagène mature [40].

Ainsi les protéines ont plus ou moins de caractères en commun. (Figure 1)

A ce jour, vingt deux protéines différentes ont été isolées. Les propriétés des huit premières sont cependant les mieux connues, notamment les protéines deux et sept qui ont fait l'objet d'études expérimentales et cliniques. Il est fort probable que chaque protéine joue un rôle particulier isolée ou en association avec les autres. De même qu'il existe aujourd'hui un schéma de la coagulation sanguine avec des facteurs et des cofacteurs qui agissent à

différentes étapes, il se dessine progressivement un schéma de la consolidation osseuse qui permettra de mieux la comprendre et la maîtriser.

24 Effets

Les protéines inductrices agissent sur la régulation du tissu osseux et cartilagineux de manière différente chez l'embryon, chez l'enfant et chez l'adulte. A faible dose il semble qu'elles agissent plutôt sur la prolifération cellulaire et à fortes doses sur la différenciation. Les BMPs agissent à l'échelon cellulaire sur des récepteurs spécifiques de membrane de deux types différents. Par des mécanismes de phosphorylation par des protéines kinases de type sérine/thréonine, ces récepteurs activent des ARN messagers, les Smads (SMA + MAD ; Caenorhabditis elegans + Mothers Against Decapentaplegic) [20, 23] ; les Smads, dont il existe huit types différents, vont traverser le cytoplasme jusqu'au noyau, traverser sa membrane et activer les gènes responsables de la formation cartilagineuse et de l'ostéogénèse.

241 Induction de la formation osseuse.

Les protéines inductrices agissent en corrélation avec d'autres facteurs de croissance à toutes les étapes de la formation osseuse selon deux voies différentes:

* La voie cartilagineuse : les BMPs agissent sur la différenciation et la multiplication des cellules mésenchymateuses progénitrices (qui proviennent du muscle, du périoste et de la moelle osseuse), puis sur la formation de la matrice cartilagineuse de collagène et protéoglycanes sécrétés par les fibroblastes [31], pour terminer après une étape de vascularisation par une action sur la différenciation, l'activation ou l'inhibition des ostéoblastes et des ostéoclastes qui vont travailler à la formation de la trame calcique. Lors de la phase terminale de remodelage, le taux de BMPs redevient faible [3] (Figure 2).

Dans le cas d'une perte de substance diaphysaire, la voie cartilagineuse est préférentiellement suivie; les cellules réceptrices sont celles de l'os et des tissus musculaires environnants, ce qui explique le temps relativement long de la consolidation. La BMP-2 stimule particulièrement la différenciation et la multiplication des cellules mésenchymateuses progénitrices (5 jours); elle a donc un rôle d'induction de la formation cartilagineuse (10 jours). A la phase de formation de la trame calcique, elle inhibe l'action des ostéoclastes, favorisant indirectement l'action des ostéoblastes (21 jours) ; il semble judicieux de l'utiliser lorsqu'il existe une perte de substance osseuse dans le cas de fractures fraîches en l'absence de cal cartilagineux déjà formé. La BMP-7 agit essentiellement à la phase terminale en activant directement la différenciation des ostéoblastes. Elle a donc un rôle essentiel dans la transformation du tissu cartilagineux en tissu osseux ; il semble judicieux de l'utiliser dans le cas d'une pseudarthrose hypervasculaire. En fait ces protéines agissent en concert ; certaines sont plus spécialisées pour une action donnée ou encore leurs effets combinés se potentialisent. (figure 2)

* Une autre voie est la transformation directe des cellules progénitrices en cellules osseuse avec formation directe d'os toujours sous l'influence des BMPs.

Cette voie est suivie préférentiellement dans le cas d'une perte de substance métaphysaire ; les cellules progénitrices se différencient directement en cellules osseuses ce qui explique la consolidation relativement rapide dans cette zone; les cellules cibles sont les cellules osseuses et celles de la moelle. In vivo, dans les zones spongieuses, la réhabitation osseuse est précédée d'une lyse périfracturaire ; les diphosphonates (Ibandronate) limitent cette résorption sans nuire à la consolidation [28, 33]. (Figure 3)

* La formation du tissu osseux par voie directe ou par une étape intermédiaire cartilagineuse dépend en fait, non seulement de la localisation sur l'os et du type d'os , mais

également de la dose de protéines inductrices et du support utilisé ! Dans tous les cas l'os obtenu est fonctionnellement, biomecaniquement et histologiquement normal.

242 Induction de la formation cartilagineuse.

Toutes les BMPs sont inductrices de la formation de tissu cartilagineux, puisqu'il s'agit de la première étape de la formation du tissu osseux ! Les CMPDs/GDFs 5-7 plus spécifiques de la formation du cartilage font partie de la famille des BMPs [10].

Les BMPs participent à la formation et au remodelage du cartilage hyalin [1]. Les cultures de cartilage hyalin présentent une transformation progressive du collagène de type II en collagène de type I ce qui est ralenti par l'adjonction de DBM. L'adjonction de BMP4 et 7 stimule la synthèse de proteoglycanes ; ces protéines pourront donc être utiles pour améliorer la qualité des greffes cartilagineuses autologues cultivées ex vivo [7]. Elles agissent également dans les zones d'enthèses ; l'utilisation d'un inhibiteur des BMPs est une voie de recherche dans le traitement des enthésopathies et tendinopathies calcifiantes [19].

243 Chez l'embryon

Les BMP semblent jouer un rôle essentiel dans la formation et la maturation de l'os et des différents organes. Elles sont observées, voire sécrétées chez l'embryon par les cellules rénales, du cœur, du système nerveux central, de la prostate, des poumons de la peau et participent au développement de nombreux systèmes. Les BMPs paraissent contrôler la différenciation des cellules embryonnaires vers les différents tissus, notamment la différenciation d'adipocytes, ostéocytes, chondrocytes, et fibrocytes.

25 Production

251 Naturelle.

Comme pour les hormones, il est possible d'extraire des protéines inductrices d'os bovins ou humains. Le processus consiste en un passage en milieu acide qui permet la déminéralisation de l'os et la rupture des chaînes de polypeptides à isoler, puis en une purification des protéines. Cependant outre le fait que cette méthode nécessiterait en pratique des quantités extrêmement importantes d'os pour extraire une seule dose efficace de protéines si l'on tient compte du fait que la matrice déminéralisée est insoluble et que le rendement par extraction est de l'ordre de 3 %, il existe en plus un risque sanitaire évident de transmission d'une maladie de l'animal à l'homme ou de l'homme à l'homme.

252 Génie génétique.

Comme pour l'Erythropoïétine, il est possible de produire des protéines inductrices par génie génétique. Elles prennent alors le nom de protéines recombinantes, par exemple la BMP2 prendra pour nom de RhBMP2 si elle est d'origine humaine ou de RbBMP2 si elle est d'origine bovine...

Les différentes étapes de la fabrication d'une protéine recombinante sont :

- * Extraction chimique de protéines à partir de DBM humaine ou bovine.
- * Purification de la protéine humaine ou bovine à partir d'un mélange de protéines extraites et de collagène du stroma.

- * Introduction de la séquence dans l'ADN d'une cellule animale en l'occurrence les cellules d'Ovaires de Hamsters Chinois (CHO).
- * Mise en culture des cellules et amplification.
- * Production de la protéine dans un bioréacteur.
- * Purification par chromatographie et filtration.
- * Lyophilisation.

Le produit obtenu est actif, pur, concentré, a dose stable, stérile, facile d'emploi et peut être conservé un an à température ambiante ; il est disponible en grande quantité. Le prix est variable en fonction des pays et même varie en fonction des indications (Inductos* et Infuse* sont en fait des produits identiques vendus à des prix différents). Le prix d'OP-1 le premier commercialisé équivaut, en France, à celui de quatre tiges de prothèse totale de hanche, ce qui peut être considéré comme cher par rapport au coût d'une autogreffe dont l'efficacité est comparable. La concurrence prochaine devrait entraîner une baisse globale du prix.

26 Support

Dans l'organisme, les BMP sont en fait supportées par la trame calcique et libérées en fonction des besoins.

Pour utiliser les protéines recombinantes et obtenir une action locale, il faut choisir un support capable de les absorber et qui permet leur libération progressive sans gêner la réhabilitation secondaire. La libération de protéines devrait idéalement si l'on veut reproduire la nature être locale et s'étaler pendant deux ou trois semaines avec un pic pendant la première à une concentration suffisante. Le support devrait aussi être ostéoconducteur et être résorbé en quelques mois.

Tous les matériaux de comblement qui ont des propriétés ostéoconductrices peuvent servir de support à condition que la fixation d'une quantité suffisante de protéines soit possible et que leur libération soit complète et progressive.

Les matériaux qui ont été testés expérimentalement in vitro et in vivo dont les propriétés paraissent les plus adaptées sont essentiellement des éponges de collagène, des substituts en phosphate tricalcique, du phosphate de calcium, des allogreffes spongieuses stérilisées. D'après Sehermann, la délivrance de la moitié de la dose absorbée se fait en 1,87 jours avec un caillot sanguin, en 5,65 jours avec une éponge de collagène, en 12,75 avec une matrice en phosphate de calcium [33]. Le phosphate de calcium peut être déposé chirurgicalement, mais aussi injecté autour du site de fracture ce qui est une importante voie de recherche actuelle [14, 16](paragraphe 55).

3 Etudes expérimentales .

Des protéines inductrices sont aujourd'hui fabriquées industriellement, en grande quantité, pures. Leur mécanisme d'action est de mieux en mieux compris. Il reste à définir leur efficacité et les risques qu'elles peuvent faire courir. Les études animales ont été particulièrement nombreuses ; elles ont porté sur un petit nombre de cas dans le but d'évaluer une protéine donnée à une dose donnée et de prendre date sur la liste des différentes publications. De nombreuses études chez l'homme ont été réalisées mais avec un petit nombre de cas, non randomisés. Ce sont les études qui ont eu pour but d'obtenir les autorisations de mise sur le marché aux États-Unis et en Europe [9, 15, 17] qui apportent les éléments les plus sérieux sur l'efficacité, et les risques que font courir ces protéines ; ces différentes étapes représentent 6 à 12 ans de recherches.

31 Etudes chez l'animal

Une recherche bibliographique (pubmed, mots clés : « BMP » dans le titre, « animal » dans les mots clés) sélectionne 943 études chez l'animal sur 1246 articles.

Les études chez animal étant très nombreuses, avec des protocoles variables, à des doses différentes avec des protéines différentes, essayer de les individualiser serait source de confusion. Les animaux utilisés sont différents : le lapin, le rat, le mouton, la chèvre, le cochon ou le singe... les protocoles et les techniques opératoires également : pertes de substance osseuse diaphysaire, pertes de substance osseuse métaphysaire, arthrodèses rachidiennes, implantations de prothèses métalliques, implantations dans des sites extra osseux ... Les sites osseux sont différents : os du crâne, sinus, os longs, maxillaire, rachis ... Différents supports ont été étudiés chez l'animal : dépôt local des protéines à foyer ouvert au percutané (hydroxyapatites, phosphates de calcium, allogreffes, éponges de collagènes)... Injection de virus modifiés ...Injection de cellules génétiquement modifiées... Les protéines utilisées ont été le plus souvent BMP-2 et 7 d'origine animale ou humaine, mais aussi de nombreuses études portent sur BMP-4 et 3...

Certains résultats chez l'animal sont particulièrement spectaculaires : comblement d'une large perte de substance diaphysaire en trois mois, récupération des qualités mécaniques après une résection maxillaire, fusion vertébrale rapide, intégration d'une cupule de prothèse non cimentée mise à distance de l'os... (Figure 4-5)

Ces cas spectaculaires ne doivent pas faire préjuger à eux seuls du comportement et des qualités des protéines inductrices.

Il ressort cependant de ces différentes études un certain nombre de données communes :

- * Les résultats sont dose dépendants ; une dose trop faible ou trop forte ne donne pas l'effet recherché ; il semble que les doses nécessaires chez animal soient inférieures à celles nécessaires chez l'homme pour obtenir le comblement d'une perte de substance osseuse. La dose nécessaire varie en fonction des espèces le rat étant le plus sensible aux faibles doses, les primates aux doses plus fortes de l'ordre de 1,5 mg/ml.

- * Le type de support et le temps de relargage à une forte influence sur les résultats.

- * Le délai moyen de consolidation d'une fracture fraîche est raccourci de l'ordre d'un tiers.

- * Le taux de succès pour comblement ou consolidation se rapproche de celui des autogreffes spongieuses et parfois le dépasse ; toutes les autres techniques de comblement par des matériaux simplement conducteurs donnent des résultats moins bons sans commune mesure.

- * L'adjonction de protéines inductrices permet de compenser les effets de l'injection de produits inhibiteurs de la consolidation comme les anti-inflammatoires ou la nicotine. Dans toutes les études animales, la nicotine a été jugée de loin le « frein chimique » le plus efficace !

- * Aucun effet cancérogène n'a été observé dans l'ensemble des études animales.

- * L'injection dans la système systémique de fortes doses de BMP, n'entraîne aucun effet secondaire ; les protéines sont rapidement détruites par le foie.

32 Etudes cliniques

Les résultats chez l'animal et l'absence apparente de risques ont conduit à transposer ces études chez l'homme. Une recherche bibliographique (pubmed, mots clés : « BMP » dans le titre, human, « prospective studies » dans les mots clés) sélectionne 6 études prospectives chez l'homme sur 1246 articles [2, 4, 9, 15-17] .

321 RhBMP2 et fractures ouvertes de jambes [17].

3211 Objectifs :

Les fractures ouvertes du tibia sont souvent associées à des délais de consolidation allongés et parfois des pseudarthroses, retardant la rééducation fonctionnelle, affectant la qualité de la vie du patient et grevant les coûts du traitement. Cette étude clinique prospective, contrôlée, a évalué l'effet d'un facteur ostéoinducteur, la protéine recombinante humaine Bone Morphogenetic-2 (rhBMP-2, dibotermine alfa, Inductos), sur le délai de consolidation et le nombre de re-interventions pour ruptures de matériel ou retards de consolidation/pseudarthroses.

3212 Méthodes :

450 patients (364 hommes et 86 femmes ; âge moyen 36 ans ; 49 % d'antécédents de tabagisme récent) présentant des fractures diaphysaires tibiales ouvertes, ont été enrôlés dans une étude internationale, multicentrique, prospective et contrôlée. Le type de fracture a été classé selon la classification de Gustilo-Anderson (groupe A = types I, II et IIIA ; groupe B = type IIIB) ; les fractures avec perte de substance cutanée et traitée par lambeau et clou ont donc été étudiées séparément. Les traitements étaient randomisés en 3 groupes : groupe contrôle, recevant le traitement standard (soins habituels de la plaie et enclouage centromédullaire). Les deux autres groupes ont reçu une solution rhBMP-2 administrée lors de la fermeture de plaie supportée par une éponge en collagène biodégradable posée au contact de la fracture et contenant une concentration de 0,75 mg/ml ou 1,5 mg/ml (Figure 6). Le principal objectif de l'étude était d'analyser durant 12 mois de suivi, le nombre des patients nécessitant une re-intervention pour retard de consolidation (greffe osseuse, échange ou dynamisation de l'enclouage, stimulation électro-magnétique). D'autres objectifs étaient basés sur la mesure de la vitesse de consolidation de la fracture et de guérison de la plaie, ainsi que l'incidence du terrain, du type de fracture, des complications. La consolidation des fractures était indépendamment contrôlée par trois radiologues, ne connaissant pas le traitement reçu (Figure 7). Les résultats ont été testés au moyen du test K2 ou du test exact de Fisher, avec une valeur significative pour $p \leq 0,05$.

3213 Résultats :

94 % des patients ont été suivis jusqu'à la fin de l'essai. Les patients des 3 groupes étaient comparables à l'exception de la proportion ayant reçu un enclouage alésé avec une dose de 1,5mg/ml (27 % de témoins allésés-- 41 % de RhBMP-2 allésés).

À toutes les visites de 10 à 52 semaines, la proportion des patients considérés comme consolidés était significativement plus grande dans le groupe traité par rhBMP-2 1,5 mg/ml en comparaison du groupe contrôle. À 6 mois, 58 % des patients traités par rhBMP-2 (1,5 mg/ml) étaient consolidés, contre seulement 38 % dans le groupe contrôle. La probabilité de guérison pour 50 % des patients était ramenée de 184 à 145 jours. (Figure 8).

Comparé au groupe contrôle, le traitement par la rhBMP-2 a abaissé de manière significative le taux de re-intervention pour retard de consolidation, les meilleurs résultats étant observés chez les patients traités à la concentration d'1,5 mg/ml (-44 % de réinterventions). Le nombre des re-interventions « lourdes » (greffe osseuse et échange d'enclouage) a été notamment réduit (-49 %). Ces effets ont été notés même chez les patients présentant des fractures Gustilo IIIB (-52 %). La BMP a eu un effet bénéfique pour les

malades ayant des antécédents tabagiques (53 % des fumeurs témoins ont été réopérés-- 26 % fumeurs RhBMP-2). (Figure 9).

Les trois groupes ont présenté des complications infectieuses de la jambe fracturée, mais par rapport au groupe contrôle, l'incidence de ces complications a été significativement plus faible chez les patients souffrant d'une fracture de grade III A ou B, traités avec la rhBMP-2 1,5 mg/ml (44 % Groupe III témoin-- 24 % du groupe RhBMP-2).

Par rapport au groupe contrôle, les patients traités avec la rhBMP-2 1,5 mg/ml, ont présenté moins de bris de matériel de synthèse ($p=0,0174$), moins de douleur après le premier mois de traitement ($p=0,0343$) et une proportion de plaies guéries à 6 semaines de 83 % contre 65 %, $p=0,001$).

Les calcifications hétérotopiques ont été rares et observées de façon comparable dans les trois groupes.

De faibles titres d'anticorps anti rhBMP-2 (≤ 6 %) ou anti collagène bovin (≤ 20 %) ont été observés. En présence d'anticorps anti collagène humain ou anti BMP, aucune manifestation clinique d'accompagnement et aucun effet sur les résultats n'ont été observés.

3214 Discussion

Cette étude suggère que l'effet ostéoinducteur de la rhBMP-2, souvent démontré dans les études pré-cliniques, pourrait offrir un bénéfice clinique aux patients souffrant de fractures ouvertes des os longs administrée de manière préventive. A la concentration d'1,5 mg/ml, la rhBMP-2 a augmenté significativement la fréquence des consolidations et la vitesse du processus de guérison. La réduction du taux d'infection, l'accélération de la guérison de la plaie et la réduction de la douleur, pourraient être liées à l'augmentation de la vascularisation du nouvel os telle qu'elle a pu être observé dans des études pré-cliniques.

Par ailleurs cette étude apporte un éclairage nouveau sur les pratiques chirurgicales entre les différents pays en fonction des cultures (fermeture de la peau en urgence ou non : 22/78 %, alésage ou non 27/73 %) ; elle met en évidence que 46 % des fractures du groupe témoin ne sont pas consolidées à un an, et que 55 % ont dû être réopérées. Le tabac a une forte influence sur les résultats puisque 52 % des fumeurs ne sont pas consolidés à un an pour 39 % des non-fumeurs.

Une nouvelle étude est en cours pour évaluer l'apport de RhBMP-2 uniquement chez des fractures ouvertes avec alésage (Wyeth Research).

Conclusion : La rhBMP-2, 1,5 mg/ml, ajoutée au traitement standard a été la plus efficace dans le traitement des fractures ouvertes de la diaphyse tibiale, ajoutant au traitement standard :

- * Une réduction du nombre de réinterventions
- * Une réduction de la sévérité des interventions pratiquées,
- * Une accélération de la consolidation de la fracture et de la guérison de la plaie,
- * Une réduction des infections rapportées chez les patients avec des fractures sévères.
- * Dans le groupe, témoin, les fractures alésées, consolident plus rapidement, avec moins de reprises que les fractures non alésées (deux fois moins de réinterventions alésées/alésées) dans tous les groupes.
- * Chez le fumeur, le taux de non-consolidation et de réinterventions est normalisé par l'apport de RhBMP-2.

322 OP1 et pseudarthrose[15].

3221 Objectifs

Les retards de consolidation ou les pseudarthroses peuvent être dues à une anomalie ou à une insuffisance de sécrétion des BMPs ou de leurs récepteurs ou la combinaison des deux. Une étude clinique randomisée, prospective incluant 122 patient avec 124 pseudarthroses du tibia (63 RhBMP7 / 61 témoins) a été faite dans le but d'évaluer les effets de la BMP-7 ou OP-1, comparativement à ceux d'une greffe spongieuse autologue ; les dossiers ont été recueillis auprès de 17 centres aux USA pendant quatre ans à partir de 1992.

3222 Méthode

Toutes les pseudarthroses de l'étude étaient d'origine traumatique, anciennes d'au moins neuf mois avec une absence d'évolution radiologique depuis au moins trois mois. Tous les patients ont été randomisés pour recevoir soit un traitement standard avec réduction et fixation par un clou centro-médullaire et une autogreffe d'os autologue spongieux, soit une réduction et une fixation par un clou centro-médullaire et l'implantation de RhBMP-7. L'évolution a été contrôlée par un groupe de trois radiologues indépendants. ***

3223 Résultats

Le saignement post opératoire a été de rhBMP-7 : 254 cc /Autogreffe : 345cc.

A six mois 20 % des patient témoins prélevés présentaient des douleurs chronique de la crête iliaque.

A neuf mois de recul 81 % des patients traités par RhBMP-7 et 85 % de ceux traités par greffe autologue, étaient consolidés sur des critères cliniques ($p=0.524$). Si l'on s'en tient aux critères radiologiques 75 % des malades avec RhBMP-7 et 84 % des malades traités avec une greffe autologue étaient consolidés ($p=0.218$).

Le taux de récurrence infectieuse est bien plus fort pour la série témoin (rhBMP-7 03%/ Autogreffe 21 %).

3224 Discussion

Une critique pourrait être que la stabilisation par un clou centro-médullaire et l'alésage peuvent suffire à obtenir des résultats de ce type et que l'apport de RhBMP-7 ou d'une greffe autologue n'est qu'accessoire ! Il est à noter cependant que ces malades avaient déjà subi des interventions de ce type sans succès avant d'être inclus dans l'étude ; 54 % d'entre eux avaient déjà eu à un clou avec alésage dans le groupe avec RhBMP-7 et 44 % dans le groupe avec autogreffe ; une greffe autologue avait déjà été implantée chez 43 % des malades avec RhBMP-7 et chez 31 % des patients du groupe greffe autologue.

Les résultats avec autogreffe paraissent légèrement meilleurs dans le groupe greffe que ceux du groupe RhBMP-7. Cependant si deux groupes sont démographiquement et quantitativement comparables, il existe un biais dans la répartition des facteurs de risque en défaveur du groupe RhBMP-7 :* Pseudarthroses atrophiques rhBMP-7 : 41%/ Autogreffe : 25 %, Tabagisme rhBMP-7 : 74%/ Autogreffe : 57 %, fractures comminutives rhBMP-7 : 67%/ Autogreffe : 56 %, échec d'une autogreffe antérieure rhBMP-7 : 43%/ Autogreffe : 31 %, Echec d'un clou centromedullaire rhBMP-7 : 54%/ Autogreffe : 44 %.

L'expérience Française semble aller dans lesens de cette expérimentation : Ph. Laffargue et collaborateurs (Lille) rapporte, oralement au Congrès de la SOFCOT 2003, une

série, courte, mais significative de bons résultats alors que la plupart des cas présentaient des antécédents d'infection. (Figures 10-11)(tableau I).

Th. Bégué et A.C. Masquelet (Bobigny) renforcent le pouvoir inducteur de greffes corticospongieuses par adjonction d'OP1 pour combler une perte de substance osseuse après formation d'une membrane induite autour d'un espaceur en ciment (SOFCOT 2003).

3225 Conclusion

Cette étude a permis de mettre en évidence que non seulement l'apport de protéines inductrices permettait d'obtenir des résultats comparables à ceux obtenus avec une autogreffe spongieuse, mais qu'il existait également une nette diminution du risque de récurrence infectieuse et une élimination des complications propres liées au prélèvement de l'os spongieux au niveau de la crête iliaque.

C'est pourquoi la FDA a donné une autorisation d'utiliser ce produit « comme une alternative à l'autogreffe dans les pseudarthroses uniquement quand l'usage de celle-ci n'est plus possible et que tous les autres traitements ont été tentés ». (www.fda.gov/OHRMS/DOCKETS/98fr/03-7817.pdf).

323 RhBMP2 et nécrose [11, 12] .

Une étude intitulée « Traitement par forage et RhBMP-2 des ostéonécroses idiopathiques de la tête fémorale : étude randomisée, prospective chez l'homme » a été réalisée en 1994, communiquée, mais non publiée. Ont participé à cette étude des centres Français et Allemands (F. Bresler, D. Chauveaux, Ph. Chiron, B. Mazières, Ph. Hernigou, P. Laffargue, L. Jani, A. Karbowski, BD Katthagen, F.Kerchbaümer, HF Von Andrian-werburg, H.U. Weber) coordonnés par les Docteurs J.C.Becker, M.Beekman, et A. Valentin de genetic's Institute (Wyeth reasaech).

3231 Objectifs

Cette étude randomisée, en simple aveugle, contrôlée a pour but de comparer un lot témoin de malades adultes ayant une nécrose stade I et II d'Arlet et Ficat, traité par forage simple, avec un lot de malades bénéficiant d'un forage avec dépôt d'une dose faible de RhBMP-2 dont le support est un simple caillot sanguin autologue. Les malades sont suivis régulièrement avec un recul minimum de deux ans.

3232 Méthode

* *Série* : 43 patients ont été inclus dans l'étude, 4 femmes et 39 hommes, 24 avec injection de rh-BMP2 et 19 témoins avec forage simple. Les deux groupes étaient statistiquement comparables au plan démographique, âge et stades de nécrose; 15 cas dans le groupe rh-BMP2 et 7 dans le groupe contrôle ont été suivis pendant deux ans; dans chaque groupe 3 patients ont été perdus de vue; les autres ont dû interrompre l'étude pour progression de la maladie.

* *Sélection des malades* : Les malades sont sélectionnés sur des critères radiographiques et IRM. Seuls les malades ayant une nécrose typique confirmée à l'IRM, sans fracture de l'os sous chondral ni image « en coquille d'œuf » ont été sélectionnés. La classification de L'ARCO a été adoptée. Une tentative d'analyse du volume de la nécrose a été faite grâce à une reconstruction d'image IRM.

* *Dépôt de protéines ostéo-inductrices* : Avant le début de l'intervention, il est réalisé une prise de sang autologue et les protéines ostéo-inductrices sont préparées. Il s'agit d'un lyophilisat qui est réhydraté par du sérum dont la dilution dépend de la dose souhaitée. La dose injectée dans ce protocole est de 0,1 mg/l. La dose obtenue est mélangée avec le sang autologue et déposée dans une canule spéciale de 8 mm de diamètre sur 10 cm de long. Un coagulum se forme lentement en 30 minutes. Lorsque le coagulum est obtenu, la canule s'adapte sur un injecteur mis au point pour cette étude. Cet injecteur permet de déposer le coagulum sans pression au fond d'un canal de forage de 8mm.

* *Suivi clinique* : Les malades sont suivis sur des critères cliniques, radiologiques et IRM à 4,10,16 semaines puis tous les six mois pendant deux ans. Sur le plan clinique, l'indice de Harris a été utilisé pour évaluer l'intensité de la douleur, les radiographies comprennent des clichés de face, de profil et en flexion de 30°; l'IRM est réalisée avec des séquences spéciales, permettant d'analyser le volume de la nécrose et du forage. Toutes les IRM n'ont pas permis en raison de leur qualité une étude quantitative du volume de la nécrose ; 13 patients, 8rh BMP2 et 5 témoins ont pu être étudiés à ce point de vue. L'ensemble des traitements pré, postopératoires et pendant la période de deux ans a été enregistré.

3233 Résultats

* *Résultats sur le volume du forage* : le volume a diminué dans tous les deux groupes de 42,6 % pour le groupe rh-BMP2 et de 49,5 % dans le groupe contrôle soit une différence de 6,9 % en défaveur de la protéine. Le contenu du canal de forage est difficile à apprécier avec les données recueillies ; os ? Tissu fibreux ?

Résultats sur le volume de la nécrose : dans le groupe rh-BMP2 le volume de la nécrose a diminué en moyenne de 34 %, dans le groupe témoin, il a augmenté en moyenne de 28 % soit une différence de 62 % ; tous les cas avec protéine ont eu une diminution du volume, un seul témoin.

* *Progression du stade de la maladie* : Dans le groupe rh-BMP2 46 % des patients sont restés au même stade de classification deux ans après l'inclusion, dans le groupe témoin 26 %.

* *Taux de survie* : Dans le groupe rh-BMP2 25 % des malades ont eu besoin d'une arthroplastie totale de hanche, dans le groupe témoin 47,4 %. En fonction du volume initial de la nécrose : Nécrose d'un volume > 60% BMP 5/10 Témoins 3/6 ; nécrose d'un volume < 60 %, BMP 1/10, témoins 4/9. (Figure 12)

* *Complications* : Dans le groupe rh-BMP2, 7,4 % des patients ont eu une calcification ectopique, 2,5 % dans le groupe témoin.

* *Immunogénicité* : Le taux de patient présentant des Anticorps anticollagène est de 0,4%, et antiBMP2 est de 0,7 %.

3234 Discussion

Cette étude montre la faisabilité et la répétitivité d'une technique de forage avec apport de facteurs inducteurs. La réalisation d'une greffe de péroné vascularisée dont les résultats sont proches de cette étude est beaucoup plus complexe et demande une équipe spécialisée ; la réalisation d'une ostéotomie n'est pas toujours possible si l'on tient compte de la position de la nécrose et de son étendue, mais surtout elle modifie la forme de l'extrémité supérieure du fémur ce qui compromet ultérieurement une arthroplastie de première intention de bonne qualité avec une forme anatomique.

Cette technique par forage, protéines ne modifie pas les mobilités articulaires et ne ferme pas la porte à une arthroplastie ultérieure.

Elle paraît cependant améliorable ; la faible dose de protéines inductrices et l'absence de support sont a priori des éléments négatifs ! Une deuxième étude a été réalisée avec un nombre de cas identique et le même protocole ; la seule différence est que les protéines, à des doses plus fortes, sont supportées par une éponge collagène introduite au fond du canal forage. Les résultats de cette deuxième étude ne montrent pas de différence entre les témoins et le groupe Protéines ! Cependant cette deuxième étude a débuté en 1997 ; depuis des études chez l'animal ont montré qu'après introduction de protéines inductrices, il se produisait dans un premier temps une lyse osseuse suivie par la formation directe de tissu osseux sans passage par une étape cartilagineuse. Il est vraisemblable que, pendant la période de lyse, la tête fémorale soit fragilisée ce qui entraîne son affaissement. Il faudrait allonger de plusieurs mois la période de décharges et proposer traitement général par diphosphonates [28].

3235 Conclusion

Le forage avec adjonction de protéine ostéo-inductrice est certainement une technique d'avenir pour le traitement des nécroses de la tête fémorale. Elle a un excellent rapport-bénéfice risque. La technique est aisément répétitive. Son coût devrait rester faible par rapport à d'autres techniques nécessitant des temps d'hospitalisation longs ou du matériel implantable. Le support est dans ce cas particulier très important ; les conditions locales sont mauvaises avec absence de cellules progénitrices osseuses, dévascularisation ; il est possible que des techniques d'apport de protéines locales par injection de cellules progénitrices modifiées soient plus adaptées à cette pathologie.

324 RhBMP2 et arthrodèse rachidienne [8, 9].

3241 Objectifs

Une étude prospective randomisée en simple aveugle avec deux ans de recul dirigée par J.K. Burkus a permis de recueillir 179 dossiers avec une pathologie lombaire dégénérative nécessitant une arthrodèse. Le but de cette étude est de démontrer que les résultats sont comparables avec adjonction de RhBMP-2 (Infuse), à ceux obtenus par comblement avec une autogreffe d'os spongieux.

3242 Méthode

Dans tous les cas le rachis a « été abordé par voie antérieure, la discectomie la plus complète possible, avec ablation des cartilages et conservation de l'os du corps vertébral. Après alésage de 1.5mm, la cage est encastrée.

Deux groupes ont été tirés au sort ; dans les deux cas, il était réalisé une arthrodèse intercorporelle antérieure en utilisant des cages encastrées ; dans le groupe « RhBMP-2 » de 143 patients, il était mis en place une éponge de collagène résorbable imprégnée de rhBMP2 à une dose de 1,5 mg/ml et dans le groupe témoin de 136 patients, l'espace a été comblé avec de l'os spongieux prélevé sur la crête iliaque.

Des radiographies et des scanners ont permis d'évaluer la réalité de la fusion à 12 et 24 mois après la chirurgie. (Figure 13).

3243 Résultats

Le temps opératoire et les pertes sanguines sont inférieurs dans le groupe rhBMP2 (1.6 heure et 109.8 ml /2 heures et 153. 1 ml) ; le nombre de cas fusionné à vingt-quatre mois était supérieur dans le groupe rhBMP2 par rapport au groupe contrôle (94.5 % /88.7 %).Le retour à domicile est plus précoce pour le groupe RhBMP-2 d'un jour en moyenne ; la reprise du travail est plus précoce en moyenne de 54,5 jours dans le groupe RhBMP-2 ! (Figure 14)

Les douleurs résiduelles rachidiennes étaient identiques dans les deux groupes. Le groupe de contrôle a eu huit complications en rapport avec le prélèvement sur la crête iliaque. Même en l'absence de fusion, dans tous les cas il existait une néoformation osseuse dans les patients traités avec rhBMP2.

Des anticorps anti BMP ont été développés dans 0.7 % des cas du groupe BMP et 0.8 % du groupe autogreffe.

3244 Discussion

Le but de l'étude étant de prouver qu'un traitement par RhBMP2 n'était pas inférieur à un traitement par autogreffe, la probabilité est de 100 %. La supériorité de RhBMP-2 chiffrée en probabilité est de 92,2 %.

3245 Conclusion

Le système cage « vissée tronconique stand alone » éponge imprégnée de RhBMP-2 a été approuvé par la FDA en juillet 2002 dans les indications d'arthrodèse à un seul niveau par voie antérieure pour dégénérescence discale et spondylolisthésis grade I. par abord chirurgical ou par endoscopie.

4 Discussion

41 Efficacité

Ces résultats cliniques sont prometteurs et laissent espérer d'ores et déjà la possibilité d'utiliser les protéines ostéo inductrices soit pour traiter des cas rebelles, mais éventuellement et surtout pour les prévenir. Cependant il faut admettre que les résultats entre les études expérimentales chez l'animal et ceux obtenus chez l'homme sont quelque peu discordants voire décevants. En effet pratiquement l'ensemble des études animales montre l'apparition rapide d'une formation osseuse solide et Unitive !

* Chez l'animal, il existe un biais par excès dû au fait que les os des petits animaux consolident vite, que ceux du mouton et de la chèvre ont un fort pouvoir inducteur capable de ponter une perte de substance osseuse de 3cm sans facteurs inducteurs, enfin certains animaux jeunes ont été utilisés avec un fort pouvoir inducteur ; par ailleurs les chiens réagissent particulièrement à l'effet inducteur des BMPs [33].

*Chez l'homme l'effet n'est pas absolument répétitif, l'efficacité est variable, dans les meilleurs des cas, on obtient des résultats presque identiques à ceux obtenus avec une autogreffe spongieuse. Les raisons de la moindre efficacité chez l'homme sont multiples ; Utilisation d'un mauvais support qui ne concentre pas assez la protéine ou la délivre dans de mauvaises conditions pendant un temps trop court, au fait que l'on utilise une seule protéine pure alors qu'il faudrait en fait un cocktail de protéines [13], à la dose utilisée. Comme dans la nature il semble qu'il vaudrait mieux utiliser ces protéines combinées entre elles ; l'efficacité de la BMP2 mélangé à la six ou a la sept semble supérieure. Cependant l'état actuel des recherches et le coût élevé de ces produits rend impossible leur mélange en pratique clinique [5].

42 Indications

Actuellement et au vu de ces premiers résultats chez l'homme, il existe deux groupes d'indication :

* Tout d'abord l'utilisation de protéines inductrices a visé curative : par exemple obtenir la consolidation d'une pseudarthrose, la consolidation d'une arthrodèse intercorporéale. Dans ces indications, les protéines inductrices entrent en compétition avec l'utilisation de l'autogreffe. Les résultats sont superposables voire éventuellement meilleurs pour les arthrodèses intervertébrales. Il existe cependant une très forte différence de coût entre le prélèvement d'une autogreffe et l'achat de protéines inductrices pour un service à peu près identique. Il est tout à fait possible de prélever de petites ou de moyennes quantités d'autogreffe spongieuse par des techniques percutanées ne laissant aucune séquelle ; ces techniques simples et peu coûteuses entrent encore réellement en compétition avec l'utilisation de protéines inductrices recombinantes dont le prix reste très élevé.

* Ensuite l'utilisation de protéines inductrices à visée curative comme dans le cadre des fractures ouvertes. Il n'existe pas d'indication systématique d'apport d'os spongieux dans toutes les fractures ouvertes ; l'apport systématique de protéines inductrices améliore le taux et la vitesse de consolidation et le nombre de reprises. Dans cette indication, les protéides ostéo inductrices sont un apport original bénéfique. Là encore le coût de l'achat de ces protéines conditionne leur utilisation dans cette indication ; il est difficile de justifier pour l'instant de multiplier par trois voire plus le prix des dispositifs implantés lors d'une intervention de fracture ouverte dans le but de prévenir une complication possible ! Si le prix des protéines était accessible, elles pourraient être indiquées non seulement lorsque les conditions locales ne sont pas idéales, forces de cisaillement dans le foyer de fracture, mauvaise vascularisation, traumatisme des parties molles, perte de l'hématome périfracturaire, éventuellement infection, mais également lorsque des facteurs généraux liés au terrain limitent la capacité de l'os de se régénérer, prise de corticoïdes, d'anti-inflammatoires, mais également et surtout consommation excessive de tabac [17].

* Il existe des indications dans le cadre de la chirurgie maxillo faciale : reconstruction, augmentation du plancher des sinus, lyse osseuse péri-dentaire.

43 Risques et effets indésirables

L'analyse de l'ensemble des études réalisées chez l'animal et chez l'homme, révèle en fait un taux très faible d'effets indésirables et de complications liées directement à l'adjonction de protéines inductrices même à doses bien supérieures à celles proposées en clinique :

Des effets mineurs sont observés avec une fréquence faible : Maux de tête, carence en magnésium, augmentation de l'amylasémie, tachycardie, lyse osseuse en zones métaphysaires, calcifications ectopiques, formation d'anticorps anti BMP et anti-collagène, phénomènes inflammatoires cutanés locaux ou de la face. S'il existe des calcifications locales anormales, il n'a pas été observé de calcification à distance.

Les effets tératogènes chez l'homme ne sont pas connus ; il a été observé un épaississement des os chez le fœtus animal ; chez le rat aucune observation n'a montré d'effet

sur la croissance ou la fertilité. Il faut dans le doute éviter le dépôt de protéines inductrices chez la femme enceinte et prévoir une contraception pendant les six mois qui suivent.

Il n'existe pas de signes de transformation maligne locale ou générale, *in vitro*, *in vivo*, chez l'homme et chez l'animal. *In vitro*, les BMPs n'ont pas d'effet sur les cellules d'ostéosarcome, elles inhibent celles de tumeurs de la prostate, de la langue, des poumons et du sein.

Les contre-indications à l'utilisation des BMPs sont :

- Grossesse. Une contraception orale est à prévoir les six premiers mois du traitement .
- Antécédents connus de tumeur, bien que ce ne soit pas une contre indication formelle .

5 Voies de recherche.

51 Thérapie génique

Initialement, la thérapie génique pouvait se définir comme le traitement de maladies dues à une anomalie génétique, en introduisant des gènes normaux dans la cellule pour suppléer aux gènes défectueux. Actuellement la définition est étendue et l'on entend sous le terme de thérapie génique toutes les méthodes qui permettent de délivrer des protéines afin de faire exprimer à une cellule une sélection de protéines dont on attend un effet thérapeutique.

L'avantage de la thérapie génique est que les cellules peuvent sécréter une protéine spécifique pendant un temps assez long alors que les protéines simplement déposées par injection ou chirurgicalement sont rapidement dégradées. La thérapie génique aurait donc un intérêt particulier lorsque l'on veut sécréter pendant longtemps une protéine donnée.

La thérapie génique virale et non virale permet d'exprimer un gène pendant près de huit semaines ; Ce sont tout les méthodes virales qui sont les plus efficaces et permettent de cibler au mieux les cellules réceptrices.

L'ADN modifié peut être directement injecté localement ; une partie sera intégrée dans les cellules de manière plus ou moins ciblée.

Le fragment d'ADN qui permet de coder les BMPs peut être incorporé dans la cellule par l'intermédiaire d'un vecteur viral ; les plus fréquemment utilisés sont des rétrovirus, adénovirus, et des virus de herpes simplex. Ils ont cependant une action propre, immunogénique et cytotoxique dont il conviendra de bien analyser les conséquences.

Des cellules de la moelle osseuse peuvent être génétiquement modifiées *ex vivo* par des techniques de manipulation virale pour sécréter des quantités importantes de BMPs avant d'être réinjectées localement. Les résultats des premières expériences chez l'animal ne semblent pas montrer de différences significatives entre la délivrance locale de rhBMP2 par une éponge de collagène et par thérapie génique. Cependant le remodelage des cas traités par gènethérapie serait plus rapide [24]!

Dans le cas de l'appareil locomoteur la thérapie génique a déjà été tentée chez l'homme dans le cadre de la poly-arthrite rhumatoïde dans le but démontrer la faisabilité et l'absence de complications [6]. Une étude animale a permis d'obtenir la réparation d'une perte de substance cartilagineuse hyaline. (Mason 1998)

52 Concentrés de cellules autologues progénitrices

* Une technique pour favoriser l'ostéogénèse est l'isolement et la multiplication *ex vivo* de cellules souches mésenchymateuses prélevées sur le sujet lui-même . L'amplification

demande environs deux semaines avant la réinjection directe dans le site, avec éventuellement incorporation dans un support.

* GPS (Gravitation Platelet Separation) : Les plaquettes sanguines sont riches en facteurs de croissance (PDGF, TGF-B, VEGF, IGF...). Une fraction du plasma riche en plaquettes peut être extraite d'un prélèvement sanguin par des techniques de centrifugation. Ces techniques sont simples et peuvent être réalisées par le Chirurgien ou un membre de son équipe au bloc opératoire. Il est également possible par la même technique d'obtenir de la thrombine humaine autologue (Figure 15).Ce plasma riche en plaquettes permet de concentrer différents facteurs de croissance agissant à la fois sur l'ostéogénèse et sur la cicatrisation des tissus mous. Cette technique a été utilisée pour accélérer et améliorer la qualité de la consolidation d'auto-greffes osseuses, mais également d'allogreffes à qui les facteurs de croissance concentrés confèrent un pouvoir inducteur. Différentes études réalisées chez l'homme sur des pertes de substance osseuse du maxillaire et des arthrodèses vertébrales, semblent aller dans le sens de l'efficacité de ce type de produit. [25, 26]

53 Antagonistes des BMP.

Des antagonistes par compétition des BMPs ont été récemment mis en évidence [18, 19, 41]; leur découverte va permettre de mieux comprendre la chaîne de la consolidation osseuse, mais aussi permettre d'expliquer l'inefficacité des protéines ostéoinductrices dans certaines conditions. Sur le plan thérapeutique, ces inhibiteurs, produits par thérapie génique, devraient permettre de réguler certaines métastases condensantes, enthésopathies et maladies congénitales, telle la « fibrodysplasie ossifiante progressive » qui est liée à une surexpression de la BMP-4 par les lymphocytes et se caractérise par la formation spontanée d'os ectopique, voire la maladie de Forestier, l'hyperostose ou les paraostéarthropathies [18, 19, 41]. L'irradiation neutralise l'effet et la production des protéines inductrices même à faibles doses ce qui explique l'absence de réhabilitation à distance [39].

54 Injection percutanée.

Les techniques actuelles d'utilisation des BMPs visent essentiellement à reproduire à moindre risque les effets de techniques standard utilisant une autogreffe spongieuse. L'apparition de nouvelles méthodes d'utilisation avec de nouveaux supports, une injection percutanée, le mélange de différents facteurs de croissance en fonction des conditions locales ouvrent la porte à de nouvelles thérapeutiques dont il faudra démontrer l'efficacité et l'absence de risque avant de pouvoir les diffuser.

L'injection des protéines en percutané [14, 33] est une véritable avance qui simplifie réellement leur utilisation et élargit les domaines d'application (Figure 16). Il sera possible de réaliser des fusions vertébrales par des voies d'abord minimales, de faciliter la cicatrisation discale, de relancer précocement la consolidation d'une fracture qui consolide lentement, de traiter sans les réaborder des malades qui ont présenté dans leurs antécédents un phénomène infectieux, d'éviter l'abord de foyers de fractures complexes présentant des pertes de substance osseuse ou une forme favorisant les forces de cisaillement ; l'utilisation de ces produits en préventif serait envisageable chez les sujets à fort risque de fracture en cas d'ostéoporose. Bien que ces techniques soient percutanées, il faut qu'elle restent entre les mains de chirurgiens afin d'assurer une indication réfléchie et un mode de stabilisation satisfaisant. C'est encore une raison qui justifie que les chirurgiens s'intéressent à la biologie des fractures.

6 Conclusion

Il faut ouvrir les yeux sur le fait que les protéines ostéoinductrices existent et sont disponibles en pratique clinique ; très certainement elles feront bientôt partie de notre arsenal thérapeutique. Il faut que des études cliniques apprécient leur réelle efficacité et permettent de définir leurs indications idéales. Il convient de ne pas tomber dans un effet de mode qui après un engouement excessif pourrait conduire à leur abandon non justifié. Il faut surtout veiller à ce que leur utilisation même en percutané reste un geste chirurgical bien compris, réalisé de préférence par des chirurgiens !

7 Bibliographie