

L'OSTEOLISI PERIPROTESICA

Periprosthetic osteolysis

Riassunto

L'osteolisi continua ad essere uno dei principali problemi nella sopravvivenza degli impianti protesici. I recenti studi hanno evidenziato come l'eziologia di tale malattia iatrogena risieda nella compartecipazione di elementi biologici e fattori meccanici.

Nel microambiente protesico, infatti, alla liberazione dei detriti e la loro interazione con le cellule circostanti si associano fondamentali elementi eziologici di carattere meccanico quali l'orientamento delle componenti protesiche, la tipologia dell'accoppiamento utilizzato, il micromovimento delle componenti, l'azione del liquido sinoviale durante il ciclo di movimento, il carico a cui l'articolazione protesica è sottoposta.

Gli autori descrivono i fenomeni cellulari e meccanici alla base dell'osteolisi in relazione alle attuali possibilità di intervento precoce farmacologico, anche se il monitoraggio del paziente e il tempestivo intervento chirurgico rappresentano ancora i principali metodi di trattamento dell'osteolisi periprotetica.

Parole chiave: osteolisi, biomateriali, accoppiamento protesico, biologia

Abstract

Periprosthetic osteolysis remains among the most important problems in long-term survival of joint replacements. Recent studies have shown that this "silent" iatrogenic disease is determined by both biological and mechanical factors.

Inside the periprosthetic microenvironment, wear debris and cell-particle interactions are the primary driving forces in aseptic loosening in association with mechanical factors as implant position, older-generation bearings and new alternative bearing surfaces, implant micromotion, joint fluid pressure during motion and any patient-specific factors that increase the magnitude of joint load.

Authors describe the biological and mechanical factors contributing to osteolysis, related to the current pharmacologic attempts to rescue a failing implant, albeit routine patient follow up, periodic surveillance and early surgical revision are still the mainstay of treatment for periprosthetic osteolysis.

Key words: osteolysis, biomaterials, prosthetic couplings, biology

P. ROSSI, A. MARMOTTI, D.E. BONASIA, G. FANTINO,
A. TELLINI, G. COLLO, F. CASTOLDI, R. ROSSI

Dipartimento di Ortopedia, Traumatologia e Medicina
del Lavoro, Università di Torino

Indirizzo per la corrispondenza:

Antonio Marmotti
via Paolini 20, 10138 Torino
E-mail: antonio.marmotti@inwind.it

L'osteolisi è la più importante complicanza a lungo termine nella sopravvivenza degli impianti protesici e la principale responsabile del processo di mobilitazione delle componenti protesiche.

Secondo recenti evidenze della letteratura, si prevede, nei prossimi decenni, un aumento costante degli interventi di revisione protesica sia d'anca che di ginocchio.

Al suo sviluppo partecipano fattori meccanici ed elementi biologici, che risultano interconnessi e rendono peculiare il quadro patologico. L'unicità di questa malattia, inoltre, risiede anche nella sua origine: è infatti totalmente iatrogena poiché secondaria agli interventi di sostituzione protesica¹.

Solo negli ultimi 50 anni, infatti, è stata riconosciuta e studiata.

Inizialmente Sir John Charnley identificò i detriti e la presenza di macrofagi nel tessuto periprotetico, ma interpretò tale quadro istologico come un processo settico del quale era impossibile identificare il batterio responsabile².

McKee, nel medesimo periodo, ricollegò l'erosione ossea tipica dell'osteolisi alla pura azione meccanica del movimento tra le interfacce e solo 14 anni dopo i primi impianti protesici, nel 1977, Willert descrisse la migrazione dei detriti di particolato nello spazio articolare periprotetico. Per la comprensione della genesi dell'osteolisi è stato fondamentale lo studio della natura e della composizione della membrana fibrosa periprotetica che avvolgeva gli impianti mobilizzati; negli anni '80 infatti è stata scoperta la sua potenziale attività osteoriassorbitiva e la cellularità composta da macrofagi e fibroblasti.

Negli ultimi 20 anni, l'evoluzione delle scoperte scientifiche, ha messo in luce come le cause dell'osteolisi dipendano direttamente da processi biologici in stretta connessione con elementi di carattere puramente meccanico.

Nel microambiente periprotetico, infatti, all'infiammazione, scatenata dalla liberazione dei detriti e dall'interazione del particolato con le cellule della membrana pseudosinoviale e con l'interfaccia fibrosa, si associano fondamentali elementi eziologici di carattere meccanico: l'orientamento delle componenti protesiche, la pressione esercitata dalle stesse sull'osso circostante, il micromovimento e l'azione di pompa del liquido sinoviale all'interno dello spazio articolare periprotetico durante il carico ciclico, il carico a cui l'articolazione protesica è sottoposta ("wear is a function of use, not time" Schmalzried 2000)³.

L'associazione di questi fattori costituisce, in modo peculiare in ogni individuo, il quadro patogenetico dell'osteolisi e non è possibile identificare con certezza quale sia il *primum movens* di questa catena eziologica.

Il processo, tuttavia, virtualmente inizia con lo stesso intervento di sostituzione protesica: al "trauma chirurgico" e al processo infiammatorio da esso indotto, il microambiente

risponde, come per ogni lesione ossea, con la creazione, attorno alle componenti protesiche, di una interfaccia ossea e fibrosa.

L'interfaccia ossea, alla base del principio dell'osteointegrazione dell'impianto, prevede l'interdigitazione di tessuto osseo alla superficie della componente protesica, grazie all'azione coordinata di osteoblasti ed osteoclasti. Dopo l'impianto protesico, infatti, sia il processo di demineralizzazione, secondario alla necrosi da compressione delle trabecole durante l'inserzione delle componenti protesiche, sia il "gap" tra l'osso e l'impianto⁴ costituiscono gli elementi caratteristici del microambiente periprotetico: in tale contesto avviene la formazione di nuovo tessuto osseo.

All'interno dell'interfaccia, infatti, osteoclasti e osteoblasti "dialogano" attraverso le citochine (quali BMPs, TGF- β , IL-1, IL-6, M-CSF, VEGF) e, in un rapporto di attivazione reciproca, costituiscono l'omeostasi ossea attraverso un equilibrio dinamico di riassorbimento e neoapposizione attorno all'impianto protesico (*the ARF-Activation-Resorption-Formation cycle of activation, resorption and formation*)^{4,5}. Tale processo è simile all'integrazione di un innesto osseo⁶ ed è sensibilissimo alle sollecitazioni cicliche: i carichi, infatti, trasmessi alla matrice del microambiente come stimoli elettrici e trasdotti nelle cellule da meccanoettori quali le integrine, influenzano la proliferazione cellulare, mediante l'attivazione di geni per fattori di crescita, quali il TGF- β . Per tale "interdipendenza bio-elettrica" le sollecitazioni cicliche, in un range contenuto, sono indispensabili per il mantenimento dell'ambiente periprotetico: l'osso, infatti, come tessuto estremamente dinamico, risponde alle sollecitazioni "deviando" i processi anabolici nelle aree di maggiore carico secondo la legge di Wolff. In eccesso o in difetto, tuttavia, tali carichi conducono irrimediabilmente alla necrosi da pressione o all'osteopenia locale da non-uso e in tal senso, fattori meccanici come l'immobilizzazione protratta gioca un ruolo fondamentale. A lungo termine, invece, è l'allineamento protesico che influenza tale processo: l'entità del riassorbimento osseo è stata messa in relazione con il grado di malallineamento⁷.

Il rivestimento in idrossiapatite facilita la costituzione del "ponte" tra osso e impianto riuscendo a colmare spazi fino a 2 mm, mentre altri materiali solo fino a 0,3 mm. Inoltre l'idrossiapatite, grazie alla sua costituzione molecolare, garantisce la formazione di legame non solo meccanico (*interlocking bond*), ma anche biochimico (*chemical bone bond*), migliorando notevolmente la fissazione. Tale elemento è rilevante prevalentemente per lo stelo femorale, poiché l'acetabolo, soggetto a numerose sollecitazioni in trazione (*tensile stresses*), non è particolarmente favorito dalla presenza di idrossiapatite⁴.

Alla **genesi dell'osteolisi** contribuiscono numerosi fattori in gran parte interconnessi che possono essere suddivisi

in tre grandi categorie: pre-operatori (qualità dell'osso, patologie pre-esistenti, scelta dei biomateriali), intraoperatori (sterilità delle procedure, lavaggi, posizionamento delle componenti), post-operatori (sollecitazioni imposte, detriti, ioni metallici, micromovimenti, macrofagi, osteoclasti, osteoblasti, fibroblasti della membrana fibrosa metastabile periprotetico).

In vivo risulta impossibile stabilire il *primum movens* nella genesi dell'osteolisi, visto il gran numero di variabili da prendere in considerazione.

Possiamo però descrivere un quadro "ideale", identificando le tre variabili principali che partecipano alla genesi del processo osteolitico: i detriti provenienti dai biomateriali utilizzati, i fattori puramente meccanici connessi ad eventuali micromovimenti ed al posizionamento dell'impianto e le reazioni biologiche e cellulari (macrofagi, fibroblasti, osteoclasti, osteoblasti).

In tale quadro, il paradigma "classico" dell'osteolisi periprotetico prevede, la generazione di ioni e detriti da parte dell'impianto protesico e le reazioni immunologiche che ne conseguono.

Gli ioni metallici (cromo, cobalto e, in quantità minore, titanio) si liberano principalmente in corrispondenza delle interfacce modulari metallo-metallo (es. giunzione testa-collo, superfici porose), attraverso il processo elettrochimico della corrosione in presenza di cloruro di sodio^{4,8}.

Essi svolgono il duplice ruolo sia di attivatori diretti dei macrofagi sia di apteni poiché, legati alle proteine endogene, promuovono risposte immunitarie di tipo IV (ipersensibilità ritardata) coinvolgenti i linfociti T CD4+ (Th1-type lymphocytes).

I detriti (polietilene, cemento, detriti metallici in titanio e cromo-cobalto) liberati dalle superfici periprotetiche interagiscono, invece, essenzialmente con il sistema monocitico-macrofagico, con i fibroblasti e con gli osteoblasti e costituiscono il noto quadro patologico dello *small particle disease*. Sono considerati i "nemici" più pericolosi per la stabilità dell'impianto, per la capacità di attivazione della linea osteoclastica e, conseguentemente, di riassorbimento massivo nei confronti del tessuto osseo ospite.

Nella **generazione dei detriti**, i meccanismi dell'usura tra superfici contrapposte giocano il ruolo fondamentale; la varietà dei biomateriali scelti per la costituzione delle componenti dell'impianto (Cromo-Cobalto, Titanio), le alternative negli accoppiamenti protesici (polietilene, rivestimento in diamante, ceramica, metallo) e la differente tecnica di fissazione (cementazione con PMMA, fissazione non-cementata) condizionano la qualità e la quantità dei detriti prodotti^{9,11}.

Anche fattori meccanici estrinseci, però, possono influenzare la produzione del particolato: la medializzazione del centro di rotazione diminuisce le sollecitazioni all'articolazione dell'anca e, di conseguenza, riduce l'usura,

come l'aumento dell'offset femorale, che a sua volta aumenta il braccio di leva in abduzione. L'orientamento verticale dell'acetabolo, invece, può causare impingement periferico, aumento dell'usura da terzo corpo e sviluppo di aree osteolitiche nell'ileo¹². La frequente irrigazione del campo operatorio riduce la presenza intrarticolare di detriti, particolarmente di PMMA, e limita così l'usura da terzo corpo negli accoppiamenti protesici.

La membrana di interfaccia e la membrana pseudosinoviale attorno alla neoarticolazione costituiscono il punto di incontro tra i detriti e le cellule dell'ospite; le particelle, come il polietilene, vengono avvolte dalla membrana pseudosinoviale della pseudocapsula o vengono trasportate dal fluido pseudosinoviale dalla cavità articolare all'interfaccia osso-protesi. Tale processo si estende progressivamente sia lungo superficie dell'impianto, sia all'interno dell'osso periprotetico e sia nei tessuti molli periarticolari, attraverso il meccanismo di diffusione del liquido articolare verso le zone di minore resistenza. Si definisce così lo "spazio articolare effettivo" (*effective joint space*) come l'insieme delle aree periprotetiche raggiungibili dal fluido articolare e, di conseguenza, dalle particelle di detriti¹⁰. La presenza dei detriti scatena la reazione infiammatoria da corpo estraneo; il comportamento dei detriti dipende tuttavia, primariamente dalle dimensioni.

In caso di **detriti non fagocitabili**, > 15-30 μm (es. particolato di PMMA)¹³, i macrofagi formano cellule giganti multinucleate da corpo estraneo, con "fenotipo citoplasmatico" simile agli osteoclasti¹⁴, e reagiscono con la formazione di un involucro fibroso che incapsula i detriti. Tale meccanismo conduce ad un processo di attivazione cellulare di entità limitata e ad una risposta immunitaria ridotta. Nella generazione delle cellule giganti multinucleate è coinvolta l'interazione tra la molecola RANK alla superficie dei macrofagi e la molecola RANKL esposta alla superficie dei fibroblasti^{4 15 16}. L'inibizione di tale interazione è costituita unicamente dalla secrezione di OPG da parte delle cellule endoteliali vascolari; tali cellule, però, sono localizzate in un compartimento tissutale distante dal luogo di interazione RANKL-RANK; pertanto l'effetto inibitorio è ridotto e si creano circostanze "permissive" per lo sviluppo di cellule giganti da corpo estraneo.

In caso di **detriti fagocitabili** con dimensioni minori di 15-30 μm , la reazione infiammatoria è decisamente più rilevante. Le particelle che scatenano la maggiore reattività sono quelle di polietilene di dimensioni pari a 0,1-1 μm , prodotte attraverso meccanismo di usura di tipo I¹⁷. I macrofagi, dopo aver fagocitato le particelle, si "rivelano" incapaci di digerirle¹⁸, poiché risultano, ovviamente, privi degli enzimi necessari alla lisi di polimeri covalenti sintetici. In questo principio eziopatogenetico squisitamente iatrogeno risiede parte dell'unicità e della peculiarità dell'osteolisi periprotetica: la fagocitosi, dife-

sa infiammatoria fino ad ora "a prova di filogenesi" nei confronti degli agenti patologici, si rivela ora fallimentare. La conseguenza di questa "digestione impossibile" è l'espansione a catena della reazione infiammatoria, attraverso progressiva chemiotassi e attivazione di altre cellule grazie al rilascio, da parte dei macrofagi, di citochine (TNF- α , IL-1, IL-6, PGE, PDGF, FGF, VEGF)¹⁹ e superossidi (O₂⁻). Sono gli ossidi, verosimilmente, i responsabili della pigmentazione scura (metallosi) osservata nei tessuti periprotetici durante la chirurgia di revisione⁴.

La produzione di citochine nei processi osteolitici, però, potrebbe anche essere condizionata dalla presenza di endotossine batteriche adese ai biomateriali, particolarmente al titanio; tale meccanismo²⁰⁻²³, ancora in via di chiarificazione, potrebbe ribaltare il concetto di "scollamento asettico" e reintrodurre il batterio come concausa nello sviluppo dell'osteolisi periprotetica.

Si formano così diversi "**circoli viziosi intercellulari**" con un unico comune denominatore rappresentato dalla catena "formazione dei detriti-risposta cellulare-osteolisi-mobilizzazione-formazione di nuovi detriti".

I macrofagi, attivati dai detriti attraverso recettori di superficie come CD11b, CD14, Toll-like Receptors, promuovono la differenziazione e l'attivazione degli osteoclasti dalla linea monocito-macrofagica, secernono MMP che partecipano alla degradazione della matrice, liberano citochine "pro-osteolitiche" e si differenziano in osteoclasti, a contatto con i detriti, attraverso il sistema di interazione RANK - RANKL²⁴⁻²⁷. Nella differenziazione verso la linea osteoclastica, risulta particolarmente importante l'attivazione intracellulare del sistema delle chinasi MAP (c-Jun, Erks, JNK, p38) Serina-Treonina proteinchinasi intermedie tra gli stimoli extracellulari e l'attivazione di proto-oncogeni nucleari²⁸.

Inoltre il macrofago può essere indirizzato verso la differenziazione osteocitaria e la produzione di lacune di riassorbimento indipendentemente dal sistema RANKL-RANK: il TNF- α e l'IL-1 α , infatti, in presenza di M-CSF, sono sufficienti ad attivare queste cellule²⁹.

I pre-osteoblasti e le MSC residenti nel microambiente periprotetico, a contatto diretto con le particelle di detriti (polietilene; ceramica; titanio, a dimensione 1.5-4 μm)³⁰⁻³⁵ e in seguito all'interazione con le citochine e i loro recettori, riducono i fenomeni anabolici²⁴: diminuiscono la sintesi di collagene e dei componenti della matrice, secernono, PGE2 e NO (particolarmente se allo stadio osteoblasta maturo), liberano M-CSF ed espongono alla superficie la molecola RANKL. Tale fenomeno può avvenire anche in presenza di basse quantità di detriti³⁶: la conseguenza è l'attivazione della linea macrofagica e la differenziazione-attivazione degli osteoclasti, attraverso l'interazione contemporanea di M-CSF con il suo recettore c-Fms ma-

crofagico e di RANKL con RANK^{37,38}. L'interazione con le particelle di detriti, inoltre, può indurre anche l'apoptosi caspasi-dipendente negli stessi pre-osteoblasti-*MSC*: ciò contribuisce ulteriormente alla diminuzione dei processi osteo-formativi attorno all'impianto.

Gli osteoclasti esercitano l'azione litica nei confronti dell'osso circostante, creando lacune di riassorbimento³⁹ e, di conseguenza, la produzione di nuovi detriti; dalla liberazione di detriti si autoalimenta il circolo vizioso dell'osteolisi⁴⁰. Nello funzionalità dell'osteoclasta attivato, anche le caratteristiche della superficie dell'impianto rivestono importanza: superfici ruvide favoriscono lo sviluppo di questa linea cellulare⁴¹.

I fibroblasti rappresentano l'ideale connessione tra i processi di riassorbimento osteoclasta-mediati ed osteoclasta-indipendenti: non solo secernono mediatori "pro-infiammatori e pro-osteoclastogenici" quali PGE2 e IL-6, ma, come sopramenzionato, favoriscono la formazione delle cellule giganti macrofagiche e secernono indipendentemente enzimi di degradazione^{42,43}.

Ulteriore contributo ai processi catabolici deriva dalla sfavorevole interazione tra le cellule mesenchimali e le particelle di titanio⁴⁴⁻⁴⁶: il contatto conduce alla diminuzione della differenziazione verso la linea osteoblastica ed anche all'apoptosi; tale fenomeno riduce indirettamente la neoapposizione ossea, diminuendo il numero dei precursori.

Recentemente, inoltre, un nuovo campo ha acquistato interesse crescente per l'osteolisi periprotetica: il campo dell'"osteoinmunologia"^{70,71}. Questa branca dell'immunologia studia le interrelazioni tra sistema scheletrico e sistema immunitario acquisito e i meccanismi cellulari che questi sistemi condividono. Tale condivisione genera segnali cellulari in gradi di condizionare reciprocamente i comportamenti degli osteoblasti, degli osteoclasti e delle cellule linfocitarie. Un modello di questa "condivisione di segnali" è proprio il sistema "RANKL-RANK-OPG (osteoprotegerina)": alla superficie dei linfociti T attivati è infatti espresso RANKL. Si creano così circoli di attivazione reciproca tra osteoblasti, osteoclasti e linfociti T scatenati dai detriti dell'ambiente periprotetico.

Ad esempio i detriti metallici inducono negli osteoblasti e negli osteoclasti la produzione e secrezione locale di chemochine quali CC17 e CC22 (CCL17/TARC = thymus and activation-regulated chemokine; CCL22 /MDC = macrophage-derived chemokine) e nei linfociti T la produzione di CCR4 (recettore delle chemochine CC17 e CC22). In questo modo i linfociti T helper migrano e si localizzano nel tessuto periprotetico, grazie all'aumento locale di concentrazione di CCL17 e CCL22, e esprimono IL-17 and RANKL, contribuendo ai fenomeni di attivazione osteoclastica. IL-17, in particolare, è in grado sia di aumentare le reazioni infiammatorie locali sia di au-

mentare indirettamente i fenomeni di osteolisi inducendo la produzione di RANKL negli osteoblasti residenti. Inoltre i detriti metallici, sia in forma ionica, sia in forma di particolato, possono complessarsi con le proteine locali e indurre alterazioni conformazionali. Tali complessi possono essere processati e presentati ai linfociti T da cellule che esprimono il complesso maggiore di istocompatibilità di classe II (MHC II); questa interazione porta alla genesi di una popolazione di linfociti T "attivati", in gradi di reagire nei confronti delle proteine modificate dai detriti metallici. Questo meccanismo è alla base delle reazioni simili alla ipersensibilità ritardata di tipo IV definite col nome generico di "allergia ai metalli".

Non solo gli ioni metallici, tuttavia, sono coinvolti nei fenomeni dell'osteoinmunità⁷³, ma anche le altre tipologie di detriti da usura possono essere presentate ai linfociti T da macrofagi e da osteoblasti⁷⁴ tramite MHC II; inizia, così, una catena di attivazione reciproca che, tramite la secrezione paracrina di citochine, coinvolge sia i linfociti T citotossici sia i linfociti B, che vengono attivati a plasma-cellule.

Esiste, infine, una **suscettibilità genetica** a questi fenomeni cellulari dipendente, verosimilmente, da polimorfismi di singoli nucleotidi (SNPs: single nucleotide polymorphisms) all'interno dei geni coinvolti nei fenomeni dell'infiammazione e dell'osteolisi periprotetica. Tali variazioni nella sequenza del DNA determinano "comportamenti" differenti dei geni e delle proteine corrispondenti e, di conseguenza, una maggiore suscettibilità allo sviluppo di osteolisi. Ad esempio, i portatori del polimorfismo in posizione 238 nel promoter del gene del TNF- presentano maggiore predisposizione all'osteolisi, mentre i portatori di polimorfismo nell'allele 200T del gene per la proteina FRZB (frizzled-related protein 3, coinvolta nella regolazione del differenziamento osteogenico delle *MSC*) hanno minore predisposizione a sviluppare processi osteolitici, ma maggiore predisposizione alle calcificazioni eterotopiche⁷⁵⁻⁷⁷. Inoltre la predisposizione genetica sembra influenzare anche i meccanismi di presentazione dell'antigene attraverso le molecole del complesso di istocompatibilità di classe II (HLA class II molecules): i soggetti dotati di genotipo HLA-DR2 infatti manifestano risposte immunitarie meno efficaci nei confronti dei meccanismi di attivazione linfocitaria macrofago-mediata scatenati da detriti e, pertanto, sono denominati *low responders*.

Il coinvolgimento generalizzato delle cellule del microambiente protesico, in associazione al micromovimento all'interfaccia osso-impianto e alla diffusione del liquido articolare nelle aree patologiche, conduce alla formazione della macroscopica sinovite protesica (o *implant bursitis*), caratteristica dei processi di mobilitazione, e allo sviluppo, per confluenza, di aree di osteolisi di rilevanti dimensioni.

Il "problema", in questa fase, si sviluppa attraverso interazioni di tipo biologico, ma ha caratteristiche essenzialmente meccaniche: la mobilità patologica degli impianti, in associazione con la sinovite secondaria, genera la sintomatologia algica e l'impotenza funzionale nei pazienti.

L'insorgenza di tale meccanismo patologico può avvenire per una **iper mobilità ab inizio** delle componenti protesiche o per un loro **malposizionamento**.

Il malposizionamento delle componenti, predispone inoltre alla formazione di una quantità di detriti maggiore rispetto alla norma.

Attorno alle componenti protesiche, però, dal tessuto di granulazione generato dall'"infiammazione chirurgico-indotta" non si genera soltanto tessuto osseo.

La persistenza, infatti, di "gap" di rilevanti dimensioni tra impianto e osso (micro o macroinstabilità post-operatoria precoce) promuove la crescita di uno strato fibroso nelle zone prive di neoapposizione ossea.

Inoltre, a causa dell'anisoelasticità delle componenti protesiche rispetto all'osso ospite⁴, all'interfaccia osso-protesi si genera invariabilmente **micromovimento** per i carichi a cui la struttura è sottoposta durante le normali attività (es. la deambulazione). Anche il micromovimento induce la formazione di tessuto fibroso attorno all'impianto da parte dei fibroblasti, ostacolando così la fissazione biologica mediante osteointegrazione. Tale micromovimento non è distribuito omogeneamente attorno alla protesi a causa delle differenti forze (assiali, torsionali, di taglio) a cui la struttura è sottoposta; inoltre elementi meccanici quali il tipo e l'entità della sollecitazione, la rigidità e il design della protesi ed elementi biologici, quali la qualità dell'osso ricevente, influenzano la distribuzione e l'entità del micromovimento.

L'interfaccia fibrosa potrebbe costituire l'interpretazione istologica delle linee di radiolucenza osservate radiograficamente alla periferia dell'impianto e, se in passato è stata considerata un'entità stabile perché non correlata ad alcuna sintomatologia nei pazienti, attualmente deve essere considerata come "metastabile" a causa della presenza di fibroblasti e macrofagi. Infatti durante i carichi ciclici a cui è sottoposto l'impianto protesico, il micromovimento determina la diffusione, verso l'interfaccia fibrosa, del liquido articolare prodotto dalla membrana pseudosinoviale attorno alla protesi. Tale azione crea onde di pressione in fase fluida che consentono il trasporto di mediatori e prodotti di degradazione e, contemporaneamente, inducono la differenziazione del tessuto fibroso in una struttura analoga alla membrana sinoviale. Per le sue caratteristiche istologiche, tale struttura è denominata "SLIM" (*synovial like interface membrane*): in essa coesistono fibroblasti e macrofagi, attratti in questo "spazio morto" dalla bassa tensione di ossigeno e dall'alta

concentrazione di lattato. Questi fibroblasti^{47 15} hanno caratteristiche simili a quelli trovati nel tessuto sinoviale reumatoide, in grado di essere attivati da citochine e di condurre all'attivazione degli osteoclasti e alla degradazione diretta della matrice, attraverso al secrezione di enzimi litici (metalloproteinasi della matrice tipo MMP-1; catepsina K, favorita dall'ambiente acido e prodotta anche dagli osteoclasti)⁴⁸. Inoltre la stessa presenza di pH acido, all'interno della membrana di interfaccia, conduce alla decalcificazione dell'idrossiapatite e della fluoroapatite e alla demineralizzazione dell'osso periprotetico.

Lo stesso **stress pressorio del liquido articolare**, però, svolge un ulteriore ruolo nel determinismo dell'osteolisi poiché interagisce con il comportamento delle cellule della linea monocito-macrofagica presenti nella membrana di interfaccia, inducendo la produzione di citochine "pro-riassorbimento" quali IL-6 e TNF- α ^{49 50}. Se poi lo stress pressorio è presente a livelli elevati, conduce direttamente alla morte dell'osteocita⁴.

Tali meccanismi sono alla base del fenomeno di osteolisi periprotetica non-osteoclasta indotta.

Nel corso degli anni numerosi sono stati i tentativi per aumentare la durata degli impianti attraverso lo sviluppo tecnologico su materiali già esistenti (teste metalliche di grandi dimensioni) e lo studio di nuovi biomateriali ad aumentata resistenza (ceramica Delta, polietilene cross-linked).

Queste innovazioni tecnologiche hanno dimostrato sicuramente una maggiore resistenza all'usura procrastinando l'insorgenza dei fenomeni osteolitici, a fronte però di nuove complicanze connesse al loro utilizzo.

Gli **accoppiamenti metallo-metallo** con teste di grandi dimensioni dimostrano una più lenta usura ed un aumento in termini di motilità dell'impianto, ma non risolvono i problemi di liberazione di ioni metallici e predispongono dunque ad una osteolisi da rilascio di detriti metallici. Si assiste inoltre ad un rilascio sistemico di ioni metallici, le cui concentrazioni possono essere rilevate nel sangue del paziente. Sono in corso studi clinici per stabilire le connessioni tra concentrazione sierica di ioni metallo ed insorgenza di patologie neoplastiche, ma al momento attuale non esistono sicure evidenze di una correlazione⁵¹.

Per quanto riguarda i nuovi tipi di **polietilene cross-linked**, sono stati dimostrati in laboratorio sicuri miglioramenti in termini di resistenza all'usura rispetto al polietilene di vecchia generazione; il processo di produzione però indebolisce il materiale e si sono verificati episodi di rottura degli inserti in seguito a malposizionamento della componente acetabolare; diversi dubbi inoltre rimangono sull'utilizzo nelle protesi di ginocchio postero-stabilizzate^{52 53}.

Le **nuove ceramiche** (ceramica delta) oltre alle già note proprietà, hanno migliorato la resistenza e la durezza del materiale, permettendone così l'utilizzo con teste di mag-

giore diametro in modo da ridurre ulteriormente i processi di usura. Rimangono però ancora da risolvere i dubbi connessi allo *stripe wear* ed ai fenomeni di *squeaking*⁵⁴. In questo "panorama patologico", il **trattamento precoce** trova profonda giustificazione. Consente infatti di evitare lo sviluppo di aree di osteolisi massiva e di perdite ossee rilevanti che, al momento della chirurgia di revisione, richiederebbero interventi complessi e lunghi tempi operatori.

Purtroppo la ricerca di base attualmente non ha fornito una risposta terapeutica efficace sotto il **profilo farmacologico**; se "there is no approved drug therapy to prevent or inhibit periprosthetic osteolysis"³², tuttavia affascinanti e promettenti orizzonti sono studiati attualmente a livello sperimentale. Farmaci tradizionali, infatti, quali i FANS non selettivi, gli anti-ciclossigenasi, la ciprofloxacina, la pentossifillina, il misoprostolo, sono in grado di interagire con la cascata infiammatoria e modularne l'entità; in futuro, nuovi agenti terapeutici, come l'IL-4, l'IL10 e l'hIL-1Ra^{55 56}, introducibili anche attraverso vettori retrovirali^{57 58}, potranno interferire ancora più efficacemente con i meccanismi dell'infiammazione. Sono stati studiati farmaci modulatori della funzione osteoclastica e osteoblastica, quali i bifosfonati^{59 60} e, a livello sperimentale, il TGF- β e l'FGF-2⁶¹ e agenti inibitori diretti dell'attivazione osteoclastica, quali i vettori virali ricombinanti per la trasfezione del gene della OPG^{62 63} o gli agenti antagonisti del RANKL, costruiti attraverso fusione della regione Fc delle immunoglobuline con la molecola RANK⁶⁴.

Esistono anche agenti che direttamente modulano la funzione macrofagica, quale l'acetilcisteina e l'eritromicina^{65 66}. Anche le terapie dirette contro il TNF- α sembrano promettenti, come il caso dell'etanercept, inibitore solubile del TNF- α ⁶⁷, e i vettori del gene per l'inibitore solubile del TNF costituito dalla fusione della regione Fc delle immunoglobuline con il domain extracellulare del recettore tipo I del TNF^{61 67}.

Clinicamente, però, la strada attuale per il trattamento dell'osteolisi prevede il monitoraggio del paziente e il **tempestivo intervento chirurgico** prima della formazione delle ampie lacune osteolitiche alla base delle perdite ossee massive, anche di fronte ad osteolisi asintomatiche o paucisintomatiche⁶⁸. Nel follow-up, l'esame radiografico standard, pur discutibile per la difficoltà nell'identificazione precoce dell'area osteolitica, è ancora lo strumento più utilizzato nella pratica clinica, in attesa della standardizzazione di nuovi metodi di indagine come la TC in 3-D³². Nel tempo intraoperatorio, il compito del chirurgo è sia identificare e rimuovere la fonte dei detriti, sia sostituire le componenti protesiche mobili, colmando con innesti ossei le lacune litiche eventualmente presenti^{32 69}. Ad un problema biologico e meccanico, dunque, la soluzione attuale è prevalentemente chirurgica, anche se già si prospettano sperimentalmente valide alternative farmacologiche. È fondamentale allora non solo intervenire precocemente sul problema clinico dell'osteolisi, ma proseguire anche nella ricerca di base e, come diceva Dickens "work hard and look forward to the future with hope and trust".

Bibliografia

- Harris WH. *Conquest of a worldwide human disease: particle-induced periprosthetic osteolysis*. Clin Orthop Relat Res 2004;(429):39-42.
- Charnley J. *Low friction arthroplasty of the hip: theory and practice*. New York: Springer 1979, pp. 41-65.
- Schmalzried TP, Shepherd EF, Dorey FJ, et al. *The John Charnley Award. Wear is a function of use, not time*. Clin Orthop Relat Res 2000;(381):36-46.
- Kontinen YT, Zhao D, Beklen A, et al. *The microenvironment around total hip replacement prostheses*. Clin Orthop Relat Res 2005;(430):28-38. Review
- Jacobs JJ, Roebuck KA, Archibeck M, et al. *Osteolysis: basic science*. Clin Orthop Relat Res 2001;(393):71-7.
- Rossi P, Castoldi F, Marmotti A, et al. *All'interno di un innesto osseo: interazioni cellulari per l'integrazione*. Giornale Italiano di Ortopedia e Traumatologia 2004;30(Suppl.1):35-42.
- Fornasier VL, Goodman SB, Protzner K, et al. *The role of implant alignment on stability and wear particles from hip prostheses and artificial ligaments at the knee*. Ultrastruct Pathol 2004;28:353-9.
- Jacobs JJ, Shanbhag A, Glant TT, et al. *Wear debris in total joint replacements*. J Am Acad Orthop Surg 1994;2:212-20.
- Heisel C, Silva M, Schmalzried TP. *Bearing surface options for total hip replacement in young patients*. Instr Course Lect 2004;53:49-65.
- Schmalzried TP, Callaghan JJ. *Wear in total hip and knee replacements*. J Bone Joint Surg Am 1999;81:115-36.
- Lohmann CH, Dean DD, Koster G, et al. *Ceramic and PMMA particles differentially affect osteoblast phenotype*. Biomaterials 2002;23:1855-63.
- Saleh KJ, Thongtrangan I, Schwarz EM. *Osteolysis: medical and surgical approaches*. Clin Orthop Relat Res 2004;(427):138-47.
- Archibeck MJ, Jacobs JJ, Roebuck KA, et al. *The basic science of periprosthetic osteolysis*. Instr Course Lect 2001;50:185-95.
- Anazawa U, Hanaoka H, Morioka H, et al. *Ultrastructural cytochemical and ultrastructural morphological differences between human multinucleated giant cells elicited by*
- Mandelin J, Li TF, Hukkanen M, et al. *Interface tissue fibroblasts from loose total hip replacement prosthesis produce receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand, osteoprotegerin, and cathepsin K*. J Rheumatol 2005;32:713-20.
- Lam J, Nelson CA, Ross FP, et al. *Crystal structure of the TRANCE/RANKL cytokine reveals determinants of receptor-ligand specificity*. J Clin Invest 2001;108:971-9.
- Ingham E, Fisher J. *The role of macrophages in osteolysis of total joint replacement*. Biomaterials 2005;26:1271-86.
- Gallo J, Kaminek P, Ticha V, et al. *Particle disease. A comprehensive theory of periprosthetic osteolysis: a review*. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub 2002;146:21-8.
- Miyaniishi K, Trindade MC, Ma T, et al. *Periprosthetic osteolysis: induction of vascular endothelial growth factor from human monocyte/macrophages by orthopaedic biomaterial particles*. J Bone Miner Res 2003;18:1573-83.

- ²⁰ Bi Y, Collier TO, Goldberg VM, et al. Adherent endotoxin mediates biological responses of titanium particles without stimulating their phagocytosis. *J Orthop Res* 2002;20:696-703.
- ²¹ Greenfield EM, Bi Y, Ragab AA, et al. Does endotoxin contribute to aseptic loosening of orthopedic implants? *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2005;72:179-85.
- ²² Nalepka JL, Greenfield EM. Detection of bacterial endotoxin in human tissues. *Bio-techniques* 2004;37:413-7.
- ²³ Bi Y, Seabold JM, Kaar SG, et al. Adherent endotoxin on orthopedic wear particles stimulates cytokine production and osteoclast differentiation. *J Bone Miner Res* 2001;16:2082-91.
- ²⁴ Baumann B, Rader CP, Seufert J, et al. Effects of polyethylene and TiAlV wear particles on expression of RANK, RANKL and OPG mRNA. *Acta Orthop Scand* 2004;75:295-302.
- ²⁵ Theoleyre S, Wittrant Y, Tat SK, et al. The molecular triad OPG/RANK/RANKL: involvement in the orchestration of pathophysiological bone remodeling. *Cytokine Growth Factor Rev* 2004;15:457-75.
- ²⁶ Wittrant Y, Theoleyre S, Chipoy C, et al. RANKL/RANK/OPG: new therapeutic targets in bone tumours and associated osteolysis. *Biochim Biophys Acta* 2004;1704:49-57.
- ²⁷ Kwan Tat S, Padrines M, Theoleyre S, et al. L-6, RANKL, TNF-alpha/IL-1: interrelations in bone resorption pathophysiology. *Cytokine Growth Factor Rev* 2004;15:49-60.
- ²⁸ Abbas S, Clohisy JC, Abu-Amer Y. Mitogen-activated protein (MAP) kinases mediate PMMA-induction of osteoclasts. *J Orthop Res* 2003;21:1041-8.
- ²⁹ Sabokbar A, Kudo O, Athanasou NA. Two distinct cellular mechanisms of osteoclast formation and bone resorption in periprosthetic osteolysis. *J Orthop Res* 2003;21:73-80.
- ³⁰ Granchi D, Amato I, Battistelli L, et al. Molecular basis of osteoclastogenesis induced by osteoblasts exposed to wear particles. *Biomaterials* 2005;26:2371-9.
- ³¹ Fritz EA, Jacobs JJ, Glant TT, et al. Chemokine IL-8 induction by particulate wear debris in osteoblasts is mediated by NF-kappaB. *J Orthop Res* 2005; 23:1249-57.
- ³² Choi MG, Koh HS, Klues D, et al. Effects of titanium particle size on osteoblast functions in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102:4578-83.
- ³³ O'Connor DT, Choi MG, Kwon SY, et al. New insight into the mechanism of hip prosthesis loosening: effect of titanium debris size on osteoblast function. *J Orthop Res* 2004;22:229-36.
- ³⁴ Zreiqat H, Crotti TN, Howlett CR, et al. Prosthetic particles modify the expression of bone-related proteins by human osteoblastic cells in vitro. *Biomaterials* 2003;24:337-46.
- ³⁵ Vermes C, Glant TT, Hallab NJ, et al. The potential role of the osteoblast in the development of periprosthetic osteolysis: review of in vitro osteoblast responses to wear debris, corrosion products, and cytokines and growth factors. *J Arthroplasty* 2001;16(Suppl 1):95-100.
- ³⁶ Pioletti DP, Kottelat A. The influence of wear particles in the expression of osteoclastogenesis factors by osteoblasts. *Biomaterials* 2004;25:5803-8.
- ³⁷ Khosla S. Minireview: the OPG/RANKL/RANK system. *Endocrinology* 2001;142:5050-5.
- ³⁸ Crotti TN, Smith MD, Findlay DM, et al. Factors regulating osteoclast formation in human tissues adjacent to peri-implant bone loss: expression of receptor activator NFkappaB, RANK ligand and osteoprotegerin. *Biomaterials* 2004;25:565-73.
- ³⁹ Lam J, Abu-Amer Y, Nelson CA, et al. Tumour necrosis factor superfamily cytokines and the pathogenesis of inflammatory osteolysis. *Ann Rheum Dis* 2002;61 (Suppl 2):ii82-3.
- ⁴⁰ Taki N, Tatro JM, Nalepka JL, et al. Polyethylene and titanium particles induce osteolysis by similar, lymphocyte-independent, mechanisms. *J Orthop Res* 2005;23:376-83.
- ⁴¹ Sommer B, Felix R, Sprecher C, et al. Wear particles and surface topographies are modulators of osteoclastogenesis in vitro. *J Biomed Mater Res A* 2005;72:67-76.
- ⁴² Pap T, Claus A, Ohtsu S, et al. Osteoclast-independent bone resorption by fibroblast-like cells. *Arthritis Res Ther* 2003;5:R163-73.
- ⁴³ Bukata SV, Gelinias J, Wei X, et al. PGE2 and IL-6 production by fibroblasts in response to titanium wear debris particles is mediated through a Cox-2 dependent pathway. *J Orthop Res* 2004;22:6-12.
- ⁴⁴ Wang ML, Nesti LJ, Tuli R, et al. Titanium particles suppress expression of osteoblastic phenotype in human mesenchymal stem cells. *J Orthop Res* 2002;20:1175-84.
- ⁴⁵ Wang ML, Sharkey PF, Tuan RS. Particle bio-reactivity and wear-mediated osteolysis. *J Arthroplasty* 2004;19:1028-38.
- ⁴⁶ Wang ML, Tuli R, Manner PA, et al. Direct and indirect induction of apoptosis in human mesenchymal stem cells in response to titanium particles. *J Orthop Res* 2003;21:697-707.
- ⁴⁷ Pap T, Claus A, Ohtsu S, et al. Osteoclast-independent bone resorption by fibroblast-like cells. *Arthritis Res Ther* 2003;5:R163-73.
- ⁴⁸ Hansen T, Otto M, Gaumann A, et al. Cathepsin K in aseptic hip prosthesis loosening: expression in osteoclasts without polyethylene wear particles. *J Rheumatol* 2001;28:1615-9.
- ⁴⁹ Ferrier GM, McEvoy A, Evans CE, et al. The effect of cyclic pressure on human monocyte-derived macrophages in vitro. *J Bone Joint Surg Br* 2000;82:755-9.
- ⁵⁰ McEvoy A, Jeyam M, Ferrier G, et al. Synergistic effect of particles and cyclic pressure on cytokine production in human monocyte/macrophages: proposed role in periprosthetic osteolysis. *Bone* 2002;30:171-7.
- ⁵¹ Malviya A, Ramaskandhan J, Holland JP, et al. Metal-on-metal total hip arthroplasty. *J Bone Joint Surg Am* 2010;92:1675-83.
- ⁵² Engh CA Jr, Stepniewski AS, Ginn SD, et al. A randomized prospective evaluation of outcomes after total hip arthroplasty using cross-linked Marathon and non-cross-linked Enduron polyethylene liners. *J Arthroplasty* 2006;21(6 suppl 2):17-25.
- ⁵³ Callaghan JJ, Cuckler JM, Huddleston JL, et al; Implant Wear Symposium 2007 Clinical Work Group. How have alternative bearings (such as metal-on-metal, highly cross-linked polyethylene, and ceramic-on-ceramic) affected the prevention and treatment of osteolysis? *J Am Acad Orthop Surg* 2008;16(Suppl 1):S33-8.
- ⁵⁴ Park YS, Hwang SK, Choy WS, et al. Ceramic failure after total hip arthroplasty with an alumina-on-alumina bearing. *J Bone Joint Surg Am* 2006;88:780-7.
- ⁵⁵ Goodman S, Trindade M, Ma T, et al. Modulation of bone ingrowth and tissue differentiation by local infusion of interleukin-10 in the presence of ultra-high molecular weight polyethylene (UHMWPE) wear particles. *J Biomed Mater Res A* 2003;65:43-50.
- ⁵⁶ Goodman SB, Trindade M, Ma T, et al. Pharmacologic modulation of periprosthetic osteolysis. *Clin Orthop Relat Res* 2005;(430):39-45.
- ⁵⁷ Yang SY, Wu B, Mayton L, et al. Protective effects of IL-1Ra or vIL-10 gene transfer on a murine model of wear debris-induced osteolysis. *Gene Ther* 2004;11:483-91.
- ⁵⁸ Carmody EE, Schwarz EM, Puzas JE, et al. Viral interleukin-10 gene inhibition of inflammation, osteoclastogenesis, and bone resorption in response to titanium particles. *Arthritis Rheum* 2002;46:1298-308.
- ⁵⁹ Im GI, Qureshi SA, Kenney J, et al. Osteoblast proliferation and maturation by bisphosphonates. *Biomaterials* 2004;25:4105-15.
- ⁶⁰ Astrand J, Aspenberg P. Reduction of instability-induced bone resorption using bisphosphonates: high doses are needed in rats. *Acta Orthop Scand* 2002;73:24-30.
- ⁶¹ Goodman SB, Trindade M, Ma T, et al. Pharmacologic modulation of periprosthetic osteolysis. *Clin Orthop Relat Res* 2005;(430):39-45.
- ⁶² Yang SY, Mayton L, Wu B, et al. Adeno-associated virus-mediated osteoprotegerin gene transfer protects against particulate polyethylene-induced osteolysis in a murine model. *Arthritis Rheum* 2002;46:2514-23.
- ⁶³ Ulrich-Vinther M, Carmody EE, Goater JJ, et al. Recombinant adeno-associated virus-mediated osteoprotegerin gene therapy inhibits

- wear debris-induced osteolysis. *J Bone Joint Surg Am* 2002;84-A:1405-12.
- ⁶⁴ Childs LM, Paschalis EP, Xing L, et al. *In vivo RANK signaling blockade using the receptor activator of NF-kappaB:Fc effectively prevents and ameliorates wear debris-induced osteolysis via osteoclast depletion without inhibiting osteogenesis.* *J Bone Miner Res* 2002;17:192-9.
- ⁶⁵ Ren W, Li XH, Chen BD, et al. *Erythromycin inhibits wear debris-induced osteoclastogenesis by modulation of murine macrophage NF-kappaB activity.* *J Orthop Res* 2004;22:21-9.
- ⁶⁶ Mulhall KJ, Curtin WA, Given HF. *Comparison of different anti-inflammatory agents in suppressing the monocyte response to orthopedic particles.* *Orthopedics* 2003;26:1219-23.
- ⁶⁷ Childs LM, Goater JJ, O'Keefe RJ, et al. *Effect of anti-tumor necrosis factor-alpha gene therapy on wear debris-induced osteolysis.* *J Bone Joint Surg Am* 2001;83-A:1789-97.
- ⁶⁸ Harris WH. *Wear and periprosthetic osteolysis: the problem.* *Clin Orthop Relat Res* 2001;(393):66-70.
- ⁶⁹ Sinha RK, et al. *Surgical Treatment of Osteolysis.* In: Callaghan JJ, ed. *The Adult Hip.* Philadelphia: Lippincott-Ravenj Publisher 1998, pp. 1549-1554.
- ⁷⁰ Rauner M, Sipos W, Pietschmann P. *Osteoimmunology.* *Int Arch Allergy Immunol* 2007;143:31-48.
- ⁷¹ Cadosch D, Gautschi OP, Chan E, et al. *Titanium induced production of chemokines CCL17/TARC and CCL22/MDC in human osteoclasts and osteoblasts.* *J Biomed Mater Res A* 2010;92:475-83.
- ⁷² Tsao AK, Jones LC, Lewallen DG; Implant Wear Symposium 2007 Clinical Work Group. *What patient and surgical factors contribute to implant wear and osteolysis in total joint arthroplasty?* *J Am Acad Orthop Surg* 2008;16(Suppl 1):S7-13.
- ⁷³ Jacobs JJ, Campbell PA, T Konttinen Y; Implant Wear Symposium 2007 Biologic Work Group. *How has the biologic reaction to wear particles changed with newer bearing surfaces?* *J Am Acad Orthop Surg* 2008;16(Suppl 1):S49-55.
- ⁷⁴ Stanley KT, VanDort C, Motyl C, et al. *Immunocompetent properties of human osteoblasts: interactions with T lymphocytes.* *J Bone Miner Res* 2006;21:29-36. Erratum in: *J Bone Miner Res* 2007;22:1650.
- ⁷⁵ Del Buono A, Denaro V, Maffulli N. *Genetic susceptibility to aseptic loosening following total hip arthroplasty: a systematic review.* *Br Med Bull* 2011 Jun 7.
- ⁷⁶ Gallo J, Raska M, Mrázek F, et al. *Bone remodeling, particle disease and individual susceptibility to periprosthetic osteolysis.* *Physiol Res* 2008;57:339-49.
- ⁷⁷ Tuan RS, Lee FY, T Konttinen Y, et al.; Implant Wear Symposium 2007 Biologic Work Group. *What are the local and systemic biologic reactions and mediators to wear debris, and what host factors determine or modulate the biologic response to wear particles?* *J Am Acad Orthop Surg* 2008;16(Suppl 1):S42-8.

Abbreviazioni utilizzate:

BMPs (bone morphogenetic proteins)
 TGF- β (transforming growth factor-beta)
 FGF (fibroblast growth factor)
 FGF-2 (basic fibroblast growth factor)
 PDGF (platelet derived growth factor)
 VEGF (vascular endothelial growth factor)
 prostanglandine (PGE)
 TNF- α (Tumor Necrosis Factor α)
 IL (interleuchina)
 MMP (metalloproteinasi della matrice)
 l'osteoprotegerina (OPG = TNFRSF11b)
 RANKL (Nuclear factor kB ligand = TNFSF11,
 tumor necrosis factor superfamily 11 = ODF, osteoclast differentiation factor = TRANCE, TNF related activation induced cytokine)
 RANK (receptor activator of Nuclear factor kB = osteoclast differentiation factor receptor = TNFRSF-11a, Tumor necrosis factor superfamily member 11a)
 M-CSF (macrophage -colony stimulating factor)
 hIL-1Ra (interleukin-1 receptor antagonist)
 NO (nitric oxide)
 MAP (mitogenic activated protein)
 MSC (mesenchymal stem cells)