

ESTRUTURA E DINÂMICA
DO
TECIDO ÓSSEO

Fernando Judas ^{1,2}

Paulo Palma ²

Rui Isidro Falacho ²

Helena Figueiredo ²

Clínica Universitária de Ortopedia dos HUC-CHUC ¹

Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra ²

Texto de apoio para os alunos do Mestrado Integrado em Medicina
Disciplina de Ortopedia

Março de 2012

Resumo

O tecido ósseo é uma forma especializada de tecido conjuntivo constituído por uma fase mineral, formada essencialmente por cristais de fosfato de cálcio, sob a forma de hidroxiapatite, que assenta numa organizada matriz colagénica. A combinação da fase mineral e da fase orgânica confere ao tecido ósseo propriedades únicas, que o tornam muito resistente às solicitações mecânicas.

Apesar seu aspeto aparentemente inerte, os ossos são estruturas plásticas altamente dinâmicas que, durante toda a vida do organismo, estão em permanente remodelação, por forma a manter as suas propriedades mecânicas e capacidades

metabólicas. Quando lesados têm capacidade regenerativa, isto é, o processo de reparação óssea é efetuado através da formação de osso novo e não pela formação de tecido fibroso.

As células do tecido ósseo podem ser agrupadas em duas séries diferentes: células da linha osteoblástica, responsáveis pelo processo de formação e mineralização da matriz óssea e células da linha osteoclástica, relacionadas com a sua reabsorção. O processo de diferenciação das células da linha osteoclástica está muito controlado pelas células da linha osteoblástica, através de um eixo de regulação comum, vulgarmente conhecido por RANKL/RANK/OPG. O equilíbrio entre formação e reabsorção óssea está na dependência das flutuações locais do rácio RANKL/OPG.

A remodelação óssea consiste num mecanismo de substituição, ou de reconstrução, de áreas de tecido ósseo de modo a preservar a integridade, otimizar a função e prevenir a degradação ósseas. No processo de remodelação intervêm duas atividades opostas, mas complementares: a formação e a reabsorção do tecido ósseo a cargo das células das linhas osteoblástica e osteoclástica. Desta forma, elimina-se uma porção de osso velho, substituindo-o por osso novo, com pouca ou nenhuma alteração da massa óssea e assegura-se, também, a substituição de osso imaturo por osso lamelar.

O ciclo celular da remodelação compreende uma série ordenada de eventos que vão converter uma superfície em repouso numa zona em remodelação, seguindo uma sequência imutável de ativação - reabsorção - formação.

As equipas celulares responsáveis por estas múltiplas atividades incluem não só células específicas do tecido ósseo como também células do sistema imunitário e células endoteliais.

O objetivo da remodelação parece incluir duas perspetivas diferentes: uma de índole mecânica dirigida para a reparação e adaptação da estrutura óssea ao meio e a outra metabólica, participando na homeostasia do cálcio plasmático.

O tecido ósseo constitui um notável material de construção, de natureza biológica, com a singular capacidade de edificar estruturas muito resistentes que se remodelam e reparam a si próprias.

Palavras-chave: tecido ósseo; osteoblastos; osteoclastos; remodelação óssea.

Sumário

1. Introdução	4
2. Histogénese óssea.....	5
3. Organização microscópica do tecido ósseo.....	7
3.1. Tecido ósseo esponjoso e tecido ósseo cortical	7
4. Elementos celulares do tecido ósseo	11
4.1. Células do tecido ósseo.....	11
4.2. Células da linha osteoblástica	11
4.2.1. Osteoblastos	13
4.2.2. Osteócitos.....	12
4.3. Osteoclastos e osteoclastogénese	18
4.3.1. Osteoclastos	18
4.3.2. Osteoclastogénese	16
5. Composição bioquímica e molecular da matriz óssea	23
6. Dinâmica do tecido ósseo. Remodelação óssea.	28
6.1. Perspetiva mecânica: adaptação e reparação da estrutura óssea.	30
6.2. Perspetiva metabólica: homeostasia do cálcio plasmático.....	36
6.3. Ciclo da remodelação óssea.....	38
7. Bibliografia recomendada	49

1. Introdução

O tecido ósseo é uma forma especializada de tecido conjuntivo constituído por células e por uma matriz extracelular, que possui a característica única de mineralizar. A mineralização da matriz confere a este tecido uma extrema dureza, permitindo-lhe desempenhar importantes funções de sustentação e proteção. Por sua vez, a matriz colagénica proporciona-lhe uma certa maleabilidade fornecendo-lhe algumas possibilidades de extensão e flexão.

A matriz óssea representa, também, o maior reservatório de iões minerais do organismo, particularmente de cálcio e fósforo, participando ativamente na manutenção da homeostase dos níveis de cálcio no sangue e, conseqüentemente, em todos os fluidos tissulares, condição essencial para a preservação da vida.

As funções de suporte estrutural e a de reserva metabólica estão, em condições fisiológicas, num equilíbrio estável. Porém, no caso de existir uma alteração deste equilíbrio, a função estrutural é sempre sacrificada em favor da metabólica.

Apesar do seu aspeto aparentemente inerte, os ossos são estruturas altamente dinâmicas, crescem, remodelam-se e mantêm-se ativos durante toda a vida do organismo. Esta permanente reorganização do tecido ósseo é levada a cabo por diversas células ósseas, que assumem várias formas e funções e que, no seu conjunto, constituem a série osteoblástica e a série osteoclástica, responsáveis pela constante formação, reabsorção, reparação e manutenção da microarquitetura óssea.

Para que a massa óssea se mantenha constante e células tão diversas como os osteoblastos e osteoclastos estejam, sob um ponto de vista funcional, intimamente associadas no tempo e no espaço, é necessária a existência de uma completa coordenação e integração dos eventos celulares, que caracterizam o processo de remodelação óssea, de modo a manter-se um equilíbrio perfeito.

Assim, julgamos pertinente e justificado, recordar aqui alguns conceitos, necessariamente breves, sobre a biologia e dinâmica do tecido ósseo.

2. Histogênese óssea

A formação, desenvolvimento e crescimento dos ossos são realizados através de dois mecanismos distintos: a ossificação intramembranosa e a ossificação endocondral. Estes dois processos de osteogênese diferem, essencialmente, pela ausência ou presença de uma fase cartilaginosa, revestindo-se de grande importância. Com efeito, a sequência de eventos observada nos processos de osteogênese embrionária, é basicamente a mesma que vamos encontrar na consolidação de uma fratura, ou nos mecanismos de osteointegração de qualquer biomaterial.

Na ossificação intramembranosa, característica dos ossos que formam a maioria do esqueleto crânio-facial, as células mesenquimatosas indiferenciadas proliferam, agrupam-se e diferenciam-se, formando regiões condensadas de natureza conjuntiva, nas áreas de mesênquima, onde irão surgir os futuros ossos. Sob a influência de fatores intrínsecos (genéticos) e locais (epigenéticos), estas células começam a sintetizar uma matriz orgânica, bastante laxa, contendo numerosos vasos sanguíneos, sendo possível observar o aparecimento dos primeiros fibroblastos e células osteoprogenitoras. As células osteoprogenitoras diferenciam-se, rapidamente, em osteoblastos começando a formar espículas de matriz osteóide que depois se mineraliza. A confluência de vários destes centros de ossificação tem como resultado o desenvolvimento de uma estrutura entrelaçada de trabéculas ósseas, envolvidas por perióstio, que apresentam entre si amplas cavidades ocupadas por tecido conjuntivo laxo e tecido hematopoiético em desenvolvimento, originando um osso primário com características de imaturidade. Com o aparecimento dos osteoclastos, o tecido ósseo imaturo é gradualmente reabsorvido e substituído por tecido ósseo maduro ou lamelar.

A ossificação endocondral é o principal mecanismo responsável pela formação e crescimento dos ossos longos das extremidades, bem como de vértebras e costelas. Nos locais onde serão formados os ossos, por ossificação endocondral, as células mesenquimatosas indiferenciadas iniciam um processo de proliferação, condensação e diferenciação em condroblastos que, sintetizando uma matriz cartilaginosa e evoluindo para

condrócitos, formam um modelo em cartilagem hialina com o aspecto do futuro osso.

O mecanismo de ossificação endocondral, propriamente dito, começa na superfície da região média do modelo cartilágneo, quando as células mesenquimatosas, adjacentes ao pericôndrio da cartilagem, se diferenciam em osteoblastos, passando a sintetizar uma matriz orgânica que, posteriormente, se mineraliza.

Dado que a cartilagem é nutrida por difusão, a presença deste tecido mineralizado, localizado perifericamente, vai restringir a passagem de substâncias nutritivas para os condrócitos da região central da cartilagem. Como consequência deste facto e de fenómenos de morte celular programada (aptose), os condrócitos iniciam um processo de hipertrofia, síntese de colagénio X, calcificação da matriz e morte celular.

Posteriormente, os vasos sanguíneos do tecido que rodeia o modelo cartilágneo, penetram na região interna e central da cartilagem, que se encontra num processo de calcificação e degenerescência celular. As cavidades deixadas pelos condrócitos, entre os septos de matriz de cartilagem calcificada são, então, invadidas por capilares e por células mesenquimatosas indiferenciadas, que se diferenciam em osteoblastos, dando início à síntese de matriz óssea sobre os septos de cartilagem calcificada. Este processo origina a formação de espículas ósseas constituídas por matriz óssea e por remanescências de matriz cartilágnea calcificada. Estas estruturas sofrem, depois, um processo de reabsorção e remodelação, dando lugar a trabéculas de tecido ósseo maduro ou lamelar. Deste modo, forma-se um tecido ósseo nos locais onde havia tecido cartilágneo, sem que, todavia, ocorra a transformação da cartilagem em osso.

Seja qual for o processo de ossificação de base, o tecido ósseo inicialmente resultante é sempre de tipo primário ou imaturo, sendo trabecular pouco organizado e irregular, contrariamente ao que se verifica no tecido ósseo, normalmente observado no adulto, caracterizado por uma estrutura lamelar organizada.

A designação de tecido ósseo lamelar, pela qual é vulgarmente conhecido o tecido maduro, advém de ser constituído por camadas muito ordenadas com uma disposição paralela ou concêntrica. As fibras de colagénio, extremamente organizadas, constituintes de cada camada, são paralelas entre si, mas estão dispostas segundo uma orientação diferente, formando muitas vezes um ângulo reto em relação às fibras das camadas adjacentes. Isto faz com que camadas contíguas possam parecer bastante distintas, designando-se por lamelas. Depois da fase de crescimento, os ossos de um indivíduo adulto, saudável, adquirem uma estrutura lamelar definitiva, que garante ao osso a resistência mecânica que o caracteriza. No entanto, em situações que exijam uma rápida formação de osso novo, observa-se, novamente, o aparecimento de áreas de tecido imaturo, como acontece na reparação de uma fratura óssea ou na doença de Paget. Com efeito, nunca se verifica o aparecimento de tecido ósseo lamelar como matriz óssea inicial.

3. Organização do tecido ósseo

3.1. Tecido ósseo esponjoso e tecido ósseo cortical

O tecido ósseo lamelar ou maduro pode ser classificado como esponjoso ou trabecular e cortical ou compacto, com base na sua organização estrutural. A superfície de corte do tecido ósseo compacto aparece sólida e bastante homogénea, ao passo que a do tecido ósseo esponjoso tem a aparência de uma esponja (Fig. 1). O tecido ósseo cortical e o tecido ósseo esponjoso possuem os mesmos elementos constitutivos quanto a células e matriz óssea tendo, no entanto, importantes diferenças estruturais e funcionais.

O tecido ósseo esponjoso (Fig. 2) é formado por delgadas trabéculas com 100 a 150 μm de espessura, constituídas por lamelas ósseas, na sua maioria paralelas entre si, delimitando amplas cavidades intercomunicantes ocupadas, no osso vivo, por medula óssea. As trabéculas estão organizadas sob a forma de uma rede tridimensional, seguindo sempre as linhas das forças mecânicas, disposição que confere ao osso esponjoso uma óptima resistência às cargas transmitidas pelas superfícies articulares.

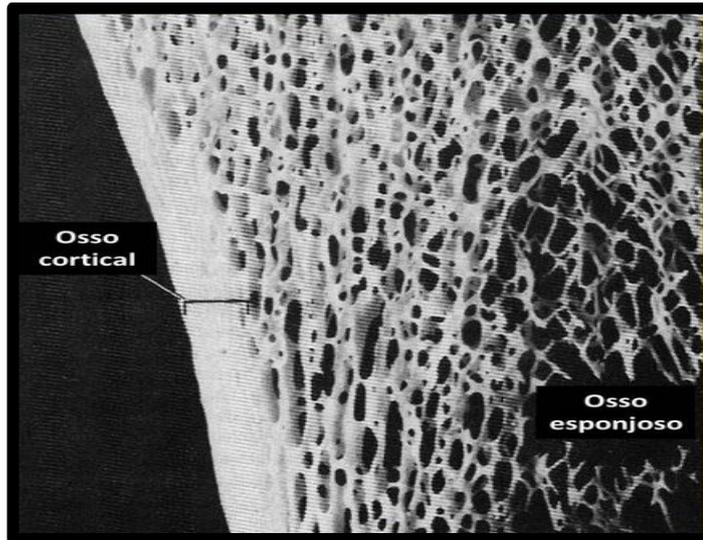


Fig 1. O tecido ósseo cortical, com funções de suporte e protecção, está localizado externamente em relação ao tecido ósseo esponjoso, que constitui o eixo da função metabólica.

O tecido ósseo compacto ou cortical constitui geralmente a imagem de marca deste tecido, sendo constituído por colunas cilíndricas com 150 a 300 μm de diâmetro, os osteónios ou sistemas de Havers, cujo eixo maior é paralelo ao do osso, representando, assim, as unidades estruturais elementares do osso compacto (Fig. 3).

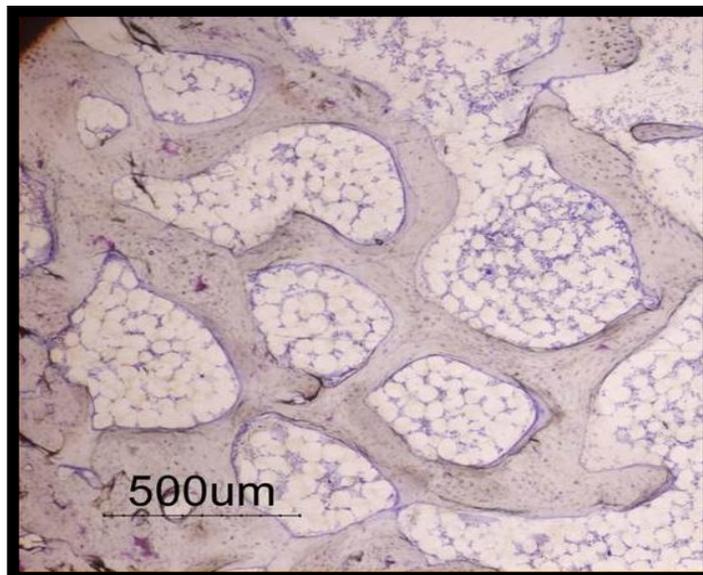


Fig. 2. Corte histológico de uma zona de tecido ósseo esponjoso onde podem observar-se trabéculas ósseas separadas por zonas de medula óssea.

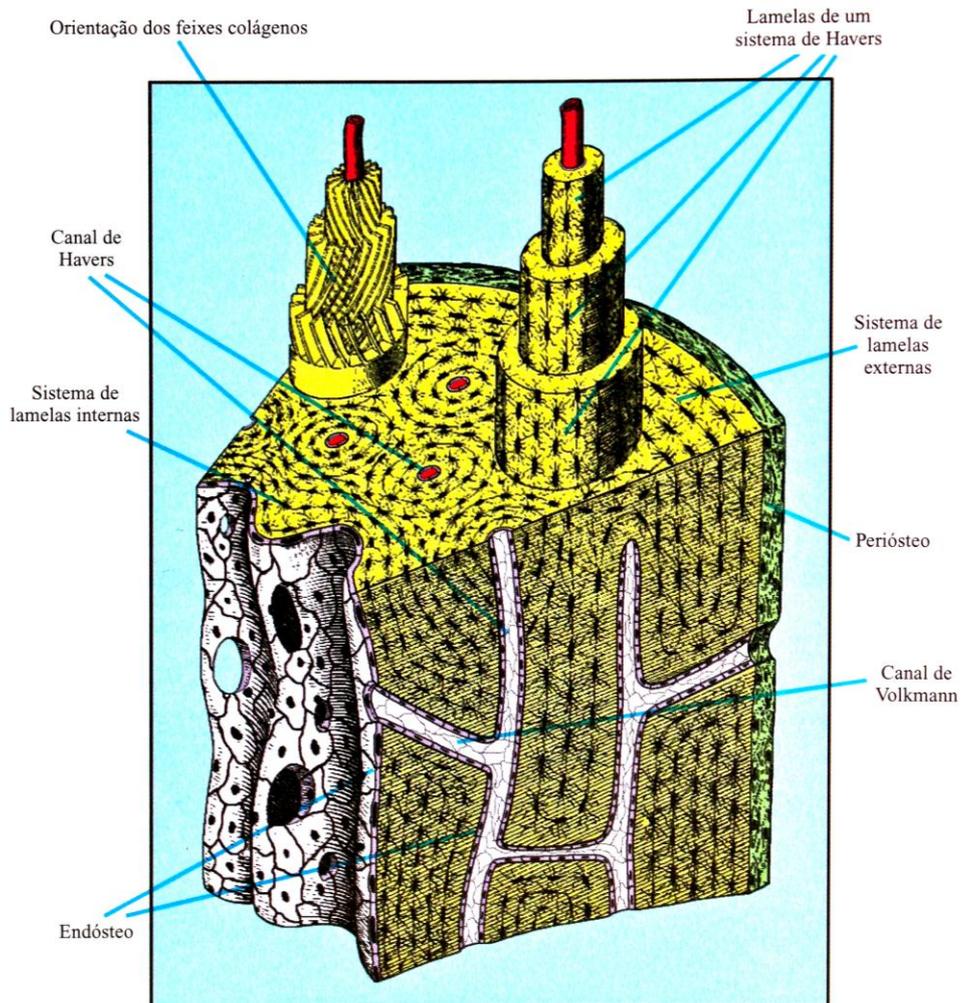


Fig. 3. Esquema representativo da constituição histológica de uma zona de tecido ósseo compacto.

Cada osteónio é formado por cerca de 20 a 30 lamelas ósseas concêntricas (com cerca de 5 μm de espessura cada), dispostas à volta de um canal central, o canal de Havers, que é ocupado por elementos vasculo-nervosos (Fig. 4). Cada lamela óssea apresenta uma orientação aproximadamente perpendicular à lamela adjacente, de modo a conferir maior resistência à propagação de fissuras. Entre as lamelas de um osteónio encontram-se numerosas lacunas ósseas, os osteoplastos, dispostas também concêntricamente em relação ao canal de Havers, ocupadas, num osso vivo, pelos osteócitos. As lamelas são radialmente atravessadas por canalículos ósseos contendo os prolongamentos citoplasmáticos dos osteócitos. Esta organização do tecido ósseo compacto em lamelas, representa um

compromisso entre a solidez e a resistência deste tecido e a possibilidade das suas células se nutrirem e comunicarem de forma adequada, mesmo quando retidas no interior de uma matriz mineralizada. A periferia destes sistemas está frequentemente marcada por uma linha hipermineralizada, designada por linha cimentante. Esta zona define uma fronteira entre os diversos sistemas de Havers ou entre estes e os restos de antigos sistemas já parcialmente reabsorvidos.

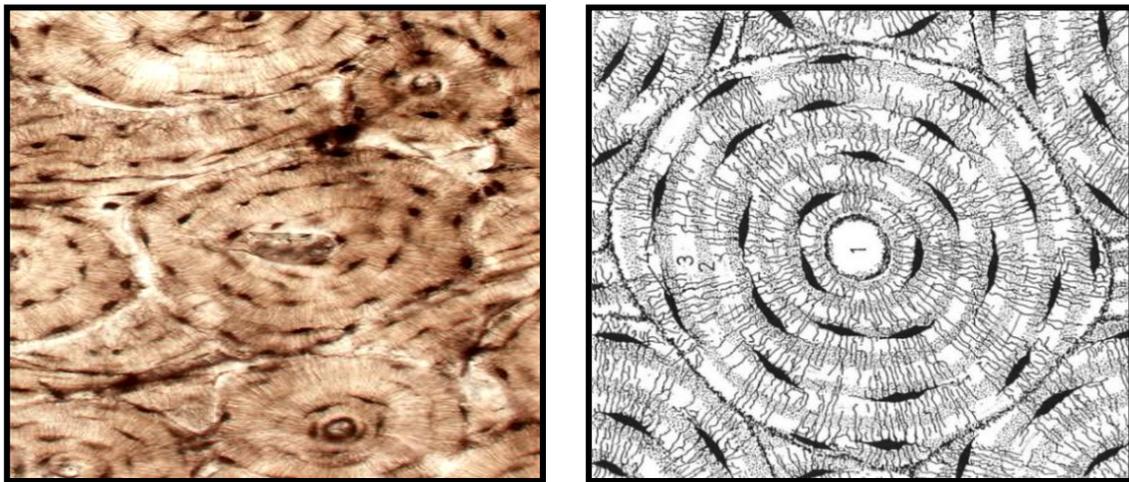


Fig. 4. Corte histológico e esquema representativo de um tecido ósseo compacto (obtido por desgaste) pondo em evidência a organização de sistemas de Havers formados por lamelas ósseas concêntricas (2 e 3) em torno de um canal central (1). São também visíveis as lacunas dos osteócitos (4) e uma complexa rede de canaliculos ósseos.

A atividade de remodelação óssea ocorre na superfície interna e central do osteônio.

Cerca de 80 a 90% do volume total do osso cortical está calcificado, enquanto que, o volume de osso trabecular calcificado é da ordem dos 15 a 25%. Assim, a relação entre a massa da matriz/unidade de volume é muito maior para o osso compacto, o que significa que este tipo de tecido tem uma maior densidade e uma menor porosidade. Como a resistência de um osso às forças de compressão é proporcional ao quadrado da sua densidade, o módulo de elasticidade e, conseqüentemente, a resistência mecânica do osso cortical pode atingir 10 vezes a do osso esponjoso.

Por outro lado, o osso esponjoso apresenta aproximadamente 20 vezes mais área de superfície por unidade de volume do que o osso cortical e, assim, as suas células podem ser mais fácil e diretamente influenciadas pelas células da medula óssea. Por este facto e considerando a sua organização, o tecido ósseo esponjoso apresenta uma maior capacidade metabólica e maior atividade de remodelação e, assim sendo, uma resposta mais rápida (para o bem e para o mal) aos estímulos mecânicos, químicos e hormonais.

Parece, pois, concluir-se, que as especificidades funcionais, atrás descritas, são consequência das diferentes características estruturais entre estes dois tipos de tecido ósseo. Deste modo, pode afirmar-se que o tecido ósseo cortical desempenha fundamentalmente funções de suporte e proteção, estando localizado externamente em relação ao tecido ósseo trabecular, que constitui o eixo da função metabólica.

4. Elementos celulares do tecido ósseo

4.1. Células do tecido ósseo

O tecido ósseo é, sob um ponto de vista celular constituído, apenas, por duas linhas celulares. As populações de células assumem diversas formas e designações, com base na sua diferente morfologia, atividade e localização em relação à matriz calcificada. Estas células podem ser agrupadas em duas séries diferentes: células da linha osteoblástica, responsáveis pelo processo de formação da matriz óssea e células da linha osteoclástica, relacionadas com a sua reabsorção.

4.2. Células da linha osteoblástica

As células da linha osteoblástica têm origem nas células mesenquimatosas indiferenciadas e pluripotenciais, tendo sido tradicionalmente consideradas de localização preferencial no periósteo e no estroma da medula óssea.

Uma série complexa de etapas de proliferação e diferenciação, permite que as células mesenquimatosas pluripotenciais se transformem em osteoblastos maduros. São já conhecidos alguns dos genes e dos fatores de transcrição e regulação génica, responsáveis pela diferenciação de células

mesenquimatosas pluripotenciais em células osteoprogenitoras e sua implicação na formação e desenvolvimento do tecido ósseo. Com efeito, foi já demonstrado que a diferenciação das células mesenquimatosas em células da linha osteoblástica é, invariavelmente, precedida pela ativação de vários genes. De entre eles encontra-se o gene *Cbfa1* (*core-binding factor family 1*) que codifica um fator de transcrição responsável pela expressão de proteínas específicas da matriz óssea. Este gene é muitas vezes reconhecido como um "master gene" que assinala um ponto de viragem, teoricamente irreversível, determinando e comprometendo o destino destas células. O *Cbfa1* é pois, até agora, o mais precoce e específico indicador dos processos de osteogénese.

Por outro lado, é também conhecido que entre os fatores de crescimento que influenciam o processo de diferenciação osteoblástica, quase todos eles exercem a sua atividade através da regulação deste gene confirmando, mais uma vez, o seu papel *pivot*. Neste âmbito, ocupam um lugar de destaque as proteínas morfogenéticas do osso vulgarmente designadas por BMPs (*Bone Morphogenetic Proteins*) capazes de ativar toda a cascata de eventos que conduz à formação de matriz óssea. Estas proteínas constituem potentes indutores dos processos de osteogénese, através da estimulação de células mesenquimatosas em células osteoblástica, tendo por base a ativação do *Cbfa1*. Estes fatores têm vindo a ser aproveitados para promover a formação óssea, conferindo capacidades osteoindutivas a muitos materiais de substituição óssea.

Tem também sido sugerida a existência de uma célula osteocondroprogenitora que poderá seguir para osteoblasto ou para condroblasto, como resposta a pequenas variações das condições locais. De facto, as células mesenquimatosas indiferenciadas têm a capacidade de se diferenciarem numa grande variedade de tipos celulares, dependendo do seu *habitat* e dos fatores reguladores presentes no meio. Em relação a este último aspecto, está hoje perfeitamente demonstrado que em áreas ricamente vascularizadas, a diferenciação das células com potencial osteogénico vai, naturalmente, conduzir ao aparecimento de osteoblastos e de matriz óssea. Todavia, em regiões onde a rede capilar não esteja suficientemente desenvolvida (locais mecanicamente instáveis e menos

vascularizados), existindo uma baixa tensão de oxigénio, as células osteoprogenitoras podem originar condroblastos ou mesmo fibroblastos, situação muitas vezes verificada nos processos pouco eficazes de reparação de fraturas.

As células da linha osteoblástica integram quatro subpopulações principais: os pré-osteoblastos, os osteoblastos maduros, as células de revestimento ósseo e os osteócitos, sendo todas elas consideradas como diferentes estádios funcionais da mesma célula.

As células mesenquimatosas pluripotenciais apresentam um alto índice mitótico mas uma baixa capacidade de expressão das proteínas, que caracterizam a matriz óssea. Os pré-osteoblastos são considerados ainda como células precursoras mas já comprometidas na linha osteoblástica, representando uma fase intermédia da sua diferenciação. Encontram-se geralmente perto das superfícies de formação óssea, e apresentam uma reduzida capacidade proliferativa. Mas, por outro lado, vão adquirindo progressivamente as características que marcam um fenótipo osteoblástico.

4.2.1. Osteoblastos

Os osteoblastos (Fig. 5) tornam-se maduros quando atingem a superfície óssea e apresentam-se, então como células cúbicas, altamente polarizadas, dispostas em paliçada (frequentemente designadas por epitélio osteóide). Entre estas células formam-se junções comunicantes (*gap junctions*), que são fundamentais para a ligação e comunicação entre células adjacentes.

Os osteoblastos maduros são células sem capacidade de divisão mas metabolicamente muito ativas.

Dentre as proteínas sintetizadas pelos osteoblastos estão o colagénio tipo I e proteínas não colagénicas como a osteopontina, a osteocalcina e a sialoproteína óssea, entre outras. Estas proteínas não colagénicas têm uma importância fundamental no processo de mineralização, ou seja, na ligação do colagénio aos cristais minerais de hidroxiapatite. Ainda neste contexto, é necessário sublinhar o facto dos osteoblastos sintetizarem muitos e variados fatores de crescimento, que ficam incorporados na matriz óssea,

desempenhando um papel determinante, tanto na formação de tecido ósseo como na diferenciação e na atividade dos osteoclastos.

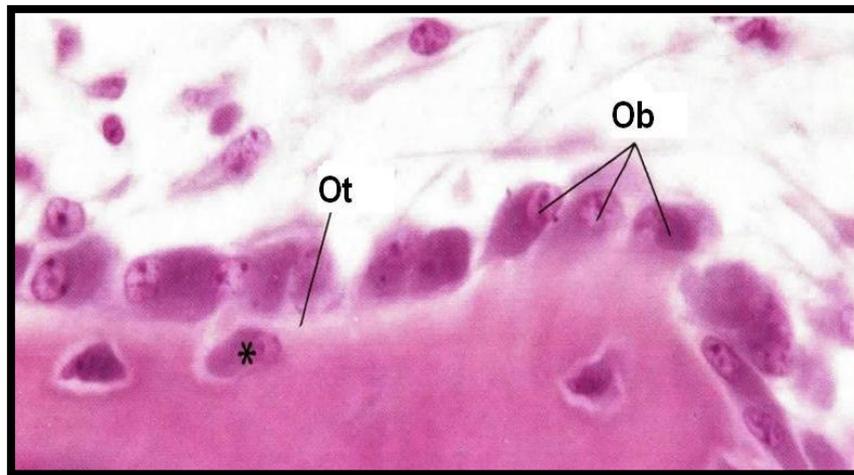


Fig. 5. Osteoblastos (Ob) na periferia de uma trabécula óssea em formação. É visível, também, a presença de osteóide (Ot) e de matriz mineralizada.

Os osteoblastos são responsáveis não só pela formação da matriz óssea, mas também pela sua mineralização. De facto, o tecido ósseo é constituído por uma fase mineral, formada essencialmente por cristais de fosfato de cálcio, sob a forma de hidroxiapatite, que assenta numa organizada matriz colagénica (fase orgânica). A combinação da fase mineral e da fase orgânica confere ao tecido ósseo propriedades biomecânicas únicas. As fibras de colagénio conferem uma certa elasticidade ao tecido ósseo, bem como algumas capacidades de resistência à propagação de fissuras. Os cristais de hidroxiapatite proporcionam uma elevada dureza e resistência à compressão.

Os osteoblastos apresentam numerosos prolongamentos citoplasmáticos, que se projetam para a matriz óssea e que se interdigitam e comunicam com os prolongamentos dos osteócitos. Este facto permite o estabelecimento de importantes relações entre os osteoblastos ativos na superfície óssea e os osteócitos que estão no seio da matriz calcificada.

Estas células funcionam, ainda, com recetores e transmissores de sinais

para a remodelação óssea. Com efeito, à exceção da calcitonina, quase todas as hormonas e muitos fatores de crescimento e citocinas que controlam a reabsorção do tecido ósseo, têm recetores nos osteoblastos e não nos osteoclastos. Tudo indica, portanto, que são as células osteoblásticas e não os osteoclastos que desencadeiam o processo de reabsorção óssea, considerando que a maioria dos fatores osteotrópicos estimulam a formação e ativação osteoclástica, através das células osteoblásticas.

Terminado o período de secreção ativa, os osteoblastos achatam-se e transformam-se em células de revestimento ósseo ou em osteócitos, podendo desaparecer do local de formação óssea, provavelmente por apoptose.

As células de revestimento ósseo (*lining cells*) formam uma camada contínua de células achatadas (Fig. 6) que reveste a maior parte da matriz calcificada, situando-se ao longo das superfícies do endóstio. Estas células apresentam uma capacidade de síntese reduzida, sendo consideradas quiescente ou de repouso. Porém, podem reconverter-se em células osteoblásticas ativas se devidamente estimuladas, sendo-lhe atribuído um papel cada vez mais relevante nos processos de remodelação óssea.

O osteoblasto ao envolver-se completamente na matriz óssea calcificada, fica aprisionado em cavidades denominadas por lacunas ou osteoplastos, diferenciando-se deste modo em osteócitos.

4.2.2. Osteócitos

Os osteócitos apresentam uma morfologia muito típica e uma organização tridimensional muito intrincada, encontrando-se estrategicamente colocados e regularmente espaçados no interior de toda a matriz mineralizada.

Os osteócitos são células altamente ramificadas, localizadas nas suas lacunas ósseas, comunicando entre si e com as células da superfície óssea, através de uma rede de canálculos, que contêm os seus numerosos prolongamentos citoplasmáticos e que permitem a passagem de nutrientes

e de muitas outras substâncias (Fig. 6). A vida do osteócito depende deste processo de difusão de nutrientes e a vida da matriz óssea depende do osteócito.

Os prolongamentos celulares dos osteócitos situados no interior dos canalículos encontram-se, também, interligados por junções comunicantes (*gap junctions*), apresentando uma profunda analogia com a rede «neuronal» que se observa no tecido nervoso.

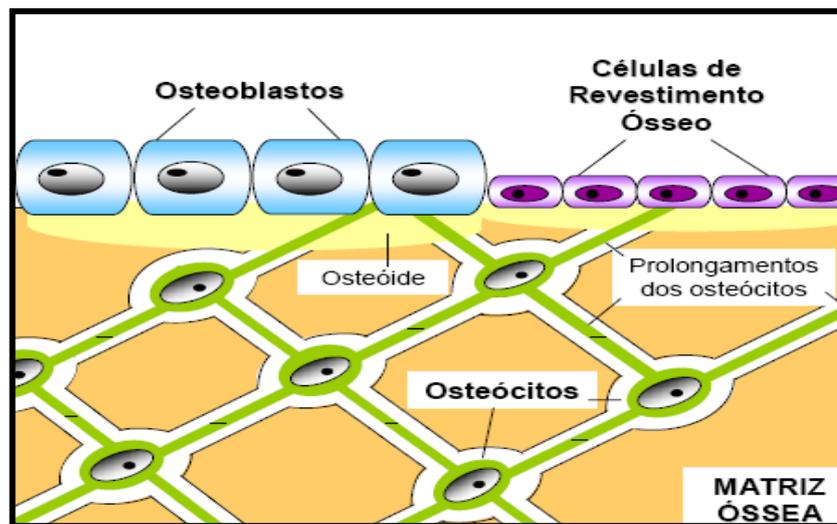


Fig. 6 - Esquema representativo da distribuição e localização na matriz óssea das células da linha osteoblástica. Os osteoblastos e as células de revestimento ósseo encontram-se dispostos numa camada contínua, à superfície da matriz óssea (uma zona de matriz orgânica não calcificada, denominada por osteóide, separa estas células da matriz calcificada). Os osteócitos encontram-se situados no interior de lacunas existentes na matriz óssea. Por sua vez, uma profusa rede de canalículos interligam as lacunas entre si e alojam os prolongamentos dos osteócitos. Este conjunto (osteócitos e sistema lacuno-canalicular) forma uma complexa rede que põe em comunicação os osteócitos, os osteoblastos e as células de revestimento ósseo. Adaptado de Faloni APS.

Devido ao seu elevado número (sendo as células mais numerosas) e complexa organização e disposição, os osteócitos estão numa situação privilegiada para captar as alterações da matriz óssea e os estímulos mecânicos que atuam sobre o osso (mecanossensores). Estas informações

são depois transmitidas às células da superfície para que estas possam ativar os processos de remodelação óssea, sempre que estes sejam necessários.

O mecanismo pelo qual as forças mecânicas conseguem regular processos celulares é designado de uma forma global por mecanotransdução. Assim sendo, a mecanotransdução pode ser entendida como a conversão de um sinal de natureza mecânica (força) numa resposta celular de natureza bioquímica. Por outras palavras, pode considerar-se o mecanismo de transdução como um processo pelo qual certas células (células recetoras) detetam ou "sentem" certos sinais mecânicos (forças ou tensões aplicadas) gerando uma resposta celular (de natureza bioquímica) dirigida às células alvo (células efetoras). Estas últimas células vão, por sua vez, ativar ou modular os processos de remodelação. Os osteócitos constituem nestas circunstâncias as células recetoras ou mecanossensoras, sendo as células de revestimento ósseo, os osteoblastos e os osteoclastos, as células efetoras.

Porém, os osteócitos não respondem diretamente aos estímulos mecânicos que atingem a matriz mineralizada, mas respondem (indiretamente) às alterações e deformações do fluido extracelular. Com efeito, os osteócitos parecem ser particularmente sensíveis às diferenças de fluxo e pressão hidrostática do fluido existente no sistema lacuno-canalicular. Assim, a deformação da matriz óssea (que ocorre pela aplicação de uma determinada força) pode causar diferenças de pressão no fluido que preenche os canálculos, alterando o seu fluxo (isto é, a sua velocidade). É nesta interação, entre o movimento do fluido e os osteócitos, que reside a chave da mecanotransdução. Estas alterações do meio extracelular (variações de pressão e velocidade dos fluidos) são, pois, captadas pelos osteócitos que as convertem em sinais e mensagens moleculares (óxido nítrico e prostaglandinas, alterações da carga elétrica, alterações na membrana plasmática com libertação de cálcio), que serão transmitidas, como já foi referido, às células efetoras quer através dos prolongamentos celulares e *gap junctions* (ativando a rede intracelular de comunicação) quer por difusão no fluido extracelular. É cada vez mais consensual que estes

mecanismos não atuam de forma isolada, mas sim em sinergia, observando-se diversas vias alternativas em simultâneo.

Por outro lado, a existência de uma área de matriz danificada ou comprometida (pela presença de microfissuras) pode provocar uma restrição na acessibilidade dos osteócitos aos nutrientes e oxigénio, o que leva à sua apoptose (morte celular programada). A apoptose dos osteócitos desencadeia quase sempre processos de remodelação óssea, verificando-se uma íntima associação, no tempo e no espaço, entre microfissuras, apoptose dos osteócitos e remodelação óssea.

Em síntese: em condições fisiológicas existe, no tecido ósseo, uma íntima relação e integração entre estímulos mecânicos e respostas celulares, visando para além da sobrevivência e funcionalidade dos osteócitos, uma constante adaptação ou reparação da microestrutura óssea. Os processos de remodelação são a tradução funcional destas respostas celulares, sendo os osteócitos os principais "guardiões" do tecido ósseo.

4.3. Osteoclastos e osteoclastogénese

4.3.1. Osteoclastos

Os osteoclastos desempenham uma função essencial na remodelação e na renovação do tecido ósseo.

Os osteoclastos são células gigantes multinucleadas (Fig. 7) altamente especializadas nos processos de reabsorção da matriz óssea, desenvolvendo, para este fim, uma eficaz e complexa maquinaria (que lhes confere características e capacidades únicas). Podem ser observados nas superfícies ósseas, principalmente no endóstio e, ocasionalmente, na superfície do perióstio. A região óssea que está a ser reabsorvida apresenta a forma de uma cripta ou lacuna recebendo a designação de lacuna de Howship.

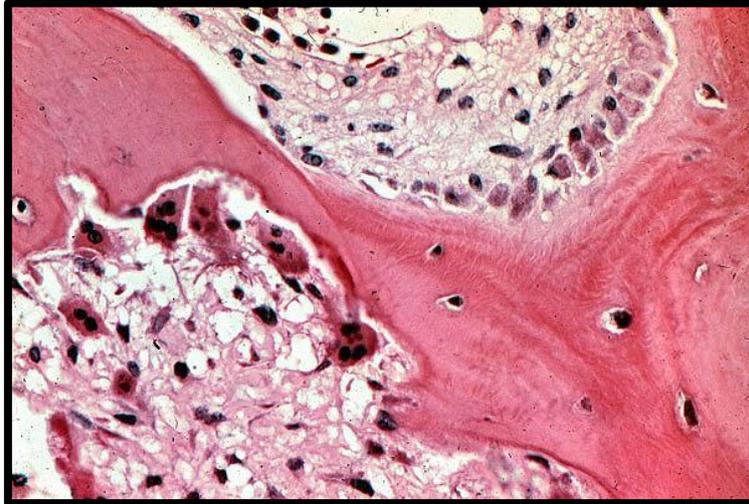


Fig. 7 - Aspeto em microscopia de luz de osteoclastos presentes em lacunas de Howship à superfície de uma trabécula óssea. Corte histológico de material descalcificado corado com HE.

A reabsorção propriamente dita (Fig. 8) é um processo altamente organizado e sequencial (levado a cabo na lacuna de reabsorção) constituído por duas fases consecutivas. A primeira fase consiste num processo de acidificação do compartimento atrás mencionado (através da produção de protões H^+ e aniões Cl^-), provocando a dissolução dos cristais de hidroxiapatite, constituintes da fase mineral da matriz óssea. Numa segunda fase, tem lugar a degradação completa da fase orgânica por ação de numerosas enzimas proteolíticas (catepsinas e metaloproteínas da matriz).

Na série osteoclástica podemos incluir os monócitos circulantes, os monócitos presentes na medula óssea, os pré-osteoclastos e os osteoclastos. Os osteoclastos são membros da linha celular dos monócitos-macrófagos, podendo a sua diferenciação resultar de precursores mielóides (medula óssea - série hematopoiética) mas também de células macrofágicas já bem diferenciadas. Assim sendo, pode considerar-se que o osteoclasto não será uma verdadeira célula óssea, mas sim uma célula sanguínea altamente especializada que possui muitas características imunológicas. A semelhança filogenética entre o sistema imunológico e o osteoarticular resulta numa forte comunicação e integração entre estes dois sistemas, ocupando o osteoclasto uma posição chave.

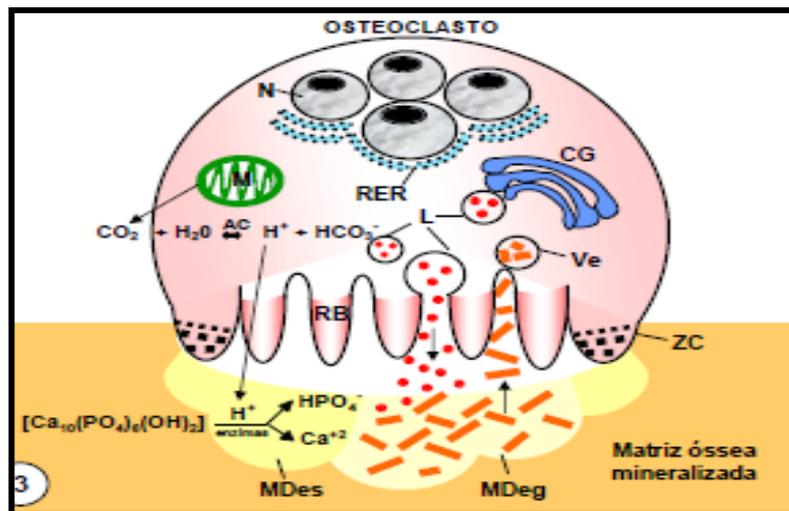


Fig. 8 – Osteoclasto em atividade de reabsorção. O compartimento imediatamente subjacente à bordadura em escova (RB) constitui o local onde ocorre a reabsorção óssea. No interior do osteoclasto, a anidrase carbônica (AC) promove a conversão de gás carbônico (CO_2) e água (H_2O) em íons hidrogênio (H^+) e bicarbonato (HCO_3^-). A bomba de prótons, localizada na membrana da RB, promove a liberação dos íons H^+ para o micro ambiente onde se processa a reabsorção óssea. A acidificação, promovida pelos íons H^+ , contribui para a desmineralização da matriz óssea, ocorrendo a dissolução dos cristais de hidroxiapatite $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$ e consequente liberação de cálcio (Ca^{2+}) e fosfato (HPO_4^-). Segue-se, então, a secreção de enzimas lisossomais. Estas enzimas são responsáveis pela degradação das proteínas colagênicas e não-colagênicas da matriz. Os produtos da degradação da matriz orgânica são internalizados na RB, por meio de vesículas (Ve) e transportados para o interior do osteoclasto, sendo posteriormente, conduzidos para o meio extra celular. N, núcleos; M, mitocôndria; L, lisossomas; RER, retículo endoplasmático rugoso; CG, complexo de Golgi; MDes, matriz óssea desmineralizada; MDeg, matriz óssea parcialmente degradada. Adaptado de Faloni APS.

Parece importante sublinhar mais uma vez que os osteoclastos são as células com maior responsabilidade na dinâmica dos processos de remodelação óssea.

4.3.2. Osteoclastogênese

O processo de formação, desenvolvimento e maturação dos osteoclastos engloba múltiplas etapas, sendo a fusão celular de precursores mononucleares uma das mais emblemáticas.

Para iniciar o seu processo de diferenciação, os osteoclastos necessitam da presença de células osteoblásticas (ou de células mesenquimatosas do estroma da medula óssea) capazes de produzir fatores de diferenciação e ativação, que incluem, entre outros, o fator estimulador de colónias de macrófagos (*macrophage colony stimulating Factor* – M-CSF).

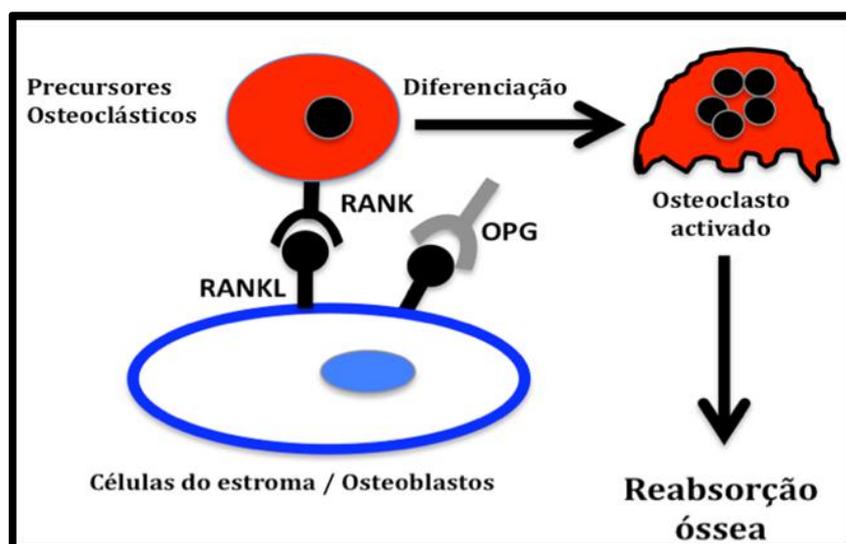


Fig. 9 - Esquema do processo de diferenciação dos osteoclastos (osteoclastogénese) por intervenção direta dos osteoblastos através do sistema RANKL/RANK/OPG.

Os osteoblastos expressam ainda (e na sua superfície) uma outra proteína transmembranar conhecida por RANKL (ligando para o receptor de ativação do fator nuclear kappa B). Para que possa dar-se a ativação das células osteoclásticas é necessário que estas desenvolvam entretanto (também na sua superfície) um recetor transmembranar designado por RANK (receptor de ativação do fator nuclear kappa B).

A interação do RANKL (presente na superfície dos osteoblastos) com o RANK (presente na superfície dos pré-osteoclastos) leva à maturação dos osteoclastos sendo um dos principais "motores de arranque" da osteoclastogénese. Está hoje bem estabelecido que o contacto célula-a-célula entre células da linha osteoblástica e osteoclástica constitui um pré-requisito necessário e, até há bem pouco tempo essencial, para a maturação e ativação dos osteoclastos. De facto, os osteoblastos, através de um mecanismo que envolve o contacto entre estas células e os

precursores osteoclásticos, constituem um dos principais indutores da osteoclastogénese (Fig. 9).

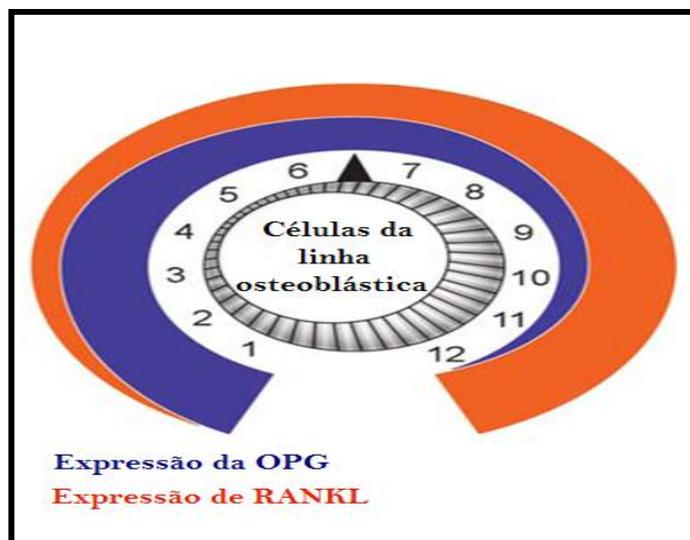


Fig. 10 - Mecanismo de regulação da população funcional de osteoclastos, à semelhança de um reóstato, efetuado pelas células da linha osteoblástica com base nos níveis de RANKL e de OPG. Adaptado de Robling A. G. et al.

Os osteoblastos sintetizam ainda uma outra proteína, neste caso solúvel, a osteoprotegerina (OPG), com uma alta afinidade para o RANKL, impedindo ou bloqueando a ligação do RANKL ao seu receptor RANK. Por este mecanismo, a OPG regula a população funcional dos osteoclastos, actuando localmente como um "travão" à osteoclastogénese reduzindo, deste modo, a reabsorção óssea (Fig. 9).

Com efeito, as células da linha osteoblástica podem controlar o desenvolvimento e a atividade osteoclástica (em resposta a diferentes estímulos mecânicos, hormonais e inflamatórios), ajustando os níveis de expressão do RANKL e de OPG. A presença de altos níveis de RANKL promove a osteoclastogénese, enquanto que uma maior expressão de OPG resulta numa diminuição da osteoclastogénese, ou mesmo na apoptose dos osteoclastos. Assim, as células da linha osteoblástica podem funcionar como um reóstato (Fig. 10) do processo de reabsorção óssea.

Em síntese, pode afirmar-se que o processo de diferenciação das células da linha osteoclástica está muito controlado pelas células da linha

osteoblástica, através de um eixo de regulação comum, vulgarmente conhecido por RANKL/RANK/OPG. Porém, esta via não é de sentido único e, como veremos posteriormente, também os osteoclastos condicionam e modulam muitas das atividades osteoblásticas.

O sistema de citocinas RANKL/RANK/OPG constitui um eixo fundamental na regulação da massa óssea. Com efeito, o equilíbrio entre formação e reabsorção óssea está na dependência das flutuações locais do rácio RANKL/OPG.



Fig. 11. Algumas características físicas apresentadas por um osso processado por desmineralização e por calcinação. O perónio desmineralizado permite o enrolamento em forma de "nó de gravata", sem se fraturar. Se a matriz orgânica for removida (sem colagénio, calcinação do osso), perde a elasticidade, tornando-se frágil perante deformações e traumatismos diretos.

5. Composição bioquímica e molecular da matriz óssea

A matriz óssea pode ser considerada um material compósito constituído por uma fase mineral que assenta numa organizada base de colagénio. O componente inorgânico representa aproximadamente 60% da massa óssea,

enquanto que o orgânico contribui com pouco mais de 20% e a água com aproximadamente 10%.

O componente orgânico, maioritariamente constituído por colagénio, confere ao osso uma grande capacidade de resistência às forças de tensão, enquanto que, o inorgânico resiste às forças de compressão. Um osso longo desmineralizado, como o perónio, permite a aplicação de forças significativas de distensão longitudinal ou o seu enrolamento em forma de "nó de gravata", sem se fraturar (Fig. 11). Pelo contrário, a remoção da matriz orgânica de um osso longo, torna-o rígido mas muito frágil às deformações e aos traumatismo diretos. A matriz óssea tem uma grande durabilidade e estabilidade, comprovada pelo fato de se manter inalterável e reter muita da sua resistência, durante séculos após a morte do organismo.

A matriz orgânica do tecido ósseo (Fig. 12) assemelha-se muito à matriz dos tecidos conjuntivos densos, como os tendões e ligamentos. De facto, as fibras de colagénio formam cerca de 90% de toda a matriz proteica do osso. Aproximadamente 80% do colagénio presente no osso lamelar é do tipo I. O colagénio de tipo III ocupa cerca de 5-15%, enquanto os do tipo IV a VII aparecem numa reduzida quantidade, menos de 5%.

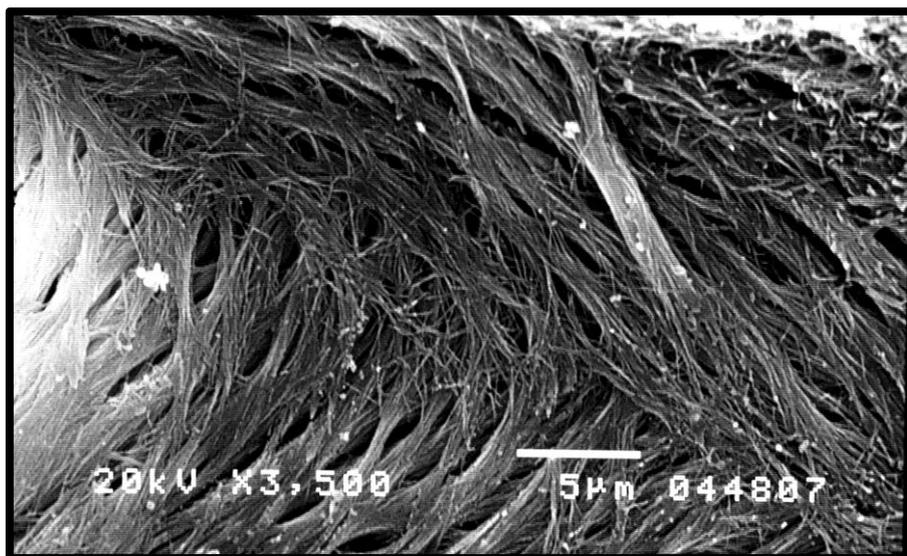


Fig. 12. Microfotografia em Microscopia Eletrónica de Varrimento (MEV) do componente colagénico da matriz óssea. Cortesia da Eng.^a Gabriela Martins e do Inst. Pedro Nunes.

As fibras, as fibrilhas e as moléculas de colagénio estão orientadas de acordo com as principais linhas de força a que a estrutura óssea está submetida.

Os espaços (Fig. 13) entre as moléculas de tropo-colagénio (“holes”) representam locais de eleição para a nucleação dos primeiros cristais de hidroxiapatite.

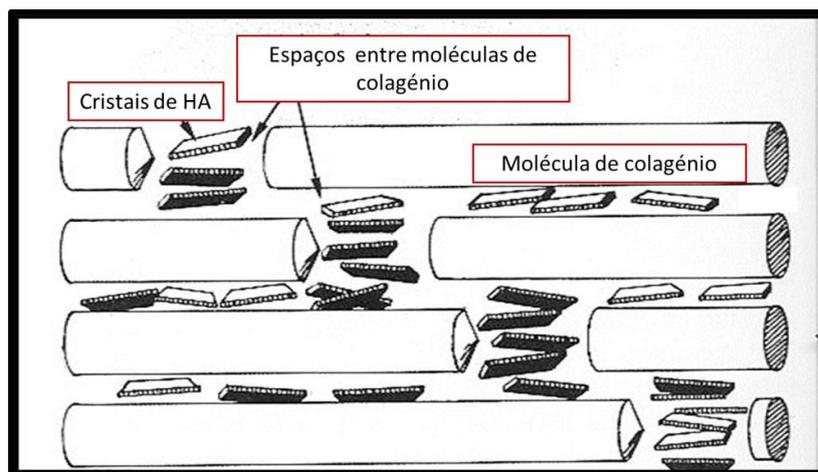


Fig. 13. A organização molecular e supramolecular da matriz colagénica constitui um molde para a deposição do componente mineral (cristais de hidroxiapatite).

Deste modo, a matriz orgânica representa uma importante base molecular e estrutural como armação ou molde para a deposição do componente inorgânico.

A matriz óssea contém, ainda, uma grande variedade de proteínas não colagénicas, na sua maioria sintetizadas pelos osteoblastos, representando apenas 10 a 15% das proteínas totais da matriz. Destas proteínas, algumas são específicas do tecido ósseo, outras encontram-se também noutros tecidos conjuntivos, ainda que sempre em maior quantidade no osso e, por último, algumas delas estão normalmente presentes no plasma sanguíneo, sendo muitas vezes, adsorvidas e incluídas na matriz óssea.

Estas proteínas não colagénicas exercem uma grande influência na organização da matriz óssea, na sua mineralização e no comportamento e atividades celulares, com importantes repercussões na fisiologia óssea.

Podem dividir-se em 4 grandes grupos: proteínas γ -carboxiladas, proteínas de adesão, proteoglicanos e fatores de crescimento.

As proteínas γ -carboxiladas são caracterizadas pela presença de resíduos de ácido γ -carboxiglutâmico (GLA). Na presença de cálcio, os resíduos GLA provocam uma modificação da estrutura destas proteínas, que facilita a sua união aos cristais de hidroxiapatite, favorecendo, assim, a sua acumulação na matriz óssea. Algumas proteínas deste grupo, parecem exercer, também, um efeito quimiotático sobre os precursores dos osteoclastos, intervindo, deste modo, nos mecanismos de remodelação óssea.

As proteínas de adesão, para além de intervirem na mineralização da matriz, têm, devido à presença de uma sequência polipeptídica específica, RGD, um papel importante nos processos de adesão das células à matriz óssea, com especial destaque para os osteoclastos.

Os proteoglicanos, responsáveis pela metacromasia do tecido ósseo, particularmente visível nos tecidos ósseos imaturos, desempenham, provavelmente, um papel de regulação na formação das fibrilhas de colagénio e no processo de mineralização.

Para além destas e, como o tecido ósseo é um tecido muito vascularizado, a matriz óssea adsorve, ainda, certas proteínas plasmáticas como a α -2HS glicoproteína, a albumina, as imunoglobulinas e a apo A-I lipoproteína, que ficam incluídas na matriz.

São vários os fatores de crescimento e citocinas que se encontram na matriz óssea. Estes peptídeos, muitos deles também sintetizados pelos osteoblastos, ainda que, presentes em concentrações muito baixas, exercem uma importante função na regulação celular do ciclo de remodelação óssea (TGF β - fator de crescimento de transformação β ; IGF - fator de crescimento insulino aparentado; BMPs - proteínas morfogenéticas ósseas (BMPs); FGF - fator de crescimento fibroblástico; PDGF - fator de crescimento derivado das plaquetas).

O componente mineral da matriz óssea consiste principalmente em fosfatos de cálcio, que se apresentam sob a forma de cristais de hidroxiapatite (Fig. 14), depositando-se sob controlo celular na matriz orgânica.

A hidroxiapatite presente no tecido ósseo é um composto mineral de fórmula geral $(Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2)$, com 200 a 400 Å de comprimento com uma estrutura cristalina hexagonal. No aspecto termodinâmico, as apatites representam as estruturas mais estáveis de entre os fosfatos de cálcio, sendo provavelmente o produto final de muitas reações.

Habitualmente, as apatites de origem natural (hidroxiapatite biológica) são deficientes em cálcio sendo geralmente enriquecidas com outros iões, nomeadamente com os iões carbonato (CO_3^{2-}), que podem representar 3 a 8% da fase mineral do osso. A incorporação de outros elementos (Mg^{2+} , F^- e Cl^-) na hidroxiapatite contribui para um menor grau de cristalinidade. Ao longo da vida, a ocorrência de substituições vai diminuindo e a estrutura da hidroxiapatite óssea vai-se aproximando cada vez mais da sua forma estequiométrica, ficando cada vez mais cristalina. Este facto contribui para que a remodelação do tecido ósseo não se processe com a mesma velocidade da observada na juventude.

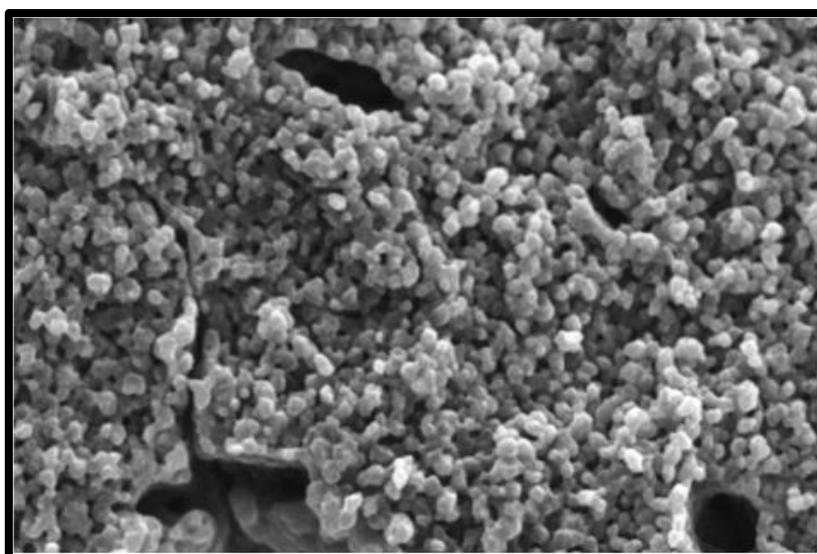


Fig. 14 - Aspecto em MEV da organização e distribuição dos cristais de hidroxiapatite da matriz óssea. São também visíveis algumas lacunas e canalículos ósseos (1500 X no original). Cortesia da Eng.^a Gabriela Martins e do Inst. Pedro Nunes.

A organização molecular e supramolecular da matriz colagénica constitui um molde para a deposição do componente mineral, indo determinar a eficácia do processo de mineralização. A arquitetura da fase mineral do osso, tal

como a matriz de colagénio, forma uma malha tridimensional contínua, organizada em estruturas fibrilares acompanhado de perto a disposição e arranjo característico das fibras de colagénio. Nesta organização encontram-se ainda fortes ligações intercristais capazes de assegurar e manter a estrutura fibrilar mesmo depois de destruído o suporte proteico. Assim, o osso não poderá mais ser considerado meramente como um material fibroso reforçado por cristais minerais, podendo talvez ser “olhado” como uma matriz mineral reforçada por fibras de colagénio, ou então como uma rede composta e interpenetrante de colagénio e fase mineral. Assim sendo, cada uma das fases poderia servir de molde para formação da outra. Este interessante arranjo supramolecular da fase mineral, apresentando uma disposição fibrilar dos cristais, em tudo semelhante à matriz colagénica, reflete uma íntima interação mineral/colagénio, conferindo, deste modo, a este tecido propriedades *sui generis*. Esta organização nunca se encontra nas hidroxiapatites sintéticas.

6. Dinâmica do tecido ósseo. Remodelação óssea.

Os ossos são estruturas plásticas altamente dinâmicas que, durante toda a vida do organismo, estão em permanente remodelação. A remodelação óssea consiste num mecanismo de substituição, ou reconstrução, de áreas de tecido ósseo de modo a preservar a sua integridade, otimizar a sua função e prevenir a sua degradação. Para isso, a substituição óssea é iniciada por uma fase de reabsorção osteoclástica, logo seguida por uma etapa de formação osteoblástica.

Registos fósseis mostram a existência de sistemas de Havers e marcas evidentes de processos de reabsorção óssea em vertebrados muito primitivos. Este facto pressupõe que a remodelação óssea é quase tão antiga como o próprio tecido ósseo sendo, por certo, um mecanismo altamente vantajoso. Com efeito, os genes responsáveis pelos processos de remodelação têm conservado a sua expressão ao longo da evolução filogenética, conferindo importantes propriedades com influência determinante na capacidade de sobrevivência dos vertebrados.

A principal vantagem conferida pela remodelação óssea em termos de evolução seria a manutenção de um esqueleto substancialmente mais leve e, desta forma, uma maior eficácia e velocidade de movimentos.

A remodelação óssea não resulta apenas da atividade concertada de osteoclastos e osteoblastos com a conseqüente reabsorção ou formação de osso. De facto, é um processo complexo, controlado pela interação de forças mecânicas, hormonas sistémicas, citoquinas, prostaglandinas e fatores de crescimento produzidos localmente. Estes últimos, sintetizados, maioritariamente, pelas próprias células ósseas ou pelas do microambiente envolvente, são libertados sequencialmente à medida que a remodelação vai ocorrendo e atuam de uma forma autócrina ou parácrina, sendo provável que mediem, pelo menos parcialmente, os efeitos dos estímulos mecânicos e das hormonas.

Uma importante característica da sequência da remodelação óssea é a sua especificidade de localização. O processo de remodelação, que ocorre numa determinada área, não tem ligação cronológica direta com a remodelação observada em qualquer outra área. Este facto leva a admitir que a remodelação óssea está sobretudo sob o controlo de fatores locais, gerados no microambiente de cada unidade ou área específica de remodelação.

O processo de remodelação óssea parece orientar-se fundamentalmente para um objetivo mecânico, que engloba não só uma adaptação e otimização da estrutura óssea às solicitações mecânicas, como também a remoção de áreas danificadas.

No entanto, a descoberta da importância da homeostasia dos níveis séricos de cálcio, como um eficaz meio de prevenção da tetania, veio mudar um pouco os conceitos de remodelação, passando então a serem considerados prioritariamente como um mecanismo de gestão do "banco de cálcio" ósseo. Assim, a perspetiva metabólica começou a sobrepor-se às funções mecânicas e nesta ordem de ideias, a remodelação óssea seria mais importante para retirar cálcio do osso para a circulação, do que para melhorar as suas propriedades físicas.

Por outro lado, e segundo alguns endocrinologistas, o papel da remodelação óssea poderá não ser tão imprescindível para o transporte de cálcio entre o osso e o sangue, uma vez que este processo pode ser mediado pelas células

de revestimento ósseo ocorrendo, assim, em superfícies ósseas aparentemente "inativas". Esta afirmação, que de certo modo vem reforçar a natureza mecânica da remodelação, vai certamente levantar grande controvérsia quanto aos conceitos de fisiologia óssea tradicionalmente estabelecidos, necessitando de investigações muito mais aprofundadas.

Assim, o objetivo da remodelação parece incluir, pois, duas perspectivas diferentes: uma perspectiva mecânica dirigida para a reparação e adaptação da estrutura óssea ao meio e uma perspectiva metabólica, relacionada com a homeostasia do cálcio plasmático.

6.1. Perspetiva mecânica: adaptação e reparação da estrutura óssea.

Uma íntima relação entre a forma e a função foi, desde há muito, reconhecida na arquitetura óssea. De facto, ao longo da vida, o tecido ósseo possui uma grande capacidade de adaptação aos estímulos mecânicos associados à atividade fisiológica diária. Solicitações mecânicas como as decorrentes da ação da gravidade ou da atividade muscular, constituem exemplos de estímulos (estáticos e dinâmicos) fundamentais à preservação da massa óssea. Com efeito, sob condições prolongadas de imponderabilidade e/ou inatividade física, a perda de massa óssea pode ser bastante significativa. Ao invés, a atividade física leva habitualmente ao reforço do tecido ósseo, dependendo o aumento de massa óssea da intensidade e frequência dos esforços realizados.

Uma descrição minuciosa da inter-relação entre a estrutura e a função do tecido ósseo, foi pela primeira vez formalmente estabelecida nos finais do século XIX pelo anatomista Julio Wolff, sendo a partir daí conhecida como lei de Wolff. Wolff afirmava que os elementos trabeculares do esqueleto não foram concebidos apenas para realizar uma função específica de suporte, mas também para responder às forças a que estão sujeitos, alterando constantemente a sua constituição estrutural, durante todo o tempo de vida do indivíduo. De acordo com esta lei, as características geométricas dos ossos e a distribuição dos seus componentes microestruturais são determinadas pela magnitude e direção das tensões a que estão submetidas. Assim, as trabéculas ósseas encontram-se preferencialmente

alinhadas segundo a direção das tensões máximas aplicadas, o que origina uma distribuição anisotrópica da resistência e rigidez do osso, ou seja, estas propriedades variam com a direção considerada. Cada osso constitui, então, uma estrutura tridimensional otimizada e economicamente muito eficaz, para melhor resistir aos esforços mecânicos aplicados.

Apesar do paradigma "a forma está *à priori* relacionada com a função" levantar atualmente alguma reserva, continua a aceitar-se uma relação dinâmica entre a estrutura do tecido ósseo e o meio envolvente. Neste sentido, Wolff, Frost e Seeman são concordes ao considerar que "*the structure of bone determines the loads it tolerates. The reverse also applies - the load imposed on bone determines its structure.*"

De um modo geral, pode afirmar-se que o tecido ósseo é um material duro e particularmente resistente à compressão axial, possuindo ainda um certo grau de flexibilidade e capacidade de absorção de choques (tenacidade). Com efeito, sendo essencialmente constituída por cristais de hidroxiapatite e fibras de colagénio, a matriz óssea combina, num só, as propriedades de ambos os materiais. Isto é, a dureza e rigidez do componente mineral e a elasticidade e flexibilidade das fibras colagénicas. A elasticidade do material significa que este readquire a sua forma inicial, quando cessa a força aplicada. Ao contrário, a plasticidade traduz-se por uma deformação permanente. Quando a extensão da deformação ultrapassa determinado limite, ocorre a rotura/fratura do material.

Por outro lado, o tecido ósseo, tal como quaisquer outros materiais, pode sofrer e acumular danos estruturais por fadiga (as microfissuras e danos causadas pelo uso continuado acabam por produzir fadiga). Mas, ao contrário deles, o tecido ósseo possui a capacidade de detetar e localizar a extensão dos danos, bem como mecanismos eficientes para os remover, restaurando o estado inicial, ou seja, possui uma aptidão intrínseca de autorreparação. Esta constante capacidade de resposta do tecido ósseo é conseguida essencialmente através dos processos de remodelação.

A aplicação de estímulos mecânicos tem uma profunda influência no metabolismo ósseo, podendo desencadear processos de modelação ou de remodelação.

Os mecanismos de modelação acompanham geralmente os processos de crescimento e de hipertrofia do sistema musculoesquelético, modificando estrategicamente o tamanho e a forma das estruturas ósseas. A modelação óssea consiste na formação de tecido ósseo (onde é necessário), sem que tenha ocorrido qualquer reabsorção prévia e representa não só o resultado do *blueprint* genético do indivíduo, como também uma resposta adaptativa ao microambiente. Assim sendo, associa fatores genéticos a fatores epigenéticos. Esta adaptação gradual da estrutura à carga pode ainda ser considerada como um processo de prevenção (antecipada) de danos.

Por sua vez, a remodelação implica, a reconstrução de uma área óssea compreendendo sempre um processo de reabsorção antes de qualquer etapa de formação.

Pode afirmar-se, pois, que a modelação (construção) está mais relacionada com a prevenção dos danos, enquanto que a remodelação (reconstrução) está mais ligada com a sua reparação. A modelação e remodelação óssea minimizam o *stress* alterando a estrutura óssea, para evitar a ocorrência de situações de fraturas (falências) ósseas.

Em condições fisiológicas, existe um equilíbrio entre formação e reabsorção ósseas. No entanto, se os estímulos mecânicos forem muito reduzidos (desuso), a reabsorção óssea supera a formação, causando perdas de massa óssea que podem ser bastante significativas, conduzindo à atrofia óssea de desuso ou à esponjialização óssea.

Se, ao invés, os estímulos mecânicos forem intensos e frequentes, o tecido ósseo é habitualmente reforçado pela deposição de novo tecido e aumento da massa óssea (modelação, lei de Wolff). No entanto, sob condições de excesso de carga pode sofrer e acumular danos estruturais (fadiga), que acabam por estimular também a remodelação. Convém realçar aqui que os estímulos mecânicos fisiológicos possuem intensidade e frequência suficientes para originarem danos por fadiga no tecido ósseo.

A Fig. 15 pretende fazer uma síntese das considerações referidas. Em condições fisiológicas existe, no tecido ósseo, uma íntima relação e integração entre estímulos mecânicos e respostas celulares, visando uma constante adaptação ou reparação da microestrutura óssea.

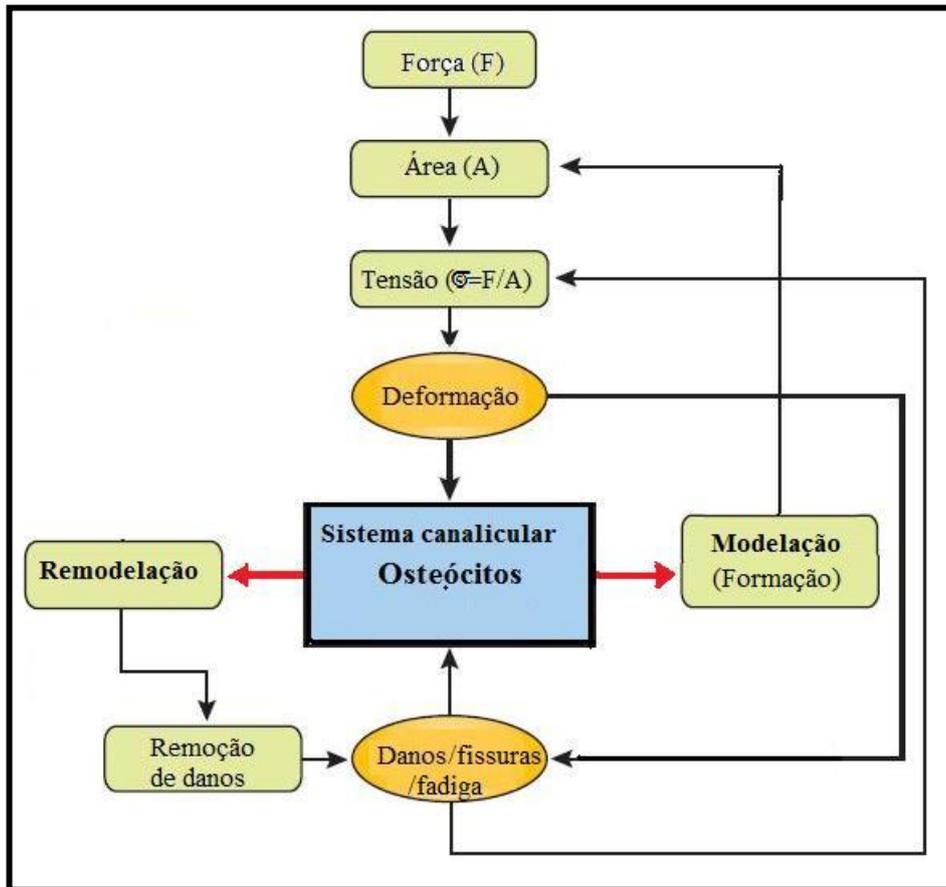


Fig. 15 – Modelo biomecânico dos processos de (re)modelação. A aplicação de uma força por unidade de área (tensão) causa a deformação da matriz óssea. Esta deformação é transmitida aos osteócitos que desencadeiam processos de modelação (causando um aumento da massa óssea e da área de aplicação da força), ou remodelação (substituição do tecido ósseo para adaptação funcional ou para remoção dos danos). Adaptado de Bonewald LF (2008).

Os processos de remodelação são a tradução funcional destas respostas celulares, sendo os osteócitos os principais “guardiões” do tecido ósseo. Porém, o desgaste causado pelo uso ou “abuso” continuado pode produzir situações de fadiga e danos mais sérios, que enfraquecem o tecido ósseo. A apoptose dos osteócitos provocada por estas circunstâncias pode desencadear uma atividade de remodelação tal que, associada aos danos pré-existentes, cria um aumento de porosidade que, embora transitória, pode agravar mais esta situação levando à ruptura do material.

Assim, os mecanismos de remodelação óssea permitem não só a constante adaptação funcional e otimização das estruturas ósseas, como ajudam a remover e reparar áreas de tecido danificado. Nesta perspetiva, pode

considerar-se o processo de reabsorção como uma forma, altamente especializada e controlada, de autoimunidade visando substituir uma área de tecido ósseo estrutural ou funcionalmente comprometida ou danificada. Esta permanente adaptação óssea representa uma constante resposta e interligação deste tecido ao meio, de forma a otimizar o seu desempenho funcional, visando sempre uma maior eficácia sob condições de carga. De referir, ainda, que a modelação e remodelação óssea permitem o reforço da resistência do osso às cargas mecânicas, sem prejuízo da sua mobilidade (o que é conseguido sem que ocorra aumento da massa óssea).

A principal vantagem conferida pela remodelação óssea, em termos de evolução, parece ser a manutenção de um esqueleto substancialmente mais leve. Os benefícios mais óbvios de um esqueleto leve, têm a ver com uma maior eficácia em termos de velocidade, resiliência e energia, conferindo importantes capacidades de sobrevivência.

No entanto, a relativa leveza do osso pode também estar na origem de uma maior acumulação de danos por fadiga. Mesmo sob condições fisiológicas normais, os esforços podem ser demasiado elevados em relação ao que a estrutura do osso pode suportar (por exemplo fraturas dos metatarsos por marcha militar prolongada). Deste modo, pode ocorrer uma maior propagação de fissuras, e assim se compreende que os danos por fadiga possam surgir no decurso da atividade normal de um indivíduo. A fadiga parece ser portanto um fenómeno sempre presente se não mesmo necessário. De facto, mesmo o *stress* fisiológico do dia a dia provoca com o tempo o aparecimento de fadiga na estrutura óssea. Estes danos enfraquecem o tecido ósseo, estando associados tanto à apoptose dos osteócitos, como à ativação dos fenómenos de remodelação, relacionados com a sua reconstrução.

Outra importante vantagem conferida pela remodelação é a maior flexibilidade, menor rigidez e maior tenacidade (maior capacidade de absorção e armazenamento de energia sem fraturar) da estrutura óssea.

Existem algumas vantagens e algumas desvantagens entre rigidez e resistência (conferidas por um maior grau de mineralização) e a tenacidade e capacidade de absorção de energia (associadas a mais baixos teores de mineralização). Com efeito, aumentos relativamente pequenos no conteúdo

mineral resultam em grandes aumentos de resistência, mas também em grandes reduções na tenacidade. O equilíbrio ideal entre rigidez e resistência ao choque pode ser muito difícil de estabelecer para qualquer osso em particular, mas os extremos são certamente indesejáveis e situações a evitar.

Importa acentuar, ainda, que as forças aplicadas são fundamentais para assegurar a vitalidade das células ósseas. Como estas células se encontram imobilizadas no seio de uma matriz mineralizada, o transporte de nutrientes e oxigénio é feito através de uma rede de canalículos e não por difusão. São as forças mecânicas que, ao originarem deformações na matriz, causam a deslocação destes fluidos.

Assim, a sobrevivência dos osteócitos no interior da matriz óssea depende da capacidade de deformação desta matriz, como resposta aos estímulos mecânicos. Com efeito, os osteócitos necessitam da existência de um fluxo constante e com um certo nível de pressão hidrostática no sistema lacuno-canalicular. Esta interação, entre o movimento do fluido e os osteócitos, constitui um estímulo poderoso e imprescindível à manutenção da sua atividade celular, desencadeando também mecanismos que aumentam a resistência mecânica do osso e inibem e/ou previnem a perda da massa óssea.

Na verdade parece poder afirmar-se que num tecido ósseo, em condições normais existe um ténue estado de equilíbrio entre rigidez e resistência versus tenacidade e flexibilidade e, ainda, entre nutrição fisiológica dos osteócitos versus danos por fadiga.

Em síntese, a manutenção de um esqueleto leve tem conferido manifestas vantagens mas, por outro lado, implica também que os estímulos mecânicos, mesmo os fisiológicos, provoquem deformações que acabam por ser relativamente elevadas, necessitando de uma permanente remodelação. Deste modo os danos por fadiga estão sempre presentes, constituindo mesmo uma condição "necessária" à fisiologia óssea (sobrevivência e funcionalidade dos osteócitos) e aos processos de remodelação.

Uma pequena nota final para sublinhar que se a atividade diária normal resulta, ao fim de algum tempo, no aparecimento de microdanos e se os processos de remodelação constituem o único meio de os reparar, então

todos os mecanismos que inibam a remodelação óssea levam a uma acumulação de microdanos. Este facto está demonstrado experimentalmente em cães tratados com bifosfonatos (residronato e alendroato), sendo o aumento das lesões inversamente proporcional à diminuição da frequência da ativação dos processos de remodelação. Assim, pode afirmar-se que os mecanismos de remodelação óssea são necessários não apenas para o normal funcionamento e constante capacidade de adaptação do tecido ósseo, como também para prevenir os microdanos acumulados por fadiga. A utilização de agentes que bloqueiem ou previnam este processo não será o procedimento mais adequado, pois ao impedir a remoção dos danos, pode acarretar efeitos nefastos. Dentro deste âmbito, estão as fraturas da extremidade superior do fémur que ocorrem em doentes submetidos a medicação prolongada com bifosfonatos (fármacos que inibem a ação dos osteoclastos) para tratamento da osteoporose. As fissuras podem dar origem a uma fratura óssea que necessita, habitualmente, de uma estabilização cirúrgica.

6.2. Perspetiva metabólica: homeostasia do cálcio plasmático.

O tecido ósseo contém no seu conjunto 99% do cálcio do organismo e funciona como reserva deste ião, cuja concentração no sangue (calcémia) deve ser mantida constante. Por este motivo, verifica-se um intercâmbio contínuo entre o plasma sanguíneo e os ossos. O cálcio absorvido (da alimentação) e que faria aumentar a concentração sanguínea deste ião, é rapidamente depositado no tecido ósseo. De uma maneira inversa, o cálcio dos ossos é também rapidamente mobilizado, quando diminui a sua concentração no sangue. Tradicionalmente existem dois mecanismos de mobilização do cálcio depositado no tecido ósseo. Ou uma simples transferência dos iões de Ca^+ diretamente dos cristais de hidroxiapatite para o líquido intersticial, ou um mecanismo decorrente da ação da Paratormona (PTH). Enquanto este último processo está associado à atividade dos osteoclastos, o primeiro, é puramente físico, favorecido pelos grandes cristais de hidroxiapatite.

São vários os investigadores que afirmam que uma grande maioria das áreas de reabsorção, parece não estar espacialmente relacionada com zonas de microdano, e muitas áreas de microfissuras não estão associadas a processos de reabsorção. Este facto parece reforçar um antigo conceito segundo o qual a maioria dos processos de remodelação teriam como objetivo primário um propósito metabólico, particularmente relacionado com a homeostasia do cálcio.

A este respeito Parffit et al. referem que o "turnover" do tecido ósseo esponjoso presente nas vértebras é consideravelmente maior do que o necessário para manter uma boa capacidade mecânica e, ainda, que o "turnover" ósseo é maioritariamente regulado por fatores sistémicos (hormonais ou não) que não estão relacionadas com objetivos mecânicos, nem estão orientados para localizações anatómicas precisas. Estes autores descrevem mesmo a remodelação como *"redundant, surplus, spare or stochastic"*.

Onde, quando e como se estabelece a interação entre o sistema de regulação hormonal e mecânico continua uma questão em aberto. De facto, é ainda difícil de compreender a ligação entre o controlo central do mecanismo de remodelação e a regulação feita a nível regional (visando uma adaptação estratégica e localizada a solicitações mecânicas ou à remoção de danos).

Por outro lado, parece confirmar-se que as células de revestimento ósseo conseguem "manipular" a solubilidade do cálcio, sem que haja ativação dos característicos e habituais mecanismos de remodelação. Foi demonstrada a rápida entrada e saída de cálcio do osso como resposta à administração de PTH e Calcitonina, sem qualquer recurso a processos visíveis de reabsorção osteoclástica. Estas observações foram, mais tarde, confirmadas tendo sido atribuído às células de revestimento esta capacidade. Apesar destas evidências continuam, ainda, muitas questões em aberto que necessitam de ser esclarecidas, apontando as investigações feitas até ao presente para a existência de proteínas não colagénicas (localizadas entre as células e a superfície da matriz mineralizada) que teriam uma influência determinante na solubilidade dos cristais de hidroxiapatite. Parece, assim, que muito mais cálcio entra e sai do tecido ósseo como consequência da presença destas

proteínas e do seu equilíbrio, do que propriamente pelos mecanismos de reabsorção osteoclásticas.

Em síntese:

Considerando a problemática anteriormente descrita pode afirmar-se que apesar de muitas e consideráveis incertezas é possível estabelecerem-se dois conceitos importantes:

- a) Muitos processos de remodelação "*Targeted Bone remodelling*" são dirigidos para a remoção e substituição de zonas de fadiga;
- b) Muitos outros não parecem satisfazer estes objetivos servindo outros propósitos, metabólicos ou não, através de "*stochastic*" ou "*Nontargeted Bone remodelling*".

6.3. Ciclo da remodelação óssea

Como já foi referido, a remodelação óssea inclui uma fase de reabsorção osteoclástica logo seguida por uma etapa de formação osteoblástica. Este processo intimamente associado no tempo e no espaço constitui entidades anatómicas temporárias que Frost (2001) denominou por "*basic metabolizing units*", um termo que ele próprio reformulou mais tarde para "*basic multicellular units*", abreviado por sua vez para *BMUs*.

As *BMUs* são estruturas tridimensionais formando no tecido cortical verdadeiros túneis/cones de reabsorção que serão prontamente mas lentamente preenchidos por novo osso conhecidos como *cuttings/filling cones*. Nas trabéculas do tecido ósseo esponjoso, os locais em reabsorção apresentam-se como escavações ou lacunas (lacunas de Howship).

O conjunto de células responsáveis por estas atividades multidisciplinares é, também, coletivamente designado por *BMU* e reúne uma equipa de células osteoclásticas e uma de células osteoblásticas. Destas unidades fazem também parte outras populações celulares, consideradas por vezes como células não *BMU*, que incluem células mesenquimatosas e células do tecido conjuntivo, muitas delas pertencentes ao sistema imunitário, sistema hematopoiético, bem como um elemento vascular especializado para o efeito.

Cada *Remodeling Project* começa com o reconhecimento de uma área alvo definindo uma região onde o osso necessita de ser substituído. Frost denominou esta etapa (que assinala e define o local de nascimento de uma nova *BMU*) como fase de ativação, sendo mais recentemente redefinida como a conversão duma superfície óssea de um estado quiescente para um estado ativo. Este processo requer uma alteração de comportamento das células de revestimento ósseo (*lining cells*), bem como o recrutamento e migração de células da linha osteoclástica para o local, e o reforço dos mecanismos de osteoclastogénese. Este “acontecimento” envolve a digestão da fina membrana de endóstio por enzimas produzidas pelas células de revestimento, conduzindo a uma fácil exposição da matriz óssea mineralizada. A superfície de matriz óssea desnudada e exposta atrai os pré-osteoclastos presentes da circulação sanguínea contribuindo, também, para a sua maturação e ativação. Todo este processo é acompanhado por mecanismos de neoangiogénese.

O ciclo de remodelação óssea compreende uma série ordenada de eventos (Fig. 16, 17 e 18) que vão converter uma superfície em repouso numa zona em remodelação, seguindo uma sequência imutável de ativação (A) → reabsorção (R) → formação (F). A remodelação óssea consiste, pois, num processo pelo qual é eliminado uma área de tecido ósseo que será substituída por outra, com pouca ou nenhuma alteração da massa óssea. Este fenómeno pode verificar-se, igualmente, (e seguindo a mesma ordenação) noutros tecidos duros.

A fase de ativação (A) compreende, como já foi referido, o reconhecimento de uma área precisa da superfície óssea e a sua preparação para o processo de remodelação. O início desta fase parece ser da responsabilidade de citocinas pró-inflamatórias produzidas pelos osteócitos em “sofrimento” ou em apoptose, localizados na área que irá ser sujeita a remodelação. Esta situação leva ao recrutamento e migração dos precursores mononucleados osteoclásticos e ao reforço dos mecanismos da osteoclastogénese, subjacente aos quais está normalmente o eixo RANKL/RANK/OPG com particular destaque para os elevados teores de RANKL em relação aos de OPG.

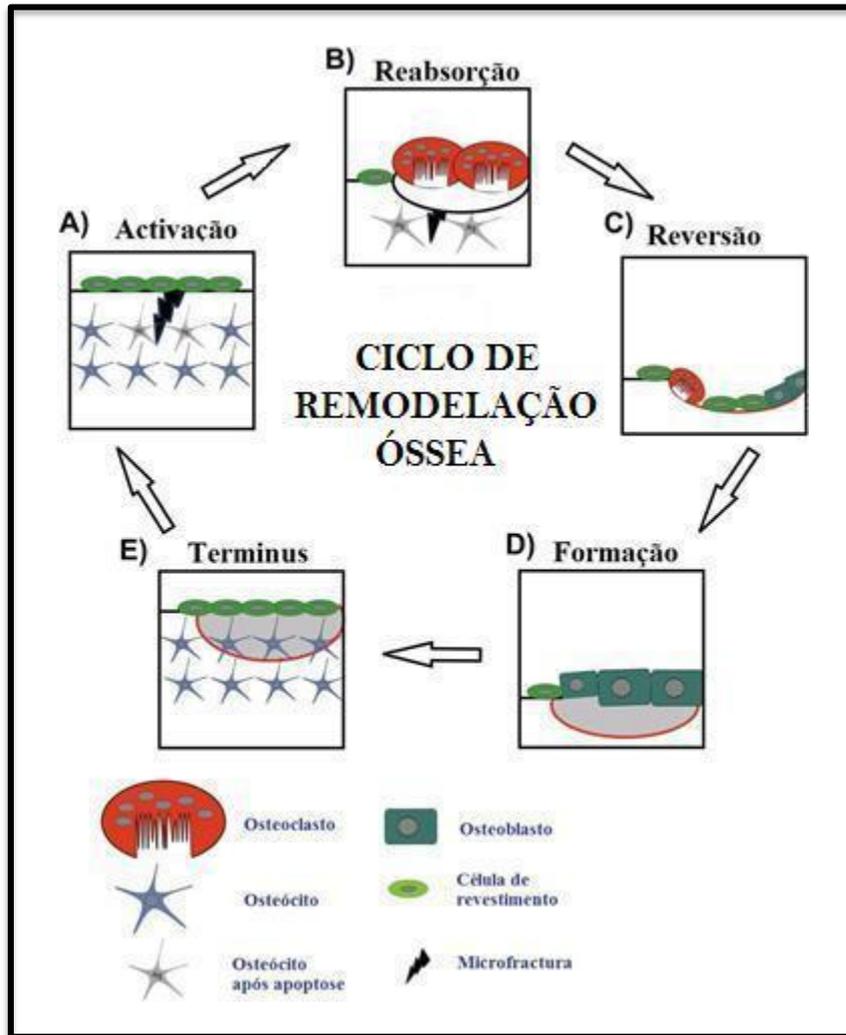


Fig. 16. Esquema representativo do ciclo de remodelação óssea. Adaptado de Henriksen K. et al (2009)

Está ainda por esclarecer para além das células linfocitárias, quais as células ósseas que, sob estímulos ativadores, aumentam a expressão de RANKL, se apenas os pré-osteoblastos presentes no microambiente ósseo, se também as células de revestimento ósseo.

No final desta etapa, verifica-se uma inversão/reversão nesta sequência, iniciando-se o processo de reparação observando-se, desta vez, uma chamada de células osteoprogenitoras para este local. Nesta altura observa-se também o aparecimento de uma linha cimentante, que define uma nítida fronteira entre áreas de tecido ósseo formadas por diferentes gerações de osteoblastos. As linhas cimentantes são verdadeiras estruturas

morfológicas cuja composição se desvia da restante matriz, sendo pobres em colagénio.

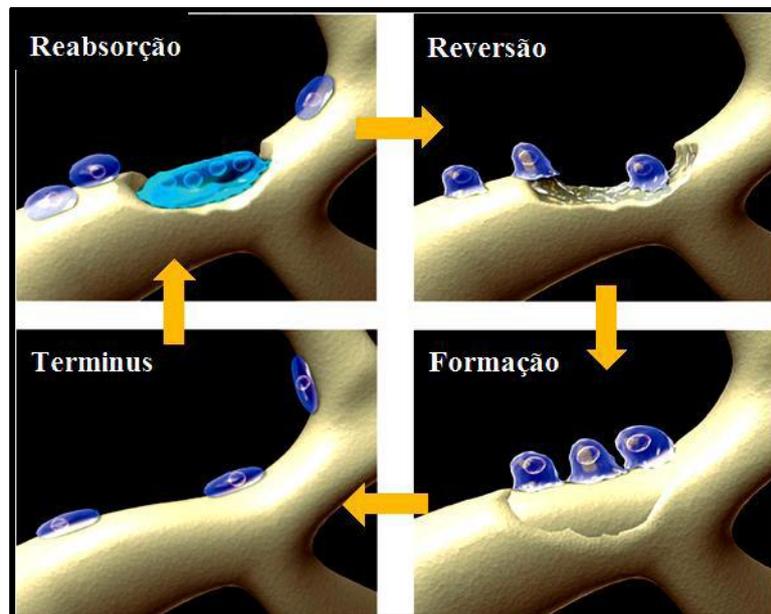


Figura 17 - Esquema representativo do ciclo de remodelação óssea observado no tecido ósseo esponjoso. Adaptado de Coxon, J.P. (2004).

Estas linhas assinalam, deste modo, uma reversão da fase de reabsorção para o início do processo de reparação. As linhas de reversão são marcas indeléveis na estrutura óssea, traduzindo a intensa e constante remodelação que caracteriza este tecido.

Será nesta fase de reversão que se dá o "coupling" entre osteoclastos e osteoblastos, verificando-se uma complexa comunicação bidirecional (*complex forward-reverse signaling system*) que vai inibir a atividade dos osteoclastos e promover a dos osteoblastos.

Na fase de reabsorção (R) os osteoclastos cavam no osso esponjoso lacunas de contornos muito irregulares (lacunas Howship) e no osso cortical, cavidades cilíndricas designadas por cones de reabsorção (*cutting cones*).

Convém referir neste âmbito a intervenção do sistema *Ephrin-Eph* como mediador da interação entre osteoclastos e osteoblastos. A expressão de *EphrinB2* (nos osteoclastos) leva à ativação de *EphB4* (nos osteoblastos) e ao início da formação da matriz óssea. Por sua vez, a expressão de *EphB4* (nos osteoblastos) vai inibir a diferenciação osteoclástica via *EphrinB2*. Uma vez que estas moléculas são proteínas transmembranares, a ativação deste

sistema requer um contacto célula a célula regulando, ao mesmo tempo, a atividade de cada uma delas. Deste modo, os osteoclastos poderão desencadear a diferenciação dos osteoblastos (muitos deles certamente resultantes da conversão das células de revestimento em células osteoblásticas ativas), representando a presença de osteoclastos um fator essencial para a diferenciação dos osteoblastos.

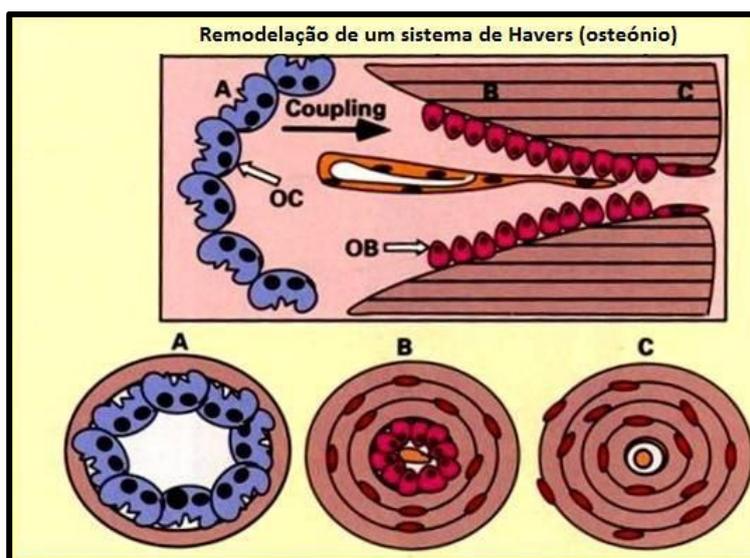


Fig. 18 – Esquema representativo do ciclo de remodelação óssea observado no tecido ósseo compacto, constituindo um cone de reabsorção óssea. Adaptado de Garant P.R. (2003). A – Fase de Reabsorção (osteoclástica); B – Fase inicial de formação um sistema de Havers (Osteoblástica). C – Fase terminal - *Terminus* do processo de remodelação de um sistema de Havers. OC – Osteoclastos. OB – Osteoblastos.

Uma das mais fortes evidências neste sentido, resulta do facto de se observar sempre uma fase de reabsorção antes da fase de formação, e o aparecimento de novo osso preferencialmente em locais onde previamente se verificou um processo de reabsorção. Também em estudos *in vitro* se observou, que os osteoblastos em cultura elegem as superfícies côncavas e as lacunas de reabsorção para o seu desenvolvimento. Estes aspetos pressupõem a existência nas lacunas de reabsorção de condições ideais para a osteogénese. Neste âmbito, convém não esquecer a influência que podem ter as superfícies ósseas, particularmente a sua geometria de concavidade, no sentido de estimular e modular as respostas osteogénicas.

De facto, as lacunas de Howship, concavidades escavadas pelos osteoclastos, constituem locais estratégicos e privilegiados para a formação de matriz osteóide e sua posterior mineralização (Fig. 19). A geometria, dimensão, composição, microarquitetura e, ainda, a nanoestrutura de superfície destas cavidades criam um microambiente que propícia o aparecimento de um fenótipo osteoblástico. Estas lacunas parecem favorecer, ou mesmo contribuir, para uma sequestração de iões e de fatores de crescimento ou outras proteínas com efeitos osteoindutores, estimulando ao mesmo tempo o processo de angiogénese, pré-requisito essencial para a osteogénese. Compreende-se, facilmente, que os osteoclastos, na sua atividade de reabsorção de matriz mineralizada, para além do seu direto envolvimento na reparação de áreas ósseas danificadas e no equilíbrio homeostático do cálcio estejam, também e sobretudo, a preparar estas superfícies e a criar condições para uma posterior e eficaz colonização pelas células da linha osteoblástica. Esta dinâmica osteoclástica está na base do característico processo de substituição em superfície dos materiais do enxerto ósseo.

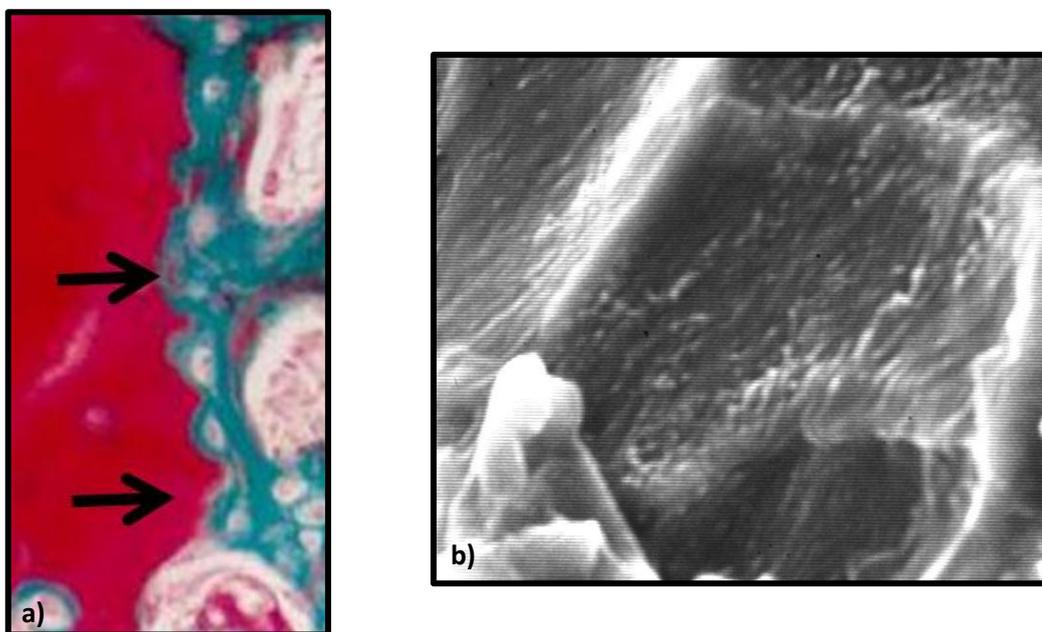


Fig. 19. a) Aspeto em microscopia de luz de várias lacunas de Howship colonizadas por osteoblastos numa intensa atividade de síntese de matriz óssea. b) Imagem em microscopia de varrimento de uma lacuna de Howship (imagem gentilmente cedida por Martins G).

A "peugada" deixada pela atividade osteoclástica, terá uma micro, submicro e nanotopografia de excelência para a indução de um fenótipo osteoblástico. Esta marca estrutural na superfície óssea, será sempre de considerar nos processos biomiméticos de fabricação de materiais de substituição óssea, seguindo, deste modo, os ensinamentos da natureza.

O preenchimento da cavidade de reabsorção é naturalmente da responsabilidade das células da linha osteoblástica. Esta fase de formação (F) consiste, pois, na síntese de matriz osteóide e na sua posterior mineralização, tendo como resultado final a reconstrução da lacuna óssea (de Howship) ou de um cone de reabsorção óssea com novo osso.

Durante este período de reconstrução, várias são as moléculas que podem ser consideradas como osteoindutoras, sendo muitas delas produzidas localmente, enquanto outras estavam presentes na matriz óssea sob uma forma inativa (TGF, IGF-1, PDGF) mas que, entretanto, foram libertadas e ativadas na sequência do processo de degradação osteoclástica.

Nesta fase, convém acentuar mais uma vez a importância da presença de osteoclastos para o processo de formação óssea. A simples presença de osteoclastos, independentemente da sua capacidade de reabsorção é essencial para os mecanismos de osteogénese, secretando fatores ativadores dos osteoblastos. Neste âmbito, é impossível deixar de referir que as terapêuticas mais utilizadas na osteoporose, e em outras doenças acompanhadas de perda de massa óssea, consistem em fármacos exclusivamente antiosteoclásticos. Este procedimento não será certamente o mais recomendado, uma vez que vai diminuir a presença de osteoclastos e, deste modo, o estímulo principal para a formação óssea.

O *terminus* da sequência de remodelação parece ser também, tal como o seu início, da responsabilidade dos osteócitos. Foi já demonstrado que os osteócitos, presentes na matriz óssea mineralizada, estão envolvidos num processo de regulação (através da síntese de diversas moléculas como a esclerostina), que determina a diferenciação dos osteoblastos secretores em células de revestimento ósseo, pondo fim ao ciclo de remodelação.

De realçar que no ciclo de remodelação a fase de reabsorção é bem mais rápida do que a de formação. Normalmente, a quantidade de tecido ósseo

reabsorvido num período de 3 semanas leva aproximadamente 3 meses a ser substituído.

Por outro lado, a velocidade da remodelação do osso esponjoso ou trabecular é muito maior que a do osso cortical. Este aspeto está intimamente relacionado com a sua grande área de superfície de contacto com o meio envolvente. Deste modo, pode responder com mais facilidade às várias solicitações, apresentando uma maior capacidade metabólica e uma maior atividade de remodelação do que o osso cortical. Encontramos, pois, por este facto, uma maior incidência de patologia (osteoporose, metástases, osteomielites), nesta variedade de tecido ósseo.

Ainda que a associação e alinhamento sequencial entre reabsorção (osteoclástica) e formação (osteoblástica) raramente esteja afetada, o balanço final em termos de massa óssea pode variar consideravelmente. A maior parte das doenças metabólicas e inflamatórias que atingem o tecido ósseo, manifestam-se geralmente por perturbações na dinâmica da remodelação resultando, quase invariavelmente, num decréscimo da massa óssea.

A reabsorção e a formação são fenómenos que estão intimamente acoplados, visto que o início da primeira estimula a atividade reparadora da segunda, de modo a que a reabsorção de uma certa quantidade de tecido ósseo seja (em princípio) substituído pela mesma quantidade de novo osso.

A atividade das células participantes no processo de remodelação (*BMUs*), para além de uma regulação sistémica apresentam, como já foi descrito, uma importante regulação local. Com efeito, verifica-se a existência de um conjunto de sinais e mensagens intercelulares, estabelecendo um constante "diálogo" entre osteócitos, osteoblastos e osteoclastos. Este sistema de sinalização e comunicação local, será o maior responsável pela ação concertada de todas estas células e pela coordenação e transição equilibrada das diferentes etapas da remodelação.

Tendo em consideração o atual desenvolvimento da osteoimunologia e a comunicação e integração das células do sistema imunitário e do sistema osteoarticular, pode afirmar-se que a dinâmica da remodelação parece

desenvolver-se tendo como ponto de partida e base de sustentação o sistema imunológico.

Com efeito, um mecanismo de tipo inflamatório pode estar na base de todo o processo de remodelação, podendo mesmo considerar-se o próprio processo de remodelação (ele próprio), como sendo uma resposta inflamatória localizada nas áreas de tecido ósseo estruturalmente ou funcionalmente danificado. Estas áreas podem ser reconhecidas como *non-self* sendo o processo de reabsorção óssea entendido, nesta perspetiva, como uma forma altamente especializada e controlada de autoimunidade.

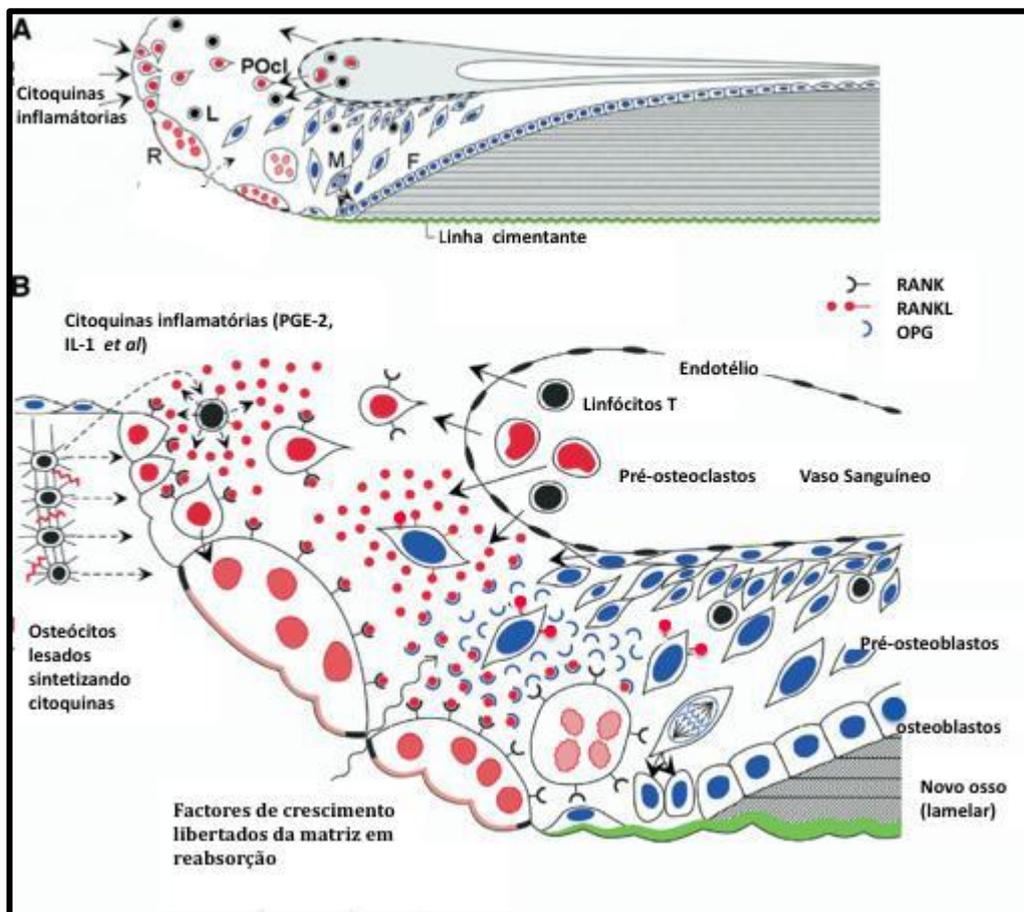


Fig. 20 - A) Hemi-corte de um cutting / filling cone ilustrando a atividade celular associada ao processo de remodelação óssea; B) maior ampliação da frente de reabsorção do *cutting / filling* cone A, esquematizando o mecanismo molecular e celular (descrito no texto) envolvido na sequência de ativação (A) reabsorção (R) formação (F) via RANKL/RANK/OPG. Linfócitos T (preto), células da linha osteoclástica (vermelho) e células da linha osteoblástica (azul). Adaptado de Roberts, W.E. (2006).

O início deste processo é induzido por citocinas inflamatórias (prostaglandinas, interleucinas, IL-1, IL-6, IL-11, TNF- α , TNF- β e outras) produzidas não só pelos osteócitos comprometidos ou danificados, como por células (ativadas) do sistema imune, presentes no microambiente ósseo. Todos estes fatores estimulam, no seu conjunto, a produção de RANKL, desencadeando e/ou reforçando, através do sistema RANKL/RANK/OPG, os processos de osteoclastogénese e, conseqüentemente, os mecanismos de reabsorção e remodelação óssea.

Em jeito de conclusão, a Fig. 20 pretende ilustrar e fazer uma pequena sinopse do processo molecular e celular da reabsorção óssea “vivido” na frente de reabsorção de um *cutting/filling cone*, seguindo a tradicional sequência de ativação – reabsorção – formação, via RANKL/RANK/OPG. O início e localização deste processo é induzido pelas citocinas inflamatórias produzidas pelos osteócitos lesados. Estas citocinas (PGE-2, IL-1, por exemplo) atraem, entre outras células do sistema imune, os linfócitos T e estimulam a produção de RANKL (tanto pelas células imunitárias como pelas células de revestimento e osteoblastos). Entretanto as células da linha osteoclástica, também provenientes da corrente sanguínea, chegam à frente de remodelação (atraídas pela situação criada) e começam a desenvolver os recetores RANK. O RANKL ao ligar-se ao seu recetor RANK desencadeia a maturação e ativação dos osteoclastos que iniciam e caracterizam a fase de reabsorção. Como consequência da atividade dos osteoclastos começam a libertar-se (da matriz óssea reabsorvida), vários fatores de crescimento responsáveis pela proliferação e diferenciação dos pré-osteoblastos (que migram das zonas perivasculares ou mesmo da corrente sanguínea para esta área de baixa densidade celular). Neste processo parecem, também, estar envolvidas as células de revestimento ósseo adjacentes aos locais de reabsorção sendo imprescindível, ainda, a presença de osteoclastos, funcionantes ou não (através da síntese de fatores parácrinos ou mesmo de contactos celulares).

Entretanto os pré-osteoblastos vão produzindo OPG (com grande afinidade para o RANKL) que ao ligar-se ao RANKL desativa os osteoclastos, pondo termo à fase de reabsorção. Os osteoblastos, entretanto, diferenciados

iniciam a formação e mineralização de novo tecido ósseo completando-se, assim, o processo de turnover ósseo.

Uma nota final para chamar a atenção para a existência de certas situações patológicas de natureza inflamatória, integradas no âmbito da osteo-imunologia, capazes de ativar por si só os mecanismos osteoclastogênicos, sem interferência de osteoblastos e do eixo RANKL/RANK.

Em síntese:

- a remodelação óssea representa a mais notável resposta do tecido ósseo, tendo atrás de si uma complexa maquinaria celular que por sua vez, está sujeita à ação de numerosos fatores de regulação;
- de sublinhar, ainda, que o mecanismo de remodelação é um processo altamente localizado;
- este fenómeno pressupõe uma completa coordenação e integração de atividades celulares controladas pela interação de estímulos mecânicos, moléculas circulantes de natureza hormonal (com particular ênfase para a PTH) e fatores de crescimento produzidos localmente. Parecem ser no entanto as moléculas produzidas ou libertadas localmente, no microambiente ósseo, que constituem os principais agentes moduladores do ciclo celular da remodelação, verificando-se o estabelecimento de vias de comunicação entre as diversas células ósseas que, como veremos, não são de sentido único. Neste processo concorrem/participam também outras populações celulares pertencentes ao sistema imune, sistema vascular, sistema hematopoiético que não terão, certamente, menos importância;
- os fatores produzidos ou libertados localmente são os principais agentes moduladores do ciclo da remodelação óssea;
- o processo de remodelação pode ser considerado como uma resposta inflamatória localizada nas áreas de tecido ósseo estrutural ou funcionalmente danificadas (autoimunidade);
- o início da remodelação óssea é induzido por citocinas inflamatórias (prostaglandinas, IL-1, IL-6, IL-11, TNF- α) produzidas não só pelos

osteócitos comprometidos ou danificados, como por células do sistema imunitário;

- todos estes fatores estimulam, no seu conjunto, a produção de RANKL, desencadeando e/ou reforçando os processos de osteoclastogénese.

Pode, pois, afirmar-se que o tecido ósseo constitui um notável material de construção, de natureza biológica, com a singular capacidade de edificar estruturas muito resistentes que se remodelam e reparam a si próprias.

7. Bibliografia recomendada

Bonewald LF, Johnson ML. Osteocytes, mechanosensing and Wnt signaling. 2008; Bone; 42(4):606-15.

Chenu C, Delmas PD. Physiologie de l'os. 1994; Encycl. Méd. Chir. (Elsevier, Paris-France), Appareil locomoteur, 14-002-B-10, 10p.

Coxon J.P. e tal (2004). Advances in the use of bisphosphonates in the prostate cancer setting. 2004; Prostate Cancer and Prostatic Diseases 7, 99-104.

Faloni APS. Morte celular de osteoclastos do osso alveolar de ratas tratadas com estrogênio. 2006; Tese de Mestrado em Ciências, São Paulo, Universidade Federal de São Paulo.

Fawcett DW, Jensch RP. Bloom & Fawcett's Concise Histology. 2002; London, Arnold publishers.

Frost HM. From Wolff's law to the Utah paradigm: insights about bone physiology and its clinical applications. 2001; Anat Rec; 262(4):398-419.

Frost HM. Skeletal structural adaptations to mechanical usage (SATMU). 1990; Anat Rec 226: 403-422.

Garant PR. Oral Cells and Tissues. 2003; Quintessence Publishing (IL) p. 195-238.

Henriksen K. et al. Local communication on and within bone controls bone remodelling. 2009; Elsevier Bone; 44:1026-10.

Judas F. Contribuição para o estudo de enxertos ósseos granulados alógenos e de biomateriais. 2002; Tese de Doutoramento, FMUC, Coimbra.

- Junqueira LCCJ. Tecido ósseo. 2008; In: Koogan G, editor Histologia Básica. 11^a edição ed; p. 108-26.
- Katchburian E, Arana V. Histologia e Embriologia Oral. 1999, Editorial Médica Panamericana, S.A.
- Kierszenbaum AL. Histologia e Biologia Celular. 2008; In: Kierszenbaum AL, Editor. Tradução da 2^o Edição ed: Mosby-Elsevier; p. 136-59.
- Nanci A, Ten Cate AR. Ten Cate's - Oral Histology - Development, Structure, and Function. 2003; In: Nanci A, edito, Sixth Edition, p. 34-49.
- Nijweide P.J. et al. The osteocyte. 2002; in Bilezikian J.P., Raisz L.G., Rodan. Principles of bone biology. Second edition, Academic Press; 6:93-107.
- Orcel P, Vernejoul MC. Histologie de l'os normal. 1995; Encycl Méd Chir Elsevier, Paris-France, Appareil locomoteur, 14-002-A-10, 8p.
- Parfitt AM. Osteonal and hemi-osteonal remodeling: the spatial and temporal framework for signal traffic in adult human bone. 1994; J Cell Biochem; 55(3):273-286.
- Parfitt AM. Osteonal and hemi-osteonal remodeling: the spatial and temporal framework for signal traffic in adult human bone. 1994; J Cell Biochem; 55(3):273-86.
- Roberts WE, Bruce NE, David BB, James KH, Jeffery AR. Remodeling of Mineralized Tissues, Part II: Control and Pathophysiology. 2006; Seminars in orthodontics ;12(4):238-5.
- Roberts WE, Jeffery AR, Bruce NE, David BB, James KH. Remodeling of Mineralized Tissues, Part I: The Frost Legacy. 2006; Seminars in orthodontics; 12(4):216-37.
- Roberts WE, Simmons KE, Garetto LP, DeCastro RA. Bone physiology and metabolism in dental implantology: risk factors for osteoporosis and other metabolic bone diseases. 2006; Implant Dent 1(1):11-21.
- Robling AG, Castillo AB, Turner CH. Biomechanical and Molecular Regulation of Bone Remodeling. 2006; Annu Rev Biomed Eng; 8:455-498.
- Schilling et al. Osteoclasts and biomaterials. 2006; European Journal of trauma 2006, vol 1, p. 107-113.
- Seeman E. Osteocytes-martyrs for integrity of bone strength. 2006; Osteoporos Int 17:1443-1448.
- Standring S. Gray's Anatomy, 40th Edition - The Anatomical Basis of Clinical Practice. 2009; Expert Consult Churchill Livingstone, p. 27-59.

Väänänen H K, et al. Osteoclast lineage and function. 2008; Archives of Biochemistry and Biophysics 473: 132-138.

Wolff, J. The law of bone remodeling. 1986; translated from the 1892 original, Das Gesetz der Transformation der Knochen, by P. Maquet and R. Furlong. Berlin: Springer Verlag.