

## **Mecanismos biológicos da angiogênese e osteogênese** **Biological mechanisms of angiogenesis and osteogenesis**

### **DAVID COSTA MOREIRA**

Mestre em Estomatologia pela Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública.  
Especialista em Cirurgia e Traumatologia Buco Maxilo Facial.

### **SILVIA REGINA DE ALMEIDA REIS**

Doutora em Patologia Bucal. Professor Adjunto do Curso de Odontologia da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública.

### **MOYSÉS SADIGURSKY**

Doutor em Patologia Humana. Professor Adjunto da Faculdade de Medicina da Universidade Federal da Bahia.

### **MIGUEL GUSTAVO SETÚBAL ANDRADE**

Doutor em Imunologia. Professor Adjunto do Curso de Odontologia da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública.

### **Endereço e para correspondência:**

DAVID COSTA MOREIRA

Programa de Pós Graduação em Estomatologia do Curso de Odontologia da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública

Avenida Silveira Martins, nº 3386. Cabula. CEP 41150-100.

Salvador-Bahia. Fone/fax: 71 22085859.

e-mail: [daviddcm@uol.com.br](mailto:daviddcm@uol.com.br)

### **RESUMO**

A neoformação óssea é regida por diversos mecanismos, mas sem dúvida o principal deles é a angiogênese. A neoformação vascular e a reorganização da microcirculação são cruciais para o reparo ósseo e consequente preservação da massa óssea neoformada. A atividade de osteoblastos é diretamente dependente deste processo pois a microcirculação propicia a regulação da temperatura e a liberação de fatores crescimento que por sua vez estimula o aporte vascular suficiente para o reparo. Angiogênese e osteogênese apresentam uma íntima interdependência e em diversos aspectos eles compartilham características. Esta revisão discute os mecanismos celulares e moleculares envolvidos com a neoformação óssea e com a neoformação vascular, bem como a simbiose existente entre esses dois.

**Palavras chave:** 1. Osteogênese; 2. Angiogênese; 3. Fatores de crescimento.

### **ABSTRACT**

Bone neoformation is controled by several mechanisms, but among them angiogenesis is the major one. Vascular neoformation and the reorganization of microcirculation are crucial for bone healing and consequent the neofomed bone mass preservation. Osteoblasts activity is directly dependent of this process, since microcirculation provides temperature regulation and growth factors release that stimulates enough vascular aport to healing. Angiogenesis and osteogenesis present a great interdependence between themselves and share several comom characterists in several features. The present review discusses celular and molecular mechanisms involved with bone neoformation and vascular neoformation and also the symbiosis between these preocesess.

**Key words:** 1. Osteogenesis; 2. Angiogenesis; 3. Growth factors.

## INTRODUÇÃO

Um conceito clássico na literatura quando se estuda osteogênese é que este processo biológico está em íntima associação com a angiogênese (CHANG et al., 1997; HAUSMAN; SCHAFFLER; MAJESKA, 2001; MATSUMOTO et al., 2008). Os trabalhos pioneiros sobre a síntese de matriz óssea focavam sua preocupação na quantidade e da função do osteoblasto (TRUETA; BUHR, 1963). Atualmente, devido ao maior entendimento a respeito dos mecanismos de sinalização celular, através de fatores de crescimento e seus receptores, a angiogênese tem sido o eixo principal de pesquisas científicas que abordam os mecanismos envolvidos com a neoformação óssea (CARANO; FILVAROFF, 2003).

Algumas investigações especulam que a angiogênese ocorre previamente à osteogênese num sítio ósseo em reparo (CARANO; FILVAROFF, 2003; PACICCA et al., 2003; PEZZATINI et al., 2007). Entretanto, é certo que, nesse contexto, o osteoblasto é reconhecido como uma das principais células a secretarem fatores de crescimento para a angiogênese (GERIS et al., 2008). Além do mais, vale ressaltar que a direção do vetor de migração endotelial se dirige no sentido de concentrações crescentes destes fatores (HENLE; ZIMMERMANN; WEISS, 2005; ZAMAN et al., 2006).

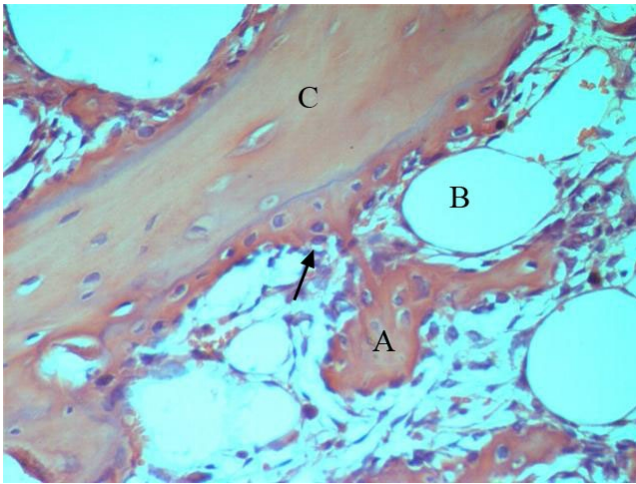
Desta forma, a revisão de mecanismos celulares e moleculares envolvidos com a neoformação óssea e a neoformação vascular, bem como a simbiose existente entre esses dois mecanismos, constitui um exercício pertinente e contributivo.

### MECANISMOS DA OSTEOGÊNESE

O osso é o único tecido capaz de se regenerar sem deixar cicatrizes (GERIS et al., 2008). Este processo se delinea através de quatro fases (CARANO; FILVAROFF, 2003; HAUSMAN; SCHAFFLER; MAJESKA, 2001). A inflamação, a primeira delas, precede a formação do calo de tecido mole. A deficiência de oxigênio e nutrição decorrentes do trauma cirúrgico resulta na necrose de osteócitos e do tecido adjacente. Desencadeia-se uma imediata resposta inflamatória mediada pelos diversos leucócitos que migram da circulação para a região. Outras células como fibroblastos, células mesenquimais indiferenciadas e angioblastos concluem seu processo de diferenciação na região caracterizando o tecido de granulação (GERIS et al., 2008).

As demais fases então se sucedem e o tecido de granulação é gradualmente substituído pelo calo de tecido mole aonde as células mesenquimais se diferenciam em outras linhagens conforme os estímulos dos fatores de crescimento presentes no meio (CARANO; FILVAROFF, 2003; GERIS et al., 2008).

O processo de diferenciação de pré-osteoblastos em osteoblastos se inicia um pouco mais distante do local de reparo ósseo considerando que esse mecanismo células é altamente dependente de oxigênio. Ao chegar na intimidade do reparo onde já esta ocorrendo a angiogênese, eles começam a secretar matriz óssea dando início ao processo de ossificação intramembranosa (GERIS et al., 2008). Esse processo de diferenciação de osteoblastos a partir de células mesenquimais indiferenciadas é regido tanto por fatores de crescimento específicos para este processo quanto aqueles que são importantes para a angiogênese. (Figura 1)



**Figura 1** - matrix óssea (A) secretada por proeminentes osteoblastos (seta), em presença de vasos de ampla luz (B) ao redor de uma trabécula óssea. Trabécula óssea original (C). HE, 400X.

Na porção mais central do defeito, há uma menor pressão de oxigênio e isso desencadeia a diferenciação de condrócitos que iniciam a deposição de cartilagem (GERIS et al., 2008). A conclusão da fase de calo de tecido mole e o início do calo ósseo caracteriza-se pela diferenciação de monócitos em osteoclastos. Estas células absorvem a cartilagem criando lacunas para a migração vascular que carrearão para este microambiente os osteoblastos num processo de calcificação endocondral (CARANO; FILVAROFF, 2003; GERBER; FERRARA, 2001). Nesse momento, a densidade de fibrose e cartilagem diminui e aumenta a densidade de osso. Os fibroblastos vão sofrendo apoptose à proporção que a matriz óssea é secretada (HEE; JONIKAS; NICOLL, 2006) e na fase final de remodelamento, os osteoclastos absorvem o excesso de osso secretado na fase anterior (GERIS et al., 2008).

#### **MECANISMOS DA ANGIOGÊNESE**

As células endoteliais podem ser divididas em dois grupos de acordo com sua função e metabolismo (KLEINHEINZ et al., 2005), aquelas constitutivas que estão quiescentes e outras ativas que estão sofrendo mitose devido a algum mecanismo indutivo. No processo de angiogênese as células estão ativas, capazes de proliferar e de migrar (KATSUBE et al., 2005). Quando o vaso está formado, estas células se tornam quiescentes e dependerão de um novo estímulo para retomar um metabolismo mais intenso. Um trauma cirúrgico pode funcionar como mecanismo suficiente para reativar a proliferação e migração destas células já que a matriz ao seu redor se desorganiza (GERIS et al., 2008).

O aumento na pressão de oxigênio na região, promovida pelo aumento do aporte vascular intensifica processo de angiogênese em um mecanismo modulado pelo óxido nítrico e pelo VEGF. O VEGF atua em conjunto com a angiopoetina II estimulando a divisão do endotélio vascular. A maior expressão de todas essas moléculas compete para a proliferação de células endoteliais. A lâmina basal do capilar se desorganiza, ocorre brotamento e migração vascular culminando na vascularização do tecido (PACICCA et al., 2003; PEZZATINI et al., 2007; VELAZQUEZ, 2007).

As opiniões quanto à penetração vascular no tecido em regeneração são controversas. Há uma corrente que advoga que a densidade da fibrose impediria a migração do endotélio para o leito em reparação. Outra teoria defende que a atividade das metaloproteínas seriam fundamentais para a absorção de fibras colágenas (HENLE; ZIMMERMANN; WEISS, 2005; ZAMAN et al., 2006). A migração do endotélio vascular dependeria também de um gradiente químico que seria determinado pela atividade do VEGF.

A distribuição dos fatores de crescimento para osteoblastos, angioblastos e para a síntese de matriz determinam a distribuição espacial dos vários componentes da matriz óssea no interior do calo. No processo de migração e diferenciação, as células endoteliais utilizam o fator de crescimento diminuindo a concentração destes. Assim, para manter contínuo o processo de angiogênese, estas células estabelecem um deslocamento na direção da região produtora deste fator de crescimento. Entretanto, as opiniões convergem para o fato de que a densidade da

fibrose no defeito ósseo pode diminuir a velocidade da migração endotelial (GERIS et al., 2008; HENLE; ZIMMERMANN; WEISS, 2005; ZAMAN et al., 2006).

Entre outros aspectos que são importantes para a angiogênese, pode-se destacar o estresse mecânico a que o tecido enxertado estará submetido (AMIR et al., 2006). Uma sobrecarga funcional resulta em falência do processo com subsequente estímulo para diferenciação e proliferação fibroblástica com conseqüente inibição da osteogênese. Entretanto, um micromovimento na região em reparo pode aumentar a expressão de sinalizadores moleculares e celulares da angiogênese (PACICCA et al., 2003).

### **INTERDEPENDÊNCIA ENTRE ANGIOGÊNESE E OSTEOGÊNESE**

A migração do endotélio dentro do tecido ósseo em reparo é regida por um mecanismo aleatório. Normalmente existe uma inter-relação entre o caminho das células endoteliais e dos pré-osteoblastos. Neste microambiente, estas células ósseas são consideradas importantes reguladoras da síntese de VEGF que é essencial para a proliferação vascular (GERIS et al., 2008).

O VEGF regula o recrutamento e atividade de células endoteliais e de osteoblastos. Além disso, a presença de proteínas que estimulam especificamente a osteogênese, como as Proteínas Osseas Morfogênicas, também estimula a presença de VEGF no meio (CARANO; FILVAROFF, 2003). Além de a inibição na concentração do VEGF conduzir a um decréscimo na população das células endoteliais, ocorre um defeito na formação das junções osteo-cartilaginosa ocasionadas pela diminuição no número de condroblastos e osteoblastos funcionais (GERBER; FERRARA, 2001).

Esta relação depende, entre outras coisas, do compartilhamento de fatores de crescimento entre estes dois eventos biológicos. Ademais, alguns trabalhos têm suportado a idéia de que o sistema hematopoiético e o sistema ósseo compartilham células precursoras (CHANG et al., 1997; MATSUMOTO et al., 2008).

Células indiferenciadas expressando CD34<sup>+</sup> podem se diferenciar em células hematopoiéticas, células vasculares e osteoblastos. O CD34 é uma molécula que funciona como fator de adesão intercelular e atua mediando a adesão de células tronco a matriz extracelular ou a outras células do estroma (BELLINI; MATTOLI, 2007). Sua expressão no endotélio de linfonodos é importante no processo de migração de linfócitos T para esse órgão linfóide.

Marcadores de osteoblastos como a osteocalcina, e a fosfatase alcalina foram encontrados em células CD34<sup>+</sup> (MATSUMOTO et al., 2008). De forma análoga, precursores de osteoblastos que podem ser encontrados na corrente sanguínea expressam o CD34. Células expressando esta molécula de superfície ainda são encontradas entre a túnica média e adventícia de vasos adultos. Elas não expressam CD31, mas são capazes de se diferenciar em células de outras linhagens como células hematopoiéticas, macrófagos e mesmo células endoteliais (ZENGIN et al., 2006). Assim sendo, células pluripotentes exibindo esse fenótipo são importantes por que sua chegada no leito da fratura representa uma perspectiva tanto para angiogênese quanto para a osteogênese (MATSUMOTO et al., 2008).

Aos pericitos também tem sido designado o papel de funcionar como elo entre angiogênese e osteogênese (CHANG et al., 1997; MATSUMOTO et al., 2008). Quando novos vasos são formados, os pericitos em torno destes vasos são ativados. Estas células gradativamente se separam das paredes dos capilares e além de guiar células osteoprogenitoras, elas passam a exibir marcadores característicos de osteoblastos. Neste processo elas podem até se diferenciar completamente em osteoblastos (MATSUMOTO et al., 2008), aderir-se às paredes do osso e passar a secretar matriz (CHANG et al., 1997).

Quando se analisa o impacto da angiogênese nos diferentes processos de ossificação, seja ela endocondral ou intramembranosa, verifica-se que a neoformação vascular é imperativa para os estágios mais precoce de ambas (HAUSMAN; SCHAFFLER; MAJESKA, 2001). Entretanto, os mecanismos envolvidos com a ossificação intramembranosa apresentam uma relação mais estreita com a angiogênese enquanto que a ossificação endocondral resulta de

uma baixa densidade de oxigênio no tecido. Desta forma, admite-se que a quantidade residual do osso formado a partir de ossificação intramembranosa será maior que do que se a matriz óssea for precedida por cartilagem (RABIE, 1997; GERBER; FERRARA; 2001).

Apesar disso, a utilização de inibidores da angiogênese como o TNP-470 compromete a formação do tecido de granulação que serve como fundamento de toda a seqüência do reparo tecidual. Em se tratando de regeneração óssea, a inserção deste inibidor promove a secreção de uma cartilagem defeituosa que logo progride para ossificação anormal (HAUSMAN; SCHAFFLER; MAJESKA, 2001).

Mesmo o tecido ósseo mineralizado pode estimular a angiogênese. A hidroxiapatita estimula a proliferação de células endoteliais num mecanismo semelhante ao do VEGF. Células endoteliais quiescentes quando expostas a hidroxiapatita expressam propriedades compatíveis com o mecanismo de neoformação vascular que são o brotamento, a migração e a produção de metaloproteinases necessárias a digestão da matriz.

#### REFERÊNCIAS

1. AMIR, L.R. et al. Formation of new bone during vertical distraction osteogenesis of the human mandible is related to the presence of blood vessels. **Clinical Oral Implants Research**, v. 17, n. 4, p.410- 416, Aug. 2006.
2. BELLINI, A.; MATTOLI, S. The role of the fibrocyte, a bone marrow-derived mesenchymal progenitor, in reactive and reparative fibroses. **Laboratory Investigation**, v.87, n.9, p. 858–870, Sep. 2007.
3. CARANO, R.A.D.; FILVAROFF, E.H. Angiogenesis and bone repair. **Research Focus DDT**, v. 8, n. 21, p. 980-989, 2003.
4. CHANG, H. et al. Angiogenesis and expanded suture osteogenesis in an orthopedically. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics**, v. 111, p. 382-390, Apr. 1997.
5. GERBER, H.P.; FERRARA, N. Angiogenesis and bone growth. **Trends in Cardiovascular Medicine**, v. 10, n. 5, p. 223–228, 2000.
6. GERIS, L. et al. Angiogenesis in bone fracture healing: A bioregulatory model. **Journal of Theoretical Biology**, v. 251, p. 137–158, Mar. 2008.
7. HAUSMAN, M.R.; SCHAFFLER, M.B.; MAJESKA, R.J. Prevention of fracture healing in rats by na inhibitor of angiogenesis. **Bone**, v. 29, n. 6, p. 560–564, 2001.
8. HEE, C.K.; JONIKAS, M.A.; NICOLL, S.B. Influence of three-dimensional scaffold on the expression of osteogenic differentiation markers by human dermal fibroblasts. **Biomaterials**, v. 27, n. 6, p. 875-884, Feb. 2006.
9. HENLE, P.; ZIMMERMANN, G.; WEISS, S. Matrix metalloproteinases and failed fracture healing. **Bone**, v. 37, n. 6, p. 791-798, Dec. 2005.
10. KATSUBE, K. et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) gene transfer enhances surgical revascularization of necrotic bone. **Journal of Orthopaedic Research**, v. 23, p. 469-474, Mar. 2005.
11. KLEINHEINZ, J. et al. VEGF-activated angiogenesis during bone regeneration. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, v. 63, n. 9, p. 1310-1316, 2005.
12. MATSUMOTO, T. et al. Circulating endothelial/skeletal progenitor cells for bone regeneration and healing. **Bone**, v. 43, p. 434-439, Sep. 2008.
13. PACICCA, D. M. et al. Expression of angiogenic factors during distraction osteogenesis. **Bone**, v. 33, p. 889–898, 2003.
14. PEZZATINI, S. et al. Nanostructured HA crystals up-regulate FGF-2 expression and activity in microvascular endothelium promoting angiogenesis. **Bone**, v. 41, p. 523–534, 2007.
15. RABIE, A. Vascular endothelial growth pattern during demineralized bone matrix induced osteogenesis. **Connective Tissue Research**, v. 36, p. 337-345, 1997.

16. TRUETA, J.; BUHR, A.J. The vascular contribution to osteogenesis. v. the vasculature supplying the epiphysial cartilage in rachitic rats. **The Journal of Bone and Joint Surgery**, v. 45, p. 572-581, Aug. 1963.
17. VELAZQUEZ, O.C. Angiogenesis and vasculogenesis: Inducing the growth of new blood vessels and wound healing by stimulation of bone marrow-derived progenitor cell mobilization and homing. **Journal of Vascular Surgery**, v. 45, suppl. A, p. 39-47, Jun. 2007.
18. ZAMAN, M.H. et al. Migration of tumor cells in 3D matrices is governed by matrix stiffness along with cell-matrix adhesion and proteolysis. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 103, n. 29, p. 10889-10894, Jul. 2006.
19. ZENGIN, E. et al. Vascular wall resident progenitor cells: a source for postnatal vasculogenesis. **Development**, v. 133, p. 1543–1551, 2006.