

CONDITII NECESARE PENTRU DEZVOLTAREA OSIFICĂRILOR HETEROTOPICE

NECESSARY CONDITIONS FOR HETEROTOPIC BONE FORMATION

*Prof. univ. dr. Iosif Şamotă¹, şef lucr. dr. Radu Dan Necula^{1,2},
dr. Florin Lucian Petrică Sabou²*

¹Facultatea de Medicină, Universitatea „Transilvania” din Braşov,

²Secţia Clinică Ortopedie, Spitalul Clinic Judeţean de Urgenţă Braşov

Autor corespondent: Prof. Dr. Iosif Şamotă. email:samota.iosif@gmail.com

Abstract:

Heterotopic ossification is defined as the presence of mature lamellar bone in soft tissues such as muscles, tendons, skin or organs, where bone normally doesn't exist. It can appear more frequent as a complication following central nervous system disorders like acute brain injuries, brain tumors or spinal cord injuries, or following burns, hip and elbow surgery.

For heterotopic bone formation some local and general specific conditions are necessary. The three main conditions are: presence of a morphogenetic induction agent, mesenchymal progenitor stem cells and a permissive local and general environment.

Key-words: heterotopic ossifications, BMP, mesenchymal stem cells

Introducere

Din punct de vedere fiziopatologic osificările heterotopice evoluează și se dezvoltă atât la nivel celular cât și la nivel molecular asemănător cu formarea calusului în cazul fracturilor. Singura diferență este aceea că acestea se dezvoltă în țesuturi fără structură osoasă. Anumite osificări heterotopice apărute în vecinătatea osului pot fi puse pe seama unor smulgeri, decolări periostice fine sau pe seama unor hematoame de vecinătate secundare sau nu fracturilor.

Diferența este făcută de osificările heterotopice apărute în plină masă musculară, la distanță de periostul intact, în organe parenchimatoase, cicatrici postoperatorii ceea ce dovedește diversitatea și complexitatea dar și independența fenomenului. [10]

Teoriile susțin că osificările heterotopice sunt rezultatul a diferențierii inadecvate a celulelor pluripotente mezenchimale în celule osteoblastice. Datorită studiilor efectuate de către Urist în 1965 care prin implantarea matricei osoase demineralizate în musculatura animalelor emite ipoteza cum că aceasta conține o proteină morfogenetică osoasă (BMP) responsabilă pentru stimularea transformării celulelor perivascularare mezenchimale în celule osteoblastice. [17] Chalmer continuă studiile cu matrice osoasă demineralizată constatând că implantarea acesteia în mușchi și fascie permite

în mod normal osteoinducția, în timp ce la implantarea în splină, ficat și rinichi osteoinducția este suprimată. [2]

În urma acestor două studii se poate concluziona că dezvoltarea osificărilor heterotopice necesită 3 condiții [10]:

- 1 – unul sau mai mulți agenți inductori morfogeneticii,
- 2 - o populație de celule mezenchimale osteoprogenitoare,
- 3 – un mediu local și sistemic permisiv, favorabil osteogenezei.

Echilibrul fin dintre factorii osteogenici și cei osteoinhibitori dar și acțiunea lor sistemică și locală favorizează apariția și dezvoltarea osificărilor heterotopice [16].

Bone-Morphogenetic-Proteins (BMP) - factori inductori morfogenetici

Proteinele morfogenetice osoase (BMP) formează un grup unic de proteine făcând parte din superfamilia de gene a Factorului de Creștere și Transformare Beta (Transforming Growth Factor beta - TGF-β). Pe lângă rolul osteoinductiv al BMP aceste proteine acționează ca reglatori multifuncționali ai proliferării, diferențierii și reparației celulare pe tot parcursul dezvoltării. [8]

Acțiunea lor are loc fie printr-un mecanism autocrin, fie paracrin, legându-se de receptorii celulari de suprafață dând startul unei

cascade de evenimente ce influențează diferite tipuri de celule. Diferențierea celulelor osteoprogenitoare mezenchimale dar și reglarea osteoblastică sunt procese coordonate și influențate de către citokine și factorii de creștere care sunt la rândul lor expresia controlului direct sau indirect al BMP ce acționează la nivel transcripțional. [14]

Datorită depozitării BMP în matricea osoasă aceasta permite implicarea lor în modelarea și remodelarea osoasă prin medierea cuplării osteoblastelor și osteoclastelor. [14]

Tipuri de BMP

Până în prezent se cunosc aproximativ 15 tipuri de BMP fiecare cu rol și acțiune specifică.

BMP 1 nu aparține familiei TGF β . Este o metaloprotează implicată în dezvoltarea cartilajului având și acțiune pe procologenul I,II și III. [15]

BMP 2 este responsabil pentru inducția osteogenezei și joacă un rol important în diferențierea osteoblastică, inducând acțiunea fosfatazei alcaline în celulele pluripotente. Implantată în zone extrascheletale induce formarea de os ectopic și cartilaj. [3; 6; 13]

BMP 3 induce osteogeneza și maturarea condrocitelor. [6]

BMP 4 reglează formarea dinților, membrilor și oaselor la nivel mezodermal. Induce ca și BMP 2 formarea de os ectopic. [6; 13]

BMP 5 are rol în dezvoltarea cartilajului. [13]

BMP 6 este implicată în menținerea integrității articulare la adult. Gena BMP 6 este localizată pe condrocitele hipertrofiate și în osteoblaști. [13]

BMP 7 are rol important în diferențierea osteoblastică dar și în dezvoltarea renală. Implantate în țesuturi moi induce formarea de os ectopic și cartilaj. [13]

BMP 8 are importanță în dezvoltarea osului și cartilajului, în dezvoltarea metabolismului osos în special în răspunsul la glucocorticoizi. [7]

BMP 9 implicată în dezvoltarea cardiacă și angiogeneză, aceasta circulând liber sub formă activă jucând probabil un rol important în controlul vasodilatației la adult. [4]

BMP 10 acționează ca supresor al celulelor tumorale în cancerul de sân, o scădere a expresiei BMP 10 reflectă un prognostic

nefast al bolii. [19]

BMP 14 are capacitatea de a induce osificări heterotopice in vivo comportându-se însă diferit in vitro. [8]

BMP 15 cu rol în dezvoltarea foliculară ovariană. [3]

Ca o concluzie BMP 2, 6, 7, 9 au cea mai mare activitate osteogenică atât in vivo cât și in vitro. Se pare că diferitele tipuri de BMP acționează distinct la diferite nivele în cadrul procesului osteogenezei.

O combinație și acțiunea mai multor BMP distincte este mai eficientă în procesul de osteogeneză decât acțiunea unei BMP separat. [8]

Alți agenți osteoinductori

Celulele mezenchimale osteoprogenitoare nu pot dezvolta singure osificări heterotopice. Pe lângă BMP sunt cunoscuți și alți agenți osteoinductori. Interleukina 1 β , hormonii de creștere, prolactina, factorul de creștere fibroblastică și factorul de creștere insulin-like tip I sunt implicați în procesul de geneză a osificărilor heterotopice. [11]

Prostaglandina E2 (PGE2) induce formarea de osificărilor heterotopice. Studiile arată că injectarea subcutanată la șobolani induce formarea de os lamelar periostal printr-un mecanism dependent de doză. [1]

S-a constatat că perfuzarea continuă a PGE2 pe cale arterială la copii determină formarea de os intramembranos, cu creștere periostală și hiperostoză corticală. O dată cu întreruperea perfuzării s-a constatat reversibilitatea țesutului primitiv indus. [3]

Constituent normal al osului, se pare că și hidroxilapatita are rol osteoinductor. Astfel prin izolarea hidroxilapatitei poroase prin conversie hidrotermică a carbonatului de Ca din exoscheletul coralilor (Clasa Goniopora) a fost implantată în musculatura dreptilor abdominali la iepurele adult, câini și babuini, recoltată la 90 de zile de la implantare pentru analiză.

Se pare că hidroxilapatita poroasă acționează ca o matrice solidă pentru absorbție, depozitare și eliberare controlată a proteinelor morfogenetice circulante sau produse in situ, care inițiază o osteogeneză locală.

Acest fapt a fost observat în special la mostrele recoltate de la babuini. [12]

Celulele mezenchimale osteoprogenitoare - osteogeneza heterotopică

Osteogeneza implică interacțiunii complexe a mai multor factori reglatori locali și sistemici.

Celulele mezenchimale osteoprogenitoare, respectiv celulele mezenchimale stem migrează la nivelul focarului fractural, ori acolo unde inducția are loc, iar prin procesul de atașare și agregare formează un țesut local reparator activ, care prin proliferare și diferențiere urmat de mineralizare, remodelare și formarea țesutului medular va da naștere la țesut osos neoformat. [14]

Experimental sa stabilit existența celulelor mezenchimale în mușchiul scheletic uman capabile de diferențiere în diferite fenotipuri mezodermale. [18]

Capacitatea unică a acestor celule permite diferențierea lor în mai multe tipuri celulare și anume osteoblaști, condrocite, adipocite, tenocite și celule neurale. [9]

Factori locali și sistemici ce favorizează geneza osificărilor heterotopice

Necesitatea unui echilibru între factorii sistemici dar și un mediu local propice sunt factori determinanți în inițierea și dezvoltarea osificării heterotopice. Hipoxia tisulară prin stază venoasă a fost observată în stadiile inițiale ale dezvoltării. Biopsii repetate ale pielii și țesutului moale din jurul osificărilor heterotopice la pacienții cu leziuni medulare au evidențiat alterări ale celulelor endoteliale și modificări ale membranei bazale ale capilarelor și vaselor mici ce determină alterări hipoxice în țesuturile moi paraarticulare determinând tulburări metabolice locale. Modificări ale activității sistemului nervos simpatic autonom prin modificări vasculare și metabolice joacă un rol important în mataplazia osificărilor heterotopice. [1; 11]

Prin efectul său angiogenetic, vasodilatator și stimulant al sintezei de collagen PGE2 contribuie intens la formarea osificărilor heterotopice. O creștere a excreției de PGE2 în urină este un indicator și un predictor bun al osificărilor heterotopice în stadii incipiente. Excreția de hidroxiprolină în urină precum și o creștere serică a creatin-kinazei au fost observate la pacienții cu osificări heterotopice secundare leziunilor medulare. [1; 11]

Nivele crescute de fosfatază alcalină au

fost constatate la pacienții cu osificări. Deși fosfataza alcalină reflectă activitatea osteoblastică, este greu de interpretat la pacienții cu osificări heterotopice cu fracturi concomitente sau cu boli hepatice, aceasta având valori crescute datorită celorlalte afecțiuni. Mai mult nivelele serice de fosfatază alcalină nu sunt crescute la copii ce dezvoltă osificări heterotopice. [1; 11]

Hipercalcemia, afecțiuni ale glandelor paratiroide cu tulburări secundare ale metabolismului hormonilor paratiroidieni, a calcitoninei și metabolismului fosfocalcic influențează la rândul lor formarea osificărilor heterotopice. [3]

Imobilizarea prelungită a pacienților influențează formarea osificării creând un mediu probabil favorabil osteogenezei acestora. Mobilizarea activă a pacienților după 5 săptămâni de imobilizare a arătat dezvoltarea lor dar cu o mai mică extindere. [1; 11]

Modificări ale pH-ului respectiv de la acid la alcalin determină modificări locale ce duc la precipitări ale fosfatului de Ca. Alcaloza respiratorie constatată la pacienții comatoși ventilați mecanic timp îndelungat joacă un rol în formarea osificărilor heterotopice. [5]

Concluzie

Formarea ectopică a osului este un mecanism complex, dependent de echilibrul și acțiunea mai multor factori. Principalele condiții pentru dezvoltarea lor sunt: prezența unui agent inductor morfogenetic, a celulelor morfogenetice osteoprogenitoare precum și un mediu local și sistemic permisiv.

Bibliografie

- [1] Bossche L. V. & Vanderstraeten G., Heterotopic ossification: a review. *J. Rehabil Med*, 2005; 37:129–136.
- [2] Chalmers J., Gray D. H. & Rush J. Observations on the induction of bone in soft tissues. *J Bone Joint Surg Br*, 1975; 57:36–45.
- [3] Cheng H. și alții. Osteogenic activity of the fourteen types of human bone morphogenetic proteins (BMPs). *J Bone Joint Surg Am*, 2003; 85-A(8):1544–5.
- [4] David L. și alții. Bone morphogenetic protein-9 is a circulating vascular quiescence factor. *Circ Res.*, 2008; 102(8):914-22.
- [5] Hewitt M. S., Garland D. E. & Ayyoub Z.

- Heterotopic ossification complicating prolonged intubation: case report and review of the literature. *J Spinal Cord Med*, 2002; 25:46-9.
- [6] Hiraki Y. și alții. Bone morphogenetic proteins (BMP-2 and BMP-3) promote growth and expression of the differentiated phenotype of rabbit chondrocytes and osteoblastic MC3T3-E1 cells in vitro. *J Bone Miner Res.*, 1991; 6(12):1373-85.
- [7] Kósa J. P. și alții. The protective role of bone morphogenetic protein-8 in the glucocorticoid-induced apoptosis on bone cells. *Bone*, 2011; 48(5):1052-7.
- [8] Luu H. H. și alții. Distinct roles of bone morphogenetic proteins in osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells. *Journal of Orthopaedic Research*, 2007; 25(5):665-677.
- [9] Minguell J. J., Erices, A. & Conget, P. Mesenchymal Stem Cells. *Exp Biol Med*, 2001; 226(6):507-520.
- [10] Panait G. Mineralizarea biologică și modelarea adaptativă biomecanică a oaselor. Osteoporoză. Editura Publistar. București. 2009.
- [11] Pape H. C. și alții. Current concepts in the development of heterotopic ossification. *The Journal of Bone and Joint Surgery*, 2004; 86-B(6):783-787.
- [12] Ripamonti U. Biomaterials. Osteoinduction in porous hydroxyapatite implanted in heterotopic sites of different animal models, 1996; 17(1):31-35.
- [13] Sato M. și alții. Mechanical Tension-Stress Induces Expression of Bone Morphogenetic Protein (BMP)-2 and BMP-4, but Not BMP-6, BMP-7, and GDF-5 mRNA, During Distraction Osteogenesis. *Journal of Bone and Mineral Research*, 1999; 14(7):1084-1095.
- [14] Sykaras N. & Opperman, A. L. Bone morphogenetic proteins (BMPs): how do they function and what can they offer the clinician?. *Journal of Oral Science*, 2003; 45(2):57-73.
- [15] Tabas J. A. și alții. Bone morphogenetic protein: chromosomal localization of human genes for BMP1, BMP2A, and BMP3. *Genomics*, 1991; 9(2):283-9.
- [16] Tracy A., Balboni, M. P. H., Reuben, G. & Harvey, J. M. Heterotopic ossification: pathophysiology, clinical features, and the role of radiotherapy for prophylaxis. *Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys.* 2006; 65(5):1289-1299.
- [17] Urist M. R. Bone: Formation by autoinduction. *Science*, 1965; 150:893-899.
- [18] Williams J. T., Southerland, S. S., Souza, J. & Calcutt, A. F., Cartledge R. G. Cells isolated from adult human skeletal muscle capable of differentiating into multiple mesodermal phenotypes. *The American Surgeon*, 1999; 65(1):22-26.
- [19] Ye L. și alții. Bone morphogenetic protein-10 (BMP-10) inhibits aggressiveness of breast cancer cells and correlates with poor prognosis in breast cancer. *Cancer Sci.* 2010; 101(10):2137-44.