

# ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΡΩΤΟ

## Η ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΤΟΥ ΣΚΕΛΕΤΟΥ

- 
1. Εισαγωγή
  2. Ο σχηματισμός της καταβολής του χόνδρου στο έμβρυο
  3. Ο πρώτος οστικός σχηματισμός
  4. Οι ζώνες ανάπτυξης
    - α. Η ζώνη πολλαπλασιασμού
    - β. Η υπερτροφική ζώνη: Πρώιμες μεταβολές
    - γ. Επιμετάλλωση της υπερτροφικής ζώνης
    - δ. Η απόπτωση ως τελικό στάδιο του υπερτροφικού φαινότυπου
    - ε. Αγγειακή και χονδροκλαστική διάβρωση της υπερτροφικής ζώνης
  5. Ο σχηματισμός του ανοργάνωτου οστού και η αντικατάστασή του από το δοκιδώδες οστόύν
  6. Τα δευτερογενή κέντρα οστέωσης
  7. Η ρύθμιση της ανάπτυξης των χονδροκυττάρων και οι αλληλεπιδράσεις τους με το περιχόνδριο και το περίοστεο
    - α. Βιταμίνη D
    - β. Θυρεοειδικές ορμόνες
    - γ. Οιστρογόνα
    - δ. Αυξητική ορμόνη (GH) και ινσουλινόμορφος αυξητικός παράγων I (IGF-I)
    - ε. Ινοβλαστικός αυξητικός παράγων (FGF)
    - στ. Οστικές μορφογενετικές πρωτεΐνες (BMPs)
  8. Hedgehogs, παραθορμόνη (PTH) και σχετιζόμενο με την PTH πεπτίδιο (PTHrp)
    - α. Η οικογένεια των γονιδίων hedgehog
    - β. Το σχετιζόμενο με την παραθορμόνη πεπτίδιο PTHrp. Ο σχηματισμός του ανοργάνωτου οστού και η αντικατάστασή του από το δοκιδώδες οστόύν
- Επιλογή Βιβλιογραφίας*
-

## Εισαγωγή

Με εξαίρεση τον κρανιοπροσωπικό σκελετό και την κλείδα, ο οστικός σχηματισμός κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης επιτελείται μέσω μιας διαδικασίας που ονομάζεται ενδοχόνδρια οστέωση. Στην ενδοχόνδρια οστέωση ο χόνδρος σχηματίζεται αρχικά ως σκελετικός ιστός, ο οποίος στη συνέχεια ασβεστοποιείται και αντικαθίσταται από οστόν. Το μεγαλύτερο τμήμα του κρανιοπροσωπικού σκελετού αποτελείται από μεμβρανώδη οστά τα οποία σχηματίζονται μέσω ενδομεμβρανώδους οστέωσης και χωρίς τη μεσολάβηση χονδρίνου τμήματος. Η κλείδα είναι το μόνο μεμβρανώδες οστόν στα θηλαστικά εκτός κρανιοπροσωπικού σκελετού.

Ο αξονικός και πλευρικός σκελετός, καθώς και τμήματα του κρανίου (οστά θόλου, κρανίου, ακουστικό κυστίδιο), προέρχονται από το μέσο βλαστικό δέρμα.

Στο έμβρυο, ο οστικός σχηματισμός επιτελείται μέσω προγραμματισμένης και άριστα ενορχηστρωμένης διαφοροποίησης των μεσεγχυματικών κυττάρων σε χονδροβλάστες, περιχόνδριο, περιόστεο και οστεοβλάστες (Σχεδιάγραμμα 1). Στη συνέχεια εγκαθίστανται οι ζώνες ανάπτυξης, αρχικά για να ευοδώσουν την αύξηση των οστών κατά μήκος και κατόπιν, στην περίπτωση των μακρών οστών, να διαμορφώσουν τις σχηματιζόμενες επιφύσεις. Μέρος αυτής της διαδικασίας αποτελεί μία πολύπλοκη σειρά γεγονότων η οποία περιλαμβάνει το σχηματισμό των χονδροβλαστών και την ωρίμανσή τους σε χονδροκύτταρα. Μόνον ώριμα υπερτροφικά χονδροκύτταρα εγκαθιστούν ασβεστοποιημένη εξωκυττάριο θεμέλιο ουσία, η οποία στη συνέχεια θα απορροφηθεί μερικά μέσω διαδικασίας η οποία περικλείει την αγγειογένεση.

Η διαδικασία αυτή κατ' αρχήν επιτελείται, νωρίς στην εξέλιξη, εντός της διάφυσης των μακρών οστών και αργότερα στις αυξητικές πλάκες (Σχεδιάγραμμα 1). Ο ασβεστοποιημένος χόνδρος λειτουργεί κατόπιν ως υπόδειγμα πάνω στο οποίο οι οστεοβλάστες σχηματίζουν το άναρχο οστόν, το οποίο τελικά θα απορροφηθεί και θα αντικατασταθεί από ώριμο δοκιδώδες οστόν εντός των επιφύσεων και της διάφυσης. Κατά τον ίδιο χρόνο, τα ανωτέρω γεγονότα έπονται αρχικά και στην συνέχεια συνοδεύονται μόνιμα από σχηματισμό φλοιώδους οστού.

## Ο σχηματισμός της καταβολής του χόνδρου στο έμβρυο

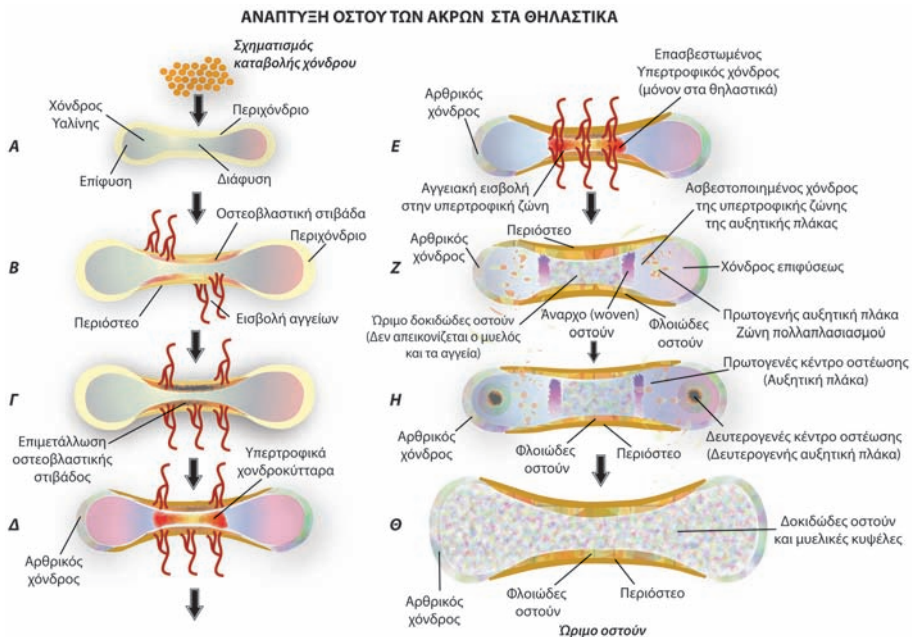
Η καταβολή του χόνδρου ξεκινά με συναθροίσεις μεσεγχυματικών κυττάρων τα οποία στερούνται ιδιαίτερης αγγείωσης και τα οποία διαφοροποιούνται

σε χονδροβλάστες (Σχεδιάγραμμα 2). Καταστολή του πρωτο-ογκογονιδίου *c-myc* (το οποίο επάγεται σε διαιρούμενα κύτταρα) ευνοεί τη χονδρογένεση. Ασφαλώς περίξ των θέσεων σχηματισμού του χόνδρου υπάρχουν πάντοτε αγγεία. Στις ίδιες περιοχές μεσεγγυματικά κύτταρα διαφοροποιούνται σε μυογενή στοιχεία τα οποία θα σχηματίσουν μύες. Διακριτές μεταβολές στην έκφραση του γονιδίου του υποδοχέα του ινοβλαστικού αυξητικού παράγοντα (FGFR) στα μεσεγγυματικά αυτά κύτταρα και τους χονδροβλάστες μπορούν να αναγνωρισθούν πρό και κατά τη διάρκεια της διαφοροποίησής τους (Σχεδιάγραμμα 2). Τα συναθροιζόμενα αυτά κύτταρα εκφράζουν παροδικά τον παράγοντα *Osf2/Cbfa1* από την οικογένεια των μεταγραφικών παραγόντων *Runt*, η οποία εκφράζεται μεταγενέστερα στους οστεοβλάστες. Η σύνθεση προκολλαγόνου τύπου II, η οποία καθορίζει το φαινότυπο των χονδροβλαστών/χονδροκυττάρων περισσότερο από οποιοδήποτε άλλο μόριο, αφορά αρχικά την έκφραση του προκολλαγόνου τύπου IIIA στα συναθροιζόμενα μεσεγγυματικά κύτταρα. Καθώς αυτά διαφοροποιούνται η έκφραση μετακινείται προς ώριμο προκολλαγόνο τύπου IIIB που αποτελεί χαρακτηριστικό του φαινότυπου των χονδροβλαστών/χονδροκυττάρων. Όταν τα κύτταρα συνθέτουν κολλαγόνο τύπου IIIB, το εξόνιο II του τελευταίου δεν εκφράζεται και το αμινοπροπεπτιδίο είναι συνεπώς βραχύτερο. Η λειτουργική σημασία του φαινομένου αυτού παραμένει αδιευκρίνιστη.

## Ο πρώτος οστικός σχηματισμός

Αρχικά σχηματίζεται ένα αναγνωρίσιμο περιχόνδριο (Σχεδιάγραμμα 1A) το οποίο λειτουργεί ως πρωτογενής θέση παραγωγής και διαφοροποίησης των χονδροβλαστών. Η διαδικασία αυτή ονομάζεται *εναποθετική ανάπτυξη*. Το περιχόνδριο αρχικά περιβάλλει κάθε σχηματιζόμενη επίφυση και νεοσχηματιζόμενη χόνδρινη διάφυση. Οι χονδροβλάστες αυτοί ωριμάζουν προς χονδροκύτταρα και συνθέτουν όχι μόνο προκολλαγόνο τύπου IIIB, αλλά και μία μεγάλη πρωτεΐνοσυνδετική πρωτεογλυκάνη, την αγγρικάνη, καθώς και πολλά άλλα εξειδικευμένα μόρια της θεμελίου ουσίας, τα οποία συνιστούν την εκτεταμένη εξωκυττάρια θεμέλιο ουσία του ώριμου υαλοειδούς χόνδρου.

Με τη συνέχιση της ανάπτυξης ο περισσότερος περιφερικός περιχόνδριος ιστός που επενδύει εξωτερικά τη διάφυση διαφοροποιείται σε περίοστεο από το οποίο αναπτύσσονται οι οστεοβλάστες και σχηματίζουν το φλοιώδες οστού (Σχεδιάγραμμα 1B). Στα θηλαστικά, αιμοφόρα τριχοειδή πρέπει να εισχωρήσουν στο περιχόνδριο πριν αυτό μετατραπεί σε περίοστεο. Τα



Σχεδιάγραμμα 1. Η ανάπτυξη του σκελετού στα θηλαστικά (βλ. επεξηγήσεις στο κείμενο).

οστεοβλαστικά κύτταρα ωριμάζουν, εγκαθιστούν και επιμεταλλώνουν ένα “θεμέλιο” οστεοειδές το οποίο περιέχει κολλαγόνο τύπου I και οστεο-ειδικά μόρια, όπως η οστική σιαλοπρωτεΐνη. Η αλκαλική φωσφατάση, η οποία είναι πάντοτε παρούσα σε αυξημένες ποσότητες σε επιμεταλλούμενο ιστό και απαιτείται για αυτήν τη διαδικασία, ανευρίσκεται αρχικά στον περιοστικό μανδύα όπου η επιμετάλλωση ξεκινά μετά την έναρξη της αγγειογένεσης. (Σχεδιάγραμμα 1Γ). Η απουσία λειτουργικής αλκαλικής φωσφατάσης οδηγεί σε υποφωσφατασία (βλ. κατωτέρω). Υπάρχουν σαφή όρια διαχωρισμού μεταξύ της περιοστικής κυτταρικής στοιβάδας και του υποκείμενου οστεοειδούς (τα οποία μαζί αποτελούν το περιόστεο) και μεταξύ του οστεοειδούς και της χόνδρινης διάφυσης.

Με την πρόοδο της ωρίμανσης, τα χονδροκύτταρα στην κεντρική διάφυση ωριμάζουν και γίνονται “υπερτροφικά” (Σχεδιάγραμμα 1Δ). Αρχίζουν να συνθέτουν κολλαγόνο τύπου X και στη συνέχεια επιμεταλλώνουν τη θεμέλιο ουσία τους. Η διαδικασία της ωρίμανσης εξαρτάται από μόρια που εκκρίνονται από περιφερικούς οστεοβλάστες. Απάλειψη του οστεοβλαστικού μεταγραφικού παράγοντα *Osf2/Cbfa1*, που καθορίζει τον ενδοχόνδριο οστικό

σχηματισμό, με ομόλογο ανασυνδυασμό οδηγεί σε διαταραχή της ωρίμανσης των χονδροκυττάρων και των οστεοβλαστών. Το αποτέλεσμα είναι η έλλειψη περιοστικής οστέωσης και μία πολύ περιορισμένη και περιοχική επασβέστωση του χόνδρου που ακολουθεί την υπερτροφία των χονδροκυττάρων (Σχεδιάγραμμα 1E). Περαιτέρω, η επιμεταλλωμένη χόνδρινη διάφυση δεν φέρει αγγείωση (ένα χαρακτηριστικό της πλήρους υπερτροφικής ωρίμανσης) και δεν επιτυγχάνει την ανάπτυξη κοιλότητων μυελού των οστών.

Στα πτηνά, η χόνδρινη διάφυση καθίσταται υπερτροφική αλλά δεν επιμεταλλώνεται, ενώ στα θηλαστικά ο χόνδρος αρχίζει να επιμεταλλώνεται μετά την υπερτροφική φάση. Η υπερτροφία συνοδεύεται φυσιολογικά από την ανάπτυξη της αγγειογένεσης. Αιμοφόρα τριχοειδή εισχωρούν στον υπερτροφικό χόνδρο από την περιοστική περιφέρεια η οποία έχει ήδη διαπεραστεί από τα τριχοειδή. Η αγγειακή αυτή εισβολή είναι ορατή τόσο στο στάδιο αυτό της ανάπτυξης, καθώς και στα πρωτογενή και δευτερογενή κέντρα οστέωσης εντός των αυξητικών πλακών. Υπερτροφικά χονδροκύτταρα παράγουν αγγειογόνα μόρια στα οποία περιλαμβάνεται πιθανώς και ο αγγειο-ενδοθηλιακός κυτταρικός αυξητικός παράγοντας. Αυτοί οι παράγοντες εξυπηρετούν την αγγειακή εισβολή εντός του ιστού αυτού.

Με την αύξηση της οστεοβλαστικής δραστηριότητας, αναπτύσσεται μία ζώνη περιοστικού οστού η οποία επεκτείνεται κατά μήκος της διάφυσης και συγχωνεύεται στο μέσον της διάφυσης με τον ήδη επιμεταλλωμένο πυρήνα της διάφυσης. Οι πρωτογενείς αυξητικές πλάκες εγκαθίστανται στη συνέχεια στην περιφέρεια των μακρών οστών και των σπονδυλικών σωμάτων (Σχεδιάγραμμα 1Z) ώστε να προάγουν την επιτάχυνση της κατά μήκος ανάπτυξης.

Αυτά είναι τα πρωτογενή αυξητικά κέντρα, εντός των οποίων η ανάπτυξη συνεχίζεται, τόσο στο έμβρυο όσο και στην μετα-εμβρυϊκή περίοδο.

## **Οι ζώνες ανάπτυξης**

### **α. Η ζώνη πολλαπλασιασμού**

Όταν οι πρωτογενείς πλάκες εγκαθίστανται, αρχικά βρίσκονται σε στενή επαφή με το χόνδρο του μη επιμεταλλωμένου εισέτι επιφυσιακού χόνδρου από τη μία πλευρά και της επιμεταλλωμένης διάφυσης από την άλλη. Στα αναπτυξιακά αυτά κέντρα υπάρχει συνεχής σχηματισμός χονδροβλαστών από ένα κέντρο ανάπτυξης γειτονικό με αυτό που συνήθως ονομάζεται «ζώνη ηρεμίας» του επιφυσιακού χόνδρου. Τα κύτταρα οργανώνονται σε μία αξονι-

κή διάταξη, δημιουργώντας στήλες πολλαπλασιαζόμενων κυττάρων, τα οποία εκφράζουν το πρωτο-ογκογονίδιο *c-myc*. Τα κύτταρα αυτά εγκαθιστούν μία εκτεταμένη εξωκυττάριο θεμέλιο ουσία (Σχεδιάγραμμα 2). Η έκφραση των πρωτο-ογκογονιδίων *c-jun* και *c-fos* αυξάνει αργότερα στη φάση πολλαπλασιασμού. Αυτά τα πολλαπλασιαζόμενα κύτταρα έχουν υποδοχείς για την αυξητική ορμόνη η οποία προκαλεί τη σύνθεση του ινσουλινόμορφου αυξητικού παράγοντα 1 (IGF-I), ο οποίος με την σειρά του καθοδηγεί τη σύνθεση της θεμελίου ουσίας και την κυτταρική διαίρεση. Η θυροξίνη ( $T_4$ ), και περισσότερο, η τριϊωδοθυρονίνη ( $T_3$ ), εξασφαλίζουν αυτή την ταχεία ωρίμανση των άωρων χονδροκυττάρων προς υπερτροφικό φαινότυπο καθώς και τη ρύθμιση της κυτταρικής διαίρεσης. Η βιταμίνη D, τόσο η 1,25-διϋδροξυχολληκαλσιφερόλη όσο και η 24,25-διϋδροξυχολληκαλσιφερόλη, είναι απαραίτητη για να εξασφαλισθεί η ωρίμανση των χονδροκυττάρων, η επιμετάλλωση της θεμελίου ουσίας και η αγγειακή εισβολή. Επί απουσίας της βιταμίνης D, η ωρίμανση και επιμετάλλωση είναι ατελείς, η υπερτροφική ζώνη επεκτείνεται και η αγγειογένεση διαταράσσεται. Η κατάσταση αυτή προσομοιάζει την υποφωσφατασία. Κάθε ένας από τους μεταβολίτες της βιταμίνης D μπορεί να διεγείρει την παραγωγή ενός αγγειογενετικού παράγοντα από τα ωριμάζοντα χονδροκύτταρα, ερμηνεύοντας με τον τρόπο αυτό την πλημμυρή αγγειογένεση σε έλλειψη βιταμίνης D.

## **Β. Η υπερτροφική ζώνη: Πρώιμες μεταβολές**

Στη ζώνη πολλαπλασιασμού, τα χονδροκύτταρα συνεχίζουν να συνθέτουν εξωκυττάρια θεμέλιο ουσία. Στη συνέχεια αρχίζουν, μάλλον απότομα, να προάγουν τη σύνθεση προκολλαγόνου τύπου ΙΙΒ και να συνθέτουν κολλαγόνο τύπου X, γεγονός που τα χαρακτηρίζει ως υπερτροφικά χονδροκύτταρα (Σχεδιάγραμμα 2). Το κολλαγόνο τύπου X ανευρίσκεται τόσο στις περικυτταρικές θέσεις όσο και σε στενή επαφή με ινίδια του κολλαγόνου τύπου ΙΙ. Αν και ο ρόλος του δεν είναι απόλυτα γνωστός, μεταλλάξεις που αλλάζουν τη δομή του κολλαγόνου τύπου X, όπως εκείνες που δίδουν γένεση σε δυσπλασία της μετάφυσης τύπου Schmidt, μειώνουν το ρυθμό ανάπτυξης όταν οι ασθενείς είναι περιπατητικοί, σε σχέση με αυτούς οι οποίοι παραμένουν κλινήρεις. Συνεπώς το κολλαγόνο τύπου X μπορεί να διαδραματίζει ένα δομικό ρόλο στη συντήρηση της οργάνωσης των ινιδίων του κολλαγόνου και στις μηχανικές ιδιότητες της θεμελίου ουσίας σε ένα χρόνο στον οποίο υφίσταται σημαντική απορρόφηση και ανακατασκευή των ινών του κολλαγόνου τύπου

II και μία μείωση της διαμέτρου των ινιδίων. Μεταλλάξεις του κολλαγόνου τύπου II προκαλούν επίσης μία πολύ έντονη αποδιοργάνωση της αυξητικής πλάκας με απώλεια σχηματισμού στηλών, ανώμαλη υπερτροφική ζώνη και αποδιοργανωμένη επιμετάλλωση. Οι χονδροδυσπλασίες αυτές είναι η **δυσπλασία Kniest** και η **σπονδυλοεπιφυσιακή δυσπλασία**. Οι μεταλλάξεις σε μία ολιγομερή πρωτεΐνη του χόνδρου οι οποίες προκαλούν την ψευδοαχονδροπλασία, οδηγούν επίσης σε παρόμοιες ανωμαλίες των αυξητικών ζωνών.

Όταν τα χονδροκύτταρα αυτά συνθέτουν κολλαγόνο τύπου X, παρουσιάζουν και άλλες θεμελιώδεις μεταβολές. Χάνουν τους λειτουργικούς υποδοχείς για το βασικό ινοβλαστικό αυξητικό παράγοντα-2, (bFGF-2) ο οποίος μπορεί να καταστείλλει την υπερτροφία.

Μεταλλάξεις των υποδοχέων αυτών, που καθοδηγούν πάγιες δομικές διαδικασίες, προκαλούν αναπτυξιακές ανωμαλίες οι οποίες χαρακτηρίζουν την πλέον κοινή σκελετική δυσπλασία, την αχονδροπλασία. Τα κανονικά υπερτροφικά χονδροκύτταρα χάνουν επίσης και τους υποδοχείς του PTHrP, το οποίο συντίθεται από τα λιγότερο ώριμα χονδροκύτταρα της ζώνης πολλαπλασιασμού. Η απώλεια του γονιδίου αυτού, σε ποντικούς knockout, ή του γονιδίου του υποδοχέα της PTH ή PTH/PTHrP, προκαλεί πρόωρη υπερτροφία και αποδιοργάνωση της αυξητικής πλάκας. Συνεπώς το PTHrP εξυπηρετεί επίσης την καταστολή της άμετρης υπερτροφίας.

Κατά την περίοδο της πρώιμης υπερτροφίας και της σύνθεσης του κολλαγόνου τύπου X η κολλαγενάση-3, μία μεταλλοπρωτεϊνάση (MMP-13) η οποία αποικοδομεί δραστικά τα μόρια του κολλαγόνου τύπου II, αναβαθμίζεται. Η δραστηριότητα αυτής της πρωτεϊνάσης οδηγεί σε ταχεία και επιλεκτική αποικοδόμηση του μεγαλύτερου μέρους του εξωκυττάριου κολλαγόνου τύπου II, οδηγώντας σε εκτεταμένη απορρόφηση και ανακατασκευή της εξωκυττάριας θεμελίου ουσίας. Αυτό το γεγονός επιτρέπει την κυτταρική μεγέθυνση και υπερτροφία.

Η υπερπαραγωγή της κολλαγενάσης επέρχεται σε στενή σχέση με την αυξημένη έκφραση του *c-fos*. Ο *c-fos* αποτελεί συστατικό του συμπλέγματος του μεταγραφικού παράγοντα AP-1 το οποίο ρυθμίζει την έκφραση της κολλαγενάσης. Αυτό είναι ένα ετεροδιμερές σύμπλεγμα το οποίο περιέχει επίσης τον παράγοντα *c-jun*. Υπερέκφραση του *c-fos* γονιδίου οδηγεί σε σχηματισμό οστεοσαρκωμάτων και χονδροσαρκωμάτων, αλλά καταστέλλει την υπερτροφία. Ωστόσο, στη διάρκεια της φυσικής εξέλιξης η έκφραση των *c-fos* και *c-jun* είναι αναγκαία. Αυξημένη έκφραση του *c-jun* βρίσκεται σε προϋ-

περτροφικά χονδροκύτταρα, και η έκφραση του επάγεται από την PTH η οποία αναστέλλει την έκφραση του υπερτροφικού φαινότυπου. Σύμφωνα με αυτά είναι η παρατήρηση ότι σε *c-fos*-/-ποντικό, παρουσιάζεται πρόωμη υπερτροφία. Συνεπώς και ο *c-jun* και ο *c-fos* ενέχονται στη ρύθμιση της ωρίμανσης. Ανισορροπία στις δραστηριότητες των ογκογονιδίων αυτών έχει σαφώς αρνητική επίπτωση στη φυσιολογική ωρίμανση των χονδροκυττάρων.

Ο μεταμορφωτικός αυξητικός παράγοντας 1 (TGF-1) μπορεί επίσης να αυξήσει την έκφραση της κολλαγενάσης-3 (αλλά όχι την κολλαγενάση-1) σε ινοβλάστες και χονδροκύτταρα και φαίνεται να οδηγεί στην επαγωγή της κολλαγενάσης-3 στην αυξητική πλάκα κατά την διάρκεια της υπερτροφίας, όπου η έκφραση του TGF-1 είναι αυξημένη. Αντίθετα, η κολλαγενάση-3 των οστεοβλαστών επάγεται από την PTH, η οποία καταστέλλει την υπερτροφία στα χονδροκύτταρα.

Η αύξηση της έκφρασης των *c-fos* και *c-jun* γονιδίων στους οστεοβλάστες προκύπτει ως απάντηση στην PTH. Είναι πιθανόν ότι η ιστική εξειδίκευση στη ρύθμιση της κολλαγενάσης επιτυγχάνεται μέσω της παρουσίας μίας Runt δεσμευτικής περιοχής καθώς και μίας AP-1 περιοχής στα γονίδια που εκφράζονται στα οστικά κύτταρα.

#### **γ. Επιμετάλλωση της υπερτροφικής ζώνης**

Μετά την απορρόφηση και την ανακατασκευή, η υπολειπόμενη θεμέλιος ουσία, η οποία έχει ελαχιστοποιηθεί σε όγκο, αρχίζει να επιμεταλλώνεται (Σχεδιάγραμμα 2). Το περιεχόμενο της εμπλουτίζεται με μία πρωτεογλυκάνη, την αγγρικάνη. Η επιμετάλλωση εμφανίζεται κατά εστίες στα επιμήκη πέταλα, όπου τα μόρια της πρωτεογλυκάνης αυτής βρίσκονται συγκεντρωμένα. Το *c*-προπεπτιδίο του κολλαγόνου τύπου II, μία ασβεστιοδεσμευτική πρωτεΐνη, συσσωρεύεται σε αυτές τις επιμεταλλούμενες θέσεις. Προ της επιμετάλλωσης, κυστίδια θεμελίου ουσίας παράγονται από τα χονδροκύτταρα, με σημείο έναρξης τη ζώνη πολλαπλασιασμού. Τα κυστίδια αυτά προφανώς υπηρετούν τη γένεση τοπικά αυξημένων συγκεντρώσεων ασβεστίου και φωσφόρου και εξασφαλίζουν τη δημιουργία πυρήνων επιμετάλλωσης, οι οποίοι αυξάνονται σημαντικά στην επακόλουθη υπερτροφία. Ποντικοί στους οποίους το γονίδιο της οστεοκαλσίνης, πρωτεΐνης της θεμελίου ουσίας, έχει αφαιρεθεί με ομόλογο ανασυνδυασμό, παρουσιάζουν πρόωρη επιμετάλλωση στη ζώνη πολλαπλασιασμού, υποδηλώνοντας ότι το μόριο αυτό περιορίζει την επιμετάλλωση στην υπερτροφική ζώνη όπου η έκφραση του γονιδίου είναι φυσιολογικά ελάχιστη.



## **δ. Η απόπτωση ως τελικό στάδιο του υπερτροφικού φαινότυπου**

Τα ώριμα υπερτροφικά κύτταρα αναπαριστούν τελικώς διαφοροποιημένα χονδροκύτταρα. Η απόπτωση εμφανίζεται σε προχωρημένη υπερτροφία, όταν η επιμετάλλωση είναι μέγιστη. Αυτή οδηγεί στο θάνατο των κυττάρων αυτών σε σύνδεση με τη μειωμένη έκφραση της αντι-αποπτωτικής πρωτεΐνης Bcl-2 η οποία ρυθμίζει αρνητικά τον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο. Η απόπτωση προκαλεί την εξωκυττάρια ελευθέρωση δύο τρानс-γλουταμινασών, μία ιστική και μία του πλάσματος (avian factor XIIIa). Η τελευταία είναι ιδιαίτερα υψηλή στα υπερτροφικά χονδροκύτταρα και φαίνεται να γεφυρώνει μόρια της θεμελίου ουσίας, ενώ μπορεί να συνεισφέρει, παρόμοια με το κολλαγόνο τύπου X, στη σταθερότητα της θεμελίου ουσίας. Εναλλακτικά, μπορεί να επιτείνει την αποικοδόμηση δεδομένου ότι τα μόρια που περιέχουν διασταυρούμενους δεσμούς (π.χ φιμπρονεκτίνη) είναι περισσότερο ευπαθή στην πρωτεόλυση.

## **ε. Αγγειακή και χονδροκλαστική διάβρωση της υπερτροφικής ζώνης**

Ένα εντυπωσιακό χαρακτηριστικό της υπερτροφικής ζώνης, όπως και στην προϊμότερη ανάπτυξη, είναι η αγγειακή της διήθηση. Στο στάδιο αυτό σχηματίζεται η πρωτογενής σπογγειώδης στιβάδα και εμφανίζεται σε στενή σχέση με την απόπτωση των υπερτροφικών χονδροκυττάρων. Ακολουθώντας και συνοδεύοντας τη δραστηριότητα των διηθούντων πολυπυρήνων χονδροβλαστών, αγγειακοί μίσχοι διηθούν τα κατά κανόνα μη μεταλλοποιημένα εγκάρσια διαφράγματα (Σχεδιάγραμμα 2), συνοδευόμενα από μονοπύρηνα κύτταρα πλούσια σε καθεψίνη Β τα οποία ονομάζονται διαφραγματοκλάστες. Αυτή η διηθητική αγγειογενετική διαδικασία οδηγεί σε προοδευτική καταστροφή όχι μόνον των επιμήκων πετάλων αλλά και πολλών επιμεταλλωμένων. Περιλαμβάνει τη δραστηριότητα των εξωκυττάρων πρωτεασών στο μέτωπο της αγγειακής εισβολής όπου υπάρχει διάσπαση του κολλαγόνου τύπου II με δράση της κολλαγενάσης η οποία διασπά την αγγρικάνη. Η ζελατινάση Β (MMP-9), μία μεταλλοπρωτεϊνάση παρούσα στις θέσεις αυτές και παραγόμενη από χονδροκλάστες και οστεοκλάστες, εμπλέκεται στη διαδικασία αυτή, δεδομένου ότι αφαίρεση του γονιδίου της με ανασυνδυασμό οδηγεί σε διαπλάτυνση της υπερτροφικής ζώνης. Αυτό είναι αποτέλεσμα της διαταραχής της απόπτωσης και αγγειογένεσης, η οποία προφανώς εξαρτάται από την αποδόμηση της θεμελίου ουσίας που προκαλείται από την εν λόγω πρωτεΐναση.