

Engenharia de Tecidos para regeneração óssea: retrospectiva e perspectivas futuras

Andreia Sofia Gonçalves Ribeiro

Engenharia de tecidos para regeneração óssea: retrospectiva e perspectivas futuras

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade Ciências da Saúde

Porto, 2012

Engenharia de Tecidos para regeneração óssea: retrospectiva e perspectivas futuras

Andreia Sofia Gonçalves Ribeiro

Engenharia de tecidos para regeneração óssea: retrospectiva e perspectivas futuras

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade Ciências da Saúde

Porto, 2012

Andreia Sofia Gonçalves Ribeiro

Engenharia de tecidos para regeneração óssea: retrospectiva e perspectivas futuras

---

Assinatura

Trabalho apresentado à Universidade Fernando Pessoa como parte dos requisitos para a  
obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Porto 2012

## **Sumário**

A engenharia de tecidos permite a substituição, regeneração ou reparação de tecidos ou órgãos. Para isso é necessário proceder a uma delicada escolha de células, suporte entre tantos outros fatores. Apesar de existirem já alguns produtos no mercado existe ainda um longo caminho a percorrer. Com o aumento da esperança média de vida a nível Mundial cada vez mais as doenças que afetam a locomoção são uma realidade socioeconómica preocupante com o estudo do osso e articulações e de várias doenças que afetam estes órgãos, será possível um dia com o avanço da tecnologia reparar os estragos causados através da engenharia de tecidos.

## **Abstract**

Tissue engineering allows the replacement, regeneration or repair of tissues or organs. For this it is necessary to make a delicate choice of cells, support among many other factors. Although there are already some products on the market there is still a long way to go. With the increase in life expectancy at World increasingly diseases that affect locomotion is a reality fraught with socio-economic study of the bone and joints and various diseases affecting these organs will be possible one day with the advancement of technology repair the damage caused by tissue engineering.

## **Dedicatórias**

É com muito carinho e orgulho que dedico este trabalho aos meus pais, à minha irmã e ao meu namorado, em especial à minha mãe e irmã, que ao serem portadoras de uma doença tão debilitante para os ossos e articulações como o é a artrite reumatoide, fizeram-me mergulhar neste tema de forma tão apaixonada. Sem a ajuda do meu núcleo familiar e do meu companheiro de todas as horas não seria possível realizar um dos meus sonhos, a minha licenciatura que será concluída através deste trabalho final.

A todos os meus colegas, amigos e familiares que com o seu amor, carinho, paciência e compreensão me deram força para traçar este longo caminho de 5 anos, mais concretamente nestes meses de pesquisa e trabalho.

## **Agradecimentos**

À Professora Dr.<sup>a</sup> Maria Pia, por toda a paciência, dedicação e empenho com que me guiou ao longo destes meses de pesquisa e trabalho. Pela amizade demonstrada, responsabilidade e coragem que me transmitiu um muitíssimo obrigada.

A todos os professores que ao longo destes meses me foram ajudando com os seus conselhos e dicas para um caminho mais reto para a conclusão deste trabalho.

Finalmente aos meus amigos que me ajudaram com todo o seu apoio.

## Índice

I.	Introdução.....	11
II.	Engenharia de tecidos.....	13
	1. Conceito.....	13
	2. Técnica base.....	13
	3. In vitro vs In vivo.....	15
	4. Células.....	15
	i. Células Estaminais.....	17
	5. Materiais.....	19
	ii. Electrospinning.....	20
	iii. Smarter polimers.....	20
	iv. Polímeros Biodegradáveis.....	21
	6. Bioreactores.....	22
	7. Imunomodelação.....	24
	8. Regulação de produção.....	24
	9. Produtos no mercado.....	26
III.	Tecido ósseo.....	29
	10. Anatomia do osso.....	29
	11. Histologia do Osso.....	31
	v. Constituição da matriz óssea.....	31
	vi. Organização da matriz óssea.....	32
	vii. Células ósseas.....	33
	12. Desenvolvimento Ósseo.....	34
	13. Crescimento Ósseo.....	36
	viii. Fatores que afetam o crescimento ósseo.....	37
	14. Remodelação óssea.....	40
	15. Reparação óssea.....	40

16.	Cartilagem.....	41
17.	Articulações .....	42
18.	Doenças dos Ossos e Articulações.....	44
	ix. Artrite .....	44
	x. Osteoporose .....	50
	xi. Espondilite Anquilosante .....	52
	xii. Tumores ósseos .....	54
IV.	Engenharia de tecidos aplicada ao osso e articulações.....	57
	19. Osso vs cartilagem articular.....	57
	20. Osso e Cartilagem .....	57
	xiii. Osso.....	57
	xiv. Cartilagem .....	58
	xv. In vitro vs In vivo .....	59
	xvi. Células.....	60
	xvii. Otimização da produção in vivo .....	60
	xviii. Terapia celular .....	61
	xix. Terapia com fatores de crescimento.....	62
	xx. Terapia génica .....	62
	xxi. Limitações da regeneração óssea .....	63
	21. Produtos .....	64
V.	Conclusão .....	65
VI.	Bibliografia.....	66

## Índice de Figuras

Figura nº 1- Estrutura do osso compacto e do osso esponjoso. A- mostra o corte longitudinal de um osso longo mostrando o osso compacto e o osso esponjoso. B- Imagem ampliada do osso compacto.....	30
Figura nº 2- Formação da matriz óssea. A- osso saudável. B- osso sem componente mineral. C- osso sem colagénio.....	32
Figura nº 3- Processo de reparação óssea.....	41
Figura nº 4- Mãos com artrite reumatoide, num estágio avançado da doença.....	45
Figura nº 5- Articulação do joelho com perda da cartilagem articular.....	48
Figura nº 6- Alterações provocadas no osso pela osteoporose.....	51
Figura nº 7- Alterações fisiológicas na Coluna Vertebral causadas por Espondilite Anquilosante.....	53
Figura nº 8- Osteosarcoma no fémur.....	54
Figura nº 9-Homen de 19 anos com pseudoartrose infetada depois de introdução de haste intramedular de um fratura exposta da tibia.....	64

## **Índice de Tabelas**

Tabela 1- Poli ( $\alpha$ -hidroxi ácidos, polímeros sintéticos reabsorvíveis.....	21
Tabela 2- Critérios para segurança dos produtos fabricados por engenharia de tecidos.. .....	26
Tabela 3- Lista de Produtos Formados com a ajuda da Engenharia de tecidos e Terapia Celular aprovados pela FDA para serem comercializados.....	27
Tabela 4- Fatores de risco para fraturas osteoporóticas. ....	52

## I. Introdução

A ideia de substituir partes do corpo humano que por motivo de doença ou acidente perderam a sua funcionalidade é antiga, mas foi sendo desenvolvida ao longo dos tempos, sendo que do inicial ponto de partida de substituição por madeira, metal e “plástico” surge a tecnologia que permite a substituição por tecidos estranhos, ou do próprio paciente. Desta forma a tecnologia de ponta permite substituir o tecido ou órgão, doente ou amputado, por um tecido ou órgão novo que para além de substituir a nível físico tem a mesma capacidade funcional. A última tentativa bem-sucedida de reparação da função fisiológica foram os transplantes. No entanto trouxeram a cura e demasiados problemas com ela, o número de dadores inferior ao número de paciente, a compatibilidade entre dador e recetor e a imunomodulação/imunossupressão do paciente. De forma a substituir o tecido é necessário conhecer a fisiologia do mesmo para que todas as funções sejam garantidas através do tecido criado por engenharia. No caso apresentado, é necessário ter muito bem esclarecida a função de cada célula do osso, no seu desenvolvimento, crescimento, manutenção e reparação, para que em caso de doença ou acidente este seja capaz de se restituir na sua função fisiológica. A engenharia de tecidos ao nível clínico permite a substituição, regeneração ou reparação de um tecido que tenha sido afetado por uma doença ou por trauma/acidente. As células vivas mantidas em suportes, *in vitro* ou *in vivo*, vão formar novo tecido para implante ou vão ser implantadas e migrarem para o tecido de forma a regenera-lo respetivamente. Os primeiros produtos que foram aplicados nesta área estavam relacionados com a pele que foi pioneira e com a cartilagem que sendo materiais dimensionais a sua conformação não é alterada com a dimensão e forma do suporte (Vacanti e Vacanti, 2007).

Para aplicar o conhecimento da engenharia de tecidos ao osso e articulações é necessário primariamente estudar bem a sua anatomia e histologia e ainda os seus mecanismos fisiológicos. Processos como a remodelação e reparação óssea ajudam no entendimento do tipo de célula, matriz e suporte se deve utilizar. A remodelação óssea acontece continuamente para que o osso nunca se deteriore e que consiga sempre manter-se forte e saudável. O ritmo de deposição de novo osso e de remoção de osso antigo deve ser equilibrado de forma a que não haja enfraquecimento do osso. No caso

de algum trauma ou acidente o osso é reparado através de várias etapas, sendo que no final deve estar sem sinal de trauma. No entanto, em algumas situações de doença ou trauma associado a doença a remodelação e a reparação não são possíveis ficando o osso e a articulação danificados (Seeley *et al.*, 2005) e (Phipps *et al.*, 2003).

O benefício socioeconómico que este tipo de produto pode trazer é incalculável, tal como o número de doenças ou traumas passíveis de serem tratados. No caso específico das doenças do sistema músculo-esquelético, mais concretamente dos ossos e articulações, afetam milhões de pessoas em todo o Mundo. Assim são uma fonte inesgotável de pesquisa para produtos de engenharia de tecidos. Doenças como a artrite reumatoide, a osteoartrite, e a osteoporose são cada vez mais uma realidade social e económica preocupante, pois causa uma elevada taxa de morbilidade. Desta forma o osso é um órgão interessante do ponto de vista da regeneração e reparação (Phipps *et al.*, 2003) e (Vacanti e Vacanti, 2007).

A engenharia de tecidos ao nível ósseo implica a formação através de células mesenquimatosas ou através de formação intramembranosa a partir de cartilagem. Descobriu-se também que algumas células precursoras osteogénicas têm a capacidade de formar células ósseas sem qualquer tipo de sinal indutivo; as células estaminais com origem na medula óssea têm igualmente alguma capacidade para formar osso e cartilagem. As moléculas indutivas mais eficazes para diferenciação das células denominadas universais em células ósseas são as proteínas morfogénicas do osso (BMP's) (Vacanti e Vacanti, 2007).

## II. Engenharia de tecidos

### 1. Conceito

A engenharia de tecidos tenta de várias formas substituir um tecido ou órgão humano através da sua regeneração ou substituição total através de células vivas. Para regenerar ou substituir um tecido através de células vivas é necessário um suporte que de alguma forma consiga guiar o crescimento para que este seja ordenado e forme um tecido corretamente. As células vivas podem ser implantadas como novo tecido ou como células diferenciadas, ambas as situações implicam uma integração no corpo humano e a aceitação do implante a nível imunitário. Após o implante, as células vão através dos sinais biológicos começar a formar tecido ou a regenerar o existente. A Engenharia de tecidos acaba por ser um combate ao transplante de órgão através da imitação da natureza. Assim sendo são usadas células do próprio paciente ou de doadores, através das quais se cria um tecido ou órgão para substituição ou regeneração do que foi afetado por alguma doença ou trauma. Após a implantação as células vivas podem migrar para o suporte ou então estar associadas a ele anteriormente, juntamente com a matriz extracelular. Além disso as células tanto podem estar diferenciadas no tecido que se pretende regenerar ou então serem manipuladas de forma a produzirem a função apenas quando em contato com alguns sinalizadores *in situ*. De forma simples a engenharia de tecidos é a disciplina que rege o fabrico de partes do corpo humano incluindo o esqueleto e a restauração de funcionalidades e de partes perdidas por doença, trauma/acidente (Vacanti e Vacanti, 2007).

### 2. Técnica base

De acordo com Galletti (*cit. in* Vacanti e Vacanti 2007), “a engenharia de tecidos é literalmente uma interface da medicina tradicional de implantes e a revolução biológica”. Esta revolução implica conhecimentos de vários níveis, visto que um tecido é uma estrutura complexa, formada por várias unidades celulares simples mas que são como que comandadas por um batalhão de moléculas que influenciam o funcionamento

fisiológico e bioquímico de um órgão/tecido. O conhecimento celular, bioquímico, de biologia molecular, engenharia química e biológica e ainda das células estaminais é muito importante para a formação de tecidos a partir desta técnica. A engenharia de tecidos engloba de forma geral: células, um suporte, uma matriz extracelular e um bioreator no caso de produção *ex vivo* (Vacanti e Vacanti, 2007).

Tudo começa com a escolha das células, estas são o ponto de partida para a escolha do suporte que deve respeitar a estrutura tridimensional das mesmas e do futuro tecido. As células são então cultivadas no suporte onde se vão multiplicar e crescer com a ajuda de uma matriz extracelular que lhes forneça tudo o que necessitam para esta fase, tais como: fatores de crescimento, oxigénio, fatores de diferenciação entre outros. Este crescimento quando é feito *ex vivo* necessita tal como já foi referido, de um bioreator que simule juntamente com a matriz as condições tidas *in vivo*. Após a formação do tecido vai-se proceder ao seu implante no organismo, onde o suporte deve ser preferencialmente reabsorvido, degradado e eliminado. Para isso é necessário ter um suporte biodegradável. O tecido vai-se integrar no tecido ou órgão doente de forma a regenera-lo. Existe a possibilidade de as células diferenciadas sejam implantadas diretamente, formando depois o tecido *in situ* no entanto não é a técnica preferencial (Vacanti e Vacanti, 2007).

Segundo Barbanti (2005 , p. 14) de “formal geral a preparação dos produtos de engenharia de tecidos segue as seguintes etapas:

- I. Seleção e processamento do suporte;
- II. Inoculação da população celular sobre o suporte,
- III. Crescimento do tecido prematuro,
- IV. Crescimento do tecido maturado em sistema fisiológico (bioreator),
- V. Re-Implante cirúrgico,
- VI. Assimilação do produto.”

### 3. In vitro vs In vivo

A engenharia de tecidos pode ser feita a dois níveis, *in vivo* e *in vitro*, ambas as situações podem levar ao sucesso da operação, do implante, na reparação e regeneração de tecidos. A escolha deve ser feita com base no tipo de tecido e no tipo de implante. A introdução de células *in vivo* vai levar a uma reparação, aumento do tecido, substituição de células antigas e à preservação da função fisiológica *in situ*. Ou seja as células são inseridas diretamente no organismo num suporte com fatores de diferenciação que vão fazer com que as células se desenvolvam corretamente, ou ainda as células sejam inseridas já com diferenciação para se desenvolverem no local. Em relação ao processo *in vitro* o processamento é feito em bioreatores para que as células formem um tecido que será posteriormente implantado *in vivo* (Vacanti e Vacanti, 2007).

### 4. Células

O despertar de qualquer tipo de tecido na engenharia de tecidos diz respeito às células a usar. As células usadas podem ter 3 origens: podem ser autólogas, alogénicas e xenogénicas ou seja respetivamente, do próprio paciente, de outro ser humano, ou de um animal. A nível imunológico todas têm consequências diferentes: no caso das do próprio paciente a aceitação a nível imunológicos está garantida; no caso de um dador humano é necessário ter cuidados ao nível da implantação porque pode ser rejeitado, a nível imune é necessário proceder a alguma imunossupressão ou imunomodulação. No caso das células animais é necessário ter em conta a aceitação a nível imunitário e ainda é exigido que qualquer doença que possa ser transmitida seja eliminada, seja a nível microbiano ou de outro tipo. As células autólogas e alogénicas são extraídas ou através de uma biópsia ao próprio paciente, e ao dador, ou através das células estaminais do cordão umbilical guardadas por criopreservação. No caso das células xenogénicas estas são retiradas do animal vivo. A escolha é complexa e engloba a questão imunitária, impedimento de biópsia, células guardadas por criopreservação e os custos socioeconómicos. Nesta luta a efetividade, eficiência, regulação e aprovação são tidas em conta. As células autólogas permitem ter um único paciente envolvido, enquanto nas outras é necessário envolver mais pessoas. A aceitação imunitária, tal como supra

referido, implica várias questões no uso de células de outros dadores. É uma balança que pesa de ambos os lados e embora os custos associados às células do próprio dador sejam superiores segundo vários estudos, as vantagens pesam igualmente de forma prevalente na balança da escolha (Vacanti e Vacanti, 2007).

Além da origem, a capacidade de diferenciação é tida em conta visto que queremos criar diferentes tipos de tecidos. As células estaminais são indiferenciadas pelo que podem, através de sinalizadores biológicos apropriados, desenvolver diferentes tipos de linhagens celulares, sendo do ponto de vista da engenharia de tecidos muito interessantes. As células estaminais podem ter 2 origens: no adulto podem ser encontradas na medula óssea e no cordão umbilical, sendo que estas são as mais importantes visto que são embrionárias (mesenquimatosas) têm pluripotência ou seja têm capacidade de se diferenciar em qualquer tipo de célula (Vacanti e Vacanti, 2007).

A célula escolhida deve ter a capacidade de se desenvolver normalmente como no processo de cura e substituição celular ou de se desenvolver de acordo com a morfogénese (desenvolvimento celular a partir da fecundação). Em ambas as situações é necessário que esteja assegurada a capacidade de criar e recriar estruturas funcionais através da informação genética que possuem e com a ajuda de sinalizadores biológicos. No caso específico da morfogénese, as células devem ter a capacidade de desenvolver a cascata de formação do corpo, estabelecendo o plano do corpo e a sua arquitetura, simetria bilateral a nível musculoesquelético. Os três fatores chave para que a morfogénese funcione a nível da engenharia de tecidos são: suporte e matriz extracelular, sinais indutivos para a morfogénese e a resposta por parte das células estaminais (Vacanti e Vacanti, 2007).

No entanto, qualquer tipo de célula que possa vir a diferenciar-se para criar um tecido necessita de ser mantida viva *in vitro* e *in vivo* para que seja capaz de regenerar um tecido. Para que a vida da célula seja mantida *in vitro* é necessário adequar o design do bioreator e a composição da matriz extracelular e do suporte ao tipo de tecido que queremos criar, situações que serão explicadas posteriormente Além deste critério, é importante o número de células transferidas que também influencia o processo de

produção de um tecido. Para que a regeneração seja possível é necessário fazer uma cultura celular a partir das células escolhidas inicialmente. Desta forma a população celular é expandida até ao número necessário para a aplicação clínica, controlada, fiável e reproduzível (Vacanti e Vacanti, 2007).

As células necessitam de se manter viáveis mesmo quando ligadas ao suporte. Esta situação implica esterilidade, análise funcional das células e posicionamento/ligação correta ao suporte usado (Vacanti e Vacanti, 2007).

#### *i. Células Estaminais*

As células estaminais humanas, tal como já foi referido, são obtidas através da medula óssea e está comprovado que através da terapia celular podem ajudar na cura de inúmeras doenças devido à sua capacidade de formarem vários tipos de células (Wobus e Boheler, 2006).

Segundo Bianco e Robey (2001 , p. 121) “a medula óssea é um centro de futuro desenvolvimento em tecnologias, não só pelo órgão, mas também pelo tipo de célula produzida. Além disso refere ainda que as células da medula óssea têm a vantagem de terem sido produzidas por um adulto, sendo mais resistentes”.

No entanto, as células estaminais embrionárias são preferidas devida à sua pluripotência, fenómeno também já explicado, assim são as que mais chamam a atenção sobre si quando se trata de escolher as células para formar um tecido, principalmente, tendo em conta as inúmeras campanhas ao nível da comunicação social que incentivam a recolha destas mesmas células (Vacanti e Vacanti, 2007).

As células estaminais embrionárias têm a aptidão de se diferenciarem em todos os tipos de células somáticas com talento aparente para proliferarem, ilimitadamente. Estas células representam uma alternativa celular benéfica no isolamento, expansão celular sem diferenciação e um potencial de formar qualquer tipo de célula existente no

organismo, qualquer tipo de linhagem. Os derivados destas células podem ser aplicados diretamente em suportes apropriados. Apesar dos benefícios apresentados desta forma, parecerem uma promessa; todos estes benefícios exigem uma correta diferenciação das células na linhagem pretendida, através de um meio homogêneo e controlado, de forma a evitar o implante de células não diferenciadas que podem ter um potencial carcinogénico. Os parâmetros de solubilidade, imobilização, mecanismos de sinalização biológica têm, obrigatoriamente, um controlo para que a expansão e a diferenciação e a forma das células seja homogênea. A autorrenovação das células estaminais é um pré-requisito para a formação de massa celular viável. Um dos problemas que o uso destas células têm em aplicações clínicas consiste na falta de conhecimento que existe na sua capacidade de diferenciação. Estas células mostraram capacidades de diferenciação ao nível hematopoiético, endotelial, cardíaco, osteogénico, entre outros, embora não seja possível prever a uniformidade de diferenciação que é associada às propriedades intrínsecas e à carência de sinais espaciais e temporais no microambiente que rodeiam a célula. Para que a diferenciação ocorra é necessário, por exemplo, reprogramar a célula de forma a introduzir genes específicos que levem à produção e programação de células numa linhagem específica. Esta alteração pode ser feita de várias formas: através de plasmídeos específicos, da introdução de transgenes com vírus inativados, através de adenovírus incluídos no genoma. Estas introduções podem gerar regulações positivas ou negativas, ou seja, é constituída ou controlada a expressão dos fatores de transcrição, enquanto que na regulação negativa pode ser incorporada para induzir a apoptose, caso a diferenciação desejada não se verifique (Vacanti e Vacanti, 2007).

Normalmente, as células estaminais crescem em agregados celulares na sua forma primitiva, de forma a estimular a diferenciação podem ser utilizados dois métodos. O primeiro consiste na remoção de células diferenciadas dos corpos embrionários formados *in vitro* através de suspensões de células ou agregados. O corpo embrionário é no fundo uma mimetização da estrutura de desenvolvimento embrionário, sendo que, nessa fase é possível localizar e isolar tecidos específicos. Alternativamente, a célula estaminal pode ser cultivada, induzida e diferenciada através do segundo método (Vacanti e Vacanti, 2007).

## 5. Materiais

Os suportes utilizados para guiarem o crescimento e desenvolvimento do tecido devem utilizar materiais compatíveis com os sistemas vivos ou com as células vivas *in vivo* e *in vitro*, visto que as configurações físicas e químicas dos novos biomateriais interagem com as células vivas. Esta interação deve ser otimizada para que a produção seja valorizada e para que as células se expandam, diferenciem e organizem. Os suportes devem ser pensados de forma a mimetizar a forma dos recetores e dos locais de ancoragem e a tridimensionalidade das células a utilizar e dos tecidos a criar. Os materiais do suporte podem ser naturais, sintéticos ou semissintéticos e ainda permanentes ou biodegradáveis. Os materiais utilizados devem ser controlados de forma exigente antes de serem utilizados, é necessário estudar: a potencial toxicidade e citotoxicidade dos materiais usados, a resposta imune e inflamatória, a manutenção das propriedades mecânicas do suporte após o implante, o perfil de degradação, a via de excreção. A taxa de degradação do suporte é um parâmetro crucial no sucesso da regeneração, visto que as células necessitam de migrar para formar tecidos remodelados e, é necessário um timing certo para que a operação seja bem sucedida. A composição e o design do suporte devem ser igualmente controlados e a reprodutibilidade deve ser garantida. O produto final deve ser o melhor ao nível do manuseamento, organização, design aconselhado e aceitação ao nível biológico, o que implica uma maior facilidade de controlo ambiental ao nível da produção (Vacanti e Vacanti, 2007).

Os suportes são normalmente constituídos por hidroxiapatite e vidros ou cerâmicas bioativas devido à sua porosidade na formação ou regeneração de tecidos duros. Segundo Rosso (*cit. in* Vacanti e Vacanti 2007) “o suporte utilizado pode ser considerado uma matriz extracelular”.

Segundo Barbanti et al. (2005 , p. 17) “existem inúmeros fatores que podem afetar a degradação do suporte, desde a localização do implante, solicitação mecânica, massa molar, a composição química do mesmo, estereoisometria, passando pela cristalinidade, e a morfologia (tamanho, geometria, porosidade, rugosidade de superfície, pH) e ainda a presença de aditivos”.

A matriz extracelular é um espaço ocupado por variadas moléculas, que pode contribuir para a integridade mecânica que ocupa um lugar importante na sinalização e função reguladora para o desenvolvimento, manutenção e regeneração dos tecidos (Vacanti e Vacanti, 2007).

*ii. Electrospinning*

Estes suportes para produção *ex vivo* têm corrente elétrica o que permite a incorporação de novos componentes no suporte, através de uma matriz extracelular. Componentes como os glicosaminoglicanos, subtipos de colagénio e laminina ajudam na promoção da adesão celular, no crescimento e na diferenciação. Além desta questão, permitem ainda a ligação de proteínas aos polímeros sintéticos do suporte, fornecendo então a capacidade de formar ligações mais fortes ao mesmo, formando matrizes mais fortes e elásticas. Uma mistura de polianilina e gelatina com condução eléctrica é um exemplo de uma matriz de nanofibra com biocompatibilidade (Vacanti e Vacanti, 2007).

*iii. Smarter polymers*

Segundo Galaev e Mhiason (*cit in* Vacanti e Vacanti 2007) “a noção de polímeros inteligentes foi introduzida com a descrição de materiais que exibem uma vasta alteração conformacional em resposta a alterações produzidas no meio extracelular, tais como: pH, temperatura, luz e força iónica”. A resposta do polímero é normalmente reversível e implica acontecimentos como: precipitação, congelamento, adsorção, alternância entre o modo hidrofílico ou hidrofóbico. Estes materiais apresentam uma revolução ao nível do suporte, visto que permitem incluir no suporte proteínas bioativas com os componentes da matriz e os fatores de crescimento, o que apresenta uma vantagem além das propriedades físicas (Vacanti e Vacanti, 2007).

iv. *Polímeros Biodegradáveis*

Os polímeros são os primeiros materiais a escolher para o fabrico de um suporte, sendo que existem inúmeros polímeros biodegradáveis. De acordo com a origem, podem ser classificados em: origem natural tais como: polissacarídeos (alginato, quitosano, ácido hialurónico), proteínas (soja, colagénio, geis de fibrina e sílica); sintética ou seja polímeros: PLA- poly(lactic acid), PGA-poly(glycolic acid), PCL-poly( $\epsilon$ -caprolactone) e por último o PHB- poly(hydroxyl butyrate) (Armentano *et al.*, 2010).

Para usar polímeros bioreabsoríveis, poli( $\alpha$ -hidroxi ácidos) é necessário definir os conceitos de biodegradação, bioabsorção e bioreabsorção. Ou seja, um polímero biodegradável é aquele que sofre degradação *in vivo* sem a absorção dos produtos por parte do organismo. Um polímero bioreabsorível é aquele que é degradado *in vivo*, de forma a diminuir o seu tamanho, sendo os seus produtos absorvidos pelo organismo através das suas vias metabólicas. O polímero é totalmente eliminado sem efeitos colaterais neste caso. A bioabsorção está relacionada com polímeros que são capazes de se dissolverem em fluídos corpóreos, a absorção é processada lentamente, sem haver degradação como nos casos anteriores (Barbanti *et al.*, 2005).

Polímero	Sigla	Fórmula	T <sub>g</sub> (°C)	T <sub>m</sub> (°C)	Módulo de Elasticidade (GPa)	Tempo de Degradação (meses) <sup>b</sup>
Poli(ácido glicólico)	PGA		35 - 40	225 - 230	8,4	6-12
Poli(L-ácido láctico)	PLLA		60 - 65	173 - 178	2,7	> 24
Poli(D,L-ácido láctico)	PDLLA		55 - 60	Amorfo	1,9	12 - 16
Poli(D,L-ácido láctico-co-ácido glicólico)	PLGA		45 - 50 <sup>a</sup>	Amorfo	2,0	1 - 2
Poli( $\epsilon$ -caprolactona)	PCL		(-65) (-60)	58-63	0,4	24 - 36

<sup>a</sup> Valores para o copolímero 50/50;  
<sup>b</sup> Até a completa bioreabsorção;  
 T<sub>g</sub> - temperatura de transição vítrea;  
 T<sub>m</sub> - temperatura de fusão

Tabela 1- Poli ( $\alpha$ -hidroxi ácidos, polímeros sintéticos reabsoríveis. Adaptado de Barbanti *et al.*,2005.

Quando se usam materiais bioreabsorvíveis é possível ter duas estratégias de aplicação. Na primeira, o suporte deve ser desenvolvido de forma a ser capaz de suportar a nível físico e mecânico as células, a partir do momento da inoculação, até ao momento do reimplante no paciente. Além disso, deve ainda ser degradado e remodelado *in vivo* tendo em conta o crescimento celular e a necessidade da sua mecânica. O tecido é formado após o implante das células e do suporte. Na segunda estratégia, o implante é feito já de tecido formado, sendo que o seu suporte deve ser degradado num timing perfeito de adaptação ao crescimento celular no bioreator. Neste caso, a inoculação das células é feita no suporte e o crescimento é procedido no bioreator. Assim é necessário que o espaço seja rentabilizado à medida que as células secretam matriz extracelular o suporte vai-se degradando e reabsorvendo (Barbanti *et al.*, 2005).

## 6. Bioreactores

Os bioreactores são aparelhos de alta tecnologia cuja função, neste caso, é simular o grande bioreator que é o corpo humano. Assim sendo, simula o aporte de oxigénio e nutrientes às células, e todas as moléculas sinalizadoras que intervêm diretamente na formação de um determinado tecido. Nesta fase, as células vão crescer e multiplicar-se e, ainda se for necessário, diferenciarem-se formando um tecido. Um bioreator com condições estáticas normalmente implica um menor aproveitamento para o desenvolvimento de tecido, visto que o aporte de nutrientes, oxigénio e a eliminação de substâncias tóxicas é ineficiente. O sistema desenhado para os bioreactores que ajudam preciosamente na engenharia de tecidos foi feito para superar essas dificuldades e facilitar a reprodutibilidade da produção em condições restritas. No fundo, o bioreator serve como um órgão bioartificial ligado à corrente sanguínea do paciente (Vacanti e Vacanti, 2007).

No bioreator realiza-se o início da cultura celular, a sua transformação, preservação e validação das células e dos métodos de diferenciação. A iniciação da cultura celular deve ser feita através de um explantação primária ou seja de um fragmento de tecido ou

de um agregado de célula que irá crescer. Para que isso ocorra é necessário proceder a uma série de operações delicadas, desagregação enzimática e mecânica. A desagregação enzimática consiste na proteólise com íons cálcio ou magnésio que vão digerir a matriz extracelular e dissociar os complexos juncionais; pode ainda ser feita uma inativação através da variação de temperatura, submeter as células a 4°C de forma prolongada, seguido de um período de incubação a 37°C; existe ainda a possibilidade de selecionar as enzimas menos agressivas. A desagregação mecânica é feita através de um “crivo” para que os agregados celulares de grande dimensão sejam dispersos, facilitando o desenvolvimento de uma cultura celular (Vacanti e Vacanti, 2007).

Na cultura primária as células crescem fora do explante, são consideradas como que uma seleção do tecido. Dependem da própria capacidade de migrar para fora do explante ou de se desagregarem. As células mais importantes, nesta fase, são as diferenciadas, visto que necessitam de condições especiais para sobreviver. Para que a população celular seja a desejada é necessário proceder a uma purificação e seleção passíveis de amplificar a população desejada, em detrimento das células indiferenciadas. Este procedimento deve abranger o isolamento e a separação física das células na cultura primária e ainda condições de cultura seletivas. O que ajuda a esta permissiva é o gradiente de densidade que acaba por permitir uma purificação parcial (Vacanti e Vacanti, 2007)

A subcultura ou propagação ocorre quando a superfície de crescimento, ou melhor dizendo, a concentração celular em crescimento vai provocar o esgotamento do meio. Neste caso, o meio fica saturado sendo necessária a transferência de população celular para um novo meio, considerada uma subcultura. Se as células se encontram em suspensão, ou seja diluídas no meio, a transferência é facilitada, no caso de as células crescerem num suporte é necessário proceder a uma passagem. Quando se procede a uma passagem a cultura fica diluída, o grau de diluição possível é determinado pela capacidade das células proliferarem. Neste caso, é importante definir a concentração celular específica e ainda a concentração celular máxima que se pode esperar da próxima subcultura (Vacanti e Vacanti, 2007).

Para que a cultura celular seja válida, é necessário efetuar uma denominada linha do crescimento, ou seja, que indica o processo de crescimento celular com a cultura definida, de forma segura e de confiança. Para que a cultura seja validada é necessário autenticar a cultura, verificar a sua proveniência, proceder à sua caracterização e ainda demonstrar que a contaminação é nula (Vacanti e Vacanti, 2007).

### 7. Imunomodulação

O implante de um enxerto implica uma aceitação imunológica tal como já foi referido. Hoje em dia para que a imunidade seja ultrapassada sem imunossupressão total tenta-se a criação de uma tolerância imunológica de várias formas:

- Estabelecimento de bancos de linhagens celulares que representam todos os tipos de células,
- Programação nuclear para o paciente,
- Criação de uma célula universal através do complexo de histocompatibilidade de forma a ser aceite por todos os pacientes,
- Deleção de genes que codificam para as proteínas que formam a resposta imunitária,
- Gerar uma substância fictícia hematopoiético que forme tolerância (Vacanti e Vacanti, 2007).

### 8. Regulação de produção

O requisito para a estruturação parcial ou completa de um órgão ou tecido doente é a manutenção das suas permissivas iniciais, ou seja a manutenção da sua atividade fisiológica, em pleno. Para isso é necessário que o produto que seja aplicado esteja de acordo com uma série de parâmetros, de forma a garantir a total segurança do mesmo. Em suma, para que a aplicação seja bem-sucedida é necessário que haja uma espécie de

“guias de ação”. Após os materiais escolhidos são necessários estudos científicos que testem a estratégia dos novos produtos e ainda definir a resposta do corpo à introdução do novo produto no mesmo. Os produtos que provocam uma resposta imune obrigam a um estudo da imunotoxicidade apertado, tal como da imunomodulação ou a avaliação do potencial infeccioso. Produtos que contenham algum tipo de material animal devem ainda ser testados para a possibilidade de existirem vírus ou príões, entre outros, que possam ser transmitidos aos humanos. Os materiais biodegradáveis têm um teste em tudo similar aos supra referidos sendo-lhes acrescentados testes adicionais para a definição do perfil de degradação, via de excreção, resposta corporal à perda do suporte. Esta caracterização além de verificar a segurança dos materiais envolvidos, vai garantir que na altura da fracionamento do suporte, o tecido tenha tido tempo suficiente para garantir a integridade funcional e estrutural de forma a ser capaz de regenerar o tecido sem o suporte (Vacanti e Vacanti, 2007).

Tabela 3.1 Visão geral de um estudo potencial para apoiar a entrada clínica de um protótipo de engenharia de tecidos/ produto médico regenerativo (TERMP)

#### **Celular/ Controlo da manufatura química**

- Definição da produção do produto e dos processos iniciais de manufatura
- Estabelecimento da fonte da célula, tecido e biomaterial para as boas práticas de manufatura (GMP's)
- Validação do processamento do produto e testes do esquema final do produto

Caracterização dos agentes adventícios e impurezas para cada elemento

- Definir os critérios de consistência lote a lote
- Validação dos procedimentos do controlo de qualidade

#### **Estudos médicos translacionais**

- Testes completos in vivo e in vitro
- Definição dos testes de toxicidade e das matérias-primas que compõem o TERMP
- Avaliação da biocompatibilidade dos biomateriais
- Estabelecimento das respostas imunogénicas e inflamatórias para cada componente
- Desenvolvimento racional de animais e modelos in vitro para os testes de efetividade de produção

- Definição de parâmetros de durabilidade do TERMP

### **Ensaio clínico**

- Desenvolvimento racional para segurança e benefício clínicos (análise do risco/benefício)
- Exploração do design e dos ensaios de confirmação
- Seleção da população de pacientes e definir critérios de inclusão e exclusão
- Identificar comparações investigacionais e tratamentos de controle
- Estabelecimento de parâmetros de estudo primários e secundários
- Consideração das opções para a análise de dados e potenciais reclamações na rotulagem

Tabela 2- Critérios para segurança dos produtos fabricados por engenharia de tecidos. Adaptado de Vacanti e Vacanti, 2007.

## 9. Produtos no mercado

Neste momento os produtos que estão presentes no mercado, prendem-se com a reparação, substituição ou regeneração da pele e da cartilagem de forma mais ativa. Nenhum deles têm eficácia 100% comprovada (Vacanti e Vacanti, 2007).

Começando pelo tecido córneo, passando pelo ósseo, ao pancreático, o sangue, vasos sanguíneos, coração entre outros, todos já foram obtidos com sucesso ao nível da engenharia de tecidos. No entanto, pode não ser o suficiente para chegar ao mercado (Vacanti e Vacanti, 2007.)

Um dos mais conhecidos, ao nível da pele no mercado, é o Integra® , este produto é uma membrana bilateral para substituição da pele em unidades de queimados, pé diabético entre outros. A substituição da derme é feita por matriz porosa de nanofibra biodegradável. Além do Integra®, o Oasis® , o Apiligraf® e o OrCel® são igualmente conhecidos na reparação da pele (Vacanti e Vacanti, 2007) e (Barbanti *et al.*, 2005).

Ao nível da cartilagem, o Carticel® foi aprovado pela FDA, a cultura é feita *ex vivo* e é depois introduzido o enxerto no paciente. Tal como outros produtos existem muitos ao nível da cartilagem que ainda não conseguiram ser standartizados para serem aprovados no mercado (Vacanti e Vacanti, 2007).

Segundo a FDA os seguintes produtos foram aprovados para serem colocados no mercado.

### **I. CBER**

HCT / P está regulado sob 21 CFR 1.271,3 (d) (1) e Seção 361 da Lei PHS  
Estes HCT / P são reguladas apenas como "361" produtos quando eles atendem a todos os critérios em 21 CFR 1.271,10 (a):

- OSSO (incluindo osso desmineralizado)
- LIGAMENTOS
- TENDÕES
- FASCIA
- CARTILAGEM
- tecidos oculares (córnea e esclera)
- PELE
- ENXERTOS VASCULARES (veias e artérias), exceto as veias do cordão umbilical preservado
- PERICÁRDIO
- MEMBRANA AMNIÓTICA (quando utilizado isoladamente (sem células adicionadas) para reparação ocular)
- DURA-MÁTER
- ALOENXERTOS DE VÁLVULA DE CARDÍACA
- CÉLULAS ESTAMINAIS HEMATOPOIÉTICAS DERIVADAS DO SANGUE DO CORDÃO PERIFÉRICO OU UMBILICAL
- SÊMEN
- OÓCITOS
- EMBRIÕES

### **TERAPIA CELULAR SOMÁTICA HUMANA E PRODUTOS DE TERAPIA GENÉTICA**

Regulamentado ao abrigo da Secção 351 do PHS Lei e / ou a Lei FD & C  
Este agrupamento inclui produtos que FDA determinou não preenchem todos os critérios em 21 CFR 1271,10 (a) e são reguladas como drogas e / ou produtos biológicos.

- CULTURAS DE CÉLULAS DE CARTILAGEM
- CULTURA DE CÉLULAS NERVOSAS
- TERAPIA IMUNOLÓGICA DE LIMFÓCITOS
- PRODUTOS DE TERAPIA GÊNICA
- CLONAGEM HUMANA
- CÉLULAS HUMANAS USADAS NA TERAPIA ENVOLVENDO A TRANSFERÊNCIA DE MATERIAL GENÉTICO (núcleo das células, os núcleos de oócitos, o material genético mitocondrial em ooplasma, material genético contido em um vetor genético)
- NÃO RELACIONADAS CÉLULAS ESTAMINAIS HEMATOPOIÉTICAS ALOGÉNICAS
- NÃO RELACIONADAS DOADOR DE LINFÓCITOS PARA INFUSÃO

## ***II. CDRH***

### **DISPOSITIVOS CONSTITUÍDOS DE TECIDOS HUMANOS**

Regulamentados pela Lei FD & C e regulamentos dispositivo

- LENTÍCULAS CÓRNEAS
- CORDÃO UMBILICAL PRSERVADO, VEIAS UMBILICAIS, ENXERTOS
- COLÁGENO HUMANO
- VEIAS FEMORAIS PRETENDE SER UM V-SHUNTS

## ***III. COMBINAÇÃO DE PRODUTOS***

- OSSO DESMINERALIZADO combinado com agentes MANUSEIO (glicerol, o hialuronato de sódio, sulfato de cálcio, gelatina, colagénio) - como dispositivos
- ALOENXERTOS DE OSSO-TENDÃO-SUTURA,- como dispositivos
- CÉLULAS CULTIVADAS (fibroblastos / queratinócitos / nervo ligamento // medula óssea) em membranas sintéticas ou combinado com colagénio pode ser regulamentada como dispositivos ou produtos biológicos (estes produtos estão atualmente em revisão e pode ser regulado pela CBER sob tanto as autoridades do dispositivo ou sob seção 351 da Lei PHS)
- CÉLULAS DAS ILHOTAS PANCREÁTICAS ENCAPSULADAS regulamentada como PRODUTOS BIOLÓGICOS

Tabela 3- Lista de Produtos Formados com a ajuda da Engenharia de tecidos e Terapia Celular aprovados pela FDA para serem comercializados. Adaptado de <[www.fda.com](http://www.fda.com)>.

### III. Tecido ósseo

O osso é fundamental no nosso organismo tendo variadíssimas funções no corpo humano, tais como: suporte, proteção, movimento, armazenamento ou homeostase mineral e em alguns casos produção de células sanguíneas. Devido a todas estas funções, o osso é parte vital da saúde e bem-estar humano (Seeley *et al.*, 2005).

#### 10. Anatomia do osso

De acordo com o seu tamanho os ossos podem ser classificados em: longos, curtos, achatados ou irregulares. Esta classificação de tamanho implica uma diferença de tamanho e de constituição (Seeley *et al.*, 2005).

O osso longo é como o próprio nome indica, estreito e comprido. O osso curto é no entanto, tão largo quanto comprido. A forma delgada e ligeiramente curva é característico dos ossos achatados. Por fim e por exclusão de partes, os ossos irregulares são os que não se enquadram em nenhuma das categorias supra referidas (Seeley *et al.*, 2005).

Em relação aos ossos longos, é possível dividi-los em 2 partes principais: a diáfise e as epífises. A diáfise é composta por osso compacto, ou seja por matriz óssea, sendo as epífises formadas por osso esponjoso com as suas inúmeras cavidades e revestidas de uma camada de osso compacto. No caso do osso longo estar em crescimento existe ainda uma terceira parte, a placa epifisária, que consiste em cartilagem hialina, a partir da qual o osso alonga (Seeley *at al.*, 2005).

O osso esponjoso (trabéculas) e o osso compacto ( cortical) estão presentes em todos os ossos da classificação por tamanho, de forma diferente. Os ossos longos, como já foi referido, possuem osso esponjoso na epífise e osso cortical na diáfise, sendo ambas as partes revestidas de osso cortical. No caso dos ossos curtos e irregulares a parte exterior

é composta por osso compacto e a parte interior por osso esponjoso. Por fim, os ossos planos têm 2 placas exteriores de osso cortical com uma camada de osso esponjoso no interior (Phipps *et al.*, 2003).

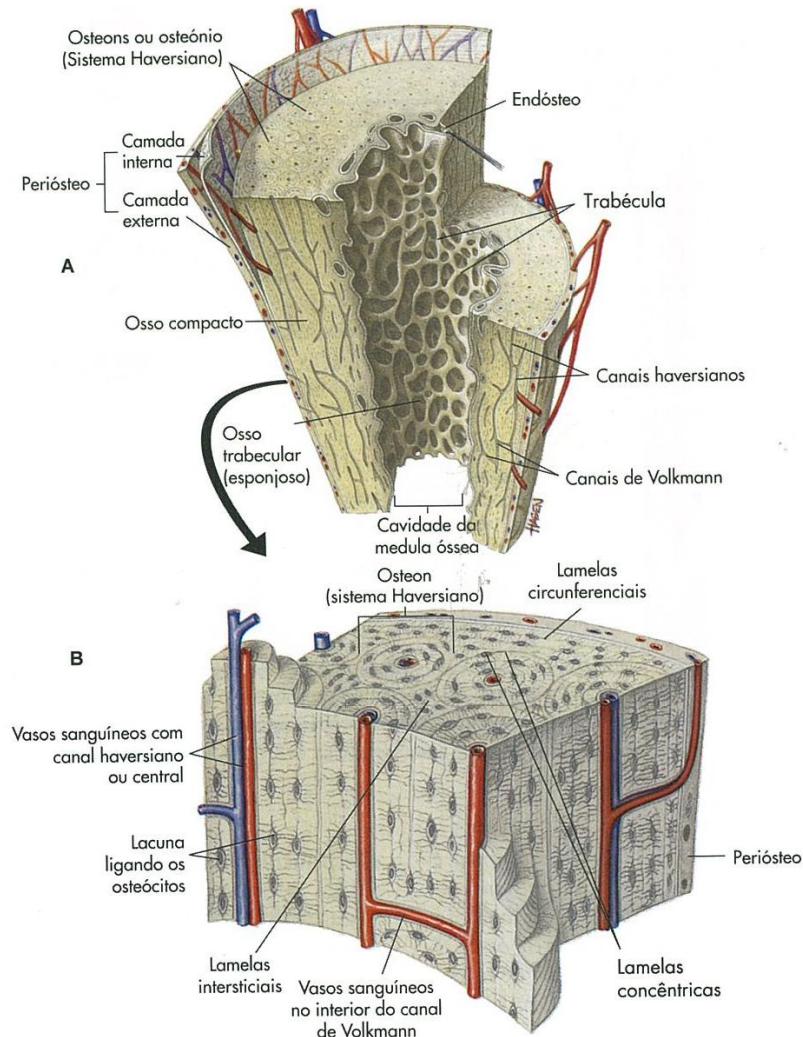


Figura nº 1- Estrutura do osso compacto e do osso esponjoso. A- mostra o corte longitudinal de um osso longo mostrando o osso compacto e o osso esponjoso. B- Imagem ampliada do osso compacto. Adaptado de Phipps *et al.*, 2003.

O perióstio reveste os ossos longos nas superfícies externas não articuladas. Consiste numa membrana de tecido conjuntivo fibroso denso, irregular e rico em colagénio que se fixa pela sua camada interior ao osso, através das fibras de Sharpney. O perióstio possui vasos sanguíneos e nervos que transportam sangue até ao interior do osso para a entrega de nutrientes, através dos canais de Volkman (Seeley *et al.*, 2005).

O endósteo consiste numa membrana que reveste interiormente as cavidades do osso, formada por tecido conjuntivo e todas as células ósseas que vão ser abordadas de seguida.

## 11. Histologia do Osso

O osso é uma substância dinâmica que é sintetizada e reabsorvida continuamente, formada por matriz óssea e células ósseas.

### v. *Constituição da matriz óssea*

A matriz óssea é constituída por matriz orgânica e matriz inorgânica numa percentagem de aproximadamente 35% e 65% respetivamente (Seeley *et al.*, 2005).

Do material orgânico fazem parte as fibras de colagénio e os proteoglicanos (sulfato de condroitina e ácido hialurónico). Estes últimos são considerados, por alguns autores, como a substância de base da matriz óssea sendo um meio de difusão de: nutrientes, oxigénio, minerais e desperdícios do tecido ósseo. Os proteoglicanos têm ainda a capacidade de ajudar na deposição de sais de cálcio na matriz óssea. Da matriz orgânica fazem ainda parte as proteínas morfogénicas ósseas que induzem a formação de cartilagem e atuam no metabolismo do osso calcificando e absorvendo a matriz (Phipps *et al.*, 2003).

Da matéria inorgânica fazem parte os sais minerais como o cálcio e o fosfato que mineralizam e formam a hidroxiapatite  $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$ , o principal sal ósseo (Seeley *et al.*, 2005).

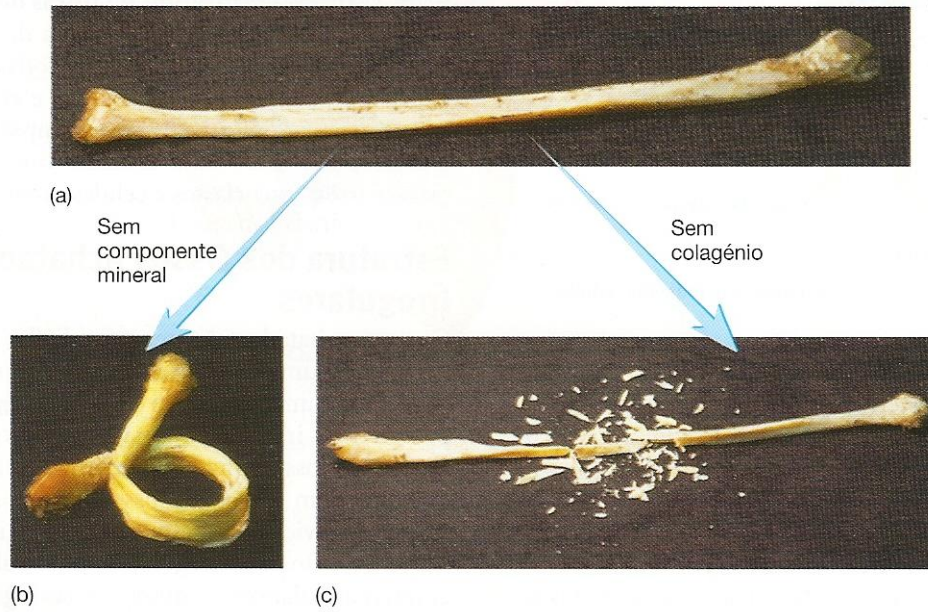


Figura nº 2- Formação da matriz óssea. A- osso saudável. B- osso sem componente mineral. C- osso sem colagénio. Adaptado de Seeley *et al.*, 2005.

#### vi. Organização da matriz óssea

O tecido ósseo pode ser classificado de duas formas: pela organização das fibras de colagénio através da matriz óssea ou então pela relação entre a quantidade de matriz e de espaços ósseos (Seeley *et al.*, 2005).

De acordo com a organização das fibras de colagénio, o osso divide-se em osso reticular e lamelar. No osso reticular as fibras estão orientadas em várias direções, de forma completamente aleatória. Este osso é formado em primeiro lugar, sendo depois substituído pelo osso lamelar em que as fibras se dispõem de forma paralela formando lamelas (Seeley *et al.*, 2005).

De acordo com a quantidade de matriz e espaços ósseos, o osso divide-se em osso compacto e osso esponjoso. O osso compacto é mais denso e tem poucos espaços. O osso compacto está organizado em osteons ou sistemas de havers, ou seja, em conjuntos do canal central ou de havers, as lacunas (pequenos espaços com osteócitos), canalículos (ligam as lacunas e o canal de havers permitindo a comunicação de

nutrientes) e as lamelas concêntricas. O canal de Havers é revestido pelo endóstio e é formado por vasos sanguíneos, nervos e tecido conjuntivo. O osso esponjoso é constituído por trabéculas, ou seja placas ou barras de conexão que estão interligadas de forma irregular formando como que uma malha. Entre as trabéculas existem espaços que no caso do osso vivo são ocupados por medula óssea e vasos sanguíneos, e no osso morto não são preenchidos. As trabéculas são finas, e os osteócitos estão dispostos entre elas e unidos uns aos outros pelos canalículos. Os vasos sanguíneos não penetram as trabéculas, tendo os nutrientes que ser obtidos através dos canalículos. Os osteoclastos e os osteoblastos estão dispostos ao longo da trabécula (Phipps *et al.*, 2003) e (Seeley *et al.*, 2005).

#### vii. *Células ósseas*

As células ósseas têm origem nas células estaminais, mais especificamente nas células mesenquimatosas que se podem diferenciar em células do sistema músculo-esquelético, podem diferenciar-se segundo as condições do meio celular em células osteoprogenitoras que são depois capazes de se diferenciar em osteoblastos ou condroblastos. Estas células estão localizadas no perióstio e no endóstio. Os osteoclastos no caso não derivam das células osteoprogenitoras, mas sim das células estaminais da medula óssea vermelha. No indivíduo maturo a primeira etapa é a iniciação da matriz orgânica pelas células ósseas. Existem no ser humano 4 tipos de células ósseas: células osteoprogenitoras, osteoblastos, osteócitos e osteoclastos (Weinstein e Buckwalter, 2000).

As células osteoprogenitoras são células indiferenciadas. O estado indiferenciado permanece até que o estímulo adequado seja recebido e estas passem a osteoblastos. Estas células são passíveis de ser encontradas nos canais ósseos, endóstio, perióstio e ainda em outros tecidos. (Weinstein e Buckwalter, 2000).

Os osteoblastos são as células que fabricam o tecido ósseo e produzem colagénio tipo I. Os iões de cálcio e fosfato e ainda algumas enzimas são acumulados em vesículas que

mais tarde são libertadas por exocitose para a formação de hidroxapatite. A partir do momento que a matriz óssea formada pelo osteoblasto o rodeia a célula torna-se madura (Phipps *et al.*, 2003) e (Seeley *et al.*, 2005).

O osteócito é uma célula madura que provém do osteoblasto, é parcialmente inativa mas capaz de produzir o necessário para manter a matriz óssea. (Seeley *et al.*, 2005).

Os osteoclastos mantêm o equilíbrio de formação de osso novo, destruindo-o. São células polinucleadas, de grande dimensão que entram em contato com a matriz óssea bombardeando íões hidrogénio que produzem um meio ácido ( ácido cítrico e láctico) que descalcifica a matriz, e ainda enzimas ( collagenases) que digerem os componentes proteicos da matriz óssea reabsorvendo o osso velho (Phipps *et al.*, 2003) e (Seeley *et al.*, 2005).

## 12. Desenvolvimento Ósseo

O desenvolvimento ósseo ocorre ainda no estado fetal através de duas vias: a ossificação membranosa e a ossificação endocondral, denominação que vai de encontro ao tecido onde a formação do osso se dá tecido conjuntivo ou cartilagem, respetivamente. A primeira fase de ambas as vias é a produção de osso reticular que posteriormente será remodelado, situação que deixará o osso formado exatamente igual pelas duas vias diferentes (Seeley *et al.*, 2005).

A ossificação membranosa começa pela formação de uma membrana de tecido conjuntivo, através do mesênquima que envolve o encéfalo em crescimento. Essa membrana é delicada e rica em fibras de colagénio disposta aleatoriamente, o fenómeno ocorre por volta da quinta semana de desenvolvimento embrionário. No entanto o arranque da ossificação só é considerado a partir da oitava semana de desenvolvimento embrionário e só termina aos dois anos de idade. Quando certas células do mesênquima na membrana supra referida se transformam em células osteoprogenitoras (centros de ossificação) e conseqüentemente em osteoblastos estes vão começar a trabalhar. A

produção de matriz óssea vai rodear os osteoblastos da mesma, sendo que rapidamente estes passam a osteócitos, formando trabéculas de osso reticular em grande número e tamanho reduzido. Após a formação das trabéculas, os osteoblastos continuam o seu trabalho, produzindo mais osso que vai alongar as trabéculas. Com a formação e aproximação das trabéculas há formação de osso esponjoso. Os espaços presentes entre as trabéculas vão conter células que se especializam na formação de medula óssea vermelha. O perióstio é formado através das células que se encontravam na parte exterior do osso e que também sofreram diferenciação. Os osteoblastos presentes no perióstio vão contribuir para a formação de osso compacto através da deposição de matriz óssea, acabando com a ossificação membranosa que produz ossos com fase externa de osso compacto e interior de osso esponjoso. As fontanelas, ossos do crânio são um exemplo de osso que é formado por este processo (Seeley *et al.*, 2005).

A ossificação endocondral tem início em tecido cartilágneo a partir da oitava semana de desenvolvimento. As células do mesênquima transformam-se em condroblastos para o início da ossificação endocondral. Os condroblastos vão formar um modelo de cartilagem que servirá de molde ao osso e têm já a forma aproximada do mesmo. À medida que a matriz óssea rodeia os condroblastos, estes transformam-se em condrócitos. O pericôndrio é formado à volta do modelo de cartilagem, com exceção para os locais que vão ser rodeados pela articulação, em que há uma continuidade entre o pericôndrio e o tecido que mais tarde formará a cápsula articular. As células osteoprogenitoras presentes no pericôndrio vão-se transformar em osteoblastos aquando da invasão dos vasos sanguíneos no pericôndrio, envolvendo desta forma o modelo de cartilagem. Quando se inicia a produção de tecido ósseo pelos osteoblastos o pericôndrio passa a perióstio. À superfície do modelo a produção será de osso compacto formando o colar ósseo ou bainha. Formação acompanhada por um aumento das dimensões do modelo devido ao crescimento aposicional e intersticial da cartilagem e ainda com a hipertrofia dos condrócitos localizados no centro do modelo e da mineralização da matriz que rodeia as células com carbonato de cálcio, dando origem a cartilagem calcificada. Há morte dos condrócitos que estão na parte calcificada. As lacunas da cartilagem calcificada permitem a passagem de vasos sanguíneos, e estes por serem revestidos de tecido conjuntivo vão efetuar o transporte de osteoblastos e osteoclastos do perióstio para as lacunas. Os osteoblastos vão produzir osso na

cartilagem calcificada promovendo a formação de trabéculas ósseas que permitirão a transformação da cartilagem calcificada em osso esponjoso na diáfise. Denomina-se este facto de centro de ossificação primário. O desenvolvimento ósseo avança e com ele avança igualmente o crescimento do modelo de cartilagem, repetindo o processo supra referido. A remodelação óssea posteriormente converterá o osso reticular em osso lamelar configurando o osso, os osteoclastos serão responsáveis pela remoção do tecido ósseo ao nível do canal medular com vista a formar o mesmo através da especialização de células *in loco* para formação de medula óssea vermelha. Nos ossos longos a diáfise é considerada o centro de ossificação primário, enquanto as epífises são denominadas de centros de ossificação secundária. Os processos que decorrem nos centros de ossificação secundário são em tudo semelhantes ao de ossificação primária com algumas variâncias: os espaços da epífise não se alargam para acolher o canal medular; os centros de ossificação secundário surgem apenas um mês antes do nascimento nas epífises da tíbia, úmero e fémur; no entanto os primários surgem no início do desenvolvimento fetal. A substituição da cartilagem pelo osso ocorre até que toda a cartilagem, exceto a das superfícies auriculares e das placas epifisárias, tenha sido substituída no esqueleto humano (Seeley *et al.*, 2005).

### 13. Crescimento Ósseo

O crescimento ósseo só pode ser aposicional, ou seja formação de osso novo tendo como plataforma o osso antigo ou cartilagem. No entanto, esse crescimento pode ser feito em comprimento ou em espessura (Seeley *et al.*, 2005).

O crescimento do osso em comprimento efetua-se através da placa epifisária. Na placa epifisária a formação de osso novo começa pela formação de nova cartilagem, seguido de crescimento cartilagíneo intersticial, pelo crescimento ósseo aposicional na superfície da cartilagem. A placa epifisária divide-se em 4 zonas: a zona de cartilagem em repouso, a zona de proliferação, a zona de hipertrofia e a zona de calcificação. A zona de cartilagem em repouso situa-se na epífise e contém condrócitos que não se dividem imediatamente. A zona de proliferação é responsável pela produção da cartilagem nova, através da divisão dos condrócitos. A zona da hipertrofia é caracterizada pelo

amadurecimento e aumento de tamanho dos condrócitos. Perto da diáfise as células são velhas enquanto próximo da epífise são novas. Na zona de calcificação os condrócitos morrem e os vasos sanguíneos crescem. É uma camada fina rica em carbonato de cálcio. Os osteoblastos ficam à superfície da cartilagem calcificada e vão depositar nova matriz óssea por crescimento aposicional. Com a produção de novas células na zona de proliferação e o seu aumento de tamanho na zona de hipertrofia o osso cresce. Quando o osso obtém o tamanho normal a placa epifisária transforma-se em linha epifisária por calcificação (Seeley *et al.*, 2005).

O crescimento do osso ao nível da espessura dá-se pelos osteoblastos do perióstio que vão depositar osso novo formando cristas separadas por goteiras que albergam um ou mais vasos sanguíneos. Conforme o osso é formado pelos osteoblastos, as cristas ficam maiores e convertem-se numa só, sendo que as goteiras se convertem em túneis. O perióstio passa a ser endóstio, pois a membrana que antes revestia a superfície externa agora está na parte interior do osso. Os osteoblastos que estão no endóstio vão formar uma lamela concêntrica por deposição do osso, com a formação de várias lamelas concêntricas é formado o osteon. Quando o crescimento ósseo em espessura é lento a ocorrência têm outras formas. Os osteoblastos do perióstio depositam camadas uniformes de osso novo formando lamelas circunferenciais, que vai levar a que a superfície do osso se torne lisa à medida que o fenómeno ocorre. As lamelas circunferenciais são destruídas para a remodelação (Seeley *et al.*, 2005).

#### *viii. Fatores que afetam o crescimento ósseo*

Os fatores genéticos são os que influenciam mais o esqueleto humano, no entanto existem variadíssimos fatores desde enzimáticos, a farmacológicos, a minerais que vão afetar o crescimento e a estrutura óssea (Phipps *et al.*, 2003).

O cálcio é um dos minerais mais importantes no metabolismo do osso visto que contribui na formação de hidroxapatite como foi referido anteriormente. Os níveis séricos de cálcio são regulados pelo intestino delgado, osso e rins por ação da

calcitonina, PTH ( hormona paratiroideia) e ainda pela vitamina D<sub>1</sub>. Quando os níveis séricos de cálcio sofrem uma redução a PTH vai estimular o osso a libertar cálcio para a corrente sanguínea de forma a corrigir esse défice, atrasando desta forma a formação do osso (Phipps *et al.*, 2003).

O fósforo também interfere na formação da hidroxapatite na forma de fosfato. No caso deste mineral quando a situação é de excesso sérico o cálcio diminui, devido à captação de ambos para a formação de hidroxapatite numa razão de 6:10 respetivamente (Phipps *et al.*, 2003).

A fosfatase alcalina é importante na utilização dos sais minerais na formação do osso. É encontrada nos osteoblastos sendo excretada pela via biliar. O aumento sérico pode indicar o aumento da atividade osteoblástica (Phipps *et al.*, 2003).

A calcitonina é segregada pela tiroide e têm a capacidade de inibir a reabsorção óssea, inibindo a absorção de cálcio por duas vias: inibindo a absorção ao nível do trato gastrointestinal e aumentando a excreção de cálcio e fosforo pelos rins (Phipps *et al.*, 2003).

A vitamina D é um fator muito importante visto que interfere na absorção do cálcio. A vitamina D é conseguida através dos raios UV e da alimentação e é ativada no fígado e nos rins por ação da PTH. A vitamina ativada é denominada de calcitrol, que vai aumentar a absorção intestinal do cálcio e ainda a sua libertação pelo osso, aumentando desta forma os níveis séricos (Phipps *et al.*, 2003).

A PTH ou Hormona paratiroideia regula os níveis séricos de cálcio e fósforo, tendo a capacidade de mobilizar o cálcio a partir dos ossos com aumento da atividade osteoclástica e da reabsorção óssea (Phipps *et al.*, 2003).

A GH ou Hormona do crescimento é segregada pela glândula hipofisária e é a principal responsável pelo crescimento ósseo nas crianças pela sua ação estimulante para o crescimento intersticial da cartilagem e do crescimento ósseo aposicional. É produzida na fase de crescimento e os seus níveis devem ser residuais no adulto. No caso de um défice de produção na criança leva ao nanismo, caso contrário, em que haja excesso de produção leva ao gigantismo. Se um adulto tiver níveis elevados de GH reflete-se em acromegalia (Seeley *et al.*, 2005).

A vitamina C é importantíssima na síntese de colagénio pelos osteoblastos. Quando a síntese de colagénio é afetada os ossos e as cartilagens formadas são mais fracas e pode ser muito mais lenta (Seeley *et al.*, 2005).

Os glucocorticoides regulam o metabolismo das proteínas, se o tratamento for superior a 6 meses as proteínas armazenadas praticamente não existem, e em conjunto com a libertação de cálcio da matriz óssea, esta torna-se extremamente fraca (Phipps *et al.*, 2003).

O estrogénio estimula a atividade osteoblástica e inibe a PTH. Além disso diminui os níveis de cálcio sérico que como está referido diminui o cálcio no osso levando assim a doenças como a osteoporose (Phipps *et al.*, 2003).

Os androgénios por sua vez aumentam o anabolismo, havendo um aumento de massa óssea (Phipps *et al.*, 2003).

Com fenómenos de inflamação grave, há uma possível lise do osso e conseqüentemente a reabsorção do osso (Phipps *et al.*, 2003).

Fatores como a atividade e o peso afetam toda a estrutura óssea sendo que um aumento do esforço por parte do osso se traduz normalmente por um fortalecimento do mesmo (Phipps *et al.*, 2003).

#### 14. Remodelação óssea

A remodelação óssea ocorre quando o tecido ósseo que forma o osso está velho e ameaça a integridade do osso. Durante este processo de “reparação” as células trabalham em equilíbrio para que não haja deformação ou crescimento. No fundo, a remodelação óssea consiste numa transformação do osso de reticular para lamelar, o que acontece através da deposição de osso novo pelos osteoblastos e pela remoção do osso velho pelos osteoclastos. O ritmo de deposição e remoção deve ser contínuo e igual para que a espessura do osso não sofra qualquer alteração. A remodelação pode ser dividida em 3 fases:

Fase I-Ativação: os precursores das células ósseas (células osteoprogenitoras) são ativadas em resposta a estimulação

Fase II-Reabsorção: as massas de osteoclastos formam um agregado que começa a destruir o osso como que cavando uma cavidade no interior do osso, no caso do osso esponjoso a cavidade é paralela à trabécula, enquanto no osso compacto segue a longitude do sistema haversiano.

Fase III- Formação: os osteoblastos que estão na cavidade depositam osso novo nas lamelas até preencher a cavidade. Quando a deposição do osso novo está completa são formadas lamelas até que a cavidade esteja reduzida a um canal haversiano em redor do vaso sanguíneo (Phipps *et al.*, 2003).

#### 15. Reparação óssea

Após uma lesão o osso, como tecido vivo que é, tem a capacidade de reparação em certas situações como as fraturas. A reparação no osso é feita por formação do calo ósseo, que na sua fisiologia implica 5 etapas (Phipps *et al.*, 2003) e (Seeley *et al.*, 2005).

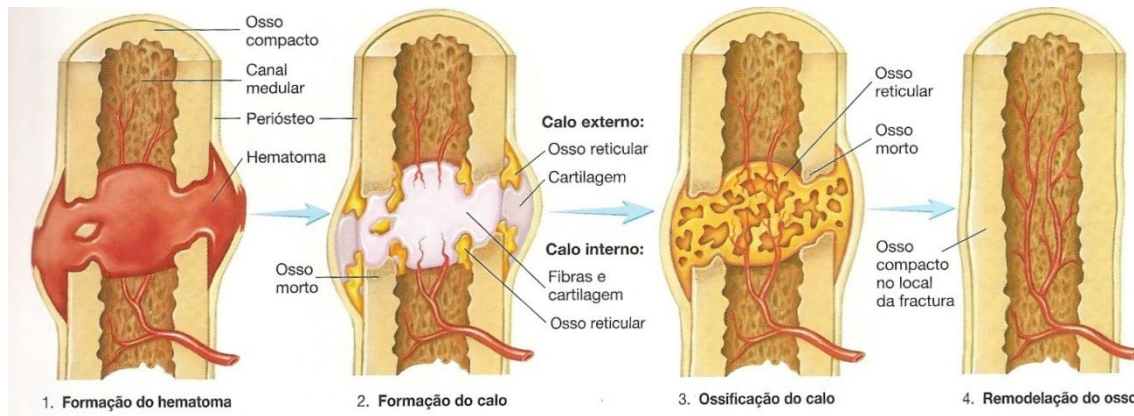


Figura nº 3- Processo de reparação óssea. Adaptado de Seeley *et al.*, 2005

Etapa 1- Formação do hematoma: o osso ao ser fraturado, o perióstio e o osso que são altamente vascularizados são afetados, provocando um extravasamento de sangue para os tecidos adjacentes levando a um hematoma. Pode existir edema, inflamação após a fratura.

Etapa 2- Formação do complexo de fibrina: os fibroblastos invadem o hematoma levando à formação de um complexo de fibrina. Os leucócitos são chamados ao local para diminuir a inflamação no mesmo.

Etapa 3- Invasão por osteoblastos: o complexo de fibrina vai ser invadido por osteoblastos que vão dar firmeza ao mesmo. Os vasos sanguíneos desenvolvem-se através dos capilares. Ao haver fornecimento de nutrientes, a produção de colagénio e a deposição de cálcio são possíveis levando à formação de cartilagem.

Etapa 4- Formação do calo ósseo: o osteoblastos formam então o novo tecido ósseo e os osteoclastos destroem o osso morto e os sais minerais são depositados.

Etapa 5- Remodelação: o excesso de calo ósseo é reabsorvido e o osso trabecular é estabelecido (Seeley *et al.*, 2005).

## 16. Cartilagem

A cartilagem pode ser caracterizada como um material forte e flexível e a seguir ao osso é a estrutura do organismo humano mais sólida. As células que compõem a cartilagem,

são os condrócitos, derivam das células cartilágneas, que estão inseridos numa matriz densa que têm espaços denominados lacuna. A matriz densa é composta por líquido, substância fundamental e fibras proteicas. O líquido é a água, a substância fundamental é constituída por proteoglicanos e outras moléculas orgânicas, tais como o ácido hialurónico; e as fibras proteicas são de colagénio. Como o tecido cartilágneo não é vascularizado a sua cicatrização é muito lenta. A nutrição deste tecido é efetuada por difusão a partir do pericôndrio, camada de tecido conjuntivo denso irregular. A cartilagem previne as agressões durante o suporte de pesos, reduz a fricção na articulação e ajuda a distribuir o peso. (Seeley *et al.*, 2005).

A cartilagem divide-se em 3 tipos consoante a constituição e os ossos que revestem:

Cartilagem hialina: têm uma grande quantidade de fibras de colagénio e de proteoglicanos. Encontra-se em áreas em que a força e a capacidade de movimento são necessárias como a caixa torácica. Este tipo de cartilagem forma a maior parte do esqueleto que o embrião possui e que mais tarde se tornará em osso.

Cartilagem fibrosa: têm a maior quantidade de fibras de colagénio e a menor de proteoglicanos. Esta cartilagem é bastante forte, no entanto tem alguma capacidade de compressão. Está presente na articulação do joelho.

Cartilagem elástica: possui para além dos proteoglicanos e das fibras de colagénio, fibras que lhe dão nome, fibras elásticas. Este tipo de cartilagem é elástica, mas muito rígida. Encontra-se no ouvido externo. (Seeley *et al.*, 2005).

## 17. Articulações

As articulações cobrem os ossos nas suas junções entre si. São responsáveis quase na totalidade pelos movimentos que o corpo humano consegue efetuar. Têm função de estabilidade e mobilidade. As articulações podem ser divididas de acordo com 2 parâmetros: de acordo com o tipo de movimento e de acordo com o tipo mais importante de tecido conjuntivo que as forma (Seeley *et al.*, 2005).

De acordo com o tipo de movimento são divididas em 3 tipos: sinartroses (imóveis), anfiartroses (semimóveis) e diartroses (movimento livre). Em relação ao principal tipo de tecido conjuntivo existem igualmente 3 tipos: as fibrosas, as cartilagíneas e as sinoviais. As fibrosas unem dois ossos através de um tecido conjuntivo fibroso. Não têm cavidade articular e ao nível do movimento possuem pouco ou nenhum. Dentro deste tipo de articulação existem variações. As suturas são completamente imóveis ao nível dos adultos, são irregulares formadas por tecido conjuntivo denso e organizado. O perióstio dos dois ossos da articulação prolonga-se por elas formando com as fibras densas de tecido conjuntivo o ligamento sutural. São as articulações presentes entre os ossos do crânio. As sindesmoses têm algum movimento, e unem dois ossos que estão um pouco mais afastados, sendo unidos por ligamentos; estão presentes na articulação rádio-cubital. As gonfoses são articulações que fazem o encaixe em cavidades e são fixadas por feixes de tecido conjuntivo rico em colagénio; são exemplos as articulações entre os dentes (Seeley *et al.*, 2005) e (Prado *et al.*, 2001).

As cartilagíneas unem dois ossos por intermédio de uma cartilagem hialina ou por fibrocartilagem. São sub-divididas em sincondroses e sínfises. As sincondroses tem pouco ou nenhum movimento devido à união dos dois ossos por cartilagem hialina. As sincondroses são normalmente temporárias. Esta articulação está presente nas condrocostais. As sínfises ou anfiartroses unem dois ossos com superfícies planas através de fibrocartilagem, são semimóveis. Estão presentes na articulação dos discos intervertebrais (Seeley *et al.*, 2005).

As articulações sinoviais são as que permitem maior movimento devido à presença do líquido sinovial. Na presença desta articulação, cada osso possui a sua superfície articular coberta de cartilagem hialina denominada de cartilagem articular que vai formar uma superfície lisa. Algumas destas articulações possuem ainda o menisco, disco articular ou seja uma estrutura de fibrocartilagem que aumenta a profundidade da cavidade articular e que confere resistência e força à articulação. Para além da camada de cartilagem hialina, estas articulações possuem ainda uma cavidade articular e uma cápsula articular que permite movimento em simultâneo com a função de manter os ossos unidos. A capsula articular é constituída por uma cápsula fibrosa (exterior que permite fortalecer e estabiliza a articulação) e uma membrana sinovial (interior, sobre a

cavidade articular que produz líquido sinovial que permite a lubrificação da articulação diminuindo o atrito durante o movimento). As articulações sinoviais dividem-se consoante o tipo de movimento e a forma das superfícies articulares: articulações planas (artrodias), articulações em sela (efiartroses), articulações em roldana (trocleartroses), articulações cilíndricas (trocartroses), articulações esféricas (enartroses), articulações de contorno elíptico (condilartroses). São exemplos de articulações anteriormente referidas: apófises articulares entre as vertebrae, articulação carpo-metacarpica do polegar, articulação do joelho, articulação da cabeça do rádio, articulação do ombro, articulação occipito-atloideia respetivamente. (Seeley *et al.*, 2005).

## 18. Doenças dos Ossos e Articulações

A população mundial é frequentemente afetada por dores no sistema músculo-esquelético, que são geralmente atribuídas a esforço físico, quedas, alterações no quotidiano, entre outras. No entanto, essa mesma população tem na maioria das vezes, doenças silenciosas que quando causam dor, e que estão completamente fora de um plano de intervenção no plano da prevenção e retardamento. As doenças osteoarticulares alteram a rotina de milhares de pessoas em todo o Mundo e são responsáveis por uma grande parte dos internamentos hospitalares, por falta ao trabalho, aumento da morbidade e das reformas antecipadas. Situações que são importantíssimas na sociedade, a nível económico e psicológico.

### *ix. Artrite*

A artrite é uma doença comum do sistema músculo-esquelético, que tem como principais sintomas a dor e a rigidez. Ao todo existem mais de 100 variantes sendo, as duas mais frequentes, a artrite reumatoide e a osteoartrite. (Braunwald *et al.*, 2002).

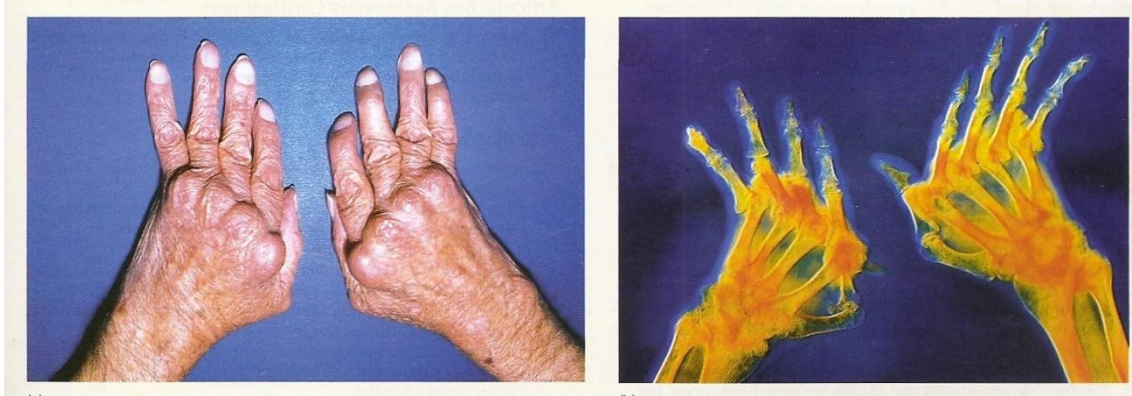


Figura nº 4- Mãos com artrite reumatoide, num estágio avançado da doença. Adaptado de Seeley *et al.*,2005.

A artrite reumatoide (AR) é uma doença sistêmica crônica, que consiste na inflamação do tecido conjuntivo de todo o organismo, sendo as articulações diatrósicas e os tecidos moles envolventes os mais afetados de todos. Além das implicações articulares esta doença considerada autoimune; decorre da interação da imunoglobulina IgG com o fator reumatoide; têm implicações pulmonares cardíacas, vasculares, oftalmológicas, dermatológicas e hematológicas. Para além da interação da IgG com o fator reumatoide, a resposta imune através de IgG pode ser resposta a um agente desconhecido tais como: vírus de Epstein-Barr, fatores ambientais, bactérias e micoplasmas. O que acontece no caso da artrite reumatoide é que a exposição prolongada a qualquer um dos fatores supra referidos vai produzir anticorpos normais, Ig, que se tornam autoanticorpos, atacando posteriormente tecidos do próprio organismo, autoantígenos. Os auto anticorpos (denominados de fator reumatoide) vão ligar-se no sangue e na membrana sinovial com os auto antígenos formando complexos imunes que atacam a articulação e os restantes órgãos. A doença tem início no sangue, mas considera-se o princípio quando a articulação começa a ser atacada. A membrana sinovial que se encontra dentro da articulação como já foi referido, vai sofrer edema, congestão vascular, exsudado de fibrina e infiltração celular devido à deposição de complexos imunes (processo inflamatório). Os leucócitos libertam químicos, água e radicais superóxido que destroem células e bactérias. Os mediadores da inflamação, prostaglandinas e leucotrienos juntamente com as enzimas digestivas; colagenase que destrói o colagénio vão chamar ao local mais leucócitos, o que implica mais inflamação tornando-se um processo crónico. A inflamação crónica vai levar a um espessamento da membrana sinovial principalmente quando se liga à cartilagem articular. À medida que se formam substâncias de fibrina, há desenvolvimento de tecido de granulação (*pannus*) que vai

cobrir a cartilagem a nível superficial inicialmente, no entanto ao longo do tempo o *pannus* invade o osso subcondral afetando a nutrição normal da articulação causando necrose da mesma, do osso e enfraquecimento dos tendões e ligamentos. As áreas do osso expostas pela erosão da cartilagem podem desenvolver fissuras ou quistos ósseos que causam muita dor. A possibilidade de formação de nódulos reumatoides, ou seja, de uma agregação de células inflamatórias em redor de resíduos celulares leva a proeminências ósseas que juntamente com a deslocação da articulação são características da doença (Braunwald *et al.*, 2002).

O tratamento da artrite reumatoide é realizado com vista a obter uma série de objetivos: o primeiro refere-se ao alívio da dor; de seguida e não menos importante, a redução da inflamação, a proteção das estruturas articulares, a manutenção da sua função e por fim o controlo do comprometimento sistémico. Assim sendo o tratamento é pensado de forma a abranger todos estes objetivos pensando sempre no paciente no seu organismo, com todas as patologias que podem estar em simultâneo no ativo. É necessário que o doente tenha em mente que o tratamento é meramente paliativo e não curativo o que implica ao doente uma série de medidas adicionais para que o seu bem-estar seja garantido, tais como: repouso, fisioterapia e exercício físico moderado. A fisioterapia ajudará na dor e na inflamação, enquanto que o exercício físico manterá a força muscular. O fato de o tratamento ser paliativo não impede que sejam usados fármacos que retenham o avanço da doença evitando o processo inflamatório e imunológico. No entanto não tendo a etiologia da doença definida, não é possível direcionar o tratamento, sendo a supressão supra referida completamente inespecífica. De acordo com Harrison (2002, p. 2050) “ A conduta terapêutica dos pacientes com AR envolve uma abordagem interdisciplinar, que procura lidar com diversos problemas com os quais se defrontam esses indivíduos nas suas interações funcionais, bem como psicossociais.” Os fármacos usados na conquista dos 5 objetivos já referidos são:

- Anti-inflamatórios não esteroides (AINE's) ou ácido acetilsalicílico (AAS), que em conjunto com um analgésico vão permitir o controlo ao nível local do processo inflamatório e da dor. Mais recentemente o uso de fármacos inibidores específicos da ciclooxigenase 2 (cox-2), molécula que faz parte da cascata do processo inflamatório, vai permitir uma diminuição da inflamação com um menor efeito secundário sobre o sistema gastrointestinal do que o AAS.

- Uso de glucocorticoides orais que controlam o processo inflamatório têm ainda uma ação recentemente evidenciada por estudos, de retardamento da destruição causada pela AR. Se administrados localmente estes fármacos levam a um alívio sintomático.

- Os fármacos antirreumáticos, ou modificadores da doença, são os que se acredita que diminuem os níveis de reagentes na fase aguda da doença o que permite uma redução da destruição das articulações, logo retardam os efeitos da doença.

-Neutralizadores do fator reumatoide (FNT- $\alpha$ )

-Imunossuppressores e citotóxicos

Além dos fármacos existe ainda a possibilidade de cirurgia em casos de pacientes que tenham a articulação destruída de forma, a que a sua função esteja comprometida, a cirurgia apenas substitui a articulação mas não para o avanço da doença nem a destruição das outras articulações. É o último recurso a ser utilizado hoje em dia para que a dor seja aliviada e a função da articulação recuperada.

A osteoartrite (OA) é descrita segundo Sarzini-Putini (2005, p.) como um grupo heterogêneo de condições que leva a um conjunto de sinais e sintomas que são associados à perda de integridade da cartilagem articular, relacionados além disso com mudanças nas margens conjuntas de osso e cartilagem.

A alteração patológica ao nível da articulação é caracterizada pela perda progressiva de cartilagem articular, afetando também os restantes tecidos da articulação tais como : osso subcondral, membrana sinovial, menisco, os ligamentos e as estruturas neuromusculares de sustentação (Braunwald *et al.*, 2002).



Figura nº 5- Articulação do joelho com perda da cartilagem articular. Adaptado de Hughes, 2008.

A OA é a doença reumática mais prevalente e a que causa uma maior incapacidade e deficiência nos adultos, é igualmente o tipo de artrite que mais ocorre (Glass, 2006).

É considerada uma doença do envelhecimento que pode ser agravada pelos fatores de risco, é comumente denominada de artrose (Hughes, 2008).

Podem ser afetadas uma ou várias articulações, sendo que a alteração é sempre visível ao nível do osso. É comum que a doença inicie numa lesão localizada num dos compartimentos da articulação, induzindo progressivamente alterações em toda a articulação sendo a sua perda inevitável (Sarzini-Puttini *et al.*, 2005)

A doença é comum em homens e mulheres sendo a articulação afetada diferente. Nos homens a articulação do quadril e do joelho são as mais comumente afetadas enquanto ao nível feminino são as articulações interfalângicas e do polegar (Braunwald *et al.*, 2002).

Existem vários fatores predisponentes para esta enfermidade: a idade, o sexo, a raça, os fatores genéticos, estado hormonal, densidade óssea, metabolismo e fatores nutricionais, obesidade, alterações ao nível do joelho (entorse, rutura de ligamentos), fatores ocupacionais, desporto (Sarzini-Puttini *et al.*, 2005)

Existem articulações que são afetadas por OA em alguns grupos de pessoas que não são comuns na restante população devido à atividade profissional: a OA do tornozelo é recorrente em bailarinos; a OA do cotovelos é comum em praticantes de basebol, e os pugilistas têm tendencialmente OA nas articulações metacarpofalangicas (Braunwald *et al.*, 2002).

A OA afeta o tecido cartilágneo que tem propriedades compressivas e viscoelásticas oferecidas pela matriz extracelular rica em proteoglicanos e colagénio tipo II. Não sendo enervada o transporte de nutrientes para a articulação é feito pelos condrócitos que são metabolicamente muito ativos. Na OA as enzimas responsáveis pela degradação da matriz estão aumentadas o que causa uma perda de colagénio e de proteoglicanos, conseqüentemente as características vão-se desvanecer. Existem 3 estádio da doença: no estádio 1, a matriz é degradada ao nível molecular, aumentando o seu teor em água e o espaço ocupado pela matriz. A rigidez da cartilagem diminui com a perda da estrutura de colagénio, logo a estabilidade é menor. No estádio 2 os condrócitos tentam compensar os danos causados pela atividade metabólica, é o estádio que pode prevalecer por mais tempo. No estádio 3 os condrócitos não conseguem efetuar nenhum tipo de reparação pelo que a perda da cartilagem é total e inevitável, o osso subcondral reage por estar em contacto direto, a presença de osteófitos, e a formação de quistos e nódulos osteocondrais vão findar com a função da articulação (Lorenz e Richter, 2006).

A OA é descrita como uma dor profunda e localizada, que pode advir de duas situações distintas: a primeira prende-se com o facto de a carga exercida na articulação ser superior ao suportado, a segunda situação em que os materiais da articulação ou seja, a cartilagem articular e o osso subcondral estão danificados. No início da doença, a dor é melhorada através do repouso, com o agravamento da doença a dor é noturna e

agravada por longos períodos de repouso. As articulações: interfalângicas, da base do polegar, do quadril, do joelho e da coluna vertebral estão entre as mais afetadas (Braunwald *et al.*, 2002).

O tratamento tem como principais medidas: a redução da carga aplicada na articulação através da perda de peso, o exercício terapêutico de forma a manter a mobilidade. A cunpuntura e a educação ao paciente estão de igual forma referenciados para o tratamento não farmacológico. Em relação ao tratamento farmacológico existem várias opções para eliminar a dor e retardar o avanço da doença, não existindo nenhum tratamento que permita a cura do paciente. Para o controlo da dor estão referenciados: Acetaminofeno, os AINE's orais, AINE's de aplicação tópica e em última instância os opióides. Em relação ao atraso da doença: glucosamina, sulfato de coindroitina, ácido hialurónico e os glucocorticoides, estes últimos também participam na eliminação da dor. Em ultimo recurso está a cirurgia para substituição da articulação ou seja as artroplastias (Glass, 2006).

#### *x. Osteoporose*

A osteoporose é um problema de saúde pública que afeta milhões de pessoas no mundo e a sua prevalência aumentou com o aumento da idade média da população Mundial. Nesta doença a força óssea está comprometida, no que é um problema do sistema esquelético. As fraturas provocadas pela debilidade óssea levam a um aumento da morbidade, da deformidade, da deficiência e até da mortalidade, tendo um impacto social e económico enorme (Lane, 2005).

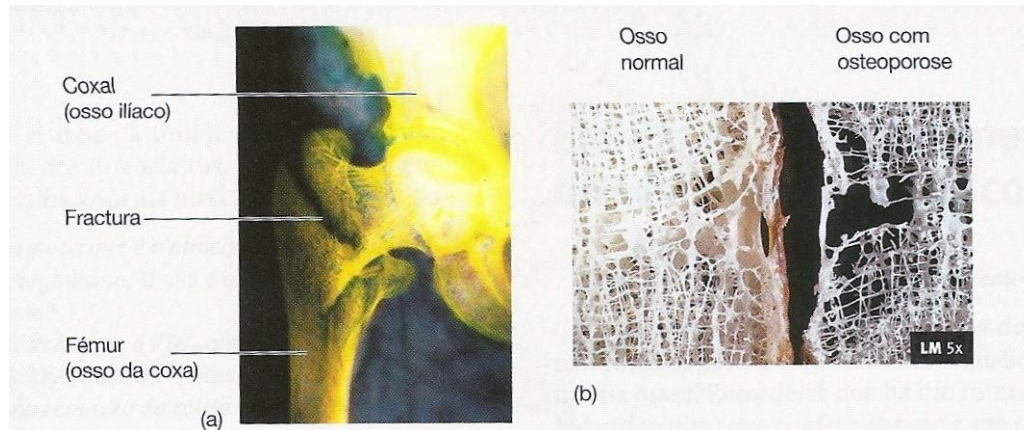


Figura nº 6- Alterações provocadas no osso pela osteoporose. Adaptado de Seeley *et al.*,2005.

Com a diminuição da massa óssea, a deterioração do osso é inevitável e o consequente aumento da fragilidade do osso, aumenta as possibilidades de fratura. Os fatores de risco são variados: a idade (a doença é considerada uma doença de idade avançada), sexo, baixo peso corporal, menopausa natural ou cirúrgica nas mulheres, medicamentos (corticosteroides, tiroxina, anticonvulsivantes), doenças (hipertireoidismo, hipogonadismo, síndrome de cushing, DPOC, falência renal, transplante, anorexia nervosa), imobilização prolongada, abuso do álcool, baixo consumo de cálcio e vitamina D, tabaco, a falta de prática regular de exercício físico (Koh, 2004).

### Fatores de Risco clínicos para Fraturas Osteoporóticas

#### A. *Fatores de risco para a perda de massa óssea e fratura*

- História pessoal de fratura prévia como adulto
- História de fratura em parente de primeiro grau (especialmente da mãe)
- Baixo peso corporal e idade avançada
- Menopausa natural ou cirúrgica, precoce antes dos 45 anos ou amenorreia prolongada, mais de um ano na pré-menopausa
- Uso de medicamentos como por exemplo corticosteroides (equivalente a prednisolona >7,5 mg/dia por mais de 6 meses, excesso de tiroxina e anti convulsivantes.
- Condições de doença por exemplo hipogonadismo, hipertireoidismo, hiperparatireoidismo, síndrome de cushing, doença pulmonar obstrutiva crónica, doença do fígado, má absorção, falência renal crónica, artrite reumatoide, transplante de um órgão e anorexia nervosa
- Imobilização prolongada, saúde fraca e fragilidade
- Hábito de fumar regularmente
- Abuso do álcool (pior nos homens)
- Baixa ingestão de cálcio ao longo da vida

<ul style="list-style-type: none"><li>• A falta de pratica regular de exercício</li></ul> <p><b>B. Outros fatores de risco de fratura independente da perda de massa óssea</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Uma ou mais quedas ao longo do ano anterior</li><li>• Falta de equilíbrio, falta de força muscular ao nível dos quadríceps</li><li>• Falta de visão sem a correção adequada</li><li>• Medicamentos (exemplo: sedativos e polimedicação)</li><li>• Fatores ambientais, piso escorregadio, iluminação inadequada</li></ul>
---

Tabela 4- Fatores de risco para fraturas osteoporóticas. Adaptado de Koh, 2004.

A massa óssea adquirida ao longo da infância e da juventude são importantes e determinantes para o risco de osteoporose na velhice. A consistência dos ossos é mantida através da remodelação em que o osso velho é reabsorvido e existe formação do osso novo de forma a manter o osso saudável.

O tratamento da osteoporose consiste basicamente em 2 grupos de fármacos, além da terapia não farmacológica. Os antirreabsorsores são os que previnem a perda de massa óssea e a respetiva densidade óssea. No caso dos osteogénicos são os que vão completar o tecido ósseo, de forma a que o perdido seja reavido de forma compatível com o saudável. A nível não farmacológico, a ingestão de cálcio e vitamina D são importantíssimas, tal como a prática de exercício físico regular que permite a manutenção da força óssea e da mobilidade (Baylirk *et al.*, 1999).

Segundo Delmas (1997, p.5) “a terapia ideal seria aquela que promovesse a formação de tecido ósseo e que bloqueasse a reabsorção aumentando a qualidade do osso”.

#### *xi. Espondilite Anquilosante*

A espondilite anquilosante é uma doença inflamatória que afeta principalmente a articulação sacroilíaca, mas também todo o esqueleto axial. A etiologia não é conhecida embora a presença do alelo que codifica para o antigénio (HLA)-B27 esteja presente na maioria dos doentes embora ainda não tenha sido encontrada a correlação entre a

doença e a sua presença. A hereditariedade é um fenómeno real visto que 15-20% dos casos novos têm historial familiar (Mansour *et al.*, 2007).

A doença inicia-se nas articulações fibrosas e sinoviais da coluna vertebral provocando dor e rigidez de forma progressiva o que afeta a qualidade de vida do paciente, a articulação sacroilíaca tal como já foi referido é uma das mais atacadas por esta doença levando a dor lombar e na zona das nádegas. Após um período de repouso, a dor piora e com movimentos repetitivos e esforçados também. A sensação de fadiga é muito comum (Keat, 2010).

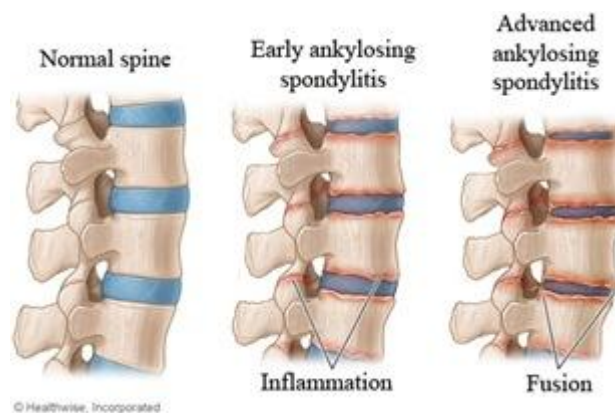


Figura nº 7- Alterações fisiológicas na Coluna Vertebral causadas por Espondilite Anquilosante. Adaptado de <http://saudereabilitacao.blogspot.pt/>

Além das manifestações articulares existem outras provocadas pela doença: febre, fadiga, perda de peso, problemas oculares, cardiovasculares, pulmonares que podem ocorrer em estados mais avançados da doença (Mansour *et al.*, 2007).

O tratamento é feito de forma a eliminar a dor e a rigidez e retardar a doença. Na terapêutica não farmacológica temos o exercício físico regular e a fisioterapia de forma a melhorar a mobilidade da coluna. A terapia farmacológica vai de encontro às doenças anteriores, o uso de AINE's, antiirreumáticos e os novos agentes biológicos que atuam na parte imunológica (Keat, 2010).

*xii. Tumores ósseos*

Os tumores ósseos são por norma tumores raros que surgem através das células mesenquimatosas, ou no osso, ou nos tecidos moles. Afetam todas as faixas etárias, sendo mais comuns os sólidos na infância. Podem ser divididos em 2 grupos: os sarcomas dos tecidos moles, e os sarcomas ósseos (Braunwald *et al.*, 2002).

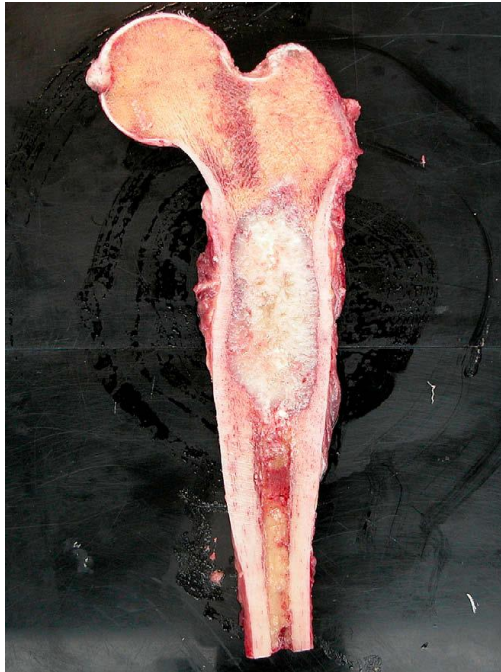


Figura nº 8- Osteosarcoma no fêmur. Adaptado de MacDuff e Reid, 2008.

Os sarcomas dos tecidos moles afetam tudo o que rodeia o osso e a articulação: músculos, tendões, gordura, tecido fibroso, tecido sinovial, vasos e nervos. Usualmente os tumores deste grupo são formados após um traumatismo, uma lesão, através do tecido cicatricial de uma intervenção cirúrgica, uma queimadura, ou uma implantação de um corpo estranho. O fato é que qualquer destes episódios pode despoletar o início de um tumor. Além disso os carcinogénicos químicos podem ser um fator, visto o seu grau de patogenia. A radiação utilizada para o tratamento de outras patologias e determinadas partículas virais (HIV), e os fatores genéticos podem igualmente ser responsabilizados pelo despertar do tumor. Dentro do grupo dos sarcomas dos tecidos moles podem ser encontrados cerca de 20 grupos diferentes de sarcoma, que podem

influenciar o tratamento, embora sejam regularmente vistos como um todo. o diagnóstico é feito através de um biópsia que, após a detecção da massa anormal, que pode ser assintomática ou sintomática com pressão no músculo e tendão ou com aprisionamento dos mesmo, vai indicar o tipo de tumor existente. A cura é comum neste tipo de tumor embora quando estão presentes metástases o processo de cura é muitas vezes difícil ou até mesmo impossível, visto que as células cancerígenas estão disseminadas pelo organismo através do sistema circulatório sanguíneo e não linfático, como habitual. O tratamento segue 3 linhas distintas que podem convergir para que este seja mais agressivo: cirurgia (remoção do tumor), radioterapia, quimioterapia adjuvante (Braunwald *et al.*, 2002).

Os sarcomas ósseos são ainda mais raros, dividem-se em 2 grupos: benignos e malignos. Os tumores benignos (encondroma, condroblastoma, o fibroma condromixóide, o osteoma osteoide e o osteoblasto de origem óssea) são caracterizados pelo tipo de tecido que o origina. Os tumores malignos não hematopoiéticos (osteossarcoma, condrossarcoma, sarcoma de ewing, histócitoma fibroso maligno) e os mais raros (tumor de células gigantes, o adamantinoma e o hemangioendotelioma). O osteossarcoma representa 45% dos tumores ósseos e desenvolve-se normalmente nas metáfises dos ossos longos com produção de osteoide ou osso, há presença de lesão destrutiva, e é muito recorrente na adolescência e na infância. O condrossarcoma ocupa 20-25% dos tumores ósseos, afeta por norma os adultos, e os ossos planos (ombro e cintura pélvica) apresentam dor e tumefação, têm dor de início recente, sinais inflamatórios e um aumento progressivo do tamanho, a maior parte deste tumores são resistentes á quimioterapia. O sarcoma de Ewing é o menos significativo com responsabilidade em 10-15% dos tumores do osso aloja-se normalmente na região diafisária dos ossos longos e dos ossos planos dos adolescentes. Apresenta uma massa volumosa de tecidos moles na diáfise; é um tumor agressivo e sistémico, com ocorrência de metástases nos pulmões, outros ossos e medula óssea o que obriga ao tratamento com quimioterapia. Os tumores metastáticos no osso ocorrem de outros tumores tais como o cancro da próstata, da mama, dos pulmões, da bexiga, da tireoide, linfomas e sarcomas. As metásteses destes cancros vão-se alojar normalmente nas vértebras, no fémur proximal, pelve, costelas, esterno, úmero proximal e no crânio,

podem ser assintomáticas ou causar sintomas como edema, dor, e num caso extremo destruição óssea (Braunwald *et al.*, 2002).

#### **IV. Engenharia de tecidos aplicada ao osso e articulações**

##### 19. Osso vs cartilagem articular

O osso é considerado um potencial regenerador ao nível da engenharia de tecidos, logo é visto como um protótipo neste campo, enquanto a cartilagem articular é vista como um tecido teimoso e difícil de reparar e regenerar através da engenharia de tecidos. A implantação de uma matriz de osso desmineralizado a nível subcutâneo vai-se traduzir numa indução do osso. As proteínas morfogénicas do osso (BMP's) são primordiais nessa ação visto que são o sinal indutivo para a formação de osso. Estas proteínas são responsáveis por iniciar, promover e manter a condrogénese e a osteogénese que têm ações importantes na manutenção da massa óssea. Para que a simbiose seja perfeita ao nível da indução é necessário que o contexto biomecânico ou seja o microambiente, a matriz extracelular e o suporte estejam de acordo com as estratégias indutivas. Para aumentar ainda mais a indutividade podemos usar biomateriais que mimetizam o osso como: colagénio, hidroxapatite, proteoglicanos e proteínas de adesão células (fibronectina e laminina) (Vacanti e Vacanti, 2007).

Se em relação ao osso a engenharia é um sucesso em relação à cartilagem é um caso bocado, principalmente devido à falta de vascularização da cartilagem hialina e a elevada concentração de inibidores da protease e talvez de inibidores de crescimento (Vacanti e Vacanti, 2007).

##### 20. Osso e Cartilagem

###### *xiii. Osso*

A pesquisa para a regeneração do osso começou na década de 60 quando Burwell et al. (*cit in* Vacanti e Vacanti, 2007) confirmou que a medula óssea tinha propriedades osteogénicas. Desde essa época, os avanços científicos permitiram isolar, purificar e

produzir em escala comercial os fatores de crescimento específicos do osso o que ajuda terminantemente na sua regeneração ou substituição por um novo tecido. Hoje em dias existem duas certezas, a reparação óssea é realizada na sua maioria por terapia celular e a mesma reparação é dirigida por um conjunto diversificado de fatores de crescimento (Vacanti e Vacanti, 2007).

#### *xiv. Cartilagem*

A cartilagem articular tem uma arquitetura simples, composta apenas por condrócitos e uma matriz extracelular bastante densa. Os condrócitos adultos perdem a capacidade de se dividir pelo que mantêm a integridade articular através de fenômenos de sintetização e atividade catabólica num equilíbrio perfeito numa cartilagem saudável. Quando é ferida a cartilagem têm uma capacidade extremamente limitada de se regenerar ao contrário do que acontece com o osso. O foco do problema pode estar a nível condral ou subcondral. No primeiro caso, fica na cartilagem sem penetrar no osso, no segundo caso atinge a vascularização do osso acontecendo alguma reparação espontânea nas células condroprogenitoras do mesênquima. O tecido pode até conseguir reparar mas as propriedades da cartilagem hialina não são mantidas (Concedda *et al.*, 2003).

A técnica de microfraturação é usada para a reparação da cartilagem articular. Esta técnica tenta estimular a formação tecido fibrocartilagionoso sem sucesso garantido. No caso de não funcionar é possível tentar a formação de enxertos de cartilagem. Estes enxertos vão ser produzidos através de um suporte que tem, necessariamente, que permitir a difusão de nutrientes e resíduos metabólicos. Além de permitir a difusão deve assegurar o suporte mecânico das células e respetiva matriz extracelular. Os bioreatores escolhidos para este tipo de tecido devem assegurar a correta difusão de nutrientes pelo meio e uma cultura celular uniforme e bem distribuída ao nível espacial. Uma condrogênese eficiente leva à formação de uma cartilagem melhor (Concedda *et al.*, 2003).

xv. *In vitro* vs *In vivo*

Em relação ao osso é necessário tal como na engenharia de tecidos em geral, já abordada, escolher a forma de formação de tecido, *in vivo* ou *in vitro*. O conceito de regeneração óssea para aplicação ortopédica teve progressos significativos embora esteja ainda muito aquém das expectativas iniciais. As células do próprio paciente retiradas do osso sacro ilíaco eram consideradas o “standart” para a reparação óssea, visto que a quantidade de doenças que afeta este tecido é enorme, pode traduzir-se em edema, infeção, hérnias e fraturas entre muitos outros. O problema associado a esta escolha por assim dizer está relacionada com as pessoas que sofrem de doenças neste local sofrerem de dor crónica e embora as complicações que advém da remoção celular serem praticamente nulas é um procedimento desaconselhado (Vacanti e Vacanti, 2007).

Com os avanços tecnológicos da década de 90 começou a surgir a noção de desenvolver como que “chips” ósseos em placas de petri ou seja *in vitro*. O conceito inicial consistia em retirar células de um paciente, criar através dessas mesmas células “chips” ósseos *in vitro* que simulassem ser do paciente no qual seriam implantados. Esta ideia encaixava na crença de que as células da medula óssea podiam gerar volumes ilimitados de tecidos sem o risco de rejeição ou transmissão de doenças entre dadores e recetores. Com o desenrolar do conhecimento veio-se a verificar que as células estaminais da medula óssea podem crescer em cultura e gerar quantidades significativas de células, no entanto, de forma limitada. O fato de esta técnica necessitar de uma fase *in vitro* atrasa todo o processo que por si só é um processo longo e potencialmente complexo para que seja regulado de forma a entrar no mercado, tendo risco de contaminação e ainda acrescentando a dificuldade de o transpor para um aplicação em grande escala (Vacanti e Vacanti, 2007).

A parte económica é igualmente importante e, neste caso, desfavorável, visto que na maioria dos casos observados para cirurgia ortopédica é sabido que a tecnologia básica produz excelentes respostas pelo que o usos de engenharia de tecidos real é limitada

para um pequeno número de pacientes. Acrescentado a este fato as considerações logísticas e financeiras paralelamente ao progresso médico e farmacológico a regeneração óssea transforma-se. A terapia *in vitro* é considerada obsoleta em relação à promoção de saúde óssea *in vivo*. No entanto, a possibilidade de osteogenicidade *in vivo* foi deixada por terra quando se descobriu a necessidade de um suporte adequado ao crescimento e proliferação, sendo o método que envolve a produção celular *in vitro* e a sua diferenciação e formação de tecido *in vivo* o mais adequado, no entanto a escolha varia conforme as terapias escolhidas (Vacanti e Vacanti, 2007).

#### *xvi. Células*

De acordo com o tipo de técnica utilizada, as células escolhidas diferem e tal como já foi referido, podem ser células indiferenciadas como as células estaminais embrionárias e as células estaminais. Além destas, os condrócitos e fibroblastos são uma ótima escolha para a formação de cartilagem e osso. As células geneticamente modificadas podem ser uma opção específica (Chung e Burdick, 2008).

#### *xvii. Otimização da produção in vivo*

Tanto tempo de pesquisa permitiu definir 3 elementos chave para a criação de um ambiente favorável à formação óssea.

- 1) Presença de uma matriz, material que permita a ligação e proliferação celular
- 2) Células osteogénicas, células estaminais ou diferenciadas que sejam capazes de formar novo tecido ósseo.
- 3) Fatores biológicos que promovam a quimiotaxia, proliferação e diferenciação celular.

Além destes elementos existem também 2 formas de otimizar formação óssea.

- 1) Entrega de uma quantidade significativa de células osteoprogenitoras no local de reparação e confiar nos fatores de crescimento próprios nas concentrações fisiológicas adequadas para formar osso.
- 2) Entrega de doses elevadas de fatores biológicos que consigam ativar as células estaminais presentes no corpo para formar osso (Vacanti e Vacanti, 2007).

### *xviii. Terapia celular*

As células usadas nesta terapia são osteogênicas e capazes de se diferenciar em osteoblastos que por sua vez vão formar osso. Estas células vão ser inseridas no local onde se pretende regenerar o osso. Normalmente são usadas células alogênicas e autogênicas com origem no tecido ósseo diferenciado ou em células estaminais mesenquimatosas (não ósseas). Além destas células podem ser utilizados fragmentos de osso maduro sem medula óssea que têm capacidade regeneradora apenas através das linhagens celulares formadas. Algumas células do tecido conjuntivo têm mostrado algum poder regenerativo (Vacanti e Vacanti, 2007).

De todos os tecidos humanos a medula óssea é considerada a mais vantajosa como fonte celular. Segundo Osmsted-Davis *et al.* (*cit in* Vacanti e Vacanti, 2007) “existe uma célula precursora dentro da medula óssea denominada de “side population”, são definidas pela sua capacidade de regenerar a nível hematopoiético e de se diferenciarem em osteoblastos através de um intermediário mesenquimatoso”. Além das células estaminais da medula óssea existe ainda a possibilidade de utilizar células derivadas de tecidos conjuntivos que podem ter um comportamento similar às estaminais podendo diferenciar-se em vários tecidos como osso e cartilagem através de fatores de crescimento específicos em cada cultura (Vacanti e Vacanti, 2007).

Para que as injeções de células estaminais funcionem como terapia de regeneração e sejam usadas na terapêutica clínica é necessário otimizar a matriz para que mantenha as células estaminais e a utilização de métodos que mantenham a concentração celular e,

por último, a expansão de células estaminais concentradas através de culturas. As células usadas nesta terapia são osteogénicas e capazes de se diferenciar (Vacanti e Vacanti, 2007).

*xix. Terapia com fatores de crescimento*

A terapia com fatores de crescimento consiste na introdução de proteínas morfogénicas do osso no local onde se pretende induzir o desenvolvimento osteoblástico. As plaquetas contribuem para um osso saudável através da libertação de fatores de crescimento, ao estarem mais concentradas aceleram a “cascata de cura” num osso com problemas. Estes fatores de crescimento derivados de plaquetas mostram atividades quimiostáticas, tal como efeitos mitogénicos nas células osteoprogenitoras. Além das plaquetas, as proteínas humanas recombinantes também são usadas, o melhor exemplo são as BMP's (Vacanti e Vacanti, 2007).

*xx. Terapia génica*

A terapia génica é uma alternativa às moléculas bioativas encapsuladas em suportes (Chung e Burdick, 2008).

Esta terapia é caracterizada pela transferência de material genético em células que irão segregar uma proteína específica que pode afetar a migração celular, proliferação e diferenciação. Neste modelo os fatores de crescimento podem ser sintetizados *in situ* como resultado da transferência génica. Esta terapia envolve:

- Sequência de DNA que codifica para a proteína de interesse
- Vetor que facilita a entrada do material genético na célula
- Célula alvo para o segmento génico.

As condições terapêuticas que obriguem à utilização deste método podem ser:

- Condições que requerem uma entrega contínua e sustentada de proteínas específicas
- Condição que requer regeneração óssea no momento como um trauma grave, casos em que a expressão do gene deve ser feita a curto prazo.

Para o uso desta terapia *in vivo* procede-se à transferência direta dos genes nos pacientes, enquanto *in vitro* a transdução das células é feita *in vitro* e só depois se procede ao seu implante (Vacanti e Vacanti, 2007).

#### *xxi. Limitações da regeneração óssea*

A maioria das estratégias usadas na regeneração óssea têm mostrado resultados satisfatórios além das suas limitações próprias e inconvenientes ligados ao seu uso. O que é de considerar são os estudos relacionados com a sua relação custo/eficácia que não são tão animadores. Até ao momento não foi possível ainda a produção de substitutos ósseos sintéticos ou de origem heteróloga que fossem de qualquer forma possuidores das mesmas propriedades biológicas e mecânicas. É de encontro a esta busca que as estratégias de tratamento se devem reger de forma a ter como objetivo a resolução de todos os parâmetros relacionados com a consolidação da fratura e cicatrização óssea ideal através do uso desta terapêutica. Com isso é necessário ter em conta as matrizes osteocondutivas, fatores osteoindutivos, células osteogénicas e a estabilidade mecânica. No caso de não ser possível resolver estes parâmetros é necessário melhorá-los aos poucos de forma a atingir o objetivo de consolidação forte de acordo com o conceito de diamante (Dimitrou *et al.*, 2011).

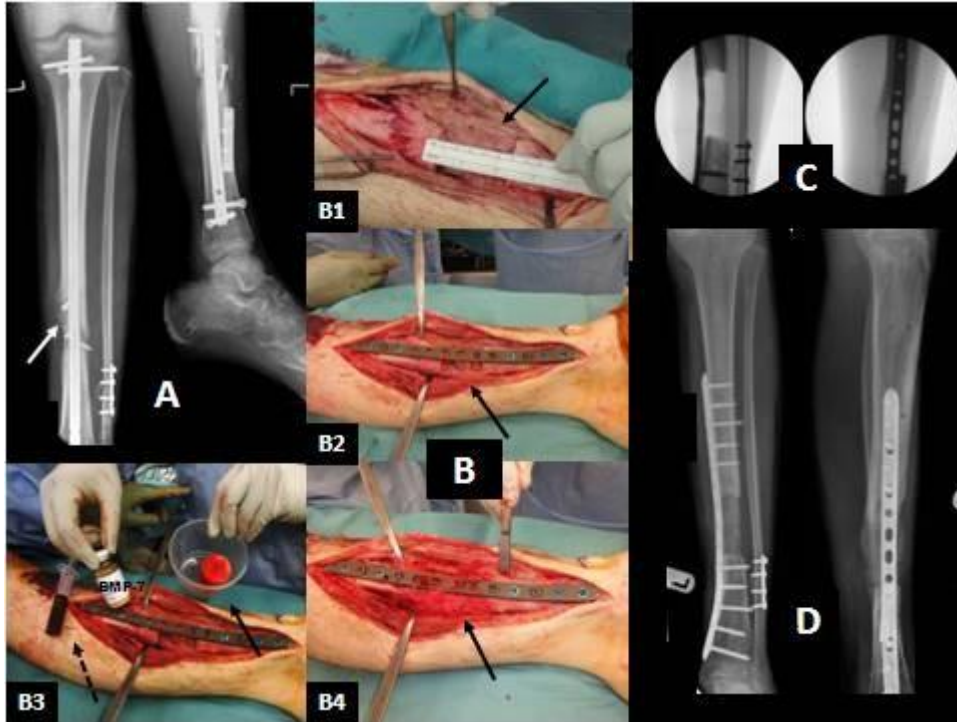


Figura nº 9-Homen de 19 anos com pseudoartrose infectada depois de introdução de haste intramedular de um fratura exposta da tibia. Adaptado de Dimitriou, R. *et al.* 2011.

Na regeneração óssea é necessário aperfeiçoar ainda as variadas condições clínicas, a nível local e sistémico. De acordo com o caso em mãos é necessário adequar a reparação óssea de forma a acelerar ou retardar o processo por exemplo. O controlo da regeneração seria perfeito através da mimetização da cascata natural da formação óssea, o que se espera ser conseguido no futuro. Este fato permitiria diminuir a morbilidade e o seu custo socioeconómico a longo prazo (Dimitriou *et al.*, 2011).

## 21. Produtos

De momento de acordo com a FDA o único produto ósseo ou cartilagíneo registado é ao nível da Terapia Celular. O Carticel® é uma cultura de célula autóloga de condrócitos que permite a reparação de problemas sintomáticos na cartilagem causados por trauma agudo ou repetitivo e que não respondam ao tratamento cirúrgico. Funciona como um auto enxerto (FDA).

## **V. Conclusão**

A engenharia de tecidos surgiu como uma esperança ao fundo do túnel para uma época marcada por transplantes de órgão, com demasiados pacientes e poucos doadores. No fundo apesar de ser revolucionária e permitir alguns avanços existem ainda muitas limitações. A esperança média de vida aumentou substancialmente nas ultimas décadas aumentando com ela a taxa de morbilidade causada pelas doenças reumatismais e ortopédicas que afetam osso e articulações afetando diretamente a mobilidade. Afetando a mobilidade também a parte psíquica é afetada aumentando as depressões e a inatividade que piora ainda mais as doenças.

Os produtos hoje comercializados pelas várias técnicas, terapia celular, tecidos, terapia génica, terapia dos fatores de crescimento não são ainda uma realidade como o são para a pele. O fato de a pele ser o órgão superficial talvez tenha ajudado no seu desenvolvimento.

Esta técnica tem conseguido enviar para o mercado produtos que ajudem na terapia das doenças supra referidas, no entanto não o têm conseguido de forma eficaz como desejado. Com o avanço da tecnologia hoje em dia a verdade de hoje pode não ser a de amanhã pelo que os estudos celulares, fisiológicos podem alterar substancialmente a engenharia de tecidos como a conhecemos hoje.

Num futuro próximo espera-se ser possível curar inúmeras doenças através desta técnica, ultrapassando as dificuldades que ainda existem nos dias de hoje.

## VI. Bibliografia

Armentano, A. *et al.* (2010). Biodegradable polymer matrix nanocomposites for tissue engineering: A review. *Polymer Degradation and Stability*, 95(2010), pp. 2126-2146.

Barbanti, S.H., Zavaglia, C., Duek, E. (2005). Polímeros bioreabsorvíveis na engenharia de tecidos. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, 15(1), pp. 13-21.

Baylirk, D.J., Skornig, D.D., Mohan, S. (1999). The diagnosis and treatment of osteoporosis: future prospects. *Molecular Medicine Today*, pp. 122-140.

Bianco, P., Robey, P.G. (2001). Stem cells in tissue engineering. *Nature*, 4(4), pp. 118-121.

Braunwald, E. *et al.* (2002). *Medicina Interna- Harrison.*, 15ª Edição, Rio de Janeiro, Mc Graw-Hill.

Chung, C., Burdick, J.A. (2008). Engineering cartilage tissue. *Advanced drug delivery*, 60, pp. 243-262.

Concedda, R. *et al.* (2003). Tissue engineering and cell therapy of cartilage and bone. *Matrix Biology*, 22(2003), pp. 81-91.

Delmas, P.D., Woolf, A.D. (1997). Osteoporosis: outstanding issues. *Baillière's clinical Rheumatology*, 11(3), pp. 645-649.

Dimitrou, R. *et al.* (2011). Bone regeneration: current concepts and future directions. *BMC Medicine*, 9(66), pp. 1-10.

FDA, U.S. Food and Drug Administration. [Em linha]. Disponível em <<http://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/TissueTissueProducts/RegulationofTissues/ucm150485.htm>>. [Consultado em 20/08/2012].

Glass, G.G. (2006). Osteoarthritis. *DM*, 52, pp. 343-362.

Hughes, D. (2008). Osteoarthritis and inflammatory arthritis. *Surgery*, 27(2), pp 75-79.

Keat, A. (2010). Ankylosing Spondylitis. *Medicine*, 38(4), pp. 185-189.

Koh, L.H. (2004). Osteoporosis: assessment for diagnosis, evaluation and treatment. *Practicing Medicine*, 1(2-3), pp. 204-214.

Lane, N.E. (2005). Epidemiology, etiology and diagnosis of osteoporosis. *American Journal of Obstetrics & Gynecology*, 194(2006), pp. S3-S11.

Lorenz, H., Richter, W. (2006). Osteoarthritis: cellular and molecular changes in degenerating cartilage. *Progress in histochemistry and cytochemistry*, 40(2006), pp. 135-156.

Mansour, M. *et al.* (2007). Ankylosing spondylitis: A contemporary perspective on diagnosis and treatment. *Semin Arthritis Rheuma*, 36, pp. 210-223.

Phipps, W., Sands, J., Marek, J. (2003). *Enfermagem Médico-Cirúrgica, Conceitos e Prática clínica.*, 6ª Edição, Camarate, Lusociência.

Prado, F.C., Ramos, J.A., Valle, J.R. (2001). *Atualização Terapêutica 2001*, 20ª Edição, São Paulo, Artes Médicas.

Sarzini-Puttini, P. *et al.* (2005). Osteoarthritis: An overview of the disease and its treatment strategies, 35(1).

Seeley, R., Stephens, T., Tate, P. Sistema esquelético: ossos e tecido ósseo. In (2000). *Anatomia & Fisiologia*. Lusociência.

Vacanti, J., Vacanti, C.A. (2007). *Principles of Tissue Engineering*. 3ª Edição, London, Elsevier.

Weinstein, S.L., Buckwalter, J.A. (2000). *Ortopedia de Turek, Princípios e sua Aplicação*. 5ª Edição, Brasil, Manole.

Wobus, A.M., Boheler, K.R. (2006). *Stem Cells*. 1ª Edição, Germany, Springer.