

# MECANOBIOLOGIA DO OSSO

## II. MICROESTRUTURA DO OSSO COMPACTO EM ESTUDOS DE PALEODEMOGRAFIA

*Lurdes Rebocho<sup>1</sup>, Teresa Fernandes<sup>2</sup>, Joana da Costa Reis<sup>3</sup>, José Caeiro Potes<sup>4</sup>, Alfredo Pereira<sup>5</sup>  
Fernando Capela e Silva<sup>6</sup>*

<sup>1</sup>*Departamento de Biologia, Universidade de Évora, 7002-554 Évora, Portugal; lurdesmoreno@hotmail.com*

<sup>2</sup>*Departamento de Biologia, Universidade de Évora, 7002-554 Évora, Portugal; tmf@uevora.pt*

<sup>3</sup>*Departamento de Medicina Veterinária, Universidade de Évora, 7002-554 Évora, Portugal; jmfc@uevora.pt*

<sup>4</sup>*Departamento de Medicina Veterinária, Universidade de Évora, 7002-554 Évora, Portugal; jacpotes@uevora.pt*

<sup>5</sup>*Departamento de Zootecnia e Instituto de Ciências Agrárias Mediterrânicas, Universidade de Évora, 7002-554 Évora, Portugal; apereira@uevora.pt*

<sup>6</sup>*Departamento de Biologia, Universidade de Évora, 7002-554 Évora, Portugal; fcs@uevora.pt*

**PALAVRAS CHAVE:** Mecanobiologia, osso compacto, paleodemografia.

**RESUMO:** *A qualidade e quantidade de tecido ósseo depende da capacidade das suas células reconhecerem e responderem a estímulos químicos e mecânicos. O processo de remodelação óssea é coordenado pela actividade dos osteócitos, dos osteoblastos e dos osteoclastos, e funciona como base para a adaptação do esqueleto a esses estímulos. A mecanobiologia do osso assenta no processo celular da mecanotransdução, em que os osteócitos, as células ósseas mais abundantes, funcionam como mecanorreceptores, estando activamente envolvidos nos processos da osteogénese e da manutenção da matriz óssea. No caso das populações antigas, o estudo dos seus esqueletos fornece dados acerca da sua demografia (ratios de idade e de sexos), saúde e bem-estar, dieta, violência, parentesco e modo de vida, ou padrões de actividade. Pretende-se com o presente trabalho evidenciar a importância da análise da microestrutura do osso compacto em paleodemografia, aplicada a estudos: de crescimento e desenvolvimento; de avaliação de processos de remodelação; e de reconstituição de padrões de actividade física/estímulos mecânicos.*

### 1 INTRODUÇÃO

Os estímulos mecânicos são importantes para a proliferação e para a diferenciação das células e tecidos [1]. Embora se saiba que as respostas das células a variações nas forças mecânicas sejam fundamentais na homeostase e para o desenvolvimento de várias patologias [2, 3], os mecanismos da mecanotransdução não estão ainda completamente esclarecidos [4-8].

No estudo da mecanobiologia do tecido ósseo, a questão central é como este tecido é produzido e mantido, e como se adapta em resposta aos estímulos mecânicos do seu

ambiente [9]. A mecanorregulação do tecido ósseo verifica-se a partir da embriogénese, permanece durante o crescimento, e continua ao longo da vida dos indivíduos [10, 11]. A importância das forças mecânicas no normal decurso do processo de ossificação endocondral [12-14], no processo de remodelação óssea [15-17] e na reparação de fracturas [15, 18, 19] é bem conhecida, sabendo-se igualmente do aumento da massa óssea relacionado com a actividade física [17, 20, 21], e que a ausência de cargas mecânicas no esqueleto, em consequência de períodos

prolongados de inatividade física, durante os voos espaciais [22], em pacientes acamados [22, 23], ou com paralisia, paraplégicos quanto tetraplégicos [24], leva a uma perda de massa óssea.

Os esqueletos representam a evidência mais directa da biologia das populações antigas e o seu estudo fornece dados acerca de: demografia (ratios de idade e de sexos), saúde e bem-estar, dieta, padrões de actividade (estratégias de subsistência, mobilidade, tipos de actividade, distribuição de tarefas por sexo e idade, etc.), violência e parentesco [25]. Por outro lado, a avaliação de esqueletos de populações antigas, permite ainda obter informações acerca da evolução e da adaptação dos tecidos esqueléticos das populações modernas [26], e das condições biológicas, ambientais, demográficas e sócio-culturais que produziram variações morfológicas nos indivíduos dessas populações [25]. A utilização de microscopia óptica, em particular a de luz polarizada, em paleodemografia, desempenha um importante papel, dado o seu valor de diagnóstico relativamente a situações da fisiologia normal e patológica do tecido ósseo [27-31].

Pretende-se com o presente trabalho evidenciar a importância da análise da microestrutura do osso compacto em paleodemografia, aplicada a estudos: de crescimento e desenvolvimento; de avaliação de processos de remodelação; e de reconstituição de padrões de actividade física/estímulos mecânicos.

## **2 TECIDO ÓSSEO COMPACTO**

A maior parte do tecido ósseo no corpo é do tipo compacto, cerca de 70% [32]. O tecido ósseo compacto maduro é composto por cerca de 70% de sais inorgânicos e 30% de matriz orgânica por peso. O colagénio, maioritariamente do tipo I, forma mais de 90% da componente orgânica, sendo o restante formado por proteoglicanos e um grupo de moléculas não colagénicas, as quais parecem

estar envolvidas na regulação da mineralização. A matriz mineraliza-se progressivamente através da deposição de cristais de hidroxiapatite de cálcio, que conferem ao tecido ósseo a dureza que lhe é característica, e que permite aos ossos a realização das funções mecânica e de sustentação; esta mistura de cristais inorgânicos e uma matriz orgânica permite ao osso suportar elevadas forças de tensão (a matriz orgânica) e compressão (os cristais de hidroxiapatite) [32, 33].

As células do tecido ósseo são: os osteoblastos, os osteócitos e os osteoclastos, podendo considerar-se ainda as células osteoprogenitoras (célula mesenquimal primitiva que dá origem aos osteoblastos e aos osteócitos; os osteoclastos derivam da linhagem celular monócito-macrófago) e as células de revestimento ósseo (interpretadas como o resultado de involução de osteoblastos que não se diferenciaram em osteócitos). A mecanobiologia do osso assenta no processo celular da mecanotransdução, funcionando os osteócitos como mecanorreceptores [34-37]. Os osteócitos resultam da transformação de alguns osteoblastos, no seguimento da síntese do osteóide, ficando por este envolvidos, e permanecendo em pequenas cavidades denominadas lacunas. Os prolongamentos citoplasmáticos de cada osteócito encaixam-se num sistema de finos canais denominados canalículos, que ligam as lacunas entre si e toda a matriz. Quando a formação de osso está completa, os osteoblastos remanescentes, que não ficaram envolvidos por matriz, tornam-se células achatadas e revestem a superfície óssea, passando a chamar-se células de revestimento ósseo. Os osteócitos e estas células de revestimento ósseo formam uma vasta rede de adesões célula-célula [32]. Este sistema celular desempenha duas importantes funções: (i) Manter a integridade estrutural da matriz mineralizada e intermediar a libertação, a curto prazo, ou o depósito, de cálcio, com o propósito da sua homeostasia no organismo como um todo; (ii) Transmitir sinais eléctricos

no osso. O stress e as cargas mecânicas resultantes das actividades diárias causam deformações na matriz mineralizada produzindo pequenas correntes piezoeléctricas, aumentando ou diminuindo a formação óssea local, e induzindo a actividade complementar dos osteoclastos locais por intermédio da secreção de factores humorais [32, 33]. Dessa maneira, o tecido ósseo é remodelado para se adaptar ao stress mecânico que lhe é imposto, sendo esta actividade eléctrica importante para a manutenção do equilíbrio na remodelação óssea e para o incremento nas áreas sujeitas ao stress e cargas [32, 33]. A remodelação óssea é o processo pelo qual pequenas quantidades de tecido ósseo são retiradas (pelos osteoclastos) e substituídas por osso novo (produzido pelos osteoblastos). É um processo normal que ocorre ao longo da vida, sendo o esqueleto continuamente substituído a uma taxa média anual de cerca de 18% [32]. Deste modo, teoricamente todo o esqueleto é totalmente remodelado a cada 5 anos, variando, contudo, a taxa de remodelação óssea com a localização anatómica. Por exemplo, a remodelação é muito mais activa na crista ilíaca do que no fémur distal; estas taxas variam igualmente com o tipo de tecido ósseo sendo o osso compacto (2%/ano) menos activo do que o esponjoso (25%/ano) [32].

O osso compacto maduro tem um arranjo lamelar concêntrico característico possuindo 4 sistemas lamelares: (i) sistemas de Havers, ou osteónios, formados por lamelas concêntricas em volta de um canal vascular, o canal de Havers, paralelo ao eixo do osso longo; (ii) sistema intermediário ou intersticial (os sistemas intersticiais e os osteónios estão limitados externamente pelas chamadas linhas cimentantes, ou de remodelação, as quais evidenciam ciclos de remodelação anteriores e indicam que o osso é maduro); (iii) sistema lamelar circunferencial externo; e (iv) sistema lamelar circunferencial interno.

Os osteónios são cilindros microscópicos com cerca de 50  $\mu\text{m}$  de diâmetro e 1 cm de altura orientados paralelamente ao eixo maior

do osso, na linha de stress que neste é exercido [32]. Em resultado da reabsorção contínua e da deposição de osso, sistemas de Havers completos recém-formados, os osteónios secundários, encontram-se dispostos entre sistemas parcialmente reabsorvidos formados previamente, os osteónios primários. Os canais de Havers contêm vasos sanguíneos, vasos linfáticos e nervos, e os feixes neurovasculares interconectam-se uns com os outros, e com o endóstio e o perióstio, através dos canais de Volkmann, os quais se dispõem perpendicular, ou obliquamente, em relação aos primeiros [32, 33]. Esta organização do osso compacto traduz o compromisso entre a resistência e rigidez do tecido ósseo e a actividade metabólica das suas células, ainda que incluídas numa matriz mineralizada.

### **3 AVALIAÇÃO DA MICROESTRUTURA DO OSSO COMPACTO**

O estudo da mecanobiologia do osso de populações antigas pode ser feito dos pontos de vista da macroestrutura e da microestrutura. Relativamente à análise macroscópica vários trabalhos têm procurado relacionar as características dos ossos com a actividade física, numa perspectiva biomecânica (38-43; ver Ruff, 2005 (26), Larsen, 1998 (44); Ruff, 2000 (45)]. Relativamente à microestrutura foi feita o estudo histológico do osso compacto de avaliando a estrutura normal do tecido ósseo [46], a dinâmica do processo de remodelação [39], a idade dos indivíduos [28, 50-53] e condições patológicas [54-57]. De uma maneira geral, esses parâmetros incluem, entre outros, a determinação: da espessura do córtex; do número total e/ou densidade de osteónios, primários e secundários, e fragmentos de osteónios; da área, do perímetro, do diâmetro, máximo e mínimo, dos osteónios e/ou dos canais de Havers; da densidade de lamelas intersticiais; da densidade dos osteócitos; da densidade dos canais de Volkmann; da percentagem de osso laminar que não sofreu remodelação, etc. A

descrição detalhada dos parâmetros que podem ser avaliados em secções histológicas de osso compacto pode ser encontrada em Robling e Stout, 2000 [28].

#### 4 CONCLUSÕES

A microestrutura do osso compacto fornece informações acerca dum conjunto de parâmetros relacionados com a história de vida dos indivíduos, designadamente estado de saúde, patologias e actividade física. A microarquitetura do osso compacto pode, assim, traduzir os factores mecanobiológicos que influenciaram o desenvolvimento do esqueleto, em particular dos osso longos.

Deste modo, a aplicação duma abordagem integrada e multidisciplinar na avaliação do osso compacto, e das possíveis relações com a adaptação do esqueleto a estímulos físicos, abre perspectivas muito interessantes nos estudos de paleodemografia, contribuindo para um melhor conhecimento do crescimento, desenvolvimento, comportamento, estado de saúde e estilo de vida das populações antigas.

#### REFERÊNCIAS

- [1] Wang, J.H.-C.; Thampatty, B.P. An introductory review of cell mechanobiology. *Biomechan Model Mechanobiol*, 5, 1-16, 2006.
- [2] Ingber, D.E. Mechanobiology and diseases of mechanotransduction. *Ann Med*, 35, 564-577, 2003.
- [3] Huang, H.; Kamm, R.D.; Lee, R.T. Cell mechanics and mechanotransduction: pathways, probes, and physiology. *Am J Physiol Cell Physiol*, 287, C1-C11, 2004.
- [4] Ko, K.S.; McCulloch, C.A.G. Intercellular mechanotransduction: cellular circuits that coordinate tissue responses to mechanical loading. *Biochem Biophysical Res Communications*, 285, 1077-1083, 2001.
- [5] Silver, F.H.; Siperko, L.M. Mechanosensing and mechanochemical transduction: how is mechanical energy sensed and converted into chemical energy in an extracellular matrix? *Critical Reviews in Biomedical Engineering*, 31, 255-331, 2003.
- [6] Chen, C.S.; Tan, J.; Tien, J. Mechanotransduction at cell-matrix and cell-cell contacts. *Annu Rev Biomed Eng*, 6, 275-302, 2004.
- [7] Iqbal, J.; Zaidi, M. Molecular regulation of mechanotransduction. *Biochem Biophysical Res Communications*, 328, 751-755, 2005.
- [8] Ingber, D.E. Cellular mechanotransduction: putting all the pieces together again. *FASEB J*, 20, 811-827, 2006.
- [9] van der Meulen, M.C.; Huiskes, R. 2002. Why mechanobiology? A survey article. *J Biomech*, 35, 401-414, 2002.
- [10] Carter, D.R.; Beaupré, G.S. Skeletal function and form: mechanobiology of skeletal development, aging, and regeneration. Cambridge University Press, Cambridge. 2001.
- [11] Nowlan, N.C.; Murphy, P.; Prendergast, P.J. Mechanobiology of embryonic limb development. *Ann N Y Acad Sci*, 1101, 389-411, 2007.
- [12] Reich, A.; Jaffe, N.; Tong, A.; Lavelin, I.; Genina, O.; Pines, M.; Sklan, D.; Nussinovitch, A.; Monsonego-Ornan, E. Weight loading young chicks inhibits bone elongation and promotes growth plate ossification and vascularization. *J Appl Physiol*, 98, 2381-2389, 2005.
- [13] Stokes, I.A.F.; Aronsson, D.D.; Dimock, A.N.; Cortright, V.; Beck, S. Endochondral growth in growth plates of three species at two anatomical locations modulated by mechanical compression and tension. *J Orthop Res*, 24, 1327-1334, 2006.
- [14] Trepczik, B.; Lienau, J.; Schell, H.; Epari, D.R.; Thompson, M.S.; Hoffmann, J.-E.; Kadow-Romacker, A.; Mundlos, S.; Duda, G.N. Endochondral ossification in vitro is influenced by mechanical bending. *Bone*, 40, 597-603, 2007.
- [15] Chao, E.Y.S.; Inoue, N. Biophysical stimulation of bone fracture repair, regeneration and remodelling. *European Cells and Materials*, 6, 72-85, 2003.
- [16] Robling A.G.; Castillo, A.B.; Turner, C.H. Biomechanical and molecular regulation of bone remodeling. *Annu Rev Biomed Eng*, 8, 455-498, 2006.
- [17] Turner, C.H.; Robling A.G. Exercise as an anabolic stimulus for bone. *Current Pharmaceutical Design*, 10, 2629-2641, 2004.
- [18] Augat, P.; Margevicius, K.; Simon, J.; Wolf, S.; Suger, G.; Claes, L. Local tissue properties in bone healing: influence of size and stability of the osteotomy gap. *J Orthop Res*, 16, 475-481, 1998.
- [19] Webb, J.C.J.; Tricker, J. A review of fracture healing. *Current Orthopaedics*, 14, 457-463, 2000.
- [20] Warner, S.E.; Shea, J.E.; Miller, S.C.; Shaw, J.M. Adaptations in cortical and trabecular bone in response to mechanical loading with and without weight bearing. *Calcif Tissue Int*, 79, 395-403, 2006.
- [21] Plochocki, J.H.; Rivera, J.P.; Zhang, C.; Ebba, S.A. Bone Modeling response to voluntary exercise in the hindlimb of mice. *J Morphol*, 269, 313-318, 2008.
- [22] LeBlanc, A.D.; Spector, E.R.; Evans, H.J.; Sibonga, J.D. Skeletal responses to space flight and the bed rest analog: A review. *J Musculoskelet Neuronal Interact*, 7, 33-47, 2007.
- [23] Rittweger J, Felsenberg D. Recovery of muscle atrophy and bone loss from 90 days bed rest: Results from a one-year follow-up. *Bone*, 2008, doi:10.1016/j.bone.2008.10.004.
- [24] Leite de Carvalho, D.C.; Martins de Carvalho, M.; Cliquet JR., A. Osteoporose por desuso: aplicação na reabilitação do lesado medular. *Acta Ortop Bras*, 9, 34-43, 2001.

- [25] Larsen, C.S. Bioarchaeology: The lives and lifestyles of past people. *J Archaeol Res*, 10, 119-166, 2002.
- [26] Ruff, C.B. Mechanical determinants of bone form: insights from skeletal remains. *J Musculoskelet Neuronal Interact*, 5, 202-212, 2005.
- [27] Bell, L.; Piper, K. An introduction to paleohistopathology. In Cox, M.; Mays, S. (eds) *Human osteology and forensic science*. Greenwich Medical Media Ltd, London. pp: 255-274, 2000.
- [28] Robling, A.; Stout, S.D. Histomorphometry of human cortical bone: applications to age estimation. In Katzernberg, M.A.; Saunders, S.R. (eds) *Biological anthropology of the human skeleton*. Wiley & Sons Inc, New York. pp: 187-213, 2000.
- [29] Pfeiffer, S. Paleohistology: health and disease. In Katzernberg, M.A.; Saunders, S.R. (eds) *Biological anthropology of the human skeleton*. Wiley & Sons Inc, New York. pp: 287-302, 2000.
- [30] Schultz, M. Paleohistopathology of bone: A new approach to the study of ancient diseases. *Year Book of Physical Anthropol*, 44, 106-147, 2001.
- [31] Schultz, M. Light microscopic analysis in skeletal paleopathology. In Ortner, D.J. (ed) *Identification of pathological conditions in human skeletal remains*. 2nd ed. Academic Press, New York. pp: 73-10, 2003.
- [32] McCarthy, E.F.; Frassica, F.J. *Pathology of bone and joint Disorders*. W.B. Saunders Company, Philadelphia. 1998.
- [33] Young, B.; Lowe, J.S.; Stevens, A.; Heath, J.W. *Wheater's Functional Histology*, 5th edition. Elsevier, Amsterdam. 2006.
- [34] Burger, E. H.; Klein-Nulend, J. Mechanotransduction in bone-role of the lacuno-canalicular network. *FASEB J*, 13, S101-S112, 1999.
- [35] Klein-Nulend, J.; Bacabac, R.G.; Mullender, M.G. Mechanobiology of bone tissue. *Pathol Biol (Paris)*, 53, 576-580, 2005.
- [36] Hazenberg, J.G.; Lee, T.C.; Taylor, D. The role of osteocytes in functional bone adaptation. *Bonekey Osteovision*, 3, 10-16, 2006.
- [37] Bonewald, L.F.; Johnson, M.L. Osteocytes, mechanosensing and Wnt signalling. *Bone*, 42, 606-615, 2008.
- [38] Mays, S. A Biomechanical Study of Activity Patterns in a Medieval Human Skeletal Assemblage. *Int. J. Osteoarchaeol*, 9, 68-73, 1999.
- [39] Bridges, P.S.; Blitz, J.H.; Solano, M.C. Changes in Long Bone Diaphyseal Strength With Horticultural Intensification in West-Central Illinois. *Am J Phys Anthropol*, 112, 217-238, 2000.
- [40] Mays, S. Effects of age and occupation on cortical bone in a group of 18th-19th century British men. *Am J Phys Anthropol*, 16, 34-44, 2001.
- [41] Rhodes, J.A.; Knusel, C.J. Activity-Related Skeletal Change in Medieval Humeri: Cross-Sectional and Architectural Alterations. *Am J Phys Anthropol*, 128, 536-546, 2005.
- [42] Rhodes, J.A. Adaptations to Humeral Torsion in Medieval Britain. *Am J Phys Anthropol*, 130, 160-166, 2006.
- [43] Maggiano, I.S.; Schultz, M.; Kierdorf, H.; Sosa, T.S.; Maggiano, C.M.; Blos, V.T. Cross-Sectional Analysis of Long Bones, Occupational Activities and Long-Distance Trade of the Classic Maya From Xcambó - Archaeological and Osteological Evidence. *Am J Phys Anthropol*, 136, 470-477, 2008.
- [44] Larsen C.P. *Bioarchaeology: interpreting behaviour from the human skeleton*. Cambridge University Press, Cambridge. 1998.
- [45] Ruff, C.B. Biomechanical analyses of archaeological human skeletons. In Katzernberg, M.A.; Saunders, S.R. (eds) *Biological anthropology of the human skeleton*. Wiley & Sons Inc, New York. pp: 71-102, 2000.
- [46] Bartsiokas A. Hominid cranial bone structure: a histological study of Omo 1 specimens from Ethiopia using different microscopic techniques. *Anat Rec*, 267, 52-59, 2002.
- [47] Burr, D.B.; Ruff, C.B.; Thompson, D.D. Patterns of skeletal histologic change through time: comparison of an archaic native American population with modern populations. *Anat Rec*, 226, 307-313, 1990.
- [48] Abbott, S.; Trinkaus, E.; Burr, D.B. Dynamic bone remodeling in later Pleistocene fossil hominids. *Am J Phys Anthropol*, 99, 585-601, 1996.
- [49] Mulhern, D.; van Gerven, D.P. Patterns of femoral bone remodeling dynamics in a Medieval Nubian population. *Am J Phys Anthropol*, 104, 133-146, 1997.
- [50] Thomas, C.D.; Stein, M.S.; Feik, S.A.; Wark, J.D.; Clement, J.G. Determination of age at death using combined morphology and histology of the femur. *J Anat*, 196, 463-471, 2000.
- [51] Cho, H.; Stout, S.D.; Madsen, R.W.; Streeter, M.A. Population-specific histological age-estimating method: a model for known African-American and European-American skeletal remains. *J Forensic Sci*, 47, 12-18, 2002.
- [52] Lynnerup, N.; Frohlich, B.; Thomsen, J.L. Assessment of age at death by microscopy: Unbiased quantification of secondary osteons in femoral cross sections. *Forensic Sci Int*, 159S, S100-S103, 2006.
- [53] Chan, A.H.W.; Crowder, C.M.; Rogers, T.L. Variation in Cortical Bone Histology Within the Human Femur and Its Impact on Estimating Age at Death. *Am J Phys Anthropol*, 132, 80-88, 2007.
- [54] Aaron, J.E.; Rogers, J.; Kanis, J.A. Paleohistology of Paget's disease in two medieval skeletons. *Am J Phys Anthropol*, 89, 325-331, 1992.
- [55] Agarwal, S.C.; Grynepas, M.D. Bone quantity and quality in past populations. *Anat Rec*, 246, 423-432, 1996.
- [56] Strouhal E. et al. (1997) A case of osteosarcoma in a Late Medieval-Early Modern Skull from Kyjov (Czech Republic). *Int J Osteoarchaeol*, 7: 82-90, 1997.
- [57] von Hunnius, T.E.; Roberts, C.A.; Boylston, A.; Saunders, S.R. Histological Identification of Syphilis in Pre-Columbian England. *Am J Phys Anthropol*, 129, 559-566, 2006.