



TUNISIE ORTHOPÉDIQUE

Année 2018, Vol 9, N° 1

pp 73-78

Accès Libre sur / Free Access on

www.sotcot.com

Technique de prélèvement du concentré de moelle osseuse dans le traitement des pseudarthroses

Bouaziz W.*, K. Keskes*, W. Elbaya*, MA. Rebai*, A. Naceur*, M. Hammemi**, Z. Ellouz*, M. Zribi*, H. Keskes*

*Service de chirurgie orthopédique et traumatologique hôpital Habib BOURGUIBA Sfax

**Service de chirurgie orthopédique et traumatologique hôpital Tataouine

I. INTRODUCTION

La régénération tissulaire osseuse s'affirme comme un des plus importants défis auquel le chirurgien orthopédiste se trouve actuellement confronté.

La capacité de régénération du tissu osseux dépend de la présence de cellules osseuses, de facteurs de croissance et de molécules constituantes de la matrice osseuse. Parmi ces cellules osseuses, ce sont les ostéoblastes qui jouent un rôle déterminant dans l'ostéogénèse. Ils ont pour origine des cellules multipotentes appelées cellules stromales mésenchymateuses, ou Multipotent Mesenchymal Stroma Cell (MSC) (1), contenues dans le stroma médullaire et possédant elles-mêmes leurs propres capacités d'ostéo-induction (2). La greffe cortico-spongieuse autologue a été longtemps la seule solution proposée. Néanmoins, la morbidité spécifique liée au prélèvement du greffon a encouragé la recherche de solutions thérapeutiques plus conservatrices.

L'injection de moelle osseuse concentrée autologue (BMC : Bone Marrow Concentrate) semble constituer une bonne alternative thérapeutique. Elle s'accompagne d'une morbidité mineure, tout en conservant un certain nombre des propriétés ostéo-inductrices de la greffe cortico-spongieuse. Sa capacité à induire la formation de tissu osseux lorsqu'elle est implantée en site osseux, est connue depuis longtemps. Bien qu'elle ait pu être utilisée initialement sous forme non concentrée (3), il a été montré que ses capacités d'ostéoinduction sont dépendantes du nombre et de la concentration des MSC. Le BMC permet d'isoler la fraction des cellules nucléées - contenant les MSC - et d'éliminer le reste (4). Elle peut être réalisée en salle d'opération à l'aide d'un automate portatif.

Le BMC a été d'introduction récente dans le traitement des pseudarthroses diaphysaires et la technique commence à être codifiée à partir de plusieurs publications et surtout celle de Hernigou.

Le but de cet article est de détailler la technique de la réalisation de la concentration de la moelle osseuse dans toutes ces étapes de prélèvement, centrifugation, et injection en

site concerné tout en précisant ses indications. L'indication la plus concernée est celle de la pseudarthrose.

II. LES SITES DE PRÉLÈVEMENTS :

Le prélèvement de la moelle osseuse peut être fait à partir de différents sites, la crête iliaque, l'humérus, le calcanéum et l'extrémité supérieure du tibia. (Tableau I)

Selon Hyer (5), le prélèvement de la crête iliaque présente 3 avantages :

- Un nombre le plus important de CSM par volume prélevé.
- La Possibilité de récupérer un plus grand volume de moelle osseuse aspirée (BMA)
- Une accessibilité plus aisée : l'introduction du trocart est simple et ne requiert pas de repérage radiologique surtout si le prélèvement est postérieur.

La plupart des auteurs préconisent l'aile iliaque comme site de prélèvement préférentiel vu sa richesse en cellules mésenchymateuses (6,7). Hernigou a pu établir une cartographie avec sectorisation de la crête iliaque (Figure 1). Il a pu identifier les zones à haute concentration de la moelle et donc en cellules souches, et les risques techniques liés à l'introduction des trocarts lors du prélèvement.

Ce sont l'artère iliaque externe et le nerf fémoro cutané qui peuvent être touchés dans les secteurs 1 et 2. Dans les secteurs 5 et 6, ce sont le nerf sciatique et l'artère glutéale supérieure qui peuvent être lésés.

L'épaisseur de la crête la plus mince est dans la zone 4 et 5, limitant ainsi la profondeur que peut atteindre le trocart à 3 centimètres d'où un volume moindre de moelle retiré. Hernigou recommande d'éviter les secteurs 1, 4, et 5 lors du prélèvement de moelle osseuse.

Tableau I : nombre de CSM par site de prélèvement (5,8)

Site de prélèvement	Nombre de cellules souches mésenchymateuses
Humérus	883,9+/-557,6 cells/mL
Calcanéum	7,1+/-17,4 cells/mL
Métaphyse du Tibia	32,4+/-135,4 cells/mL
Crête iliaque	898,4+/-1431,5 cells/mL
Fémur	551,3+/-408,1 cells/mL



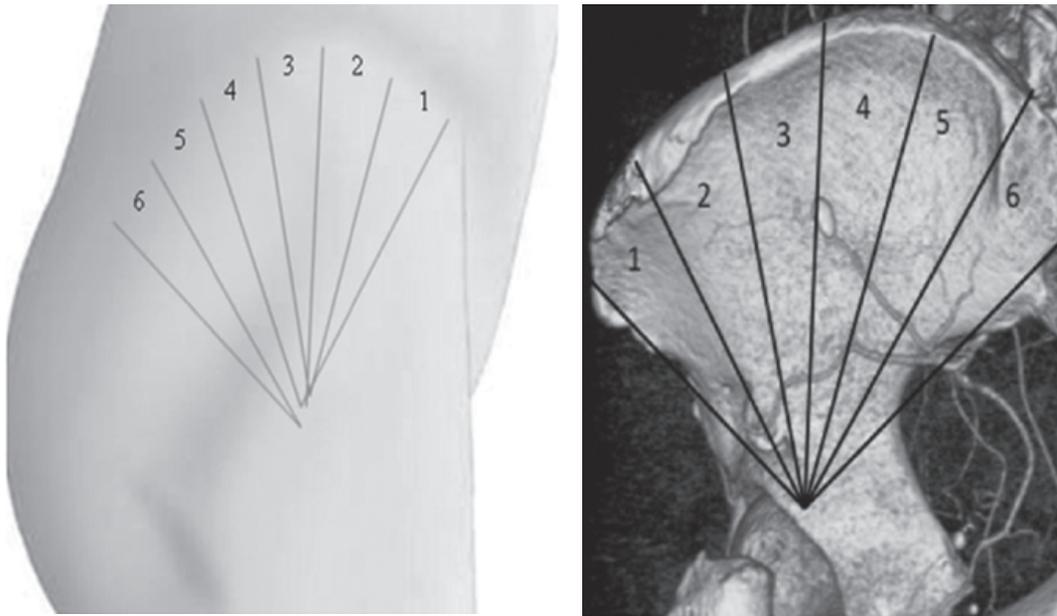


Figure 1 : Différents secteurs des sites de prélèvement de BMA au niveau de la crête iliaque (7)

La moelle est prélevée sous anesthésie générale, habituellement dans les crêtes iliaques antérieures si le malade est installé en décubitus dorsal.

Le site de prélèvement sera postérieur si le malade est installé en décubitus ventral.

Placer des trocarts dans le secteur le plus antérieur (secteur 1), doit être évitée autant que possible, car là, la diminution de l'épaisseur osseuse exacerbe le risque de l'atteinte du nerf fémoro-cutané latéral et l'artère iliaque externe (qui est relativement immobile dans cette zone et qui est proche de la colonne antérieure). La veine plus médiale présente un risque moindre d'être lésée.

L'introduction du trocart dans les secteurs 2 et 3 est fréquemment effectuée avec le patient en position décubitus dorsal. Si placé correctement, un grand volume de moelle osseuse y est accessible (6). Le Trocart peut être introduit à une profondeur de 10 cm. Contrairement aux secteurs antérieurs, la largeur osseuse dans les secteurs 5 à 6 permet de placer facilement les trocarts entre les tables de la crête iliaque postérieure (Figure 2). Cependant dans le secteur 6, le trocart peut atteindre le nerf sciatique et l'artère glutéale supérieure si introduit à une profondeur supérieure à 6 cm ou à un angle incorrect.

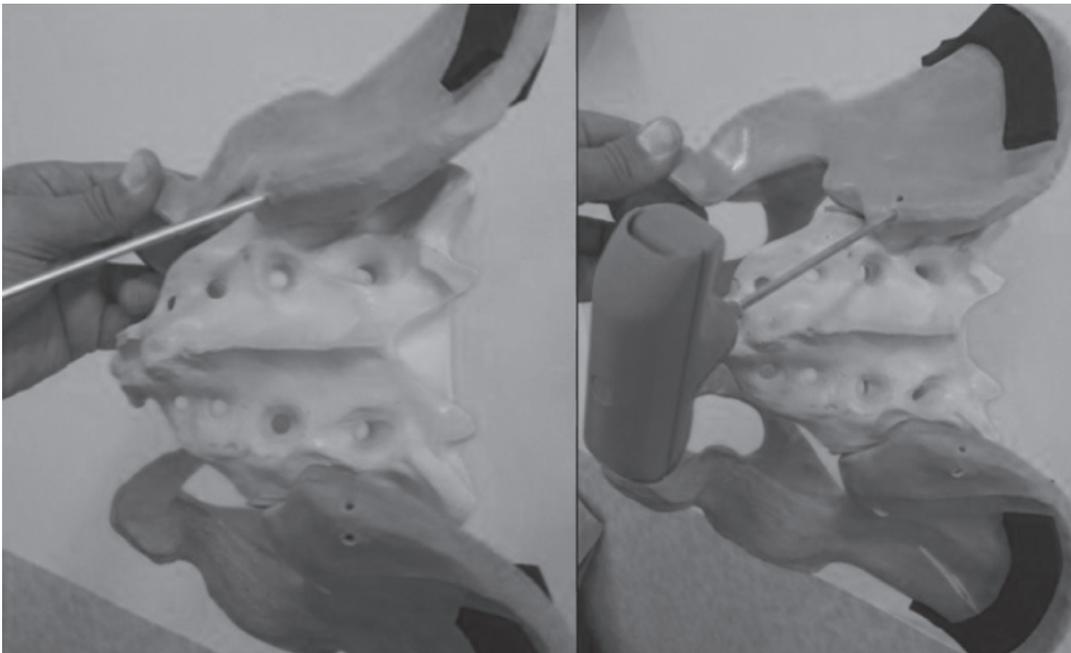


Figure 2 : Position et orientation du trocart lors du prélèvement du BMA au niveau de la crête.

III. MATÉRIELS UTILISÉS :

On vérifie au préalable notre panel d'instruments stériles (Figure 3) et nécessaires au prélèvement :

- Centrifugeuse (automate portatif)
- Trocart 11G pour prélèvement de (BMA) de longueur de 6 à 8 centimètres bisouté à un angle de 45°.
- Seringue de 60cc
- Six tubes secs sous vide de 10ml
- Une canule (couleur grise 16G)

- Une seringue de 20ml

- Citrate ou héparine



Figure 3 : Matériel utilisé pour le prélèvement de BMA

IV. L'ASPIRATION DE LA MOELLE OSSEUSE

On vérifie au préalable l'axe de la table orthopédique qui devrait être excentrique pour permettre à l'amplificateur de brillance de prendre facilement les images de toute la région à injecter. Sous anesthésie générale, le malade est installé en décubitus dorsal, ventral ou latéral (Figure 4).



Figure 4: Patient en décubitus latéral avant le prélèvement postérieur de la BMA

On enfonce le trocart droit devant au niveau de la crête iliaque sur une profondeur de 2cm (Figure 5). A l'aide de la seringue de 60cc rempli au préalable de 6cc de citrate (anticoagulants) et fixé au trocart, nous réalisons des mouvements d'aspiration de façon discontinue comme le préconise Hernigou pour obtenir la plus grande quantité de cellules souches mésenchymateuses (Figure 6). Au cours de cette aspiration, nous réalisons une agitation de la seringue pour empêcher toute agrégation plaquettaire et formation de caillot. La quantité de sang retirée est transférée sur 6 tubes secs de 10 cc chacun (Figure 7).

Il a été constaté qu'une concentration plus élevée de CSM est obtenue lorsque l'aspiration de moelle osseuse a été réalisée plutôt par une seringue de 10 ml que par une seringue de 60ml, mais aussi quand on aspirait que 10 à 20% de son volume total (9).

Ceci pourrait être expliqué par le fait que les CSM ont besoin d'une forte pression pour être prélevées et cette pression a tendance à diminuer au fur et à mesure que la seringue se remplit.

Il est à préciser qu'il faut un dispositif d'anticoagulants utilisé à toutes les étapes de recueil de la moelle. Dans ce cadre, les seringues de prélèvement contiennent une solution anti coagulante qui est le citrate, d'autres auteurs utilisent l'héparine (Hernigou). Mais actuellement l'anticoagulant le plus recommandé est l'ACD (Acid Citrate Dextrose).

Par conséquent, Il vaudrait mieux utiliser une seringue de petit volume pour le prélèvement de la moelle osseuse et ne pas la remplir totalement. Un grand volume d'aspiration contribuerait peu au nombre total de cellules souches et entraînerait même une dilution du prélèvement. A une profondeur donnée, au fur et à mesure des aspirations successives, le trocart est tournée de 45° entre chaque aspiration de façon à ce que le prélèvement intéresse l'espace le plus large possible (360°) en orientant le biseau de manière différente. Avec une seringue de 60 ml reliée au trocart déjà dans la crête, une aspiration par à-coup sera réalisée afin d'éviter la dilution du prélèvement par le sang comme déjà cité par Hernigou.



Figure 5 : Introduction du trocart droit devant au niveau de la crête postérieure



Figure 6 : Prélèvement de la moelle aspiré avant centrifugation



Figure 7 : transfert de la moelle aspiré dans les tubes sec sous vide

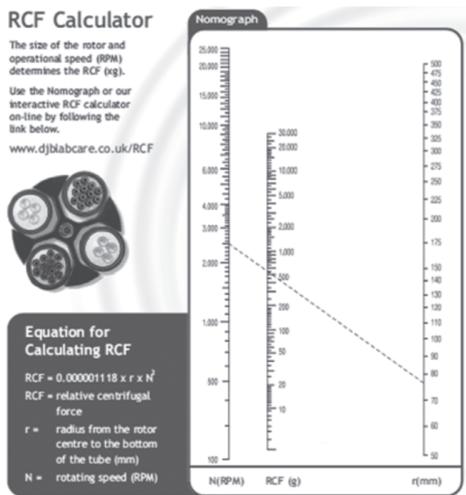
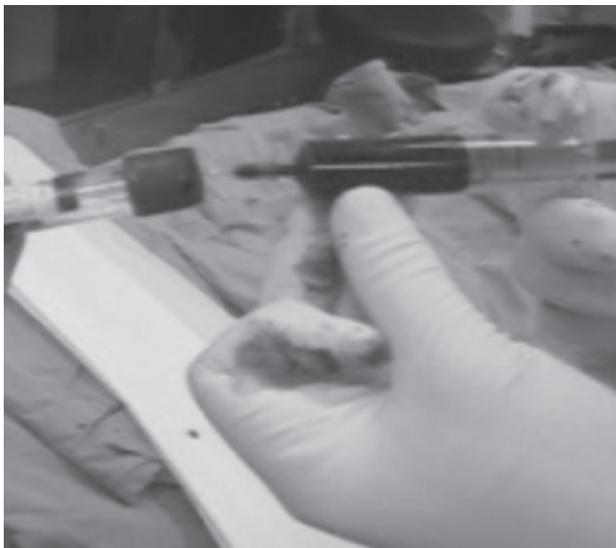


Figure 8 : RCF calculator



Figure 9 : Centrifugation des 6 tubes à 3200 tr/mn pendant 15minutes

A l'aide de la seringue de 20cc on retire 1 à 2ml de plasma riche en plaquette et de CSM au niveau de la couche surmontant immédiatement le sédiment globulaire. En effet la partie superficielle du plasma étant pauvre en plaquettes. On récupère ainsi 10cc de concentrés de moelle osseuse (BMC).

Après la centrifugation on obtient 3 couches superposées selon le poids des différents constituants (Figure 10). Le

plasma, plus léger, se retrouve tout en haut, les globules blancs incluant les cellules progénitrices (buffy coat) se place au milieu et les globules rouges restent en bas. Les plaquettes, eux, se retrouvent juste au-dessus des érythrocytes. Typiquement, Un chevauchement entre les globules blancs de plus grande densité et les globules rouges de faible densité est aperçu, empêchant la ségrégation "buffy-coat" – globules rouges.

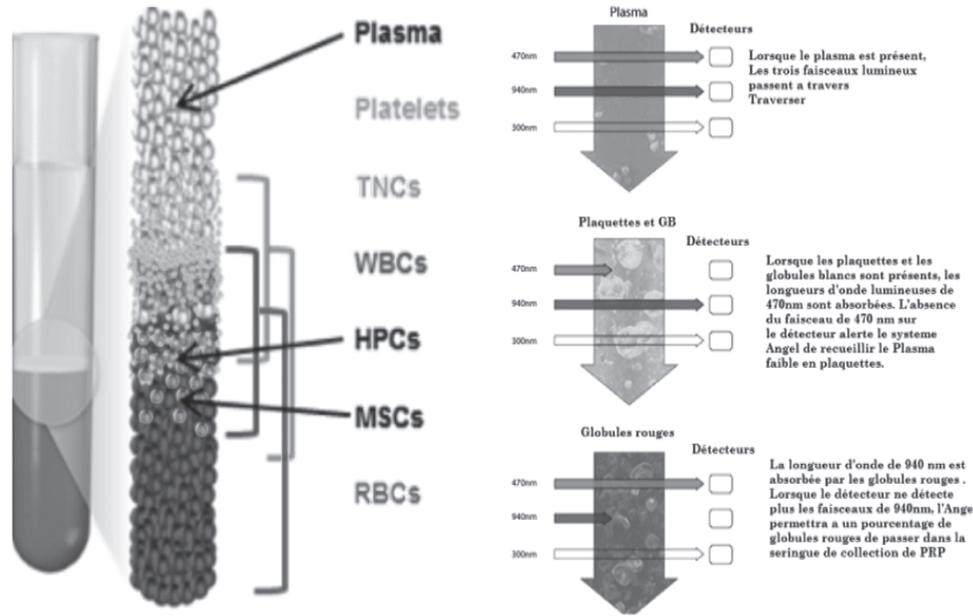


Figure10 : Séparation par onde spécifique de lumière des constituants du BMC

Nous pensons que certes en dehors de la couche de CSM, nous avons dans notre « buffy coat » une couche de concentré plaquettaire riche en facteurs de croissance ayant sûrement un effet bénéfique angiogénique (11,12). De Olivera (13) a fait une étude sur la différence entre simple centrifugation contre une double centrifugation de moelle aspirée associée à une greffe osseuse dans le plancher sinusal et les résultats des deux procédés sur la formation osseuse étaient semblables. Il conclut alors que le nombre de centrifugation n’influe pas beaucoup sur le nombre de cellules mésenchymateuses.

VI. PRÉPARATION ET INFILTRATION DU BMC

L’injection du BMC au niveau du site de pseudarthrose n’a pas été identifiée de façon explicite par la majorité des auteurs. Nous préconisons l’injection autour du foyer de pseudarthrose et en centromédullaire à travers le trait de fracture après repérage scopique (Figure 11). Une résistance pourrait être ressentie au cours de l’injection du BMC qui est liée très probablement à la fibrose interposée au niveau du site de pseudarthrose. Dans un but de limiter au mieux les biais liés aux manipulateurs pour l’extraction du “buffy coat”, plusieurs firmes ont proposé des kits pour rendre cette extraction fiable et reproductible.

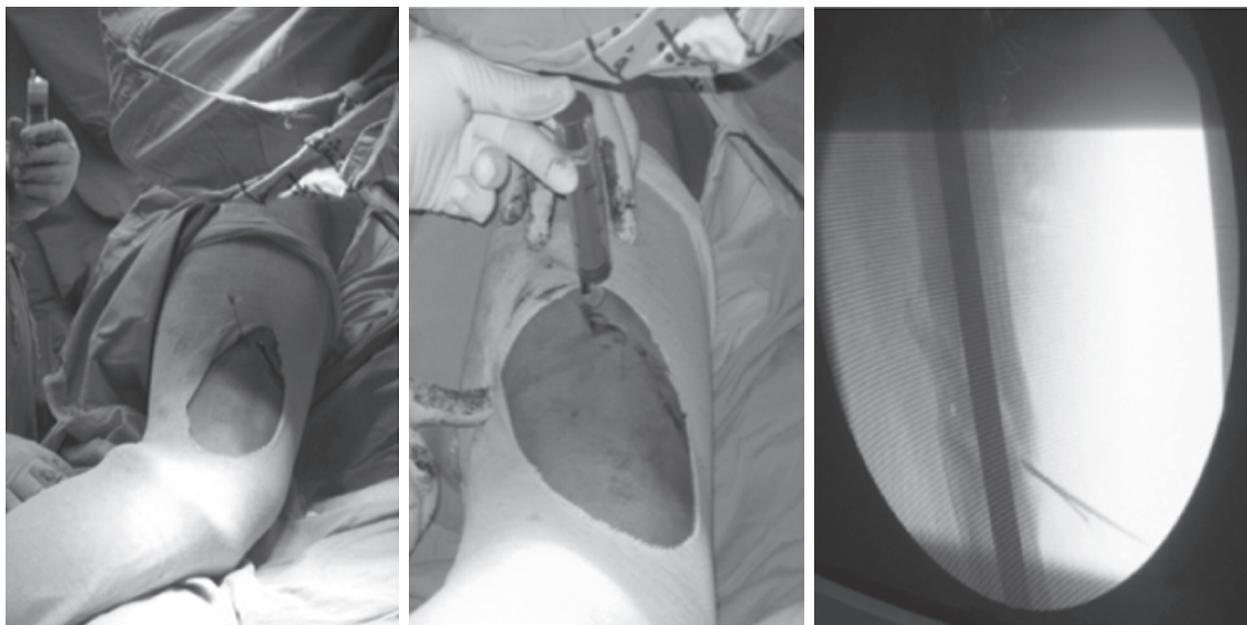


Figure 11 : Repérage de l’aiguille sous amplificateur de brillance et injection du BMC au niveau du foyer de pseudarthrose

VII. GESTES ASSOCIÉS

Les gestes associés de stabilisation du foyer de pseudarthrose reste une étape primordiale dans la réussite de ce procédé. Différentes synthèses internes ou externes sont utilisées en

fonction de l’état inflammatoire local et général du malade. Nous favoriserons les enclouages centromédullaire pour éviter les ouvertures du foyer de pseudarthrose.

Il est important à préciser que les complications au cours de l'anesthésie de ce type de chirurgie est rare en particulier aucune limitation de la saturation en oxygène ou aucune modification du pouls ou de la tension artérielle.

Les malades ont été mis sortant avec appui partiel sous traitement antalgique. La thromboprophylaxie n'a pas été nécessaire lorsque l'injection de concentré de moelle osseuse a été réalisée de façon isolée sans gestes associés.

VIII. INDICATIONS

Les concentrés de moelle osseuse (BMC) trouvent leur place dans plusieurs pathologies, à noter :

- Pseudarthroses
- Retard de consolidation
- Régénération du cartilage articulaire (14)
- Traitement de la nécrose avasculaire de la tête fémorale (15,16)
- BMC dans la rupture du tendon d'Achille(17)

IX. CONCLUSION

Parmi les mesures d'aide à la régénération tissulaire osseuse, l'injection de la moelle osseuse concentrée autologue constitue une alternative intéressante à la greffe cortico spongieuse. Il s'agit d'une technique réalisable en chirurgie ambulatoire, qui s'accompagne d'une morbidité négligeable et qui conserve un certain nombre de propriétés ostéo inductrices de la greffe. Son utilisation dans les retards de consolidation et les pseudarthroses donne des résultats encourageants. Même si de nombreuses questions théoriques et pratiques restent encore non résolues (nombre de cellules devant être injectées, concentration optimale, vitesse de consolidation obtenue après une telle thérapeutique), la moelle osseuse représente un outil thérapeutique d'avenir. Le prélèvement peut être renouvelé dans le temps (à 2 mois d'intervalle) puisque la moelle garde sa capacité de se régénérer.

X. BIBLIOGRAPHIES

- 1) Dominici M1, Le Blanc K, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini F, Krause D, Deans R, Keating A, Prockop Dj, Horwitz E. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*. 2006;8(4):315-7.
- 2) Quarto R, Mastrogiacomo M, Cancedda R, Kutepov SM, Mukhachev V, Lavroukov A, Kon E, Maracci M. Repair of large bone defects with the use of autologous bone marrow stromal cells. *N Engl J Med*. 2001 Feb 1;344(5):385-6.
- 3) TiedemConnolly JF, Guse R an J, Dehne R Autologous marrow injection as a substitute for operative grafting of tibial nonunions. *Clinical Orthopaedics and Related Research* [01 May 1991(266):259-270].
- 4) Connolly J1, Guse R, Lippiello L, Dehne R. Development of an osteogenic bone-marrow preparation. *J Bone Joint Surg Am*. 1989 Jun;71(5):684-91.
- 5) Hyer CF, Berlet GC, Bussewitz BW, Hankins T, Ziegler HL, Philbin TM. Quantitative Assessment of the Yield of Osteoblastic Connective Tissue Progenitors in Bone Marrow Aspirate from the Iliac Crest, Tibia, and Calcaneus. *J Bone Joint Surg Am*. 2013 Jul 17;95(14):1312.
- 6) Hernigou J, Alves A, Homma Y, Guissou I, Hernigou P. Anatomy of the ilium for bone marrow aspiration: map of sectors and implication for safe trocar placement. *International Orthopaedics*. 2014;38(12):2585-90.
- 7) Hernigou J, Picard L, Alves A, Silvera J, Homma Y, Hernigou P. Understanding bone safety zones during bone marrow aspiration from the iliac crest: the sector rule. *International Orthopaedics*. 2014;38(11):2377-84.
- 8) Beitzel K, McCarthy MBR, Cote MP, Durant TJS, Chowanec DM, Solovyova O, et al. Comparison of Mesenchymal Stem Cells (Osteoprogenitors)

Harvested From Proximal Humerus and Distal Femur During Arthroscopic Surgery. *Arthroscopy*. 29(2):301-8.

- 9) Hernigou P, Homma Y, Flouzat-Lachaniette CH, et al. Benefits of small volume and small syringe for bone marrow aspirations of mesenchymal stem cells. *Int Orthop*. 2013;37(11):2279-2287.
- 10) Hernigou P, Mathieu G, Poignard A, Manicom O, Beaujean F, Rouard H. Percutaneous Autologous Bone-Marrow Grafting for Nonunions. *J Bone Joint Surg Am*. 2006 Sep 1;88(1 suppl 2):322.
- 11) Cassano JM, Kennedy JG, Ross KA, Fraser EJ, Goodale MB, Fortier LA. Bone marrow concentrate and platelet-rich plasma differ in cell distribution and interleukin 1 receptor antagonist protein concentration. *Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy*. 2016;1-10.
- 12) Patricia Janicki a, Gerhard Schmidmaier What should be the characteristics of the ideal bone graft substitute? Combining scaffolds with growth factors and/or stem cells *Injury, Int. J. Care Injured* 42 (2011) S77-S81.
- 13) De Oliveira TA, Aloise AC, Orosz JE, de Mello e Oliveira R, de Carvalho P, Pelegrine AA. Double Centrifugation Versus Single Centrifugation of Bone Marrow Aspirate Concentrate in Sinus Floor Elevation: A Pilot Study. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*. 2016 Jan;31(1):216-22.
- 14) Gobbi A, Karnatzikos G, Scotti C, Mahajan V, Mazzucco L, Grigolo B. OneStep Cartilage Repair with Bone Marrow Aspirate Concentrated Cells and Collagen Matrix in Full-Thickness Knee Cartilage Lesions: Results at 2-Year Follow-up. *Cartilage*. 2011 Jul;2(3):286-99.
- 15) Hernigou P, Trousselier M, Roubineau F, Bouthors C, Chevallier N, Rouard H, et al. Stem Cell Therapy for the Treatment of Hip Osteonecrosis: A 30-Year Review of Progress. *Clinics in Orthopedic Surgery*. 2016 Mar;8(1):1-8.
- 16) Hernigou P, Flouzat-Lachaniette C-H, Delambre J, Poignard A, Allain J, Chevallier N, et al. Osteonecrosis repair with bone marrow cell therapies: State of the clinical art. *Bone*. 70:102-9.
- 17) Stein BE, Stroh DA, Schon LC. Outcomes of acute Achilles tendon rupture repair with bone marrow aspirate concentrate augmentation. *International Orthopaedics*. 2015;39(5):901-5.

