

Artículo especial de la sociedad de investigación en cirugía ortopédica

Las calcificaciones heterotópicas

Frederick S. Kaplan, MD, David L. Glaser, MD, Nader Hebela, MD y Eileen M. Shore, PhD

Resumen

Las calcificaciones heterotópicas, es decir, la formación de hueso en las partes blandas, requieren para su formación unas vías inductoras de señalización, unas células osteoprogenitoras inducibles y un entorno heterotópico conductor de la osteogénesis. Su patogenia es poco conocida. La investigación de dos enfermedades hereditarias raras, la fibrodysplasia osificante progresiva y la heteroplasia ósea progresiva, ha proporcionado información clínica, anatomopatológica y genética de gran interés. En la fibrodysplasia osificante progresiva, parecen ser importantes la hiperexpresión de la proteína morfogenética ósea 4 y la hipoxpresión de múltiples antagonistas de dicha proteína, para crear un potente gradiente morfogenético. La investigación de la fibrodysplasia osificante progresiva también ha servido para identificar el origen genético de la heteroplasia ósea progresiva: la inactivación de mutaciones en la subunidad alfa del gen codificador que estimula a la proteína G de la adenil ciclasa. Un mejor entendimiento de la compleja patología (del desarrollo y molecular) de dichas enfermedades podrá ayudarnos a conseguir estrategias más eficaces de prevención y tratamiento de otras formas más frecuentes de calcificaciones heterotópicas.

J Am Acad Orthop Surg (Ed Esp) 2004;3:188-197

J Am Acad Orthop Surg 2004;12:116-125

El esqueleto humano es un sistema orgánico complejo que incluye más de 200 huesos articulados, cuyos tamaños y formas son diversas. Durante la embriogénesis, el esqueleto se desarrolla a partir de un mesénquima indiferenciado, siguiendo un plan genético que controla su formación temporoespacial con precisión. Tras el nacimiento, la formación de nuevos elementos esqueléticos suele quedar restringida a la formación de focos de fractura óseos.

Las calcificaciones heterotópicas, que consisten en la formación de hueso normal en una localización anormal (en las partes blandas), se producen por una alteración de la regulación normal de la génesis del esqueleto.^{1,2} La formación de hueso donde no es necesario ni deseable puede ir desde un hallazgo radiológico no significativo hasta situaciones clínicamente

graves, que afecten a la calidad de vida de los pacientes. Las causas de las calcificaciones heterotópicas son múltiples, y entre ellas destacan los traumatismos de partes blandas, las lesiones del sistema nervioso central y las vasculopatías² (tabla 1).

Causas habituales de calcificaciones heterotópicas

En un hematoma intramuscular secundario a un traumatismo deportivo puede aparecer una miositis osificante, cuya patología molecular es desconocida. El proceso de osificación es fundamentalmente endocondral, de forma que en sus estadios iniciales puede confundirse con un osteosarcoma extraóseo. Sin embargo, los sarcomas muestran unos cambios anatomo-

patológicos que son más agresivos en la periferia de la lesión, mientras que en las calcificaciones heterotópicas inmaduras, dichos cambios son más agresivos en su zona central. Las calcificaciones suelen aparecer tras lesiones medulares o traumatismos craneoencefálicos cerrados. Los intentos realizados hasta ahora para conocer los factores inductores, locales o sistémicos de las calcificaciones han fracasado. En áreas de placas aórticas calcificadas o en válvulas cardíacas pueden aparecer calcificaciones heterotópicas intravasculares.³ La osificación arterial y la de las válvulas cardíacas parecen ser procesos bien regulados, y posiblemente mediados por proteínas morfogenéticas óseas (PMO) y cé-

El Dr. Kaplan es Isaac and Rose Nassua Professor of Orthopaedic Molecular Medicine, Departments of Orthopaedic Surgery and Medicine, The University of Pennsylvania School of Medicine, Philadelphia, PA. El Dr. Glaser es The Cali Family Assistant Professor of Orthopaedic Molecular Medicine, Department of Orthopaedic Surgery, The University of Pennsylvania School of Medicine. El Dr. Hebela es Research Fellow, Department of Orthopaedic Surgery, The University of Pennsylvania School of Medicine. El Dr. Shore es Research Associate Professor of Orthopaedics and Genetics, Departments of Orthopaedic Surgery and Genetics, The University of Pennsylvania School of Medicine.

Ninguno de los siguientes autores ni los departamentos asociados con ellos han recibido ayudas ni poseen acciones en empresas u organismos relacionados directa o indirectamente con el tema de este artículo: Dr. Kaplan, Dr. Glaser y Dr. Hebela. El Dr. Shore o los departamentos a los que está afiliados han recibido apoyo institucional o para investigación por parte de Johnson & Johnson.

Copyright 2004 by the American Academy of Orthopaedic Surgeons.

Tabla 1
Etiología de las calcificaciones heterotópicas

Formas adquiridas

Lesión

Sistema nervioso central

Cerebro

Traumatismo craneal cerrado/coma

Accidente cerebrovascular

Médula espinal

Paraplejía

Cuadriplejía

Motoneurona inferior (poliomielitis)

Partes blandas

Traumatismo

Hematoma muscular

Luxación articular

Postquirúrgico

Tras prótesis total de cadera

Cicatrices quirúrgicas

Vascular

Arterioesclerosis

Enfermedad valvular cardíaca

Artropatías

Espondilitis anquilopoyética

Artritis psoriásica

Artropatías seronegativas

Hiperostosis esquelética idiopática difusa

Formas genéticas y del desarrollo

Fibrodisplasia osificante progresiva

Heteroplasia osificante progresiva

lulas similares a los pericitos de la pared vascular.³

Las calcificaciones heterotópicas pueden aparecer como complicación tras prótesis totales de cadera, aunque su frecuencia es muy variable.⁴ Los factores habitualmente relacionados con dichas calcificaciones son el sexo masculino, la artrosis proliferativa, la espondilitis anquilopoyética y la hiperostosis idiopática esquelética difusa,^{2,4} aunque la patología molecular de dichas calcificaciones se desconoce.

Una enfermedad relacionada con las calcificaciones heterotópicas es la osificación ortotópica (formación de hueso sólo en los ligamentos). La osi-

ficación de los ligamentos de la columna vertebral suele ocurrir en pacientes con espondiloartropatías seronegativas, aunque puede aparecer en casos de hiperostosis esquelética idiopática difusa. Se desconoce la patogenia de las calcificaciones heterotópicas en sus formas más habituales, así como la de la osificación del ligamento longitudinal posterior de la columna (que es una osificación ortotópica de la columna vertebral frecuente en varones japoneses).⁵

Patogenia de las calcificaciones heterotópicas

Aparte de las causas habituales de las calcificaciones heterotópicas, existen otras causas hereditarias raras pero muy esclarecedoras. Independientemente de su etiología molecular o genética, la patogenia de las calcificaciones heterotópicas tiene tres componentes fundamentales: unas vías inductoras de señales, unas células osteoprogenitoras inducibles y un entorno heterotópico que conduzca a la osteogénesis. Se ha implicado a muchos genes en la osteogénesis, pero pocos se han relacionado con la inducción esquelética.⁶ Sin embargo, el estudio de enfermedades genéticas en las que la inducción esquelética está mal regulada ha servido para descubrir específicamente algunos genes responsables de la misma, así como las vías que subyacen a las calcificaciones heterotópicas. Dos de dichas enfermedades son la fibrodisplasia osificante progresiva (FOP) y la heteroplasia ósea progresiva (HOP).^{7,8} Estas enfermedades, en las que el tejido conectivo es sustituido por hueso heterotópico maduro, se diferencian entre sí por las características patológicas de la inducción osteogénica, por los hallazgos anatomopatológicos de la osteogénesis heterotópica, por la distribución anatómica de sus lesiones heterotópicas y por los patrones de progresión de la enfermedad.

Aunque recientemente algunos autores han investigado las vías señaladoras del desarrollo del esbozo vertebral, sabemos muy poco con respecto a su papel en las calcificaciones he-

terotópicas posnatales. La FOP y la HOP son muy útiles para estudiar el papel de los morfógenos difusibles, de los antagonistas de los morfógenos, de los receptores transmembranosos, de las proteínas señaladoras de receptores acoplados a las membranas, de los factores de la transcripción y de las células madre mesenquimales adultas que intervienen en los acontecimientos iniciales de la formación ósea endocondral e intramembranosa. Un mejor conocimiento de todo lo mencionado ayudaría a mejorar la prevención y el tratamiento de todos los tipos de calcificaciones heterotópicas.

Hallazgos clínicos y de laboratorio en las calcificaciones heterotópicas

Los síntomas, signos y datos de laboratorio de casi todas las calcificaciones heterotópicas son similares (tabla 2). Los síntomas locales suelen ser dolor, inflamación y movilidad limitada de las articulaciones adyacentes. Las lesiones iniciales suelen confundirse con celulitis, infección, tromboflebitis, tumor o calcificaciones de partes blandas. Una historia clínica detallada puede ayudar a confirmar o excluir otros trastornos no relacionados con las calcificaciones heterotópicas.²

Los niveles de calcio y fósforo séricos son normales en todas las formas de calcificaciones heterotópicas y por tanto sirven para descartar otros problemas relacionados con la mineralización. El nivel de fosfatasa alcalina sérica, que es un marcador de la actividad osteoblástica, suele estar elevado en las fases iniciales de las calcificaciones heterotópicas, aunque tras concluir su proceso de maduración suele volver a la normalidad. Las gammagrafías óseas con isótopos radiactivos son útiles pero no específicas. En ellas se suele observar un marcado aumento de la captación durante las fases iniciales de las calcificaciones heterotópicas, antes de que las radiografías simples muestren claramente la mineralización. La biopsia puede ser útil para excluir los tumores osificantes de partes blandas.² Sin

Tabla 2
Características clínicas y de laboratorio de las calcificaciones heterotópicas

Características	Precoces (0-4 semanas)	Intermedias (5-8 semanas)	Tardías (9-12 semanas)
Síntomas	Aumento de dolor, de la inflamación y de la rigidez	Dolor, inflamación, rigidez	Disminución del dolor, de la inflamación y de la rigidez
Signos	Eritema, calor, endurecimiento, dolor, disminución del GMA	Posterior disminución del GMA	Disminución del GMA, posible anquilosis
Nivel de fosfatasa alcalina en suero	Elevado	Elevado; después se mantiene	Vuelve a ser normal
Hallazgos anatomopatológicos	Metaplasia mesenquimal	Diferenciación ósea u osteocartilaginosa	Hueso
Gammagrafía ósea	Positiva en fases I-III*	Positiva en fase III+	Disminuye en fase III
Hallazgos radiográficos	Ninguno o inflamación de partes blandas	Osteogénesis precoz	Osteogénesis tardía con remodelación

GMA = grado de movilidad articular.

*Captación positiva del radioisótopo durante las fases vascular precoz y ósea tardía de la prueba.

+ Captación positiva del radioisótopo durante la fase ósea tardía de la prueba.

embargo, las biopsias suelen exacerbar las calcificaciones heterotópicas, sobre todo en pacientes que padezcan las formas genéticas de las mismas, es decir la FOP y la HOP.^{7,8}

Las calcificaciones de la FOP avanzan siguiendo unos patrones anatómicos y temporales específicos. Típicamente, las re-

giones dorsales, axiales, craneales y proximales del cuerpo se afectan precozmente. Por el contrario, las regio-

Fibrodysplasia osificante progresiva (FOP)

La FOP es una enfermedad genética rara del tejido conectivo, que se caracteriza por una osificación ectópica incapacitante, con un patrón anatómico típico⁷ (fig. 1, tabla 3). El rasgo fenotípico más precoz de la FOP es la malformación congénita de los dedos gordos de los pies, que se encuentra en casi todos los individuos afectados (fig. 2). La osificación heterotópica progresiva suele comenzar en los 5 primeros años de vida tras una lesión de partes blandas, aunque el momento de su aparición suele ser variable. Cuando las calcificaciones heterotópicas están a punto de aparecer, previamente se presentan grandes inflamaciones dolorosas de tejido fibroproliferativo muy vascularizado en tendones, ligamentos, fascias y músculos esqueléticos. Dichas inflamaciones preósneas progresan mediante una vía de osificación endocondral, hasta llegar a formar hueso heterotópico maduro. Las calcificaciones heterotó-



Figura 1. A, El paciente de la imagen, de 4 años de edad, padecía FOP y tenía una lesión preósnea de partes blandas en la espalda (flecha), junto con otras muchas áreas de calcificaciones heterotópicas que deformaban la piel de la espalda. B, Imagen de reconstrucción de tomografía axial computarizada tridimensional del tronco del paciente de la imagen A cuando tenía 10 años de edad. En ella se aprecian extensas cintas, capas y placas de calcificaciones heterotópicas, que forman como un esqueleto ramificado. (La imagen A ha sido reproducida con autorización de Kaplan FS, Smith SM: Fibrodysplasia ossificans progresiva [víñeta clínica]. *J Bone Miner Res* 1997;12:855.)

nes caudales, apendiculares y distales se afectan más tarde (fig. 1).

Los episodios progresivos de osificación heterotópica acaban produciendo una anquilosis de todas las grandes articulaciones del esqueleto apendicular axial, haciendo que el movimiento del paciente resulte casi imposible. Aunque la tasa de progresión de la enfermedad es variable, la mayoría de los pacientes acaban en silla de ruedas a la edad aproximada de 20 años, necesitando ayuda de por vida para las actividades cotidianas. Los pacientes con FOP suelen sufrir complicaciones cardiopulmonares en la vida adulta, secundarias a patrones pulmonares restrictivos graves.⁷ Las caídas, las lesiones de partes blandas, los traumas quirúrgicos, las inyecciones intramusculares y diversas enfermedades víricas pueden agravar las osificaciones locales.⁷ Actualmente no

existe ni prevención ni tratamiento contra dicha enfermedad.

La FOP es una enfermedad autosómica dominante normalmente producida por mutaciones espontáneas, es decir suele aparecer en familias que no están previamente afectadas. El defecto genético de la enfermedad y su fisiopatología se desconocen; sin embargo, se han implicado en ella genes de la vía de las proteínas morfogenéticas óseas (PMO). En sus pacientes no se han detectado anomalías cariotípicas. Por otro lado, no suele ser fácil disponer de tejido lesional para dicho estudio. Aunque se ha descrito una enfermedad parecida en gatos domésticos, no se sabe que dicho problema afecte a otros animales.⁷

El estudio histológico de las lesiones precoces de la FOP muestran un intenso infiltrado linfocítico perivascular que va seguido de una muerte



Figura 2. Fibrodisplasia osificante progresiva. Radiografía anteroposterior de los pies de un niño de corta edad. Nótese los metatarsianos cortos y malformados, así como la forma en delta de las falanges proximales de los dedos gordos.

del músculo esquelético asociada con los linfocitos, y también de un considerable desarrollo de tejido fibroproliferativo con gran neovascularización e infiltración de mastocitos.^{9,10} Los tejidos de las lesiones de la FOP en estadios posteriores de maduración muestran las características de una osificación endocondral, lo que apoya una hematopoyesis ectópica de la enfermedad. Las fracturas de las calcificaciones heterotópicas parecen consolidar con normalidad.

El origen celular del tejido fibroproliferativo preóseo de las lesiones de la FOP sigue siendo desconocido, aunque se barajan las siguientes posibilidades: células satélite musculares, células endoteliales, células perivasculares y células madre mesenquimales del músculo esquelético o de la médula ósea.^{2,11-13} Los datos preliminares indican una tinción inmune intensa de las células fibroproliferativas de las lesiones iniciales mediante anticuerpos contra la *PMO4*, así como numerosas proteínas de la musculatura lisa. Para averiguar el origen de las células de respuesta, se están realizando estudios en modelos animales de osificación heterotópica inducida por las *PMO*. En ellos se marcan genéticamente células madre adultas y células progenitoras, y tras inyectar *PMO4* humana recombinante en la musculatura esquelética, se sigue su rastro.¹⁴

Tabla 3
Características clínicas de las calcificaciones heterotópicas de la FOP y la HOP

Características	Fibrodisplasia osificante progresiva	Heteroplasia ósea progresiva
Distribución por sexos	Hembra = varón	Hembra = varón
Transmisión genética	Autosómica dominante	Autosómica dominante
Malformación congénita de los dedos gordos de los pies	+	-
<i>Rash</i> papilar congénito	-	+
Osificación cutánea	-	+
Osificación subcutánea	-	+
Osificación muscular	+	+
Progresión de superficial a profunda de la osificación	-	+
Grave limitación de la movilidad	+	+
Intensos empeoramientos de la enfermedad	+	-
Osificación heterotópica tras las inyecciones intramusculares	+	-
Osificación ectópica tras los traumatismos	+	Variable
Patrones regionales de progresión	+	+
Existe tratamiento definitivo	-	-

El papel de las proteínas morfogenéticas óseas (PMO) en la FOP

Teniendo en cuenta que la FOP es rara y que existen pocas familias multigeneracionales, no son posibles estudios genéticos estándar de parentesco. Por lo tanto, para identificar los genes que podrían tener una alteración de la expresión y de la función en la FOP, se ha utilizado el método de genes candidatos. Las PMO han sido candidatas primarias, puesto que esta familia de proteínas puede inducir a las células madre mesenquimales a diferenciarse hasta formar hueso a través de una vía endocondral, por medio de un proceso paralelo a la progresión de la formación ósea en las lesiones de la FOP. El estudio de los niveles de expresión de numerosos genes de las PMO ha constatado que sólo la expresión de *PMO4* está aumentada en las células de FOP, y que dichos niveles elevados se deben a un aumento de la tasa de transcripción del gen de la *PMO4*.^{1,15}

Con el descubrimiento de la alteración de la expresión de la *PMO4* en la FOP, en dicha población se rastreó el gen de la *PMO4* mediante la secuencia de mutaciones del ADN. Un análisis profundo no demostró mutaciones, de forma que este hallazgo apoya la falta de relación genética del locus *PMO4* con la FOP en las cuatro pequeñas familias multigeneracionales que se han encontrado en todo el mundo.¹⁶ Aunque el gen *PMO4* no recoge la mutación genética que causa la FOP, la hiperexpresión de la *PMO4* probablemente induce la formación ósea en dicha enfermedad. Actualmente se han realizado estudios de expresión genética diferencial y de recombinación mitótica de células somáticas para identificar las vías celulares que pueden alterarse y la mutación del gen de la FOP, capaces de activar la vía de la *PMO4*.

El papel de las interacciones antagonistas PMO-PMO

La formación del esqueleto, la inducción ósea y la formación de las articulaciones están especificadas mediante gradientes morfogenéticos estrechamente regulados con relación a la dosis, que están establecidos en parte por las PMO y por sus antagonistas segregados.^{17,18} En la forma-

ción esquelética embrionaria y ósea posnatal, las PMO disminuyen su propia actividad induciendo antagonistas, que se segregan en células de respuesta. Los estudios recientes han demostrado que la *PMO4* puede regular la expresión de múltiples antagonistas de la PMO y, por tanto, establecer un bucle autorregulatorio de retroalimentación negativa.¹⁹

Basándose en la experiencia clínica con la FOP y en los conocimientos recientes de las interacciones antagonistas PMO-PMO, se ha formulado la hipótesis de que un defecto en la vía de retroalimentación autorreguladora entre la *PMO4* y uno o más de sus antagonistas extracelulares podría contribuir a la mayor actividad de la *PMO4* en la FOP.²⁰ Las investigaciones sobre la expresión basal y la inducida por la *PMO4* de los antagonistas segregados de la PMO (ARNm *noggin*, *chordin* y *gremlin*) en el control y líneas celulares de la FOP ha demostrado que las células FOP tienen una intensa disminución de la regulación del ARNm *noggin* y *gremlin* como respuesta a las señales de *PMO4*.²⁰ Ni los genes *noggin* ni los *gremlin* están mutados en la FOP. Además, dichos genes también han sido excluidos mediante análisis de parentesco.²¹

Las mencionadas observaciones preliminares, referentes a la relación que hay entre la *PMO4* y sus antagonistas secretados por las células FOP, concuerdan con el mecanismo patogénico de dicha enfermedad: la osificación heterotópica de la FOP empieza en la niñez y puede ser inducida por las lesiones de parte blandas. La *PMO4*, que es expresada por los linfocitos lesionales y por el músculo esquelético, está aumentada en las zonas de lesión de las partes blandas. En condiciones normales, la *PMO4* regula la expresión de sus antagonistas. Una respuesta de los antagonistas de *PMO4* tras un trauma de partes blandas permitiría la rápida expansión de un gradiente morfogenético de *PMO4*, que conduciría a una osteogénesis progresiva mediante la vía endocondral. El crecimiento de tejido fibroproliferativo preóseo muy vascularizado que se observa localmente como respuesta a la hiperexpresión de PMO aumentará cuando tiene lugar la res-

puesta de los antagonistas de *PMO4*, lo que explicaría la inducción ósea que se observa durante las crisis de FOP. Los linfocitos que llegan al lugar de la lesión de partes blandas exacerbaban el problema. Además, intensifican el proceso inflamatorio en el borde conductor de una lesión que está rápidamente en expansión. Con el paso del tiempo, una gran masa fibroproliferativa vascular sustituye al músculo esquelético y madura mediante un proceso endocondral en forma de cintas extrarticulares muy limitantes de la movilidad. También en láminas y placas de hueso, que anquilosan las articulaciones y hacen casi imposible el movimiento del paciente. Aunque la citada hipótesis es factible, hace falta mucho más trabajo de investigación para saber cuál es la mutación genética primaria y aclarar cuál es la vía reguladora de la *PMO4*.

Heteroplasia ósea progresiva (HOP)

La HOP es una enfermedad autosómica dominante distinta de la osteogénesis, que se descubrió como consecuencia de las investigaciones sobre la FOP.⁸ La HOP se caracteriza por una osificación dérmica y por una calcificación heterotópica progresiva de los tejidos subcutáneo y conectivo profundos durante la infancia (fig. 3). La enfermedad se distingue de la FOP por la falta de malformaciones esqueléticas congénitas, por la ausencia de patrones regionales de osificación heterotópica, por el predominio de la osificación intramembranosa sobre la endocondral y por la presencia de osificaciones heterotópicas en la piel y grasa subcutánea, hallazgos que nunca se ven en la FOP¹⁸ (tabla 3).

El primer signo de la HOP es la aparición de placas cutáneas de osificación intramembranosa durante la infancia. Las placas finalmente se unen y progresan hasta afectar a los tejidos conectivos más profundos, que finalmente acaban produciendo una anquilosis de las articulaciones afectas y un retardo focal del crecimiento de las extremidades implicadas (fig. 4). De forma similar a los pacientes con FOP, los



Figura 3. Hipoplasia osificante progresiva. Visión posterior de las extremidades inferiores de una niña de 5 años. Nótense las intensas lesiones maculopapulares que corresponden a una extensa osificación dérmica y subcutánea del muslo, pierna, pie y talón izquierdos. La parte anterior del miembro inferior izquierdo y las regiones proximales de ambas extremidades superiores están también afectadas en una intensidad similar. El miembro inferior derecho está menos afectado. (Reproducido con autorización de Shore EM, Ahn J, Jan de Beur S, y cols.: Paternally inherited inactivating mutations of the *GNAS1* gene in progressive osseous heteroplasia. *New Engl J Med* 2002;346:99-106.)

que padecen HOP tienen una inteligencia y un desarrollo normales, y no tienen anomalías bioquímicas o endocrinas de interés. El pronóstico a largo plazo de los pacientes con HOP es incierto, puesto que pocos viven más allá de la vida adulta joven. Actualmente, no existe tratamiento preventivo para los niños con HOP⁸ (tabla 3).

Algunas publicaciones referentes a calcificaciones heterotópicas leves de la osteodistrofia hereditaria de Albright (OHA) y un estudio reciente de dos pacientes con OHA (que presentaban calcificaciones heterotópicas anormalmente intensas) sugieren que la base genética de la HOP y la OHA es la misma.^{22,23} La OHA es una enfermedad compleja caracterizada por anomalías morfológicas durante el desarrollo, que se asocia frecuentemente con una resistencia hormonal múltiple. Está causada por mutaciones inactivantes heterocigóticas en el gen *GNAS1*, que produce una disminución de la expresión de la subunidad alfa de la proteína estimuladora G ($G\alpha$) de la adenil ciclasa.

La hipótesis de que mutaciones de la *GNAS1* causan la HOP se ha estu-

diado mediante la exploración de las secuencias del ADN de los exones de la *GNAS1* y de los límites exón-intrón de 18 casos esporádicos o familiares.²⁴ En 13 de los 18 casos de HOP se encontraron mutaciones inactivadoras heterocigóticas de *GNAS1*. El alelo defectuoso de la HOP sólo es heredado de los progenitores. Este patrón hereditario coincide con un modelo de impronta específico de cada tejido, que es un proceso mediante el cual uno de los dos alelos de los progenitores (en este caso el alelo materno de la *GNAS1*) es inactivado en las células adecuadas de los tejidos diana. Sólo en una familia se constató una evidencia directa de que la misma mutación podría producir la HOP o la OHA, y de que el fenotipo se relaciona con el origen del alelo mutante de los progenitores²⁴ (tabla 4).

Las mutaciones de *GNAS1* inactivadas hereditariamente de los progenitores causan la HOP, y este hallazgo unas implicaciones inmediatas. En primer lugar, amplía el rango de los fenotipos derivados de la haploinsuficiencia de *GNAS1*, apoya a la impronta como mecanismo regula-



A



B

Figura 4. **A**, Radiografía lateral de la pierna izquierda de una niña de 11 años afecta de HOP que muestra intensas calcificaciones heterotópicas de partes blandas. Todo el lado derecho del cuerpo (mandíbula, tronco, abdomen y pelvis) está gravemente afectado, con anquilosis del esqueleto axial y apendicular. La afectación fue menos intensa en zonas dispersas del lado izquierdo del cuerpo. **B**, Imagen de tomografía axial computarizada no aumentada de los muslos de un niño de 10 años con HOP. El muslo derecho es normal. Las partes blandas del muslo izquierdo están atroficas, y hay una extensa osificación de la piel, grasa subcutánea y músculos cuádriceps, que se extiende hasta la cortical anterior del fémur. El niño presentaba una osificación heterotópica de intensidad similar que afectaba a la cresta ilíaca izquierda y al músculo psoas, así como a toda la extremidad inferior izquierda, con anquilosis ósea de la cadera y rodilla de ese lado. Los dos tendones de Aquiles y las partes blandas de ambos talones también mostraban extensas osificaciones ectópicas. El miembro inferior izquierdo era 4 cm más corto que el derecho. (Reproducido con autorización de Shore EM, Ahn J, Jan de Beur S, y cols.: Paternally inherited inactivating mutations of the *GNAS1* gene in progressive osseous heteroplasia. *New Engl J Med* 2002;346:99-106.)

Tabla 4
Patología celular y molecular de los gradientes morfogénéticos en los trastornos de la osificación heterotópica

Trastorno	Fibrodisplasia osificante progresiva	Heteroplasia ósea progresiva	Osificación heterotópica postraumática	Osificación heterotópica relacionada con el SNC
Defecto primario	D	Heredado de los progenitores por mutaciones inactivadoras del GNAS1	D	D
Acontecimiento(s) que lo precipitan	Traumatismo, inmunizaciones, virus	D	Intenso traumatismo muscular con hematoma	Lesión del SNC
Morfógeno(s)	Aumento de <i>PMO4</i>	D	D	D
Antagonista(s) de los morfógenos	Disminución de <i>noggin</i> y <i>gremlin</i>	D	D	D
Receptores	D	D	D	D
Proteínas acopladas a los receptores	D	<i>Csα</i>	D	D
Tejido(s) diana(s)	Músculo, tendón, ligamento, fascia	Piel, grasa subcutánea, músculo esquelético	D	D
Célula(s) diana(s)	D	D; probablemente precursores pluripotenciales de los adipocitos-osteoblastos		
Factores conductores	D	D	D	D

SNC = sistema nervioso central; D = desconocido.

de la expresión de GNAS1 y sugieren que la *Gsα* es un regulador negativo fundamental de la acción osteogénica de los tejidos conectivos no óseos, fundamentalmente la piel, la grasa y el músculo esquelético.²⁴

Durante los últimos 5 años se ha aprendido mucho sobre la biología celular y molecular básicas de la FOP y la HOP, aunque sigue habiendo algunas preguntas clave que todavía no tienen respuesta (tabla 4). ¿Cuál es el gen causante de la FOP? ¿Cuál es la vía de señalización fundamental de la HOP? ¿Cuáles son las células osteoprogenitoras responsables de los tejidos de respuesta de ambas enfermedades? Las respuestas a estas y similares preguntas permitirán un mejor entendimiento de la fisiopatología de las calcificaciones heterotópicas en el ser humano. Esto probablemente conducirá a una visión más racional referente al tratamiento de las enfermedades genéticas, así como

de las formas más frecuentes de osificaciones heterotópicas adquiridas.

Prevención y tratamiento de las calcificaciones heterotópicas

La prevención y tratamiento de las calcificaciones heterotópicas se basan en tres principios básicos: la interrupción de importantes vías señalizadoras inductivas, la alteración de células osteoprogenitoras fundamentales en el tejido o tejidos diana y la modificación del entorno conductor de la osteogénesis heterotópica. Para la mayoría de las formas de calcificaciones heterotópicas, tanto adquiridas como del desarrollo, la identidad de dichas dianas es desconocida (tabla 4). No obstante, observaciones importantes y ensayos clínicos controlados han conducido a unas modalidades de prevención y trata-

miento prometedoras. Algunas de dichas modalidades se aplican hoy en día, mientras que otras están todavía en diversos estadios de investigación preclínica y clínica.

Interrupción de las vías señalizadoras inductivas

Las prostaglandinas inflamatorias son moléculas coestimuladoras potentes que actúan junto a las PMO en la inducción de hueso heterotópico.²⁵ La disminución de los niveles de prostaglandinas en los tejidos de animales experimentales aumenta el umbral de las calcificaciones heterotópicas, haciendo que la formación de dichas calcificaciones sea más difícil.²⁶ Tras la inyección intramuscular de matriz ósea desmineralizada con PMO, los animales pretratados con inhibidores de las prostaglandinas (indometacina) forman menos hueso heterotópico que los animales del grupo control.

Diversos ensayos aleatorizados recientes, referentes a sustancias antiinflamatorias no esteroideas (AINE) para la prevención de la formación de hueso heterotópico tras cirugía mayor de cadera, apoyan la idea de que los AINE son útiles en este tipo de pacientes. Sin embargo, el régimen de tratamiento, las dosis y la duración de dicha profilaxis varían mucho de un estudio a otro.²⁷

Dos estudios recientes indican el papel fundamental de la ciclooxigenasa 2 (COX-2) en la regeneración inflamatoria ósea de la consolidación de fracturas y, por tanto, aumentan la posibilidad de que los inhibidores de la COX-2 puedan tener utilidad clínica en las calcificaciones heterotópicas.^{28,29} No obstante, está claro que las PMO pueden actuar tras la COX-2 y cortocircuitar la inhibición de la consolidación de las fracturas de los inhibidores de la COX-2.²⁹

La prevención y tratamiento eficaces de las calcificaciones heterotópicas tras lesiones de la médula espinal o tras traumatismos craneoencefálicos cerrados han resultado problemáticas, aunque la combinación de sustancias antiinflamatorias (para interrumpir la señal inductora), con radiación preoperatoria (para interrumpir las células de respuesta) y etidronato postoperatorio (para interrumpir el entorno conductor) puede ser beneficiosa. En general, la excisión quirúrgica del hueso heterotópico sólo se ha realizado en pacientes con síntomas avanzados de anquilosis, y normalmente se retrasa hasta la maduración del hueso heterotópico. Esto se ha observado en estudios radiográficos y con sustancias radioactivas.² Sin embargo, los estudios más recientes han descrito buenos resultados tras la excisión precoz del hueso heterotópico seguida de radioterapia, sobre todo en el codo.³⁰

La terapia génica con antagonistas de las PMO es un tratamiento prometedor según se desprende del conocimiento actual de dicha enfermedad. Teniendo en cuenta que la hiperexpresión de la *PMO4* y que la hipopresión de múltiples antagonistas de las PMO tienen importantes implicaciones en la patogenia de la FOP, los investigadores han intentado utilizar

los conocimientos obtenidos de dichas relaciones. Glaser y cols.³¹ han desarrollado un modelo de ratón para osteogénesis heterotópica inducida mediante inyecciones de membrana basal de la matriz (un material osteoconductor) impregnado de *PMO4* (un morfógeno osteoinductor). La mitad de los animales fueron pretratados con una dosis de partículas de adenovirus que contenían el gen *noggin* humano modificado (*noggin* es una proteína segregada que une múltiples PMO y evita que se unan a receptores transmembranosos). La mitad de los animales fueron pretratados sólo con vector de adenovirus. A los 7 y 14 días de la inyección se extrajeron los implantes, y se utilizaron técnicas histológicas estándar para valorar los estadios de la formación ósea.

En los animales de control, los implantes que contenían *PMO4* indujeron una lesión fibroproliferativa agresiva con condrogénesis a los 7 días y osteogénesis heterotópica a los 14 días. Sin embargo, en los animales tratados con adenovirus que contenían *noggin*, los implantes que tenían *PMO4* sólo mostraron una delgada pseudocápsula a los 14 días, imposible de distinguir de los implantes que no contenían PMO. Así pues, la liberación de proteína *noggin* mediante terapia génica previene las osificaciones heterotópicas inducidas por la *PMO4* en el modelo de ratón. El estudio prueba que un antagonista morfógeno segregado puede ser producido *in vivo* y actuar de forma sistémica para prevenir la osificación heterotópica mediada por la *PMO4*. Antes de que la terapia génica *noggin* pueda utilizarse para el tratamiento de pacientes con FOP, hay que salvar muchos obstáculos, entre ellos el desarrollo de vectores víricos seguros y eficaces y el uso de promotores inducibles que regulen la actividad de los genes.

Alteración de la población de células progenitoras en el tejido diana

Diversos estudios sugieren que la radiación preoperatoria previene de forma eficaz las calcificaciones heterotópicas tras prótesis totales de ca-

dera, eliminando las molestias y la morbilidad de los tratamientos postoperatorios convencionales.^{32,33} Es más, la eficacia de la radiación preoperatoria sugiere que las células madre mesenquimales o las células precursoras osteogénicas que están activas en este proceso provienen, al menos en parte, de los tejidos locales del campo quirúrgico.

Los avances recientes de investigación básica y clínica sugieren que las células madre pueden ser la clave de la curación de la FOP.¹¹⁻¹³ Se han encontrado células hematopoyéticas en las biopsias de lesiones, y recientemente se ha publicado que las células madre dan lugar a múltiples tejidos mesenquimales, entre ellos músculo y el hueso.^{9,10} Teniendo en cuenta dichos avances, parece lógico que nos preguntemos si los pacientes con FOP deberían ser tratados mediante trasplante de células madre de la médula ósea o de sangre de cordón umbilical para lograr la sustitución del conjunto de células madres hematopoyéticas. Para responder a dicha pregunta es necesario considerar la forma en que el trasplante de células madre puede curar la FOP, así como el modo en que puede fracasar y los riesgos clínicos que deben aceptar los pacientes.³⁴

Modificación del entorno conductor de las calcificaciones heterotópicas

La modificación del entorno que conduce a las calcificaciones heterotópicas puede ayudar a prevenir la formación de hueso en zonas anómalas. Para la formación y desarrollo del esqueleto, para la consolidación correcta de las fracturas y para la formación de hueso heterotópico, la angiogénesis es fundamental.³⁵ La angiogénesis, que es un hallazgo anatomopatológico importante de las lesiones preóseas de la FOP, puede llegar a ser un posible objetivo terapéutico. El objetivo de la terapia antiangiogénica en las calcificaciones heterotópicas es inhibir la formación de nuevos vasos sanguíneos, para inhibir o hacer más lenta la posterior producción de hueso heterotópico.

El etidronato sódico se ha utilizado empíricamente porque inhibe la mi-

neralización de la matriz ósea y puede afectar a la osificación a altas dosis. Sin embargo, cuando se utiliza a dosis elevadas durante largos períodos de tiempo, el etidronato sódico produce osteomalacia y puede afectar a la osificación del hueso normal. Por lo tanto, su utilidad clínica es limitada.²

La causa subyacente de las calcificaciones heterotópicas puede ser lo más importante a la hora de pensar en el tratamiento quirúrgico. Aunque en algunos casos de osificación heterotópica de tipo postraumático o neurológico la resección quirúrgica puede ser beneficiosa, en otros es ineficaz o perjudicial, sobre todo en pacientes con trastornos genéticos de la osificación heterotópica. En la FOP, por ejemplo, la resección quirúrgica del hueso heterotópico maduro está contraindicada, puesto que la osificación inevitablemente recidivará y la cirugía puede hacer que la enfermedad progrese.⁷ En la HOP, la extirpación quirúrgica del hueso heterotópico maduro no está contraindicada. Sin embargo, es muy difícil y puede ser técnicamente imposible, por el hecho de que el hueso heterotópico se encuentra disperso en los fascículos musculares.⁸

La prevención de las lesiones de partes blandas, del daño muscular y de las caídas sigue siendo la pieza fundamental para el tratamiento de

la FOP. Hay que evitar las inyecciones intramusculares, y se debe tener sumo cuidado con los trabajos dentales. Un traumatismo mínimo de partes blandas durante un cuidado dental rutinario puede provocar una anquilosis mandibular permanente. Las caídas de los pacientes que sufren de FOP pueden producir lesiones graves y episodios de empeoramiento.⁷ Las mencionadas recomendaciones demuestran que incluso en la era de los mecanismos moleculares de las enfermedades, ciertas medidas sencillas pueden servir para prevenir daños catastróficos.

Resumen

Las diversas formas en que se están investigando las calcificaciones heterotópicas deben continuar, hasta que finalmente podamos identificar las vías inductoras, las células diana receptoras y los entornos conductores capaces de producir dichas calcificaciones. Dos enfermedades genéticas raras, la FOP y la HOP, han proporcionado datos importantes para que entendamos algunas vías moleculares y genéticas implicadas en las calcificaciones heterotópicas del ser humano. Es probable que algunas formas familiares de calcificaciones heterotópicas compartan muchas de las mencionadas vías.

Una mejor comprensión de las calcificaciones heterotópicas podrá tener implicaciones terapéuticas para los pacientes con artrodesis de columna y artrodesis de articulaciones periféricas, así como para el tratamiento de fracturas, para la cirugía de reconstrucción de miembros y para el tratamiento de malformaciones congénitas. La investigación básica referente al tratamiento y prevención de las calcificaciones heterotópicas tal vez conduzca a avances terapéuticos de ingeniería tisular que puedan ayudar a las personas incapaces de fabricar suficientes cantidades de hueso. Por último, el estudio de enfermedades raras relacionadas con las calcificaciones heterotópicas podrá ayudarnos a entender mejor las vías normales de la formación ósea.

Agradecimientos: Este trabajo fue financiado en parte con becas de investigación de la Asociación Internacional de la FOP, de la Asociación de Heteroplasia Ósea Progresiva, de la Dotación Ian Cali para la Investigación de la FOP, del Profesorado de Medicina Molecular Ortopédica Isaac y Rose Nassau, del Centro de Investigación de la FOP y Trastornos Relacionados, y del Instituto Nacional de Artritis y Enfermedades Músculo-esqueléticas y Cutáneas (2-RO1-AR-41916-04-ORTH; 1-RO1-AR-46831-01-ORTH).

Bibliografía

1. Shafritz AB, Shore EM, Gannon FH, et al: Overexpression of an osteogenic morphogen in fibrodysplasia ossificans progressiva. *N Engl J Med* 1996;335:555-561.
2. Kaplan FS, Hahn GV, Zasloff MA: Heterotopic ossification: Two rare forms and what they can teach us. *J Am Acad Orthop Surg* 1994;2:288-296.
3. Mohler ER III, Gannon F, Reynolds C, Zimmerman R, Keane MG, Kaplan FS: Bone formation and inflammation in cardiac valves. *Circulation* 2001;103:1522-1528.
4. Ahrengart L: Periarticular heterotopic ossification after total hip arthroplasty: Risk factors and consequences. *Clin Orthop* 1991;263:49-58.
5. Tanaka T, Ikari K, Furushima K, et al: Genomewide linkage and linkage disequilibrium analyses identify COL6A1, on chromosome 21, as the locus for ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine. *Am J Hum Genet* 2003;73:812-822.
6. Einhorn TA, Lee CA: Bone regeneration: New findings and potential clinical applications. *J Am Acad Orthop Surg* 2001; 9:157-165.
7. Kaplan FS, Shore EM, Connor JM: Fibrodysplasia ossificans progressiva, in Royce PM, Steinmann B (eds): *Connective Tissue and its Heritable Disorders: Molecular, Genetic, and Medical Aspects*, ed 2. New York, NY: Wiley-Liss, 2002, pp 827-840.
8. Kaplan FS, Shore EM: Progressive osseous heteroplasia. *J Bone Miner Res* 2000;15:2084-2094.
9. Gannon FH, Valentine BA, Shore EM, Zasloff MA, Kaplan FS: Acute lymphocytic infiltration in an extremely early lesion of fibrodysplasia ossificans progressiva. *Clin Orthop* 1998;346:19-25.
10. Gannon FH, Glaser D, Caron R, Thompson LD, Shore EM, Kaplan FS: Mast cell involvement in fibrodysplasia ossificans progressiva. *Hum Pathol* 2001;32:842-848.
11. Bianco P, Robey PG: Stem cells in tissue engineering. *Nature* 2001;414:118-121.
12. Bosch P, Musgrave DS, Lee JY, et al: Osteoprogenitor cells within skeletal muscle. *J Orthop Res* 2000;18:933-944.
13. Nilsson SK, Dooner MS, Weier HU, et al: Cells capable of bone production engraft from whole bone marrow transplants in nonablated mice. *J Exp Med* 1999;189:729-734.
14. Glaser DL, Ramachandran R, Jiao X, et al: Abstract: The heritage of cells within postnatal tendon and bone formation. *J Bone Miner Res* 2003;18(suppl 2):S38-S39.
15. Roush W: Protein builds second skeleton. *Science* 1996;273:1170.
16. Feldman G, Li M, Martin S, et al: Fibrodysplasia ossificans progressiva, a heritable disorder of severe heterotopic ossi-

- fication, maps to human chromosome 4q 27-31. *Am J Hum Genet* 2000;66:128-135.
17. Brunet LJ, McMahon JA, McMahon AP, Harland RM: Noggin, cartilage morphogenesis, and joint formation in the mammalian skeleton. *Science* 1998;280:1455-1457.
 18. Perrimon N, McMahon AP: Negative feedback mechanisms and their roles during pattern formation. *Cell* 1999;97:13-16.
 19. Gaggero E, Gangji V, Canalis E: Bone morphogenetic proteins induce the expression of noggin, which limits their activity in cultured rat osteoblasts. *J Clin Invest* 1998;102:2106-2114.
 20. Ahn J, Serrano de la Pena L, Shore EM, Kaplan FS: Paresis of a bone morphogenetic protein-antagonist response in a genetic disorder of heterotopic skeletogenesis. *J Bone Joint Surg Am* 2003;85:667-674.
 21. Xu M-Q, Feldman G, Le Merrer M, et al: Linkage exclusion and mutational analysis of the noggin gene in patients with fibrodysplasia ossificans progressiva (FOP). *Clin Genet* 2000;58:291-298.
 22. Eddy MC, Jan De Beur SM, Yandow SM, et al: Deficiency of the alpha-subunit of the stimulatory G protein and severe extraskeletal ossification. *J Bone Miner Res* 2000;15:2074-2083.
 23. Yeh GL, Mathur S, Wivel A, et al: GNAS1 mutation and Cbfa1 misexpression in a child with severe congenital platelike osteoma cutis. *J Bone Miner Res* 2000;15:2063-2073.
 24. Shore EM, Ahn J, Jan de Beur S, et al: Paternally inherited inactivating mutations of the GNAS1 gene in progressive osseous heteroplasia. *N Engl J Med* 2002;346:99-106.
 25. Ono I, Inoue M, Kuboki Y: Promotion of the osteogenic activity of recombinant human bone morphogenetic protein by prostaglandin E1. *Bone* 1996;19:581-588.
 26. DiCesare PE, Nimni ME, Peng L, Yazdi M, Cheung DT: Effects of indomethacin on demineralized bone-induced heterotopic ossification in the rat. *J Orthop Res* 1991;9:855-861.
 27. Neal BC, Rodgers A, Clark T, et al: A systematic survey of 13 randomized trials of non-steroidal anti-inflammatory drugs for the prevention of heterotopic bone formation after major hip surgery. *Acta Orthop Scand* 2000;71:122-128.
 28. Simon AM, Manigrasso MB, O'Connor JP: Cyclo-oxygenase 2 function is essential for bone fracture healing. *J Bone Miner Res* 2002;17:963-976.
 29. Zhang X, Schwarz EM, Young DA, Puzas JE, Rosier RN, O'Keefe RJ: Cyclooxygenase-2 regulates mesenchymal cell differentiation into the osteoblast lineage and is critically involved in bone repair. *J Clin Invest* 2002;109:1405-1415.
 30. McAuliffe JA, Wolfson AH: Early excision of heterotopic ossification about the elbow followed by radiation therapy. *J Bone Joint Surg Am* 1997;79:749-755.
 31. Glaser DL, Economides AN, Wang L, et al: In vivo somatic cell gene transfer of an engineered Noggin mutein prevents BMP4-induced heterotopic ossification. *J Bone Joint Surg Am* 2003;85:2332-2342.
 32. Burd TA, Lowry KJ, Anglen JO: Indomethacin compared with localized irradiation for the prevention of heterotopic ossification following surgical treatment of acetabular fractures. *J Bone Joint Surg Am* 2001;83:1783-1788.
 33. D'Lima DD, Venn-Watson EJ, Tripuraneni P, Colwell CW: Indomethacin versus radiation therapy for heterotopic ossification after hip arthroplasty. *Orthopedics* 2001;24:1139-1143.
 34. Emerson SG, Kaplan FS: Answer: Marrow stem cell transplantation in fibrodysplasia ossificans progressiva. *Clin Orthop* 2001;392:451-455.
 35. Yin M, Gentili C, Koyama E, Zasloff M, Pacifici M: Antiangiogenic treatment delays chondrocyte maturation and bone formation during limb skeletogenesis. *J Bone Miner Res* 2002;17:56-65.