

# Réparation du cartilage articulaire par matériaux biologiques

Etude expérimentale sur le mouton

## Various biological tissues for cartilage's repair : experimental study on sheeps

L. Solchaga, F. Forriol, J. Canadell (Pampelone, Espagne)

Laboratoire de recherche, Département de chirurgie orthopédique de la Clinique Universitaire. Faculté de Médecine Université de Navarre.

### **ABSTRACT**

The purpose of this study was to assess the joint cartilage's capacity for repair and the potential of various biological tissues as replacements for damaged cartilage.

### **METHODS**

We operated 30.3 months old, lambs, creating a chondral lesion which was left untreated in group I and treated with a fresh chondral implant in group III, a frozen chondral implant in group IV, and a frozen periosteal implant in group V ; in group II the lesion extended as far as the subchondral bone.

The lesions were performed in the loading area of the medial condyle of the knee. Follow-up time was 6 months, and the results were assessed histologically.

### **RESULTS**

In the chondral lesions which remained untreated (group I), degeneration of the exposed layers occurred, and loss of both cartilage thickness and homogeneity of the matrix was noted. Where the lesion extended as far as the subchondral bone (group II), repair was found to have taken place with a fibrous tissue indistinguishable from cartilage. When cartilage was implanted (groups III and IV), the integration of the implant depended on whether there was any contact between the implant and the surrounding tissue.

### **DISCUSSION**

The integrity of the fresh implants was maintained better than that of the frozen ones, which were found to contain cells with a proliferative capacity. When periosteum was placed over the chondral lesion, we observed the formation of a very loose fibrous tissue in which the initial stages of differentiation could be appreciated in the deepest layers.

Tirés à part : F. FORRIOL, Dpt. Cirurgia ortopedica, PO BOX 192, E-31080, Pamplona, Espagne.

## **INTRODUCTION**

Le cartilage articulaire a de faibles capacités de régénération, et Mankin (13) a montré que celles-ci sont incapables de réparer une perte de substance. Cependant, lorsque la couche osseuse sous chondrale est également atteinte, De Palma et coll. (5), Salter et coll. (22) ont montré qu'un tissu fibreux, fibro-cartilagineux ou même du cartilage hyalin peuvent se former, comblant la perte de substance. Mais Coletti et coll. (3) ont mis en évidence que ces néo-tissus diffèrent du cartilage normal par leur composition et leurs propriétés mécaniques.

A la lumière de ces travaux il nous a paru nécessaire de chercher à mettre au point des techniques satisfaisantes de réparation des surfaces articulaires dans des lésions telles que la chondromalacie, l'ostéochondrite disséquante, les fractures ostéo-chondrales ou même certains stades initiaux de l'arthrose. Récemment, de nombreux travaux ont été publiés, utilisant soit chez l'animal soit chez l'homme des matériaux biologiques vivants ou non ainsi que des matériaux synthétiques allogreffes ostéochondrales [Aston et Bentley (1)] ménisque bovin fixé par le glutaraldéhyde [Heatley et Rewel (7)], collagène fixé par le glutaraldéhyde [Speer et coll. (25)], fibres de carbone [Minns et coll. (15)], périoste [O'Driscoll et coll. (19)], périchondre [Homminga et coll. (8)], membranes fœtales [Krishnan et Chen (12)]. Toutefois la variabilité des protocoles expérimentaux ne permet pas de comparer les résultats obtenus avec ces différents matériaux.

Le but de cette étude a été de mettre au point un modèle expérimental de lésion cartilagineuse permettant de tester sur le plan morphologique l'efficacité de techniques de réparation utilisant des matériaux biologiques d'usage courant.

## **MATÉRIEL ET MÉTHODES**

Les lésions cartilagineuses ont été créées dans la zone d'appui du condyle interne du genou. Nous avons utilisé 30 agneaux qui ont été divisés en 5 groupes de 6 animaux chacun.

Groupe I : les lésions de la surface articulaire créées étaient superficielles. Ce groupe a lui-même été divisé en deux sous-groupes, certains animaux ayant été sacrifiés à un mois et d'autres à six mois. Ce dernier sous-groupe a servi de contrôle permettant d'évaluer l'évolution d'une lésion articulaire non traitée.

Groupe II : les lésions de la surface articulaire créées étaient profondes, s'étendant jusqu'à l'os sous-chondral. Ce groupe a également été divisé en deux sous-groupes en fonction de la durée de l'évolution post-opératoire.

Groupe III : les pertes de substance créées au niveau de la surface articulaire ont été comblées par du cartilage frais prélevé pendant la même séance opératoire sur d'autres agneaux. Le greffon était suturé comme s'il s'agissait d'un bouton, ce qui l'empêchait de bouger et lui permettait de remplir le plus exactement possible la perte de substance. Nous avons cherché à éviter toute protrusion du greffon lui-même ou de ses bords afin de ne pas créer de contraintes excessives.

Groupe IV : les pertes de substance ont été comblées par du cartilage congelé prélevé sur d'autres agneaux et conservé en l'état pendant au moins un mois à  $-27^{\circ}\text{C}$ .

Groupe V : les pertes de substance ont été comblées par du périoste frais prélevé sur le tibia du même animal. Le greffon était placé de telle sorte que sa couche externe ou musculaire soit en contact avec le cartilage ; il était suturé à ses quatre points cardinaux. Les interventions ont été pratiquées sous anesthésie générale sans intubation trachéale utilisant du Pentotal sodique à 25 p. 100 (10-15 mg/kg), Fentanyl (0,0015/kg) et Diazepam (0,2 mg/kg), après une prémédication intramusculaire par atropine (0,5 mg/kg). Les animaux n'ont subi aucune restriction d'activité en post-opératoire. Ils ont été sacrifiés au 6<sup>e</sup> mois post opératoire par injection de 30 mg de thiobarbital. Les lésions ont toujours été créées en zone d'appui afin d'évaluer l'évolution du cartilage lésé dans l'endroit le moins propice à sa réparation. Les spécimens prélevés pour l'histologie étaient sectionnés à la scie diamantée (Exakt®), fixés dans le formol et décalcifiés dans une solution d'acide chlorhydrique et d'acide formique. Ils étaient ensuite deshydratés dans des solutions alcooliques de concentration croissante, passés dans une solution de xylol puis enrobés dans la paraffine à 60°C pendant 24 heures. Des coupes de 5 à 7 µm étaient effectuées puis colorées au trichrome Masson et à l'hématoxyline-éosine.

## RÉSULTATS

Groupe I (lésion cartilagineuse simple). A un mois, la lésion ne s'était pas réparée. De plus existait une dégénérescence des couches superficielles du cartilage qui avaient tendance à se détacher du reste du cartilage. Il existait aussi une certaine prolifération cellulaire (fig. 1a). Au recul de 6 mois il existait une plus grande dégénérescence avec diminution d'épaisseur et altération de la structure du cartilage. Les couches les plus superficielles avaient un aspect fibreux et la matrice des couches profondes avait perdu son homogénéité (fig. 1b).

Groupe II (lésion ostéo-chondrale). A un mois, la perte de substance était comblée par du tissu fibreux présentant un certain degré de différenciation. L'orientation des fibres les plus superficielles était parallèle à la surface articulaire. Ce n'était pas le cas dans les couches les plus profondes (fig. 2a). Aux limites de la lésion on notait la présence de groupes isogéniques de chondrocytes indiquant à ce niveau une activité proliférative. A ce recul plus important, le tissu de comblement prenait un aspect plus spécifique, bien que n'acquérant jamais la structure typique d'un cartilage articulaire ou sa composition (fig. 2b). Les couches périphériques paraissaient plus organisées et compactes que les couches centrales, moins bien organisées et plus lâches.

Groupe III (Greffes de cartilage frais). Dans quelques cas l'aspect histologique du greffon était identique à celui du cartilage voisin, et la structure du cartilage transplanté était préservée sur toute son épaisseur (fig. 3a). Là où le greffon était en contact avec le cartilage voisin, on notait des réactions prolifératives au niveau des chondrocytes qui formaient des groupes isogéniques. A certains endroits le contact entre le greffon et le cartilage intact n'était pas bon; dans ces cas, on notait une plus grande concentration de proteoglycans dans les zones de contact que dans les zones de non-contact (fig. 3b). Dans d'autres cas, certaines parties du greffon étaient conservées et d'autres avaient disparu. Dans les zones protégées par le greffon des couches de tissu cartilagineux immature étaient visibles (fig. 3c), et à proximité de ces zones existaient des fragments de greffon conservés, au sein desquels on observait de vastes lacunes multi-cellulaires témoins d'une intense activité proliférative de la part des cellules de la région (fig. 3d).

Groupe IV (Greffes de cartilage congelé). Les résultats de ce groupe sont similaires à ceux obtenus dans le groupe précédent, à la différence cependant d'une tendance dégénérative du greffon plus fréquente (fig. 4a). Dans les zones où le contact entre le greffon et le cartilage initial était bon, on observait une bonne intégration des deux tissus. Là où ils étaient jointifs, on pouvait observer comme dans les cas du groupe III des lacunes à la fois au niveau du cartilage initial et au niveau du greffon ce qui témoigne d'une certaine capacité proliférative des cellules du cartilage congelé (fig. 4b). Toutefois les zones de conservation médiocre du greffon étaient plus nombreuses; le greffon était très souvent séparé du cartilage sous-jacent. Sous le greffon on notait des réactions prolifératives au niveau des chondrocytes formant de vastes lacunes contenant de nombreuses cellules (fig. 4c). Dans un cas, le greffon était complètement dégénéré (fig. 4d).

Groupe V (Greffes de périoste frais). C'est dans ce groupe que les résultats ont été les plus homogènes. Dans tous les spécimens de ce groupe il était possible de distinguer trois zones au niveau de la lésion recouverte par le greffon périosté. Là où le greffon était resté bien appliqué sur la perte de substance initiale on notait une prolifération de tissu fibreux dans le périoste de telle sorte que la lésion initiale tendait à être comblée par du tissu fibreux lâche (fig. 5a). L'aspect des cellules était différent suivant leur localisation: plus elles étaient loin de la surface, plus elles ressemblaient à des chondrocytes (fig. 5b). Là où la lésion initiale n'avait pas été recouverte par le greffon on notait une absence des couches périphériques (superficielles et transitionnelles) du cartilage (fig. 5c). Là où le greffon avait formé des plis, la lésion était recouverte par différentes couches de périoste, mais sans aspect de prolifération cellulaire au niveau du greffon, malgré l'existence de lacunes multi-cellulaires aux limites de la lésion initiale analogues à celles décrites plus haut (fig. 5d).

## **DICUSSION**

Le cartilage articulaire dégénère lorsqu'il est lésé. Dans les premières phases de cette dégénérescence, le signe le plus évident est la fibrillation. Au recul de six mois, nos résultats sont analogues à ceux obtenus sur le lapin. Les couches les plus périphériques, dégénèrent complètement la matrice perd sa structure, son aspect est fibrillaire, et les cellules disparaissent. Ceci est en accord avec les travaux de Buckwalter et coll. (2), de Furukawa et coll. (6), de Meachim et Roberts (14).

Lorsque les perforations à la manière de Pridie (21) sont réalisées, ou lorsque l'os sous chondral est atteint, Insall (9) a montré que l'incorporation d'une population cellulaire au niveau de la lésion est possible. Mais bien que la structure de ce néo-tissu s'adapte aux conditions mécaniques, il ne sera jamais autre chose qu'un tissu fibreux spécialisé. A l'inverse de Mitchell et Shepard (16) et de Shapiro et coll. (24) nous n'avons jamais noté de cartilage venant combler la perte de substance.

En raison des médiocres résultats obtenus lors d'essais effectués pour améliorer la réparation des lésions cartilagineuses, de nouvelles recherches ont été entreprises ayant toutes un objectif en commun: engendrer une population cellulaire susceptible de coloniser la perte de substance et de se différencier sous forme de cartilage.

Aston et Bentley (1), Chesterman et Smith (4), Shahgaldi et coll. (23) ont tout naturellement essayé des greffes de cartilage. Les meilleurs résultats sont obtenus avec du cartilage frais. La

réparation peut être complète, mais le greffon ne s'incorpore bien que lorsqu'il a un bon contact avec la région receveuse. Dans quelques cas apparaissent des zones ayant l'aspect de cartilage jeune, non encore complètement différencié. Ces zones sont la conséquence de la protection mécanique procurée par le greffon. Les greffes de cartilage congelé ne s'incorporent pas aussi bien que les greffes de cartilage frais, bien que Shahgaldi et coll. (23) aient montré l'existence de zones cellulaires analogues à celles que nous avons décrites au paragraphe précédent. Des groupes isogéniques sont visibles dans le cartilage adjacent aux bords de la lésion. L'élément le plus surprenant est peut-être que ces groupes isogéniques puissent se rencontrer, au sein même du greffon ce qui tendrait à prouver l'existence de cellules vivantes bien que les greffons aient été congelés sans utiliser de cryo-préservateurs.

Korkala et Kuokkanen (10, I I), Moran et coll. (17), O'Driscoll et coll. (20) ont également travaillé sur les greffes de périoste. Dans nos propres cas nous avons observé d'une part que la perte de substance tend à être comblée par du tissu fibreux, et d'autre part que ce tissu change d'aspect dans les zones proches du cartilage receveur, ses cellules ayant alors un aspect très proche de celui des chondrocytes. Nous pensons que ces greffes de périoste doivent finir par dégénérer, mais si la différenciation des cellules des couches les plus profondes du greffon continue, il est possible qu'au moment où cette dégénérescence intervient un néo-cartilage se soit déjà formé au niveau de la lésion initiale.

## RÉSUMÉ

Le but de cette étude est d'évaluer les possibilités de réparation du cartilage articulaire ainsi que les possibilités d'utilisation de différents tissus biologiques en vue de remplacer des zones de cartilage détruites.

Nous avons créé des lésions cartilagineuses sur 30 agneaux âgés de trois mois. Elles sont restées non traitées dans le groupe I, et traitées par greffes de cartilage frais dans le groupe III, par greffes de cartilage congelé dans le groupe IV, par greffes de périoste congelé dans le groupe V. Dans le groupe II, la lésion cartilagineuse créée s'étendait jusqu'à l'os sous-chondral. Les lésions étaient créées dans la zone d'appui du condyle interne du genou. La durée d'observation a été de 6 mois et les résultats ont été vérifiés histologiquement.

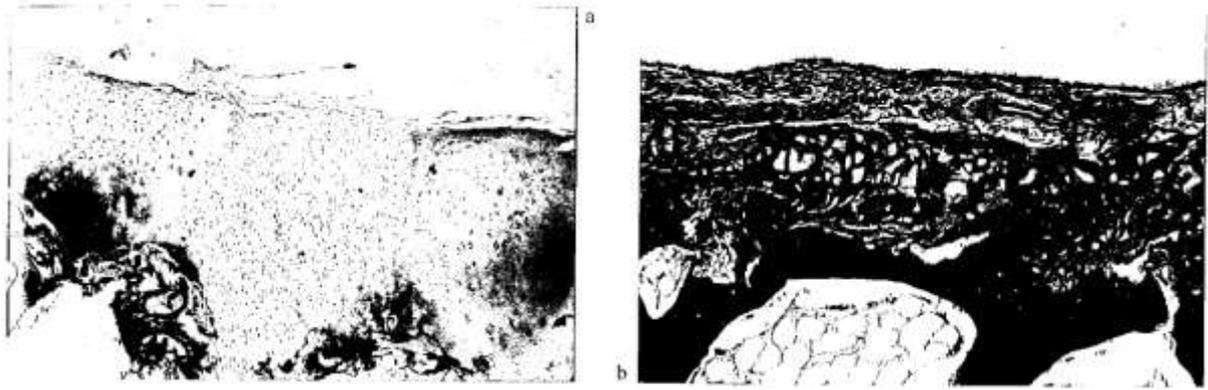
Dans le groupe I (lésions cartilagineuses non traitées) on a observé une dégénérescence des couches cartilagineuses mises à nu, ainsi qu'une diminution d'épaisseur et d'homogénéité de la matrice. Lorsque la lésion atteignait l'os sous-chondral (animaux du groupe II), la réparation se faisait par un tissu fibreux non distinguable du cartilage. Dans les greffes de cartilage (groupes III et IV), l'incorporation du greffon dépendait de la qualité de son contact avec les tissus environnants.

Les greffes de cartilage frais ont eu une survie meilleure que les greffes congelées. Celles-ci contenaient des cellules capables de se diviser. Après greffes périostées-nous avons observé la formation d'un tissu fibreux lâche au sein duquel on pouvait observer les étapes initiales de la différenciation au niveau des couches les plus profondes.

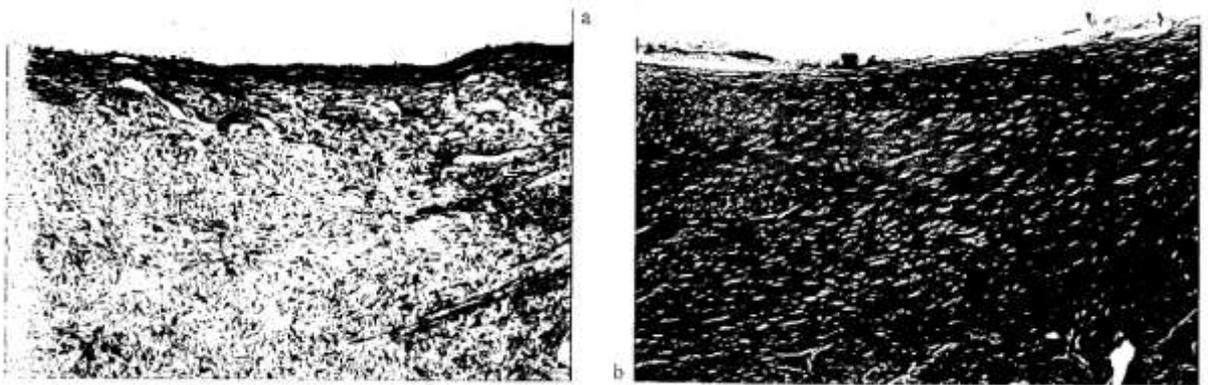
## RÉFÉRENCES

1. ASTON JE, BENTLEY G : Repair of articular surfaces by allografts of articular and growth-plate cartilage. *J Bone Joint Surg (Br)*, 1986, 68, 29-34.
2. BUCKWALTER JA, ROSENBERG LC, COUTTS R et coll. : Articular cartilage, injury and repair. In, Woo SL, Buckwalter JA, eds. *Injury and repair of the musculoskeletal soft tissues*. Park Ridge, AAOS, 1988, 465-482.
3. COLETTI JM, AKESON WH, WOOD SL-Y : A comparison of the physical behavior of normal articular cartilage and the arthroplasty surface. *J Bone Joint Surg (Am)*, 1972, 54, 147-160.
4. CHESTERMAN PJ, SMITH AU : Homotransplantation of articular cartilage and isolated chondrocytes, an experimental study in rabbits. *J Bone Joint Surg (Br)*, 1968, 50, 184-197.
5. DE PALMA AF, Mc KEEVER CD, SUBIN DK : Process of repair of articular cartilage demonstrated by histology and auto-radiography with tritiated thymidine. *Clin Orthop*, 1946, 48, 229-242.
6. FURUKAWA T, EYRE DR, KOIDE S et Coll. : Biochemical studies on repair cartilage resurfacing experimental defects in the rabbit knee. *J Bone Joint Surg (Am)*, 1980, 62, 7989.
7. HEATLEY FW, REVELL WJ. The use of meniscal fibrocartilage as a surface arthroplasty to effect the repair of osteochondral defects, an experimental study. *Biomaterials*, 1985, 6, 161-168.
8. HOMMINGA GN, VAN DER LINDEN TJ, TERWINDT-ROUWENHORST EAW et coll. : Repair of articular defects by perichondrial grafts. Experiments in the rabbits. *Acta Orthop Scand*, 1989, 60, 320-329.
9. INSALL J : The Pridie debridement operation for osteoarthritis of the knee. *Clin Orthop*, 1974, 101, 61-67.
10. KORKALA OL, KUOKKANEN H : Autogenous osteoperiosteal grafts in the reconstruction of full-thickness joint surface defects. *Int Orthop ( SICOT)*, 1991, 15, 233-237.
11. KORKALA OL : Periosteal primary resurfacing of joint surface defects of the patella due to injury. I injury, 1988, 19, 216-218.
12. KRISHNAN R, CHEN ZP : Biological resurfacing arthroplasty using fetal membranes, an experimental study in rabbits. *Orthopedics (Int Ed)*, 1994, 2, 285-295.
13. MANKIN HJ : Current concepts review. The response of articular cartilage to mechanical injury. *J Bone Joint Surg (Am)*, 1982, 64, 460-466.
14. MEACHIM G, ROBERTS C : Repair of the joint surface from subarticular tissue in the rabbit knee. *J. Anat*, 1971, 109, 317-327.
15. MINNS RJ, MUCKLE DS, BETTS JA : Biological resurfacing using carbon fiber. *Orthopaedics (Int Ed)*, 1993, 1, 414-424.
16. MITCHELL N, SHEPARD N : The resurfacing of adult rabbit articular cartilage by multiple perforations through the subchondral bone. *J Bone Joint Surg (Am)*, 1976, 58, 230-233.
17. MORAN ME, KIM HKW, SALTEE RB : Biological resurfacing of full-thickness defects in patellar articular cartilage of the rabbit. Investigation of autogenous periosteal grafts subjected to continuous passive motion. *J Bone Joint Surg (Br)*, 1992, 74, 659-667.
18. NIEDERMANN B, BOE S, LAURITZEN J et coll. : Glued periosteal grafts in the knee. *Acta Orthop Scand*, 1985, 56, 457-460.

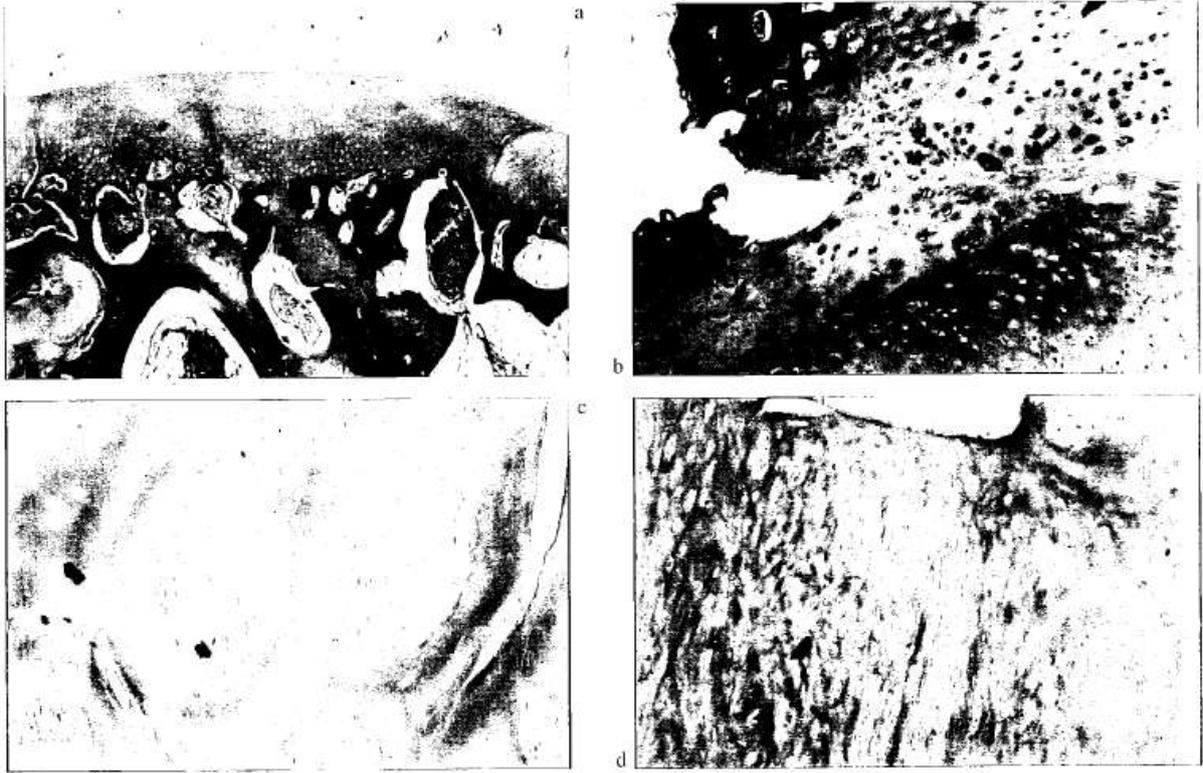
19. O'DRISCOLL SW, KEELEY FW, SALTEE TB : The chondrogenic potential of free autogenous periosteal grafts for biological resurfacing of major full-thickness defects in joint surfaces under the influence of continuous passive motion, an experimental study in rabbits. *J Bone Joint Surg (Am)*, 1986, 68, 1017-1035.
20. O'DRISCOLL SW, SAUERER RB : The repair of major osteochondral defects in joint surfaces by neochondrogenesis with autogenous osteoperiosteal grafts stimulated by continuous passive motion. An experimental investigation in the rabbit. *Clin Orthop*, 1986, 208, 131-140.
21. PRIDIE KH : A method of resurfacing osteoarthritic knee joints. *J Bone Joint Surg (Br)*, 1959, 41, 618-619.
22. SALTER RB, SIMMONDS DF, MALCOM BW et coll. : The biological effect of continuous passive motion on healing of full-thickness defects in articular cartilage, an experimental study in the rabbit. *J Bone Joint Surg (Am)*, 1980, 62, 1232-1251.
23. SHAHGALDI BF, Amis AA, HEATLEY FW et coll. : Repair of cartilage lesions using biological implants. A comparative histological and biomechanical study in goats. *J Bone Joint Surg (Br)*, 1991, 73, 57-64.
24. SHAPIRO F, KOIDE S, GLIMCHER MJ : Cell origin and differentiation in the repair of full-thickness defects of articular cartilage. *J Bone Joint Surg (Am)*, 1993, 75, 532-553.
25. SPEER DP, CHAVPIL M, VOLZ RG et coll. : Enhancement of healing in osteochondral defects by collagen sponge implants. *Clin Orthop*, 1979, 144, 326-335.



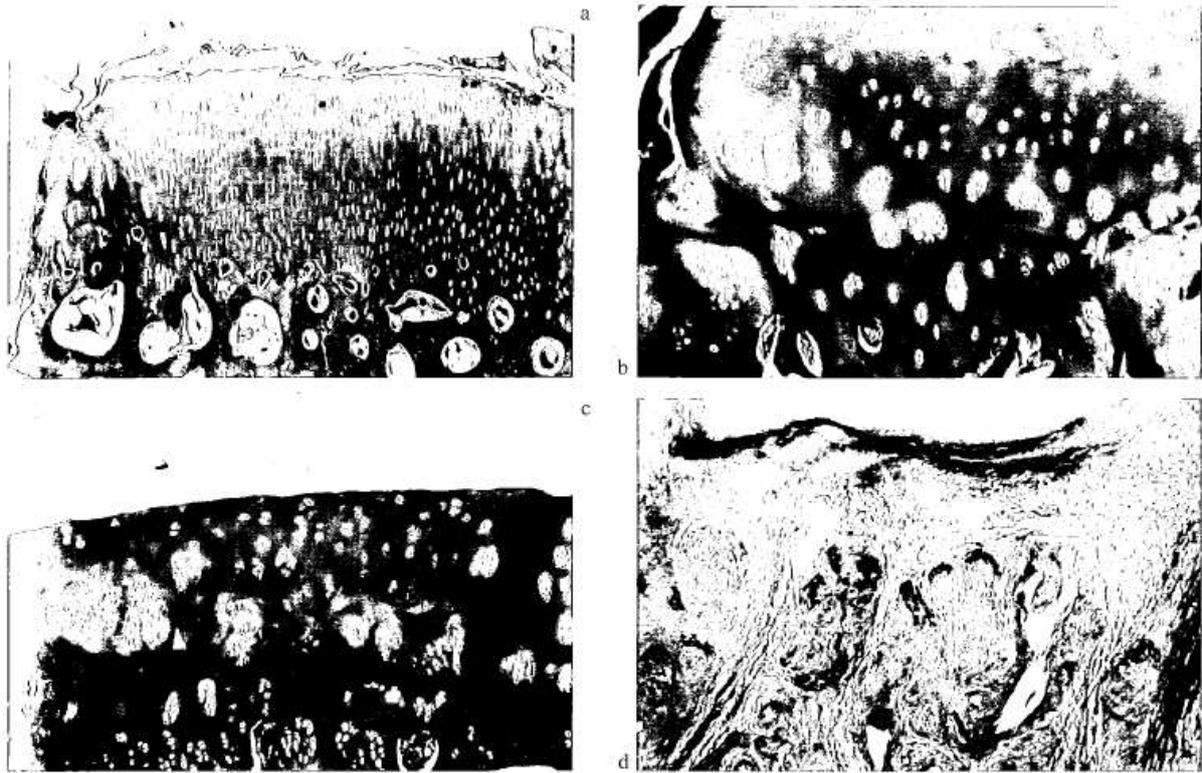
**Fig. 1. Groupe I.** a) Aspect de la lésion cartilagineuse à un mois (hématoxyline-éosine 40x).  
 b) Aspect de la lésion cartilagineuse à six mois (Trichrome Masson 100x).



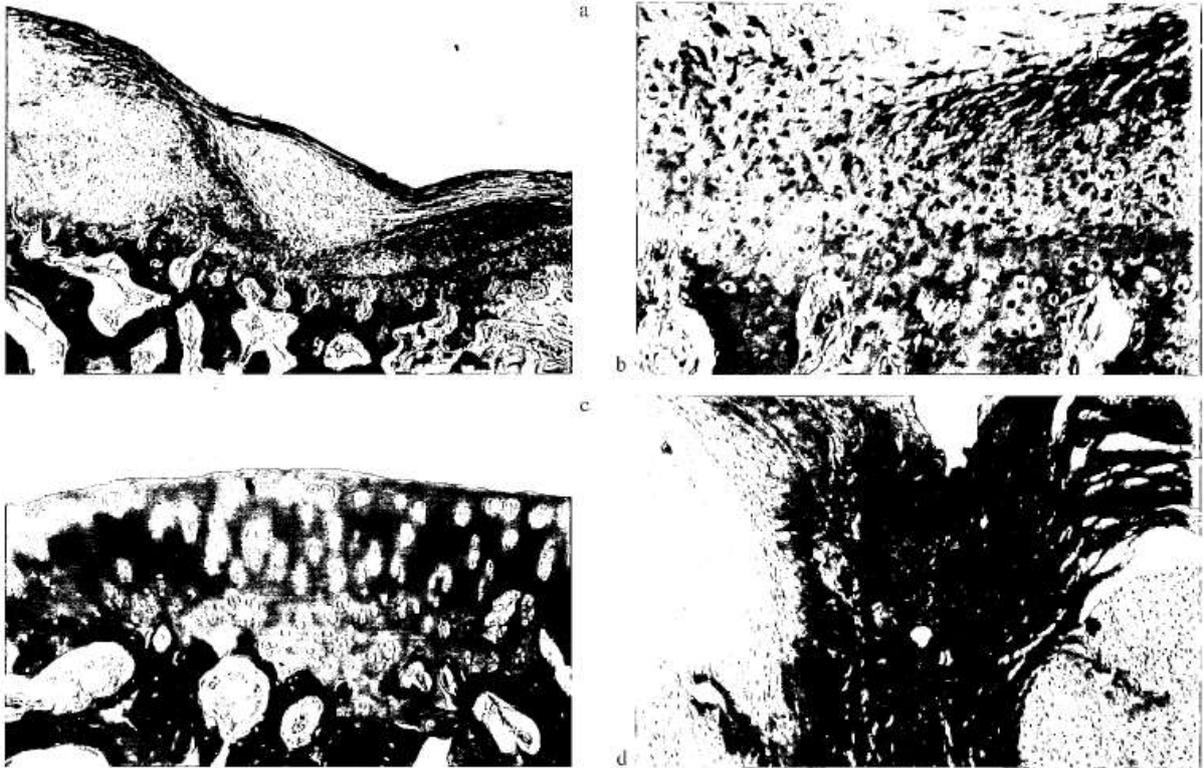
**Fig. 2. Groupe II.** a) Aspect de la lésion cartilagineuse à un mois (Trichrome Masson 100x).  
 b) Aspect de la lésion cartilagineuse à six mois (Trichrome Masson 100x).



**Fig. 3.** *Groupe III.* **a)** Aspect du greffon à 6 mois (Trichrome Masson 25x). **b)** Détail d'une zone de contact entre le greffon et le cartilage sous-jacent (hematoxyline-éosine 200x). **c)** Groupes isogéniques au niveau de la zone d'union entre greffon et cartilage initial (Trichrome Masson 200x). **d)** Zone de néo-cartilage au niveau de la lésion (Trichrome Masson 200x).



**Fig. 4. Groupe IV** a) Aspect du greffon à 6 mois : une dégénérescence des couches superficielles peut être notée (Trichrome Masson 40x). b) Détail d'une zone de contact entre le greffon et le cartilage initial (Trichrome Masson 200x). c) Groupes isogéniques au niveau du cartilage receveur (Trichrome Masson 100x). d) Dégénérescence complète du greffon avec comblement de la perte de substance par du tissu fibreux (Trichrome Masson 40x).



**Fig. 5. Groupe V** a) Aspect du greffon à 6 mois : on remarque le recouvrement par le périoste et le comblement de la lésion par du tissu fibreux (Trichrome Masson 40x). b) Détail d'une zone profonde de la lésion où on peut noter une prolifération et une différenciation des cellules du tissu de comblement (Trichrome Masson 200x). c) Groupes isogéniques au niveau du cartilage lésé, le recouvrement par le périoste a disparu (Trichrome Masson 100x). d) Zone où le greffon périosté s'est plissé (Trichrome Masson 100x).