

Osteoimunologia aplicada às reconstruções maxilofaciais

Osteoimmunology applied to maxillofacial reconstruction

Resumo

Esta revisão de literatura teve por objetivo discutir os aspectos atuais da osteoimunologia aplicada às reconstruções maxilofaciais. As reabilitações maxilares por implantes podem demandar enxertia óssea para prévia adequação do rebordo à colocação do implante. Os enxertos ósseos alógenos têm sido introduzidos nesse protocolo para evitar cirurgia numa segunda área. A criopreservação figura como um método importante para diminuir a antigenicidade do tecido, mas outras técnicas podem ser exemplificadas como a esterilização por radiação gama ou óxido de etileno. A imunologia participa do processo de incorporação ou de rejeição dos enxertos ósseos incrementando sua absorção. Diversas moléculas, como as interleucinas, o ligante do receptor ativador do fator nuclear- $\kappa\beta$ (RANKL), o fator nuclear de células T ativadas (NFAT), o fator estimulador de colônias de macrófagos (M-CSF), o fator de células B jovens (EBF-2) e a osteoprotegerina estabelecem a relação entre as células imunológicas e o metabolismo do osso enxertado. As evidências obtidas da literatura permitem inferir que o osso alógeno congelado é um bom material para aposição dos maxilares por não induzir rejeição imunológica.

Palavras-chave: Enxertos ósseos; enxerto alógeno; osteoimunologia; osteoclastos

Abstract

This literature review aimed to discuss some current aspects related to osteoimmunology applied to maxillofacial reconstruction. Maxillary rehabilitation with implants may demand bone grafting before implant placement in the alveolar ridge. Allografts have been introduced to prevent surgery in a secondary area. Cryopreservation is an important method to decrease tissue antigenicity, but other techniques can also be used such as sterilization by gamma radiation or ethylene oxide. Immunology may participate in the incorporation or rejection process of bone grafts by increasing bone resorption. Several molecules, such as interleukins, receptor activators of nuclear factor $\kappa\beta$ ligand RANKL, nuclear factor of activated T cells (NFAT), macrophage-colony stimulating factor (M-CSF), early B cell factor (EBF-2), and osteopontegrin establish the relation between immunological cells and bone graft metabolism. Evidences from the literature suggest that frozen allogenic bone may be a good material for jaw onlay grafts since they do not induce immunological rejection.

Key words: Bone graft; allografts; osteoimmunology; osteoclast

Miguel Gustavo Setúbal Andrade^a
David Costa Moreira^b
Sílvia Regina de Almeida Reis^b
Moisés Sadigursky^a

^aPrograma de Pós-Graduação em Imunologia ICS/UFBA, Salvador, BA, Brasil

^bPrograma de Pós-Graduação em Estomatologia/FBDC, Salvador, BA, Brasil

Correspondência:

Miguel Gustavo Setúbal Andrade
Divisão de Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial
Fundação Bahiana para Desenvolvimento das Ciências
Avenida Silveira Martins, 3386
Salvador, BA – Brasil
41150-100
E-mail: miguelsetubal@hotmail.com

Recebido: 26 de fevereiro, 2008
Aceito: 09 de junho, 2008

Introdução

Atualmente adota-se o conceito de que os implantes de titânio devem ser instalados na posição mais aproximada da posição original dos dentes. Entretanto, em algumas situações clínicas, há um conflito entre a posição ideal do implante e a quantidade de osso remanescente. Os enxertos ósseos são uma alternativa para contornar tal problema. A natureza preferencial do enxerto é autógena, entretanto iniciou-se o uso de osso de cadáver congelado para evitar a cirurgia numa segunda área que funcionaria como região doadora. Alguns poucos estudos têm mostrado que as temperaturas usadas na criopreservação do osso removido diminuem eficientemente a antigenicidade do tecido (1,2). Torna-se oportuno e relevante propor uma discussão sobre a lacuna existente no conhecimento das implicações imunológicas referentes aos protocolos clínicos de enxertia dos maxilares. O sistema imunológico desempenha papel crucial na absorção de osso nos processos patológicos dos maxilares e nas alterações secundárias à artrite reumatóide. Assim, o papel do sistema imune na incorporação e na absorção dos enxertos posicionados deve ser considerado na prática clínica. Este trabalho teve por objetivo revisar os aspectos imunológicos associados a enxertos ósseos alógenos e o mecanismo da osteoclastogênese.

Efeitos do sistema imunológico sobre o metabolismo ósseo

Filogenética do sistema imune e do sistema osteoarticular

O sistema imune adaptativo e o sistema osteoarticular são marcos biológicos na filogenética dos vertebrados. Acredita-se que esses sistemas tenham se desenvolvido concomitantemente no processo de evolução. Desse modo, eles compartilham uma série de proteínas e sistemas de ativação (3-5), cuja deficiência modifica a anatomia de ambos (5).

O metabolismo do ligante do receptor ativador do fator nuclear- $\kappa\beta$ (RANK), molécula presente tanto em osteoclastos quanto em linfócitos T, ilustra claramente essa suposição (6). Na deficiência deste receptor, os linfonodos se tornam defeituosos e ocorre um atraso no processo de diferenciação linfocitária concomitantemente com osteopetrose (6,7).

A regulação do fator nuclear de células T ativadas (NFAT), proteína descoberta em linfócitos T, também permite conclusões similares e demonstra como os dois sistemas podem ser regidos por mecanismos comuns (3,7). A ativação do sistema RANKL/RANK no osteoclasto ativa a calcinerina que desfosforila o NFAT possibilitando sua translocação para o núcleo e sua ligação ao gene de síntese das metaloproteinases-9 expressas nas fases iniciais da osteoclastogênese (8).

A interação entre os dois sistemas não está restrita somente a condições fisiológicas. Linfócitos T CD4 positivos ativados sintetizam maior quantidade de RANKL e induzem a diferenciação de monócitos em osteoclastos de maneira eficaz por estimular a ativação do RANK nos pré-osteoclastos (Fig. 1) (5,6,9). Nessas condições, o processo

fisiológico de remodelação óssea sofre um desvio para privilegiar a osteoclastogênese (4).

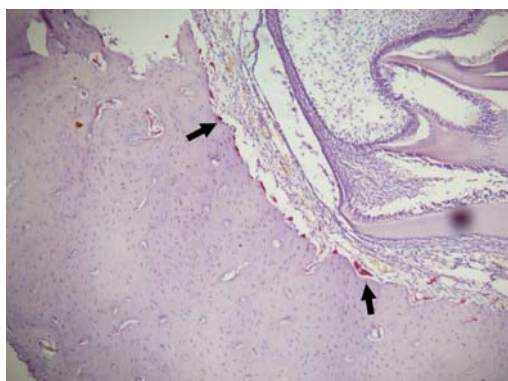


Fig. 1. Células TRAP positivas (setas) no periodonto de coelho. Coloração para TRAP. 100 \times .

O mecanismo molecular da osteoclastogênese

Um dos mais importantes pontos de comunhão na osteoimunologia está associado com o processo de perda de osso. O osteoblasto é um dos principais indutores da osteoclastogênese através de um mecanismo dependente do contato entre esta célula e o monócito precursor do osteoclasto (7,8,10-12).

Acredita-se que as células formadoras de osso sintetizem o RANKL, participem da sinalização de células precursoras e na sua diferenciação em osteoclastos (Fig. 2) (4,9,11,12). Nesse processo de comunicação entre osteoblasto e osteoclasto, outras moléculas ainda exercem fundamental relevância. Além de citocinas secretadas por linfócitos, há ainda moléculas do próprio osteoblasto, como o fator estimulador de colônias de macrófagos (M-CSF) e o fator de células B jovens (EBF-2) (11,13,14).

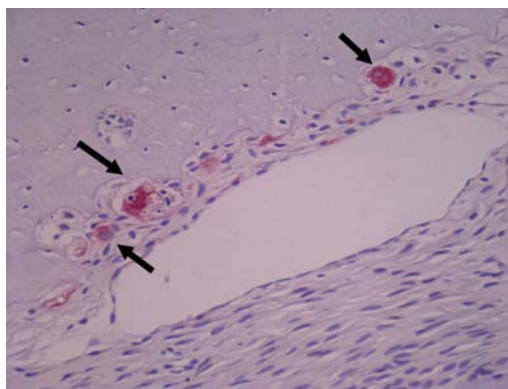


Fig. 2. Células multinucleadas TRAP positivas (setas) no periodonto de coelho. Evidenciam-se claramente as lacunas de absorção. Coloração para TRAP. 400 \times .

O M-CSF é uma molécula tão importante quanto o RANKL na osteoclastogênese (11) e a sua supressão está associada à osteopetrose. Ela participa do processo de recrutamento de monócitos que se diferenciarão em osteo-

clastos, assegura sua vitalidade e intensifica a expressão de RANK (7).

O EBF-2 participa do momento final da diferenciação de osteoblastos de modo que sua deficiência não compromete a formação do tecido ósseo apesar da secreção de osteocalcina estar diminuída. Esse fator, sintetizado por pré-osteoblastos, regula a síntese de RANKL inibindo a síntese de osteoprotegerina e intensificando a osteoclastogênese (13).

A osteoprotegerina é uma importante proteína relacionada à inibição da osteoclastogênese. Ela compete com o RANKL pelo seu receptor, o RANK (5,9,15). A sua atividade respalda a inibição da maturação de osteoclastos atribuída ao megacariócito (5), pois ele secreta a osteoprotegerina e transmite esse potencial às plaquetas (5,15).

O fator de crescimento transformador beta (TGF- β) também se traduz em outro fator de crescimento que inibe a osteoclastogênese. Ele também é sintetizado pelo megacariócito e também está presente nas plaquetas (5,16). Seu poder inibitório é tão potente que descontinua a diferenciação de osteoclastos iniciada pelo fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), RANKL ou M-CSF (12). Essa proteína é ainda um potente indutor de apoptose de osteoclastos e incrementa a produção de osteoprotegerina (15). Dessa forma, o megacariócito promove redução no número e na atividade dos osteoclastos (15,16).

○ papel das citocinas sobre a osteoclastogênese

As IL1 e IL6, assim como o TNF- α , são as citocinas pró-inflamatórias com maior atuação sobre o tecido ósseo. Em condições fisiológicas, a IL1 fundamenta o balanço entre a absorção e a deposição de osso delineando a homeostasia do tecido (4,17).

Os macrófagos são as células mais relevantes na secreção do TNF- α e por isso são igualmente reconhecidas como células de destaque na osteoclastogênese (5,16). Estas citocinas atuam diretamente sobre osteoclastos (Fig. 3), osteoblastos e fibroblastos e indiretamente sobre as células indiferenciadas, como na diferenciação de pré-osteoclastos em osteoclastos (11,17).

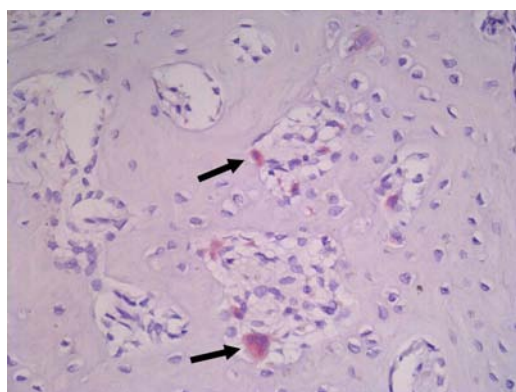


Fig. 3. Células multinucleadas TRAP positiva (setas) na intimidade de enxertos alógenos. Coloração para TRAP. 400 \times .

Outra citocina linfocitária capaz de inibir a osteoclastogênese é o fator de estimulação de colônias de macrófagos e granulócitos (GM-CSF) (5,10,12). Essa citocina inibe a proliferação de pré-osteoclastos e atribui-se que o mecanismo desse processo seja a expressão de c-Fos nestas células (10,12). O c-Fos é outro importante fator de transcrição da osteoclastogênese (12) e atua no processo de reconhecimento do sinal emitido pelo RANK após sua ativação (7).

Osteoimunologia

○ papel do complexo principal de histocompatibilidade

O reconhecimento do enxerto alógeno pelo sistema imune pode ocorrer de forma indireta pelas células apresentadoras de antígeno do indivíduo receptor. Elas fagocitam e processam antígenos do tecido e exibem-nos, em seu complexo principal de histocompatibilidade (MHC) de classe II, para a ativação das células efectoras (18). Outra sistemática de ativação imunológica, que parece menos plausível, fica a cargo dos linfócitos T citotóxicos de alta sensibilidade que são células imunológicas capazes de se ativarem pelo MHC de células do enxerto, independente da molécula de CD8 (18,19). Esse padrão de resposta imunológica ocorre principalmente contra os antígenos do MHC de classe I e um maior número de células presentes no tecido expressam essa proteína (19,20).

Atividade efetora contra o enxerto alógeno

O osso é considerado um tecido pouco antigênico, por isso espera-se que a resposta imune contra ele seja muito tênue (21,22). A atividade efetora seria, portanto, mais lenta e crônica. Inclusive, ela poderia até conduzir a uma tolerância em favor do osso alógeno (23). Isso porque a ativação inapropriada de linfócitos T acarreta hiporreatividade ou anergia (24).

A resposta inata é responsável pelo reconhecimento da massa enxertada. Sua característica mais marcante é a vasculite (23) e o infiltrado de polimorfonucleares e de macrófagos (25). A resposta imune adaptativa parece ser preponderante a nível sérico e evolui depois do reconhecimento de peptídeos presentes na superfície das células ósseas pelos linfócitos T citotóxicos (18,24).

Citocinas liberadas após o reconhecimento do enxerto

O colágeno II no tecido subcutâneo propiciou forte liberação de interferon gama (IFN- γ) e interleucinas (IL-2 e IL-4). Entretanto, a inoculação no osso fresco não induziu ativação de células T, o que foi ainda menor se o tecido ósseo fosse tratado previamente com fotooxidação. Esses achados sugerem que imunogenicidade do colágeno é menor quando ele está constituindo o tecido ósseo (26).

A osteopontina, outra proteína do osso, estimula linfócitos e funciona como citocina pleiotrópica que regula o sistema imune. Ela polarizou a resposta dos linfócitos T aumentan-

do a liberação de citocinas Th1 e inibindo a síntese de citocinas Th2. O IFN- γ consistiu numa das principais citocinas sintetizadas por linfócitos T depois do desafio imposto pela osteopontina. Essa importante proteína óssea foi quimiotática para macrófagos e induziu sua adesão no tecido (27), confirmando assim a importância destas células na osteoimunologia (28).

Resposta humoral contra os enxertos

Os enxertos ósseos apresentam potencial antigênico baixo para induzir a ativação de linfócitos B em plasmócitos e a subsequente secreção de imunoglobulinas. Dessa forma, a produção de anticorpos contra esses enxertos é pobre e não contribui para a perda ou a persistência da inflamação atribuída à diferença de antigenicidade do tecido (24,25,29). O tecido ósseo enxertado promove uma anergia humoral e esse fenômeno ainda foi extrapolado quando se observou que o co-transplante de osso intacto ativo diminuiu a rejeição a outros transplantes teciduais (29). Achados semelhantes foram encontrados na reatividade imunológica contra a pele transplantada em animais que receberam enxertos ósseos alógenos prévios. A titulação de anticorpos contra a pele nos animais que receberam o transplante sem prévia enxertia óssea foi aproximadamente seis vezes maior do que a dos animais onde foi co-transplantado osso fresco ou osso desmineralizado tratado com óxido de etileno. Nestes dois últimos grupos, a concentração de anticorpos contra antígenos da pele foi semelhante (25).

O sistema HLA e a enxertia óssea

Apesar de não haver preocupação com a compatibilidade do sistema de antígenos leucocitário humano (HLA) no protocolo de transplante de osso (30), o sistema imunológico do indivíduo receptor é capaz de sintetizar anticorpos específicos contra antígenos do MHC de classe I e de classe II das células transplantadas (20,31). Isto pode afetar a elegibilidade para um potencial transplante de outros órgãos (23,32) no momento da enxertia de osso alógeno (30).

Tratamento do tecido ósseo para enxertia alógena

Diminuição da antigenicidade

Os enxertos alógenos incitam uma pobre resposta imunológica que é significativamente diminuída se o tecido for

tratado previamente. O desengorduramento da porção medular compete com a diminuição da antigenicidade do osso (18,25,26). O carbonato de sódio, o hidróxido de sódio e o peróxido de hidrogênio são três soluções utilizadas para debridar essa gordura.

O congelamento do tecido é outra modalidade bastante utilizada nos bancos de osso (1). Este método necrosa a célula, rompe sua membrana e hidrolisa lipídios (33). Por conseguinte, desestrutura as proteínas do MHC (2) e aumenta a resistência do osso à absorção. Essa resistência diminui se a medular não for desengordurada, pois as integrinas ficam preservadas o que permite fixação dos osteoclastos (34).

Protocolos de esterilização

Alguns procedimentos de esterilização do tecido antes da sua estocagem ainda contribuem para reduzir a antigenicidade (26,35,36). A radiação gama é eficaz contra bactérias, contudo a dose que inativa o vírus HIV compromete a resistência tênsil do tecido (2,37). Este método promove a desnaturação protéica e oxidação de lipídicas diminuindo o potencial imunogênico (2).

O óxido de etileno preserva a quantidade de osteócitos no tecido, mas remanescentes desse gás se depositam na intimidade do material e induzem uma inflamação asséptica que dificulta sua revascularização (25). Esse protocolo altera o potencial osteogênico dos enxertos (38).

Conclusões

A semelhança filogenética entre o sistema imunológico e o osteoarticular resulta numa simbiose metabólica grande entre os dois. Eventos inflamatórios contra o osso ocasionam a proliferação de pré-osteoclastos, sua definitiva diferenciação e a consequente absorção óssea. Os enxertos alógenos tratados por congelamento diminuem a sua antigenicidade e aumentam sua resistência à absorção obtendo um volume bem mais expressivo de enxerto. Praticamente não há eventos teciduais que indiquem rejeição no indivíduo receptor do osso alógeno congelado. Este material está indicado para a utilização em reconstruções dos maxilares e demanda uma atenção com a paridade do sistema HLA em respeito ao princípio bioético do *slipery slope*. A falta de paridade pode comprometer a elegibilidade deste receptor para um potencial transplante de outros órgãos.

Referências

1. Hou CH, Yang RS, Hou SM. Hospital-based allogenic bone bank-10-year experience. *J Hosp Infect* 2005;59:41-5.
2. Moreau FM, Gallois Y, Baslé MF, Chappard D. Gamma irradiation of human bone allografts alters medullary lipids and releases toxic compounds for osteoblast-like cells. *Biomaterials* 2000;21:369-76.
3. Wein MN, Jones DC, Glimcher LH. Turning down the system: counter-regulatory mechanisms in bone and adaptive immunity. *Immunol Rev* 2005;208:66-79.
4. Takayanagi H. Mechanistic insight into osteoclast differentiation in osteoimmunology. *J Mol Med* 2005;83:170-9.

5. Kacena MA, Nelson T, Clough ME, Lee SK, Lorenzo JA, Gundberg CM, Horowitz MC. Megakaryocyte-mediated inhibition of osteoclast development. *Bone* 2006;39:991-9.
6. Tran CN, Lundy SK, Fox DA. Synovial biology and T cells in rheumatoid arthritis. *Pathophysiology* 2005;13:183-9.
7. Asagiri M, Takayanagi H. The molecular understanding of osteoclast differentiation. *Bone* 2006;40:251-64.
8. Sundaram K, Nishimura R, Senn J, Youssef RF, London SD, Reddy SV. RANK ligand signaling modulates the matrix metalloproteinase-9 gene expression during osteoclast differentiation. *Exp Cell Res* 2007;313:168-78.
9. Wyzga N, Varghese S, Wikel S, Canalis E, Sylvester FA. Effects of activated T cells on osteoclastogenesis depend on how they are activated. *Bone* 2004;35:614-20.
10. Shinoda K, Sugiyama E, Taki H, Harada S, Mino T, Maruyama M et al. Resting T cells negatively regulate osteoclast generation from peripheral blood monocytes. *Bone* 2003;33:711-20.
11. Pioletti DP, Kottelat A. The influence of wear particles in the expression of osteoclastogenesis factors by osteoblasts. *Biomaterials* 2004;25:5803-8.
12. Lari R, Fleetwood AJ, Kitchener PD, Cook AD, Pavasovic D, Hertzog PJ et al. Macrophage lineage phenotypes and osteoclastogenesis – complexity in the control by GM-CSF and TGF-beta. *Bone* 2007;40:323-6.
13. Kieslinger M, Folberth S, Dobrev G, Dorn T, Croci L, Erben R et al. EBF2 regulates osteoblast-dependent differentiation of osteoclasts. *Dev Cell* 2005;9:757-67.
14. Nishiguchi M, Yuasa K, Saito K, Fukumoto E, Yamada A, Hasegawa T et al. Amelogenin is a negative regulator of osteoclastogenesis via downregulation of RANKL, M-CSF and fibronectin expression in osteoblasts. *Arch Oral Biol* 2007;52:237-43.
15. Beeton CA, Bord S, Ireland D, Compston JE. Osteoclast formation and bone resorption are inhibited by megakaryocytes. *Bone* 2006;389:985-90.
16. Blair HC, Robinson LJ, Zaidi M. Osteoclast signalling pathways. *Biochem Biophys Res Commun* 2005;328:718-38.
17. Strand V, Kavanaugh AF. The role of interleukin-1 in bone resorption in rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2004;43(Suppl 3):iii10-iii16.
18. Deijkers RL, Bouma GJ, van der Meer-Prins EM, Huysmans PE, Taminiau AH, Claas FH. Human bone allografts can induce T cells with high affinity for donor antigens. *J Bone Joint Surg Br* 1999;81:538-44.
19. Stevenson S, Shaffer JW, Goldberg VM. The humoral response to vascular and nonvascular allografts of bone. *Clin Orthop Relat Res* 1996;326:86-95.
20. Lewandrowski KU, Rebmann V, Pässler M, Schollmeier G, Ekkernkamp A, Grosse-Wilde H et al. Immune response to perforated and partially demineralized bone allografts. *J Orthop Sci* 2001;6:545-55.
21. Chacon GE, Ellis JP, Kalmar JR, Mcglumphy EA. Using resorbable screws for fixation of cortical onlay bone grafts: an in vivo. Study in rabbits. *J Oral Maxillofac Surg* 2004;62:88-93.
22. Tetta C, Taddia N, Poli T, Quinto C, Fornasari PM, Albisinni U. Radiological assessment of bone segments for transplantation: experience at Rizzoli Orthopedic Institute. *Eur J Radiol* 2006;57:115-8.
23. Muscolo DL, Ayerza MA, Calabrese ME, Redal MA, Santini Araujo E. Human leukocyte antigen matching, radiographic score, and histologic findings in massive frozen bone allografts. *Clin Orthop Relat Res* 1996;326:115-26.
24. Yin D, Dujovny N, Ma L, Varghese A, Shen J, Bishop DK, Chong AS. IFN-gamma production is specifically regulated by IL-10 in mice made tolerant with anti-CD40 ligand antibody and intact active bone. *J Immunol* 2003 170:853-60.
25. Tshamala M, Cox E, De Cock H, Goddeeris BM, Mattheeuws D. Antigenicity of cortical bone allografts in dogs and effect of ethylene oxide-sterilization. *Vet Immunol Immunopathol* 1999;69:47-59.
26. Kawalec-Carroll JS, Hetherington VJ, Dockery DS, Shive C, Targoni OS, Lehmann PV et al. Immunogenicity of unprocessed and photooxidized bovine and human osteochondral grafts in collagen-sensitive mice. *BMC Musculoskelet Disord.* 2007;17:32.
27. O'Regan AW, Nau GJ, Chupp GL, Berman JS. Osteopontin (Eta-1) in cell-mediated immunity: teaching an old dog new tricks. *Immunol Today* 2000;21:475-8.
28. Takano H, Ariyoshi W, Kanno T, Fukuhara E, Ichimiya H, Matayoshi T et al. Induction of osteoclast-like cells derived from the synovial lavage fluids of patients with temporomandibular joint disorders. *Osteoarthritis Cartilage* 2007;15:291-9.
29. Yin D, Ma L, Varghese A, Shen J, Chong AS. Intact active bone transplantation synergizes with anti-CD40 ligand therapy to induce B cell tolerance. *J Immunol.* 2002;168:5352-8.
30. Carter G. Harvesting and implanting allograft bone. *AORN J.* 1999;70:660-70.
31. Ward WG, Heise E, Boles C, Kiger D, Gautreaux M, Rushing J et al. Human leukocyte antigen sensitization after structural cortical allograft implantations. *Clin Orthop Relat Res* 2005;435:31-5.
32. Lee MY, Finn HA, Lazda VA, Thistlethwaite JR Jr, Simon MA. Bone allografts are immunogenic and may preclude subsequent organ transplants. *Clin Orthop Relat Res* 1997;340:215-9.
33. Reis SR, Andrade MG, Knop LA, Hoshi R, Rabello IM. Mixoma odontogênico – avaliação imagiológica de um caso tratado com crioterapia. *Rev da ABRO* 2006;7:163-8.
34. Kluger R, Bouhon W, Freudenberg H, Kroner A, Engel A, Hoffmann O. Removal of the surface layers of human cortical bone allografts restores in vitro osteoclast function reduced by processing and frozen storage. *Bone* 2003;32:291-6.
35. Nather A. Musculoskeletal tissue banking in Singapore: 15 years of experience (1988-2003). *J Orthop Surg (Hong Kong)* 2004;12:184-90.
36. Dumas A, Gaudin-Audrain C, Mabilieu G, Massin P, Hubert L, Basle MF et al. The influence of processes for the purification of human bone allografts on the matrix surface and cytocompatibility. *Biomaterials* 2006;27:4204-11.
37. Moreno J, Forriol F. Effects of preservation on the mechanical strength and chemical composition of cortical bone: an experimental study in sheep femora. *Biomaterials* 2002;23:2615-9.
38. Higuera CA, Inoue N, Lim JS, Zhang R, Dimaano N, Frassica FJ et al. Tendon reattachment to a metallic implant using an allogenic bone plate augmented with rhOP-1 vs. autogenous cancellous bone and marrow in a canine model. *J Orthop Res* 2005;23:1091-9.