

Tecido ósseo: aspectos morfológicos e histofisiológicos

Denise Carleto ANDIA^a, Paulo Sérgio CERRI^b, Luis Carlos SPOLIDORIO^c

^aMestre em Periodontia, Programa de Pós-Graduação em Periodontia, Faculdade de Odontologia, UNESP, 14801-903 Araraquara - SP

^bDepartamento de Morfologia, Faculdade de Odontologia, UNESP, 14801-903 Araraquara - SP

^cDepartamento de Fisiologia e Patologia, Faculdade de Odontologia, UNESP, 14801-903 Araraquara - SP

Andia DC, Cerri PS, Spolidorio LC. Bone tissue: morphological and histophysiological aspects. Rev Odontol UNESP. 2006; 35(2): 191-98.

Resumo: O tecido ósseo tem papel importante no suporte, proteção e locomoção e está sob o controle de **fatores sistêmicos**, como os hormônios, e **fatores locais**, como os fatores de crescimento e as citocinas. Portanto, os sistemas imune e esquelético encontram-se intimamente relacionados; a esta área interdisciplinar de estudos deu-se o nome de Osteoimunologia. A homeostase do sistema esquelético está na dependência de uma remodelação óssea equilibrada, ou seja, da dinâmica balanceada entre a atividade dos osteoblastos, células de formação óssea, e osteoclastos, células de reabsorção óssea. Este balanço é firmemente controlado pelo sistema imune. Se este balanço inclinar-se a favor dos osteoclastos, levará a reabsorções patológicas, como nas periodontites, artrites reumatóides e doenças osteoporóticas. A compreensão deste processo, como um todo, pode ser a chave para o desenvolvimento de um protocolo de tratamento que poderia levar ao equilíbrio dessas doenças ósseas. Sendo assim, nesta revisão da literatura, nós fornecemos uma visão do tecido ósseo: a composição química de sua matriz, células e componentes celulares, descrevendo como ocorre o processo de remodelação óssea e alguns fatores locais e sistêmicos que interferem neste processo, como citocinas e hormônios.

Palavras-chave: *Osteoblastos; osteoclastos; tecido ósseo; sistema imune.*

Abstract: The bone tissue has an important role in the support, protection and locomotion and it is under control of systemic factors, such as hormones and local regulatory molecules, for instance, growth factor and cytokines. Therefore, the immune and skeletal systems are intimately related; this interdisciplinary branch has been referred as Osteoimmunology. The homeostasis of the skeletal system depends directly on a balanced bone remodeling, i.e., the dynamic balance between the activities of the osteoblasts, bone forming cells and osteoclasts, bone resorbing cells. This balance is tightly and thoroughly controlled by some regulatory systems, such as the immune system. Tipping this balance towards the osteoclasts leads to pathological bone resorption, such as periodontitis, autoimmune arthritis and osteoporotic diseases. The understanding this overall process may be the key to development of a treatment protocol, which could lead to the balance of these bone diseases. Thus, in this literature review, we provide an overview of the bone tissue composition, its cells and proteins of bone matrix, describing how the remodeling bone process occurs, as well as some local and systemic factors that interfere in this process, such cytokines and hormones.

Keywords: *Osteoblasts; osteoclasts; bone tissue; immune system.*

Introdução

O tecido ósseo tem algumas funções básicas como suporte, proteção e locomoção e está sob o controle de **fatores sistêmicos**, como os hormônios, e **fatores locais**, como os fatores de crescimento e citocinas¹. Portanto, os sistemas imune e esquelético encontram-se intimamente relaciona-

dos; a esta área interdisciplinar de estudos deu-se o nome de Osteoimunologia².

A homeostase do sistema esquelético está na dependência de uma remodelação óssea equilibrada, ou seja, da dinâmica balanceada entre a atividade dos osteoblastos,

células de formação óssea, e osteoclastos, células de reabsorção óssea. Este balanço é firmemente controlado por alguns sistemas regulatórios, como o sistema imune. Se este balanço inclinar-se a favor dos osteoclastos, ocorrerá reabsorções patológicas, como nas periodontites, artrites reumatóides e doenças osteoporóticas².

Sendo assim, nesta revisão da literatura, nós fornecemos uma visão do tecido ósseo: a composição química de sua matriz, células e componentes celulares, descrevendo como ocorre o processo de remodelação óssea e alguns fatores locais e sistêmicos que interferem neste processo, como citocinas e hormônios.

Tecido ósseo

Aspectos macroscópicos

Macroscopicamente, o tecido ósseo pode se apresentar como **compacto**, na região mais periférica dos ossos, denominada cortical, e **esponjoso** ou **trabecular**, com rede de trabéculas contendo espaços intercomunicantes que abrigam a medula óssea. As superfícies ósseas internas e externas são revestidas respectivamente pelo endóstio e perióstio. O perióstio constitui membrana de grande importância para a integridade dos ossos^{1,3}.

Aspectos microscópicos

O tecido ósseo pode ser classificado em **primário** (imaturado) que se apresenta com disposição irregular, não organizada das fibras colágenas e menor quantidade de cristais de hidroxiapatita. Está presente no feto, no calo ósseo, nas osteomielites, nos tumores ósseos e na doença óssea de Paget. É classificado também como **secundário** (maduro, haversiano ou lamelar), com fibras colágenas dispostas em lamelas paralelas ou concêntricas em torno dos canais de Havers, formando osso compacto ou esponjoso⁴.

Geralmente, sobre a superfície do tecido ósseo, deposita-se uma camada de matriz denominada osteóide, que se caracteriza por uma matriz não mineralizada, contendo grande quantidade de fibras colágenas tipo I produzidas pelos osteoblastos. Assim, ao microscópio de luz, o osteóide apresenta aspecto amorfo e eosinofílico; além de ser encontrado em situações fisiológicas, também é encontrado nos tumores formadores de tecido ósseo^{1,4}.

O tecido ósseo tem dois componentes básicos: células e matriz orgânica, sobre a qual se depositam os componentes inorgânicos.

Células do tecido ósseo

Nos processos de formação, reabsorção, manutenção e remodelação óssea, participam quatro tipos celulares distintos que derivam de duas linhagens: uma relacionada à for-

mação e manutenção: osteoblastos, células de revestimento ósseo e osteócitos, e outra à reabsorção: osteoclastos.

Osteoblastos

São células mononucleadas, de origem mesenquimal, que se apresentam como células polarizadas, com núcleo esférico e citoplasma basófilo. São cubóides ou ligeiramente alongadas e formam uma camada celular contínua sobre a superfície óssea que está sendo formada (osteóide). São as células responsáveis pela produção da matriz orgânica do osso bem como pela sua mineralização^{5,6}. Quando ativas, possuem um citoplasma rico em organelas de síntese e secreção, como retículo endoplasmático rugoso (RER) e complexo de Golgi desenvolvidos, grânulos de secreção, mitocôndrias, vesículas de transporte, vesículas endossômicas, lisossoma, além das proteínas do citoesqueleto^{1,7,8}. Sintetizam a matriz orgânica, constituída de várias proteínas colágenas e não colágenas, tais como colágeno tipo I, osteocalcina, osteopontina, proteoglicanas, fosfoproteínas e citocinas. Estes componentes interagem entre si e organizam-se, fornecendo um arcabouço que permite a deposição de sais minerais, além do fato de algumas destas moléculas atuarem diretamente na mineralização⁷⁻¹¹.

Osteoblastos e pré-osteoblastos exibem níveis elevados da enzima fosfatase alcalina na superfície de suas membranas citoplasmáticas, a qual, quando liberada, contribui para o início da mineralização e o progressivo crescimento dos cristais de hidroxiapatita^{1,9-11}. No processo inicial de formação do tecido ósseo, os osteoblastos, após secretarem a primeira camada de matriz orgânica, parecem assumir um importante papel na sua mineralização. A partir dos osteoblastos adjacentes à matriz orgânica óssea recentemente sintetizada, brotam pequenas vesículas de sua superfície. Estas vesículas desprendem-se dos osteoblastos e, portanto, são observadas entre os constituintes orgânicos da matriz óssea. Assim, são estruturas arredondadas, que se originam da membrana plasmática dos osteoblastos, sendo denominadas de vesículas da matriz¹¹. Estas vesículas, que permanecem na matriz extracelular totalmente dissociadas das células, contêm glicoproteínas e exibem forte marcação em sua membrana para a fosfatase alcalina. A fosfatase alcalina é uma família de enzimas que hidrolisam os íons fosfatos, fornecendo-os para o interior das vesículas. Ocorre, também, um aumento da concentração de íons cálcio no interior dessas vesículas, provavelmente através dos fosfolipídios em suas membranas. Sendo assim, ocorre uma supersaturação de fosfato e cálcio, resultando na precipitação de fosfato de cálcio no interior das vesículas. Posteriormente, ocorre o rompimento da membrana das vesículas e a mineralização espalha-se pela matriz. Este processo é característico dos locais onde está ocorrendo pela primeira vez a formação e mineralização do tecido ósseo¹¹⁻¹³. Deve-se ressaltar que as vesículas da matriz também são liberadas pelos condrócitos

durante a mineralização da cartilagem¹⁴, bem como pelos odontoblastos, durante a formação da primeira camada de dentina^{15,16}.

Os osteoblastos também funcionam como receptores e transmissores de sinais para remodelação, pois possuem receptores para hormônios, como o da tireóide, da paratireóide (PTH), estrogênios, glicocorticóides, insulina, Vitamina D (1,25 Dihidroxitamina D3). Secretam fatores de regulação como Interleucina-6 (IL-6) e fatores de crescimento como TGF- β que são fatores locais que agem na proliferação, diferenciação e atividade osteoblástica^{1,7,17}. Além disso, os osteoblastos têm a capacidade de modificar a matriz adjacente, removendo ou alterando as proteoglicanas ou glicoproteínas. Iniciam, então, a mineralização da matriz, através da secreção de vários reguladores como IL-6, TGF- β e Interferon- γ (INF- γ)⁸.

Assim, os fatores sistêmicos e locais controlam a proliferação, atividade e sobrevivência dos osteoblastos. Alguns estudos mostram que os osteoblastos e/ou osteócitos podem sofrer apoptose, em consequência, por exemplo, a trauma mecânico¹⁸ ou deficiência de estrogênio^{19,20}. Em condições fisiológicas, a apoptose de osteoblastos parece exercer um importante papel no controle do crescimento ósseo²¹. A apoptose é um mecanismo de morte celular, sendo, portanto, responsável pelo equilíbrio populacional de células nos tecidos e em órgãos. A apoptose, quando desencadeada, ativa uma complexa cascata proteolítica intracelular que coordena todo o processo de morte celular. Como consequência da ativação das proteínas intracelulares promotoras da apoptose, a célula fragmenta-se originando os corpos apoptóticos. Os corpos apoptóticos expressam em sua membrana plasmática, entre outras moléculas, a fosfatidilserina que atrai os fagócitos e estes rapidamente internalizam os corpos apoptóticos. Recentemente, foi mostrado que os osteoblastos, além de participar na formação e mineralização da matriz óssea, podem também fagocitar os corpos apoptóticos oriundos de osteoblastos e/ou células de revestimento ósseo, durante o início da formação óssea⁶.

Células de revestimento ósseo

Representam os osteoblastos que recobrem as superfícies ósseas quiescentes; assim, estas células exibem escassas organelas de síntese e secreção de proteínas e formam uma camada contínua de células interconectadas capaz de manter a homeostase, regulando a concentração plasmática de cálcio por mecanismos parcialmente independentes dos relacionados ao sistema de remodelação óssea⁹, sendo consideradas como sítio primário de troca de íons entre o sangue e o osso do adulto. A transição do osteoblasto para células de revestimento ósseo envolve mudanças morfológicas e funcionais graduais que culminam com a diminuição da secreção de proteínas. Esta transformação pode representar o fenótipo final da linhagem osteoblástica⁸. No entanto, estas células

que revestem a superfície óssea, sob determinados estímulos, podem diferenciar-se em osteoblastos e conseqüentemente produzir matriz óssea¹¹. Assim, estas células de revestimento ósseo têm um importante papel na manutenção/homeostase da matriz óssea e influência no metabolismo de cálcio e fosfato e troca de substâncias. Além disso, acredita-se que sejam responsáveis pela produção de moléculas que ativam a complexa cascata molecular que culmina na remodelação óssea^{8,22}.

Osteócitos

São os osteoblastos que, à medida que secretam a matriz, ficam aprisionados no seu interior, em lacunas, e mostram uma diminuição gradativa da quantidade de organelas de síntese e de secreção como retículo endoplasmático rugoso (RER) e complexo de Golgi, caracterizando pobre atividade metabólica, porém indispensável para a manutenção da homeostase óssea^{1,8}. Os osteócitos são o tipo celular mais abundante no tecido ósseo, em uma proporção de 10 osteócitos para cada osteoblasto¹⁰. São células elípticas, menores que os osteoblastos, que possuem diversos prolongamentos citoplasmáticos, situados no interior de pequenos canais denominados canaliculos ósseos. Estes prolongamentos citoplasmáticos se estendem em direção aos prolongamentos de outros osteócitos adjacentes, aos dos osteoblastos e células de revestimento ósseo do endóstio e perióstio, estabelecendo junções (tipo gap) entre estas células. Estas junções do tipo gap entre os prolongamentos dos osteócitos e entre os prolongamentos dos osteoblastos permitem que mesmo os osteócitos localizados nas porções mais profundas do osso possam responder às modificações sistêmicas, bem como às modificações na superfície óssea^{7,11}. Dessa maneira, os canaliculos ósseos constituem uma complexa rede que interconecta a superfície óssea às porções mais internas, rede esta que é a responsável pela manutenção e vitalidade da matriz óssea^{7,11}. Portanto, os osteócitos são considerados essenciais para a manutenção bem como para a remodelação óssea, desde que tem sido sugerido que a apoptose dos osteócitos pode atrair e estimular a atividade dos osteoclastos^{23,24}.

Osteoclastos

São células gigantes, multinucleadas, formadas pela fusão de células mononucleadas da linhagem hematopoiética^{8,11}. Caracterizam-se, citoquimicamente, por apresentar fosfatase ácida resistente ao tartarato, adenosina ácida trifosfatada vanadato sensitiva, isosima anidrase carbônica II, entre outras enzimas^{8,11}. Os osteoclastos são responsáveis pela reabsorção óssea, promovendo escavações na superfície óssea denominadas lacunas de Howship. Adjacente à superfície óssea, sua membrana celular exhibe numerosas invaginações, formando uma borda em escova. Perifericamente a esta borda em escova, há uma região do citoplasma que se assemelha a uma faixa, diretamente apoiada na matriz óssea, denominada

de zona clara. A zona clara, porção desprovida de organelas e rica em actina e miosina, está intimamente aderida à superfície óssea. Assim, ela parece ser responsável pela adesão do osteoclasto à superfície óssea, delimitando, desta forma, a borda em escova, compartimento onde ocorre a desmineralização bem como a degradação da matriz do tecido ósseo. Este compartimento cria um microambiente propício para a liberação e atividade das enzimas proteolíticas do osteoclasto, que, junto da geração de prótons pela enzima anidrase carbônica, promove um ambiente ácido, ocorrendo a desmineralização da matriz. A liberação de prótons é provavelmente necessária à desmineralização do osso, além de promover um ambiente ótimo para as enzimas lisossomais exercerem suas atividades enzimáticas^{8,10,11}. As metaloproteinases da matriz, que podem ser ativadas em ambientes ácidos, também têm sido observadas nas lacunas de reabsorção e podem contribuir para a degradação da matriz óssea^{11,25}.

O processo de reabsorção pode ser auto-regulável, devido à dissolução mineral que precede a degradação da matriz orgânica, o que significaria o desenvolvimento de uma matriz porosa adjacente à borda em escova do osteoclasto. Esta matriz porosa pode provocar o rompimento da adesão do osteoclasto, resultando em um descolamento deste¹⁷. Além disso, após a reabsorção, os osteoclastos podem migrar para outros sítios onde o tecido ósseo deve ser reabsorvido, bem como se deslocar da superfície óssea e permanecer como células inativas. Os osteoclastos inativos são células gigantes, multinucleadas, porém não apresentam borda em escova e zona clara, estruturas intimamente relacionadas à atividade reabsorvente dos osteoclastos²⁶. Assim, o fator de crescimento tumoral (TGF- β) e o estrógeno parecem promover a apoptose, enquanto o paratormônio (PTH) e a Interleucina-1 (IL-1) podem agir como supressores da apoptose, prolongando a atividade osteoclástica⁸.

Apesar de a função principal do osteoclasto ser promover a desmineralização e a degradação da matriz óssea, evidências têm reforçado a idéia de que os osteoclastos são capazes de internalizar e digerir células e/ou restos celulares^{27,28}. Assim, os osteoclastos podem internalizar osteócitos liberados durante a reabsorção óssea^{24,27,29}. Tem sido sugerido também que osteoblastos em apoptose, possivelmente, podem estimular a migração de osteoclastos para determinados sítios que devem ser reabsorvidos^{20,30,31}. Os osteoclastos atraídos para o local imediatamente reconhecem e internalizam os osteoblastos e/ou osteócitos em apoptose^{24,28,29}.

Matriz óssea

As proteínas ósseas

O osso é constituído de uma parte orgânica e de outra inorgânica. A matriz orgânica é formada de colágeno, prin-

cipalmente tipo I, proteoglicanas e glicoproteínas adesivas, e a inorgânica por íons fosfato, cálcio e em menor quantidade, bicarbonato, magnésio, potássio, sódio e citrato. A união do fosfato e do cálcio forma cristais com estrutura de hidroxiapatita que, associados às fibras colágenas, fornecem a resistência e dureza características do tecido ósseo³.

Algumas proteínas não colágenas, típicas dos tecidos mineralizados, como a osteocalcina e a sialoproteína óssea e outras como a osteonectina/SPARC e osteopontina que têm uma distribuição mais generalizada, são liberadas do osso durante a sua desmineralização. Há, ainda, proteínas derivadas do sangue e fluidos teciduais que são concentrados no osso devido à sua afinidade com os cristais minerais, como a albumina, α 2HS-glicoproteína e imunoglobulinas⁸.

Um importante grupo de glicoproteínas, extraídas da matriz óssea desmineralizada, são as proteínas ósseas morfogenéticas (BMPs), que pesam cerca de 18 kDa e são responsáveis pela indução óssea^{32,33}. Classificadas como uma subfamília dentro da superfamília dos fatores de crescimento e transformação- β (TGF- β), podem ser encontradas, além do tecido ósseo, em vários outros tecidos, como cérebro, coração, pulmão, rim, baço e fígado, apresentando papel importante, não só no desenvolvimento do esqueleto, mas também em outros processos fisiológicos, durante a embriogênese³³. Pesquisas demonstram que, dentre as mais de 20 BMPs descobertas até o presente momento³⁴, há diferenças entre elas na capacidade de induzir a osteogênese. As BMPs 2, 6 e 9 parecem ter maior potencial na indução da diferenciação osteoblástica a partir das células mesenquimais progenitoras; a BMP-2, quando injetada localmente sobre a superfície da calvária de ratos, induz formação óssea periosteal, sem a formação prévia de cartilagem³⁴. “In vivo”, regulam alguns dos processos do desenvolvimento embrionário, incluindo cartilagem e formação óssea. No adulto, as BMPs regulam a proliferação e diferenciação, bem como a apoptose de vários tipos de células, tais como células mesenquimais, osteoblastos, condroblastos, células epiteliais e do tecido nervoso. O alvo final das BMPs é a alteração da expressão gênica no núcleo, mudando, assim, a atividade celular, incluindo o crescimento, diferenciação e síntese de matriz extracelular³³.

Remodelação óssea

O tecido ósseo, em diversos momentos, precisa modificar sua forma ou estrutura. Seja para um osso primário (primeiro tecido ósseo formado) tornar-se maduro, para um osso crescer mantendo sua forma, para um osso esponjoso tornar-se compacto ou para se adaptar a novas situações fisiológicas ou patológicas, o osso está em constante remodelação, por meio de reabsorção e deposição de matriz óssea, que são processos estreitamente acoplados^{1,3}.

O desenvolvimento e a homeostase do sistema esquelético está na dependência de uma remodelação óssea equilibrada, ou seja, da dinâmica balanceada entre a atividade dos osteoblastos e osteoclastos, firmemente controlada pelo sistema imune. Se este balanço inclinar-se a favor dos osteoclastos, levará a reabsorções patológicas, como nas periodontites, artrites reumatóides, doenças osteoporóticas primárias ou secundárias e tumores ósseos².

O primeiro evento celular na seqüência de remodelação é a formação e ativação dos osteoclastos. Previamente à reabsorção da matriz mineralizada pelos osteoclastos, os osteoblastos/células de revestimento ósseo produzem colagenase, removendo a camada de osteóide, expondo a matriz mineralizada aos osteoclastos que se tornam ativos em contato direto com a matriz óssea mineralizada¹². Outra possibilidade de modular a formação e atividade osteoclástica seria a partir de sinais gerados no microambiente, com a liberação de citocinas. As citocinas são moléculas de regulação, solúveis, de baixo peso molecular, expressas como proteínas de membrana ou secretadas, que se ligam a receptores específicos, em células alvo. Têm um papel vital tanto na regulação do tecido ósseo em condições fisiológicas quanto patológicas^{8,9,35}.

A formação do osso envolve a proliferação e migração das células osteoprogenitoras e a diferenciação dos osteoblastos. Este processo é controlado por uma cascata de eventos combinados a uma programação genética com a regulação de genes por fatores sistêmicos e locais, entre eles os hormônios, citocinas e fatores de crescimento⁸.

A maioria dos fatores que controla a reabsorção óssea age diretamente nos osteoblastos, tais como PTH, 1,25 dihidroxivitamina D₃, esteróides sexuais, prostaglandinas (PGs), citocinas (Interleucina-1, Interleucina-6 e Interleucina-11), TGF- β . Portanto, estes fatores estimulam os osteoblastos a liberarem moléculas que estimulam a migração e adesão à superfície óssea que deve ser reabsorvida. Sendo assim, os osteoblastos participam do processo de remodelação óssea, não somente produzindo matriz óssea, mas também controlando a atividade dos osteoclastos. As citocinas e os fatores de crescimento, especialmente o TGF- β , liberados da matriz durante sua degradação, atuam como uma alça de "feed-back" e desencadeiam a formação e ativação de osteoblastos para sintetizar e depositar uma quantidade equivalente de osso novo na lacuna de reabsorção^{3,11}.

Algumas citocinas e hormônios envolvidos na remodelação óssea:

- **PTH e vitamina D₃** atuam nos osteoclastos, indiretamente, através de receptores nos pré-osteoblastos, osteoblastos e células de revestimento ósseo⁸;
- **Interleucina-1 α (IL-1) e fator de necrose tumoral (TNF- α)** são citocinas derivadas da linhagem dos monócitos-macrófagos e estimulam a reabsorção óssea através de uma via autócrina. Estimulam os osteoclas-

tos maduros e a proliferação de seus precursores. Sua ação tem sido demonstrada na reabsorção óssea tanto "in vivo" quanto "in vitro"³⁵;

- **Interleucina-6 (IL-6)** é uma citocina produzida pelos osteoclastos, células do estroma e células da linhagem monócito-macrófago³⁶. Aumenta a reabsorção óssea através do estímulo e de receptores presentes na membrana celular dos osteoclastos. No entanto, a ação da IL-6 estimulando a reabsorção óssea por via parácrina também foi demonstrada². Aumenta a reabsorção óssea estimulada pela IL-1 e TNF, mas não estimula a reabsorção óssea mediada pelo PTH e 1,25 Dihidroxivitamina D. Anticorpos para IL-6 bloqueiam a reabsorção óssea produzida pela IL-1 e TNF indireta⁹. É também produzida pelas células osteoblásticas em resposta ao PTH e à Vitamina D₃⁸. As citocinas IL-1, TNF e IL-6 estimulam a produção dos precursores dos osteoclastos, o que leva a um aumento do turnover ósseo³⁶⁻³⁹;
- **Antagonista do receptor IL-1** é uma citocina relacionada à família do gene da IL-1, proveniente da linhagem celular dos monócitos. Liga-se ao receptor da IL-1 e compete com a IL-1 α e β pela ligação e ativação deste receptor. É um inibidor muito efetivo da reabsorção óssea osteoclástica, estimulada não apenas pela IL-1, mas pelo TNF⁹;
- **RANKL** é uma citocina da família do TNF, essencial para a indução da osteoclastogênese^{40,41}. Expresso pelas células T ativadas, é uma molécula importante que vem sendo muito estudada no campo da osteoimunologia, que é a interação entre o sistema imune e o sistema esquelético². Também é expresso pelos osteoblastos que se unem com RANK, ativando-os. O fator nuclear de células T ativadas c1 (NFATc1), membro da família do fator de transcrição gênica NFAT, é um fator de transcrição gênica fortemente induzido pelo estímulo do RANKL³⁸;
- **RANK** é uma proteína transmembrana, expressa nos progenitores dos osteoclastos, osteoclastos, células T, células B, células dendríticas e células epiteliais da glândula mamária. É um membro da superfamília dos receptores do fator de necrose tumoral (TNFR)⁴²;
- **Osteoprotegerina (OPG)** é um membro da superfamília dos receptores do fator de necrose tumoral (TNFR) que regula negativamente a formação e ativação dos osteoclastos^{40,42}, interrompendo a ligação RANK-RANKL por ligar-se ao RANKL. Secretada pelos osteoblastos, ao competir com esta ligação é tida como a chave do mecanismo regulatório da diferenciação e atividade osteoclástica⁸. É produzida primariamente pelos osteoblastos e seus precursores, mas também pode ser expresso pelas células B e células dendríticas. Sua produção é aumentada em resposta a IL-1, IL-6,

IL-11, TNF, fator de crescimento transformante (TGF- β) e estrógeno e é inibida pelo PTH⁴²;

- **Fator de crescimento transformante- β (TGF- β)**, produzido pelos osteoblastos e células da medula óssea, é o mais abundante dos fatores de crescimento armazenado no osso⁴³⁻⁴⁵. Este fator estimula a formação óssea, como também pode inibir a diferenciação, formação e atividade dos osteoclastos maduros⁴⁶. Armazenado no osso, é produzido quando há estímulo para reabsorção óssea, podendo ser um mecanismo importante na desativação osteoclástica⁹;
- **Interferon- γ (INF- γ)** é uma citocina multifuncional, produzida pelas células T, que apresenta tanto a capacidade de proliferação quanto de diferenciação dos progenitores dos osteoclastos. Pode suprimir fortemente a osteoclastogênese por interferir com a via de sinalização RANKL^{2,38}. Pode ser um fator crítico na manutenção da integridade óssea através de um processo mediado pelas células T³⁸;
- **Interferon- β (INF- β)** é uma citocina que está seletivamente envolvida na regulação dos osteoclastos e possui um efeito benéfico na destruição óssea, provavelmente regulando negativamente a osteoclastogênese, através de uma sinalização cruzada com a via RANKL³⁷;
- **1,25 Dihidroxivitamina D** é um hormônio da mineralização óssea⁴⁷, produzido no rim, sob o comando do PTH, fosfatase e cálcio. Há evidências de que também possa ser produzido pelas linhagens dos linfócitos e monócitos, sendo um importante mecanismo para a formação osteoclástica no espaço medular. Age como um fator de diferenciação tanto nas células progenitoras quanto na célula já madura, provavelmente por ação indireta⁹;
- **Estrógeno** é um hormônio que suprime a produção de citocinas de reabsorção óssea, como a IL-1 e IL-6⁸ e provavelmente inibe a atividade de reabsorção via osteoblastos¹¹;
- **Calcitonina** é um hormônio secretado pela tireóide. Além de diminuir os níveis plasmáticos de cálcio, inibe a proliferação e diferenciação dos precursores dos osteoclastos⁸.

As células T expressam RANK, RANKL, INF entre outras citocinas, participando ativamente no processo de osteoclastogênese, sendo que o equilíbrio da produção destas citocinas é primordial no balanço da remodelação óssea, já que determinam o equilíbrio entre osteoblastos e osteoclastos³⁸.

As células do tecido ósseo estão sob a ação de múltiplos fatores locais e sistêmicos. O conhecimento da ação destes fatores sobre as células ósseas e conseqüentemente da interferência destes fatores sobre o metabolismo ósseo, pode contribuir para a compreensão dos mecanismos celulares e moleculares envolvidos em diversas doenças ósseas. Assim,

estudos têm sido realizados com a finalidade de encontrar tratamentos efetivos para as doenças que promovem a perda óssea, tais como: doença osteoporótica pós-transplante que acometem pacientes imunossuprimidos, doença periodontal ou osteopatias metabólicas, como a osteoporose e a osteomálacia, entre outras. Assim, os estudos de biologia molecular relacionados ao tecido ósseo visam esclarecer os diversos fatores que interferem com a proliferação, migração, diferenciação, atividade e sobrevivência das células ósseas. No entanto, os estudos revelam que há uma multiplicidade de fatores; além disso, geralmente estes fatores agem de forma coordenada.

A compreensão deste processo, como um todo, pode ser a chave para o desenvolvimento de um protocolo de tratamento que poderia levar ao equilíbrio dessas doenças ósseas.

Referências

1. Katchburian E, Arana V. Histologia e embriologia oral. Texto-atlas-correlações clínicas. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004.
2. Takayanagi H. Inflammatory bone destruction and osteoimmunology. *J Periodontol Res.* 2005;40:287-93.
3. Junqueira LC, Carneiro J. Tecido ósseo. In: Junqueira LC, Carneiro J. Histologia básica. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan; 2004. p. 111-128.
4. Cotram RS, Kumar V, Collins T. Ossos, articulações e tumores de partes moles. In: Cotram RS, Kumar V, Collins T. Robbins patologia estrutural e funcional. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2005. p. 1088-90.
5. Mackie EJ. Osteoblasts: novel roles in orchestration of skeletal architecture. *Int J Biochem Cell Biol.* 2003;35:1301-5.
6. Cerri, PS. Osteoblasts engulf apoptotic bodies during alveolar bone formation in the rat maxilla. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol.* 2005;286:833-40.
7. Raisz LG, Rodan GA. Embriology and cellular biology of bone. In: Avioli LV, Krane SM. Metabolic bone diseases and clinically related disorders. San Diego: Academic Press; 1998. p. 1-22.
8. Sodek J, McKee ME. Molecular and cellular biology of alveolar bone. *Periodontology 2000.* 2000;24:99-126.
9. Mundy GR. Inflammatory mediators and the destruction of bone. *J Periodontol Res.* 1991;26:213-7.
10. Manolagas, S.C. Birth and death of bone cells: basic regulatory mechanisms and implications for the pathogenesis and treatment of osteoporosis. *Endocr Rev.* 2000; 21: 115-37.
11. Katchburian E, Cerri PS. Formação e destruição óssea. In: Cardoso RJA, Gonçalves EAN. Cirurgia para implantes. São Paulo: Artes Médicas; 2002. p. 437-45.

12. Marks JR SC, Popoff SN. Bone cell biology: the regulation of development, structure and function in the skeleton. *Am J Anat.* 1988; 183:1-44.
13. Arana-Chaves VE, Soares AMV, Katchburian E. Junctions between early developing osteoblasts of rat calvaria as revealed by freeze-fracture and ultrathin section electron microscopy. *Arch Histol Cytol.* 1995;58:285-92.
14. Anderson HC. Vesicles associated with calcification in the matrix of epiphyseal cartilage. *J Cell Biol.* 1969;41:59-72.
15. Katchburian E. Membrane-bound bodies as initiators of mineralization of dentine. *J Anat.* 1973;116:285-302.
16. Arana-Chavez VE, Massa LF. Odontoblasts: the cells forming and maintaining dentine. *Int J Biochem Cell Biol.* 2004;36:1367-73.
17. Ten Cate AR. Histologia bucal: desenvolvimento, estrutura e função. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001.
18. Noble B. Microdamage and apoptosis. *Eur J Morphol.* 2005;42:91-8.
19. Garcia-Moreno C, Catalán MP, Ortiz A, Alvarez L, De la Piedra C. Modulation of survival in osteoblasts from postmenopausal women. *Bone.* 2004;35:170-7.
20. Tomkinson A, Gevers EF, Wit JM, Reeve J, Noble BS. The role of estrogen on the control of rat osteocyte apoptosis. *J Bone Miner Res.* 1998;13:1243-50.
21. Palumbo C, Ferretti M, De Pol A. Apoptosis during intramembranous ossification. *J Anat* 2003; 203:589-98.
22. Miller SC, Jee WSS. The bone lining cell: a distinct phenotype? *Calcif Tissue Int.* 1987;41:1-5.
23. Jilka RL, Weinstein RS, Bellido T, Parfitt AM, Manolagas SC. Osteoblast programmed cell death (apoptosis): modulation by growth factors and cytokines. *J Bone Miner Res.* 1998;13:793-802.
24. Boabaid F, Cerri PS, Katchburian E. Apoptotic bone cells may be engulfed by osteoclasts during alveolar bone resorption in young rats. *Tissue Cell.* 2001;33:318-25.
25. Sodek J, Overall CM. Matrix metalloproteinases in periodontal tissue remodelling. *Matriz.* 1992;1(suppl):352-62.
26. Fukushima O, Bekker PJ, Gay C. Characterization of the functional stages of osteoclasts by enzyme histochemistry and electron microscopy. *Anat Rec.* 1991;231:298-315.
27. Elmardi AS, Katchburian MV, Katchburian E. Electron microscopy of developing calvaria reveals images that suggest that osteoclasts engulf and destroy osteocytes during bone resorption. *Calcif tissue Int.* 1990;46:239-45.
28. Taniwaki NN, Katchburian E. Ultrastructural and lanthanum tracer examination of rapidly resorbing rat alveolar bone suggests that osteoclasts internalize dying bone cells. *Cell Tissue.* 1998;293:173-6.
29. Cerri PS, Boabaid F, Katchburian E. Combined TUNEL and TRAP methods suggest that apoptotic bone cells are inside vacuoles of alveolar bone osteoclasts in young rats. *J Periodontal Res.* 2003;38:223-6.
30. Tanaka K, Yamaguchi Y, Hakeda Y. Isolated chick osteocytes stimulated formation and bone-resorbing activity of osteoclast-like cells. *J Bone Miner Metab.* 1995;13:61-70.
31. Boyce BF, Hughes DE, Wright KR, Xing L, Daif A. Recent advances in bone biology provide insight into pathogenesis of bone diseases. *Lab Invest.* 1999;79:83-94.
32. Urist MR, Huo YK, Brownell AG, Hohl WM, Buyske J, Lietze A, et al. Purification of bovine bone morphogenetic protein by hydroxyapatite chromatography. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1984; 81: 371-475.
33. Dimitriou R, Giannoudis PV. Discovery and development of BMPs. *Int J Care Injured.* 2005;36S:S28-S33.
34. Cao X, Chen Di. The BMP signaling and in vivo bone formation. *Gene.* 2005;357: 1-8.
35. Tani-ishi N, Tsunoda A, Teranaka T, Umemoto T. Autocrine regulation of osteoclast formation and bone resorption by IL-1" and TNF". *J Dent Res.* 1999;78: 1617-23.
36. Roodman GD. Cell biology of the osteoclast. *Exp Hematol.* 1999;27:1229-41.
37. Takayanagi H, Kim S, Taniguchi T. Signaling crosstalk between RANKL and interferons in osteoclast differentiation. *Arthritis Res.* 2002; 4(suppl 3): S227-S232.
38. Takayanagi H, Ogasawara K, Hida S, Ciba T, Murata A, Sato K, et al. T-cell-mediated regulation of osteoclastogenesis by signaling cross-talk between RANKL and INF- γ . *Nature.* 2000; 408: 600-5.
39. Pacifici R. Estrogen, cytokines and pathogenesis of postmenopausal osteoporosis. *J Bone Miner Res.* 1996;11:1043-8.
40. Lacey DL, Timms E, Tan HL, Kelley MJ, Dunstan CR, Burgess T, et al. Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. *Cell.* 1998;93:165-76.
41. Yasuda H, Shiman N, Nakagawa N, Yamaguchi K, Kinoshita M, Mochizuki S, et al. Osteoclast differentiation factor is a ligand for osteoprotegerin/osteoclastogenesis-inhibitory factor and is identical to TRANCE/RANKL. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1998; 95:3597-602.
42. Rho J, Takami M, Choi Y. Osteoimmunology: interactions of the immune and skeletal systems. *Mol Cells.* 2004;17(1):1-9.
43. Noda M, Camilliere JJ. In vivo stimulation of bone formation by transforming growth factor beta. *Endocrinology.* 1989;124:2991-4.
44. Marcelli C, Yates AJ, Mundy GR. In vivo effects of human recombinant transforming growth factor beta on

- bone turnover in normal mice. *Calcif Tiss Int.* 1990; 46: A40-A41.
45. Goodman GR, Dissanayake IR, Bowman AR, Pun S, Ma Y, Jee WSS, et al. Transforming growth factor- β administration modifies cyclosporine-A induced bone loss. *Bone.* 2001;28:583-8.
46. Epstein S, Schlosberg M, Fallon M, Thomas S, Movsowitz C, Ismail F. 1, 25 dihidroxivitamin D3 modifies cyclosporine-induced bone loss. *Calcif Tissue Int.* 1990; 47:152-7.
47. Miroslavljevic D, Quinn JM, Elliott J, Horwood NJ, Martin TJ, Gillespie MT. T- cells mediate an inhibitory effect of interleukin-4 on osteoclastogenesis. *J Bone Miner Res.* 2003;162:1018-23.