

# UC Irvine

## UC Irvine Previously Published Works

### Title

La chondroplastie par injection : remodelage enzymatique des greffes de cartilage

### Permalink

<https://escholarship.org/uc/item/1364q127>

### Journal

Annales Francaises d'Oto-Rhino-Laryngologie et de Pathologie Cervico-Faciale, 134(4)

### ISSN

1879-7261

### Authors

Gandy, JR  
Foulad, A  
Chao, KK  
[et al.](#)

### Publication Date

2017-09-01

### DOI

10.1016/j.aforl.2017.01.001

### Copyright Information

This work is made available under the terms of a Creative Commons Attribution License, available at <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

Peer reviewed



Disponible en ligne sur  
**ScienceDirect**  
[www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com)

Elsevier Masson France  
**EM|consulte**  
[www.em-consulte.com](http://www.em-consulte.com)



Article original

# La chondroplastie par injection : remodelage enzymatique des greffes de cartilage<sup>☆</sup>



J.R. Gandy<sup>a,b</sup>, A. Foulad<sup>a,b</sup>, K.K. Chao<sup>b,c</sup>, B.J.F. Wong<sup>a,\*,b,d</sup>

<sup>a</sup> Division of Facial Plastic Surgery, Department of Otolaryngology – Head and Neck Surgery, University of California Irvine, 101, The City Drive, Orange, CA 92668, États-Unis

<sup>b</sup> Beckman Laser Institute and Medical Clinic, University of California Irvine, 1002, Health Sciences Road East, Irvine, CA 92612, États-Unis

<sup>c</sup> Department of Radiation Oncology, Epic Care, 400, Taylor Boulevard, Suite 102, Pleasant Hill, CA 94523, États-Unis

<sup>d</sup> Department of Biomedical Engineering, Samueli School of Engineering, University of California Irvine, Irvine, CA 92612, États-Unis

## INFO ARTICLE

### Mots clés :

Cartilage  
 Changement de forme  
 Digestion enzymatique  
 Greffon composite  
 Collagène

## RÉSUMÉ

**Objectif.** – Développer une technique d'injection d'enzymes assouplissant sélectivement le tissu cartilagineux pour le remodelage des structures cartilagineuses de la tête et du cou.

**Matériel et méthodes.** – À partir d'oreilles de lapin, deux groupes ont été formés : (1) le groupe « oreille de lapin entière » et (2) le groupe « greffon composite » (échantillons de 2,5 mm × 3,0 cm prélevés dans la région centrale du pavillon). Des injections séquentielles sous-périchondrales utilisant trois enzymes (hyaluronidase, pronase et collagénase de type II) ont été réalisées sur les échantillons de chaque groupe. Dans les échantillons témoins, une solution saline tamponnée au phosphate a été injectée de la même façon. Les oreilles entières ont ensuite été photographiées, maintenues en position anatomique verticale, pour évaluer leur déformation lors d'une compression afin de juger de l'intégrité du cartilage. De plus, une photographie à contre-jour a été réalisée pour tous les échantillons afin d'évaluer davantage les effets des enzymes, de manière à ce qu'une zone d'intensité lumineuse plus forte représente une augmentation du remodelage cartilagineux.

**Résultats.** – L'application des enzymes digestives a entraîné une réduction marquée de la résistance de la matrice des tissus cartilagineux, tout en préservant les couches superficielles sus-jacentes. Les pavillons entiers traités par les enzymes ont été remodelés au niveau du site d'injection des enzymes. Les images à contre-jour ont révélé une augmentation de l'intensité lumineuse locale dans les zones de digestion enzymatique. Il n'y a pas eu de destruction évidente de la peau sus-jacente lors de l'inspection visuelle.

**Conclusion.** – Cette étude démontre la faisabilité de la chondroplastie par injection comme une potentielle méthode alternative à la chirurgie conventionnelle pour le remodelage du cartilage auriculaire. Les injections séquentielles de hyaluronidase, de pronase et de collagénase de type II dans l'espace sous-périchondral peuvent être réalisées pour remodeler et assouplir les structures cartilagineuses avec une atteinte minimale des tissus environnants. Les études futures devront inclure des tests de viabilité des chondrocytes et l'optimisation des techniques d'injection.

© 2017 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

## 1. Introduction

De précédentes études observationnelles se sont intéressées aux oreilles décollées pour attirer l'attention, en particulier sur les patients trop jeunes pour bénéficier d'une chirurgie correctrice

esthétique immédiate [1]. Ainsi, l'objectif des chirurgiens à long terme est d'être capables de traiter certaines déformations cartilagineuses de la tête et du cou avec des techniques mini-invasives et d'offrir une correction esthétique auriculaire aux patients les plus jeunes sans risque surajouté de complications chirurgicales ou de séquelles à long terme [2]. Certains auteurs ont cherché à évaluer le modèle de l'otoplastie sans incision inventé par Metha et Gantous, et analysé les résultats postopératoires de la cure du prominauris [3]. Des études récentes ont enrichi ce modèle en utilisant de nouvelles méthodologies, des lasers et du remodelage électromécanique [2,4–9]. L'injection d'enzymes protéolytiques est une autre technique mini-invasive de remodelage cartilagineux mais son évaluation au niveau de la tête et du cou est limitée dans la littérature

DOI de l'article original : <http://dx.doi.org/10.1016/j.ano.2016.05.013>.

<sup>☆</sup> Ne pas utiliser pour citation la référence française de cet article mais celle de l'article original paru dans *European Annals of Otorhinolaryngology Head and Neck Diseases* en utilisant le DOI ci-dessus.

\* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : [bjwong@uci.edu](mailto:bjwong@uci.edu) (B.J.F. Wong).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.aforl.2017.01.001>

1879-7261/© 2017 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

actuelle. Dès 1956, Thomas a évalué l'utilisation de la papaïne brute par voie intraveineuse pour le remodelage des tissus cartilagineux in situ, mais cette technique a ensuite plus largement été utilisée pour le traitement des hernies des noyaux pulpeux, le débridement des plaies ou la contracture de la maladie de Dupuytren [10–15].

Cette présente étude méthodologique utilise une séquence de digestion de trois enzymes, hyaluronidase, pronase et collagénase de type II, afin de remodeler le cartilage auriculaire de lapins. Dans d'anciennes études réalisées par Wong, Chao et Kim, l'injection séquentielle de ces enzymes protéolytiques (hyaluronidase, pronase et collagénase de type II) a été effectuée dans le septum des lapins afin de développer une technique de décomposition et d'isolation du cartilage par cytométrie de flux [16]. Cependant, dans notre revue de la littérature, nous n'avons retrouvé aucune étude qui intégrait cette séquence enzymatique pour remodeler le cartilage. Le but de cette étude est donc d'évaluer une nouvelle méthode de digestion enzymatique du cartilage, dans le but de développer une technique non chirurgicale de remodelage du tissu cartilagineux in situ, appelé la chondroplastie par injection. En définitive, la dégradation enzymatique partielle et sélective du tissu cartilagineux pourrait entraîner une réduction à court terme de la résistance du cartilage, permettant de remodeler les structures de la tête et du cou sans avoir besoin d'incision chirurgicale.

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1. Préparation des tissus

Les crânes des lapins ont été obtenus à partir d'un abattoir local (B&B Rabbit Company, Fontana, CA) en accord avec les directives du comité et de l'institut de veille sanitaire d'Irvine. Les pavillons ont été sectionnés au niveau du méat acoustique externe et les poils ont été retirés en utilisant une lotion dépilatoire (Nair, Carter-Wallace, Inc., New York, NY). Deux groupes ont été formés : le premier groupe comprenait les oreilles de lapins entières et le second était composé d'un greffon composite mesurant 2,5 mm × 3,0 cm, prélevé au niveau de la partie centrale du pavillon. Les deux couches de peau entourant le cartilage ont été gardées intactes dans le groupe composite. Les échantillons ont été lavés deux fois avec une solution antibiotique composée d'une solution saline tamponnée au phosphate (PBS), de gentamycine (200 mg/L) et d'amphotéricine B (22,4 mg/L), pendant 20 minutes à 25 °C.

### 2.2. Injection des enzymes

Une séquence enzymatique de hyaluronidase (1 mg/mL) (Sigma Aldrich, St. Louis, MO), pronase (1 mg/mL) (Sigma Aldrich, St. Louis, MO) et collagénase de type II (1 mg/mL incluant FCS) (Worthington Biochemical Cooperation, Lakewood, NJ) a été utilisée. Les périodes d'incubation suivantes ont été utilisées pour chaque enzyme : une heure pour la hyaluronidase, puis quinze minutes pour la pronase et enfin quinze heures pour la collagénase de type II. Chacune de ces trois solutions enzymatiques a été injectée dans l'espace sous péricondral en utilisant une seringue à tuberculine, dans la même région tissulaire, afin de limiter, en terme d'espace, le processus de digestion à des régions discrètes et de minimiser la diffusion aux tissus mous dermiques et épidermiques adjacents.

Pour l'ensemble des échantillons de pavillons auriculaires, 4 bulles ont été créées en sous-péricondral le long de l'axe longitudinal de l'oreille (Fig. 1a). Dans les greffons composites, une seule bulle contenant les enzymes a été placée au centre de l'échantillon. Chaque bulle contenait 0,1 cc de solution enzymatique et a été injectée après la période d'incubation de l'enzyme précédente.

Pour les échantillons témoins, une solution saline tamponnée au phosphate a été injectée à la place de la solution enzymatique.

La méthode d'administration et les périodes d'incubation étaient identiques dans le groupe expérimental et dans le groupe témoin.

### 2.3. Incubation enzymatique après administration

Une fois les enzymes injectées, tous les échantillons ont été placés en incubation à 37 °C pendant 12 heures. Pendant l'incubation, chaque échantillon a été enveloppé dans une compresse chirurgicale imprégnée de PBS. Des oreilles intactes et des greffons non traités ont été utilisés comme témoins et incubés de la même façon pendant une période de 12 heures.

### 2.4. Photographie et analyse des données

Tous les échantillons ont été photographiés à l'aide d'un seul appareil photo réflexe numérique, avant et 12 heures après le traitement. L'intégrité structurale du cartilage a été déterminée en évaluant si les oreilles de lapin entières conservaient leur forme originale lorsqu'elles étaient positionnées verticalement. Les échantillons ont également été photographiés à contre-jour. Les régions les plus lumineuses localement correspondaient aux zones de remodelage enzymatique du cartilage.

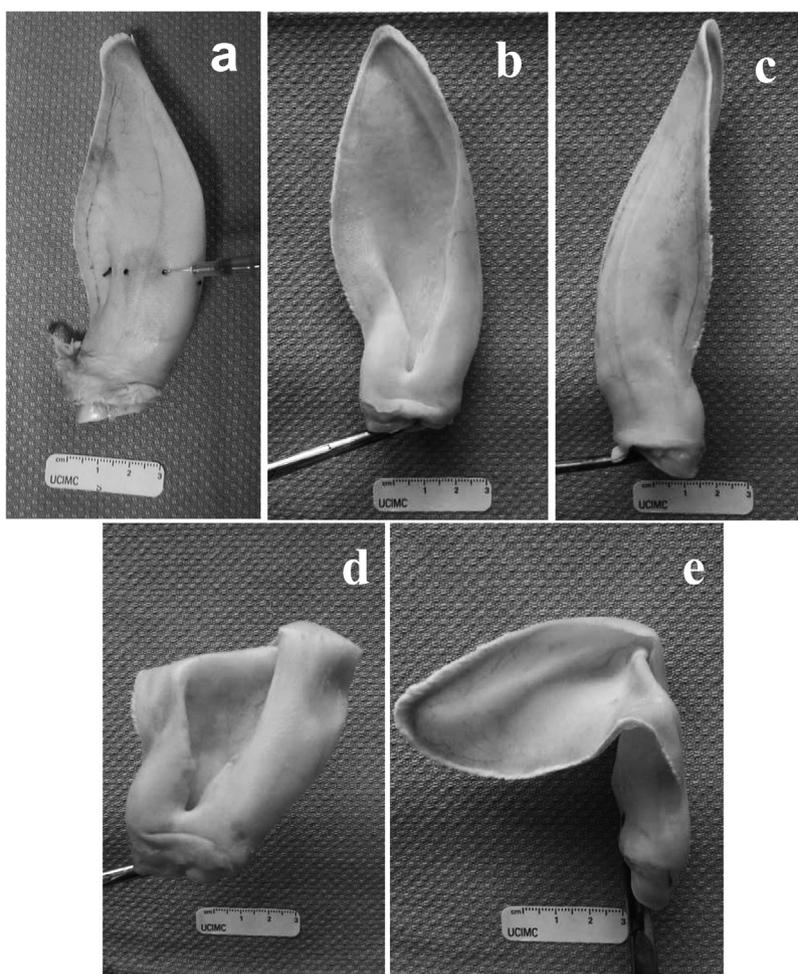
## 3. Résultats

Une fois placés en position verticale anatomique, tous les échantillons d'oreilles entières témoins ont maintenu leur position (Fig. 1b, c). À l'inverse des pavillons auriculaires traités enzymatiquement qui se sont courbés le long de l'axe d'injection des enzymes. Les tissus mous recouvrant le cartilage sont restés intacts à l'inspection et à la palpation, sans ulcération ou dégradation, dans tous les échantillons (Fig. 2a). Les photographies à contre-jour ont démontré une translucidité et une intensité lumineuse plus importante au niveau de la zone d'injection enzymatique dans tous les échantillons expérimentaux (Fig. 2b, c, d). Les échantillons témoins ayant reçu les injections de solution saline tamponnées au phosphate n'ont présenté aucun changement de forme.

## 4. Discussion

Le remodelage cartilagineux mini-invasif dans le traitement des déformations d'origine congénitale, oncologique ou post-traumatique a fait l'objet de nombreux travaux. Mehta et Gantous ont été les premiers à décrire cette école de pensée, qu'ils ont intitulée « l'otoplastie sans incision », utilisant la cure de prominauris [3]. Une étude plus récente, dirigée par Obadia et al., propose dans la procédure d'otoplastie dite de Jost, de fractionner le cartilage sans utiliser de points de suture [4]. L'utilisation de lasers a aussi montré des résultats prometteurs sur le remodelage cartilagineux mais pouvant conduire à des lésions cutanées sus-jacentes et elle nécessite un équipement coûteux [2,5–8]. Enfin, d'autres études menées par Yau et al. ont évalué le remodelage non chirurgical des pavillons auriculaires en utilisant un remodelage électromécanique in vivo à l'aiguille chez le lapin [9].

L'injection d'enzymes protéolytiques est une méthode mini-invasive destinée à modeler le cartilage au niveau de la tête et du cou. L'expérimentation initiale menée par Thomas a montré une fragilisation et une altération significatives des propriétés mécaniques des pavillons de lapins vivants, mais elle présentait des inconvénients tels que des modifications non sélectives dans tous les tissus cartilagineux, une réversibilité des effets tissulaires dans le temps et un profil d'innocuité inconnu en cas d'administration systémique de ces agents [10]. L'enthousiasme initial pour cette méthode de traitement enzymatique mini-invasive des hernies discales par voie percutanée a été tempéré par l'apparition de



**Fig. 1.** La solution enzymatique a été injectée dans l'espace sous-périchondral en utilisant une seringue à tuberculine (a). Deux vues (b, c) d'une oreille de lapin témoin non traitée en position verticale. Deux vues (d, e) d'une oreille de lapin traitée par la solution enzymatique en position verticale ; les oreilles se courbent au niveau du site d'injection des enzymes.

plusieurs cas d'anaphylaxie, potentiellement secondaires à l'utilisation d'extraits d'enzymes bruts [14,15]. Les enzymes protéolytiques ont été par la suite, plus largement acceptées dans le traitement des lésions cutanées et des ulcères non cicatrisants, le débridement par médiation enzymatique présentant des avantages par rapport aux techniques mécaniques plus invasives.

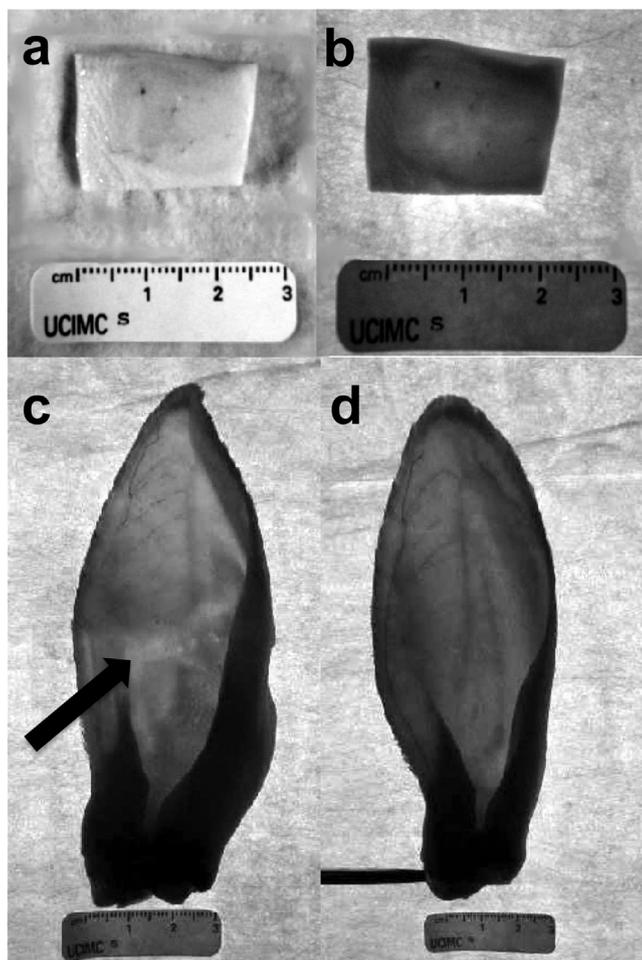
Récemment, l'utilisation du remodelage cartilagineux par digestion enzymatique et par injection directe, dans le domaine de la chirurgie de la tête et du cou, a suscité un nouvel intérêt. Mas-sengill et al. (2005) ont démontré l'efficacité de l'injection séparée d'enzymes bioactives, hyaluronidase et élastase, dans les tissus mous des oreilles pour corriger les déformations auriculaires chez le lapin [17]. Lorsque l'injection de ces deux agents a été associée à la mise en place d'une attelle, il a été démontré un changement significatif de forme par rapport au groupe témoin. Cependant, une réversion considérable du changement de forme a été observée deux semaines après le retrait de l'attelle, et d'importantes réactions au niveau des tissus mous ont été observées dans le groupe élastase. Des progrès récents au niveau des techniques enzymatiques ont motivé notre étude, consistant à déterminer si l'injection séquentielle d'une combinaison de certaines enzymes digestives pouvait donner de bons résultats au niveau du remodelage, sans effets indésirables.

Dans l'étude présente, la résistance du cartilage auriculaire de lapin a été diminuée en réalisant des injections séquentielles de hyaluronidase, pronase et collagénase de type II. Classiquement,

la séquence de ces trois enzymes a été utilisée pour digérer la matrice cartilagineuse et isoler les chondrocytes afin de les utiliser pour la culture cellulaire et l'expérimentation tissulaire [16,17]. Les enzymes agissent en dégradant les différentes macromolécules à l'intérieur de la matrice cartilagineuse, permettant ainsi à la structure cartilagineuse de devenir plus malléable et facilement manipulable. Le but ultime étant de coupler la fragilisation du cartilage par l'activité enzymatique, à la mise en place d'une attelle pendant une période de temps définie, afin d'obtenir un remodelage permanent.

La hyaluronidase est une enzyme qui cible sélectivement les glycosaminoglycanes à grande chaîne. La pronase est souvent utilisée pour la digestion matricielle mais présente un large spectre d'activité entraînant la digestion non spécifique des protéines. La collagénase de type II, extrait de la bactérie *Clostridium*, est hautement sélective pour la molécule de collagène de type II, qui fournit un support structural à la matrice du cartilage et maintient l'intégrité mécanique. Le collagène de type II est principalement retrouvé dans les tissus cartilagineux et est présent à faible concentration dans le derme et l'épiderme. La dégradation de quelques-unes de ces macromolécules spécifiques dans la matrice cartilagineuse modifierait l'intégrité et les propriétés de la structure cartilagineuse.

Le remodelage au niveau de la zone d'injection dans les échantillons d'oreilles entières a permis de démontrer la fragilisation de la structure cartilagineuse après la procédure de chondroplastie par



**Fig. 2.** L'inspection visuelle ne suggère aucune destruction des tissus mous entourant le cartilage (a). La photographie à contre-jour révèle une translucidité et une luminosité plus importantes au niveau des régions traitées pour le greffon composite (b). Cette luminosité accrue au niveau des sites d'injection est également retrouvée chez les échantillons d'oreilles entières (c) par rapport aux échantillons témoins (d).

injection. De plus, une intensité lumineuse et une translucidité plus importantes dans les régions traitées par les enzymes a suggéré une réduction de la matrice cartilagineuse. Bien que la matrice ait été affectée, les tissus mous recouvrant le cartilage sont restés intacts. De plus, les groupes témoins ayant reçu des injections de solution saline tamponnée au phosphate n'ont présenté aucun changement de forme, indiquant ainsi que l'hydrodissection isolée ne contribue pas au remodelage du cartilage auriculaire.

La chondroplastie par injection nécessite une optimisation significative des agents porteurs qui doivent être adaptés, des conditions enzymatiques et des mécanismes d'administration. Par exemple, le développement d'agents porteurs de viscosité plus élevée devrait permettre de réduire la diffusion périphérique des enzymes. De plus, la technique de chondroplastie par injection est potentiellement titrable dans la mesure où une série d'injections pourrait graduellement changer la forme des tissus au cours du temps jusqu'à ce que la nouvelle morphologie souhaitée soit obtenue. La durée de digestion et les concentrations enzymatiques optimales restent à déterminer, nos travaux ayant utilisé des paramètres habituels destinés à l'isolation des chondrocytes mais non spécifiques à la préservation des tissus mous. L'effet mécanique des enzymes sur le tissu dépend, en outre, du temps et de la neutralisation de l'activité enzymatique. Enfin, la mise en œuvre *in vivo* de cette technologie nécessitera de mettre en place une attelle externe pour soutenir la structure tissulaire. On s'attend à ce que les régions

de cartilage détruites subissent une régénérescence et atteignent une forme fixe comparable à celle de l'attelle.

Bien que de futures investigations soient nécessaires, cette étude a démontré la faisabilité d'une méthode d'administration transcutanée de solutions enzymatiques sous le périchondre pour remodeler le tissu cartilagineux sous-jacent. Cette recherche a donc fourni une base de travail sur la chondroplastie par injection pour de futures études, dans le but de développer des protocoles cliniquement plus pertinents concernant les techniques de remodelage du cartilage mini-invasives dans le domaine de la tête et du cou.

## 5. Conclusion

Cette étude méthodologique met l'accent sur le développement d'une technique mini-invasive d'altération de la structure cartilagineuse par administration percutanée séquentielle d'enzymes protéolytiques sélectives, en alternative aux techniques chirurgicales conventionnelles. Les solutions enzymatiques protéolytiques, incluant la hyaluronidase, la pronase et la collagénase de type II, peuvent être injectées directement dans l'espace sous-périchondral afin de remodeler la matrice cartilagineuse et de corriger des déformations cartilagineuses. Les futures investigations devront se concentrer sur l'optimisation de cette procédure en insistant particulièrement sur le développement d'agents porteurs des enzymes, sur la conception instrumentale et sur des études de viabilité afin de confirmer que les couches cutanées restent intactes. Les applications potentielles de la chondroplastie par injection dans la chirurgie de la tête et du cou pourraient intéresser les techniques de chirurgie esthétique, de reconstruction post-traumatique et de correction d'affections congénitales.

## Déclaration de liens d'intérêts

Les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts.

## Remerciements

Cette étude est soutenue par l'institut national de la santé et de la recherche médicale (DC 00170-01), le bureau de la Recherche navale, le bureau de la Recherche scientifique de l'armée de l'air, le département de l'Énergie et la Fondation Whitaker. Les auteurs souhaitent remercier le soutien de la Fondation Beckman et des partenaires des Sciences de la Vie de l'Université d'Irvine en Californie.

## Références

- [1] Litschel R, Majoor J, Tasman AJ. Effect of protruding ears on visual fixation time and perception of personality. *JAMA Facial Plast Surg* 2015;17:183–9.
- [2] Pawar SS, Koch CA, Murakami C. Treatment of prominent ears and otoplasty: a contemporary review. *JAMA Facial Plast Surg* 2015;17:449–54.
- [3] Mehta S, Gantous A. Incisionless otoplasty: a reliable and replicable technique for the correction of prominauris. *JAMA Facial Plast Surg* 2014;16:414–8.
- [4] Obadia D, Quilichini J, Hunsinger V, et al. Cartilage splitting without stitches: technique and outcomes. *JAMA Facial Plast Surg* 2013;15:428–33.
- [5] Sobol E, Sviridov A, Omel'chenko A, et al. Laser reshaping of cartilage. *Biotechnol Genet Eng Rev* 2000;17:553–78.
- [6] Wong BJ, Milner TE, Kim HH, et al. Stress relaxation of porcine septal cartilage during Nd:YAG ( $\lambda = 1,32 \mu\text{m}$ ) laser irradiation: mechanical, optical, and thermal responses. *J Biomed Opt* 1998;3:409–14.
- [7] Leclere FM, Petropoulos I, Buys B, et al. Laser assisted septal cartilage reshaping (LASCR): a prospective study in 12 patients. *Lasers Surg Med* 2010;42:693–8.
- [8] Leclere FM, Vogt PM, Casoli V, et al. Laser-assisted cartilage reshaping for protruding ears: a review of the clinical applications. *Laryngoscope* 2015;125:2067–71.
- [9] Yau AY, Manuel C, Hussain SF, et al. *In vivo* needle-based electromechanical reshaping of pinnae: New Zealand White rabbit model. *JAMA Facial Plast Surg* 2014;16:245–52.

- [10] Thomas L. Reversible collapse of rabbit ears after intravenous papain, and prevention of recovery by cortisone. *J Exp Med* 1956;104:245–52.
- [11] Smith L. Enzyme dissolution of the nucleus pulposus in humans. *JAMA* 1964;187:137–40.
- [12] Starkweather KD, Lattuga S, Hurst LC, et al. Collagenase in the treatment of Dupuytren's disease: an in vitro study. *J Hand Surg Am* 1996;21:490–5.
- [13] Mekkes JR, Zeegelaar JE, Westerhof W. Quantitative and objective evaluation of wound debriding properties of collagenase and fibrinolytic/deoxyribonuclease in a necrotic ulcer animal model. *Arch Dermatol Res* 1998;290:152–7.
- [14] Grammer LC, Schafer M, Bernstein D, et al. Prevention of chymopapain anaphylaxis by screening chemonucleolysis candidates with cutaneous chymopapain testing. A preliminary report. *Clin Orthop Relat Res* 1987:202–6.
- [15] Smith MB, Hofmann VC. Anaphylactoid reaction to chymopapain. *Anaesthesia* 1989;44:767–9.
- [16] Wong BJ, Chao KK, Kim HK, et al. The porcine and lagomorph septal cartilages: models for tissue engineering and morphologic cartilage research. *Am J Rhinol* 2001;15:109–16.
- [17] Massengill PL, Goco PE, Norlund LL, et al. Enzymatic recontouring of auricular cartilage in a rabbit model. *Arch Facial Plast Surg* 2005;7:104–10.