

19. **Montfort I., Perez-Tamayo R.** Collagenase in experimental carbon tetrachloride cirrhosis of the liver // *Am.J.Pathol.* - 1978. - Vol.92, N 2. - P.411-420.
20. **Mori T., Okanoue T., Kanaoka H., Sawa Y., Kashima K.** Experimental study of the reversibility of sinusoidal capillarization. // *Alcohol & Alcoholism.* - 1994. - Vol. 28.P.67-74.
21. **Murphy G., Reynolds J.J.** Current views of collagen degradation // *BioEssays.* – 1985. – Vol.2, N 2.- P.55-60.
22. **Murphy G., Ward R., Gavrilovic J., Atkinson S.** Physiological mechanisms for metalloproteinase activation. // *Matrix Suppl.* 1:224-30, 1992.
23. **Okazaki I., Maruyama K.** Collagenase activity in experimental hepatic fibrosis // *Nature.* - 1974. - Vol.252, N 202. - P.49-50.
24. **Okazaki I., Maruyama K., Kashiwazaki K., Tsuchiya M.** Mechanism of collagenase production by liver cells. // *Pathobiology of hepatic fibrosis.- Amsterdam -1985.* - P.141-149.
25. **Perez-Tamayo R.** Is cirrhosis of the liver experimentally produced by CCl₄ an adequate model of human cirrhosis // *Hepatology.* - 1983. - Vol.3, N 1. - P.112-120.
26. **Reynolds J.J.** Collagenases and tissue inhibitors of metalloproteinases: a functional balance in tissue degradation // *Oral Disease.* – 1996. – Vol.2, N1. P.70-76.
27. **Reynolds J.J.** The functional balance of metalloproteinases and inhibitors in tissue degradation.// *J. Royal College of Surgeons of Edinburgh.-1997.–Vol.42,N3.– P.154-160.*
28. **Shingleton W., Hodges D., Brick P., Cawston T.** Collagenase: a key enzyme in collagen turnover. // *Biochemistry & Cell Biology.* - 1996. – Vol.74, N 6. – P. 759-775.
29. **Woessner J.** Biological mechanisms of collagen degradation // *Treatise on Collagen.* - New York, 1968. - Vol.2, Part B. - P.253-330.
30. **Woessner J.** Matrix metalloproteinases and their inhibitors in connective tissue remodeling // *FASEB Journal.* - 1991. – Vol.5, N8. – P.2145-2154.
31. **Рывняк В.В., Гудумак В.С., Оня Е.С.** Электронно-гистохимическая локализация коллагеназы в печени. // *Бюлл. экпер. биологии и медицины.* - 1995. - N 1. - С. 22-26.

PARTICULARITĂȚILE MORFO-CLINICE ALE PROCESULUI DE REGENERARE A ȚESUTULUI OSOS ÎN FRACTURI

Marina Florea

(Coordonator științific: Globa Tatiana, asistent universitar)

Catedra de Histologie USMF “N. Testemițanu”

Summary

Morphological and clinical features of regenerative process of bone tissue in fracture

The main goal of this study was to histologically evaluate the regeneration of bone tissue in case of fractures. According to the type of mechanical stabilization applied, the bone consolidation undergoes whether endochondral, or intramembranous ossification. Each mechanism includes several stages, histologically and physiologically different. They ensure the arrival of osteoprogenitor cells at the site of the fracture and their activation, realized by inductive factors. Tissue engineering, that is implantation of biological or artificial material which creates a proper environment for bone regeneration, presents a new and promising field in fracture surgery.

Rezumat

Scopul principal al lucrării a fost studiul histologic al regenerării țesutului osos în fracturi. În dependență de tipul de imobilizare aplicat, consolidarea osoasă se realizează după modelul direct sau indirect. Fiecare mecanism de vindecare include mai multe etape, diferite din punct de vedere histologic și fiziologic. Acestea asigură deplasarea celulelor osteoprogenitoare spre situsul fracturii și activarea acestora prin factorii inductivi. O ramură nouă în chirurgia fracturilor

o constituie ingineria tisulară, care constă în aplicarea implanturilor, naturale sau artificiale, care creează mediul favorabil regenerării țesutului osos.

Țesutul osos este considerat un complex morfofuncțional cu rol mecanic și biologic deosebit. Țesutul se află într-o continuă reînnoire prin metabolismul său, sub acțiunea solicitărilor fiziologice și patologice la care se expune. Osul este un organ aflat în permanentă transformare interioară, care îi asigură o importantă proprietate de adaptare – capacitatea de vindecare în caz de fracturi.

Consolidarea fracturilor

În procesul vindecării osoase se disting 3 mecanisme majore:

1. *Recrutarea celulelor osteoprogenitoare*: preosteoblastele prin inducție și modulație se diferențiază în osteoblaste;
2. *Modulația*: osteoblastul este stimulat să sintetizeze matricea extracelulară;
3. *Osteoconducția*: determină stabilirea unui mediu corespunzător, asigurând astfel structura tridimensională a osului.

Tratamentul unei fracturi este un proces fiziologic destul de complex. Histologic, refacerea țesutului osos se clasifică în regenerare primară și secundară, în dependență de tratamentul aplicat (placa rigidă prin compresiune, aparat gipsat).

Regenerarea primară (intramembranoasă)

Prima etapă se caracterizează prin formare de calus (țesut reticulofibros), după fixarea capetelor fracturate. Modelul osos astfel format nu corespunde cu structura inițială a osului; mai mult, orientarea lamelilor și a fibrelor de colagen are o direcție transversală față de axul longitudinal al diafizei. Ambele capete osoase prezintă arii necrotice, având în vedere întreruperea vascularizației la acest nivel.

A doua etapă presupune reconstrucția longitudinală a situsului fracturii, prin remodelare haversiană. Osteoclastele de la marginea țesutului osos devitalizat traversează linia de fractură în cealaltă parte, prin forare de tunele. Aceste tunele sunt mai apoi traversate de vasele sangvine de neoformație cu origine medulară care aduc cu sine celule mezenchimale și precursori pentru osteoblaste.

Regenerarea secundară (endocondrală)

Rolul cheie în procesul de regenerare îi revine periostului, ținând cont de prezența stratului osteogen cu celule osteoprogenitoare. Vindecarea fracturii se produce în 6 etape distincte cu particularități histologice și fiziologice.

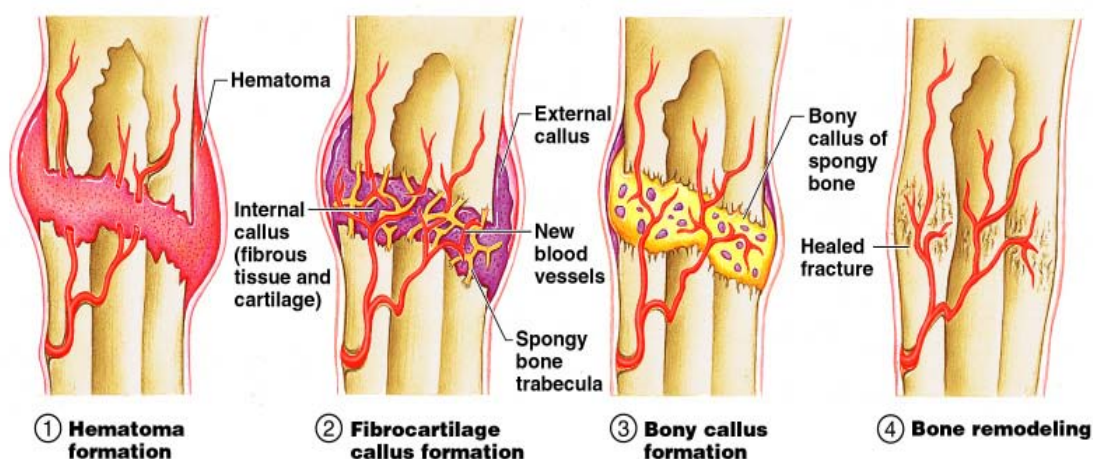


Fig. 1. Etapele regenerării endocondrale a țesutului osos.

I. Impactul și formarea hematoului.

Impactul are loc în momentul producerii fracturii și continuă până ce energia traumatică este complet disipată. Totodată acesta mai reprezintă și începutul vindecării osoase. După impact

periostul și vasele medulare sunt rupte, se formează hematumul postfracturar, după care mediatorii inflamației încep să se acumuleze local.

Rețeaua de fibrină din cadrul hematumulului va servi ulterior substrat osteoconductiv. La nivelul fracturii țesutul osos prezintă o presiune joasă a oxigenului, un pH scăzut și conține chinine, prostaglandine și proteine necolagenice care au un rol vital în inițierea procesului de regenerare osoasă.

II. *Inducția.*

Fenomenele inductive se produc în primele minute până la câteva ore de la producerea fracturii. Inducția se manifestă printr-o cascadă de evenimente: eliberarea și concentrarea proteinelor morfogenetice (BMP) și a factorilor de creștere (eliberate de celulele necrozate de la extremitățile fracturate), activarea celulelor osteoprogenitoare, apariția angiogenezei. La sfârșitul acestei etape încep să apară celule inflamatorii.

III. *Inflamația.*

Debutează în 48 de ore de la impact și încetează odată cu formarea calusului moale. Se manifestă clinic prin dezvoltarea tumefierii și accentuarea durerii. Histologic se manifestă prin invazia hematumulului de către celulele inflamatorii: polimorfonucleate, neutrofile, mastocite și macrofage. Osteoclastele deplasate în această zonă au rol de a elimina osul necrozat. Ulterior în hematom apar fibroblaștii și capilarele de neoformație care îl înlocuiesc cu *țesut de granulație* compus din: celule inflamatorii, fibroblaști, collagen și neocapilare de invazie. Capilarele nou formate derivă inițial de la vasele periostale, mai târziu de la artera medulară nutritivă. Acest moment are semnificație chirurgicală. Detașarea excesivă a periostului sau afectarea sistemului intramedular pe cale operatorie ar conduce la dereglarea procesului de consolidare osoasă. Neocapilarele de invazie reprezintă sursa principală de celule mezenchimale pluripotente.

Inflamația este importantă și în procesul de înlocuire a hematumulului postfracturar cu calusul timpuriu, eliberându-se substanțe inductoare de natură necunoscută responsabili de producerea acestei schimbări. Inhibiția acestui stadiu printr-o medicație antiinflamatorie poate afecta procesul natural al vindecării.

IV. *Stadiul calusului moale.*

Calusul moale este caracterizat printr-o proliferare înaltă a celulelor osteoprogenitoare și a osteoblastelor stratului cambial al periostului și al endostului. Stroma fibrovasculară caracteristică țesutul de granulație format la etapa precedentă este înlocuită cu țesut osteoid și condroid. S-a constatat că diferențierea specifică a celulelor mezenchimale depinde de mediul în care acestea se dezvoltă: pe suprafețele cu o presiune sangvină mai scăzută se dezvoltă condrocitele, ariile mai intens oxigenate reprezintă un substrat pentru formarea țesutului osos.

Micile mișcări la nivelul fracturii reprezintă un important stimul mecanic pentru formarea calusului. Contrar angiogenezei intense care însoțește formarea calusului moale, concentrația oxigenului rămâne scăzută și pH-ul acid. Dacă aportul sangvin suplimentar realizat prin proliferarea vasculară este perturbat, se atestă un răspuns regenerativ slab, ce împiedică repararea osoasă normală.

V. *Stadiul calusului dur.*

Tranziția de la calusul moale la cel dur survine în 3-4 săptămâni de la producerea fracturii. Debutează odată cu apariția insulelor de cartilaj calcifiat și continuă până la unirea fermă a extremităților osoase. Osteoidul și insulele cartilaginoase externe, precum și calusul moale medular sunt mineralizate și transformate în trabecule osoase dispuse neregulat (calus dur). Mineralizarea matricei osoase rămâne a fi un fenomen neelucidat complet. Se consideră că aceasta debutează odată cu interacțiunea dintre sărurile de calciu și fosfați cu aminoacizii fibrilelor de collagen. Ca rezultat se obțin fibrile de collagen impregnate cu cristale de hidroxiapatită. Mineralizarea este susținută de fosfatasa alcaline secretate de osteoblaste.

La această etapă aportul sanguin local și presiunea oxigenului continuă să crească. La sfârșitul etapei fractura este considerată clinic vindecată.

VI. Remodelarea osoasă (resorbția osoasă).

Remodelarea începe la aproximativ 6 săptămâni de la fractură, durează o perioadă mai îndelungată. Studiile cu radioizotopi au demonstrat că în fractura de tibie, spre exemplu, remodelarea durează 6-9 ani. În decursul acestei etape are loc reorganizarea lamelor osoase ale calusului, prin conlucrarea elementelor celulare ale țesutului osos (osteoblastele și osteoclastele). Ca urmare a procesului de reorganizare osoasă are loc rețracția calusului. De asemenea presiunea oxigenului revine la normal.

Mecanismul de control al activității celulare la această etapă se consideră a fi de natură electrică. În momentul în care osul este expus unei anumite forțe se produce un efect piezoelectric, cu sarcină electrică pozitivă pe suprafața convexă și negativă pe suprafața concavă. Studii experimentale au indicat faptul că regiunile electropozitive prezintă activitate osteoclastică, pe când cele electronegative – activitate osteoblastică. Rezultatul final al remodelării osoase îl constituie o formă și o orientare a lamelor mult mai adaptată forțelor mecanice.

Reglarea procesului de regenerare a țesutului osos (vezi imaginea 2)

Reglarea procesului de regenerare a țesutului osos este mediată de citokine și factorii de creștere, sintetizați de neutrofile, trombocite și alte celule, apărute în cursul inflamației. Cele mai importante citokine sunt *interleukinele 1, 6*, iar cei mai importanți factori de creștere sunt PDGF (*platelet derived growth factor*) și TGFβ (*transforming growth factor*). Prezintă un interes deosebit proteina BMP (*bone morphogenetic protein*) care face parte din grupul TGFβ, ce stimulează formarea osteoblastelor din celule progenitoare și sporește sinteza colagenului.

Acțiunea substanțelor reglatoare se prezintă în succesiunea următoarelor evenimente:

1. Asocierea la un receptor celular transmembranar specific;
2. Modificarea conformației intracelulare a receptorului → activarea protein-kinazelor;
3. Activarea transcripției genelor de creștere cu formare de ARNm;
4. Translația și sinteza proteinelor corespunzătoare;
5. Creșterea și diviziunea celulei (sau formare de citoplasmă).

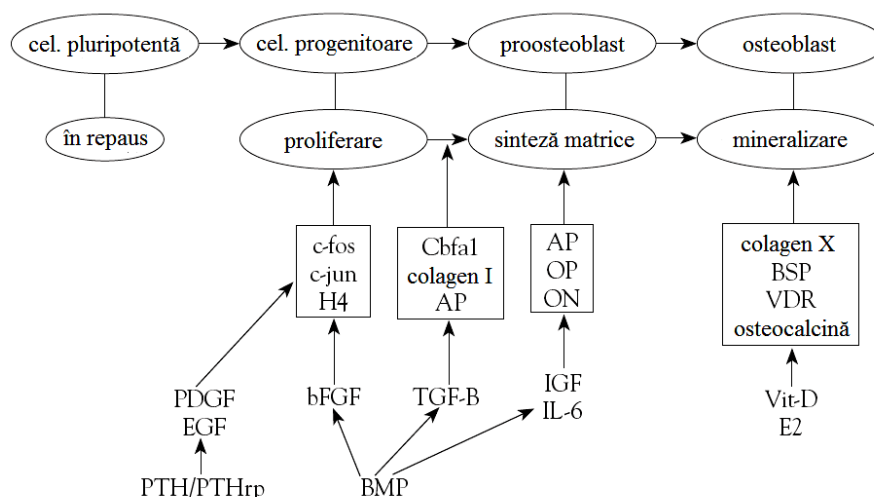


Fig. 2. Procesul de formare a osteoblastelor. Nivelele de diferențiere a osteoblastelor și activitatea celulară de bază la aceste nivele; gene expresate la fiecare dintre aceste nivele și gradul de implicare a anumitor factori de creștere și hormoni.

H4 – histona H4; Cbfa1 – factor de transcripție ‚corebinding factor‘; AP – fosfataza alcalină; OP – osteopontină; ON – osteonectină; BSP – bone sialoprotein; VDR – receptor pentru vit. D; EGF – epithelial growth factor; bFGF – base fibroblast growth factor; IL-6 – interleukin 6; E2 – estradiol; PTH – parathormon; PTHrp – parathyroid hormone related protein.

TGFβ (Transforming Growth Factor)

Este produs de osteoblaste și stocat în matricea țesutului osos, astfel osul este cel mai mare depozit de TGFβ al organismului. Osteoblastele au cel mai mare număr de receptori pentru TGFβ. La nivel extracelular TGFβ a fost depistat în hematumul postfracturar, fiind eliberat de plachete în primele 24 de ore. Intracelular TGFβ este observat în proliferările osteoblastelor din ariile subperiostale adiacente liniei de fractură. Concentrația de TGFβ scade pe măsură ce calusul se maturizează, astfel încât se va găsi în cantitate redusă în calusul dur și în aria de osificare endocondrală.

TGFβ intensifică proliferarea celulelor mezenchimale și a osteoblastelor în fracturi. De asemenea reglează proliferarea și diferențierea condrocitelor din precursorii celulelor mezenchimale și a sintezei matricei cartilajinoase.

BMP (Bone Morphogenetic Protein)

BMP este un factor intrinsec ce produce osteoinducția în osul demineralizat. Studii de cromatografie și imunohistologie au identificat cel puțin 15 tipuri de astfel de proteine. BMP2 și BMP4 au fost izolate în celulele mezenchimale de la nivelul hematumul postfracturar și stratului cambial periostal adiacent fracturii, iar în stadiile tardive ale procesului de reparare osoasă apar în condroblastele și osteoblastele din vecinătatea matricei osoase calcificate.

Proteina BMP2 umană obținută prin tehnica ADN recombinant și implantată subcutanat la șobolani induce formarea de cartilaj după 5 zile, formarea de țesut osos nou după 7 zile și o schiță osoasă cu măduvă după 21 de zile. BMP2 este în curs de evaluare în studii clinice privind fortificarea peretelui sinusului maxilar pentru a permite plasarea implantelor dentare.

PDGF (Platelet Derived Growth Factor)

PDGF este sintetizat de plachetele sangvine (la nivelul leziunii, în cadrul agregării plachetare), monocite, macrofage și celule endoteliale și influențează majoritatea celulelor mezodermice. Au rol în creșterea sintezei de ADN, mărirea ratei diviziunilor celulare și sinteza proteinelor colagenice și necolagenice. Reprezintă un factor important al vindecării plăgilor și fracturilor.

IGF I-II (Insuline-like Growth Factor)

IGF I (somatomedina C) și IGF II (factor de creștere a scheletului) sunt produși de diferite tipuri de celule, inclusiv osteoblaste. IGF I este de 4-7 ori mai activ decât IGF II. IGF I stimulează formarea proteinelor colagenice și necolagenice, de asemenea induce proliferarea osteoblastelor. Activează vindecarea defectelor osoase produse experimental la animale, creșterea în lungime a diafizei oaselor și induce închiderea prematură a suturilor craniene.

Noi orizonturi în tratamentul fracturilor

Actualmente sunt folosite implanturile biologice sau mecanice care sporesc rata de creștere și reparare osoasă (vezi *tabela 1*). Un implant ideal trebuie să asigure desfășurarea celor 3 importante evenimente: osteogeneza, osteoinducția și osteoconducția. Implantul ce întrunește toate cele 3 calități este țesutul spongios autogen, dar și acesta prezintă anumite dezavantaje: infecție, durere, afectarea nervilor, fracturi extinse, etc.

Implant	Osteogeneza	Osteoconducție	Osteoinducție
țesut spongios	++	++++	++
măduvă osoasă	+++	+/-	-
material ceramic	-	++++	-
matrice osoasă	-	+	+++
factori de creștere	-	-	++++
combinație	+*	+*	+*

Tabela 1: Materiale utilizate actualmente în calitate de implant.

, + ' reprezintă gradul de influență;

, - ' denotă lipsa influenței;

, * ' în combinații gradul de influență depinde de tipul combinației.

Astfel oamenii de știință sunt într-o căutare permanentă de materiale noi, utilizate ca implant, care ar asigura eficacitatea celor 3 caracteristici. În clinică cea mai utilizată sursă de material osteogen este măduva osoasă, ceramica este folosită ca substrat osteoconductiv, iar factorii de creștere (BMP) și matricea osoasă demineralizată sunt utilizate în osteoinducție.

Concluzii

Stabilizarea mecanică a fost considerată până de curând cea mai importantă metodă de tratament a fracturilor. Datorită progresului tehnologic al medicinei și dezvoltării vertiginose a biologiei celulare și moleculare a apărut o nouă abordare a problemei – microtratamentul fracturilor. Stabilizarea mecanică este completată de administrarea substanțelor biologice active care stimulează regenerarea mai rapidă a țesutului osos. O etapă nouă prezintă ingineria tisulară – implantarea unui material biologic sau artificial în țesut, cu rol de accelerare a osteogenezei.

Astfel tema regenerării țesutului osos prezintă largi perspective de studiu și are următoarele obiective: de a spori eficacitatea tratamentului clinic în cazul fracturilor, de a asigura refacerea proprietăților mecanice și biologice ale osului în urma traumatismelor, de a propune metode mai rapide de restructurare osoasă cu utilizarea implanturilor, ceea ce ar evita intervenții chirurgicale suplimentare.

Bibliografie

1. Carneiro J., Junqueira L. C., "Basic Histology", chapter VIII, Brazil, 2005;
2. Charles D. Newton, "Textbook of small animal orthopaedics", chapter I, 1985;
3. Tomoaia Gheorghe, "Curs de traumatologie osteoarticulară", pag. 21-38, Cluj-Napoca, 2004;
4. Kosir R., Cretnik A., "New horizons in fracture treatment", European Journal of Trauma and Emergency Surgery, vol. 33, 2007.

EXISTĂ OARE RELAȚII SPAȚIALE ȘI DE TIMP ÎNTRE HIPERPLAZIA ȘI CARCINOMUL DE PROSTATĂ?

Tatiana Globa

Catedra Histologie, Citologie și Embriologie USMF „N. Testemițanu”

Summary

Are there relations of space and time between the prostatic benign hyperplasia and carcinoma?

Prostatic benign hyperplasia and carcinoma are the two principal conditions to involve the prostate; they account for more than 90% of all prostatic disease. In this study, using the data of morphological archive of Moldavian Oncological Institute, there were investigated all morphological types of benign and malignant tumours, the age of patients, and the cases of association in the same histological slides of hyperplasia and carcinoma of the prostate.

Rezumat

Carcinomul și hiperplazia sunt patologii care frecvent afectează prostata, reprezentând 90% din toate afecțiunile prostatice. Scopul acestei lucrări, a fost analiza datelor arhivei morfologice a IMSP Institutul Oncologic și studierea tipurilor histologice ale proceselor tumorale prostatice, frecvența acestora, vârsta medie a pacienților, frecvența asocierii hiperplaziei cu carcinomul de prostată.

Patologia prostatei este o problema comună la bărbații peste 50 de ani. Hiperplazia benignă și cancerul de prostată sunt cele mai frecvente patologii, constituind peste 90% din toate afecțiunile acestui organ (Ch.D.M.Fletcher., 2007). Actualmente, pe glob se remarcă o tendință de creștere a incidenței proceselor tumorale ale prostatei, datorată sporirii longevității populației.

Ca frecvență, cancerul de prostată se află pe locul trei la bărbați, după cancerul pulmonar și cel gastric, constituind a patra cauză de deces prin cancer (Howe Hl, și col., 2001). Distribuția pe