

Ossificação heterotópica em pacientes com lesão medular traumática: associação com antígenos do sistema HLA

Heterotopic ossification in patients with traumatic medullar injury: association with HLA-system antigens

ANITA WEIGAND DE CASTRO¹, JÚLIA MARIA D'ANDRÉA GREVE²

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi identificar a prevalência dos antígenos leucocitários humanos (HLA) de classe I e II nos pacientes com lesão medular traumática e sua relação com a ossificação heterotópica (OH). Foram estudados 54 pacientes (47 homens e 7 mulheres), idade de $33,5 \pm 12,5$ anos (18 a 59 anos), com lesão medular traumática. Quarenta e quatro pacientes (81,5%) apresentavam lesão medular completa e 10 pacientes tinham lesão incompleta; 23 pacientes (42,6%) eram tetraplégicos e 31 (57,4%) eram paraplégicos, sendo 28 com lesão torácica e 3 com lesão lombar. Para o diagnóstico de OH, os pacientes realizaram exames de imagem: cintilografia óssea, radiografias simples dos quadris e joelhos nos paraplégicos e também dos ombros nos tetraplégicos e tomografia computadorizada, quando os outros exames foram inconclusivos. Os pacientes foram divididos em dois grupos: 28 pacientes com OH (52%) e 26 sem OH (48%). Foi feita a tipificação dos antígenos HLA das classes I e II de todos os pacientes. Os resultados da distribuição da frequência dos antígenos HLA nos dois grupos foram avaliados e não mostraram diferença com significância estatística. Concluiu-se que não existe associação entre os antígenos HLA classes I e II e o desenvolvimento da ossificação heterotópica.

Descritores: Traumatismos da medula espinhal; Ossificação heterotópica; Antígenos HLA; Quadriplegia; Paraplegia.

SUMMARY

The purpose of this study was to identify the prevalence of the human leukocyte antigen (HLA) class I and II on the spinal cord injury (SCI) patients and its relation with heterotopic ossification (HO). Fifty-four patients were studied (47 men and 7 women) with an average age of $33,5 \pm 12,5$ years (range 18 to 59 years) with SCI. Forty-four patients (81,5%) had complete and 10 had incomplete lesions. Twenty-three patients (42,6%) were tetraplegics, 31 (57,4%) were paraplegics, 28 had thoracic injury and 3 had lumbar lesion. The tests used in the diagnosis of HO were bone scintigraphy, anteroposterior radiography of hip and knee in the paraplegics and also the shoulders in the tetraplegics. Computerized tomography was used when the others tests were unconcluded. The patients were divided in two groups: 28 patients with HO (52%) and 26 without HO (48%). The typing of HLA antigens class I and II was done in all patients. The results of the distribution of frequency of HLA antigens were assessed on both groups and it was not shown any difference with statistic significance. It was conclude that there was no association between HLA antigens class I and II with the OH development.

Key words: Spinal cord injuries; Ossification; Heterotopic; HLA antigens; Quadriplegia; Paraplegia.

Trabalho realizado no Instituto de Ortopedia e Traumatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

1- Médica Fisiatra
2- Professora Livre Docente

Endereço para correspondência: Rua Ovídio Pires de Campos, 333 - Cerqueira César São Paulo SP - E-mail: anitacastro@uol.com.br

Trabalho recebido em 24/01/2003. Aprovado em 20/03/2003

Work performed at Instituto de Ortopedia e Traumatologia of Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo - IOT HC - FMUSP.

1- Physiatrist
2- Associate Professor

Address: Rua Ovídio Pires de Campos, 333 - Cerqueira César São Paulo SP
E-mail: anitacastro@uol.com.br

INTRODUÇÃO

A ossificação heterotópica (OH) é um processo biológico metaplásico, no qual há neoformação de osso em tecidos moles adjacentes às grandes articulações, locais onde, normalmente, o tecido ósseo não é encontrado. É frequente não só em pacientes com lesão da medula espinhal, mas também nos que sofreram trauma crânio-encefálico (TCE), queimaduras graves ou que foram submetidos a intervenções cirúrgicas, como por exemplo, artroplastia total de quadril (ATQ).

A OH é uma das complicações mais temidas da lesão da medula espinhal, podendo ter evolução assintomática e surpreender tanto o paciente como a equipe de saúde.

Sua incidência, nos pacientes com lesão medular varia de 13 a 81%, dependendo do método diagnóstico utilizado^(2,14). Somente 10 a 20% destes pacientes apresentam manifestações clínicas. A evolução para anquilose ocorre em 5 a 10% dos casos, dificultando o posicionamento, a mobilização e a realização dos autocuidados, interferindo na independência funcional e atividade profissional⁽⁶⁾.

O início do processo de ossificação pode ser precoce, sendo diagnosticado já nas primeiras semanas após o trauma⁽¹⁰⁾. Geralmente ocorre do primeiro ao quarto mês (em média), sendo mais frequente no segundo mês pós-lesão, podendo desenvolver-se até um ano após o evento.

As manifestações clínicas iniciais são rigidez e limitação da articulação acometida, aumento da temperatura local, edema, hiperemia e, eventualmente, sintomas sistêmicos, como aumento da espasticidade e febre baixa. As articulações mais acometidas na OH pós-lesão medular são os quadris, seguidos pelos joelhos e ombros e raramente, os cotovelos^(2,6,18).

A etiologia da OH ainda é desconhecida. Há várias teorias que defendem a origem traumática, isquêmica, metabólica e genética. Estudos mostram que, quando células mesenquimais localizadas tanto na medula óssea como adjacentes ao periósteo e endósteo, são ativadas por um estímulo específico, diferenciam-se dando origem aos osteoblastos. Estes passam a produzir e secretar a matriz orgânica extracelular ou osteóide, que depois sofre mineralização com a formação de cristais de hidroxiapatita, caracterizando o tecido ósseo^(11,13).

O sistema antígeno leucocitário humano (HLA) denominação na espécie humana do complexo principal de histocompatibilidade (CPH ou MHC - "major histocompatibility complex") corresponde a uma região de genes localizados no braço curto do cromossomo 6. Os produtos destes genes são moléculas protéicas que estão presentes na superfície de várias células nucleadas, incluindo os leucócitos. O segmento cromossômico correspondente ao MHC é subdividido em regiões responsáveis pelos genes das classes I, II e III⁽¹⁾. Além dos genes das classes I e II, o MHC codifica também proteínas do sistema complemento e o TNF (fator de necrose tumoral), dentre outras. As proteínas da classe I são codificadas pelos genes A,B,C,E,F,G,H,J,K e L. Os antígenos da classe I são glicoprote-

INTRODUCTION

Heterotopic ossification (HO) is a metaplastic biological process with bone neoformation in soft tissues adjacent to large articulations where normally the bone tissue is not found. HO is frequent not only in patients with spinal cord injury, but also in patients that suffered cranioencephalic trauma (CET), or had severe burns or were submitted to surgical interventions such as total hip arthroplasty (THA), for instance.

HO is one of the most feared complications of spinal cord injury, since its course may be asymptomatic and surprise both the patient and the healthcare team.

In patients with medullar injury its incidence ranges from 13 to 81%, depending on the diagnostic method employed^(2,14). Only 10 to 20% of these patients present clinical manifestations. The evolution to ankylosis occurs in 5 to 10% of the cases, making it difficult for patients to change position and move by themselves, as well as to perform ordinary tasks, and interfering in the functional independence and professional activity⁽⁶⁾.

The ossification process may start early and be diagnosed already during the first weeks following the trauma⁽¹⁰⁾. Usually it will occur between the first and fourth months (on the average) after the trauma, being more frequent during the second month after the injury, although it may occur up to one year after the event.

The first clinical manifestations are rigidity and limitation of the affected articulation, rise of local temperature, edema, hyperemia and, in some cases, systemic symptoms such as higher spasticity and mild fever. In HO, the most affected articulations following medullar injury are hip articulations, followed by knee and shoulder articulations and, rarely, elbow articulations^(2,6,18).

The etiology of HO is still unknown. Several theories advocate a traumatic, ischemic, metabolic and genetic origin. Studies show that when mesenchymal cells located in the bone marrow or adjacent to the periosteum and to the endosteum, they are activated by a specific stimulus and differentiate into osteoblasts. The osteoblasts then start producing and excreting the extra-cellular organic matrix, or osteoid, that is subsequently mineralized, forming hydroxyapatite crystals that characterize the bone tissue^(11,13).

HLA, the human leukocyte antigen, is the denomination in the human species of MHC (Major Histocompatibility Complex) and corresponds to a gene region located in the short arm of chromosome 6. The products from these genes are protein molecules occurring in the surfaces of various nucleate cells, including leukocytes. The chromosome segment corresponding to MHC is subdivided into regions that are responsible for Class I, II and III genes⁽¹⁾. Besides codifying Class I and II genes, MHC also codifies proteins of the complement system and TNF (tumoral necrosis factor), among others. Class I proteins are codified by genes A, B, C, E, F, G, H, J, K and L. Class I antigens are membrane glycoproteins occurring in all nucleate cells, HLA-A and HLA-B playing a major immune role, while HLA-C is less

ínas de membrana, presentes em todas as células nucleadas, sendo que o HLA-A e B tem importante papel imunológico, enquanto que o HLA-C tem menor significância^(12,16). Os antígenos da classe II também são glicoproteínas, expressas na superfície de macrófagos, monócitos, linfócitos B, células T ativadas e algumas células estimuladas pelo gama-interferon. Os produtos dos genes da classe II estão envolvidos na rejeição de enxertos. São codificados por três séries alélicas: DR, DQ e DP. A série HLA-DP não é detectada sorologicamente⁽¹⁶⁾.

A maioria das pesquisas, envolvendo o sistema HLA (antígeno leucocitário humano), foi feita há duas ou três décadas, sendo estudados apenas os antígenos HLA de classe I, com resultados controversos. Enquanto alguns destes estudos não mostraram diferença estatisticamente significativa na associação dos antígenos HLA-A e HLA-B com OH em pacientes com lesão medular ou TCE^(5,7,15,17), outro encontrou maior prevalência dos antígenos HLA-B18 nos pacientes com lesão neurológica e OH, porém sem significância estatística⁽⁹⁾. Baseado na associação do HLA-B27 com artropatias soronegativas, um autor encontrou maior prevalência deste antígeno em pacientes com lesão medular e OH, concluindo a favor de sua influência na formação de tecido ósseo⁽⁸⁾.

Considerando-se os avanços da pesquisa do sistema HLA, o objetivo deste estudo foi identificar a prevalência dos antígenos HLA das classes I e II e sua associação com a OH nos pacientes com lesão medular traumática.

CASUÍSTICA E MÉTODOS

Foram estudados 54 pacientes portadores de lesão medular traumática, sendo 47 homens (87%) e 7 mulheres (13%), com média de idade de 33,5 anos \pm 12,5 (18 a 59 anos). A causa predominante da lesão medular foi queda (38,9%), seguida por acidentes de trânsito (27,8%), ferimentos por projétil de arma de fogo (22,2%), mergulhos (7,4%) e queda de objeto sobre a coluna (3,7%). Nível de lesão cervical foi constatado em 23 pacientes, torácica em 28 e lombar em 3 pacientes; 42,6% dos pacientes eram tetraplégicos e 57,4% paraplégicos; quarenta e quatro pacientes (81,5%) apresentavam lesão medular completa e 10 pacientes (18,5%) tinham lesão incompleta.

Todos os pacientes foram submetidos à avaliação diagnóstica para OH e tipificação dos antígenos do sistema HLA. Para o diagnóstico de OH foram realizados os seguintes exames (Figura 1):

1. Radiografias simples dos quadris e joelhos nos paraplégicos, acrescidos dos ombros nos tetraplégicos, com os pacientes em decúbito dorsal horizontal, posição neutra.

2. Cintilografia óssea, utilizando metilenodisfosfonato marcado com tecnécio (99m Tc-MDP), com os pacientes em decúbito dorsal horizontal, projeção anterior e posterior de corpo inteiro. Foram consideradas as imagens de captação obtidas na 3ª fase do exame.

significant^(12,16). Class II antigens are also glycoproteins expressed on the surfaces of macrophages, monocytes, lymphocytes, B-cells, activated T-cells and some gamma-interferon-stimulated cells. Class II antigen products are involved in graft rejection and codified by three allelic series: DR, DQ and DP. The HLA-DP series is not serologically detected⁽¹⁶⁾.

Most studies involving the HLA system were performed 20 or 30 years ago, when only Class I HLA antigens were investigated, with controversial results. While some of these studies showed no statistically significant differences in the association of HLA-A and HLA-B antigens with HO in patients with medullary injury or cranio-encephalic trauma (CET)^(5,7,15,17), one of them has found higher prevalence of HLA-B18 antigens in patients with neurological injury and HO, although with no statistical significance⁽⁹⁾. Based on the association of HLA-B27 with seronegative arthropathies, one author found higher prevalence of this antigen in patients with medullary injury and HO, having reached the conclusion that it would influence the formation of bone tissue⁽⁸⁾.

Considering the advancements in the research of the HLA system, the purpose of this study was to identify the prevalence of Class I and II HLA antigens and their association with HO in patients with traumatic medullary injury.

CASES AND METHODS

This study included 54 patients [47 men (87%) and 7 women (13%)] with traumatic medullary injury, mean age of 33.5 \pm 12.5 years (age group from 18 to 59 years). The prevailing cause of medullary injury was fall (38.9%), followed by traffic accidents (27.8%), wounds caused by guns (22.2%), diving (7.4%), and objects falling on the vertebral column (3.7%). Cervical injury levels were found in 23 patients; thoracic injury levels in 28 and lumbar injury levels in 3 patients; 42.6% of the patients were quadriplegic and 57.4% were paraplegic; 44 patients (81.5%) presented complete medullary injury and 10 (18.5%) had incomplete medullary injury.

All patients were submitted to diagnostic evaluation of HO and typing of antigens in the HLA system. For HO diagnosis the following examinations were performed (Figure 1):

1. *Hip and knee standard X-rays in the paraplegic, plus shoulder X-ray in the quadriplegic, with patients in horizontal dorsal decubitus, neutral position.*

2. *Bone scintiscan using technecium 99m-labeled methylenediphosphonate (99mTc-MDP), with patients in horizontal dorsal decubitus, whole-body anterior and posterior projections. The images obtained in the 3rd phase of the examination were used.*

3. *Computerized tomography performed in four patients where the results of other imaging examinations were inconclusive. During the examinations the focus was directed to the hip region.*

3. Tomografia computadorizada, realizada em quatro pacientes, nos quais os outros exames de imagem forneceram resultados inconclusivos. Os exames foram feitos com o foco direcionado para a região dos quadris.

O critério para o diagnóstico de OH foi ter pelo menos um exame positivo. Foram considerados com diagnóstico negativo os pacientes que não apresentaram exames positivos, por no mínimo um ano após a lesão medular.

Após a avaliação diagnóstica os pacientes foram divididos em dois grupos: o primeiro, constando de 28 pacientes com OH (52%) e o segundo, de 26 pacientes, sem OH (48%).

A tipificação dos antígenos HLA de classe I dos pacientes foi realizada pelo método de microlinfocitotoxicidade mediada por complemento e os antígenos de classe II foram tipificados pelo método de reação de polimerização em cadeia com iniciadores de sequência específica (PCR-SSP).

Para a correlação da distribuição dos antígenos HLA entre os grupos com e sem OH foi usado o teste da partição do qui-quadrado (χ^2). Quando pelo menos uma das células teve frequência esperada menor que cinco, foi usado o teste de Fisher. O nível de significância para rejeição do teste de nulidade foi fixado em um valor igual ou menor que 0,05 ($\alpha \leq 5\%$).



Figura 1 - Exames imagenográficos de paciente com diagnóstico de ossificação heterotópica A: cintilografia óssea. Detalhe de hiper captação do radiofármaco nos quadris. B: tomografia computadorizada dos quadris. C: radiografia simples dos quadris.

Figure 1 - Imaging evaluations in patient with heterotopic ossification diagnosis. A: bone scan. Detail of labeled-drug hypercapture in the hips. B: hip computerized tomography. C: ordinary X-ray of hips.

The criterion used for HO diagnosis was to have at least one positive examination. Patients who did not have positive examinations for at least one year following the medullar injury were considered with negative diagnoses.

After the diagnostic evaluation, patients were divided into two groups – one including 28 patients with HO (52%) and one including 26 patients without HO (48%).

The typing of Class I HLA antigens of all patients was performed using the complement-mediated microlymphotoxicity method, while Class II HLAs antigens were typed using the polymerase chain reaction-sequence specific primer (PCR-SSP) method.

To correlate the HLA antigen distribution between groups (with and without HO) the χ^2 (chi-square) partition test was used. When at least one cell showed an expected frequency lower than 5, Fisher's exact test was used. The significance level for rejection of the null test was established as ≤ 0.05 ($\alpha \leq 5\%$).

When at least one cell showed an expected frequency lower than 5, Fisher's exact test was used. The significance level for rejection of the null test was established as ≤ 0.05 ($\alpha \leq 5\%$).

RESULTADOS

Os dados obtidos em relação à frequência dos antígenos HLA de classe I (20 antígenos HLA-A e 29 antígenos HLA-B) e dos antígenos HLA de classe II (14 antígenos HLA-DR e 7 HLA-DQ), quando comparados com os grupos com e sem OH, não mostraram diferença estatisticamente significativa (Quadros 1,2,3 e 4).

Banda específica	Ossificação heterotópica				Comparação	
	Presente		Ausente		Teste	p
	HLA A		HLA A			
	+	-	+	-		
1	3	25	2	24	Fisher	1,00
2	11	17	13	13	χ^2	0,61
3	9	19	5	21	Fisher	0,36
11	1	27	4	22	Fisher	0,18
23	5	23	3	23	Fisher	0,71
24	4	24	7	19	Fisher	0,32
25	0	28	0	26	Fisher	1,00
26	0	28	0	26	Fisher	1,00
29	4	24	2	24	Fisher	0,67
30	2	26	2	24	Fisher	1,00
31	1	27	3	23	Fisher	0,34
32	1	27	3	23	Fisher	0,34
33	2	26	2	24	Fisher	1,00
34	1	27	0	26	Fisher	1,00
66	0	28	1	25	Fisher	0,48
68	5	23	3	23	Fisher	0,71
69	0	28	0	26	Fisher	1,00
74	0	28	1	25	Fisher	0,48
80	1	27	0	26	Fisher	1,00
n.d.	6	22	2	24	Fisher	0,25

n.d. = banda não determinada

Quadro 1 - Distribuição de frequência absoluta (N) dos pacientes de acordo com a presença (+) ou ausência (-) da banda específica para a tipificação do antígeno HLA-A segundo os grupos com ossificação heterotópica ausente e presente. Comparação pelo teste de Fisher ou de Qui-quadrado ($\alpha = 0,05$).

Table 1 - Absolute frequency distribution (N) in patients according to presence (+) or absence (-) of the specific band for HLA-A antigen typing in groups with or without heterotopic ossification. Comparison using fisher's (Chi square) test ($\alpha = 0.05$).

RESULTS

Data obtained for the frequency of Class I HLA antigens (20 HLA-A antigens and 29 HLA-B antigens) and Class II HLA antigens (14 HLA-DR antigens and 7 HLA-DQ antigens) as compared to the groups with HO and without HO, showed no statistically significant differences (Tables 1, 2, 3 and 4).

Banda específica	Ossificação heterotópica				Comparação	
	Presente		Ausente		Teste	p
	HLA B		HLA B			
	+	-	+	-		
7	7	21	5	21	Fisher	0,75
8	1	27	1	25	Fisher	1,00
13	1	27	1	25	Fisher	1,00
18	2	26	2	24	Fisher	1,00
27	1	27	1	25	Fisher	1,00
35	10	18	7	19	χ^2	0,69
38	0	28	1	25	Fisher	0,48
39	1	27	2	24	Fisher	0,60
40	1	27	3	23	Fisher	0,34
41	3	25	1	25	Fisher	0,61
44	5	23	3	23	Fisher	0,71
45	3	25	3	23	Fisher	1,00
48	1	27	1	25	Fisher	1,00
50	1	27	0	26	Fisher	1,00
51	1	27	4	22	Fisher	0,18
52	2	26	0	26	Fisher	0,49
53	3	25	1	25	Fisher	0,61
55	1	27	0	26	Fisher	1,00
57	1	27	1	25	Fisher	1,00
58	2	26	0	26	Fisher	0,49
62	1	27	5	21	Fisher	0,10
63	1	27	1	25	Fisher	1,00
65	1	27	2	24	Fisher	0,60
67	1	27	0	26	Fisher	1,00
71	3	25	1	25	Fisher	0,61
72	1	27	3	23	Fisher	0,34
73	1	27	0	26	Fisher	1,00
75	0	28	1	25	Fisher	0,48
n.d.	0	28	2	24	Fisher	0,23

n.d. = banda não determinada

Quadro 2 - Distribuição de frequência absoluta (N) dos pacientes de acordo com a presença (+) ou ausência (-) da banda específica para a tipificação do antígeno HLA-B segundo os grupos com ossificação heterotópica ausente e presente. Comparação pelo teste de Fisher ou de Qui-quadrado ($\alpha = 0,05$).

Table 2 - Absolute frequency distribution (N) in patients according to presence (+) or absence (-) of the specific band for HLA-B antigen typing in groups with or without heterotopic ossification. Comparison using fisher's (Chi square) test ($\alpha = 0.05$).

DISCUSSÃO

A OH é uma complicação freqüente da lesão da medula espinhal. Apresentando desde manifestações clínicas discretas na fase inicial, pode evoluir para grave anquilose. O diagnóstico deve ser precoce assim como o início do tratamento. A incidência de OH encontrada nos nossos pacien-

Banda específica	Ossificação heterotópica				Comparação	
	Presente		Ausente		Teste	p
	HLA DR		HLA DR			
	+	-	+	-		
1	4	24	9	17	Fisher	0,11
4	7	21	6	20	χ^2	0,89
7	2	26	3	23	Fisher	0,66
8	5	23	3	23	Fisher	0,71
10	1	27	1	25	Fisher	1,00
11	9	19	6	20	χ^2	0,66
12	2	26	0	26	Fisher	0,49
13	9	19	8	18	χ^2	0,85
14	4	24	3	23	Fisher	1,00
15	7	21	3	23	Fisher	0,30
16	1	27	3	23	Fisher	0,34
17	4	24	4	22	Fisher	1,00
18	0	28	2	24	Fisher	0,23
n.d.	1	27	1	25	Fisher	1,00

n.d. = banda não determinada

Quadro 3 - Distribuição de freqüência absoluta (N) dos pacientes de acordo com a presença (+) ou ausência (-) da banda específica para a tipificação do antígeno HLA-DR segundo os grupos com ossificação heterotópica ausente e presente. Comparação pelo teste de Fisher ou de Qui-quadrado ($\alpha = 0,05$).

Table 1 - Absolute frequency distribution (N) in patients according to presence (+) or absence (-) of the specific band for HLA-DR antigen typing in groups with or without heterotopic ossification. Comparison using fisher's (Chi square) test ($\alpha = 0.05$).

DISCUSSION

HO is a frequent complication of the spinal cord injury. Presenting discrete clinical manifestations in the early phase, it may evolve to severe ankylosis. Early diagnosis should be established, and treatment should start as early as possible. The incidence of HO among our patients was of 52%, which is

Banda específica	Ossificação heterotópica				Comparação	
	Presente		Ausente		Teste	p
	HLA DQ		HLA DQ			
	+	-	+	-		
2	6	22	7	19	χ^2	0,88
4	6	22	4	22	Fisher	0,73
5	9	19	13	13	χ^2	0,29
6	13	15	7	19	χ^2	0,24
7	12	16	12	14	χ^2	0,98
8	4	24	4	22	Fisher	1,00
n.d.	5	23	3	23	Fisher	0,71

n.d. = banda não determinada

Quadro 4 - Distribuição de freqüência absoluta (N) dos pacientes de acordo com a presença (+) ou ausência (-) da banda específica para a tipificação do antígeno HLA-DQ segundo os grupos com ossificação heterotópica ausente e presente. Comparação pelo teste de Fisher ou de Qui-quadrado ($\alpha = 0,05$).

Table 1 - Absolute frequency distribution (N) in patients according to presence (+) or absence (-) of the specific band for HLA-DQ antigen typing in groups with or without heterotopic ossification. Comparison using fisher's (Chi square) test ($\alpha = 0.05$).

tes foi de 52%, dado semelhante à literatura, que mostra variação de 13% a 81%^(2,3,14). Esta grande variação dos dados sobre a incidência pode ser atribuída ao fato de que em muitos dos estudos, o diagnóstico ou identificação da OH foi feito apenas pela presença de quadro clínico sugestivo, que está presente em 10 a 20% dos pacientes com OH. A maioria dos estudos que mostrou incidências mais elevadas utilizou métodos diagnósticos mais sensíveis como a cintilografia óssea⁽⁴⁾ e forneceu incidências mais elevadas de OH, como foi realizado no nosso estudo, ou estudaram apenas pacientes com lesão completa e encontraram OH em 81% dos casos⁽¹⁴⁾.

O estudo da frequência dos antígenos HLA de classes I e II em pacientes com trauma raquimedular e sua associação com a OH justificou-se pelo fato de que nas pesquisas anteriores, quando os conhecimentos sobre o sistema HLA ainda eram limitados, não foram estudados os antígenos HLA classe II.

Para a tipificação dos antígenos HLA foram analisados da classe I, 20 antígenos HLA-A, 29 antígenos HLA-B e da classe II, 14 antígenos HLA-DR e 7 antígenos HLA-DQ. Para as análises estatísticas foi comparada a frequência individual de cada antígeno nos dois grupos, com e sem OH, uma vez que o fator em comum foi a lesão medular traumática. Não foi considerada a frequência dos antígenos HLA na população em geral. Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre os grupos com e sem OH em relação à presença dos antígenos HLA de classe I, concordando com resultados da literatura^(7,15,17). O HLA-B62 foi mais frequente no grupo sem OH (cinco pacientes) do que no grupo com OH (um paciente), porém sem relevância estatística.

Os estudos realizados por Minaire et al.⁽⁹⁾ encontraram frequência de 25,6% de HLA-B18 nos pacientes com OH, com significância estatística. Na nossa pesquisa, encontrou-se a frequência de 7,1% para o antígeno HLA-B18 no grupo com OH e 7,7% no grupo sem OH.

Larson et al.⁽⁸⁾ mostraram a frequência de 24% de HLA-B27 nos pacientes com OH e frequência 0% nos pacientes sem OH. No atual estudo, o antígeno HLA-B27 esteve presente em um paciente de cada grupo, com e sem OH, com frequências de 3,5% e 3,8% respectivamente.

Garland et al.⁽⁵⁾ encontraram o HLA-A2 em 60% dos pacientes lesados medulares com OH, mas no atual estudo, esta frequência foi de 39,2% no grupo com OH e de 50% no grupo sem OH.

Também não foi estatisticamente relevante a associação dos antígenos de classe II (HLA-DR e HLA-DQ) e OH, não havendo estudos semelhantes na literatura para comparação.

CONCLUSÃO

Concluiu-se que, nos indivíduos com lesão medular traumática não houve associação entre a OH e os antígenos HLA de classe I e II.

similar to data found in the literature, where variations range from 13% to 81%^(2,3,14). This large variation in incidence data may be attributed to the fact that in many studies the diagnosis or identification of HO was based only on the presence of a suggestive clinical picture, which is present in 10 to 20% of patients with HO. Most studies that showed higher incidences used more sensible diagnostic methods, such as bone scintiscan⁽⁴⁾, having found higher incidences of HO, as it was the case in our study; or, those studies investigated patients with complete injury only, having found HO in 81% of the cases⁽¹⁴⁾.

The rationale for the investigation of the frequency of Class I and II HLA antigens in patients with rachimedullar trauma and its association with HO was that in previous investigations, when knowledge about the HLA system was still limited, Class II HLA antigens were not investigated.

For the typing of Class I HLA antigens the following antigens were analyzed: 20 HLA-A antigens and 29 HLA-B antigens; and, for Class II, 14 HLA-DR antigens plus 7 HLA-DQ antigens. A statistical analysis compared the individual frequency of each antigen in both groups (with and without HO), since the factor in common was traumatic medullar injury. HLA antigen frequency in the general population was not considered. No statistically significant differences were found between groups (with and without HO) as regards the presence of Class I HLA antigens, in agreement with the results found in literature^(7,15,17). HLA-B62 was more frequent in the group without HO (five patients) as compared with the group with HO (one patient), although with no statistical relevance.

Studies by Minaire et al⁽⁹⁾ found a statistically significant frequency of 25.6% for HLA-B18 in patients with HO. In our investigation we found a 7.1% frequency for HLA-B18 antigen in the group with HO and 7.7% in the group without HO.

Larson et al⁽⁸⁾ found a 24% frequency of HLA-B27 in patients with HO and 0% in patients without HO. In the present study HLA-B27 antigen was present in one patient of each group (with and without HO), with frequencies of 3.5% and 3.8%, respectively.

Garland et al⁽⁵⁾ found HLA-A2s in 60% of patients with medullar injuries and HO, although in the present study this frequency was of 39.2% in the HO group and 50% in the group without HO.

Also, the association of Class II antigens (HLA-DRs and HLA-DQs) with HO was not statistically relevant, and there are no similar studies in the literature for comparison.

Our conclusion is that individuals with traumatic medullar injury no association between HO and Class I and II antigens has occurred.

CONCLUSION

Despite of the fact that in this study we have not detected a possible genetic factor favoring the occurrence of HO or

Muito embora, não se tenha detectado, neste estudo, um possível fator genético que favoreça ou proteja da ocorrência da OH, não se pode afastar a possibilidade de que estes fatores sejam determinantes para a formação de osso heterotópico quando houver uma lesão da medula espinhal, deixando um campo aberto para novas pesquisas na área da genética, na medida em que novos genes do sistema HLA e seus produtos forem sendo identificados, fornecendo material para novos estudos sobre a associação com a OH.

preventing it, one cannot discard the possibility that such factors are determinant for the formation of a heterotopic bone in the presence of spinal cord injury, thus leaving the field open to new investigations in the genetic area, as new genes of the HLA system and their products are identified, providing material for new studies on association with HO.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. Complexo de histocompatibilidade principal. In: Imunologia celular e molecular. 3 ed. Rio de Janeiro: Revinter, 2000. p.97-115.
2. Bravo-Payno P, Esclarin A, Arzoz T, Arroyo O, Labarta AC. Incidence and risk factors in the appearance of heterotopic ossification in spinal cord injury. *Paraplegia* 30:740-745, 1992.
3. Colachis SC, Clinchot DM, Venesy D. Neurovascular complications of heterotopic ossification following spinal cord injury. *Paraplegia* 31:51-57, 1993.
4. Freed JH, Hahn H, Menter R, Dillon T. The use of the three-phase bone scan in the early diagnosis of heterotopic ossification (HO) and in the evaluation of didronel therapy. *Paraplegia* 20:208-216, 1982.
5. Garland DE, Alday B, Venos KG. Heterotopic ossification and HLA antigens. *Arch Phys Med Rehabil* 65:531-532, 1984.
6. Garland DE. A clinical perspective on common forms of acquired heterotopic ossification. *Clin Orthop* 263:13-29, 1991.
7. Hunter T, Dubo HIC, Hildahl CR, Smith NJ, Schroeder ML. Histocompatibility antigens in patients with spinal cord injury or cerebral damage complicated by heterotopic ossification. *Rheumatol Rehabil* 19:97-99, 1980.
8. Larson JM, Michalski JP, Collacott EA, Eltorai D, McCombs CC, Madorsky JB. Increased prevalence of HLA-B27 in patients with ectopic ossification following traumatic spinal cord injury. *Rheumatol Rehabil* 20:193-197, 1981.
9. Minaire P, Betuel H, Girard R, Pilonchery G. Neurological injuries, paraosteopathies, and human leukocyte antigens. *Arch Phys Med Rehabil* 61:214-215, 1980.
10. Orzel JÁ, Rudd TG. Heterotopic bone formation: clinical, laboratory, and imaging correlation. *J Nucl Med* 26:125-132, 1985.
11. Otfinowski J. Heterotopic induction of osteogenesis in the course of neural injury. *Patol Pol* 44:133-168, 1993.
12. Panajotopoulos N, Guglielme L, Coelho V, Kalil J. Importância do sistema HLA em transplantes. In: Neumman J. ed. *Transplantes de órgãos e tecidos*. São Paulo: Sarvier, 1995. p.58-65.
13. Puzas JE, Miller MD, Rosier RN. Pathologic bone formation. *Clin Orthop* 245:269-281, 1989.
14. Renfree KJ, Banovac K, Hornicek FJ, Lebowitz NH, Villanueva PA, Nedd KJ. Evaluation of serum osteoblast mitogenic activity in spinal cord and head injury patients with acute heterotopic ossification. *Spine* 19:740-746, 1994.
15. Seignalet J, Moulin M, Pelissier J, Romain M, Bouffard-Verceilli M, Lapinski H, Roquefeuil B. HLA and neurogenic paraosteopathies. *Tissue Antigens* 21:268-269, 1983.
16. Weidebach WFS. Imunogenética da febre reumática: associação com os antígenos HLA-DR7 e DR53 definida pela técnica de microlinfocitotoxicidade e pela análise do polimorfismo do comprimento dos fragmentos de restrição. [Dissertação], São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, 1992.
17. Weiss S, Grosswasser Z, Ohri A, Mizrahi Y, Orgad S, Efer T, Gazit E. Histocompatibility (HLA) antigens in heterotopic ossification associated with neurological injury. *J Rheumatol* 6:88-91, 1979.
18. Wittemberg RH, Perschke U, Bötzel U. Heterotopic ossification after spinal cord injury. Epidemiology and risk factors. *J Bone Joint Surg Br* 24:215-218, 1992.