



ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ  
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

---

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ  
«ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΤΩΝ ΟΣΤΩΝ»**

---

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΕΡΕΥΝΑΣ ΠΑΘΗΣΕΩΝ ΜΥΟΣΚΕΛΕΤΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ  
«Θ.ΓΑΡΟΦΑΛΙΔΗΣ»  
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΑΝ. ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΕΥΣΤΑΘΙΟΣ ΧΡΟΝΟΠΟΥΛΟΣ

**ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**  
**Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΤΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ**  
**ΣΤΗΝ ΠΩΡΩΣΗ ΤΩΝ ΚΑΤΑΓΜΑΤΩΝ**

**ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ Α. ΦΛΕΒΑΣ**  
*Ορθοπαιδικός Χειρουργός*

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ: ΟΜΟΤ. ΚΑΘ. ΓΕΩΡΓΙΟΣ Π. ΛΥΡΙΤΗΣ  
ΟΜΟΤΙΜΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΟΡΘΟΠΕΔΙΚΗΣ ΕΚΠΑ

ΑΘΗΝΑ 2021



NATIONAL AND KAPODISTRIAN  
UNIVERSITY OF ATHENS  
MEDICAL SCHOOL

---

**POST-GRADUATE PROGRAM  
METABOLIC BONE DISEASES**

---

LABORATORY FOR THE RESEARCH OF MUSCULOSKELETAL DISEASES  
"TH. GAROFALIDES"

DIRECTOR: ASSOC. PROFESSOR EFSTATHIOS CHRONOPOULOS

**MASTER THESIS**  
*IMMUNE SYSTEM AND FRACTURE HEALING*

**DIMITRIOS A. FLEVAS, MD**  
Orthopaedic Surgeon

Supervisor: Prof. Emeritus George P. Lyritis

ATHENS 2021

## **ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ**

### **ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ Α. ΦΛΕΒΑΣ**

#### **Ορθοπαιδικός Χειρουργός**

**Υποψήφιος Διδάκτωρ Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων**

#### **ΣΠΟΥΔΕΣ**

- 2015: Υποψήφιος Διδάκτωρ Σχολής Επιστημών Υγείας, Τμήμα Ιατρικής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.
- 2010: Αποφοίτηση από την Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων Βαθμός πτυχίου: «Λίαν Καλώς».
- 2003: Εισαγωγή στην Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.
- 2003: Αποφοίτηση από το 1ο Ενιαίο Λύκειο Χαλκίδας, βαθμός απολυτηρίου: «ΆΡΙΣΤΑ».

#### **ΣΤΡΑΤΙΩΤΙΚΗ ΘΗΤΕΙΑ**

21/01/2013 – 21/10/2013

Εκπλήρωση στρατιωτικής θητείας στο Στρατό Ξηράς.

#### **ΑΔΕΙΑ ΑΣΚΗΣΗΣ ΙΑΤΡΙΚΟΥ ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΟΣ**

- 15/03/2019: Λήψη τίτλου ειδικότητας Ορθοπαιδικής Χειρουργικής και Τραυματολογίας
- 29/03/2010: Χορήγηση άδειας άσκησης Ιατρικού επαγγέλματος για όλη την επικράτεια από τη Νομαρχιακή Αυτοδιοίκηση Ευβοίας. (Αριθ. Πρωτ. 3868)

#### **ΕΡΓΑΣΙΑΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ**

- 1/10/2019 - : Επιμελητής Ορθοπαιδικός Χειρουργός  
Metropolitan Hospital, Ν. Φάληρο, Ελλάδα
- 15/03/2019 – 15/09/2019: Ορθοπαιδικός Χειρουργός  
Α΄ Ορθοπαιδική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών  
ΑΤΤΙΚΟΝ Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο

## **ΕΙΔΙΚΕΥΣΗ**

- 01/09/2018 - 15/03/2019: Ειδικευόμενος Ιατρός Ορθοπαιδικής, Α΄Ορθοπαιδική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών  
ΑΤΤΙΚΟΝ Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο
- 01/11/2017 – 31/08/2018: Ειδικευόμενος Ιατρός Παιδοορθοπαιδικής Κλινικής Γενικού Νοσοκομείου Αττικής “ΚΑΤ”
- 01/05/2017 – 31/10/2017: Εκπαίδευση στο HKF International Center for Hip, Knee and Foot Surgery, Sports Traumatology  
ATOS Clinic Heidelberg  
Χαϊδελβέργη, Γερμανία
- 01/03/2017 – 30/04/2017: Ειδικευόμενος Ιατρός Παιδοορθοπαιδικής Κλινικής Γενικού Νοσοκομείου Αττικής “ΚΑΤ”
- 29/08/2016 – 28/02/2017: Ειδικευόμενος Ιατρός Κλινικής Άκρας Χειρός & Μικροχειρουργικής Γενικού Νοσοκομείου Αττικής “ΚΑΤ”
- 09/07/2014 – 28/08/2016: Ειδικευόμενος Ιατρός Ορθοπαιδικής, Α΄Ορθοπαιδική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών  
ΑΤΤΙΚΟΝ Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο
- 03/12/2013 – 04/7/2014 : Ειδικευόμενος Ιατρός Ορθοπαιδικής στην Ορθοπαιδική Κλινική του Γ.Ν. Άρτας
- 17/10/2011 – 17/10/2012: Ειδικευόμενος Ιατρός Γενικής Χειρουργικής στη Χειρουργική Κλινική του Γ.Ν. Πρέβεζας

## **ΜΕΛΟΣ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΩΝ ΕΤΑΙΡΕΙΩΝ**

- Μέλος της Αρθροσκοπικής Εταιρείας Βορείου Αμερικής (AANA) (2019)
- Μέλος της Ελληνικής Εταιρείας Χειρουργικής Ορθοπαιδικής και Τραυματολογίας (2016)
- Μέλος ESSKA (European Society for Sports Traumatology, Knee Surgery and Arthroscopy) (2016)
- Μέλος της Ελληνικής Αρθροσκοπικής Εταιρείας (2015)
- Μέλος Ιατρικού Συλλόγου Αθηνών (2014)

## **Υποτροφίες – Βραβεύσεις – Επισκέπτης Ιατρός**

- 3/12/2019- 7/12/2019: 2019 Hospital for Special Surgery (HSS)-Stavros Niarchos Foundation (SNF) Orthopedic Seminar Program at HSS, New York, USA  
**Participant**

- 06/05/2019 –18/05/2019: Academic Visiting Observer  
Hospital for Special Surgery, NY, USA  
Host: Dr. Robert Marx  
**Visiting Doctor**
- 02/07/2018 – 06/07/2018: Forte Summer School 2018  
Humanitas University, Milan, Italy  
**HAOST Fellow**
- 01/05/2017 - 31/10/2017: Fellow in the International Center for Hip, Knee and  
Foot Surgery, ATOS Clinic Heidelberg, Germany.  
**Fellow**
- 28/11/2016 - 03/12/2016: Academic Visiting Observer  
Hospital for Special Surgery, NY, USA  
Host: Dr. Robert Marx  
**Visiting Doctor**
- 07-11/03/2016: Υπότροφος της Ταξιδιωτικής Υποτροφίας της  
Ελληνικής Αρθροσκοπικής Εταιρείας (Travelling  
Fellowship EAE 2015-2016)
- 22-25/06/2011 3<sup>ο</sup> Βραβείο EAE 2011  
4<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο EAE «Γεώργιος  
Νούλης», Ρέθυμνο

### **Συμμετοχή σε 10 εκπαιδευτικά σεμινάρια**

### **ΣΥΓΓΡΑΦΙΚΟ ΕΓΡΟ**

- 17 Δημοσιεύσεις σε Διεθνή Περιοδικά (Peer-reviewed International Journals).  
2 Δημοσιευμένες περιλήψεις σε Διεθνή Περιοδικά (Abstracts in Peer-reviewed  
International Journals).  
Συμβολή στη συγγραφή 1 κεφαλαίου Βιβλίου Ορθοπαιδικής.

### **REVIEWER σε Διεθνή Περιοδικά**

- Journal of Bone and Joint Infection (JBJI)
- European Journal of Orthopaedic Surgery & Traumatology (EJOST)
- Journal of Biomedicine (J. Biomed)
- Journal of Orthopaedic Surgery and Research

### **ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΑ ΣΥΝΕΔΡΙΑ**

- Συμμετοχή σε 40 Ελληνικά και Διεθνή Επιστημονικά Συνέδρια.
- Μέλος Οργανωτικής Επιτροπής σε 7 Επιστημονικές Εκδηλώσεις.
- Συμμετοχή με 22 Ανακοινώσεις (ελεύθερες και αναρτημένες) σε Διεθνή Συνέδρια.
- Συμμετοχή με 38 Ανακοινώσεις (ελεύθερες και αναρτημένες) σε Ελληνικά Συνέδρια.

### **ΞΕΝΕΣ ΓΛΩΣΣΕΣ**

Αγγλικά (Certificate of Proficiency in English, University of Michigan)

Γαλλικά (Certificat de Langue Francaise, L' InstitutFrancais)

### **Η/Υ**

MAC, PC knowledge, Windows XP/Vista, Mac OS, Office

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η πύρωση ενός κατάγματος, το οποίο είναι η διακοπή της συνέχειας του οστού, αποτελεί τη συνηθέστερη μορφή οστικής αναγέννηση στην κλινική πράξη. Το οστόν αποτελεί έναν ιστό ο οποίος διαθέτει την ικανότητα να επουλώνεται χωρίς τη δημιουργία ουλής. Με το κάταγμα ενεργοποιείται μια σειρά από αντιδράσεις επούλωσης κυτταρικές και ιστικές που στοχεύουν στην αποκατάσταση της βλάβης του οστού και στην πλήρη γεφύρωση του κενού μεταξύ των καταγματικών οστικών άκρων.

Υπάρχουν πολλά ανοσοκύτταρα που συμμετέχουν στην πύρωσης των καταγμάτων διαδραματίζοντας ένα καίριο ρόλο στην όλη διαδικασία. Η πύρωση των καταγμάτων των οστών αποτελείται από τρεις φάσεις. Φλεγμονή, επισκευή και αναδιαμόρφωση.

Οι ρόλοι των ανοσοκυττάρων που εμπλέκονται στη ρύθμιση της διαδικασίας επούλωσης έχουν αποκαλυφθεί όχι μόνο στη φάση φλεγμονής αλλά και κατά τη διάρκεια της φάσης επιδιόρθωσης, όπου ορισμένα ανοσοκύτταρα και μεσολαβητές παίζουν έναν σημαντικό ρόλο στη μετατροπή του μαλακού πύρου σε σκληρό πύρο και το σχηματισμό νέων αγγείων.

Συμπερασματικά, τα ανοσοκύτταρα χρησιμεύουν ως οι αρχικοί ανταποκριτές στην περιοχή του τραυματισμού, αποκαθιστούν το αγγειακό σύστημα και ξεκινούν καταρράκτες σημάτων για την πρόσληψη κυττάρων για τη διεξαγωγή των διαδικασιών επιδιόρθωσης. Έτσι, το ανοσοποιητικό σύστημα μπορεί να θεωρηθεί ως πολλά υποσχόμενος θεραπευτικός στόχος για την πύρωση των καταγμάτων οστών. Ωστόσο, υπάρχουν ορισμένα ζητήματα που απομένει να αποσαφηνιστούν και απαιτείται πιο διεξοδική κατανόηση της ρύθμισης του μεταβολισμού των οστών από το ανοσοποιητικό σύστημα προκειμένου να εκτιμηθεί καλύτερα η βιολογική σημασία των ανοσοκυττάρων.

**Λέξεις Κλειδιά:** Πύρωση καταγμάτων, Επούλωση οστών, Ανοσοποιητικό σύστημα, Ανοσοκύτταρα, Οστεοκύτταρα

## **ABSTRACT**

A fracture means the interruption of the continuity of the bone and fracture healing represents the most common form of bone regeneration. Bone as a tissue has the unique ability of healing itself without forming a scar. When a fracture occurs, a sequence of cellular and tissue healing reactions is commenced to achieve a bridging between the fracture endings.

There are various regulatory molecules that both the skeletal and the immune systems share such as cytokines and signaling molecules, and thus the immune system is in close relation with the bone system. This interaction between bone cells and constituents of the immune system involved in bone repair, retains a great scientific interest from researchers and clinicians, as it is known that bone fracture healing is under the control of the immune system.

There are three sequential phases that consist the process of fracture healing which however remain independent. These phases are: inflammation, repair and remodeling.

The roles of immune cells involved in regulation of the healing process have been revealed not only in the inflammation phase but also during the repair phase, where certain immune cells and mediators play an important role to convert soft callus into hard callus and formation of new blood vessels.

In conclusion, immune cells serve as the initial responders at the site of injury, restore vasculature, and initiate cascades of signals to recruit cells to carry out the repair processes. Thus, immune system can be considered as a promising therapeutic target for bone fracture healing. However, there are some issues that remain to be clarified and a more thorough understanding of the regulation of bone metabolism by the immune system is required in order to better appreciate the biological significance of immune cells in bone regeneration.

**Key Words:** Fracture healing, Immune system, Bone regeneration, Immune cells, Bone cells



## ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

|   |      |
|---|------|
| ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ .....   | III  |
| ΠΕΡΙΛΗΨΗ .....  | VII  |
| ABSTRACT .....  | VIII |
| ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ .....  | IX   |
| ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ .....   | X    |
| ΠΡΟΛΟΓΟΣ .....  | XI   |
| 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ .....   | 1    |
| 1.1. ΤΟ ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ .....   | 1    |
| 1.3. ΟΣΤΑ .....   | 4    |
| 1.4. ΟΣΤΙΤΗΣ ΙΣΤΟΣ .....  | 6    |
| 1.5. ΟΣΤΕΟΓΕΝΕΣΗ .....  | 8    |
| 2. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΕΠΟΥΛΩΣΗΣ ΤΟΥ ΚΑΤΑΓΜΑΤΟΣ .....  | 14   |
| 3. ΠΩΡΩΣΗ ΤΩΝ ΚΑΤΑΓΜΑΤΩΝ .....  | 17   |
| 3.1. ΠΡΩΤΟΓΕΝΗΣ ΠΩΡΩΣΗ.....   | 17   |
| 3.2. ΔΕΥΤΕΡΟΓΕΝΗΣ ΠΩΡΩΣΗ .....  | 17   |
| 3.3. ΣΤΑΔΙΑ ΠΩΡΩΣΗΣ ΚΑΤΑΓΜΑΤΟΣ .....  | 17   |
| 4. ΟΙ ΣΚΕΛΕΤΙΚΟΙ ΑΥΞΗΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΑΙ Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥΣ ΣΤΗΝ ΠΩΡΩΣΗ ΤΩΝ ΚΑΤΑΓΜΑΤΩΝ ..... | 19   |
| 5. ΕΛΕΓΧΟΣ ΤΗΣ ΠΩΡΩΣΗΣ ΤΩΝ ΚΑΤΑΓΜΑΤΩΝ ΑΠΟ ΤΟ ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ.....                 | 32   |
| 5.1. ΑΝΟΣΟΚΥΤΤΑΡΑ, ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΚΑΙ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗ.....  | 33   |
| 5.1.1. ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑ .....  | 33   |
| 5.1.2. ΜΑΚΡΟΦΑΓΑ.....   | 34   |
| 5.1.3. ΟΥΔΕΤΕΡΟΦΙΛΑ .....   | 35   |
| 5.1.4. Τ-ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΑ .....   | 36   |
| 5.1.5. Β-ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΑ.....  | 37   |
| 5.1.6. ΚΥΤΤΑΡΑ ΦΥΣΙΚΟΙ ΦΟΝΕΙΣ .....   | 38   |
| 5.1.7. ΠΡΟ-ΦΛΕΓΜΟΝΩΔΕΙΣ ΚΥΤΟΚΙΝΕΣ .....   | 39   |
| 5.1.7.1. <i>ΙΝΤΕΡΛΕΥΚΙΝΗ 6 (IL-6)</i> .....   | 39   |
| 5.1.7.2. <i>ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ ΝΕΚΡΩΣΗΣ ΟΓΚΟΥ (TNFA)</i> .....                                  | 39   |
| 5.1.7.3. <i>ΙΝΤΕΡΛΕΥΚΙΝΗ-17Α (IL-17A)</i> .....   | 40   |
| 5.1.8. ΟΣΤΕΟΚΛΑΣΤΕΣ .....   | 40   |
| 6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ .....   | 43   |
| ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....  | 44   |

## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

|   |    |
|---|----|
| <b>Εικόνα 1.</b> Σχηματική παράσταση της έμφυτης (innate immunity) και της επίκτητης ανοσίας (adaptive immunity) [Πηγή: Dranoff G. Nat Rev Cancer 2004;4:11-22].  | 3  |
| <b>Εικόνα 2.</b> Σχηματική παράσταση της μικρο-αρχιτεκτονικής του σπογγώδους και φλοιώδους οστού [Πηγή: Πετρά, Μ. (2003)].  | 7  |
| <b>Εικόνα 3.</b> Η διαδικασία της οστικής ανακατασκευής [Πηγή: Οστική Ιστομορφομετρία: Γενικές αρχές και εφαρμογές Χ. Γιαννακόπουλος, Δ. Οικονομόπουλος, Γ.Π. Λυρίτης Εργαστήριο Έρευνας Παθήσεων του Μυοσκελετικού, Πανεπιστήμιο Αθηνών].                                    | 12 |
| <b>Εικόνα 4.</b> Μηχανισμός ανακατασκευής του φλοιώδους οστού μέσω της οστεοκλαστικής σηραγγοποίησης [Πηγή: Miller, Mark D., and Stephen R. Thompson. 2016. Miller's Review of Orthopaedics].   | 13 |
| <b>Εικόνα 5.</b> Μηχανισμός ανακατασκευής του σπογγώδους [Πηγή: Γεώργιος Παν. Καμπάκης. Θεραπευτικά ζητήματα του οστικού μεταβολισμού. Σπογγώδες και φλοιώδες οστό: η διαφοροποίηση του ιστού προαναγγέλλει και τη δράση της διαφοροποίησης των αντιοστεοπορωτικών φαρμάκων;] | 13 |
| <b>Εικόνα 6.</b> Σωλήνας του Havers και τα αγγεία του [Πηγή: Γιαβροπούλου (2010)].  | 15 |
| <b>Εικόνα 7.</b> Στάδια πύρωσης καταγμάτων [Πηγή: <a href="https://www.orthobullets.com/basic-science/9009/fracture-healing">https://www.orthobullets.com/basic-science/9009/fracture-healing</a> ].  | 19 |
| <b>Εικόνα 8.</b> Απεικόνιση σχηματισμού των αιμοπεταλίων [Πηγή: Γιαβροπούλου (2010)].   | 33 |
| <b>Εικόνα 9.</b> Προέλευση κυττάρων από τα αρχέγονα αιμοποιητικά κύτταρα.   | 34 |
| <b>Εικόνα 10.</b> Μικροφωτογραφία οστεοκλάστη [Πηγή: <a href="https://en.wikipedia.org/wiki/Osteoclast">https://en.wikipedia.org/wiki/Osteoclast</a> ].   | 42 |

## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η πώρωση των καταγμάτων αποτελεί μια βιολογική διαδικασία με την οποία επιτυγχάνεται η επούλωση των οστών μετά από ένα τραυματισμό (κάταγμα). Το οστό αποτελεί έναν ιδιαίτερο ιστό του ανθρώπινου οργανισμού με μοναδικές ιδιότητες, ανάμεσα τους και η ικανότητα επούλωσης. Οι ιδιότητες καθώς και τα νοσήματα των οστών αποτελούν το αντικείμενο του συγκεκριμένου Μεταπτυχιακού Προγράμματος Σπουδών και προς αυτή την κατεύθυνση προσανατολίζεται και η παρούσα πτυχιακή εργασία. Πιο συγκεκριμένα, επιχειρείται να αποδοθεί η δράση του ανοσοποιητικού συστήματος κατά τη διάρκεια της πώρωσης των καταγμάτων. Για να επιτευχθεί αυτός ο στόχος προηγήθηκε ανασκόπηση της βιβλιογραφίας με σκοπό τη συγκέντρωση πληροφοριών από έγκριτα διεθνή άρθρα καθώς και από κεφάλαια εγχώριων συγγραμμάτων, σχετικά με τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος και το πως αυτά συμμετέχουν στην πώρωση των καταγμάτων. Κατά τη διάρκεια της αξιολόγησης των διαφόρων πηγών και της συλλογής των πληροφοριών, κατέστη σαφές πως η επιστημονική κοινότητα δεν έχει αποκτήσει ακόμη πλήρη γνώση και άποψη σχετικά με το πως ακριβώς δουλεύουν οι μηχανισμοί και τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος στην πώρωση των καταγμάτων. Σίγουρα υπάρχουν αρκετά στοιχεία, μηχανισμοί και βιολογικά μονοπάτια που χρήζουν περαιτέρω επιστημονικής μελέτης και διερεύνησης στο μέλλον αναφορικά με την πώρωση των καταγμάτων και ειδικά με την επίδραση του ανοσοποιητικού συστήματος σε αυτή με απώτερο βέβαια σκοπό την παραγωγή συμπερασμάτων χρήσιμων στην κλινική πράξη. Μέχρι τότε ελπίζουμε πως η εργασία αυτή θα αποτελεί μια μικρή νησίδα συγκεντρωμένης υπάρχουσας και τεκμηριωμένης γνώσης για όποιον επιθυμεί σύντομα να εντοπίσει βασικές πληροφορίες για τον τρόπο δράσης του ανοσοποιητικού συστήματος στην πώρωση των καταγμάτων.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον καθηγητή κ. Λυρίτη για τις συμβουλές του. Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω όλο το προσωπικό του Εργαστηρίου Έρευνας Παθήσεων Μυοσκελετικού Συστήματος για τη διδασκαλία του Μεταπτυχιακού Προγράμματος. Ιδιαίτερα θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. Λάμπρου για τη συμβολή του στην εκπόνηση της εργασίας αυτής.

Δημήτριος Α. Φλέβας  
Ορθοπαιδικός Χειρουργός

## 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

### 1.1. ΤΟ ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ

Ο ανθρώπινος οργανισμός είναι συνεχώς εκτεθειμένος σε μια ποικιλία βακτηρίων, ιών και παρασίτων, πολλά από τα οποία θα είχαν αναπτυχθεί μέσα στα κύτταρα του ανθρώπινου σώματος και στα εξωκυττάρια υγρά αν δεν υπήρχε το ανοσοποιητικό σύστημα (1). Το ανοσοποιητικό σύστημα ενός οργανισμού είναι σύστημα οργάνων και βιολογικών μηχανισμών υπεύθυνο για την άμυνά του. Αποτελείται από πολλά διαφορετικά όργανα και ιστούς. Τα σημαντικότερα από αυτά είναι ο μυελός των οστών και ο θύμος αδένας. Σε αυτά δημιουργούνται και αναπτύσσονται τα ειδικά κύτταρα του ανοσοποιητικού. Δευτερεύοντα όργανα του ανοσοποιητικού συστήματος είναι οι αμυγδαλές, ο σπλήνας, τα λεμφογάγγλια και οι πλάκες Peyer. (1, 2). Είναι αξιοσημείωτη η δυνατότητα του ανθρώπινου οργανισμού να αμυνθεί απέναντι σε οργανισμούς που δεν είχαμε συναντήσει προηγουμένως. Καθοριστικό στοιχείο για να επιτευχθεί αυτή η αμυντική δράση είναι η ικανότητα του οργανισμού μας να παράγει περισσότερα από  $10^8$  και περισσότερους από  $10^{12}$  αντιγονικούς υποδοχείς λεμφοκυττάρων T. Κάθε ένα από τα μόρια αυτά έχει μια διαφορετική επιφάνεια για ειδική πρόσδεση ενός μορίου από ξένο οργανισμό έτσι ώστε να ξεκινήσει η διαδικασία καταστροφής του εισβολέα. Ωστόσο η παρουσία αυτής της αξιοσημείωτης ποικιλίας αμυντικών μορίων δημιουργεί αναπόφευκτα και μια πρόκληση. Το να καταφέρει το ανοσοποιητικό σύστημα να αναγνωρίζει κύτταρα που φυσιολογικά εκφράζονται από το ανθρώπινο σώμα και να μην επιτίθεται σε αυτά (1).

Το ανοσοποιητικό σύστημα απαρτίζεται από δύο παράλληλα και αλληλοσυνδεόμενα συστήματα, την *έμφυτη ανοσία* η οποία ουσιαστικά κληρονομείται είναι αρχέγονη και βρίσκεται εκεί από την αρχή για να προσφέρει μια άμεση άμυνα πρώτης γραμμής στα παθογόνα και στην *επίκτητη ανοσία* (Εικόνα 1). Στο δεύτερο αυτό τύπο ανοσίας, ο οργανισμός μέσω της ανάπτυξης ειδικών πρωτεϊνών, των αντισωμάτων, και της παραγωγής T λεμφοκυττάρων ειδικά σχεδιασμένων το καθένα ώστε να στοχεύουν συγκεκριμένα παθογόνα. Αυτή η επίκτητη αντίδραση χρειάζεται ημέρες για να αναπτυχθεί και συνεπώς δεν είναι αποτελεσματική κατά την πρώιμη εισβολή του παθογόνου. Μια άλλη διάκριση του ανοσοποιητικού συστήματος αφορά τη *χυμική ανοσοαπόκριση* και την *κυτταρική ανοσοαπόκριση*.

Στη χυμική ανοσοαπόκριση (humoral immune response) διαλυτές πρωτεΐνες που ονομάζονται αντισώματα ή ανοσοσφαιρίνες λειτουργούν ως στοιχεία αναγνώρισης τα οποία προσδένονται σε ξένα μόρια και χρησιμεύουν ως δείκτες σηματοδότησης των ξένων για τον οργανισμό στοιχείων. Τα αντισώματα εκκρίνονται από τα πλασματοκύτταρα τα οποία προέρχονται από λεμφοκύτταρα Β. Το ξένο μακρομόριο το οποίο δεσμεύεται επιλεκτικά σε ένα αντίσωμα ονομάζεται αντιγόνο. Υπο φυσιολογικές συνθήκες, εάν το μόριο αυτό μέσω της δέσμευσής του διεγείρει ανοσοαπόκριση, τότε αυτό ονομάζεται ανοσογόνο. Η ειδική συγγένεια που μπορεί να εμφανίζει ένα αντίσωμα, δεν αφορά ολόκληρο το μακρομοριακό αντιγόνο, αλλά μια συγκεκριμένη θέση στο στο μακρομόριο αυτό η οποία ονομάζεται επίτοπος ή αντιγονικός προσδιοριστής (1).

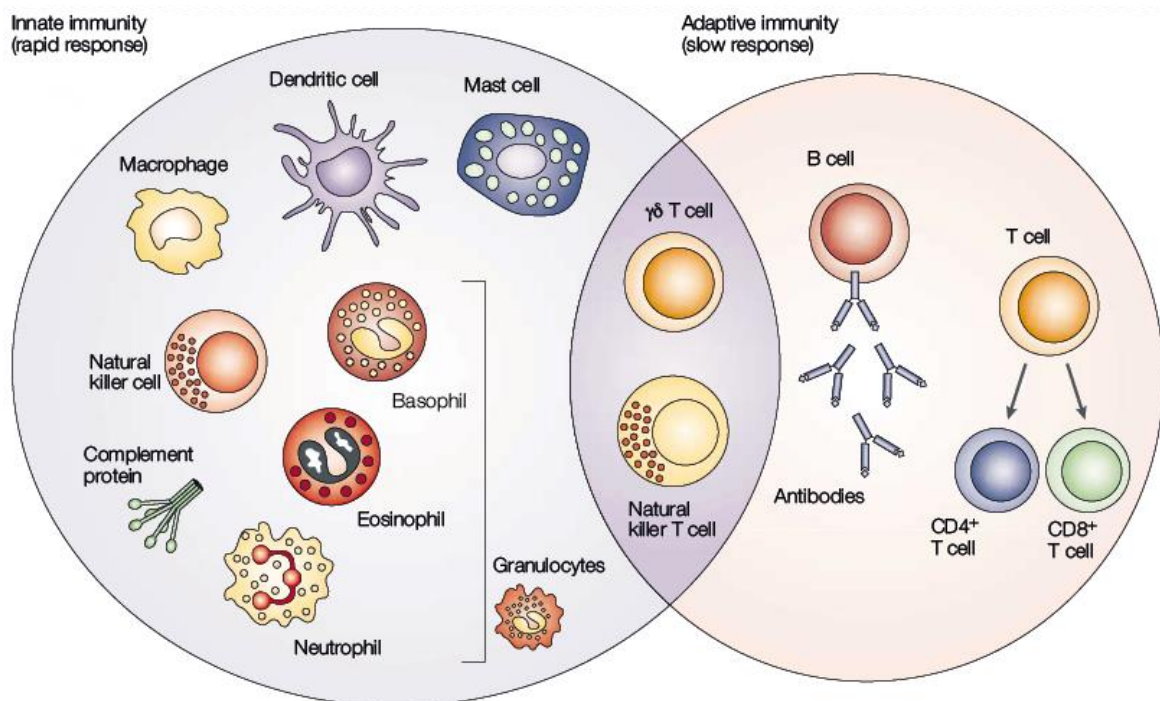
Στην κυτταρική ανοσοαπόκριση, κύτταρα που ονομάζονται κυτταροτοξικά λεμφοκύτταρα Τ σκοτώνουν κύτταρα που εμφανίζουν ξένα μοτίβα στην επιφάνειά τους. Μια άλλη κατηγορία κυττάρων Τ ονομάζονται βοηθητικά λεμφοκύτταρα Τ και συμμετέχουν τόσο στη χυμική όσο και στην κυτταρική ανοσία, διεγείροντας τη διαφοροποίηση και τον πολλαπλασιασμό των κατάλληλων κυττάρων Β και των κυτταροτοξικών κυττάρων Τ αντίστοιχα. Η κυτταρική ανοσοαπόκριση διεκπεραιώνεται από ειδικούς υποδοχείς που βρίσκονται στις επιφάνειες των κυττάρων Τ.

Η ικανότητα που εμφανίζει το ανοσοποιητικό σύστημα να προσαρμόζεται σε ένα ουσιαστικά απεριόριστο σύνολο εν δυνάμει παθογόνων χρειάζεται ένα ισχυρό σύστημα μετασχηματισμού των ανοσοκυττάρων αποκρινόμενο στην παρουσία των παθογόνων μικροοργανισμών. Το προσαρμοστικό αυτό σύστημα λειτουργεί με τις αρχές της εξέλιξης, συμπεριλαμβανομένης και της αναπαραγωγής με ποικιλότητα που ακολουθείται από επιλογή των πιο κατάλληλων μελών του πληθυσμού (1).

Το ανθρώπινο γονιδίωμα περιέχει περίπου 40.000 γονίδια. Ωστόσο το ανοσοποιητικό σύστημα μπορεί να παράγει  $10^8$  διαφορετικά μόρια πρωτεϊνών αντισωμάτων και  $10^{12}$  διαφορετικούς αντιγονικούς υποδοχείς κυττάρων Τ μέσω ενός ιδιαίτερου μηχανισμού παραγωγής ενός πολύ ποικιλόμορφου συνόλου γονιδίων από ένα περιορισμένο σύνολο γονιδιακών δομικών λίθων. Συσχετίζοντας διαφορετικά σύνολα περιοχών του DNA με συνδυαστικό τρόπο παράγει πολλά γονίδια που κωδικεύουν διαφορετικές πρωτεΐνες τα οποία δεν υπάρχουν στο

γονιδίωμα του οργανισμού. Έπειτα με αυστηρή διαδικασία επιλογής επιτρέπεται ο πολλαπλασιασμός μόνο των κυττάρων εκείνων που συνθέτουν πρωτεΐνες χρήσιμες στην ανοσοαπόκριση. Η επακόλουθη αναπαραγωγή των κυττάρων αυτών χωρίς επιπλέον ανασυνδυασμό εμπλουτίζει τον κυτταρικό πληθυσμό με κύτταρα που εκφράζουν ένα συγκεκριμένο μόριο πρωτεΐνης (1).

Κρίσιμη για την ανάπτυξη της ανοσοαπόκρισης είναι η διεργασία επιλογής μέσω της οποίας καθορίζεται ποια κύτταρα θα αναπαραχθούν και αποτελείται από αρκετά στάδια. Στα αρχικά στάδια τα κύτταρα που εκφράζουν μόρια που προσδένονται στέρεα σε μόρια του οργανισμού καταστρέφονται ή καταστέλλονται. Αντιθέτως διατηρούνται εκείνα τα κύτταρα που εκφράζουν μόρια που δεν προσδένονται στέρεα σε μόρια του οργανισμού και δυνητικά θα προσδεθούν ισχυρά σε ξένα μόρια. Η εμφάνιση ενός ανοσογόνου εισβολέα σε μεταγενέστερη φάση θα διεγείρει κύτταρα τα οποία εκφράζουν ανοσοσφαιρίνες ή αντιγονικούς υποδοχείς κυττάρων T που προσδένονται σε στοιχεία του παθογόνου ώστε να αναπαραχθούν. Συνεπώς η ανοσοαπόκριση βασίζεται σε επιλογή κυττάρων τα οποία είναι αποτελεσματικά εναντίον στοιχείων παθογόνων και όχι εναντίον κυττάρων του οργανισμού (1).



**Εικόνα 1.** Σχηματική παράσταση της έμφυτης (innate immunity) και της επίκτητης ανοσίας (adaptive immunity) [Πηγή: Dranoff G. Nat Rev Cancer 2004;4:11-22].

## 1.2. ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΚΑΙ ΟΣΤΑ

Η σημασία των οστών για το ανοσοποιητικό σύστημα είναι ευρέως γνωστή. Τα ανοσοποιητικά κύτταρα παράγονται στο μυελό των οστών. Ωστόσο, λιγότερο γνωστή είναι η σημασία του ανοσοποιητικού συστήματος και των κυττάρων του στα οστά (3). Μελέτες της δεκαετίας του 1970 ανέδειξαν τη στενή σχέση μεταξύ των δύο συστημάτων με την αναγνώριση ουσιών στα ανοσοκύτταρα που ενεργοποιούν τους οστεοκλάστες (4).

Από τις αρχές της δεκαετίας του 2000 έχει εμφανιστεί ο όρος Οστεοανοσολογία ο οποίος περιγράφει την αλληλεπίδραση μεταξύ του ανοσοποιητικού συστήματος και των οστών. Ερευνητές που μελετούν είτε το ένα είτε το άλλο σύστημα έχουν αντιληφθεί την ευρεία επίπτωση που έχουν οι πολύπλοκες ρυθμιστικές αλληλεπιδράσεις των ανοσοποιητικών κυττάρων και της οστικής αναδιαμόρφωσης. Πέρα από το γεγονός ότι η φυσιολογική οστική ανάπτυξη και αναδιαμόρφωση διαταράσσονται σε καταστάσεις που αφορούν αυτοάνοσες παθήσεις, λίγες πληροφορίες είναι γνωστές σχετικά με τη δράση του ανοσοποιητικού συστήματος στα οστά. Συνεπώς, καθίσταται σαφές ότι μια βαθύτερη κατανόηση των αλληλεπιδράσεων αυτών και των μηχανισμών τους είναι απαραίτητη ώστε να αντιμετωπιστούν παθήσεις και καταστάσεις που επηρεάζουν τόσο τα οστά όσο και το ανοσοποιητικό σύστημα (3).

Σήμερα, το πεδίο της Οστεοανοσολογίας διακατέχεται από μια ακμάζουσα άνθιση η οποία παρέχει μια απaráμιλλη ευκαιρία να γίνουν κατανοητές διαδικασίες που λαμβάνουν χώρα σε καταστάσεις όπως η αρθρίτιδα και οι ρευματολογικές παθήσεις. Ευρήματα του κλάδου αυτού έχουν συνδράμει στην αποτελεσματικότερη αντιμετώπιση ασθενών με AIDS και στη βελτίωση της καθημερινής ποιότητας ζωής ασθενών με οστεοπόρωση. Για να επιτευχθεί μια ακόμα βαθύτερη κατανόηση της Οστεοανοσολογίας θα πρέπει να διερευνηθεί ο κοινός παρονομαστής του ανοσοποιητικού συστήματος και των οστών που δεν είναι άλλος από την κοινή τους προέλευση από τα αρχέγονα κύτταρα, καθώς και τα κοινά σηματοδοτικά μονοπάτια που μοιράζονται (4).

### **1.3. ΟΣΤΑ**

Τα οστά είναι υπόλευκοι, σκληροί και ανθεκτικοί ιστοί και παρέχουν στήριξη στα μαλακά όργανα του σώματος, προστασία των σπλάχνων και του νευρικού συστήματος. Επίσης συμμετέχουν στη δημιουργία της μορφολογίας και πολλών ανθρωπομετρικών χαρακτηριστικών και διαστάσεων του ατόμου και παρέχουν τη δυνατότητα πολύπλοκων και σύνθετων κινήσεων στα άκρα και τη σπονδυλική στήλη.

Το φυσιολογικό οστό είναι πεταλλιώδες διακρίνεται στο φλοιώδες και στο σπογγώδες οστόν. Αντίθετα, τα άωρα και παθολογικά οστά είναι δικτυωτά με πιο τυχαία διάταξη και περισσότερα οστεοκύτταρα, μικρότερη ισχύ και μεγαλύτερη ελαστικότητα. Τα πεταλλιώδη οστά εμφανίζουν δοκίδωση κατά τη φορά των φορτίων, το οποίο δεν ισχύει για τα δικτυωτά οστά.

Τα φλοιώδη οστά αποτελούν το 80% του σκελετού και επίσης το εξωτερικό τμήμα κάθε οστού ενώ ο ρόλος τους είναι κυρίως η δομική υποστήριξη της σταθερότητας του σώματος και της κίνησης. Το φλοιώδες οστόν απαρτίζεται από οστεώνες σε στενή διάταξη μεταξύ τους (συστήματα Havers), συνδεδεμένους με τους σωλήνες του Havers οι οποίοι περιέχουν αρτηριόλια, φλεβίδια, τριχοειδή αιμοφόρα αγγεία, νεύρα και πιθανόν λεμφαγγεία, τα οποία εξασφαλίζουν την παροχή θρεπτικών συστατικών. Μεταξύ των οστεώνων βρίσκεται θεμέλια οσία, η οποία συχνά συνδέεται με ινίδια τα οποία δεν διασχίζουν τις γραμμές οστεοποίησης η οποία ορίζεται ως το εξωτερικό όριο του οστεώνα. Τα φλοιώδη οστά έχουν χαμηλό ρυθμό ανακατασκευής, σχετικά υψηλό συντελεστή ελαστικότητας του Young, μεγάλη αντίσταση στις στροφικές παραμορφώσεις και στις παραμορφώσεις κάμψης συγκριτικά με τα σπογγώδη οστά (5, 6).

Το σπογγώδες οστόν είναι δοκιδωτό και πορώδες, εμπεριέχει το μυελό των οστών και αποτελεί την εστία της αιμοποιητικής διαδικασίας. Το σπογγώδες οστόν έχει υψηλή αγγείωση και αιμάτωση, ενώ το φλοιώδες οστόν έχει υψηλή νεύρωση (3). Τα σπογγώδη οστά έχουν μικρότερη πυκνότητα και υφίστανται μεγαλύτερη οστική ανακατασκευή σύμφωνα με τις γραμμές μηχανικής φόρτισης (νόμος του Wolff). Εμφανίζουν μεγαλύτερη ελαστικότητα από τα φλοιώδη οστά και χαμηλότερο συντελεστή ελαστικότητας του Young (5).

Τα οστά αποτελούν τις αποθήκες και το εργοστάσιο παραγωγής ασβεστίου, κυρίως το φλοιώδες οστόν, και άλλων ανόργανων αλάτων. Αποτελούν ένα πολύπλοκο



ιστό με μεταβολισμό που μόλις πρόσφατα ανιχνεύεται, ενώ τα περισσότερα σημεία του παραμένουν ακόμη άγνωστα. Τα οστά εμφανίζουν μοναδικές ιδιαιτερότητες σε σχέση με άλλους ιστούς όπως τη σχεδόν απεριόριστη δυνατότητα αναγέννησης και εναλλαγής. Σε βάθος δέκα ετών αλλάζει όλος ο σκελετός του ανθρώπου και ανανεώνεται. Επίσης τα οστά διαθέτουν μεγάλη επουλωτική ικανότητα. Λόγω του μοναδικού φαινομένου της πύρωσης, το κάταγμα ενός οστού ύστερα από μερικά χρόνια δεν διακρίνεται καθόλου και δεν γίνεται αντιληπτό. Ακόμη τα οστά έχουν την ικανότητα για ανακατασκευή (remodeling), την πλήρωση οστικών κενών και την διόρθωση παραμορφώσεων (1).

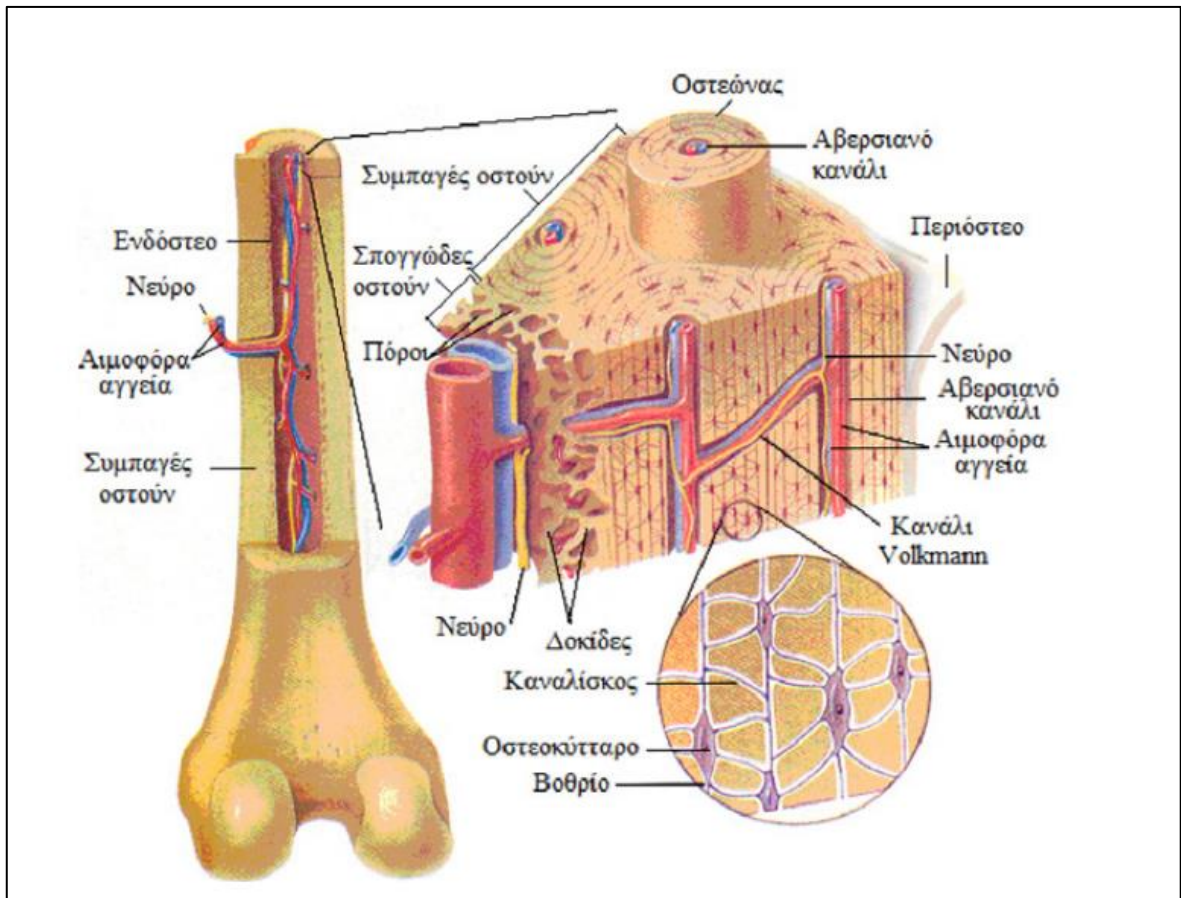
#### **1.4. ΟΣΤΙΤΗΣ ΙΣΤΟΣ**

Ο οστίτης ιστός αποτελεί μορφή εξειδικευμένου και επιμεταλλωμένου συνδετικού ιστού. Επιτελεί μηχανική λειτουργία δίνοντας στήριξη και χώρο για την πρόσφυση των μυών κατά την κίνηση. Είναι η κύρια αποθήκη του σώματος σε ασβέστιο και φωσφόρο, μετέχει στην οξεοβασική ισορροπία του οργανισμού και αποτελεί πηγή αυξητικών παραγόντων και κυτοκινών (2).

Ο οστίτης ιστός διαθέτει μια ενδογενή ικανότητα αναγέννησης είτε ως μέρος της επανορθωτικής διαδικασίας μετά από κάποια κάκωση, είτε κατά τη διάρκεια της σκελετικής ανάπτυξης είτε κατά τη συνεχιζόμενη ανακατασκευή του οστού (remodeling) σε όλη τη ζωή του ενήλικα (3, 4). Η οστική αναγέννηση αποτελεί μια καλά συντονισμένη αλληλουχία βιολογικών γεγονότων οστεοεπαγωγής και οστεοκαθοδήγησης που περιλαμβάνουν ικανό αριθμό κυτταρικών τύπων καθώς και ενδοκυττάρων και εξωκυτταρικών μοριακών οδών με σκοπό την καλύτερη δυνατή σκελετική αποκατάσταση (4, 5).

Ο οστίτης ιστός αποτελεί έναν ιστό σύνθετο, δυναμικό και εξαιρετικά εξειδικευμένο καθώς υφίσταται συνεχή αναγέννηση και ανακατασκευή (remodeling) κατά τη διάρκεια της ζωής. Ο σύνθετος και επιμεταλλωμένος αυτός ιστός είναι ένα σύμπλοκο υδροξυαπατίτη και κολλαγόνου τύπου I που περιέχει τα συστατικά του με μια καθορισμένη ιεραρχία (6). Και τα δύο είδη του οστίτη οστού, ο φλοιώδης και ο σπογγώδης οστίτης ιστός, αποτελούνται από οστικά κύτταρα και θεμέλιο ουσία (**Εικόνα 2.2**). Η οστική θεμέλιο ουσία παράγεται από τους οστεοβλάστες και αποτελείται από ίνες κυρίως κολλαγόνου τύπου I και από μη κολλαγονικές

πρωτεΐνες. Τα οστικά κύτταρα αποτελούν μαζί με τη θεμέλιο ουσία την οργανική οντότητα του οστίτη οστού (98% θεμέλιο ουσία και 2% οστικά κύτταρα).



**Εικόνα 2.** Σχηματική παράσταση της μικρο-αρχιτεκτονικής του σπογγώδους και φλοιώδους οστού [Πηγή: Πετρά, Μ. (2003) (7)].

Οι κύριοι τύποι των κυττάρων του οστίτη ιστού είναι οι οστεοβλάστες, οι οστεοκλάστες, τα επενδυματικά κύτταρα και τα οστεοκύτταρα. Οι οστεοβλάστες, οι οστεοκλάστες και τα επενδυματικά κύτταρα ανευρίσκονται κυρίως στην ενδοοστική επιφάνεια του οστού. Τα οστεοκύτταρα βρίσκονται στην επιμεταλλωμένη θεμέλιο ουσία (2). Οι οστεοβλάστες είναι κύτταρα που προέρχονται από τη διαφοροποίηση αρχέγονων μεσεγχυματικών κυττάρων του μυελού των οστών (mesenchymal stem cells). Τυπικά είναι κυβοειδή και επίπεδα στη μορφολογία τους και με διάμετρο περίπου 20 μm. Οι οστεοβλάστες παράγουν μία μη-οργανωμένη θεμέλιο ουσία (άνυφο οστού) με κολλαγόνο τύπου I η οποία επιμεταλλώνεται με κρυστάλλους υδροξυαπατίτη για την τελική δημιουργία οστού. Οι οστεοκλάστες απορροφούν περιοχές άνυφου οστού ώστε να γίνεται ανακατασκευή του σε ένα υψηλά οργανωμένο πλαίσιο παράλληλων ινών προσανατολισμένων σε διάφορες

αναπληρωματικές διευθύνσεις ανάλογα με τις δυνάμεις που ασκούνται στο οστόν (8, 9).

Οι δύο τύποι ώριμου οστού είναι το σπογγώδες και το φλοιώδες οστόν (**Εικόνα 2.2**). Το σπογγώδες οστόν αποτελεί το εσωτερικό πορώδες πλαίσιο των οστών. Περιέχει μυελό πλούσιο σε αρχέγονα μεσεγγυματικά κύτταρα απαραίτητα για τη δημιουργία νέου συνδετικού ιστού (π.χ. μυών, χόνδρου, οστού και τενόντων) και κυττάρων του αίματος. Το φλοιώδες οστόν περιβάλλει το σπογγώδες οστόν και δημιουργεί ένα εξωτερικό περίβλημα δίνοντας στο οστό σχήμα και μορφή. Σε οστά που δέχονται φόρτιση βάρους (όπως στο μηριαίο) ο φλοιός τους είναι πολύ πεπαχυσμένος για να είναι ισχυρός.

Η διαφορά του οστίτη ιστού από τον υπόλοιπο συνδετικό ιστό βρίσκεται στην υψηλή συγκέντρωση ανόργανων στοιχείων σε μορφή μεταλλικών αλάτων, στο οστόν, που συνδέονται στενά με το οργανικό μέρος του. Τα μεταλλικά αυτά στοιχεία αποτελούνται κυρίως από ασβέστιο και φωσφόρο σε μορφή μικρών κρυστάλλων ως κρύσταλλοι υδροξυαπατίτη. Οι κρύσταλλοι αυτοί αποτελούν το 60-70% του βάρους του αποξηραμένου οστού και δίνουν στο οστόν τη σκληρή δομή του. Το νερό αποτελεί το 5-8% ενώ το υπόλοιπο είναι το οργανικό τμήμα του οστού (αυτό δίνει στο οστόν την ευκαμψία και την πλαστικότητά του).

Εναπόθεση και απορρόφηση της επιμεταλλωμένης θεμέλιας ουσίας (mineralized matrix) συμβαίνει κατά την ανάπτυξη και ωρίμανση του ανθρώπου, κατά το φυσιολογικό σκελετικό ανασχηματισμό των ενηλίκων και κατά την αποκατάσταση του οστού μετά από κάκωση ή χειρουργείο. Η κατάλληλη αιματική παροχή και η σύνθετη αλληλεπίδραση της οστικής αιμάτωσης με τους οστεοβλάστες και τους οστεοκλάστες αποτελούν αναγκαία προϋπόθεση στη ρύθμιση της οστικής παραγωγής και απορρόφησης. Εντός της προσωρινής λειτουργικής δομής της βασικής πολυκυτταρικής μονάδας του οστού (basic multicellular unit, BMU) οι οστεοβλάστες ρυθμίζουν την δημιουργία οστού, οι οστεοκλάστες την απορρόφηση του οστού ενώ και οι δύο μοιράζονται το αγγειακό ενδοθήλιο, τα αιμοποιητικά και «στρωματικά» (stromal cells) κύτταρα του οστικού μυελού (10).

## 1.5. ΟΣΤΕΟΓΕΝΕΣΗ

Η οστεογένεση ξεκινά με ένα αρχέγονο μεσεγχυματικό κύτταρο (stem cell) που δίνει ζωή σε πρόδρομες μορφές κυττάρων της οστεοβλαστικής σειράς (osteoprogenitor cells). Αυτά τα τελευταία έχουν ένα περιορισμένο κύκλο ζωής περίπου 40 ημερών. Τελικά οι οστεοβλάστες παράγουν θεμέλιο ουσία για νέο οστόν όπως και τα κύτταρα της οστεοβλαστικής σειράς και τα οστεοκύτταρα. Τα οστεοκύτταρα μπορεί να ζουν έως και 20 χρόνια. Ο μυελός των οστών είναι πλούσια πηγή σε μυοσκελετικά αρχέγονα μεσεγχυματικά κύτταρα ενώ τέτοια κύτταρα μπορεί να βρεθούν στο περίοστεο, στο χόνδρο, στους μύες, στο λιπώδη ιστό και περιαγγειακά. Οι πρόδρομες μορφές κυττάρων του συνδετικού ιστού περιγράφουν τον πληθυσμό των αρχέγονων μεσεγχυματικών κυττάρων (stem cells) και των πρόδρομων μορφών κυττάρων (progenitor) που ενεργά συμμετέχουν στον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση σε συνδετικό ιστό (11).

Η λειτουργία των οστεοβλαστών, των οστεοκλαστών και των κυττάρων του αγγειακού δένδρου εντός των BMU ρυθμίζεται από συστηματικούς και τοπικούς παράγοντες που τροποποιούν τον μεταβολισμό και την αγγείωση του οστού.

Στην κλινική πράξη η συνηθέστερη μορφή οστικής αναγέννησης είναι η πώρωση ενός κατάγματος. Το κάταγμα είναι η διακοπή της συνέχειας του οστού ως αποτέλεσμα άσκησης δυνάμεων στο σκελετό που υπερνικούν την αντοχή του οστού σε μία χρονική στιγμή και περιοχή του σώματος. Με το κάταγμα ενεργοποιείται μια σειρά από αντιδράσεις επούλωσης κυτταρικές και ιστικές που στοχεύουν στην αποκατάσταση της βλάβης του οστού και στην πλήρη γεφύρωση του κενού μεταξύ των καταγματικών οστικών άκρων.

## **1.6. ΟΣΤΙΚΗ ΑΝΑΚΑΤΑΣΚΕΥΗ**

### **1) Γενικά**

Το οστό ανακατασκευάζεται δια βίου προκειμένου να αντεπεξέλθει στις μηχανικές φορτίσεις και σε ποικίλες ενδογενείς και εξωγενείς επιδράσεις. Η λειτουργία αυτή εκπληρώνεται με τη δράση των κυττάρων του οστού των οποίων οι λειτουργίες είναι αλληλοεξαρτώμενες. Η δράση των κυττάρων αυτών του οστού εκδηλώνεται με δύο λειτουργίες: την κατασκευή (modeling) και την ανακατασκευή (remodeling). Η κατασκευή συνίσταται σε απορρόφηση οστού και σε δημιουργία νέου σε άλλη θέση αλλά την ίδια χρονική στιγμή, με τελικό αποτέλεσμα τη μεταβολή του σχήματος του οστού. Με τον τρόπο αυτό πραγματοποιείται η αύξηση των οστών και η

ανακατανομή της οστικής μάζας στο χώρο. Με οστική απορρόφηση σε ορισμένες επιφάνειες και οστική παραγωγή σε άλλες, διορθώνεται η πλημμελής πύρωση ενός κατάγματος.

Κατά τη διαδικασία της ανακατασκευής οι οστεοκλάστες απορροφούν οστό και στη συνέχεια οι οστεοβλάστες εναποθέτουν καινούργιο στον ίδιο χώρο. Ο ρυθμός της ανακατασκευής φθάνει το 100% ανά έτος το πρώτο έτος της ζωής, ενώ μειώνεται στο 10% στο τέλος της παιδικής ηλικίας. Στην ενήλικη ζωή συνεχίζει με αυτό ή και μικρότερο ρυθμό. Στους ενήλικες παρατηρείται σε περιορισμένο βαθμό περιοστική παραγωγή οστού με τη διαδικασία της κατασκευής (modeling) προκειμένου να αυξηθεί η μηχανική αντοχή των οστών μέσω της αύξησης της διαμέτρου τους. Η ανακατασκευή παρατηρείται ως αντίδραση σε φορτίσεις και ιδίως σε σημαντικές μεταβολές τους (1Δ). Συνεπώς, καθ' όλη τη διάρκεια της ενήλικης ζωής ο οστίτης ιστός έχει τη δυνατότητα να ανακατασκευάζεται συνεχώς μεταβάλλοντας τη δομή και το σχήμα του, ανταποκρινόμενο σε ενδογενείς και εξωγενείς επιδράσεις (5, 6). (Εικόνα 3)

Τα οστά ανακατασκευάζονται σε απόκριση στις μηχανικές καταπονήσεις με βάση το νόμο του Wolff. Αύξηση της μηχανικής καταπόνησης οδηγεί σε οστική αύξηση και αναστολή της εξωτερικής μηχανικής καταπόνησης μπορεί να οδηγήσει σε σημαντική οστική απώλεια, η οποία ωστόσο είναι αντιστρεπτή κατά την επαναφόρτιση των οστών (5).

Επίσης, τα οστά ανακατασκευάζονται αποκρινόμενα στα παραγόμενα ηλεκτρικά φορτία. Η περιοχή συμπίεσης του οστού φορτίζεται ηλεκτροαρνητικά με αποτέλεσμα να διεγείρονται οι οστεοβλάστες και να επέρχεται οστεογένεση. Αντίθετα η περιοχή διάτασης του οστού φορτίζεται ηλεκτροθετικά με αποτέλεσμα να διεγείρονται οι οστεοκλάστες και κατά συνέπεια να εμφανίζεται οστική απορρόφηση. Τα φλοιώδη και τα σπογγώδη οστά ανακατασκευάζονται συνεχώς κατά τη διάρκεια της ζωής μέσω της οστεοκλαστικής δραστηριότητας.

Η οστική ανακατασκευή λαμβάνει χώρα με την οργανωμένη δράση σε ομάδες κυττάρων που συγκροτούν τη βασική πολυκυτταρική μονάδα (Basic Multicellular Unit, BMU), η λειτουργία της οποίας ρυθμίζεται από συστηματικές ορμόνες και κυτοκίνες. Περιλαμβάνει τα εξής στάδια: την ενεργοποίηση, την οστεοκλαστική

απορρόφηση, την αναστροφή, την δημιουργία και την επιμετάλλωση του οστού και την φάση ηρεμίας (6).

Η διαδικασία απορρόφησης και παραγωγής οστού διαρκεί 4-6 μήνες και μετά την ολοκλήρωση της παραγωγής επέρχεται η φάση της ηρεμίας. Η δράση της BMU έχει σαν αποτέλεσμα τη δημιουργία δευτερογενών οστεόνων στο φλοιώδες οστό. Η διαφορά απορρόφησης-παραγωγής είναι θετική στο ενδόστεο, ουδέτερη στο φλοιό και αρνητική στο περιόστεο. Η αύξηση του αριθμού των BMU αυξάνει τις οπές στο φλοιό και τις διαβρώσεις στις δοκίδες. Ο χώρος που καταλείπεται από τη δράση τους ονομάζεται χώρος ανακατασκευής και φυσιολογικά περιλαμβάνει το 3%-8% ενός οστού, αλλά μπορεί να φθάσει και το 20% (6).

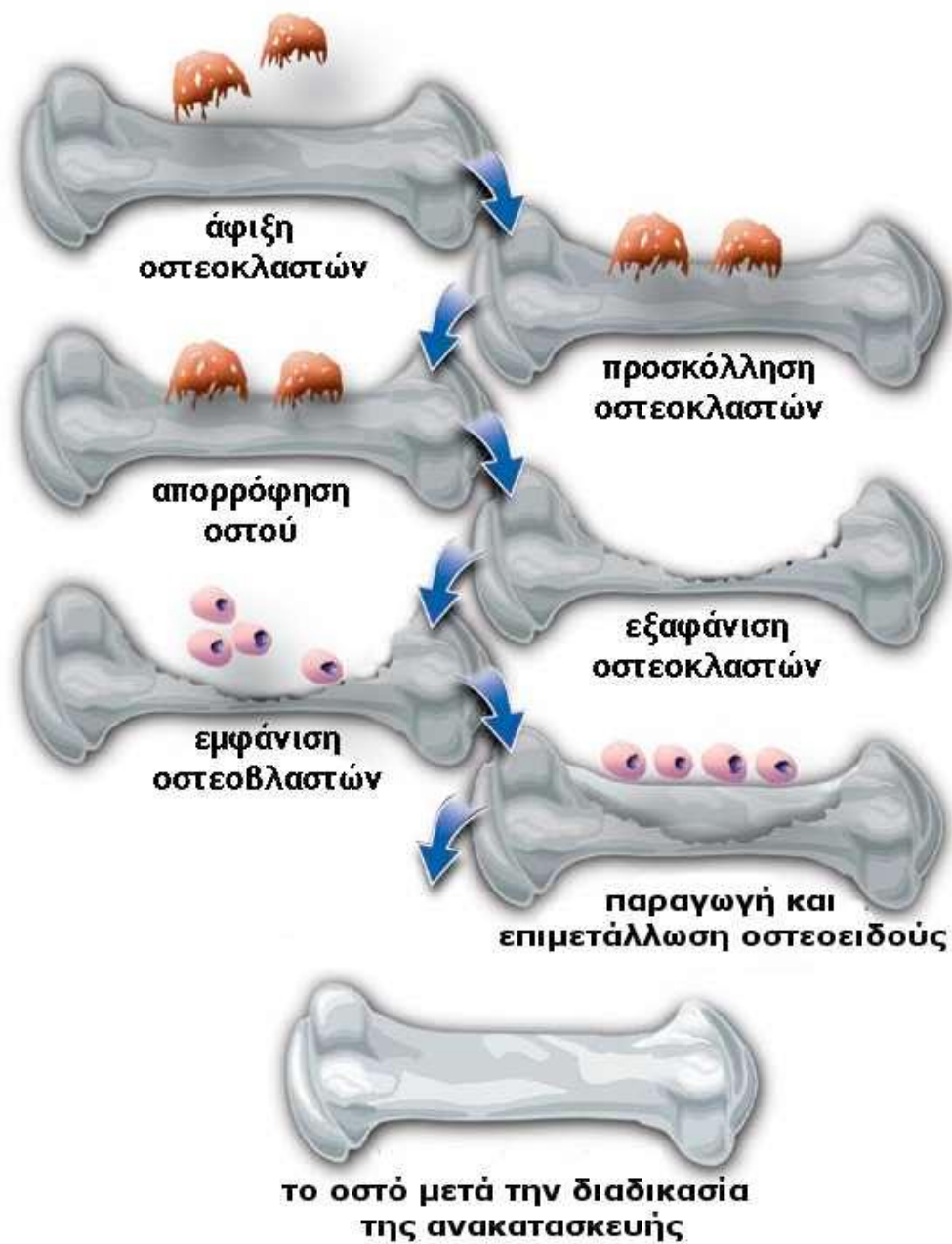
Σύμφωνα με το νόμο των Hueter-Volkman, μηχανικοί παράγοντες, μπορούν να επηρεάσουν την επιμήκη αύξηση των οστών, την οστική ανακατασκευή και την πύρωση των καταγμάτων. Οι δυνάμεις συμπίεσης αναστέλλουν την αύξηση, ενώ οι διατμητικές δυνάμεις τη διεγείρουν (5).

## 2) Φλοιώδες οστούν

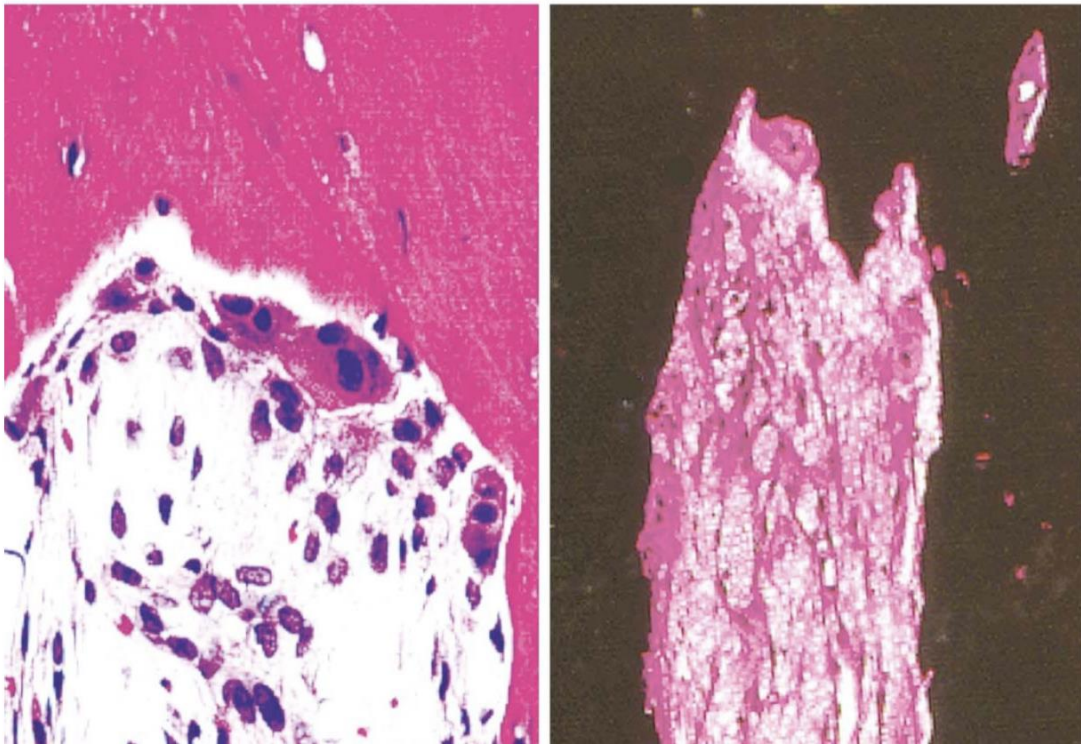
Το φλοιώδες οστούν αναδομείται μέσω της διεργασίας της «οστεοκλαστικής σήραγγοποίησης» ακολουθούμενη από στρωματοποίηση των οστεοβλαστών και αλληπάλληλη εναπόθεση στρωμάτων θεμέλιας ουσίας μέχρι το μέγεθος της οστεοκλαστικής σήραγγας να αποκτήσει τη διάμετρο του οστεώνα. Στην κορυφή της σήραγγας βρίσκονται οστεοκλάστες που διατρύπουν το σκληρό φλοιώδες οστό και ακολούθως βρίσκονται τριχοειδή αιμοφόρα αγγεία ακολουθούμενα από οστεοβλάστες που γεμίζουν τις σήραγγες οστικής απορρόφησης με οστεοειδές (5) (Εικόνα 4).

## 3) Σπογγώδες οστούν

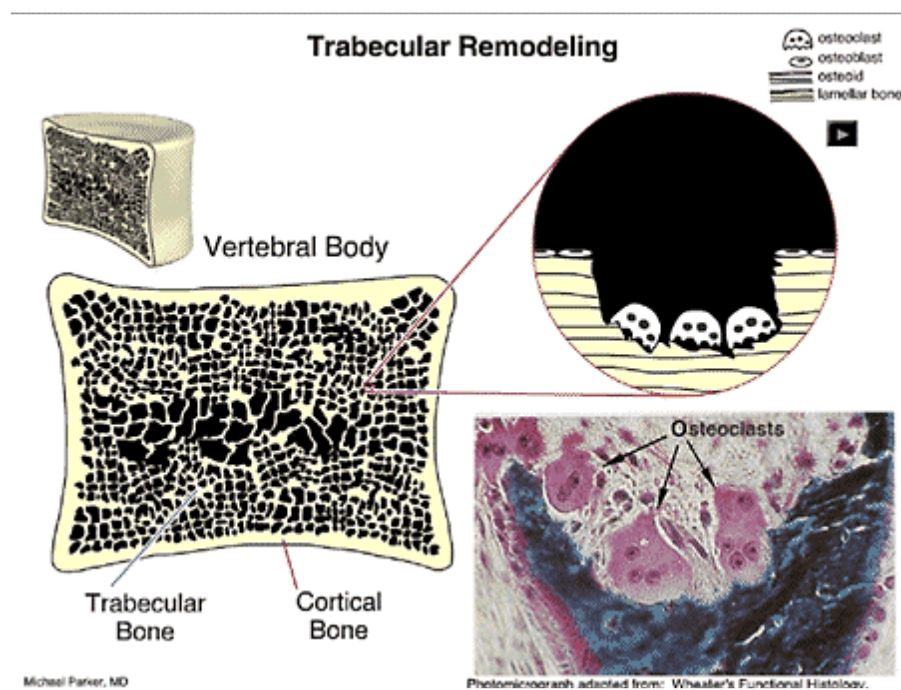
Το σπογγώδες οστούν αναδομείται μέσω οστεοκλαστικής απορρόφησης ακολουθούμενη από εναπόθεση νεοσχηματιζόμενου οστού από τις οστεοβλάστες (5) (Εικόνα 5).



**Εικόνα 3. Η διαδικασία της οστικής ανακατασκευής** {Πηγή: Οστική Ιστομορφομετρία: Γενικές αρχές και εφαρμογές Χ. Γιαννακόπουλος, Δ. Οικονομόπουλος, Γ.Π. Λυρίτης Εργαστήριο Έρευνας Παθήσεων του Μυοσκελετικού, Πανεπιστήμιο Αθηνών}.



**Εικόνα 4.** Μηχανισμός ανακατασκευής του φλοιώδους οστού μέσω της οστεοκλαστικής σφραγγοποίησης [Πηγή: Miller, Mark D., and Stephen R. Thompson. 2016. Miller's Review of Orthopaedics].



**Εικόνα 5.** Μηχανισμός ανακατασκευής του σπογγώδους [Πηγή: Γεώργιος Παν. Καμπάκης. Θεραπευτικά ζητήματα του οστικού μεταβολισμού. Σπογγώδες και φλοιώδες οστό: η διαφοροποίηση του ιστού προαναγγέλλει και τη δράση της διαφοροποίησης των αντιοστεοπορωτικών φαρμάκων;]



## 2. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΕΠΟΥΛΩΣΗΣ ΤΟΥ ΚΑΤΑΓΜΑΤΟΣ

Το οστόύν αποτελεί έναν ιστό ο οποίος διαθέτει την ικανότητα να επουλώνεται χωρίς τη δημιουργία ουλής. Σε αντίθεση με άλλους ιστούς η πλειονότητα των οστικών κακώσεων (κατάγματα) επουλώνεται χωρίς τη δημιουργία ουλώδους ιστού, το οστό αναγεννάται με τις προϋπάρχουσες ιδιότητές του και δεν υπάρχει διαφορά του νεοδημιουργηθέντος οστού από το παρακείμενο υγιές οστό (4). Όμως υπάρχουν περιπτώσεις επούλωσης καταγμάτων στις οποίες η οστική αναγέννηση επιδεινώνεται, όπως για παράδειγμα στα κατάγματα της κνήμης σημειώνεται καθυστερημένη πώρωση ή ψευδάρθρωση σε ποσοστό πάνω από 13% (12). Επίσης, έχει περιγραφεί μη πώρωση των καταγμάτων σε ένα ποσοστό της τάξης του 5% με 10 % ετησίως, ένας ρυθμός ο οποίος αυξάνεται με κάποιες συννοσηρότητες και την προχωρημένη ηλικία (12-16).

Οι διαδικασίες επούλωσης στην πώρωση ενός κατάγματος αφορούν τέσσερις διαφορετικούς ιστούς (13):

### 1) το μυελό των οστών

Η φυσιολογική αρχιτεκτονική του μυελού διαταράσσεται πλήρως στο σημείο του κατάγματος με ρήξη των αγγείων και μετά θρόμβωσή τους καθώς και επανοργάνωση των κυττάρων του μυελού σε περιοχές υψηλής (κυτταροβριθείς) και χαμηλής συγκέντρωσης. Στις κυτταροβριθείς περιοχές σημειώνεται μετατροπή των ενδοθηλιακών κυττάρων σε πολύμορφα κύτταρα με φαινότυπο οστεοβλαστών και τα οποία συνθέτουν οστόύν μόλις 24 ώρες από το κάταγμα.

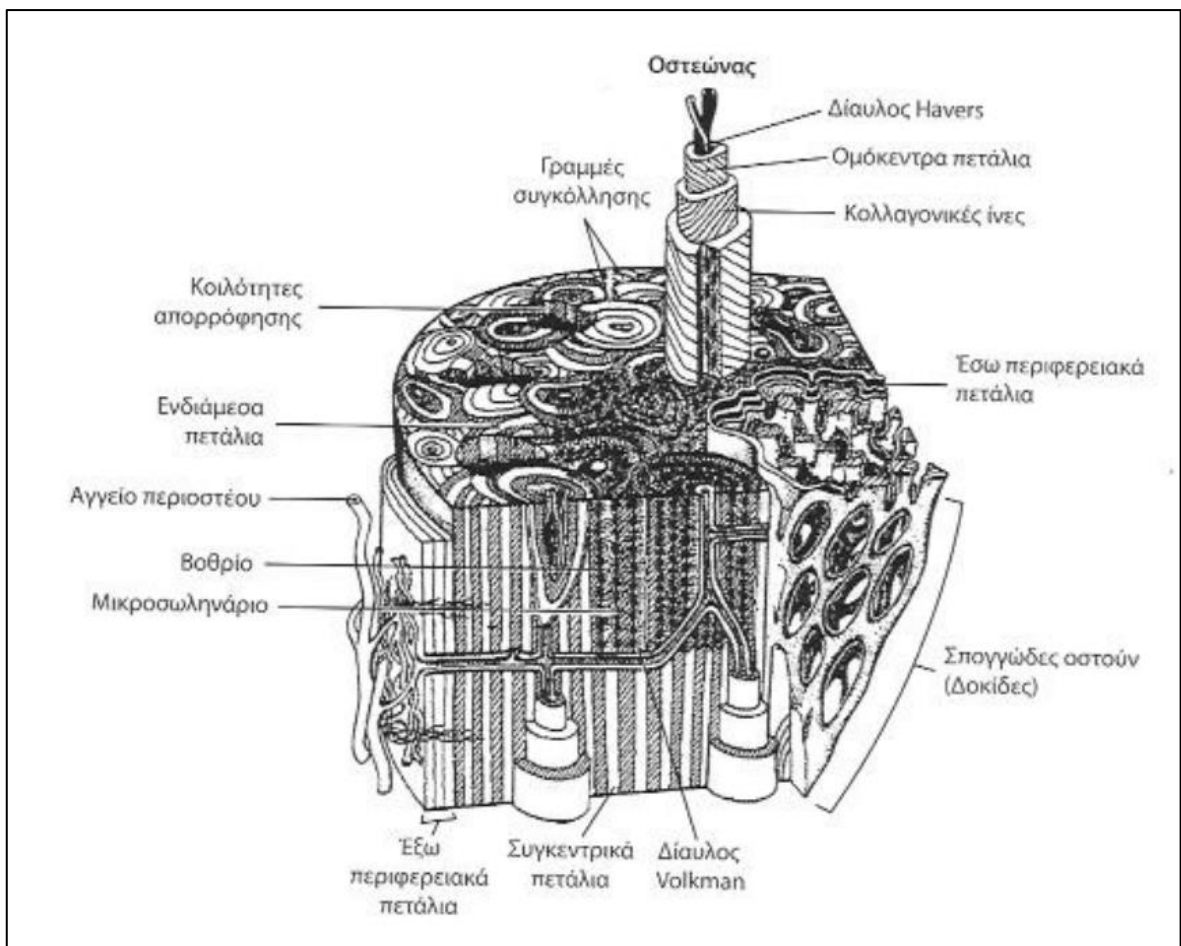
### 2) το φλοιό των οστών

Σε πρωτογενή πώρωση (απευθείας δημιουργία πεταλιώδους οστού) ενεργοποιούνται οι οστεοκλάστες και στις δύο πλευρές του κατάγματος δημιουργώντας ειδικές μονάδες οστικής επαναδιαμόρφωσης (τα λεγόμενα «κωνικά ρήγματα»). Τα κωνικά ρήγματα δημιουργούν νέα συστήματα Havers (οστεώνες) που επιτρέπουν τη διέλευση νέων αιμοφόρων αγγείων μέσα από την εστία του κατάγματος και συμβάλλουν στην παραγωγή νέου οστού (**Εικόνα 66**).

### 3) το περίοστεο

Είναι ο σημαντικότερος παράγοντας για την επιτυχή εξέλιξη της δευτερογενούς πώρωσης. Πρόδρομα κύτταρα της οστεοβλαστικής σειράς και αδιαφοροποίητα μεσεγχυματικά κύτταρα «επαναλαμβάνουν» τις ιστικές διεργασίες υμενογενούς και

χονδρογενούς οστεοποίησης. Η δευτερογενής πύρωση (σε αντίθεση με την πρωτογενή) ενισχύεται με τις μικροκινήσεις στην εστία του κατάγματος και αναστέλλεται με τη σταθερή οστεοσύνθεση. Το οστόν που παράγεται με τις διαδικασίες υμενογενούς οστεοποίησης βρίσκεται στην περιφέρεια της εστίας του κατάγματος, σχηματίζοντας το λεγόμενο σκληρό πώρο που με τη σειρά του θα μετατραπεί σε ώριμο οστίτη ιστό χωρίς να έχει προηγηθεί η δημιουργία χόνδρου. Στην περίπτωση αυτή, οι δομικές πρωτεΐνες οι οποίες έχουν σχέση με την οστική θεμέλια ουσία εμφανίζονται πολύ πρώιμα. Αντίθετα, το οστόν που σχηματίζεται με τη διαδικασία της χονδρογενούς οστεοποίησης βρίσκεται κοντά στην εστία του κατάγματος. Σ' αυτήν την περίπτωση, αρχικά δημιουργείται ένα χόνδρινο "εκμαγείο" που στη συνέχεια επιμεταλλώνεται και αντικαθιστάται από ώριμο οστίτη ιστό.



**Εικόνα 6.** Σωλήνας του Havers και τα αγγεία του [Πηγή: Γιαβροπούλου (2010) (2)].

4) τα μαλακά μέρη γύρω από το οστόν

Τα μαλακά μέρη γύρω από την εστία του κατάγματος παίζουν συμπληρωματικό αλλά και πολύ σημαντικό ρόλο στη δευτερογενή πύρωση. Με μεγάλη κυτταρική δραστηριότητα και δημιουργία πρώιμου πώρου γεφύρωσης των καταγματικών άκρων σταθεροποιείται το κάταγμα και υποβοηθείται η δευτερογενής οστεοποίηση μαζί με την περιουσιτική αντίδραση (13).

### **3. ΠΩΡΩΣΗ ΤΩΝ ΚΑΤΑΓΜΑΤΩΝ**

Η πρωτογενής και η δευτερογενής πώρωση είναι οι δύο τύποι ιστολογικής πώρωσης των καταγμάτων.

#### **3.1. ΠΡΩΤΟΓΕΝΗΣ ΠΩΡΩΣΗ**

Η πρωτογενής πώρωση γίνεται με την απευθείας παραγωγή πεταλιώδους οστού, απαιτεί τέλεια ανάταξη των καταγματικών άκρων και χαρακτηρίζεται μακροσκοπικά και ακτινολογικά από την εμφανή ανάπτυξη πώρου.

#### **3.2. ΔΕΥΤΕΡΟΓΕΝΗΣ ΠΩΡΩΣΗ**

Η δευτερογενής πώρωση γίνεται σε κατάγματα με παρεκτόπιση των καταγματικών άκρων και ύπαρξη μικροκινήσεων στην εστία του κατάγματος. Στη δευτερογενή πώρωση δημιουργείται αρχικά χόνδρινος ή ινώδης πώρος ο οποίος στη συνέχεια μετατρέπεται σε οστέινο. Διακρίνονται 6 στάδια δευτερογενούς πώρωσης.

Υπάρχει ανάγκη ρύθμισης της ομοιόστασης των οστών που πραγματοποιείται όχι μόνο από το μυοσκελετικό σύστημα αλλά και από άλλα βιολογικά συστήματα (17). Υπάρχουν διάφορα ρυθμιστικά μόρια που μοιράζονται από κοινού τόσο το σκελετικό όσο και το ανοσοποιητικό σύστημα όπως οι κυτοκίνες και τα μόρια σηματοδότησης, και έτσι το ανοσοποιητικό σύστημα βρίσκεται σε στενή σχέση με το οστικό σύστημα (17, 18). Αυτή η αλληλεπίδραση μεταξύ οστών, κυττάρων και συστατικών του ανοσοποιητικού συστήματος που εμπλέκονται στην αποκατάσταση των οστών, προσελκύει μεγάλο επιστημονικό ενδιαφέρον από ερευνητές και κλινικούς ιατρούς (19), καθώς είναι γνωστό ότι η επούλωση των καταγμάτων βρίσκεται υπό τον έλεγχο του ανοσοποιητικού συστήματος (17, 18).

#### **3.3. ΣΤΑΔΙΑ ΠΩΡΩΣΗΣ ΚΑΤΑΓΜΑΤΟΣ**

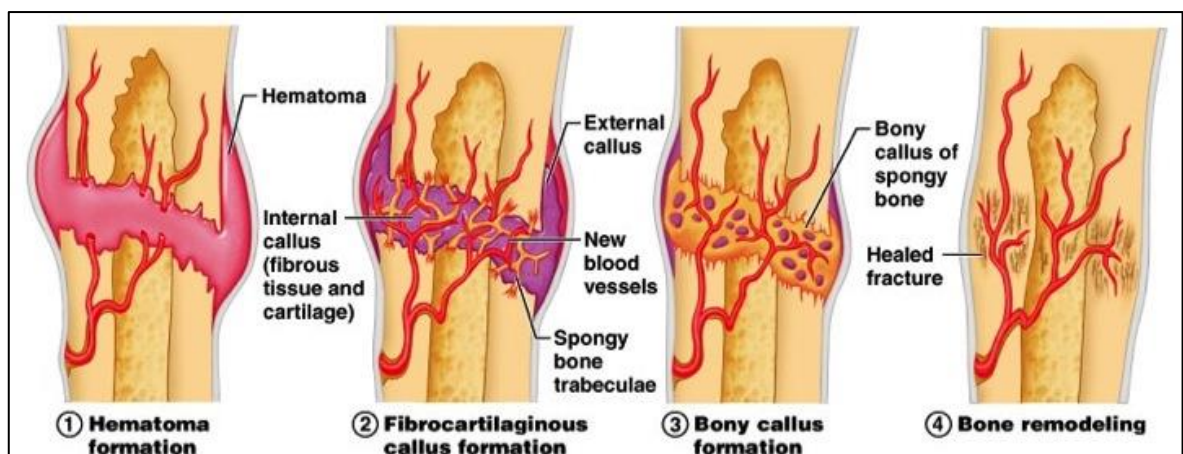
Η συνολική διαδικασία της πώρωσης του κατάγματος χωρίζεται σε τρία στάδια με βάση τις ιστολογικές μεταβολές που προκύπτουν κατά την διάρκεια της. Οι τρεις διαδοχικές φάσεις που αποτελούν τη διαδικασία επούλωσης του κατάγματος παραμένουν ανεξάρτητες μεταξύ τους. Αυτές οι φάσεις είναι οι παρακάτω: φλεγμονή, επιδιόρθωση και αναδιαμόρφωση (Εικόνα 7). Μια τοπική φλεγμονώδης απόκριση ξεκινά τη διαδικασία επούλωσης του κατάγματος η οποία με τη σειρά της οδηγεί στις φάσεις αναδιαμόρφωσης και επιδιόρθωσης (20).

Στάδιο της φλεγμονής: Αυτό αποτελεί την αρχική φάση της διαδικασίας επούλωσης και προκύπτει αμέσως μετά το κάταγμα. Από την αιμορραγία στην περιοχή δημιουργείται αιμάτωμα το οποίο προσφέρει την απαραίτητη αρχική μηχανική σταθερότητα στα καταγέοντα άκρα (4, 21, 22). Επιπλέον, το αιμάτωμα αποτελεί πηγή αιμοποιητικών κυττάρων τα οποία εκκρίνουν αγγειοενεργούς μεσολαβητές, αυξητικούς παράγοντες και άλλες κυτοκίνες. Σε αυτό το αρχικό στάδιο οικογένειες αυξητικών παραγόντων, όπως οι αιμοπεταλιακοί (PDGFs) και οι μετατρεπτικοί (TGFβs) που απελευθερώνονται από τα αιμοπετάλια, συμβάλουν τα μέγιστα στην έναρξη της διαδικασίας πωρώσεως. Αυτό συμβαίνει καθώς οι παράγοντες αυτοί δύνανται να διεγείρουν τους ινοβλάστες, τα μεσεγχυματικά κύτταρα και τα πρόδρομα οστεοπαράγωγα κύτταρα στην περιοχή του κατάγματος ώστε να πολλαπλασιαστούν και να διαφοροποιηθούν ανάλογα (21, 22). Άλλες πηγές αυξητικών παραγόντων αποτελούν τα οστεοκύτταρα και η θεμέλιος ουσία που βρίσκεται στην περιοχή του κατάγματος. Επιπλέον, μακροφάγα και άλλα κύτταρα φλεγμονής μπορούν να εκκρίνουν FGFs, PDGFs και TGFβs και ποικιλία κυτοκινών όπως οι ιντερλευκίνες (ILs) (4). Όλοι οι ανωτέρω αυξητικοί παράγοντες επηρεάζουν την κυτταρική μετανάστευση, πολλαπλασιασμό, διαφοροποίηση, απόπτωση και σύνθεση της θεμέλιας ουσίας. Τα μακροφάγα, τα πολυμορφοπύρηνα (PMNs) και τα μαστοκύτταρα καταφθάνουν στην περιοχή εντός 48 ωρών και αρχίζουν την διαδικασία απομάκρυνσης –φαγοκύτωσης του κατεστραμμένου και νεκρού ιστού. Σε αυτό το αιμάτωμα, διεισδύουν διάφορα ανοσοκύτταρα, συμπεριλαμβανομένων ουδετερόφιλων, μακροφάγων και λεμφοκυττάρων (23). Αυτά τα κύτταρα θεωρείται ότι ενεργοποιούνται από μόρια που προέρχονται από τους τραυματισμένους ιστούς και μετά την ενεργοποίησή τους τα κύτταρα αυτά, απελευθερώνουν προ-φλεγμονώδεις κυτοκίνες στη θέση του τραύματος για να προκαλέσουν οξεία φλεγμονή (17).

Στάδιο επιδιόρθωσης: Τα αδιαφοροποίητα μεσεγχυματικά κύτταρα τα οποία μεταναστεύουν στην περιοχή του κατάγματος από την 3<sup>η</sup> περίπου ημέρα μετά το κάταγμα, έχουν την ικανότητα να παράγουν κολλαγόνο τύπου II δημιουργώντας ένα ινοελαστικό πώρο που προσφέρει γεφυρώση στα καταγέοντα άκρα. Ο ινοελαστικός αυτός πώρος χαρακτηρίζεται ως «μαλακός» πώρος και παρέχει μια αρχική σταθερότητα στα καταγέοντα άκρα η οποία είναι απαραίτητη. Ο σχηματισμός του πώρου διαρκεί περίπου 2 εβδομάδες ώστε να γεφυρώσει τα καταγέοντα άκρα. Κατά τη διάρκεια αυτού του σταδίου προκαλείται τοπική αγγειοδιαστολή και

νεοαγγειογένεση μέσω αγγειοενεργοποιητικών παραγόντων, όπως το νιτρικό οξύ (NO) και ο ενδοθηλιακός παράγοντας προαγωγής της αγγειογένεσης. Το ποσό του αρχικού πύρου που σχηματίζεται τοπικά είναι αντίστροφος ανάλογο του βαθμού της ακινητοποίησης των καταγεόντων άκρων. Εάν τα καταγεόντα άκρα δεν έχουν επαρκή επαφή, μέσω ανατομικής ανάταξης, η γεφύρωση από ινοελαστικό πύρο δεν επιτυγχάνεται. Στο τέλος του σταδίου ο «μαλακός» πύρος αντικαθίσταται μέσω της ενδοχόνδριας οστεοποίησης από «ικρίωμα» οστίτη ιστού σε ινοελαστικό πύρο που ονομάζεται «σκληρός» πύρος. Αυτός ο σκληρός πύρος υφίσταται περαιτέρω αναδιαμόρφωση από οστεοκλάστες και οστεοβλάστες προκειμένου να αποκατασταθεί το αρχικό του σχήμα αλλά και η λειτουργία του οστού χωρίς σχηματισμό ουλών (17, 23-25).

Στάδιο ανακατασκευής του οστού: Το στάδιο της ανακατασκευής του οστού και το στάδιο επιδιόρθωσης αλληλοεπικαλύπτονται με το στάδιο ανακατασκευής να συνεχίζει επί μακρόν μετά την πύρωση του κατάγματος. Η διαδικασία μπορεί να διαρκέσει μήνες ή ακόμη και πέρα από χρόνο στους ενήλικες. Η ανακατασκευή επιτρέπει στο οστό να επανακτήσει το σχήμα και την δομή του, ένα φαινόμενο που καθορίζεται επίσης από τα φορτία που επιδρούν πάνω του (όπως περιγράφει ο νόμος του Wolff). Κατά την διάρκεια αυτής της διαδικασίας το άφυο οστό που είχε αρχικά σχηματιστεί στο στάδιο της οστικής επιδιόρθωσης αντικαθίσταται από πεταλιώδες οστό. Η διαδικασία της πύρωσης συμπληρώνεται όταν αποκατασταθεί και ο οστικός μυελός και ασβεστοποιηθεί το νεοσχηματισμένο πεταλιώδες οστό.



**Εικόνα 7.** Στάδια πύρωσης καταγμάτων [Πηγή: <https://www.orthobullets.com/basic-science/9009/fracture-healing>].

#### **4. ΟΙ ΣΚΕΛΕΤΙΚΟΙ ΑΥΞΗΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΑΙ Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥΣ ΣΤΗΝ ΠΥΡΩΣΗ ΤΩΝ ΚΑΤΑΓΜΑΤΩΝ**

Οι αυξητικοί παράγοντες και οι ειδικοί τους υποδοχείς εκφράζονται στην περιοχή του κατάγματος, διαδραματίζοντας σημαντικό ρόλο στην παθοφυσιολογία της πώρωσης του κατάγματος. Οι παράγοντες αυτοί αποτελούν εξωκυττάρια σηματοδοτικά μόρια σε κυτταρικό επίπεδο, τα οποία συμμετέχουν στην αυτοκρινή, παρακρινή και ενδοκρινή βιορύθμιση των ιστών και οργάνων. Η δράση τους σε κυτταρικό επίπεδο είναι αποτέλεσμα της πρόσδεσης τους σε συγκεκριμένους υποδοχείς οι οποίοι αποτελούν μεγάλες διαμεμβρανικές πρωτεΐνες σε κύτταρα στόχους. Οι υποδοχείς αυτοί μεταβιβάζουν σήματα μέσω συγκεκριμένων ενδοκυττάρων οδών ικανών να ρυθμίζουν την γονιδιακή έκφραση και κατά συνέπεια να τροποποιούν τον πολλαπλασιασμό, λειτουργία, διαφοροποίηση και απόπτωση των κυττάρων.

Κατά την διάρκεια της πώρωσης, οι αυξητικοί παράγοντες βρίσκονται σε αυξημένα επίπεδα μέσα και γύρω από την καταγματική εστία επηρεάζοντας τη διαδικασία. Οι αυξητικοί παράγοντες εκφράζουν την κυτταρική τους δράση δεσμευόμενοι σε συγκεκριμένους υποδοχείς οι οποίοι αποτελούν μεγάλες διαμεμβρανικές πρωτεΐνες σε κύτταρα στόχους. Οι υποδοχείς αυτοί λειτουργούν ως διαβιβαστές πληροφοριών μετατρέποντας τις πληροφορίες – εντολές που μεταφέρονται από τους αυξητικούς παράγοντες σε μορφή ενδοκυτταρικών χημικών αντιδράσεων. Οι αντιδράσεις αυτές πραγματοποιούνται μέσω συγκεκριμένων ενδοκυτταρικών οδών και διεργασιών με την μορφή «δευτεροβάθμιων διαβιβαστών» (χημικές αντιδράσεις μέσα στο κυτταρόπλασμα).

Συχνά η διαδικασία αυτή ενεργοποιεί ταυτόχρονα διαφορετικά γονίδια έτσι ο ίδιος αυξητικός παράγοντας μπορεί να προκαλέσει διάφορες ενέργειες ακόμη και εντός του ίδιου κυττάρου.

Σε κυτταρικό επίπεδο η οδός ενδοκυττάριας μεταβίβασης των σημάτων “οδός μεταγωγής σήματος” αναφέρεται στην διακίνηση του μηνύματος από την κυτταρική μεμβράνη “ενεργοποίηση του υποδοχέα” ,δια του κυτταροπλάσματος και προς τον πυρήνα του κυττάρου όπου γίνεται η τροποποίηση της μεταγραφής . Οι χημικές διεργασίες που μεταγούν σήματα από αυξητικούς παράγοντες περιλαμβάνουν κυρίως την φωσφορυλίωση από κινάσες της τυροσίνης και κινάσες της σερίνης – θρεονίνης. Η φωσφορυλίωση μπορεί να μεταβάλει την ενζυμική δράση και την πρωτεϊνική έκφραση. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα την μεταβολή της κυτταρικής δράσης όπως και της γονιδιακής έκφρασης στα κύτταρα στόχους.

Η ενδοκυττάρια οδός επαγωγής σημάτων που εκφράζεται μέσω της κινάσης της τυροσίνης ενεργοποιείται από υποδοχείς αυξητικών παραγόντων όπως ο υποδοχέας του αιμοπεταλιακού αυξητικού παράγοντα (PDGF.Rs), των ινσουλινομιμητικών αυξητικών παραγόντων (IGF.Rs), του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (EGF.Rs) και του ινοβλαστικού αυξητικού παράγοντα (FGF.Rs).

Η ενδοκυττάρια οδός μεταγωγής σημάτων που εκφράζεται μέσω ενεργοποίησης των υποδοχέων με δράση σερίνης – θρεονίνης ενεργοποιείται από υποδοχείς όπως της ενεργοποιητίνης (R) και της οικογένειας των μετατρεπτικών αυξητικών παραγόντων (TGFβ.Rs). Οι υποδοχείς με δράση κινάσης της τυροσίνης (RTKs) αποτελούν διαμεμβρανικές πρωτεΐνες που συνιστώνται από 4 βασικά τμήματα, μια εξωκυττάρια περιοχή του προσδεδεμένου μορίου, μια διαμεμβρανική περιοχή, μια ενδοκυττάρια λειτουργική περιοχή και μια περιοχή μεταγωγής του σήματος. Οι αλληλουχίες αμινοξέων των περιοχών της κινάσης της τυροσίνης RTKs είναι σχεδόν ταυτόσημες με αυτές της πρωτεΐνης κινάσης του cAMP (PKA).

Οι υποδοχείς αυτοί έχουν τμήματα τυροσίνης που αμέσως μετά την φωσφορυλίωση αντιδρούν με άλλες πρωτεΐνες της οδού επαγωγής ενδοκυττάριαων σημάτων και περιέχουν αλληλουχία αμινοξέων ομόλογη με αντίστοιχη που αναγνωρίστηκε στο c-Src πρωτοογκογονίδιο (SH2 τομείς). Το αποτέλεσμα της φωσφορυλίωσης του SH2 είναι η αναστολή της ενζυμικής του δράσης (είτε θετικά, είτε αρνητικά). Μια άλλη περιοχή που αναγνωρίζεται σε διάφορες πρωτεΐνες που συμμετέχουν στην επαγωγή σημάτων σχετίζεται με το c-Src και αναγνωρίζεται ως ο τομέας SH3.

Οι υποδοχείς που δρουν μέσω κινάσης σερίνης – θρεονίνης (PTKs) μπορούν να ενισχύσουν ή να αναστείλουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό ή διαφοροποίηση και οι ενδοκυττάρια οδοί μεταγωγής σημάτων που χρησιμοποιούν είναι διαφορετικές από αυτές των υποδοχέων με δράση μέσω κινάσης της τυροσίνης.

Μια άλλη πυρηνική πρωτεΐνη που εμπλέκεται στην κυτταρική απάντηση είναι το πρωτοογκογονίδιο c-Myc το οποίο ευθέως επηρεάζει την έκφραση γονιδίων τα οποία κωδικοποιούν παράγοντες πρόσδεσης του. Οι κινάσες τύπου MAP έχουν αναγνωριστεί από την ικανότητα ενεργοποίησής τους σε κυτταροκαλλιέργειες ως απάντηση στην διέγερση από αυξητικούς παράγοντες. Όλες αυτές οι πρωτεΐνες έχουν παρόμοιες βιοχημικές ιδιότητες, παρουσιάζουν διασταυρούμενες ανοσοϊστοαντιδράσεις, αλληλουχίες αμινοξέων και ικανότητα φωσφορυλίωσης ομοίων υποομάδων, *in vitro*. Οι κινάσες τύπου MAP διαδραματίζουν ρόλο



συνδέσμου-κρίκου, ανάμεσα στις ενδοκυττάρειες οδούς που εκφράζονται μέσω κινάσης της τυροσίνης και κινάσης της σερίνης/θρεονίνης. Οι κινάσες αυτές όμως δεν ενεργοποιούνται από τις κινάσες της τυροσίνης αλλά από μια επιπλέον τάξη κινασών που ονομάζονται κινάσες της MAP κινάσης (MAPK κινάσες) και κινάσες των κινασών της MAPK κινάσης (MAPKK κινάσες).

Αυξητικοί παράγοντες που εμπλέκονται στα στάδια της οστικής πώρωσης περιλαμβάνουν τους TGFβ<sub>1</sub> και TGFβ<sub>2</sub>, τους ινσουλινομιμητικούς αυξητικούς παράγοντες I και II (IGF I και IGF II), τους PDGFs, FGF1 (όξινος) και FGF2 (βασικός), τον παράγοντα νέκρωσης των όγκων (TNFα), τις κυτοκίνες (ιντερλευκίνες) και 7 ξεχωριστές μορφογενετικές πρωτεΐνες (BMPs), ειδικότερα τις BMP-2, BMP-3, BMP-4 και BMP-7 (OP-1). Η αλληλουχία της έκφρασης των αυξητικών παραγόντων τοπικά ή η μεταφορά τους στην περιοχή του κατάγματος είναι ανάλογη με το ιστολογικό στάδιο της διαδικασίας της πώρωσης. Για παράδειγμα, η έκφραση του TGFβ<sub>1</sub> είναι υψηλή κατά την χονδρογένεση και την ενδοχόνδρια οστεοποίηση αλλά περιορισμένη κατά την ενδομεβρανώδη οστεοποίηση. Άμεσες εξωκυττάρειες πηγές του TGFβ<sub>1</sub> είναι τα αιμοπετάλια που σχηματίζουν το αιμάτωμα. Ωστόσο ενδοκυττάρειος παραγωγή δεν παρατηρείται. Η αυξημένη συγκέντρωση των αυξητικών παραγόντων είναι ικανή να επιταχύνει την διαδικασία της πώρωσης. Μιτογόνοι αυξητικοί παράγοντες όπως ο TGFβ<sub>1</sub> και η IL-6 μπορούν να διεγείρουν την οστική επαναρρόφηση μέσω ενεργοποίησης πρόδρομων και ώριμων οστεοκλαστών που ακολουθείται όμως από οστική παραγωγή λόγω ενεργοποίησης ταυτόχρονα και πρόδρομων οστεοβλαστών (26).

#### **4.1. Ινσουλινομιμητικοί αυξητικοί παράγοντες (IGFs)**

Η αυξητική ορμόνη (GH), που κύρια συμμετέχει στην ρύθμιση της σκελετικής αύξησης, απελευθερώνεται από τον πρόσθιο λοβό της υπόφυσης ως απάντηση στους υποθαλαμικές, ορμόνες ρυθμιστές της. Με την απελευθέρωσή της από την υπόφυση, ή GH μεταφέρεται μέσω της κυκλοφορίας στο συζευκτικό χόνδρο και στο ήπαρ όπου τα κυτταρικά στόχοι διεγείρονται και απελευθερώνουν IGFs. Έχουν αναγνωριστεί δύο τύποι IGFs, ο IGF I και ο IGF II εκ των οποίων ο IGF I αποτελεί κύριο αυξητικό παράγοντα στην μεταεμβρυϊκή ζωή, ενώ ο IGF II φαίνεται να εμφανίζει τις αυξητικές του ιδιότητες κυρίως στο έμβρυο. Τόσο ο IGF I όσο και ο IGF II εμφανίζουν παρόμοιες βιολογικές ιδιότητες. Εφόσον η GH και οι IGFs δραστηριοποιούνται στην διαδικασία της σκελετικής ανάπτυξης ο ρόλος τους στην

επιδιόρθωση και ανακατασκευή του οστίτη ιστού αποτέλεσε σημείο ιδιαίτερου ενδιαφέροντος στην ανάλυση της παθοφυσιολογίας της πώρωσης των καταγμάτων (27).

Ο IGF I (σωματομεδίνη C) παράγεται βασικά αλλά όχι αποκλειστικά στο ήπαρ σε απάντηση στην GH. Παρά ταύτα πέραν της GH εξαρτώμενης παραγωγής του IGF-I έχουμε και παραγωγή IGFs από όργανα εκτός του ήπατος. Τέτοια όργανα είναι οι μύες, οι χόνδροι, τα οστά, το ήπαρ, οι νεφροί, τα νεύρα, το δέρμα και οι πνεύμονες. Ο IGF I έχει πέραν της ενδοκρινούς και δράση αυτοκρινική και παρακρινική (28).

Ο IGF II εκφράζεται σχεδόν κατά αποκλειστικότητα σε εμβρυικούς και νεογνικούς ιστούς. Ο υποδοχέας του IGF II είναι πανομοιότυπος με τον υποδοχέα της μάνωσης 6 – φωσφατάσης. Οι οστεοβλάστες και οστεοκλάστες εμφανίζουν τύπου II IGF / μάνωση – 6 - φωσφατάση υποδοχείς και πρόσφατα στοιχεία καταδεικνύουν ότι ο IGF II μπορεί να επιδρά στα κύτταρα του οστίτη ιστού μέσω αυτού του τύπου II υποδοχέα IGF.R. Δύο τύποι υποδοχέων IGF.R ο τύπος I και τύπος II εκφράζονται από ποικιλία ιστών και κυτταρικών καλλιιεργειών (29).

Ο τύπος I IGF.R αποτελεί σύμπλεγμα 4 ξεχωριστών μορίων που συνδέονται με δισουλφιδικούς δεσμούς 2 α υποομάδες και 2 β υποομάδες. Τα ενδοκυττάρια τμήματα των β υποομάδων και τα C τελικά τμήματα παρουσιάζουν δράση κινάσης της τυροσίνης. Η δέσμευση του IGF I στις α υποομάδες διεγείρει την κινάση της τυροσίνης η οποία με τη σειρά της φωσφορυλιώνει την απέναντι βήτα υποομάδα ενεργοποιώντας την. Η αλληλουχία αυτή των αντιδράσεων οδηγεί τελικά σε μια ή περισσότερες κυτταρικές απαντήσεις που περιλαμβάνουν τον κυτταρικό διαχωρισμό και την σύνθεση θεμέλιας ουσίας. Ο υποδοχέας τύπου I IGF.R παρουσιάζει μεγαλύτερη τάση δέσμευσης για τον IGF I. Δεσμεύει επίσης και τον IGF II και την ινσουλίνη αλλά με μικρότερη τάση (27, 30, 31).

Ο τύπος II IGF.R αποτελείται από μια μόνη πολυπεπτιδική αλυσίδα με μοριακό βάρος 250 kDa. Ο τύπος II IGF.R στερείται ενδογενούς δράσης κινάσης της τυροσίνης και εμφανίζει την μεγαλύτερη τάση δέσμευσης για τον IGF II. Δεσμεύει επίσης τον IGF I αλλά με μικρότερη τάση δέσμευσης, παρά ταύτα δεν δεσμεύει την ινσουλίνη (30).

Οι IGFs γενικότερα δεσμεύονται από τις δεσμευτικές πρωτεΐνες των IGFs (IGFBPs), μια οικογένεια πρωτεϊνών που δεν είναι υποδοχείς αλλά συμπεριφέρονται σαν

ρυθμιστές της βιολογικής δράσης των IGFs, δεσμεύοντάς τους. Από αυτές, 6 έχουν εκτενώς μελετηθεί (IGFBP-1 έως IGFBP-6). Μία λειτουργία των IGFBPs είναι να λειτουργούν ως πρωτεΐνες μεταφοράς για τις IGFs. Η δεύτερη λειτουργία των IGFBPs είναι να τροποποιούν τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των IGFs και IGF.Rs (32).

Αριθμός μελετών με διάφορα μοντέλα έχει δείξει ότι τόσο ο IGF I όσο και ο IGF II μπορούν να διεγείρουν τον πολλαπλασιασμό της οστεοβλαστικής σειράς και να τροποποιήσουν λειτουργίες όπως την έκφραση του κολλαγόνου τύπου I (33). Όταν οι ενδογενείς δραστηριότητες των IGF αναστέλλονται από IGF αντισώματα έναντι των υποδοχέων IGF.R, ή μέσω δράσης των IGFBPs, ο πολλαπλασιασμός των οστεοβλαστών και η σύνθεση του κολλαγόνου ελαττώνεται (34). Η έκφραση των IGFs είναι σχετικά υψηλή σε κύτταρα που απομονώνονται από το περιόστεο, τον συζευκτικό χόνδρο, σε κύτταρα που συμμετέχουν σε διαδικασία πύρωσης κατάγματος ή στην δημιουργία έκτοπου οστίτη ιστού. Το παραπάνω φανερώνει ότι οι IGFs από μόνοι τους ή σε συνδυασμό με άλλους αυξητικούς παράγοντες συμβάλλουν στις διαδικασίες της οστικής ανάπτυξης, κατασκευής και ανακατασκευής διεγείροντας τον πολλαπλασιασμό, την διαφοροποίηση και την απόπτωση των πρόδρομων οστεοβλαστών. Επιπλέον οι IGFs είναι σημαντικοί ως διαμεσολαβητές των επιδράσεων των συστηματικών ορμονών στην παραγωγή οστού όπως και των μηχανικών φορτίων στην παραγωγή οστού. Ο IGF I σε μελέτες οδήγησε σε αύξηση την παραγωγή φλοιώδους και σπογγώδους οστού. Τα αποτελέσματα όμως της δράσης της IGF I σχετίζονταν με την ηλικία των πειραματόζων (26, 33, 35, 36).

Άλλες μελέτες κατέληξαν ότι η χορήγηση IGF I ενισχύει την ανάπτυξη των οστεοβλαστικών κυττάρων, αυξάνει την παραγωγή σπογγώδους οστού και τμηματικά αποτρέπει την απώλεια σπογγώδους οστού στο μοντέλο με ακινητοποιημένους αρουραίους. Τα παραπάνω στοιχεία αυτά υποστηρίζουν την υπόθεση ότι ο IGF I είναι ο εκφραστής της επίδρασης της φόρτισης στην παραγωγή οστού (37). Πέραν αυτών μια άλλη μελέτη έδειξε ότι σε δοκιμή μηχανικής αντοχής, κάμψης 3 σημείων που εφαρμόστηκε 40 ημέρες μετά το κάταγμα, η θεραπευτική δόση των 10,0 mg GH προκάλεσε αύξηση της οδού θραύσης, την σκληρότητα και είχε ως αποτέλεσμα την αυξημένη δυνατότητα απορρόφησης ενέργειας (38).

Σημαντικά είναι επίσης τα αποτελέσματα που περιγράφηκαν σε μελέτη με οστεοτομίες κνήμης οι οποίες σταθεροποιήθηκαν με εξωτερική οστεοσύνθεση σε 27

σκελετικά ώριμους αρουραίους.. Ενώ, οι αρουραίοι στους οποίους χορηγήθηκε GH είχαν υψηλότερα επίπεδα ορού της IGF I από ότι η ομάδα που έλαβε placebo (μάρτυρες), δεν υπήρξε συσχέτιση των επιπέδων ορού του IGF I και των αποτελεσμάτων των εμβιομηχανικών δοκιμών (39).

Μελέτη με πειραματόζωα με κρανιακό έλλειμμα έδειξε ότι η IGF I έχει την δυνατότητα να επιταχύνει την αποκατάσταση των οστικών ελλειμμάτων. Παρόλα αυτά, υπάρχουν ακόμα αντιφατικά αποτελέσματα και είναι δύσκολο να καθοριστεί ο ακριβής ρόλος είτε της GH είτε των IGFs στην διαδικασία της οστικής πώρωσης, *in vivo* (40).

#### **4.2. Αιμοπεταλιακοί αυξητικοί παράγοντες (PDGFs)**

Ο αιμοπεταλιακός αυξητικός παράγοντας (PDGF) έχει παρατηρηθεί σε *in vitro* μελέτες ότι είναι ικανός να διεγείρει την ανάπτυξη των ινοβλαστών. Αποτελείται από 2 ξεχωριστές πολυπεπτιδικές αλυσίδες A και B που σχηματίζουν ομοδιμερή (AA ή BB) ή ετεροδιμερή (AB) μόρια. Συνεπώς υπάρχουν τρεις ισομορφές του PDGF, οι PDGF AA, PDGF BB και PDGF AB. Ο PDGF αρχικά απομονώθηκε στα αιμοπετάλια αλλά εκφράζεται επίσης και σε σκελετικά και αγγειακά κύτταρα κάτι που δείχνει ότι μπορεί να δρα συστηματικά αλλά και να έχει ρόλο τοπικού ρυθμιστή στον κυτταρικό μεταβολισμό και ανάπτυξη. Ο PDGF βρίσκεται κυρίως αποθηκευμένος στα κυκλοφορούντα αιμοπετάλια και δραστηριοποιείται με την αποκοκκίωση τους, έχοντας ρόλο στην ιστική επούλωση και οστική πώρωση. Τα γονίδια των PDGF A και PDGF B εκφράζονται από κύτταρα με οστεοβλαστικό φαινότυπο. Παραταύτα τα επίπεδα έκφρασης του PDGF στο ώριμο οστό είναι σχετικά χαμηλά και φαίνεται ότι υπάρχει μεγαλύτερη έκφραση του PDGF A από ότι του γονιδίου του PDGF B στους οστεοβλάστες (41-43).

Ο PDGF AA, AB και BB έχουν παρόμοιες βιολογικές δραστηριότητες επί του οστού. Ωστόσο ο PDGF BB έχει ισχυρότερη δράση σε σχέση με τον PDGF AA, ενώ ο PDGF AB εμφανίζει ενδιάμεση δραστικότητα. Η πρωταρχική δράση του PDGF στο οστό είναι η πυροδότηση της σύνθεσης του DNA και του κυτταρικού πολλαπλασιασμού. Δύο PDGF υποδοχείς ονομαζόμενοι τύπος α και τύπος β που ανήκουν στην οικογένεια των υποδοχέων με δράση κινάσης της τυροσίνης εκφράζονται από τα κύτταρα της οστεοβλαστικής σειράς. Οι αλυσίδες του PDGF A δεσμεύονται από τον τύπο α ενώ οι αλυσίδες του PDGF B από τον τύπο α και τον τύπο β (44, 45). Οι ενεργοποιημένοι PDGF υποδοχείς μπορούν να διεγείρουν διάφορες οδούς

μεταγωγής σημάτων, συμπεριλαμβανόμενες εκείνες που εξαρτώνται από το PKC, την πρωτεϊνική κινάση A, και τις ενδοκυττάρειες μεταβολές του  $Ca^{++}$  (46). Οι οδοί μεταγωγής σημάτων που εμπλέκονται στην απάντηση προς τους PDGFs είναι εξαρτώμενοι από τον κυτταρικό τύπο και διάφορα γονίδια ανταποκρίνονται σε διάφορες οδούς. Στα κύτταρα του οστίτη ιστού, ο PDGF εμφανίζεται να δρα με μηχανισμούς που εξαρτώνται από τα ιόντα  $Ca^{++}$  και PKC μια και δεν δρα μέσω του cAMP επί των κυττάρων της οστεοβλαστικής σειράς. Ο PDGF BB ενισχύει την αντιγραφή των PDGF α και β υποδοχέων κάτι που φανερώνει ένα θετικό μηχανισμό ανάδρασης στην έκφραση της βιολογικής δράσης των PDGFs (47). Αν και ο PDGF έχει υποτεθεί ότι παίζει σημαντικό ρόλο στην ιστική επούλωση και οστική πώρωση, υπάρχουν ελάχιστα δεδομένα για την συστηματική δράση του PDGF επί του οστίτη ιστού. Εκκρίνεται από τα αποκοκκιούμενα αιμοπετάλια κατά τα πρώιμα στάδια της οστικής επούλωσης και φαίνεται ότι συμβάλει στην κυτταρική χημειοταξία. Στο στάδιο της φλεγμονής – αιματώματος ο PDGF A είναι πιο άφθονος από τον PDGF B όπου και εμφανίζεται ως ομοδιμερές PDGF AA. Ο PDGF παράγεται από μακροφάγα που μεταναστεύουν στην περιοχή του κατάγματος σε απάντηση προς το τραύμα και την αρχική απελευθέρωση της ίδιας ουσίας από τα αιμοπετάλια. Αργότερα στο στάδιο της επιδιόρθωσης, η πρωτεΐνη του PDGF ανιχνεύεται στα πρώιμα και ώριμα χονδροκύτταρα και είναι κατά βάση ο PDGF A. Οι οστεοβλάστες παράγουν μόνο τον PDGF B, συνεπώς η δομή του PDGF BB είναι ο κύριος αιμοπεταλιακός παράγοντας στα κύτταρα αυτά (22).

### **4.3. Ινοβλαστικοί αυξητικοί παράγοντες (FGFs)**

Οι FGFs αποτελούν οικογένεια 9 πολυπεπτιδίων που χαρακτηρίζονται από υψηλή τάση δέσμευσης με τις θέσεις γλυκοσαμινογλυκάνης – ηπαρίνης στα κύτταρα και έχουν ρόλο στην αγγειογένεση και πολλαπλασιασμό των μεσεγχυματικών κυττάρων. Η οικογένεια των FGF αποτελεί μια από τις πιο σημαντικές ομάδες παράκρινων παραγόντων της ανάπτυξης. Δύο παράγοντες έχουν αναγνωριστεί από την βιολογική του δράση και έχουν ταυτοποιηθεί ως FGF 1 (όξινο – FGF, aFGF) και ο FGF2 (βασικός – FGF, bFGF) ενώ υπάρχει μεγάλος αριθμός μορίων που μοιάζουν με τους FGFs. Τα σκελετικά κύτταρα συνθέτουν και τον όξινο και το βασικό FGF και πιθανολογείται ότι έχουν σημαντική δράση στην ανάπτυξη. Μελέτες σε ασθενείς όπως και σε πειραματόζωα (αρουραίους) με αποκλεισμό “Knock out” γονιδίων έδειξαν τον πρωταρχικό ρόλο των FGFs στην ανάπτυξη του οστίτη και

νευρικού ιστού στα θηλαστικά. Οι FGFs επηρεάζουν θετικά την ανάπτυξη του οστίτη ιστού αλλά και των νευρικών κυττάρων τόσο του περιφερικού όσο και του κεντρικού νευρικού συστήματος (48-52).

Στα θηλαστικά υπάρχουν 5 τύποι γονιδίων για FGF υποδοχείς και έχουν ταυτοποιηθεί 4 διαφορετικοί τύποι υποδοχέων, όπως ο FGF.R1, FGF.R2, FGF.R3 και FGF.R4 [53-55]. Η δέσμευση του FGF στους υποδοχείς πραγματοποιείται με την βοήθεια πρωτεογλυκανών της ηπαρίνης ή της σουλφιδικής ηπαρίνης [50]. Οι πρωτεογλυκάνες της ηπαρίνης δρουν δεσμεύοντας διάφορα FGF μόρια μαζί σε μορφή δικτύου. Το δίκτυο αυτό ευοδώνει την δέσμευση των FGF στους FGF.Rs. Η κύρια οδός μεταφοράς σημάτων περιλαμβάνει σήματα που παράγονται μέσω του RAS/RAF, MEK και MAPK οδών (56).

Τόσο ο FGF 1 όσο και ο FGF 2 αναγνωρίζονται στα πρώιμα στάδια της επιδιόρθωσης του κατάγματος στον κοκκιωματώδη ιστό. Πολλά κύτταρα της φλεγμονής εκφράζουν τους FGFs, όπως τα μακροφάγα που είναι και η κύρια πηγή του FGF στον κοκκιωματώδη ιστό (22, 57). Οι FGFs εκφράζονται επίσης από τα μεσεγχυματικά κύτταρα, τα ώριμα χονδροκύτταρα και τους οστεοβλάστες και ενισχύουν την έκφραση των TGF β στους οστεοβλάστες. Ο FGF 1 είναι κυρίως μιτογόνο παράγοντας για τα χονδροκύτταρα και αυτό πιστοποιείται από την ποσοτική κορύφωση της έκφρασης του FGF 1 στην διάρκεια της χονδρογένεσης. Ο FGF 2 είναι σε γενικές γραμμές ισχυρότερος από τον FGF 1 και γι' αυτό έχει συγκεντρώσει απάνω του το μεγαλύτερο ενδιαφέρον όσον αφορά την έρευνα για την συμμετοχή του στην διαδικασία της πώρωσης του κατάγματος. Βρίσκεται αποθηκευμένος στην εξωκυττάρια θεμέλια ουσία και δεσμευμένος από τις πρωτογλυκάνες της σουλφιδικής ηπαρίνης. Οι πρωτεογλυκάνες αυτές δεσμεύουν τον FGF 2 εξασφαλίζοντας την διατήρηση του και διασφαλίζοντας την παρουσία του στα κύτταρα όταν παραστεί ανάγκη. Ο FGF 2 είναι επίσης ικανός να διεγείρει την οστική επαναρρόφηση, έτσι έχει την δυνατότητα να επηρεάζει διάφορες φάσεις της επιδιόρθωσης του κατάγματος. Ο ανασυνδυασμένος FGF 2 (rhFGF 2) έχει χρησιμοποιηθεί πειραματικά για την πώρωση ελλειμμάτων κνήμης σε αρουραίους και φαίνεται να εμφανίζει μια δοσοεξαρτώμενη επίδραση στον ρυθμό της πώρωσης, στον όγκο και στην οστική πυκνότητα του νεοσχηματισμένου οστού. Άλλες μελέτες με χρήση rhFGF 2 έδειξαν ότι επιταχύνει την οστική επιδιόρθωση και διεγείρει την ανακατασκευή του πώρου, κάτι που επαναφέρει τις εμβιομηχανικές ιδιότητες του οστού. Τα αποτελέσματα αυτών των ερευνών δείχνουν ότι οι FGFs μπορεί να

διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην διαδικασία πωρώσεως του κατάγματος (58-60).

Βέβαια υπάρχουν και ερευνητές που καταλήγουν σε διαφορετικά συμπεράσματα διαπιστώνοντας ότι ούτε ο FGF 1 ούτε ο FGF 2 ευοδώνει την πώρωση του κατάγματος σε αρουραίους (61). Εάν οι FGFs χορηγηθούν εντός 24ώρου μετά το κάταγμα, παρατηρείται αύξηση του μεγέθους του πώρου αποδεικνύοντας ότι μια μονή θεραπεία με FGFs είναι ικανή να διεγείρει τον σχηματισμό πώρου. Ωστόσο, αυτό φανερώνει όμως ότι το θεραπευτικό περιθώριο των αναβολικών ιδιοτήτων της εξωγενούς χορήγησης FGFs περιορίζεται στα αρχικά στάδια της πωρώσεως. Το γεγονός αυτό πιθανώς να οφείλεται στον ρόλο που διαδραματίζουν οι FGFs στον πολλαπλασιασμό των προδρομικών μεσεγχευματικών κυττάρων που εμφανίζονται εντός 3 ημερών γύρω από το κάταγμα (62).

#### **4.4. Μετατρεπτικοί αυξητικοί παράγοντες βήτα (TGFβs)**

Οι TGFβs αποτελούν πολυπαραγοντικές κυτοκίνες που ρυθμίζουν την ανάπτυξη και διαφοροποίηση πολλών τύπων κυττάρων. Εμφανίζουν ευρύ πεδίο δράσης στον οστίτη και συνδετικό ιστό όπως και στο ανοσοολογικό σύστημα. Η οικογένεια των TGFβs περιλαμβάνει πάνω από 100 διακριτές πρωτεΐνες, όλες με τουλάχιστον ένα τμήμα αλληλουχίας ομολόγων αμινοξέων προερχόμενο από ένα κοινό αρχέγονο γονίδιο. Η οικογένεια αυτή περιλαμβάνει τις ανασταλτίνες, τις ανασταλτικές ουσίες για τον πώρο του muller, τις ενεργοποιητίνες, τις οστικές μορφογενετικές πρωτεΐνες (BMPs) και τα προϊόντα του συμπλέγματος "MAD" της δροσόφιλας (63-66). Ο TGFβ παράγεται από τα οστικά κύτταρα και βρίσκεται σε υψηλή συγκέντρωση σε εγχυλίσματα οστίτη ιστού (67). Ο TGFβ εκκρίνεται από τα κύτταρα ή αποθηκεύεται στον οστίτη ιστό σαν ένα ανενεργό μακρομόριο μεγάλου μοριακού βάρους "latent – TGFβ" το οποίο ενεργοποιείται από ακραίες τιμές pH ή πρωτεολυτική δράση από ουσίες, όπως είναι ο ενεργοποιητής του πλασμινογόνου του τύπου της ουρακινάσης (uPA) (68-70). In vitro το όξινο pH ή η θερμότητα μπορεί να ενεργοποιήσουν το latent-TGFβ. Το γεγονός ότι ο TGFβ γίνεται βιολογικά δραστικός μετά την απελευθέρωσή του από latent-TGFβ αποτελεί καθοριστικό παράγοντα για την ρύθμιση της αυτοκρινούς του δράσης σε κυτταρικό επίπεδο. Ο οστίτης ιστός περιέχει μεγάλες ποσότητες ανενεργού συμπλέγματος latent-TGFβ και έχει ελάχιστο ενεργό TGFβ (69). Η ύπαρξη των δεσμευτικών πρωτεϊνών του TGFβ έχουν επίσης καθοριστικό ρόλο στον έλεγχο της δράσης του με αποτέλεσμα την

δημιουργία ενός σύνθετου συστήματος βιορύθμισης. Έχουν αναγνωρισθεί 5 ισόμορφες του TGFβ (TGFβ 1-5), οι οποίες είναι διμερείς και έχουν κοινές αλληλουχίες αμινοξέων (71). Υπάρχουν ποικίλοι τύποι υποδοχέων μεμβράνης που δεσμεύουν διάφορους παράγοντες TGFβ με διαφορετική χημική συγγένεια. Ωστόσο, όλοι οι υποδοχείς έχουν ενδογενή δράση κινάσης της σερίνης/θρεονίνης και συνεπώς ενισχύουν συγκεκριμένες οδούς μεταγωγής σημάτων (72).

Οι TGFβs απαντιούνται σε πολλούς ιστούς αλλά ιδιαίτερα στα κύτταρα του οστίτη ιστού, του χόνδρου και στα αιμοπετάλια. Απελευθερώνονται από τα αιμοπετάλια με τον σχηματισμό του αιματώματος. Η απελευθέρωσή τους σχετίζεται με τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων του περιosteού καθώς υπάρχει θετική ανοσοϊστοχημική χρώση για τον TGFβ1 στα αρχικά στάδια της πώρωσης του κατάγματος. Παραταύτα η εντονότερη χρώση προκύπτει στο στάδιο του κυτταρικού πολλαπλασιασμού του χόνδρου και της ενδοχόνδριας οστεοποίησης. Επίσης τα χονδροκύτταρα όπως και οι οστεοβλάστες είναι πλούσια σε υποδοχείς TGFβ στηρίζοντας την υπόθεση ότι η οικογένεια αυτή των αυξητικών παραγόντων επηρεάζει την πώρωση του κατάγματος σε όλα τα στάδια (22, 64, 73, 74).

Ο ρόλος του TGFβ στην επιδιόρθωση του κατάγματος έχει μελετηθεί σε πειραματικά μοντέλα με υποπεριοστικές ενέσεις στον μηρό και στα βρεγματικά οστά με κριτικού μεγέθους ελλείμματα καθώς και στην οστική ανάπτυξη μέσω εμφυτευμάτων (74, 75). Οι μελέτες αυτές καταλήγουν στο συμπέρασμα ότι ο TGF β1 μπορεί να διεγείρει τα περιosteικά κύτταρα σε ενδοχονδρική οστεοποίηση, να αυξήσει την μηχανική αντοχή, και να αυξήσει την ενδομεμβρανώδη παραγωγή οστού σε σταθερά κατάγματα. Τα αποτελέσματα των ερευνών αυτών ενισχύουν την υπόθεση ότι οι TGFβs παρότι ευοδώνουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό έχουν περιορισμένη οστεοεπαγωγική δυνατότητα. Η ικανότητα των TGFβs να διεγείρουν την οστική πώρωση πιθανόν να απαιτεί υψηλές δόσεις των παραγόντων αυτών. Συνεπώς με τα σημερινά δεδομένα οι TGFβs φαίνεται να έχουν πρακτικά ελάχιστη θεραπευτική εφαρμογή στην πώρωση του κατάγματος (76,77).

#### **4.5. Μορφογενετικές πρωτεΐνες των οστών (BMPs)**

Οι BMPs είναι μια ομάδα από τουλάχιστον 16 γνωστούς αυξητικούς παράγοντες που έχουν χαρακτηριστικά μεγάλη οστεοεπαγωγικότητα. Αποτελούν τους πλέον υποσχόμενους αυξητικούς παράγοντες για την θεραπευτική ενίσχυση της πώρωσης του κατάγματος. Η ομάδα μπορεί να υποδιαιρεθεί σε διάφορες κατηγορίες με βάση



την δομή των μελών τους (78). Διάφορες BMPs έχουν ταυτοποιηθεί και η ανασυνδυασμένη ανθρώπινη BMP έχει χρησιμοποιηθεί στην μελέτη του σχηματισμού των οστών τόσο in vitro όσο και in vivo. Η BMP2 έως και BMP7 έχουν δομική συγγένεια με τις TGFβs και είναι μέλη της TGFβ υπεροικογένειας. Τα γονίδια των BMPs κωδικοποιούν πρωτεΐνες με προκαθορισμένες περιοχές αμινοξέων όπως τις προ-TGFβ πρωτεΐνες αλλά οι BMPs δεν υπάρχουν σε ανενεργή μορφή “latent – BMPs” όπως οι TGFβs (79). Οι BMPs εμφανίζουν καθοριστικό ρόλο στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, την διαφοροποίηση και την απόπτωση διαφόρων κυττάρων κατά την ανάπτυξη, συμπεριλαμβανομένων των οστεοβλαστών και των χονδροκυττάρων. Οι BMPs παράγονται σε κύτταρα του αναπτυσσόμενου οστίτη ιστού, στον καταγματικό πύλο και στον έκτοπο οστίτη ιστό (80-82).

Οι υποδοχείς των BMPs αποτελούν επίσης μέλη μιας μεγάλης οικογένειας κινάσων, με δράση σερίνης/θρεονίνης που περιλαμβάνουν υποδοχείς για τους TGFβ, τις ενεργοποιητίνες και τις ανασταλτίνες (83). Οι υποδοχείς είναι δύο τύπων, ο τύπος I και τύπος II. Ο BMP υποδοχέας IA (BMP.R-IA), ο οποίος ονομάζεται επίσης υποδοχέας της ακτιβίνης με τη μορφή κινάσης (ALK-3), BMPR-IB ή ALK-6, και ο BMP.R-II. Αυτοί οι BMP υποδοχείς ομοιάζουν ως προς την δομή και λειτουργία με τους TGFβ.R αλλά και τους υποδοχείς της ακτιβίνης (ActRs) (84).

Όπως και με τους TGFβs, οι BMPs δεσμεύονται από τον υποδοχέα τύπου II και η δέσμευση αυτή οδηγεί σε νέα σύνδεση του συμπλέγματος με τον κατάλληλο υποδοχέα τύπου I, δημιουργώντας ένα ενεργό σύμπλεγμα. Αυτή η σύνδεση μπορεί να ανασταλεί από ανταγωνιστές των BMPs όπως είναι η νογκίνη και η χονδρίνη οι οποίες μπορούν να δεσμεύσουν τις BMPs και να εμποδίσουν την σύνδεση τους με τον υποδοχέα αναστέλλοντας έτσι την δράση τους. Τα μέλη της BMP οικογένειας εμφανίζουν διάφορους συνδυασμούς σύνδεσης με τους τύπο I και II υποδοχείς. Στην παρουσία του BMP τύπου II υποδοχέα ο BMP-4 δεσμεύεται από τον BMPR-IA και τον BMPR-IB με μεγάλη τάση δέσμευσης. Κάθε ετεροδιμερές σύμπλεγμα έχει δυνατότητα να προκαλεί άλλοτε άλλες κυτταρικές απαντήσεις. Η έκφραση των BMP υποδοχέων BMP.R-IA και BMP.R-IB αυξάνεται κατακόρυφα κατά την διάρκεια της πρώιμης μετακαταγματικής περιόδου στα κύτταρα του περισστέου πλησίον των καταγόντων άκρων. Τα επίπεδα των τιμών των BMP.R-IA και BMP.R-IB αυξάνονται επίσης στα πολλαπλασιαζόμενα και ωριμάζοντα χονδροκύτταρα την 7η ημέρα, αλλά δεν υπάρχουν αντίστοιχα υψηλές τιμές στα υπερτροφικά χονδροκύτταρα (85).

Η σηματοδότηση μέσω του BMP υποδοχέα όπως και με τους TGFβs γίνεται μέσω της οικογένειας των SMAD πεπτιδίων προκαλώντας έτσι ένα μεγάλο αριθμό κοινών οδών σηματοδότησης με τα άλλα μέλη της TGF-β οικογένειας (86, 87).

Ο βασικός ρόλος των BMPs στην πύρωση του κατάγματος αποτελεί η δράση τους ως ενεργοποιητές της διαφοροποίησης των πρόδρομων κυττάρων οστεοβλαστικής και μεσεγχυματικής σειράς, προς οστεοβλάστες και χονδροκύτταρα αντίστοιχα. Κατά τη διάρκεια της πύρωσης του κατάγματος οι BMPs που κυρίως εκφράζονται είναι η BMP-2, BMP-3 (οστεογενίνη), BMP-4 και BMP-7 (οστεογενετική πρωτεΐνη OP-1). Διάφορες μελέτες έδειξαν ότι οι BMPs εκφράζονται στα πρώιμα στάδια της πύρωσης του κατάγματος όπου σε μικρές ποσότητες απελευθερώνονται από τον εξωκυττάριο ιστό. Ενδιαφέρον είναι το γεγονός ότι ενώ οι ώριμοι οστεοβλάστες και τα χονδροκύτταρα δεν εκφράζουν συγκεκριμένα επίπεδα BMPs στο φυσιολογικό οστό, και τα δύο προκαλούν αύξηση των BMPs στα δευτερογενή στάδια της πύρωσης του κατάγματος (88, 89).

Μελέτες σε πειραματόζωα ανέδειξαν ότι οι BMPs είναι ικανές να προκαλέσουν πύρωση μεγάλων ελλειμμάτων που σε αντίθετη περίπτωση χωρίς την παρουσία τους δεν θα ήταν δυνατό να γίνει (90).

## 5. ΕΛΕΓΧΟΣ ΤΗΣ ΠΩΡΩΣΗΣ ΤΩΝ ΚΑΤΑΓΜΑΤΩΝ ΑΠΟ ΤΟ ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ

Η πώρωση των καταγμάτων υπόκειται στον έλεγχο του ανοσοποιητικού συστήματος. Το ανοσοποιητικό σύστημα θεωρείται κρίσιμο για αυτή τη διαδικασία επούλωσης καθώς στην αλυσίδα των γεγονότων που λαμβάνουν χώρα, η φλεγμονή προηγείται της οστικής αναγέννησης. Επιπλέον, έχει αναφερθεί ότι η οστική πώρωση καθυστερεί σε ασθενείς που λαμβάνουν ανοσοκατασταλτικούς παράγοντες και ότι η επίπτωση της ψευδάρθρωσης είναι πιο συχνή σε ασθενείς με HIV (17, 91-95).

Η πώρωση των καταγμάτων αποτελείται από αναβολικές και καταβολικές φάσεις κατά τη διάρκεια των οποίων τόσο οι έμφυτες όσο και οι επίκτητες ανοσολογικές λειτουργίες είναι σημαντικές (23). Κατά τη διάρκεια του αρχικού φλεγμονώδους σταδίου μετά τον τραυματισμό λαμβάνουν χώρα κάποιες συγκεκριμένες δράσεις διά μεσολάβησης κυττάρων που αφαιρούν τους νεκρωτικούς ιστούς, προάγουν την αγγειογένεση και εκκινούν την επιδιόρθωση (96-98). Ενώ η φλεγμονώδης αντίδραση διαρκεί για μικρό χρονικό διάστημα, οι δράσεις των ανοσοκυττάρων επεκτείνονται πέρα από τα πρώιμα στάδια του κατάγματος (14). Αυτά τα ανοσοκύτταρα θεωρείται ότι ενεργοποιούνται από μόρια που προέρχονται τους κατεστραμμένους ιστούς, και έπειτα αυτά τα κύτταρα απελευθερώνουν προφλεγμονώδεις κυτοκίνες στην περιοχή του τραυματισμού για να προκαλέσουν την οξεία φλεγμονή (17).

Τα απαιτούμενα πρώτα βήματα της φάσης της φλεγμονής περιλαμβάνουν το σχηματισμό θρόμβου, την κοκκοποίηση των ιστών και τη στρατολόγηση κυττάρων, τα οποία στηρίζονται στο συντονισμό ποικίλων ανοσοκυττάρων. Τα αιμοποιητικά κύτταρα φαίνεται να καθοδηγούν τη διαφοροποίηση και τη δράση των μεσεγχυματικών κυττάρων μέσα από διάφορες φάσεις αυτής της διαδικασίας (14).

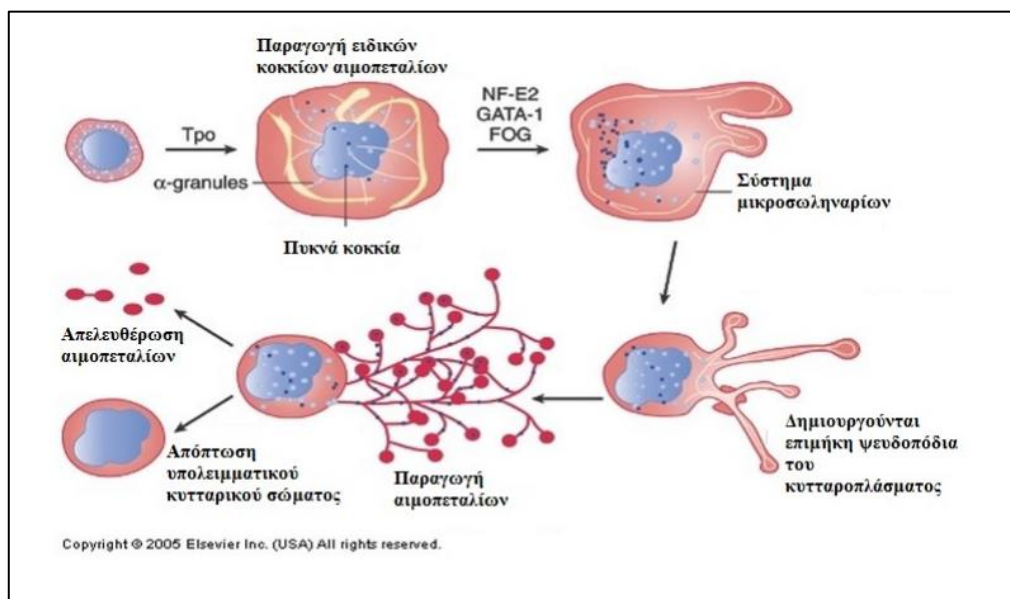
Ενδιαφέρον γεγονός αποτελεί η παρατήρηση ότι το κάταγμα οδηγεί στην καταστολή του ανοσοποιητικού συστήματος, μια κατάσταση που επιτυγχάνεται μέσω της τοπικής αύξησης του αριθμού των επαγόμενων ρυθμιστικών T κυττάρων (iTREG), τα οποία καταστέλλουν την ενεργό επίκτητη ανοσολογική απόκριση μέσα στον πόρο του κατάγματος (99, 100). Υπάρχουν δεδομένα που υποστηρίζουν ότι τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα προσδίδουν ανοσολογική ανοχή στα πρώιμα στάδια

του ενδοχόνδριου οστικού σχηματισμού και παρέχουν προστασία στους αναπτυσσόμενους ιστούς μέσω της καταστολής του αλλο-πολλαπλασιασμού των T κυττάρων κατά τη διάρκεια της πρόσληψης βλαστοκυττάρων και του σχηματισμού χόνδρου (23, 100). Ωστόσο αν η φλεγμονή επιμένει και δεν υποχωρεί, όπως σε μια βακτηριακή λοίμωξη στην καταγματική εστία, η πύρωση είναι πιθανό να αποτύχει (101).

## 5.1. ΑΝΟΣΟΚΥΤΤΑΡΑ, ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΚΑΙ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗ

### 5.1.1. ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑ

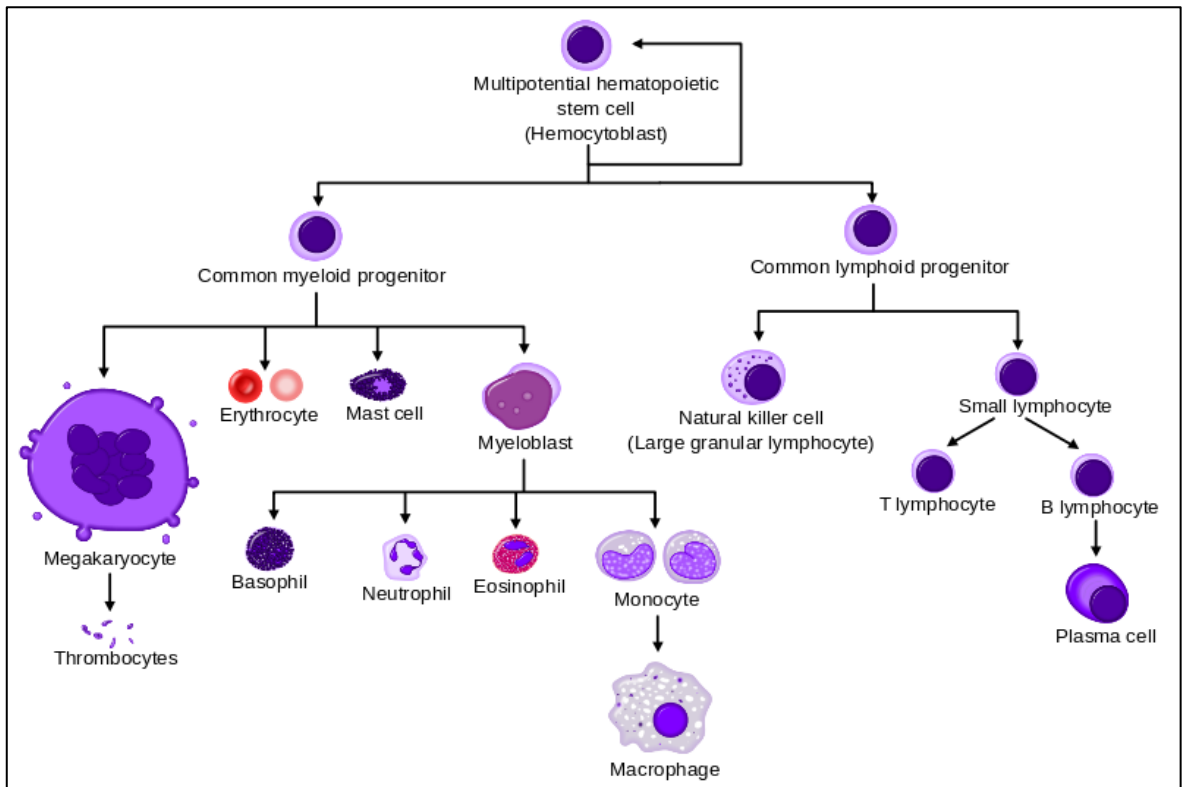
Έχει αποδειχθεί ότι τα αιμοπετάλια έχουν ρόλο στην επούλωση των καταγμάτων, αν και η κύρια λειτουργία τους σχετίζεται με την πήξη του αίματος (102). Τα αιμοπετάλια είναι μυελοειδή, μη-πυρηνικά κύτταρα, τα οποία φτάνουν στην προσβεβλημένη θέση και ενεργοποιούνται από την θρομβίνη η οποία απελευθερώνεται σαν απόκριση στα τραυματισμένα αγγεία (**Εικόνα 88**). Τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια συμμετέχουν στη δημιουργία ινώδους θρόμβου, ο οποίος δρα ως ικρίωμα κυτταρικής αγκίστρωσης. Ταυτόχρονα, τα αιμοπετάλια εκκρίνουν φλεγμονώδεις κυτοκίνες (IL-1, IL-6, TNF-α) και αυξητικούς παράγοντες (PDGF, TGF-beta), με σκοπό την στρατολόγηση άλλων ανοσοκυττάρων (ουδετερόφιλα και μονοκύτταρα) και μεσεγχυματικών προγονικών κυττάρων (103-105).



**Εικόνα 8.** Απεικόνιση σχηματισμού των αιμοπεταλίων [Πηγή: Γιαβροπούλου (2010) (2)].

### 5.1.2. ΜΑΚΡΟΦΑΓΑ

Τα μακροφάγα είναι μυελοειδή κύτταρα τα οποία ωστόσο διαφοροποιούνται από τα μονοκύτταρα (**Εικόνα 99**).



**Εικόνα 9.** Προέλευση κυττάρων από τα αρχέγονα αιμοποιητικά κύτταρα.

Αποτελούνται από διάφορα υποσύνολα κυττάρων με διαφορετικές λειτουργίες και είναι υπεύθυνα για τη διευθέτηση της φλεγμονής και της αναγέννησης των ιστών μετά από τραυματισμό (106, 107). Τα μακροφάγα είναι μερικά από τα πρώτα κύτταρα που εμφανίζονται στο αιμάτωμα και παραμένουν παρόντα καθ' όλη τη διάρκεια της διαδικασίας επούλωσης (23, 108, 109). Παίζουν αναπόσπαστο ρόλο στην ομοίωση των οστών και στην επιδιόρθωση του κατάγματος των οστών, καθώς φαίνεται να ενεργούν ως εξειδικευμένα κύτταρα στους οστεοβλάστες και στους οστεοκλάστες, συμμετέχοντας στη διάμεση επικοινωνία για τη διατήρηση της ισορροπίας στην αναδιαμόρφωση των οστών (14, 110). Τα μακροφάγα μπορούν να χωριστούν σε δύο υποομάδες: μακροφάγα M1 (κλασικά ενεργοποιημένα) και μακροφάγα M2 (εναλλακτικά ενεργοποιημένα). Μια μελέτη του 2015 δείχνει ότι τα μακροφάγα M1 κατά προτίμηση διεισδύουν στην περιοχή του κατάγματος στην οξεία φάση, ενώ τα μακροφάγα M2 αυξάνονται σε αριθμό κατά την υποξεία φάση (111).

Τόσο τα μακροφάγα M1 όσο και M2 παίζουν σημαντικό ρόλο στη διαδικασία επούλωσης ρυθμίζοντας τις αρχικές και τις μεταγενέστερες φάσεις. Αυτό υποδηλώνεται από το γεγονός ότι η προσωρινή εξάντληση των μακροφάγων είτε στην οξεία είτε στην υποξεία φάση οδηγεί σε σημαντική καθυστέρηση της οστικής επούλωσης (112). Επιπλέον, η εξάντληση των μακροφάγων μειώνει τον αριθμό των μεσεγγυματικών προγονικών κυττάρων και αναστέλλει την ικανότητα αυτών των κυττάρων να διαφοροποιούνται σε οστεοβλάστες (110, 113). Παρόλο που η σημασία των μακροφάγων στην ομοιοστάση του ιστού έχει επιβεβαιωθεί και σε άλλους ιστούς και είναι γνωστό ότι τα μακροφάγα παράγουν πολλούς τύπους μορίων τελεστών, παραμένει ακόμα ασαφές ποια μόρια μεσολαβούν σε τέτοιες επιδράσεις καθώς η σημασία των μακροφάγων στην επούλωση καταγμάτων εξακολουθεί να διερευνάται (14, 17).

### **5.1.3. ΟΥΔΕΤΕΡΟΦΙΛΑ**

Ο ρόλος των ουδετερόφιλων στην επούλωση των καταγμάτων παραμένει ασαφής και περιλαμβάνει πολλές πτυχές της επιδιόρθωσης των ιστών. Τα ουδετερόφιλα αποτελούν φαγοκυτταρικά κύτταρα της μυελοειδούς γενεαλογίας (**Εικόνα 99**) και στρατολογούνται από την IL-1 και τον TNF-α οι οποίοι εκκρίνονται από αιμοπετάλια (114, 115). Τα ουδετερόφιλα συμβάλλουν τόσο στα πρώτα στάδια της φλεγμονώδους φάσης όσο και στα μετέπειτα.

Στα αρχικά στάδια της φλεγμονώδους φάσης συμβάλλουν στον ινώδη θρόμβο με την απόθεση μιας μήτρας ινωδονεκτίνης, ενώ κατά τα μεταγενέστερα στάδια της φλεγμονώδους φάσης, τα ουδετερόφιλα συμμετέχουν στην απομάκρυνση των κυτταρικών και των ιστικών υπολειμάτων τα οποία εμπλέκονται στην αφαίρεση του θρόμβου (98, 116-118). Τα ουδετερόφιλα φτάνουν πρώτα στην περιοχή του κατάγματος και παρέχουν αντισηπτική δράση και επίσης καθαρίζουν τα κατεστραμμένα κύτταρα και τα υπολείμματα (98, 117, 118). Ο πιο σημαντικός ρόλος των ουδετερόφιλων φαίνεται να είναι η έκκριση των κυτοκινών (IL-1, IL-6, IL-10, TNF-α, MCP-1, CXCL-1α, MIP-1) προκειμένου να προσελκύσουν μονοκύτταρα, τα οποία με τη σειρά τους θα διαφοροποιηθούν σε μακροφάγα (14).

#### 5.1.4. Τ-ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΑ

Τα Τ λεμφοκύτταρα, επίσης γνωστά και ως Τ κύτταρα, είναι αιμοποιητικά κύτταρα λεμφοειδούς προέλευσης (**Εικόνα 99**) που χαρακτηρίζονται από την έκφραση των Τ-κυτταρικών υποδοχέων (TCRs) (14, 17). Μελέτες που χρησιμοποίησαν ζωικά μοντέλα έδειξαν ότι τα Τ λεμφοκύτταρα, καθώς και τα Β λεμφοκύτταρα, προσελκύονται στη θέση του κατάγματος μετά από 3 ημέρες από τον τραυματισμό και στη συνέχεια ο αριθμός τους μειώνεται όταν ξεκινά ο σχηματισμός του χόνδρου (119, 120). Έχει παρατηρηθεί ότι η εξάντληση των Τ κυττάρων, οδηγεί σε μειωμένη υγεία των οστών και συνεπώς σε μειωμένη πώρωση των καταγμάτων (119, 121, 122). Μελέτες με ποντίκια έχουν δείξει ότι τα άτομα με έλλειψη Τ και Β λεμφοκυττάρων έχουν σκληρότερα οστά τα οποία είναι πιο επιρρεπή σε κάταγμα (122).

Είναι γνωστό ότι η πώρωση των καταγμάτων των οστών ρυθμίζεται από Τ λεμφοκύτταρα, τα οποία είναι παρόντα στην περιοχή του τραυματισμού τόσο στις πρώιμες όσο και στις καθυστερημένες φάσεις της διαδικασίας επούλωσης (123). Τα Τ λεμφοκύτταρα χαρακτηρίζονται από την έκφραση των Τ-κυττάρων υποδοχέων (TCRs), σύμφωνα με τα οποία ταξινομούνται σε αβ Τ κύτταρα ή γδ Τ κύτταρα.

Τα αβ Τ κύτταρα περνούν μέσω θετικών και αρνητικών επιλογών στο θύμο αδένι ώστε να ωριμάσουν και να εκφράσουν αβ TCRs και συν-υποδοχείς (124), που παράγουν CD4+ Τ βοηθητικά (Th) κύτταρα, CD8+ κυτταροτοξικά Τ λεμφοκύτταρα (CTLs) και CD4 + ρυθμιστικά Τ κύτταρα (Tregs) (125).

Τα γδ Τ κύτταρα προέρχονται από τα ίδια πρόδρομα κύτταρα με τα αβ Τ κύτταρα, αλλά αναγνωρίζουν μη ειδικά αντιγόνα μόρια (126). Αναγνωρίζουν τόσο μικροβιακά, όσο και αυτόλογα συστατικά τα οποία απελευθερώνονται λόγω του ιστικού στρες, συμβάλλοντας στην έμφυτη ανοσοαπόκριση μέσω παραγωγής κυτοκίνης και / ή κυτταροτοξικότητας (127). Επίσης, τα γδ Τ κύτταρα ταξινομούνται σε υποσύνολα ανάλογα με την έκφραση των TCR-V $\gamma$  αλυσίδων και κάθε υποσύνολο έχει το δικό του χαρακτηριστικό μοτίβο ιστικής κατανομής ιστού και παραγωγής κυτοκινών (128).

Ενώ τα αβ Τ κύτταρα παρουσιάζουν προφλεγμονώδεις και αντιφλεγμονώδεις λειτουργίες που είναι ζωτικής σημασίας για τις αντιγονικές ειδικές ανοσοαποκρίσεις,

τα γδ T κύτταρα αναφέρεται ότι κατανέμονται κατά προτίμηση σε επιθηλιακούς ιστούς προκειμένου να παίξουν ρόλο στην άμυνα του ξενιστή και στην επισκευή ιστών στην περιφέρεια (17). Έχει αναφερθεί πρόσφατα ότι τα γδ T κύτταρα βρέθηκε να συμβάλλουν στην πύρωση των καταγμάτων των οστών αυξάνοντας δυναμικά τον αριθμό τους, μετά από τραυματισμό των οστών και παράγουν IL-17A, η οποία με τη σειρά της ενισχύει τον σχηματισμό των οστών (129).

Επιπλέον, αναφέρεται ότι τα T κύτταρα CD8<sup>+</sup> τελεστές μνήμης εντοπίζονται στο περιφερικό αίμα ασθενών με καθυστερημένη επούλωση κατάγματος, ενώ σε ποντίκια που έγινε έγχυση με CD8<sup>+</sup> T κύτταρα, η επούλωση των οστών υπέστη σημαντική καθυστέρηση. Αυτά τα γεγονότα δείχνουν την κατασταλτική επίδραση αυτών των κυττάρων στην επιδιόρθωση των οστών (130). Ωστόσο, παρά το γεγονός ότι τα CD8<sup>+</sup> T κύτταρα μπορούν να παράγουν TNF-α και ιντερφερόνη (IFN) -γ, παράγοντες που καταστέλλουν με τη σειρά τους την επιμετάλλωση των μεσεγχυματικών βλαστικών κυττάρων του μυελού των οστών, οι ακριβείς μηχανισμοί παραμένουν ασαφείς (17).

#### **5.1.5. Β-ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΑ**

Τα Β λεμφοκύτταρα, που είναι γνωστά και ως Β κύτταρα, είναι αιμοποιητικά λεμφικά κύτταρα (**Εικόνα 99**), όπως τα Τ λεμφοκύτταρα, και παίζουν σημαντικό ρόλο στην χυμική ανοσία (14, 17). Η εξάντληση των Β κυττάρων οδηγεί σε μειωμένη υγεία των οστών και μειωμένη πύρωση των καταγμάτων, όπως αντίστοιχα και η έλλειψη Τ κυττάρων (119, 121). Είναι γνωστό ότι τα Β λεμφοκύτταρα παράγουν κυτοκίνες, οι οποίες ασκούν πολλές λειτουργίες (131). Τα Β λεμφοκύτταρα τα οποία συναντούν τα γνωστά τους αντιγόνα αρχίζουν να πολλαπλασιάζονται και να διαφοροποιούνται σε κύτταρα πλάσματος που παράγουν αντισώματα για την προστασία του σώματος. Μερικά Β λεμφοκύτταρα διαφοροποιούνται σε Β κύτταρα μνήμης που είναι έτοιμα να δράσουν σε μια εκ νέου μόλυνση. Επιπλέον, μέχρι στιγμής έχουν αναφερθεί διάφορα υποσύνολα Β κυττάρων με διαφορετικές λειτουργίες (17).

Τα Β λεμφοκύτταρα και τα Τ λεμφοκύτταρα φαίνεται να παίζουν ρόλο κυτταρικής σηματοδότησης κοντά στο τέλος της φλεγμονώδους φάσης και πάλι κατά τη διάρκεια της φάσης επιμετάλλωσης (123). Κατά τα μεταγενέστερα στάδια της φλεγμονώδους φάσης, ενώ τα Τ κύτταρα παράγουν RANKL προκειμένου να



στρατολογήσουν, να διαφοροποιήσουν και να ενεργοποιήσουν οστεοκλάστες, τα Β κύτταρα εμπλέκονται στην καταστολή των προφλεγμονωδών σημάτων IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  και IL-2 (132). Ταυτόχρονα, τα Β κύτταρα παράγουν επίσης OPG, ρυθμίζοντας με αυτόν τον τρόπο την οστεοκλαστική διαφοροποίηση και δραστηριότητα (18, 133, 134).

Αρχικά τα Β λεμφοκύτταρα θεωρούταν ότι δεν είχαν σημαντικό ρόλο στην πώρωση των καταγμάτων των οστών, λόγω του ότι μια μελέτη ανέφερε ότι τα ποντίκια με ανεπάρκεια στα Β κύτταρα, λόγω της έλλειψης των μ αλυσίδων των υποδοχέων των Β-κυττάρων, δεν είχαν καμία επίπτωση στην επούλωση των οστών (135). Ωστόσο, είναι γνωστό ότι κατά τη διάρκεια της πώρωσης των καταγμάτων τα Β λεμφοκύτταρα αυξάνονται στην περιοχή του τραυματισμού και στο περιφερικό αίμα και έχει αποδειχθεί ότι η χαμηλή παραγωγή IL-10 από τα Β κύτταρα σχετίζεται με καθυστερημένη πώρωση καταγμάτων (121, 123, 132, 136). Υπάρχουν επίσης λειτουργίες άλλων υποομάδων των Β-κυττάρων που διαδραματίζουν ρόλο στην αναγέννηση των οστών οι οποίες ωστόσο σε μεγάλο βαθμό παραμένουν άγνωστες και ως εκ τούτου απαιτούνται περαιτέρω μελέτες.

#### **5.1.6. ΚΥΤΤΑΡΑ ΦΥΣΙΚΟΙ ΦΟΝΕΙΣ**

Τα Κύτταρα Φυσικοί Φονείς (κύτταρα NK) είναι αιμοποιητικά κύτταρα λεμφοειδούς προέλευσης και η λειτουργία τους στην πώρωση των καταγμάτων δεν είναι πλήρως γνωστή (14). Η ανοσολογική τους λειτουργία είναι να αναγνωρίζουν ξένα ή ιικά μολυσμένα κύτταρα και να προκαλούν απόπτωση ή κυτταρική λύση μέσω κυτταροτοξικών κόκκων (137). Αυτή η λειτουργία στην πώρωση των καταγμάτων είναι δυνατόν να εκφραστεί αφαιρώντας τα κατεστραμμένα κύτταρα στην περιοχή του τραυματισμού, ενώ έχει αποδειχθεί ότι οι συνθήκες στην περιοχή του κατάγματος αναστέλλουν την κυτταρική λύση που προκαλείται από τα κύτταρα NK (138). Ωστόσο, φαίνεται πιο πιθανό ότι τα κύτταρα NK διαδραματίζουν σηματοδοτικό ρόλο στην απομάκρυνση των τραυματισμένων ιστών που προσλαμβάνουν φλεγμονώδη κύτταρα και οστεοκλάστες, καθώς είναι γνωστό ότι παράγουν IFN- $\gamma$  και RANKL (139). Επιπρόσθετα, πιθανώς συμμετέχουν στην εναπόθεση ιστού μέσω της στρατολόγησης προγονικών μεσεγγυματικών κυττάρων κατά τη διάρκεια μεταγενέστερων σταδίων της πώρωσης των καταγμάτων (140).

### **5.1.7. ΠΡΟ-ΦΛΕΓΜΟΝΩΔΕΙΣ ΚΥΤΟΚΙΝΕΣ**

Όταν συμβαίνει ο τραυματισμός των οστών, ένα πρώιμο συμβάν που λαμβάνει χώρα είναι η διακοπή της παροχής αίματος και η συσσώρευση αιμοπεταλίων με την απελευθέρωση προ-φλεγμονωδών κυτοκινών που προέρχονται από αιμοπετάλια, Interleukin-6 (IL-6), Interleukin-1 (IL-1) και τον παράγοντα νέκρωσης όγκου-άλφα (TNF-α) (19). Αυτή η φάση περιλαμβάνει επίσης το σχηματισμό αιματώματος, το οποίο παγιδεύει φλεγμονώδη κύτταρα τα οποία με τη σειρά τους παράγουν περαιτέρω προ-φλεγμονώδεις κυτοκίνες και αυξητικούς παράγοντες. Ο σχηματισμός αυτού του αιματώματος είναι ζωτικής σημασίας και η απομάκρυνσή του προκαλεί ελαττωματική επούλωση των οστών (19, 141, 142).

#### **5.1.7.1. ΙΝΤΕΡΛΕΥΚΙΝΗ 6 (IL-6)**

Η IL-6 παράγεται από μια ποικιλία κυτταρικών τύπων και έχει υποδοχείς οι οποίοι εκφράζονται σε μια ποικιλία τύπων κυττάρων. Έτσι, η IL-6 ασκεί πολλαπλά αποτελέσματα και είναι τεκμηριωμένο ότι ενισχύει την οστεοκλαστογένεση (143-145). Η IL-6 παράγεται εντός μίας ημέρας μετά το κάταγμα και έχει δειχθεί ότι προάγει την οστεοβλαστογένεση των μεσεγχυματικών κυττάρων, συμπεριλαμβανομένων των κυττάρων στο σημείο επισκευής των οστών. Ωστόσο, αυτή η θεραπευτική παρέμβαση περιορίζεται στην πρώιμη φάση πιθανώς λόγω του γεγονότος ότι άλλοι παράγοντες του ανοσοποιητικού συστήματος αντισταθμίζουν την ανεπάρκεια IL-6 (17, 146-148). Επιπλέον, φαίνεται ότι οι επιδράσεις της IL-6 στον μεταβολισμό των οστών εξαρτώνται από τις συνθήκες στις οποίες έχει παραχθεί. Αυτό συμβαίνει πιθανώς επειδή πολλοί τύποι κυττάρων εκφράζουν υποδοχείς IL-6 και τα κύτταρα που αποκρίνονται στην IL-6 είναι διαφορετικά. Ωστόσο, η προέλευση της IL-6 στη διαδικασία πώρωσης των καταγμάτων των οστών μένει να προσδιοριστεί σε μελλοντικές μελέτες (17).

#### **5.1.7.2. ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ ΝΕΚΡΩΣΗΣ ΟΓΚΟΥ (TNFA)**

Ο TNFA παράγεται κυρίως από ενεργοποιημένα μακροφάγα και έχει ικανότητα πρόσδεσης στο TNFR1 (p55, κωδικοποιημένο από το γονίδιο Tnfrsf1a) και στο TNFR2 (p75, κωδικοποιημένο από το γονίδιο Tnfrsf1b) προκειμένου να μετάγει τα σήματά του (17, 149). Ο TNFA πιστεύεται ότι είναι επιβλαβής για τα οστά, επειδή σε

μελέτες που διεξήχθησαν με ποντίκια, αυτά τα οποία έφεραν ανθρωπίνο διαγονίδιο TNFA ανέπτυξαν χρόνια φλεγμονώδη πολυαρθρίτιδα (150, 151). Επιπροσθέτως έχει αναφερθεί ότι ο TNF-α προάγει έναν αναστολέα του Wnt μονοπατιού, σε αρθρικούς ινοβλάστες έτσι ώστε να καταστείλει τον σχηματισμό οστού στην αρθρική άρθρωση ενώ, στο πλαίσιο της πύρωσης των καταγμάτων των οστών, ο TNFA αποδείχθηκε ότι προάγει την αναγέννηση του οστού (152, 153).

Υπάρχουν *in vitro* πειράματα στα οποία τα μεσεγχυματικά κύτταρα, τα οποία υποβλήθηκαν σε αγωγή με TNFA, έδειξαν είτε προαγωγική είτε κατασταλτική επίδραση στο σχηματισμό οστών. Αυτή η κατάσταση μπορεί να οφείλεται στα μονοπάτια διαφορικής έκφρασης των υποδοχέων TNF-α καθώς και των μορίων σηματοδότησης (17).

#### **5.1.7.3. ΙΝΤΕΡΛΕΥΚΙΝΗ-17Α (IL-17A)**

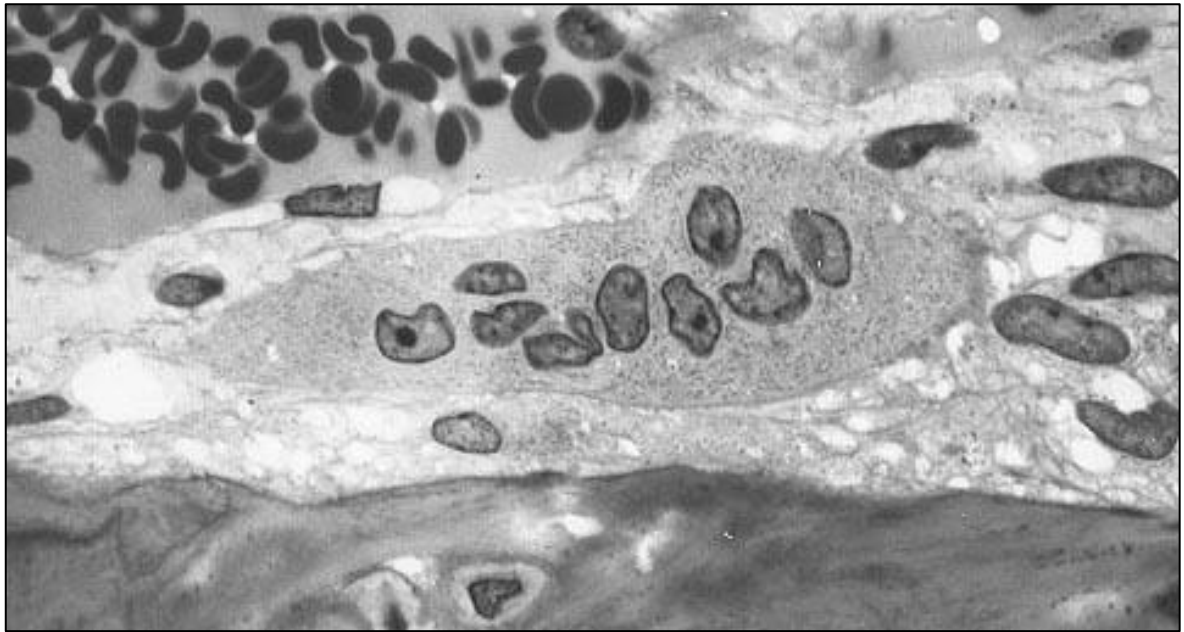
Αρχικά, η IL-17A βρέθηκε να παράγεται από κύτταρα Th17 και εν συνεχεία, έχει αποδειχθεί ότι παράγεται επίσης από κύτταρα CD8 + T, κύτταρα γδ T, αναλλοίωτα κύτταρα T Φυσικούς Φονείς, κύτταρα Φυσικούς Φονείς, κύτταρα επαγωγής λεμφοειδών ιστών (LTi) , B κύτταρα και μεσεγχυματικά κύτταρα (154-158). Η IL-17A είναι γνωστό ότι σχετίζεται με φλεγμονώδη απώλεια οστού στη διαβρωτική αρθρίτιδα και παρέχει προστασία έναντι βακτηριακών και μυκητιασικών λοιμώξεων διεγείροντας την παραγωγή αντιμικροβιακών πεπτιδίων και στρατολογώντας ουδετερόφιλα (17). Επιπλέον, υπάρχουν μελέτες που υποδηλώνουν ότι η IL-17A προάγει το σχηματισμό οστών και ότι ένα αντίσωμα κατά της IL-17A είναι αποτελεσματικό για την αρθρίτιδα με μη φυσιολογικό σχηματισμό οστού (159, 160).

Η IL-17A εκκρίνεται στην πρώιμη φάση της πύρωσης των καταγμάτων των οστών, με την κύρια πηγή της να είναι τα γδ T κύτταρα (100, 129) και προάγει τον πολλαπλασιασμό των μεσεγχυματικών κυττάρων στον τραυματισμένο ιστό και την επακόλουθη διαφοροποίησή τους σε οστεοβλάστες (129). Λαμβάνοντας υπόψη το γεγονός ότι η IL-17A εκκρίνεται έντονα στην περίοδο αμέσως μετά το κάταγμα, είναι πιθανό ότι αυτή η κυτοκίνη ρυθμίζει θετικά την πρώιμη φάση της οστεοβλαστογένεσης (17).

#### **5.1.8. ΟΣΤΕΟΚΛΑΣΤΕΣ**

Οι οστεοκλάστες (**Εικόνα 1010**) δεν θεωρούνται παραδοσιακά ως ανοσοκύτταρα. Ωστόσο, είναι σε θέση να δρουν ως έμφυτα ανοσοκύτταρα εντός των οστών, καθώς τα φλεγμονώδη σήματα οδηγούν στη διαφοροποίηση και την ενεργοποίησή τους (14, 161). Οι οστεοκλάστες είναι πολυπύρρηνα κύτταρα μυελοειδούς προέλευσης. Διαφοροποιούνται άμεσα από τα μονοκύτταρα, αλλά μπορούν επίσης να προκύψουν και από τα μακροφάγα (162). Ο πρωταρχικός τους ρόλος είναι αυτός των «φαγοκυττάρων οστών» και είναι εξειδικευμένα κύτταρα, δεδομένου ότι είναι τα μόνα κύτταρα με την ικανότητα να απορροφούν την οστική ουσία (163).

Υπάρχει μια σηματοδότηση ανοσοκυττάρων που ρυθμίζει την ενεργοποίηση των οστεοκλαστών. Κατά τη διάρκεια της πώρωσης των καταγμάτων, τα μονοκύτταρα στρατολογούνται στην περιοχή του τραυματισμού και διαφοροποιούνται σε οστεοκλάστες που βρίσκονται σε επιμεταλλωμένες επιφάνειες οστών. Οι οστεοκλάστες ενεργοποιούνται κυρίως από τον ενεργοποιητή υποδοχέα πυρηνικού παράγοντα κάππα-B συνδέσμου (RANKL), ο οποίος προσδένεται με τον υποδοχέα επιφάνειας κυττάρου οστεοκλαστών RANK (14). Οι οστεοβλάστες φαίνεται να είναι η κύρια πηγή RANKL κατά τη διάρκεια της ομοιόστασης και της πώρωσης των καταγμάτων. Ωστόσο, τα κύτταρα NK και τα ενεργοποιημένα T κύτταρα είναι επίσης ικανά να παράγουν RANKL κατά τη διάρκεια της πώρωσης των καταγμάτων. Από την άλλη πλευρά, η οστεοπροτεγερίνη (OPG) είναι ένας υποδοχέας δόλωμα που συνδέεται με το RANK και αναστέλλει τη σύνδεση RANKL και κατά αυτόν τον τρόπο αποτρέπει την ενεργοποίηση των οστεοκλαστών. Η OPG εκκρίνεται από οστεοβλάστες κατά τη διάρκεια της ομοιόστασης και της πώρωσης των καταγμάτων και από B κύτταρα κατά τη διάρκεια της πώρωσης των καταγμάτων (14).



**Εικόνα 10.** Μικροφωτογραφία οστεοκλάστη [Πηγή: <https://en.wikipedia.org/wiki/Osteoclast>].

## 6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Υπάρχουν πολλά ανοσοκύτταρα που συμμετέχουν στην πώρωσης των καταγμάτων διαδραματίζοντας ένα καίριο ρόλο στην όλη διαδικασία. Η πώρωση των καταγμάτων των οστών αποτελείται από τρεις φάσεις. Φλεγμονή, επισκευή και αναδιαμόρφωση. Η διαδικασία ξεκινά με την κρίσιμη φάση της φλεγμονής στην οποία τόσο τα έμφυτα όσο και τα επίκτητα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος, καθώς και κύτταρα της σειράς των μακροφάγων - οστεοκλαστών βοηθούν στην απομάκρυνση των οστικών υπολειμμάτων, στην αντισηψία και στην προετοιμασία των πολυδύναμων στρωματικών κυττάρων (MSCs) για την επόμενη φάση επιδιόρθωσης. Τα MSC αναγνωρίζονται ως κύτταρα με ικανότητα προσκόλλησης, τα οποία εκφράζουν επιφανειακά μόρια CD90, CD73, CD105, αλλά όχι δείκτες αιμοποιητικής προέλευσης, και είναι ικανά να διαφοροποιούνται σε κύτταρα οστών, λίπους και χόνδρου (19, 164).

Οι ρόλοι των ανοσοκυττάρων που εμπλέκονται στη ρύθμιση της διαδικασίας επούλωσης έχουν αποκαλυφθεί όχι μόνο στη φάση φλεγμονής αλλά και κατά τη διάρκεια της φάσης επιδιόρθωσης, όπου ορισμένα ανοσοκύτταρα και μεσολαβητές παίζουν έναν σημαντικό ρόλο στη μετατροπή του μαλακού πύρου σε σκληρό πύρο και το σχηματισμό νέων αγγείων. Επιπροσθέτως, στη φάση αναδιαμόρφωσης των οστών μεσολαβεί η αλληλεπίδραση οστεοκλαστών και οστεοβλαστών υπό την επίδραση MSCs, μακροφάγων και πιθανώς Th17 λεμφοκυττάρων (19).

Συμπερασματικά, τα ανοσοκύτταρα χρησιμεύουν ως οι αρχικοί ανταποκριτές στην περιοχή του τραυματισμού, αποκαθιστούν το αγγειακό σύστημα και ξεκινούν καταρράκτες σημάτων για την πρόσληψη κυττάρων για τη διεξαγωγή των διαδικασιών επιδιόρθωσης. Έτσι, το ανοσοποιητικό σύστημα μπορεί να θεωρηθεί ως πολλά υποσχόμενος θεραπευτικός στόχος για την πώρωση των καταγμάτων οστών. Ωστόσο, υπάρχουν ορισμένα ζητήματα που απομένουν να αποσαφηνιστούν και απαιτείται πιο διεξοδική κατανόηση της ρύθμισης του μεταβολισμού των οστών από το ανοσοποιητικό σύστημα προκειμένου να εκτιμηθεί καλύτερα η βιολογική σημασία των ανοσοκυττάρων στην αναγέννηση των οστών.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Καπετάνος Γ. Μεταβολικές παθήσεις των οστών. Αθήνα: University Studio Press; 2010.
2. Γιαβροπούλου Μ. Ανατομική και βιολογία του οστού. In: Καπετάνος Γ, editor. Μεταβολικές παθήσεις των οστών. Αθήνα: University Studio Press; 2010. p. 20-30.
3. Bates P, Ramachandran M. Bone injury, healing and grafting. Basic Orthopaedic Sciences The Stanmore Guide. UK: Hodder Arnold; 2007. p. 123-34.
4. Einhorn TA. The cell and molecular biology of fracture healing. Clinical orthopaedics and related research. 1998(355 Suppl):S7-21. doi.10.1097/00003086-199810001-00003.
5. Cho TJ, Gerstenfeld LC, Einhorn TA. Differential temporal expression of members of the transforming growth factor beta superfamily during murine fracture healing. Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research. 2002;17(3):513-20. doi.10.1359/jbmr.2002.17.3.513.
6. Brydone AS, Meek D, Maclaine S. Bone grafting, orthopaedic biomaterials, and the clinical need for bone engineering. Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers Part H, Journal of engineering in medicine. 2010;224(12):1329-43. doi.10.1243/09544119jeim770.
7. Πετρά Μ. Μελέτη της εξέλιξης και γήρανσης των οστών με υπέρυθρη και μικρο-υπέρυθρη φασματοσκοπία. Αθήνα: Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο; 2003.
8. Jäger M, Zilkens C, Zanger K, Krauspe R. Significance of nano- and microtopography for cell-surface interactions in orthopaedic implants. Journal of biomedicine & biotechnology. 2007;2007(8):69036. doi.10.1155/2007/69036.
9. Gaston MS, Simpson AH. Inhibition of fracture healing. The Journal of bone and joint surgery British volume. 2007;89(12):1553-60. doi.10.1302/0301-620x.89b12.19671.
10. Street J, Lenehan B. Vascular endothelial growth factor regulates osteoblast survival - evidence for an autocrine feedback mechanism. Journal of orthopaedic surgery and research. 2009;4:19. doi.10.1186/1749-799x-4-19.
11. Muschler GF, Nakamoto C, Griffith LG. Engineering principles of clinical cell-based tissue engineering. The Journal of bone and joint surgery American volume. 2004;86(7):1541-58. doi.10.2106/00004623-200407000-00029.
12. Audigé L, Griffin D, Bhandari M, Kellam J, Rüedi TP. Path analysis of factors for delayed healing and nonunion in 416 operatively treated tibial shaft fractures. Clinical orthopaedics and related research. 2005;438:221-32. doi.10.1097/01.blo.0000163836.66906.74.
13. Παπαβασιλείου Κ. Πύρωση των καταγμάτων και διαταραχές της. In: Καπετάνος Γ, editor. Μεταβολικές παθήσεις των οστών. Αθήνα: University Studio Press; 2010. p. 61-74.

14. Baht GS, Vi L, Alman BA. The Role of the Immune Cells in Fracture Healing. *Curr Osteoporos Rep.* 2018;16(2):138-45. doi.10.1007/s11914-018-0423-2.
15. Tzioupis C, Giannoudis PV. Prevalence of long-bone non-unions. *Injury.* 2007;38 Suppl 2:S3-9. doi.10.1016/s0020-1383(07)80003-9.
16. Clement ND, Beauchamp NJ, Duckworth AD, McQueen MM, Court-Brown CM. The outcome of tibial diaphyseal fractures in the elderly. *The bone & joint journal.* 2013;95-b(9):1255-62. doi.10.1302/0301-620x.95b9.31112.
17. Ono T, Takayanagi H. Osteoimmunology in Bone Fracture Healing. *Curr Osteoporos Rep.* 2017;15(4):367-75. doi.10.1007/s11914-017-0381-0.
18. Takayanagi H. Osteoimmunology and the effects of the immune system on bone. *Nat Rev Rheumatol.* 2009;5(12):667-76. doi.10.1038/nrrheum.2009.217.
19. El-Jawhari JJ, Jones E, Giannoudis PV. The roles of immune cells in bone healing; what we know, do not know and future perspectives. *Injury.* 2016;47(11):2399-406. doi.10.1016/j.injury.2016.10.008.
20. Schneider PS, Sandman E, Martineau PA. Osteoimmunology: Effects of Standard Orthopaedic Interventions on Inflammatory Response and Early Fracture Healing. *The Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeons.* 2018;26(10):343-52. doi.10.5435/jaaos-d-16-00646.
21. Brighton CT, Hunt T. Early histological and ultrastructural changes in medullary fracture callus. *J Bone Joint Surg Am.* 1991; 73:832-847.
22. Bolander ME. Regulation of fracture repair by growth factors. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1998; 200:165-170.
23. Einhorn TA, Gerstenfeld LC. Fracture healing: mechanisms and interventions. *Nat Rev Rheumatol.* 2015;11(1):45-54. doi.10.1038/nrrheum.2014.164.
24. Histing T, Garcia P, Matthys R, Leidinger M, Holstein JH, Kristen A, et al. An internal locking plate to study intramembranous bone healing in a mouse femur fracture model. *J Orthop Res.* 2010;28(3):397-402. doi.10.1002/jor.21008
25. Monfoulet L, Rabier B, Chassande O, Fricain JC. Drilled hole defects in mouse femur as models of intramembranous cortical and cancellous bone regeneration. *Calcified tissue international.* 2010;86(1):72-81. doi.10.1007/s00223-009-9314-y.
26. Themistocleous GS, Kontou SE, Lembessis P, Katopodis HA, Kasetta MA, Themistocleous MS, Koutsilieris M. Skeletal growth factor involvement in the regulation of fracture healing process. *In Vivo.* 2003 Sep-Oct;17(5):489-503. PMID: 14598614.
27. Trippel SB. Growth Factors as Therapeutic Agents. *Instr Course Lect* 1997; 46:473-476.
28. Trippel SB, Rosenfeld RG. Growth factor treatment of disorders of skeletal growth. *Instr Course Lect.* 1997;46: 477-482.



29. LeRoith D, Werner H, Beitner-Johnson D et al. Molecular and cellular aspects of the insulin-like growth factor-I receptor. *Endocr Rev.* 1995;16:143-163
30. Hepler JE, Van Wyk JJ, Lund PK. Different half lives of insulin-like growth factor-I mRNA that differ in length of 3' untranslated sequence. *Endocrinology.* 1990;127:155.
31. Martinez DA, Zuscik MJ, Ishibe M et al. Identification of functional insulin-like growth factor-II/mannose-6-phosphate receptors in isolated bone cells. *J Cell Biochem.* 1995; 59:246-257.
32. Kim HS, Nagalla SR, Oh Y et al. Synthesis and characterization of connective tissue growth factor (CTGF) as insulin-like growth factor-binding protein (IGFBP). *Proceedings of the 79th Annual Meeting of the Endocrine Society.* 1997; 352.
33. Dequeker J, Mohan S, Finkelman RD, Aerssens J, Baylink DJ. Generalized osteoarthritis associated with increased insulin-like growth factor types I and II and transforming Growth factor beta in cortical bone from the iliac crest. Possible mechanism of increased bone density and protection against osteoporosis. *Arthritis Rheum.* 1993; 36(12):1702-1708.
34. Mohan S, Baylink DJ. Bone growth factors. *Clin Orth Rel Res.* 1991; 263:30-48.
35. Ernst M, Rodan GA. Increased activity of insulin-like growth factor (IGF) in osteoblastic cells in the presence of growth hormone (GH): positive correlation with the presence of the GH-induced IGF-binding protein BP-3. *Endocrinology.* 1990;127:807-814.
36. Spencer EM, Liu CC, Si EC, Howard GA. In vivo actions of insulin-like growth factor-I (IGF-I) on bone formation and resorption in rats. *Bone* 1991; 12(1):21-26.
37. Machwate M, Zerath E, Holy X, Hott M, Godet D, Lomri A, Marie PJ. Systemic administration of transforming growth factor-beta 2 prevents the impaired bone formation and osteopenia induced by unloading in rats. *J Clin Invest.* 1995 Sep;96(3):1245-1253.
38. Bak B, Jorgensen PH, Andreassen TT. Dose response of growth hormone on fracture healing in the rat. *Acta Orthop Scand.* 1990;61: 54-57.
39. Carpenter JE, Hipp JA, Gerhart TN, Rudman CG, Hayes WC, Trippel SB. Failure of growth hormone to alter the biomechanics of fracture-healing in a rabbit model. *J Bone Joint Surg Am.* 1992;74: 359-367.
40. Thaller SR, Dart A, Tesluk H. The effects of insulin-like growth factor-1 on critical-size calvarial defects in Sprague-Dawley rats. *Ann Plast Surg.* 1993; 31:429-433.
41. Westermark B, Heldin CH. Platelet-derived growth factor. *Acta Oncol.* 1993; 32:101-105.
42. Majack R, Majesky MW, Goodman LV. Role of PDGF-A expression in the control of vascular smooth muscle cell growth by transforming growth factor- $\beta$ . *J. Cell Biol.* 1990; 111(1):239-247.

43. Rydziel S, Shaikh S, Canalis E. Platelet-derived growth factors AA and BB enhance the synthesis of platelet-derived growth factor AA in bone cell cultures. *Endocrinology* .1994;134:2541- 2546.
44. Seifert RA, Hart CE, Phillips PE et al. Two different subunits associate to create isoform-specific platelet-derived growth factor receptors. *J. Biol. Chem.* 1989;264:8771-8778.
45. Gronwald R, Grant F J, Haldeman BA et al. Cloning and expression of a cDNA coding for the human platelet-derived growth factor receptor: Evidence for more than one receptor class. *J Biomol NMR* 1998 Oct;12(3):395-405.
46. Claesson-Welsh L. Platelet-derived growth factor recep- 43 for signals. *J Biol Chem* 1994;269:32023-32026.
47. Eriksson A, Nister M, Levjen P et al. Induction of platelet-derived growth factor  $\alpha$ - and  $\beta$ -receptor mRNA and protein by platelet-derived growth factor BB. *J Biol Chem.* 1991 Nov 5;266(31):21138-44.
48. Lind M. Growth factor stimulation of bone healing. Effects on osteoblasts, osteomies, and implants fixation. *Acta Orthop Scand Suppl.* 1998;283: 2-37.
49. Wang JS. Basic fibroblast growth factor for stimulation of bone formation in osteoinductive or conductive implants. *Acta Orthop Scand Suppl*, 1996;269: 1-33.
50. Vlodavsky I, Fuks Z, Ishai-Michaeli R et al. Extracellular matrix-resident basic fibroblast growth factor: Implication for the control of angiogenesis. *J Cell Biochem.* 1991; 45:167-176.
51. Baird A. Editorial: Fibroblast growth factors: What's in a name? *Endocrinology.* 1993;132:487-488.
52. Hurley M, Abreu C, Gronowicz G, Kawaguchi H, Lorenzo J. Expression and regulation of basic fibroblast growth factor-2 in bone. *Endocrinology.* 1999 Jan;140(1):434-444.
53. Ornitz M, Leder P. Ligand specificity and heparin dependence of fibroblast growth factor receptors 1 and 3. *J. Biol. Chem.* 1992; 267:16305-16311.
54. Werner S, Duan DS, de Vries C, Peters KG, Johnson DE, Williams LT. Differential splicing in the extracellular region of fibroblast growth factor receptor 1 generates receptor variants with different ligand-binding specificities. *Mol Cell Biol* 1992 Jan;12(1):82-8.
55. Wang J, Gao G, Goldfarb M. Fibroblast growth factor receptors have different signaling and mitogenic potentials. *Mol. Cell. Biol.* 1994;14:181-188.
56. Spivak-Kroizman T, Lemmon MA, Dikic I et al. Heparin-induced oligomerization of FGF molecules is responsible for FGF receptor dimerization, activation, and cell proliferation. *Cell.* 1994 Dec 16; 79(6):1015- 24.

57. Jinguishi S, Heydemann A, Kana SK, Macey LR, Bolander N. Acidic fibroblast growth factor (aFGF) injection stunts late cartilage enlargement and inhibits cartilage gene expression in rat fracture healing. *J Orthop Res.* 1990;8:364-371.
58. Nakamura T, Hara Y, Tagawa M, Tamura M, Yuge T, Fukuda H, Nigi H. Recombinant human basic fibroblast growth factor accelerates fracture healing by enhancing callus remodeling in experimental dog tibial fractures. *J Bone Miner Res.* 1998;13:942-949.
59. Kawaguchi H, Kurokawa T, Hanada K et al. Stimulation of fracture repair by recombinant human basic fibroblast growth factor in normal and streptozotocin-diabetic rats. *Endocrinology.* 1994 ;135:774-781.
60. Radomsky ML, Aufdemorte TB, Swain LD, Fox WC, Spin RC, Poser JW. A novel formulation of FGF-2 in a hyaluronan gel accelerates fracture healing in non-human primates *J Orthop Res.* 1999; 17:607-614.
61. Bland YS, Critchlow MA, Ashhursts DE. Exogenous fibroblast growth factors-1 and -2 do not accelerate fracture healing in the rabbit. *Acta Orthop Scand.* 1995;66:543-548.
62. Radomsky ML, Thompson AY, Spiro RC, Poser JW. Potential role of fibroblast growth factor in enhancement of fracture healing. *Clin Orthop.* 1998; 355 (Supp):S283-293.
63. Linkhart TA, Mohan S, Baylink DJ. Growth factors for bone growth and repair: IGF, TGF beta and BMP. *Bone.* 1996 Jul; 19(1 Suppl):1S-12S.
64. Rosier RN, O'Keefe RJ, Hicks DG. The potential role of transforming growth factor beta in fracture healing. *Clin Orthop,* 1998;355 Suppl:S294-300.
65. Massague J, Wotton D. Transcriptional control by the TGF-beta/Smad signaling system. *EMBO J.* 2000; 19: 1745-54.
66. Liu F, Hata A, Baker JC, Doody J, Carcamo J, Harland RM, Massague J. A human Mad protein acting as a BMP-regulated transcriptional activator. *Nature.* 1996;381: 620-3.
67. Shull M, Ormsby I, Kier AB et al. Targeted disruption of the mouse transforming growth factor-beta gene results in multifocal inflammatory disease. *Nature.* 1992; 359:693-699.
68. Bonewald LF, Dallas SL. Role of active and latent transforming growth factor beta in bone formation. *J Cell Biochem.* 1994; 55:350-357.
69. Dallas SL, Park-Snyder S, Miyazono K, Twardzik D, Mundy GR, Bonewald LF. Characterization and autoregulation of latent transforming growth factor beta (TGF beta) complexes in osteoblast-like cell lines. Production of a latent complex lacking the latent TGF beta binding protein. *J Biol Chem.* 1994; 269:6815-6821.
70. Miyazono H, Ichijo H, Heldin C. Transforming growth factor- $\beta$ : latent forms, binding proteins and receptors. *Growth Factors.* 1993; 8:11-22.

71. Kingsley DM. The TGF-beta superfamily: New members, new receptors, and new genetic tests of function in different organisms. *Genes*. 1994; *Dev* 8:133-146.
72. Andrew JG, Hoyland J, Andrew SM et al: Demonstration of TGF-beta 1 mRNA by in situ hybridization in normal human fracture healing. *Calcif Tissue Int*. 1993;52:74-78.
73. Bourque WT, Gross M, Hall BK. Expression of four growth factors during fracture repair. *Int J Dev Biol*, 1993; 37: 573-79.
74. Joyce ME, Jingushi S, Bolander ME. Transforming growth factor-beta in the regulation of fracture repair. *Orthop Clin North Am*. 1990;21: 199-209.
75. Noda M, Camilliere JJ. In vivo stimulation of bone formation by transforming growth factor-beta. *Endocrinology*. 1989;124: 2991-994.
76. Lind M, Schumacker B, Soballe K, Keller J, Melsen F, Bunger C. Transforming growth factor-beta enhances fracture healing in rabbit tibiae. *Acta Orthop Scand*, 1993; 64: 553-6.
77. Critchlow MA, Bland YS, Ashhurst DE. The effect of exogenous transforming growth factor-beta 2 on healing fractures in the rabbit. *Bone*, 1995;16: 521-7.
78. Reddi AH. Initiation of fracture repair by bone morphogenetic proteins. *Clin Orthop* 1998; 355[Suppl]:S66-S72. Reddi AH. Initiation of fracture repair by bone morphogenetic proteins. *Clin Orthop* 1998; 355[Suppl]:S66-S72.
79. Wozney JM. The bone morphogenetic protein family and osteogenesis. *Mol Rep Dev*. 1992; 32:160-167.
80. Bostrom MP, Lane JM, Berberian WS et al. Immunolocalization and expression of bone morphogenetic proteins 2 and 4 in fracture healing. *J Orthop Res*. 1995; 13:357-367.
81. Finkelman RD, Bell NH, Strong DD, Demers LM, Baylink DJ. Ovariectomy selectively reduces the concentrations of transforming growth factor beta in rat bone: implications for estrogen deficiency-associated bone loss. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89:12190-12193.
82. Nakase T, Nomura S, Yoshikawa H et al. Transient and localized expression of bone morphogenetic protein 4 messenger RNA during fracture healing. *J Bone Miner Res*. 1994;9:651-659.
83. Massague J, Attisano L, Wrana JL. The TGF-beta family and its composite receptors. *Trends Cell Biol*. 1994; 4:172-178.
84. Heldin CH, Miyazono K, Dijke PT. TGF-R signalling from cell membrane to nucleus through SMAD proteins. *Nature*. 1997;390:465-471.
85. Ishidou Y, Kitajima I, Obama H et al. Enhanced expression of type I receptors for bone morphogenetic proteins during bone formation. *J Bone Miner Res*. 1995; 10:1651-1659.

86. Rosen V, Wozney J. Bone Morphogenetic Proteins and the Adult Skeleton. In: Canalis E, eds. *Skeletal Growth Factors*. Philadelphia: Lippincott Williams; 2000:299-310.
87. Barnes GL, Kostenuik PJ, Gerstenfeld LC, Einhorn TA. Growth factor regulation of fracture repair. *Bone Miner Res*. 1999 Nov; 14(11):1805-15.
88. Bostrom MP. Expression of bone morphogenetic proteins in fracture healing. *Clin Orthop*. 1998; 355 (Supp):S116-S123.
89. Wozney JM, Rosen V, Celeste AJ, Mitsock LM, Whitters MJ, Kriz RW, Hewick RM, Wang EA. Novel regulators of bone formation: molecular clones and activities. *Science*, 1988; 242: 1528-34.
90. Israel DI, Nove J, Kerns KM, Kaufman RJ, Rosen V, Cox KA, Wozney JM. Heterodimeric bone morphogenetic proteins show enhanced activity in vitro and in vivo. *Growth Factors* 1996;13(3-4):291-300.
91. Bissinger O, Kreutzer K, Götz C, Hapfelmeier A, Pautke C, Vogt S, et al. A biomechanical, micro-computertomographic and histological analysis of the influence of diclofenac and prednisolone on fracture healing in vivo. *BMC musculoskeletal disorders*. 2016;17(1):383. doi.10.1186/s12891-016-1241-2.
92. Matsumoto T, Yasunaga H, Matsui H, Fushimi K, Izawa N, Yasui T, et al. Time trends and risk factors for perioperative complications in total ankle arthroplasty: retrospective analysis using a national database in Japan. *BMC musculoskeletal disorders*. 2016;17(1):450. doi.10.1186/s12891-016-1299-x.
93. Holstein JH, Klein M, Garcia P, Histing T, Culemann U, Pizanis A, et al. Rapamycin affects early fracture healing in mice. *British journal of pharmacology*. 2008;154(5):1055-62. doi.10.1038/bjp.2008.167.
94. Satoh K, Mark H, Zachrisson P, Rydevik B, Byröd G, Kikuchi S, et al. Effect of methotrexate on fracture healing. *Fukushima journal of medical science*. 2011;57(1):11-8. doi.10.5387/fms.57.11.
95. Richardson J, Hill AM, Johnston CJ, McGregor A, Norrish AR, Eastwood D, et al. Fracture healing in HIV-positive populations. *The Journal of bone and joint surgery British volume*. 2008;90(8):988-94. doi.10.1302/0301-620x.90b8.20861.
96. Kon T, Cho TJ, Aizawa T, Yamazaki M, Nooh N, Graves D, et al. Expression of osteoprotegerin, receptor activator of NF-kappaB ligand (osteoprotegerin ligand) and related proinflammatory cytokines during fracture healing. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 2001;16(6):1004-14. doi.10.1359/jbmr.2001.16.6.1004.
97. Ozaki A, Tsunoda M, Kinoshita S, Saura R. Role of fracture hematoma and periosteum during fracture healing in rats: interaction of fracture hematoma and the periosteum in the initial step of the healing process. *Journal of orthopaedic science : official journal of the Japanese Orthopaedic Association*. 2000;5(1):64-70. doi.10.1007/s007760050010.
98. Timlin M, Toomey D, Condrón C, Power C, Street J, Murray P, et al. Fracture hematoma is a potent proinflammatory mediator of neutrophil function. *The Journal of trauma*. 2005;58(6):1223-9. doi.10.1097/01.ta.0000169866.88781.f1.

99. Meert KL, Ofenstein JP, Sarnaik AP. Altered T cell cytokine production following mechanical trauma. *Annals of clinical and laboratory science*. 1998;28(5):283-
100. Al-Sebaei MO, Daukss DM, Belkina AC, Kakar S, Wigner NA, Cusher D, et al. Role of Fas and Treg cells in fracture healing as characterized in the fas-deficient (lpr) mouse model of lupus. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 2014;29(6):1478-91. doi.10.1002/jbmr.2169
101. Chen SH, Wu PH, Lee YS. Long-term results of pilon fractures. *Archives of orthopaedic and trauma surgery*. 2007;127(1):55-60. doi.10.1007/s00402-006-0225-3.
102. Roldán JC, Jepsen S, Miller J, Freitag S, Rueger DC, Açil Y, et al. Bone formation in the presence of platelet-rich plasma vs. bone morphogenetic protein-7. *Bone*. 2004;34(1):80-90. doi.10.1016/j.bone.2003.09.011.
103. Jingushi S, Scully SP, Joyce ME, Sugioka Y, Bolander ME. Transforming growth factor-beta 1 and fibroblast growth factors in rat growth plate. *J Orthop Res*. 1995;13(5):761-8. doi.10.1002/jor.1100130516.
104. Dimitriou R, Tsiridis E, Giannoudis PV. Current concepts of molecular aspects of bone healing. *Injury*. 2005;36(12):1392-404. doi.10.1016/j.injury.2005.07.019.
105. Dülgeroglu TC, Metineren H. Evaluation of the Effect of Platelet-Rich Fibrin on Long Bone Healing: An Experimental Rat Model. *Orthopedics*. 2017;40(3):e479-e84. doi.10.3928/01477447-20170308-02.
106. Leibovich SJ, Ross R. The role of the macrophage in wound repair. A study with hydrocortisone and antimacrophage serum. *The American journal of pathology*. 1975;78(1):71-100.
107. Vannella KM, Wynn TA. Mechanisms of Organ Injury and Repair by Macrophages. *Annual review of physiology*. 2017;79:593-617. doi.10.1146/annurev-physiol-022516-034356.
108. Wu AC, Raggatt LJ, Alexander KA, Pettit AR. Unraveling macrophage contributions to bone repair. *BoneKEY reports*. 2013;2:373. doi.10.1038/bonekey.2013.107.
109. Alexander KA, Chang MK, Maylin ER, Kohler T, Müller R, Wu AC, et al. Osteal macrophages promote in vivo intramembranous bone healing in a mouse tibial injury model. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 2011;26(7):1517-32. doi.10.1002/jbmr.354.
110. Baht GS, Silkstone D, Vi L, Nadesan P, Amani Y, Whetstone H, et al. Exposure to a youthful circulatory rejuvenates bone repair through modulation of  $\beta$ -catenin. *Nature communications*. 2015;6:7131. doi.10.1038/ncomms8131.
111. Schlundt C, El Khassawna T, Serra A, Dienelt A, Wendler S, Schell H, et al. Macrophages in bone fracture healing: Their essential role in endochondral ossification. *Bone*. 2018;106:78-89. doi.10.1016/j.bone.2015.10.019.
112. Vi L, Baht GS, Whetstone H, Ng A, Wei Q, Poon R, et al. Macrophages promote osteoblastic differentiation in-vivo: implications in fracture repair and bone

- homeostasis. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 2015;30(6):1090-102. doi.10.1002/jbmr.2422.
113. Chang MK, Raggatt LJ, Alexander KA, Kuliwaba JS, Fazzalari NL, Schroder K, et al. Osteal tissue macrophages are intercalated throughout human and mouse bone lining tissues and regulate osteoblast function in vitro and in vivo. *Journal of immunology* (Baltimore, Md : 1950). 2008;181(2):1232-44. doi.10.4049/jimmunol.181.2.1232.
  114. Furze RC, Rankin SM. Neutrophil mobilization and clearance in the bone marrow. *Immunology*. 2008;125(3):281-8. doi.10.1111/j.1365-2567.2008.02950.x.
  115. Sadik CD, Kim ND, Luster AD. Neutrophils cascading their way to inflammation. *Trends in immunology*. 2011;32(10):452-60. doi.10.1016/j.it.2011.06.008.
  116. Bastian OW, Koenderman L, Alblas J, Leenen LP, Blokhuis TJ. Neutrophils contribute to fracture healing by synthesizing fibronectin+ extracellular matrix rapidly after injury. *Clinical immunology* (Orlando, Fla). 2016;164:78-84. doi.10.1016/j.clim.2016.02.001.
  117. Xian CJ, Zhou FH, McCarty RC, Foster BK. Intramembranous ossification mechanism for bone bridge formation at the growth plate cartilage injury site. *J Orthop Res*. 2004;22(2):417-26. doi.10.1016/j.orthres.2003.08.003.
  118. Segal AW. How neutrophils kill microbes. *Annual review of immunology*. 2005;23:197-223. doi.10.1146/annurev.immunol.23.021704.115653.
  119. Nam D, Mau E, Wang Y, Wright D, Silkstone D, Whetstone H, et al. T-lymphocytes enable osteoblast maturation via IL-17F during the early phase of fracture repair. *PloS one*. 2012;7(6):e40044. doi.10.1371/journal.pone.0040044.
  120. Andrew JG, Andrew SM, Freemont AJ, Marsh DR. Inflammatory cells in normal human fracture healing. *Acta orthopaedica Scandinavica*. 1994;65(4):462-6. doi.10.3109/17453679408995493.
  121. Toben D, Schroeder I, El Khassawna T, Mehta M, Hoffmann JE, Frisch JT, et al. Fracture healing is accelerated in the absence of the adaptive immune system. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 2011;26(1):113-24. doi.10.1002/jbmr.185.
  122. El Khassawna T, Serra A, Bucher CH, Petersen A, Schlundt C, Könnecke I, et al. T Lymphocytes Influence the Mineralization Process of Bone. *Frontiers in immunology*. 2017;8:562. doi.10.3389/fimmu.2017.00562.
  123. Könnecke I, Serra A, El Khassawna T, Schlundt C, Schell H, Hauser A, et al. T and B cells participate in bone repair by infiltrating the fracture callus in a two-wave fashion. *Bone*. 2014;64:155-65. doi.10.1016/j.bone.2014.03.052.
  124. Bosselut R. CD4/CD8-lineage differentiation in the thymus: from nuclear effectors to membrane signals. *Nature reviews Immunology*. 2004;4(7):529-40. doi.10.1038/nri1392.

125. Kitagawa Y, Ohkura N, Sakaguchi S. Molecular determinants of regulatory T cell development: the essential roles of epigenetic changes. *Frontiers in immunology*. 2013;4:106. doi.10.3389/fimmu.2013.00106.
126. Ciofani M, Zúñiga-Pflücker JC. Determining  $\gamma\delta$  versus  $\alpha\beta$  T cell development. *Nature reviews Immunology*. 2010;10(9):657-63. doi.10.1038/nri2820.
127. Vantourout P, Hayday A. Six-of-the-best: unique contributions of  $\gamma\delta$  T cells to immunology. *Nature reviews Immunology*. 2013;13(2):88-100. doi.10.1038/nri3384.
128. Bonneville M, O'Brien RL, Born WK. Gammadelta T cell effector functions: a blend of innate programming and acquired plasticity. *Nature reviews Immunology*. 2010;10(7):467-78. doi.10.1038/nri2781.
129. Ono T, Okamoto K, Nakashima T, Nitta T, Hori S, Iwakura Y, et al. IL-17-producing  $\gamma\delta$  T cells enhance bone regeneration. *Nature communications*. 2016;7:10928. doi.10.1038/ncomms10928.
130. Reinke S, Geissler S, Taylor WR, Schmidt-Bleek K, Juelke K, Schwachmeyer V, et al. Terminally differentiated CD8<sup>+</sup> T cells negatively affect bone regeneration in humans. *Science translational medicine*. 2013;5(177):177ra36. doi.10.1126/scitranslmed.3004754.
131. Shen P, Fillatreau S. Antibody-independent functions of B cells: a focus on cytokines. *Nature reviews Immunology*. 2015;15(7):441-51. doi.10.1038/nri3857.
132. Sun G, Wang Y, Ti Y, Wang J, Zhao J, Qian H. Regulatory B cell is critical in bone union process through suppressing proinflammatory cytokines and stimulating Foxp3 in Treg cells. *Clinical and experimental pharmacology & physiology*. 2017;44(4):455-62. doi.10.1111/1440-1681.12719.
133. Kong YY, Feige U, Sarosi I, Bolon B, Tafuri A, Morony S, et al. Activated T cells regulate bone loss and joint destruction in adjuvant arthritis through osteoprotegerin ligand. *Nature*. 1999;402(6759):304-9. doi.10.1038/46303.
134. Manabe N, Kawaguchi H, Chikuda H, Miyaura C, Inada M, Nagai R, et al. Connection between B lymphocyte and osteoclast differentiation pathways. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)*. 2001;167(5):2625-31. doi.10.4049/jimmunol.167.5.2625.
135. Raggatt LJ, Alexander KA, Kaur S, Wu AC, MacDonald KP, Pettit AR. Absence of B cells does not compromise intramembranous bone formation during healing in a tibial injury model. *The American journal of pathology*. 2013;182(5):1501-8. doi.10.1016/j.ajpath.2013.01.046.
136. Yang S, Ding W, Feng D, Gong H, Zhu D, Chen B, et al. Loss of B cell regulatory function is associated with delayed healing in patients with tibia fracture. *APMIS : acta pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica*. 2015;123(11):975-85. doi.10.1111/apm.12439.
137. Chaplin DD. Overview of the immune response. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2010;125(2 Suppl 2):S3-23. doi.10.1016/j.jaci.2009.12.980.



138. Hauser CJ, Joshi P, Jones Q, Zhou X, Livingston DH, Lavery RF. Suppression of natural killer cell activity in patients with fracture/soft tissue injury. *Archives of surgery* (Chicago, Ill : 1960). 1997;132(12):1326-30. doi.10.1001/archsurg.1997.01430360072013.
139. Söderström K, Stein E, Colmenero P, Purath U, Müller-Ladner U, de Matos CT, et al. Natural killer cells trigger osteoclastogenesis and bone destruction in arthritis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2010;107(29):13028-33. doi.10.1073/pnas.1000546107.
140. Almeida CR, Caires HR, Vasconcelos DP, Barbosa MA. NAP-2 Secreted by Human NK Cells Can Stimulate Mesenchymal Stem/Stromal Cell Recruitment. *Stem cell reports*. 2016;6(4):466-73. doi.10.1016/j.stemcr.2016.02.012.
141. Mizuno K, Mineo K, Tachibana T, Sumi M, Matsubara T, Hirohata K. The osteogenetic potential of fracture haematoma. Subperiosteal and intramuscular transplantation of the haematoma. *The Journal of bone and joint surgery British volume*. 1990;72(5):822-9. doi.10.1302/0301-620x.72b5.2211764.
142. Claes L, Recknagel S, Ignatius A. Fracture healing under healthy and inflammatory conditions. *Nat Rev Rheumatol*. 2012;8(3):133-43. doi.10.1038/nrrheum.2012.1.
143. Hajishengallis G. Periodontitis: from microbial immune subversion to systemic inflammation. *Nature reviews Immunology*. 2015;15(1):30-44. doi.10.1038/nri3785.
144. Wong PK, Quinn JM, Sims NA, van Nieuwenhuijze A, Campbell IK, Wicks IP. Interleukin-6 modulates production of T lymphocyte-derived cytokines in antigen-induced arthritis and drives inflammation-induced osteoclastogenesis. *Arthritis and rheumatism*. 2006;54(1):158-68. doi.10.1002/art.21537.
145. Tamura T, Udagawa N, Takahashi N, Miyaura C, Tanaka S, Yamada Y, et al. Soluble interleukin-6 receptor triggers osteoclast formation by interleukin 6. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1993;90(24):11924-8. doi.10.1073/pnas.90.24.11924.
146. Kleber C, Becker CA, Malysch T, Reinhold JM, Tsitsilonis S, Duda GN, et al. Temporal profile of inflammatory response to fracture and hemorrhagic shock: Proposal of a novel long-term survival murine multiple trauma model. *J Orthop Res*. 2015;33(7):965-70. doi.10.1002/jor.22857.
147. Yang X, Ricciardi BF, Hernandez-Soria A, Shi Y, Pleshko Camacho N, Bostrom MP. Callus mineralization and maturation are delayed during fracture healing in interleukin-6 knockout mice. *Bone*. 2007;41(6):928-36. doi.10.1016/j.bone.2007.07.022.
148. Wallace A, Cooney TE, Englund R, Lubahn JD. Effects of interleukin-6 ablation on fracture healing in mice. *J Orthop Res*. 2011;29(9):1437-42. doi.10.1002/jor.21367.
149. Blüml S, Scheinecker C, Smolen JS, Redlich K. Targeting TNF receptors in rheumatoid arthritis. *International immunology*. 2012;24(5):275-81. doi.10.1093/intimm/dxs047.

150. Keffer J, Probert L, Cazlaris H, Georgopoulos S, Kaslaris E, Kioussis D, et al. Transgenic mice expressing human tumour necrosis factor: a predictive genetic model of arthritis. *The EMBO journal*. 1991;10(13):4025-31.
151. Horai R, Nakajima A, Habiro K, Kotani M, Nakae S, Matsuki T, et al. TNF-alpha is crucial for the development of autoimmune arthritis in IL-1 receptor antagonist-deficient mice. *The Journal of clinical investigation*. 2004;114(11):1603-11. doi.10.1172/jci20742.
152. Diarra D, Stolina M, Polzer K, Zwerina J, Ominsky MS, Dwyer D, et al. Dickkopf-1 is a master regulator of joint remodeling. *Nat Med*. 2007;13(2):156-63. doi.10.1038/nm1538.
153. Gerstenfeld LC, Cho TJ, Kon T, Aizawa T, Tsay A, Fitch J, et al. Impaired fracture healing in the absence of TNF-alpha signaling: the role of TNF-alpha in endochondral cartilage resorption. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 2003;18(9):1584-92. doi.10.1359/jbmr.2003.18.9.1584.
154. Bermejo DA, Jackson SW, Gorosito-Serran M, Acosta-Rodriguez EV, Amezcua-Vesely MC, Sather BD, et al. Trypanosoma cruzi trans-sialidase initiates a program independent of the transcription factors RORyt and Ahr that leads to IL-17 production by activated B cells. *Nature immunology*. 2013;14(5):514-22. doi.10.1038/ni.2569.
155. Yang R, Liu Y, Kelk P, Qu C, Akiyama K, Chen C, et al. A subset of IL-17(+) mesenchymal stem cells possesses anti-Candida albicans effect. *Cell research*. 2013;23(1):107-21. doi.10.1038/cr.2012.179.
156. Langrish CL, Chen Y, Blumenschein WM, Mattson J, Basham B, Sedgwick JD, et al. IL-23 drives a pathogenic T cell population that induces autoimmune inflammation. *The Journal of experimental medicine*. 2005;201(2):233-40. doi.10.1084/jem.20041257.
157. Park H, Li Z, Yang XO, Chang SH, Nurieva R, Wang YH, et al. A distinct lineage of CD4 T cells regulates tissue inflammation by producing interleukin 17. *Nature immunology*. 2005;6(11):1133-41. doi.10.1038/ni1261.
158. Beringer A, Noack M, Miossec P. IL-17 in Chronic Inflammation: From Discovery to Targeting. *Trends in molecular medicine*. 2016;22(3):230-41. doi.10.1016/j.molmed.2016.01.001.
159. Baeten D, Baraliakos X, Braun J, Sieper J, Emery P, van der Heijde D, et al. Anti-interleukin-17A monoclonal antibody secukinumab in treatment of ankylosing spondylitis: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet*. 2013;382(9906):1705-13. doi.10.1016/s0140-6736(13)61134-4.
160. McInnes IB, Mease PJ, Kirkham B, Kavanaugh A, Ritchlin CT, Rahman P, et al. Secukinumab, a human anti-interleukin-17A monoclonal antibody, in patients with psoriatic arthritis (FUTURE 2): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet*. 2015;386(9999):1137-46. doi.10.1016/s0140-6736(15)61134-5.

161. Wu Y, Humphrey MB, Nakamura MC. Osteoclasts - the innate immune cells of the bone. *Autoimmunity*. 2008;41(3):183-94. doi.10.1080/08916930701693180.
162. Udagawa N, Takahashi N, Akatsu T, Tanaka H, Sasaki T, Nishihara T, et al. Origin of osteoclasts: mature monocytes and macrophages are capable of differentiating into osteoclasts under a suitable microenvironment prepared by bone marrow-derived stromal cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1990;87(18):7260-4. doi.10.1073/pnas.87.18.7260.
163. Boyle WJ, Simonet WS, Lacey DL. Osteoclast differentiation and activation. *Nature*. 2003;423(6937):337-42. doi.10.1038/nature01658.
164. Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini F, Krause D, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytherapy*. 2006;8(4):315-7. doi.10.1080/14653240600855905.