

UNIVERSIDAD DE LA REPUBLICA
FACULTAD DE ODONTOLOGIA.

M E C A N I S M O S B I O L O G I C O S

D E L A R E S O R C I O N D E L O S

T E J I D O S M I N E R A L I Z A D O S . -

Dr. Pablo C. ROSINI
Asistente de Histología

Trabajo realizado en la cátedra de
Histología General e Histología y Embriología Buco Dental
(Prof. Dra. Artemia Fuentes)

MONTEVIDEO 1982

PROPOSITO.-

No existe una teoría confirmada sobre el mecanismo biológico que opera en la resorción de los tejidos mineralizados. Tal vez por ello no hemos podido encontrar una puesta al día de este tema, que reviste indudable interés para las materias básicas y clínicas que conforman nuestra carrera. De esa forma, su abordaje constituyó un desafío estimulante que encaramos con el consiguiente interés, que se vio aumentado por las sugerencias que proporcionaban los datos que iban surgiendo de la pesquisa bibliográfica. Intentamos ordenar y jerarquizar esos datos de laboratorio, conforme a un plan estructural que, pretendemos, contribuya a orientar la discusión e investigación sobre el tema.

Debemos agradecer a la Dra. Artemia Fuentes por el apoyo que nos proporcionó.

El Dr. Roy Cooper y la Lic. Melitta D. Meneghel contribuyeron realizando múltiples traducciones, esfuerzo solidario que agradecemos.

P.C.R.

- S U M A R I O -

MECANISMOS BIOLOGICOS DE LA RESORCION.-

1. RESORCION DE LOS TEJIDOS MINERALIZADOS.

2. OSTEOCLASIA.

2.1. INTRODUCCION

2.2. EL OSTEOCLASTO :

2.2.1. Generalidades

2.2.2. Estructura e Histoenzimología:

2.2.2.1. Citoplasma :

2.2.2.1.1. - borde fruncido

2.2.2.1.2. - vesículas

2.2.2.1.3. - zona clara

2.2.2.1.4. - mitocondrias

2.2.2.1.5. - retículo endoplásmico rugoso

2.2.2.1.6. - aparato de Golgi, lososomas
e histoenzimología

2.2.2.2. Núcleo

2.2.3. Origen

2.2.3.1. Sistema fagocitario

2.3. MODO DE ACCION :

2.3.1. Agentes de osteoclasia

2.3.2. El terreno

2.3.3. Desmineralización

2.3.4. Despolimerización de la sustancia fundamental

2.3.5. Destino del colágeno

2.3.5.1. Degradación fibroblástica y epitelial del
colágeno

2.3.5.2. Regulación

2.3.6. Degradación celular

2.4. FACTORES REGULADORES

2.4.1. Hormonas

2.4.1.1. Glándula tiroides

2.4.1.1.1. - Calcitonina

2.4.1.2. Glándula paratiroides

2.4.1.2.1. - Parathormona

- 2.4.3. Endotoxinas bacterianas y reacciones inmunológicas
- 2.4.4. Vitaminas
 - 2.4.4.1. Vitamina D
 - 2.4.4.2. Vitamina A
- 2.4.5. Agentes inhibidores:
 - 2.4.5.1. Fluor
 - 2.4.5.2. Plomo
 - 2.4.5.3. Difosfonato, prometazina hidrociorhídrica, fenitoína y auritimalato sódico

3. OSTEOLISIS OSTEOCITICA

MECANISMOS BIOLOGICOS DE LA RESORCION

1. RESORCION DE LOS TEJIDOS MINERALIZADOS

Analizando los hallazgos de la histología e histoquímica dentaria con microscopía de luz y electrónica, debidamente correlacionados con los hechos observados en la histología del hueso, adquirimos una convicción que nos permite compartir el punto de vista de otro autor (80) en cuanto a que el problema de la resorción dentaria debe ser estudiado paralelamente al de la resorción ósea.

Sin embargo, las analogías entre resorciones óseas y dentarias no impiden reconocer que la organización del complejo particular que envuelve al diente temporario confiere a su resorción características propias. Y, aún, se puede decir que el estudio de la actividad cemento y dentinoclástica ha permitido hacer progresos en los conocimientos sobre osteoclasia. (163) En ese sentido debe tenerse en cuenta que el alvéolo dentario ofrece un modelo muy favorable para estudiar el origen y devenir de los osteoclastos, en razón de ser asiento de remodelado óseo a lo largo de toda la vida: en el joven, por la erupción dentaria y en el adulto por la migración fisiológica de los dientes. El posee células de reserva, vascularización importante y espacios medulares que permiten estudiar las células conjuntivas actualmente reconocidas como dadoras de osteoclastos. (83).

Podemos considerar que el hueso alveolar presenta cuatro superficies donde asienta el remodelado: 1) Perióstica; 2) Endóstica; 3) Osteónica y 4) Periodontal. (Ver fig. 1).

Los tejidos mineralizados del organismo presentan un solo tipo de crecimiento: el crecimiento aposicional. En tal sentido, la formación de esos tejidos es un fenómeno de superficie. La resorción, en su mayor parte, también lo es. Ambos procesos, antagónicos en su acción, se constatan siempre en las superficies externas o internas de los órganos que afectan, a veces sucediéndose y superponiendo sus efectos. Estos se manifiestan en el crecimiento y remodelado del sistema esquelético al mismo tiempo que son factores de la homeostasis por su participación en el recambio metabólico del Ca y el P.

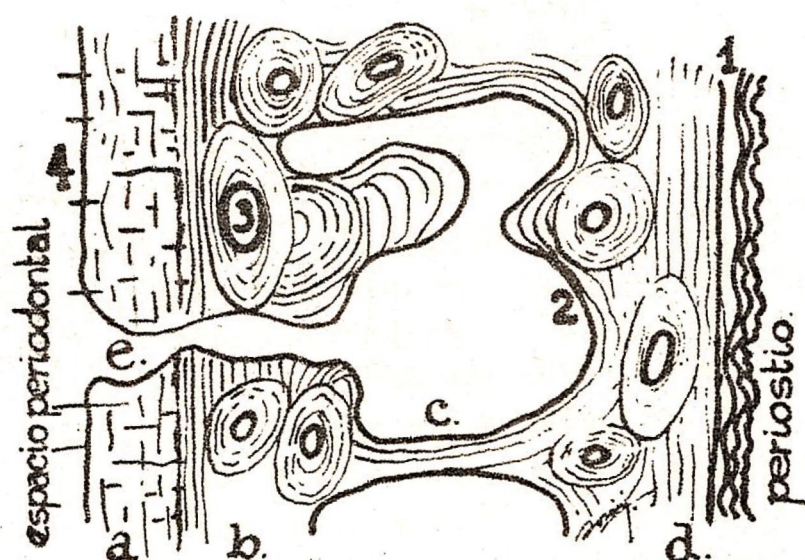


FIG.1 - VISION TOPOGRAFICA,ESQUEMATICA,DE UN CORTE HISTOLOGICO DONDE SE OBSERVAN LAS DISTINTAS SUPERFICIES QUE PRESENTA EL HUESO DEL PROCESO ALVEOLAR.

SE PONE DE MANIFIESTO EL ASPECTO ESTRUCTURAL:

- 1- MEMBRANA PERIOSTICA
- 2- ENDOSTIO
- 3- CONDUCTO DE HAVERS
- 4- MEMBRANA PERIODONTAL

a _HUESO FASCICULADO,DE ORIGEN PERIODONTAL

b _HUESO COMPACTO HAVERSIANO (LAMINILLAR)

c _ESPACIOS MEDULARES DE LA ESPONJOSA,TAPIZADOS POR EL ENDOSTIO

d _HUESO LAMINILLAR DE ORIGEN PERIOSTAL

e _CANALES QUE COMUNICAN LOS ESPACIOS MEDULARES CON EL ESPACIO PERIODONTAL

A la altura de nuestros conocimientos no se ha podido establecer, definitivamente, la causa, el o los agentes, el mecanismo de acción y los factores reguladores que guían la reabsorción en los tejidos mineralizados.

Esa dificultad se atribuye, en parte, a la propia naturaleza de los procesos catabólicos, que serían más difíciles de captar que los fenómenos de síntesis. (34)

Ello ha permitido que, en la búsqueda científica, se hayan llegado a proponer diversos modos de resorción, cada uno de los cuales intenta explicar los hechos que los otros no aclaran, de acuerdo a las evidencias obtenidas en sus procedimientos de investigación. Consideramos los siguientes modos de resorción:

- . Osteoclasia
- . Osteolisis osteocitaria

2. OSTEOCLASIA

2.1. Introducción.-

Llamamos osteoclasia a la desintegración del tejido óseo por mediación celular, que tiene al osteoclasto como principal protagonista.

Así como es común encontrar osteoblastos en las superficies del hueso en aposición, observamos habitualmente, osteoclastos en los campos microscópicos que evidencian pérdida de tejido óseo. Ambas células, responsables de la homeostasis esquelética, realizan una acción conjugada en el remodelado óseo, superponiendo sus efectos de resorción y neogénesis. En el marco fisiológico, ambos procesos se mantienen en equilibrio dinámico y tienen efectos opuestos pero vinculados en la competencia de osteoblastos y osteoclastos por la superficie de la matriz ósea.

Las células osteoclásticas aparecen alojadas en excavaciones producidas, aparentemente, por su actividad. Ver Fig.2, -6. Además, casi siempre que encontramos osteoclastos hay imágenes histológicas de resorción. En cultivos de órganos de huesos largos de rata fetal, los estudios morfológicos han revelado que esos huesos sufren resorción por incremento del número y/o actividad de osteoclastos. (123).

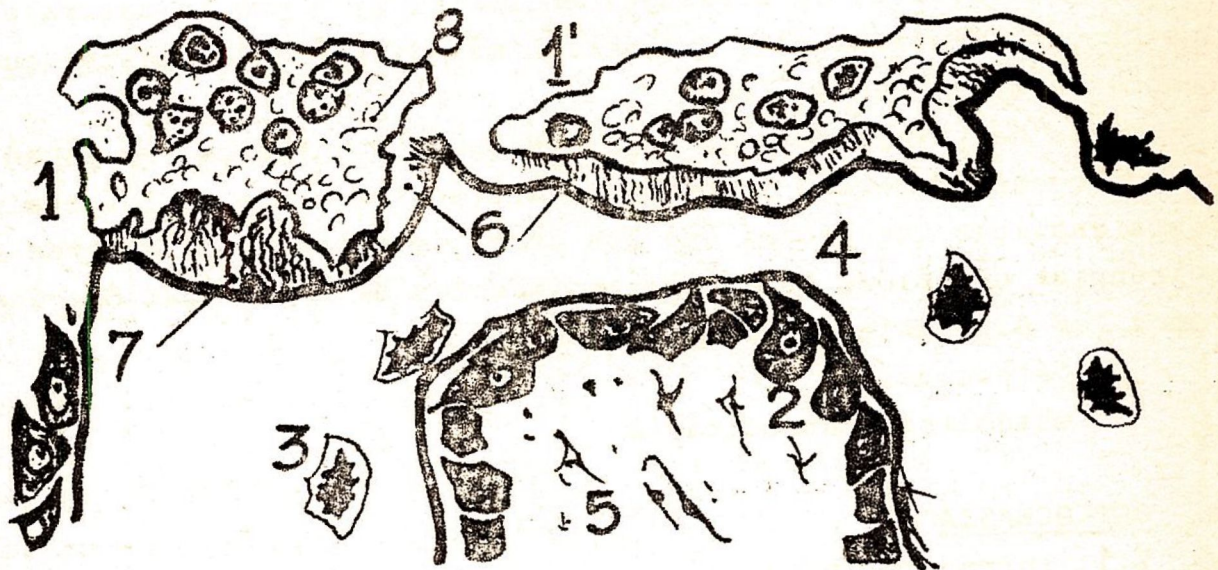


FIG.2.- DIBUJO ESQUEMÁTICO DE CÉLULAS DEL TEJIDO ÓSEO TAL COMO PUEDEN VERSE EN UNA OSIFICACIÓN MEMBRANOSA.

- 1 Y 1'-OSTEOCLASTOS ACTIVOS
- 2 - OSTEOBLASTOS
- 3 - OSTEOCITOS
- 4 - TRABÉCULA OSEA
- 5 - MÚDULA OSEA
- 6 - LAGUNAS DE HOWSHIP
- 7 - ESTRIACIONES QUE, EN CIERTAS OCASIONES, ES DABLE OBSERVAR ENTRE EL OSTEOCLASTO Y LA SUPERFICIE OSEA EN RESORCIÓN.
- 8 - CITOPLASMA VACUOLIZADO.

Por otra parte, se sabe que la demanda de mineral que requiere la calcificación de la cáscara de huevo en las aves, es satisfecha en un 40% por la acción de los osteoclastos que liberan el calcio necesario a partir del hueso medular. En tal sentido ha sido ~~mostrado~~ que durante el ciclo ponedor de huevos los osteoclastos se diferencian morfológicamente, reabsorben hueso y, al final del ciclo, se retiran de la superficie ósea. (101) (168).

Además, se han proporcionado evidencias de un pasaje de material desde las superficies óseas hacia el interior del osteoclasto adyacente. Con autorradiografía se encontró material marcado en las superficies externas más nuevas del hueso trabecular, en perros que habían sido previamente inyectados. Cuando este hueso era resorbido, osteoclastos contiguos mostraron marcas de sustancia radioactiva en su citoplasma. (8).

Una evidencia adicional la proporciona el estudio del hueso osteopetrótico de la rata mutante "tl". Este tejido óseo se caracteriza por la ausencia de resorción ósea y, significativamente, en él no se observan osteoclastos (88) (29), o bien, si los hay, ellos no son activos, como puede deducirse de su morfología. (96).

Por lo tanto es forzoso relacionar estrechamente, resorción ósea y osteoclastos, tratando de comprender la participación de este tipo celular en el proceso. En nuestros preparados histológicos, los observamos siempre ligados al crecimiento y desarrollo del sistema esquelético desde los tempranos estadios del desenvolvimiento embrionario.

Para algunos, osteoclasia es el modo más eficaz de resorción ósea. El proceso lineal de la perforación de los canales de Havers sometidos a reabsorción, (50 micras por día) es dieciseis veces superior a la marcha lineal del depósito de osteonas según fue demostrado. Igualmente pudo establecerse que las células que perforan los canales de Havers reabsorben por hora, aproximadamente, $4,56 \times 10^{-2}$ microgramos de densidad 2.2. O sea : los osteoclastos son capaces de desintegrar 2 a 3 veces su propio volumen en hueso en 24 horas. (34) (159).

Como todo proceso biológico, la actividad reabsortiva de los tejidos duros debe estar comandada por una especie celular. En este caso consideramos el mecanismo resorbente en el cual el osteoclasto participa como agente principal.

2.2. OSTEOCLASTO

2.2.1. Generalidades

En 1859 J. Tomes describió la naturaleza celular de la resorción de las raíces de los dientes temporarios. (85)

Kolliker (1873) considera por primera vez a los elementos celulares multinucleados, que Robin (1849) llamara mieloplaxas, como directamente relacionados con resorción ósea. Reconociendo su participación en el proceso resorbente los llamó osteoclastos.

Anteriormente, Howship (1815) había descrito las cavidades que aparecen labradas en las superficies óseas en resorción y a las cuales, posteriormente, se designó con su nombre.

Las células que participan en la resorción de los tejidos dentarios no difieren, en su estructura y fisiologismo de los osteoclastos. Los llamamos odontoclastos, genéricamente. O bien cementoclastos y dentinoclastos, según el tejido con el cual guarden relación.

El osteoclasto forma parte del componente celular normal del tejido óseo, pudiéndosele encontrar en las áreas sujetas a remodelado. Se caracteriza por no estar ligado al tejido de una manera estable, tal como lo están los preosteoblastos, osteoblastos y osteocitos. Es esencialmente una célula móvil, (60) que se hace presente cuando y donde se requiere su actividad.

Desde el punto de vista morfológico, los caracteres que le confieren originalidad son: su gran tamaño (entre 20-100 micras, 200.000 micras cúbicas de volumen), la pluralidad de núcleos (entre 3-12 o varias decenas) y su polimorfismo (determinado por su motilidad). Fig.2, -1, -1'.

Por su citología y fisiologismo se admite una posible vinculación con el sistema histiocitario. (34).

Su movilidad, polimorfismo y vinculación con tejidos muertos o al

terados, le confieren características de célula macrofágica. Sin embargo no se comportan como elementos típicamente fagocitarios, ya que no han demostrado ser capaces de captar el azul de tripano inyectado intravitalmente. (17).

En el mismo sentido se señala que jamás han sido observadas partículas de hueso en el interior de los osteoclastos. (34). Pero se discute aún, si el osteoclasto es capaz de fagocitar subproductos de la degradación ósea, (65) como veremos más adelante. El ciclo vital de esta célula es muy controvertido por cuanto no está firmemente establecido tanto su origen como su destino final. Se han proporcionado algunas indicaciones acerca de la longevidad del osteoclasto. In vitro muestran signos de degeneración a las veinticuatro horas, sobreviniendo la muerte celular a las cuarenta y ocho horas. (61).

El estudio de este tipo celular se realiza, generalmente, junto a las demás células del tejido óseo y de las que forman parte del órgano alvéolo-dentario. Se recurre con frecuencia a los seres en estado de crecimiento y desarrollo, a las piezas esqueléticas sometidas a remodelado y a los órganos mineralizados sujetos a resorción fisiológica. Las diversas técnicas de cultivos de tejidos, son una valiosa fuente de información muy utilizada. Las observaciones se realizan en materiales tratados de acuerdo a la técnica histológica, empleando los recursos de que dispone la microscopía óptica y electrónica. Recientemente se ha utilizado, por primera vez, la microscopía electrónica de barrido para observar osteoclastos. (157).

2.2.2. Estructura

2.2.2.1. Citoplasma.

La estructura del osteoclasto varía, como las demás células de la economía y dentro de ciertos límites, de acuerdo a su estado funcional. Es así que, la morfología de esta célula y su capacidad funcional para resorber hueso guardan una estrecha relación entre sí, como ha sido demostrado al emplear difosfonato como inductor de alteraciones en la morfología osteoclástica. (130).

Un osteoclasto activo puede identificarse al microscopio de luz por su citoplasma acidófilo, oponiéndose en esa propiedad a la marca

da basofilia de los osteoblastos. Al envejecer, la acidofilia del citoplasma se hace más marcada. En los osteoclastos recién formados el citoplasma da reacción ligeramente basófila, captando la hematoxilina en los preparados teñidos por H.E.

2.2.2.1.1. - Borde fruncido.

En algunos preparados histológicos de piezas descalcificadas pueden observarse con objetivo de inmersión, estriaciones que median entre el tejido en resorción y la superficie celular a él enfrentada. Dichas estriaciones guardan una relación variable con las lagunas de Howship y la periferia del osteoclasto. Su aspecto y significado ya han sido convenientemente discutidos por otros autores. (59) Fig. 2,7. En cambio, la documentación gráfica acumulada en microscopía electrónica es concluyente en cuanto a la existencia de un borde ondulado o fruncido en la que podríamos llamar "cara activa" del osteoclasto. (126). Esa zona es una diferenciación de la membrana celular y se reconoce como el sitio donde tiene lugar el complejo proceso de degradación del tejido óseo. Así, la cara activa es la región de la célula que se diferencia siempre frente a la superficie ósea que es reabsorbida. El resto de la superficie citoplasmática del osteoclasto no presenta particularidades. Ver Fig. 3.

El aspecto de borde fruncido está dado, al microscopio electrónico, por múltiples microvellosidades de forma variada, no alineadas ni ordenadas. Se trata de una membrana ondulante, continuamente en movimiento y de intensa actividad pinocitótica. (34). Estas expansiones o repliegues citoplasmáticos cubiertos por la membrana celular crean una amplia superficie de intercambio con el frente de resorción. Esa superficie es aún mayor si se tiene en cuenta que a partir de la base de las microvellosidades existen hendiduras que profundizan el citoplasma periférico creando un sistema de canales en el interior de la célula. El citoplasma de las microvellosidades está libre de organoides. (59) (105).

Relacionados con esta membrana plasmática especializada pueden verse al microscopio electrónico, cristales minerales en secciones de piezas sin desmineralizar (105) y microfibrillas colágenas, par-

cial y totalmente desmineralizadas, exhibiendo periodicidad típica. (62) (84).

En el frente de resorción la desmineralización de la matriz ósea afecta muy pequeño espesor y sólo es observable frente al borde estriado del osteoclasto. (34). La presencia de estas microvellosidades así como su aspecto normal, se interpreta como signo de actividad celular osteoclástica y sirve, por tanto, para evidenciar si la célula está participando activamente en el proceso lítico. (126) (96) (149) (51).

2.2.2.1.2. - vesículas.

La textura del citoplasma al microscopio de luz puede ser homogénea o bien presentar el aspecto espumoso que le confieren numerosas vesículas claras. Las más voluminosas de estas estructuras pueden alcanzar el tamaño de un núcleo. (34). En algunos preparados, los dentinoclastos de dientes de animales presentan citoplasma muy vacuolizado. (48). La microscopía electrónica nos muestra estas vacuolas en la periferia de la "cara activa" del osteoclasto, debajo del borde estriado. Se interpretan como la traducción morfológica de fenómenos de endo y exocitosis que se manifestarían a ese nivel. (34). La microcinematografía de osteoclastos vivos ha mostrado que el citoplasma muestra actividad como de hervir y borbotear. (55).

Las fotomicrografías electrónicas permiten observar, en algunas de las grandes vesículas claras rodeadas por membranas, un contenido denso de electrones que se interpreta como gránulos de mineral. Dichas vesículas podrían formarse por oclusión y aislamiento del fondo de las criptas formadas en la base de las microvellosidades. (59).

Fig.3. En condiciones experimentales, se observó acumulación de rojo neutro en estas vacuolas. (12). Estudios de reabsorción ósea alveolar, inducida experimentalmente, mostraron en las vacuolas osteoclásticas células o restos de células. (102).

FIG.3.-

DIBUJO ESQUEMATICO, REPRESENTATIVO DE UN OSTEOCLASTO ACTIVO, TAL COMO PUEDE SER VISTO EN DIVERSAS FOTOMICROGRAFIAS ELECTRONICAS.

EL HUESO, DE ASPECTO ELECTRODENSO, CORRESPONDE A UN PREPARADO HISTOLOGICO SIN DESCALCIFICAR. EN EL FRENTE DE RESORCION SE APRECIA LA DESORGANIZACION DEL TEJIDO OSEO.

H - HUESO. LA SUPERFICIE ENFRENTADA AL BORDE FRUNCIDO SE PRESENTA CLARA (MENOS ELECTRO-DENSA) PORQUE EXHIBE LA MATRIZ OSEA DESMINERALIZADA POR LA OSTEOLASIA. EN ESA ZONA PERSISTE MATERIAL ELECTRODENSO DISPUESTO SEGUN LA ORIENTACION DE LAS FIBRAS COLAGENAS E INSINUANDOSE ENTRE LOS PLIEGUES DEL BORDE FRUNCIDO.

B - BORDE FRUNCIDO EN LA CARA ACTIVA DEL OSTEOCLASTO. PROFUNDOS E IRREGULARES REPLIEGUES CITOPLASMATICOS RECUBIERTOS POR LA MEMBRANA CELULAR.

F - FONDO DE LOS PLIEGUES ENTRE DOS MICROVELLOSIDADES, MUY ESTRECHAMENTE RELACIONADO CON LAS NUMEROSAS VESICULAS (V) SUBYACENTES AL BORDE FRUNCIDO.

ZC - ZONA CLARA. DE FORMA ANULAR, RODEA AL BORDE FRUNCIDO Y UNTAPONIENDOSE ESTRECHAMENTE A LA SUPERFICIE OSEA.

V - VESICULAS. ESTRUCTURAS RODEADAS POR MEMBRANA. DE TAMAÑO MUY VARIABLE

N - NUCLEOS.

G - SACULOS DE APARATOS DE GOLGI.

LI - LISOSOMAS.

SD - GRANULOS CIRCULARES DE SUSTANCIA DENSA.

M - MITOCONDRIAS.

R - RIBOSOMAS Y POLIRRIBOSOMAS.

RER - RETICULO ENDOPLASMICO RUGOSO.

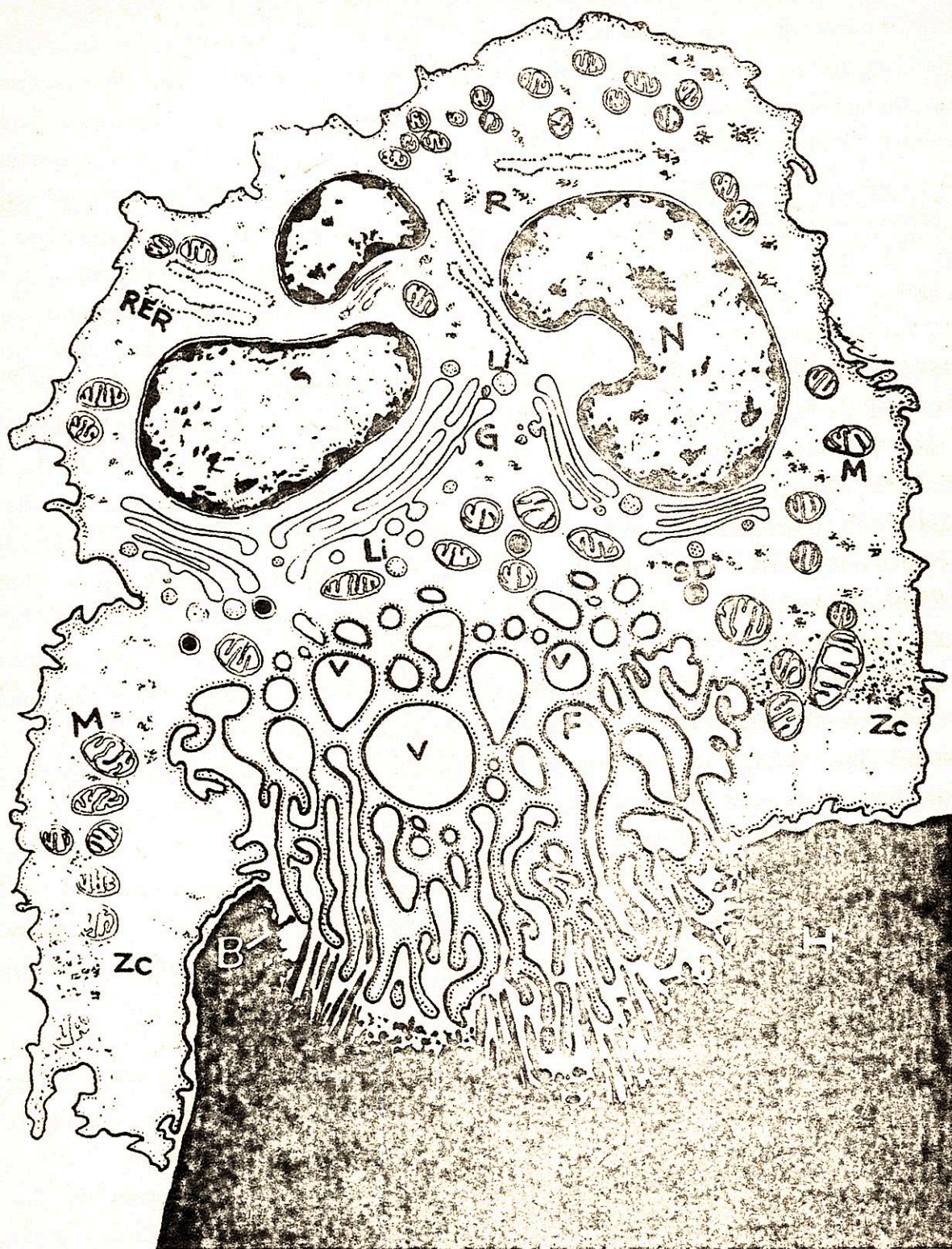


FIGURA 3.-

2.2.2.1.3. - zona clara.

Una cierta área de la membrana celular, adyacente al borde fruncido y que lo rodea completamente, presenta un aspecto liso. Inmediatamente por debajo de esta parte de la membrana se observa una capa de citoplasma periférico de aspecto finamente granular, que no presenta organelos y que se destaca nítidamente del citoplasma más profundo, que sí los presenta. Ha sido propuesto el nombre de zona clara para esta región muy particular del citoplasma osteoclástico. (ver fig. 3). En ella se ha observado un material fino, granular y microfilamentos de naturaleza similar a la actina orientados perpendicularmente a la superficie. La significación de estos microfilamentos no está demostrada, pero tal vez convendría recordar, desde el punto de vista de la citología general, que la contracción de microfilamentos de actina y miosina que se encuentran exactamente por debajo de la membrana celular, tiene por efecto invaginar esa membrana en una de las etapas del proceso de endocitosis. Por otra parte, se ha sugerido que la particular disposición de esos microfilamentos en la zona clara podrían contribuir a estabilizar la membrana celular en el sitio donde la cara activa se relaciona con el hueso. Esa estrecha vecindad -- con el frente de desmineralización ha permitido sospechar que existe un aparato de unión de la célula con la superficie ósea. En ese sentido se han obtenido evidencias indirectas de que la zona clara y el borde fruncido están implicados como sitios de adhesión al hueso en reabsorción. Así esta zona podría ayudar a sellar el sitio de reabsorción bajo el borde fruncido durante la actividad celular. (Si así fuera, pensamos que tal dispositivo contribuiría a crear un microambiente químico localizado, que permita la eficacia de la actividad celular a través del borde fruncido).

Analizando con microprobeta electrónica el contenido relativo de Ca y P en el hueso subyacente a osteoclastos activos, se ha comprobado que el nivel de esos elementos inmediatamente en contacto con la región del borde rugoso, contado en una profundidad de 2 a 4 μ , es del 30 a 70 % más bajo que aquel subyacente a las áreas de la zona clara. El efecto desmineralizante de la actividad osteoclástica se comprueba predominantemente debajo del borde fruncido y no de la

zona clara.

Si bien ha sido propuesto que ese sellado periférico implicaría una completa adhesión de esta zona del citoplasma al hueso, no se han encontrado evidencias morfológicas ultraestructurales de uniones especializadas de membrana. En cambio, se observó que entre la zona clara y el frente de desmineralización media un pequeño espacio. Tal separación, sin embargo, no es total y, en algunas áreas, se vio que ese espacio está parcialmente obliterado. De todos modos, estas proposiciones deberían ser examinadas teniendo en cuenta el alto grado de actividad motriz del osteoclasto, tal como ha sido puesto de manifiesto por la cinemicrografía. (134) (138) (69) (82) (131) (123) (38) (133).

2.2.2.1.4. - mitocondrias.

Más profundamente, entre la cara activa del osteoclasto y las imágenes nucleares que nos proporciona la microscopía electrónica se observan muy abundantes mitocondrias. (126). Respecto al tamaño de este organoide, sería comparativamente corto. (28) Ver fig. 3.

2.2.2.1.5. - retículo endoplásmico rugoso.

El retículo endoplásmico de superficie rugosa sólo es manifiesto en el citoplasma de la faz opuesta a la cara activa del osteoclasto. (56). Algunas observaciones establecen que no siempre se le encuentra con un aspecto bien desarrollado. (59). En cambio, se observan acúmulos de ribosomas libres dispersos en el citoplasma entre las mitocondrias y vacuolas. (28) (Ver fig.3). Otras opiniones, según las cuales un abundante RER caracteriza morfológicamente a los osteoclastos activos (51), debieran analizarse confrontándolas con las observaciones realizadas en el microscopio óptico, donde no se constata la basofilia citoplásmica propia del ergastoplasma.

2.2.2.1.6. - aparato de Golgi, lisosomas e histoenzimología.

En estrecha proximidad con los núcleos son evidentes sáculos apilados que conforman un aparato de Golgi bien desarrollado. El mismo se muestra activo y vesículas en fase de desprendimiento son captadas por el microscopio electrónico. Estas vesículas pueden ser liso-

somas primarios y se visualizan como pequeños gránulos oscuros en la proximidad de la cara madura del complejo. Otras vesículas más grandes y vesículas cubiertas con túnica vellosa, originadas en el aparato de Golgi, también son descritas. (59) Ver fig.3.

A pesar que se ha afirmado que los lisosomas son relativamente raros en los osteoclastos (139), muchos fermentos lisosomales han sido puestos de manifiesto en estas células gigantes multinucleadas, a las que se reconoce como de alta actividad enzimática. (49) (60). Fundamentalmente actuarían dos tipos de enzimas: hidrolíticas y deshidrogenasas. (34).

Pero lo que en realidad interesa es que esas enzimas estén presentes en cantidades operantes. Esta afirmación merece ser tomada en cuenta porque en relación al aspecto cualitativo ha sido señalado que, con técnicas adecuadas, pueden detectarse todas las enzimas conocidas en cualquier célula. (112) (49).

Se ha discutido mucho, por ejemplo, si la fosfatasa alcalina es propia de los osteoblastos y la fosfatasa ácida de los osteoclastos. Hay quienes, en molares temporarios de "guinea pigs", en fase de resorción radicular, observaron osteoclastos en lagunas de Howship que mostraron alta actividad para la fosfatasa ácida y fueron reactivamente negativos para la fosfatasa alcalina. (158). Pero hay trabajos que ponen de manifiesto que la fosfatasa alcalina en el hueso es de significación tanto en superficies reabsortivas como aposicionales. En cuanto a la fosfatasa ácida también se la encuentra presente en osteoblastos y osteoclastos, pero en las células formadoras de hueso su proporción es muy baja, mientras que en las superficies reabsortivas se le encuentra en cantidades importantes. (162).

El aspecto cuantitativo enzimático decide pues la dirección que ha de seguir el proceso. La graduación de las reacciones que se manifiestan en osteocitos, osteoblastos y osteoclastos se interpreta como el reflejo de una herencia celular común. Siendo la necesidad de adaptarse a los requerimientos funcionales, la que determina los distintos grados de actividad en esas células. (49). El concepto admite tal vez, un matiz, ya que ha sido señalado que la fosfatasa ácida - producida por los osteoclastos es distinta de la encontrada en otras

células óseas y en ese sentido puede ser considerada, incluso, un marca dor específico celular. (22) (104).

La presencia de la fosfatasa ácida en los osteoclastos parece ser universalmente aceptada. Ha sido puesta de manifiesto en dentinoclastos de dientes temporarios y dientes permanentes (63) y en hueso de ra tas fueron purificadas y caracterizadas dos enzimas responsables de toda la actividad fosfatásica ácida en ese tejido: E1, que actúa sobre los ésteres monofosfato; E2 que actúa sobre los di y trifosfatos (6). Al mismo tiempo, sirve como prueba indirecta la observación de que la fosfatasa ácida ósea no es histoquímicamente demostrable en el hueso osteopetrótico de la rata mutante tl (carece congénitamente de resorción ósea). En este tema no debe ser confundida la fosfatasa ácida osteoclástica con la fosfatasa ácida sérica, cuyas actividades parecen ser mutuamente independientes (29).

Se han detectado otras hidrolasas ácidas y en cultivos de tejidos con actividad resorptiva, se ha visto que tal fenómeno se acompaña con la liberación, al medio de cultivo, de seis hidrolasas ácidas lisosomales (159).

En el grupo de las dehidrogenasas, la correspondiente al ácido suc cínico sería la más específica hallada. (137). La dehidrogenasa succínica y otras dehidrogenasas han sido comunicadas en numerosos trabajos (49). Malato dehidrogenasa y lactato dehidrogenasa mostraron alta actividad en odontoclastos de molares temporarios en resorción. (158).

En osteoclastos de hueso medular, durante la calcificación de la cáscara de huevos, ha sido localizada, en microscopía electrónica, lac tatodeshidrogenasa a lo largo de membranas de varios tipos de vesículas. Algunas de estas vesículas, posiblemente originadas en el aparato de Golgi y fusionadas con fagosomas, contenían cristales óseos. Por estos resultados, la presencia de lactodeshidrogenasa parece ser un fenómeno dependiente de la actividad osteoclástica. (153).

Asumiendo que las enzimas presentes en los lisosomas son capaces de actuar en la hidrólisis de la matriz ósea, se hizo notar que la ú nica enzima esencial para la degradación del componente orgánico que no había sido encontrada en ese organoide era la colagenasa. (135). Sin embargo, actualmente se da por demostrada la participación de la

enzima collagenasa en el proceso de resorción ósea, aunque ella no parece estar contenida en los lisosomas del osteoclasto.

Utilizando procedimientos de inmunofluorescencia indirecta en cultivos de hueso en reabsorción no se han localizado cantidades significativas de esa enzima en el osteoclasto. (136).

2.2.2.2. Núcleo.

El número de núcleos que puede contarse en un osteoclasto está limitado, lógicamente, por el tamaño de la célula que los contiene. Su exacta apreciación debe surgir del estudio de cortes practicados en serie. En cuanto a la posible significación del número de núcleos en una célula osteoclástica se ha correlacionado dicho número con la capacidad funcional celular (37). En ese sentido, se ha sugerido que la actividad resorbente de los osteoclastos está en relación a su configuración multinucleada de célula gigante (41). Se ha probado que bajas dosis de parathormona, inyectada intravenosamente, en felinos cuyos dientes temporarios estaban en el período de resorción, provocó un rápido incremento en el número de núcleos de los odontoclastos. El mismo resultado se obtuvo respecto a los osteoclastos (1). En nuestros preparados, observados a mayor aumento o inmersión, el aspecto de los núcleos de un mismo osteoclasto, revela evidentes semejanzas entre ellos.

Por otra parte, las variaciones constatables en la morfología nuclear entre una y otra célula no hacen más que responder a las mismas reglas aplicables a las restantes células de la economía.

Es decir: a) núcleos voluminosos y, por tanto, con membrana nuclear lisa, aspecto claro, que permite distinguir uno o dos nucleolos, dado por la eucromatina y que denota cromosomas funcionales, son signos de un núcleo activo en la dirección de la síntesis proteica. b) núcleos más pequeños, membrana nuclear contraída y aspecto picnótico, por su cromatina condensada, indican envejecimiento celular.

Según algunas descripciones, podríamos hacer corresponder un núcleo claro y voluminoso con citoplasma claro y vacuolizado, mientras que las células de núcleo picnótico presentarían citoplasma granuloso u homogéneo con acidofilia muy marcada (34).

La envoltura nuclear del osteoclasto presentaría diferencias res

pecto a la de otras células óseas. La lámina fibrosa nuclear, última estructura de la envoltura nuclear en ser reconocida por la ME, también conocida como zona limitante nuclear o lámina densa interna, es una capa de hasta 800 Å de espesor, amorfa o finamente texturada, moderadamente electrodensa y aplicada directamente en la superficie externa de la membrana nuclear interna. Esta estructura podría observarse en la envoltura nuclear del osteoblasto, osteocitos y células osteoprogenitoras, pero no en la de los osteoclastos (122).

Los osteoclastos no sintetizan ADN. (114) (59), y por tanto no se han observado figuras mitóticas en sus núcleos. (59) Son, por consiguiente, incapaces de dividirse y multiplicarse. Estos hechos nos ponen frente al problema del origen de los osteoclastos.

2.2.3. Origen.

Si los osteoclastos no pueden autorreplicarse y tenemos en cuenta su característica multiplicidad de núcleos, parece lógico admitir: A) que se originan de otro u otros tipos celulares; y B) que es necesario se fusionen varias células para dar un osteoclasto.

Como era de esperar, el problema se ha discutido en armonía con el origen de todas las células que forman el tejido óseo. En tal sentido, el único punto sobre el que hay acuerdo es la naturaleza conjunta que distingue a las células precursoras de osteoblastos, osteocitos y osteoclastos, así como a los componentes del periostio, endostio y médula.

En la actualidad, pese a los intensos estudios que se vienen realizando, no existe una teoría fundada en hechos definitivamente probados. Las investigaciones se orientan en dos grandes sentidos:

A) la histogénesis de todas las células óseas reconoce, en su origen, un tipo celular común.

B) Los osteoblastos y osteoclastos proceden de líneas celulares distintas.

Analizaremos ambas proposiciones.

A) "Células osteoprogenitoras", de naturaleza mesenquimatosa, poseerían una bipotencialidad para modularse en osteoblastos u osteoclastos en función de la inducción recibida. La modulación en uno u otro

tipo celular surge, pues, como una especialización funcional cuyo carácter es temporario puesto que se admite la reversibilidad del proceso (166)

También se ha propuesto que células osteógenas y osteoblastos se fusionan, por un mecanismo aún no determinado, para formar osteoclastos (59).

B) Se admite la existencia previa de preosteoblastos y preosteoclastos. Con autorradiografías de tibia fetal de ratas y microscopía electrónica se muestra que las células formadoras del hueso están, de hecho, diferenciadas perteneciendo ya a dos grupos celulares distintos (141).

Los preosteoblastos están caracterizados ultraestructuralmente por grandes inclusiones citoplásmicas de glucógeno (124), abundante retículo endoplásmico y otros aspectos típicos de células que se preparan a sintetizar proteínas (141).

Los preosteoclastos han sido identificados y caracterizados en tibia y calvaria fetal de rata y en tejido periodontal de mono con periodontitis provocada. Se les describe:

- 1) Próximos a osteoclastos, en el periostio, cerca o sobre la superficie ósea pero sin contactar con ella.
- 2) Uno o dos núcleos por célula y alta relación núcleo citoplasmática.
- 3) Ribosomas libres y abundantes mitocondrias, aspectos que evocan fenómenos de fagocitosis.
- 4) Muy poco retículo endoplásmico rugoso.
- 5) Gránulos densos, predominantemente circulares o tubulares en menor proporción, conteniendo una matriz interna densa rodeada por un halo claro. (Los osteoclastos también presentan gránulos circulares de sustancia densa. Ver fig. 3. Si se resalta la importancia de este aspecto es porque, con características similares él se observa en los monocitos, que han sido mencionados como posibles precursores potenciales de osteoclastos. En los monocitos sanguíneos de rata se han demostrado los gránulos por coloración positiva para catalasa y, por tanto, se considera de interés realizar tal comprobación para preosteoclastos y osteoclastos).

Ultraestructuralmente los preosteoclastos se distinguen de los osteoclastos activos por : a) carecer de borde rugoso, b) no presentar la zona clara enfrentada al hueso y c) aparato de Golgi perinuclear incompleto.

La fusión de estas células precursoras originaría osteoclastos. Estos son células finales que luego diferencian su citoplasma para adquirir su especialización. (141) (124) (125). En estudios "in vivo" e "in vitro" de calvaria fetal de rata se encontró que células mononucleares, cuya ultraestructura responde a las cinco características antes enunciadas, pueden ser preosteoclastos. Allí se observó un incremento de osteoclastos bien caracterizados que parecen haberse diferenciado a partir de esas células (40).

A partir de las observaciones precedentes se han detectado, con microscopía fotónica, preodontoclastos en dientes temporarios humanos sometidos a resorción interna. Se les describe como células mononucleares y binucleadas, siendo la forma y tamaño del núcleo de apariencia idéntica a la que muestran los odontoclastos. Las similitudes con estos últimos, también comprenden al citoplasma debido a las granulaciones que presenta. La presencia de células binucleadas, si bien sólo se observaron ocasionalmente, refuerza el criterio morfológico con el cual se intenta establecer su carácter de célula precursora. Las células consideradas preodontoclastos se localizaron ampliamente en las áreas de resorción activa del diente temporario, aunque pueden ser localizadas, también, en otras áreas. (57).

Hace algún tiempo fue postulado que los odontoclastos son células provenientes "de elementos retículo-endoteliales, histiocitos locales o migratorios atraídos al contacto de las superficies a reabsorber a partir de los vasos" (23). Tal observación mantiene su validez en lo esencial, pues sólo ha variado el concepto con el que actualmente se encara el Sistema Retículo Endotelial (S.R.E.).

2.2.3.1. Sistema fagocitario mononuclear

Los elementos celulares que colonizan diversos órganos reunidos en la concepción de un S.R.E. han sido sometidos a revisión, justificándose que ahora hablemos de un Sistema Fagocitario Mononuclear (11) (116) tal como fue propuesto en el Congreso de Leyde, 1969, de la O.M.S. (93) (27)

Recientes adquisiciones, emergentes de estudios sobre tejido mieloide, permitieron postular que la médula ósea está compuesta por dos

sistemas celulares bien diferenciados:

1) el sistema estromal y 2) el sistema hematopoyético.

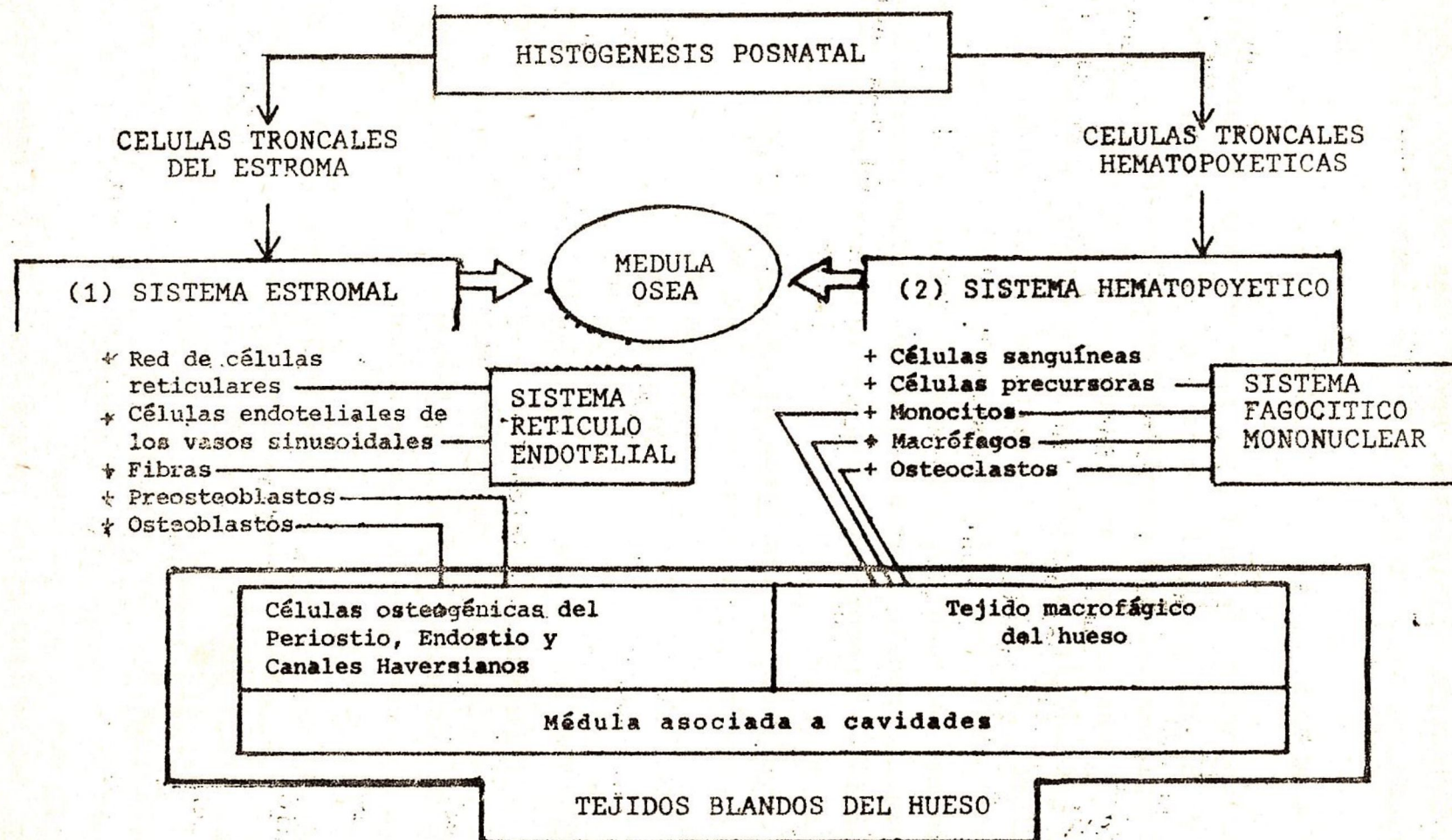
Cada sistema, que está compuesto por una variedad de células, procede de células troncales distintas en el organismo posnatal, lo que las hace histogenéticamente diferentes. Los preosteoblastos y osteoblastos se caracterizan como perteneciendo al Sistema Estromal. En cambio se da por probado que los osteoclastos derivan de células troncales hematopoyéticas y participan de un denominado Sistema Fagocítico Mononuclear. (113). Las células pertenecientes a este sistema tienen una participación variable en la degradación de la matriz ósea. (70).

Analizar el cuadro I.

Varios autores han hecho notar que el grado y la calidad de la actividad enzimática manifestada por las células gigantes multinucleadas es remarcablemente similar al mostrado por los osteoclastos. (49). Dentro de esa similitud, cabe destacar que fagocitos mononucleares en cultivo peritoneal, si bien han mostrado actividad fosfatasa ácida durante la resorción, esa actividad exhibió características particulares que las distinguen de aquellas observadas en los osteoclastos. En éstos, presentan resistencia a la inhibición por el tartrato de sodio, mientras que en los fagocitos mononucleares, la enzima es tartrato inhibitable. (22) (110).

Aunque se considera que aún no está probado que los osteoclastos son formados principalmente a partir de los macrófagos de la médula o de monocitos circulantes (113), hay muchas evidencias de que estos pueden diferenciarse en células gigantes multinucleadas con características morfológicas e histoquímicas similares a los osteoclastos, condroclastos y odontoclastos. (150) (30) (96).

De hecho, los macrófagos pueden exhibir características morfológicas y funcionales que admiten comparación con las clásicas células destructoras de tejidos mineralizados. Macrófagos estudiados en cultivos de matriz ósea desvitalizada adquieren algunas de las características del osteoclasto: a) elevado número de mitocondrias, b) pequeñas vacuolas, c) interacciones de la membrana celular con la matriz ósea, d)



(Esquema realizado en base a la descripción de Owen, 1978)

fagocitosis de matriz calcificada. Pero, esas células no desarrollaron bordes estriados ni se mostraron multinucleadas. (110).

2.3. MODO DE ACCION.

La resorción de un tejido mineralizado se caracteriza por una pérdida total de sustancia. Es decir: matriz orgánica, cristales minerales y protoplasma celular pierden su organización tisular y son biodegradados. En esas circunstancias es que se realiza, generalmente, el diagnóstico histológico de resorción. Sin embargo el proceso, para iniciarse requiere, previamente, la instalación de ciertos acontecimientos de incidencia local, del orden celular, químico y humoral. Por otra parte, debe tenerse en cuenta que la resorción, una vez iniciada, no se desarrolla como un proceso continuo sino que procede por ciclos. Los períodos de actividad resorbente son seguidos por otros de reposo y, aún de reparación tisular.

Se ha propuesto que las Fases de la Resorción Osea estarían secuenciadas en cuatro instancias: 1) Activación

2) Resorción

3) Reversión

4) Formación

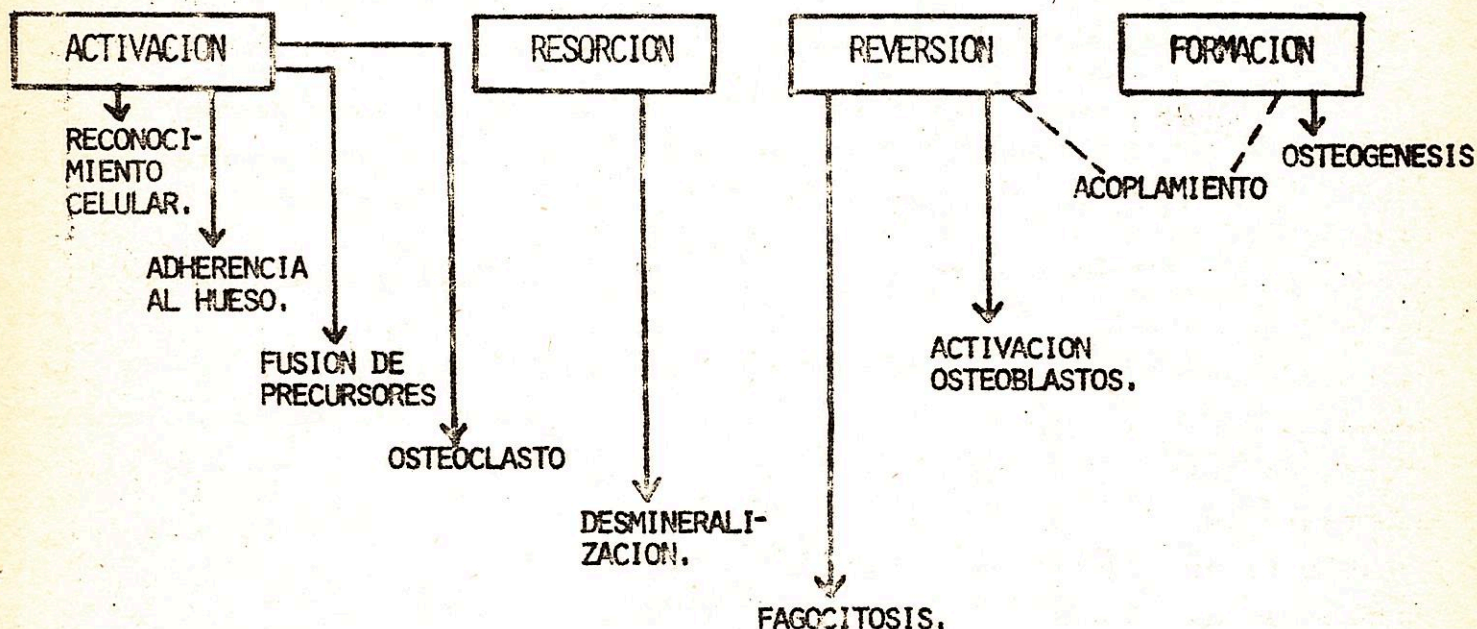
* Activación. Implica el previo reconocimiento celular del terreno; adherencia de las células a la superficie mineralizada y fusión de los precursores de osteoclastos. En esta fase se observa la aparición de fosfatasa ácida y la diferenciación morfológica de fagocitos mononucleares que conduce a la formación de osteoclastos multinucleados funcionales.

* Resorción. Es la fase que provoca la desintegración del tejido mineralizado (y que más adelante analizamos detenidamente).

* Reversión. Etapa altamente fagocítica, rica en fosfatasa ácida, con células fagocíticas mononucleares que, progresivamente, son reemplazadas por osteoblastos, lo cual implica una señal de activación para esta célula. De esta forma, en esta fase se realiza un acoplamiento con la que la sigue.

* Formación. Los osteoblastos forman nueva matriz ósea. (14) Cuadro II.

CUADRO II



Respecto al mecanismo de acción que opera en la fase de resorción no hay, por el momento, consenso universal en torno a una teoría unificada que lo explique satisfactoriamente.

Tomando en cuenta que la histogénesis de un tejido duro pasa por las etapas sucesivas: 1) diferenciación celular 2) elaboración de una matriz calcificable y 3) cristalización intra y extra fibrilar de iones minerales en un sistema de apatitas, ¿las etapas de desintegración de ese tejido, recorrerán un camino inverso al de su formación?

Como quiera que sea, la osteoclasia supone, tal vez en este or-

den, disolución de la fase mineral y catabolismo del componente orgánico. Por consiguiente, la teoría de la osteoclasia debe explicarnos de que modo se produce la degradación y subsecuente asimilación de:

sales minerales

sustancia fundamental

fibras colágenas

células del tejido mineralizado

A continuación intentamos ordenar las evidencias que se han ido acumulando en los últimos años sobre este tema que, evidentemente, preocupa a muchos investigadores.

2.3.1. Agentes de osteoclasia.

Siendo que hemos considerado al osteoclasto como agente típico del proceso, cabe preguntarse si puede responsabilizarse únicamente a ésta célula de una función tan compleja como la que requiere el cumplimiento de toda esa actividad lítica.

Las observaciones histológicas ponen de manifiesto que otros elementos celulares aparecen frecuentemente en los campos de osteoclasia. Especialmente células mononucleares de origen sanguíneo: monocitos y linfocitos. (35) (114). Se ha demostrado que ellas tienen un efecto positivo y directo sobre osteoclastos y reabsorción ósea, ya sea por elaboración de algún factor local o por transformación dentro de los osteoclastos. Incluso se ha comunicado que monocitos humanos participan directamente en la resorción de hueso. (96) (107).

Otros han concluido que el hueso en reabsorción posee un factor quimiotáctico vinculado a los fagocitos mononucleares y cuya relativa actividad estaría relacionada al grado de reabsorción ósea (117). En efecto, parece demostrado que los subproductos del catabolismo óseo en la osteoclasia y específicamente uno de ellos, la osteocalcina, tienen efecto quimiotáctico sobre las células circulantes mononucleares. (108) (78).

El examen morfológico de los acontecimientos celulares que preceden y siguen a la osteoclasia, en el remodelamiento óseo de la rata, muestra la participación de fagocitos mononucleares asociados con es-

pículas óseas calcificadas. Se los observa emitiendo pseudópodos entre las células que cubren las superficies óseas. En los procesos mencionados aparecen, constantemente, "coated pits" que se interpretan como la evidencia de procesos de endocitosis mediada por receptores asociados con espículas óseas. Se trataría, pues, de un mecanismo de reconocimiento específico para ese tejido, que es puesto en evidencia por los llamados "coated pits".(14) Este hecho morfológico no lo podemos dejar de vincular, de algún modo, con las "vesículas con cubierta" que se forman por invaginación de la membrana celular durante el proceso de endocitosis.(33).

Cada vez son mayores las pruebas que se aportan y que permiten sustentar el concepto de que los macrófagos están involucrados de alguna manera, en la reabsorción ósea (54). Sin embargo, la significación de este tipo celular en la biología del hueso parece tener un alcance más amplio. La localización de macrófagos perivasculares tanto en áreas de reabsorción como de neogénesis ósea los identifican como un participante significativo en el proceso total de remodelado. (36). Los acontecimientos celulares que sustentan el acoplamiento entre fenómenos de reabsorción y aposición ósea tendrían en los fagocitos mononucleares a un tipo celular que parece participar no sólo en la reabsorción sino también en la fase de reversión de la secuencia de remodelado óseo. (154). Como quiera que sea, el monocito aparece insistentemente vinculado a la reabsorción ósea en las investigaciones actuales, y siendo este proceso lítico parte del remodelado, aquella célula, en alguna medida, también forma parte de éste. De tal manera, el remodelado óseo se debería a una interacción celular que requiere la participación de diversos tipos celulares: preosteoblastos, osteoblastos, monocitos y osteoclastos. Esa interacción es tal que se ha llegado a sugerir que la osteoclasia sería un estímulo local para la activación de osteoblastos, aunque no sea la única causa de ello. Tal efecto supone la acción conjugada de osteoblastos y osteoclastos que se lograría por acoplamiento local de los mismos (121). Además por el hecho de ser estrechamente vinculados con los osteoclastos, los osteoblastos aparecen también relacionados, en cierta medida, a los fenómenos de reabsorción. Se sugiere un rol intermediario de los osteoblastos en la

resorción, por su posible participación en el agrupamiento de precursores de osteoclastos.(79). Recientemente se ha hipotetizado sobre el posible compromiso de los osteoblastos en el control hormonal de la resorción ósea. En esa hipótesis se pretende explicar el hecho confuso de que los osteoblastos parecen ser células blanco de paratohormona *, PGE y 1.25 (OH)₂ D₃, que son sustancias que activan la resorción del hueso.

La hipótesis consta de tres considerandos:

1) Morfológicamente, la superficie del hueso está tapizada por una barrera de osteoblastos que la aíslan de los osteoclastos inactivos, restringiendo de esta manera su función. La parathormona induce cambios en la forma del osteoblasto, logrando que queden más separados entre sí y creando, de tal manera, brechas en la capa que formaban. Así la matriz ósea queda expuesta en algunos sitios y al alcance de los osteoclastos que estaban en reposo. La digestión de la matriz por la célula osteoclástica libera, entre otros subproductos, osteocalcina que ejerce un efecto atractivo sobre los monocitos, precursores de más osteoclastos y, tal vez, sobre osteoclastos en reposo.

2) Las antes mencionadas hormonas, que tienen acción sobre los osteoblastos, también ejercerían una acción quimiotáctica sobre los osteoclastos. Ver fig. 4.

3) La inhibición hormonal de las funciones anabólicas del osteoblasto (síntesis de colágeno, actividad de la fosfatasa alcalina) impiden la neogénesis que, en una escala de tiempo más larga, influye en el balance de reabsorción. (115).

Las similitudes entre osteoclastos y monocitos antes reseñadas, no significan que en su comportamiento, características morfológicas e histoquímicas, los fagocitos mononucleares sean iguales a los osteoclastos. Estos por ejemplo, no poseen como aquellos, superficies receptoras para antígeno y complemento y otras características las comparten sólo parcialmente. Respecto a la localización de lactatodehidrogenasa en macrófagos, en cultivo peritoneal, ella muestra gran similitud con la de los osteoclastos pero sólo se hace evidente en los macrófagos, después de la fagocitosis de hidroxipatita (152).

* ver pág. 39.

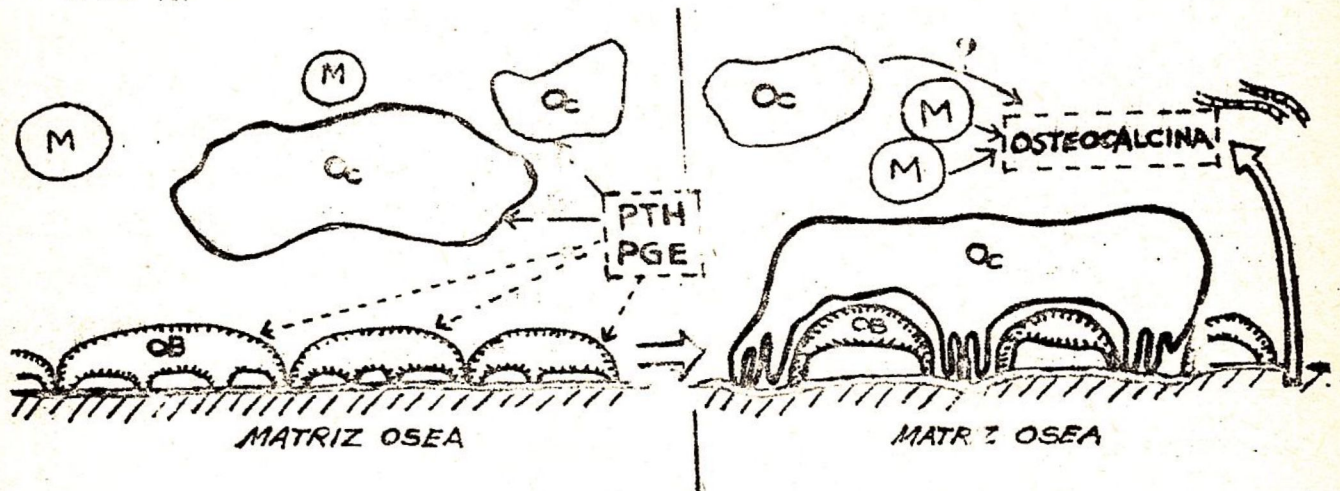


FIG.4.- REPRESENTACIÓN ESQUEMÁTICA DE LA HIPÓTESIS QUE CONSIDERA A LOS OSTEÓBLASTOS COMPROMETIDOS EN LA RESORCIÓN ÓSEA ESTIMULADA HORMONALMENTE.
(TOMADO DE G... RODAN AND T.J.MARTIN (23), CON MODIFICACIONES)

OC - OSTEÓCLASTO OB - OSTEÓBLASTO M - MONOCITO
PTH - PARATHORMONA PGE - PROSTAGLANDINA

En respuesta a la estimulación por endotoxinas bacterianas, inmunocomplejos y linfoquinas, los macrófagos parecen ser capaces de producir PGE, CAMP y una collagenasa que participaría en la degradación colágena de los tejidos periodontales enfermos. (53)

En el mismo sentido y en base a datos morfológicos-bioquímicos sobre reabsorción ósea se sostiene la hipótesis de que monocitos de origen sanguíneo podrían ser un tipo de célula relacionada con ese proceso y que puede ser modulada en su acción por agentes asociados con la reabsorción fisiológica e inflamatoria. (30) (165)

Anteriormente habíamos señalado que la collagenasa, esencial para la hidrólisis de las fibras colágenas y cuya participación en la reabsorción ósea se ha probado, no se ha localizado en el osteoclasto en cantidades significativas. Recientemente se ha comunicado que fueron identificadas células mononucleares sanguíneas como responsables de la producción de esa enzima en cultivos celulares. (147). Este hallazgo parece favorecer la hipótesis de que la reabsorción ósea osteoclástica es un proceso que requiere la actividad de dos tipos celulares diferentes: osteoclastos y células mononucleares. Respecto a las últimas se presentó evidencia que las responsabiliza de la degradación de las fibrillas colágenas previamente desmineralizadas por acción de los osteoclastos. (65).

2.3.2. El terreno.-

Significativamente, no se encuentran osteoclastos en relación con tejido osteoide. (59). La observación de osteoclastos activos los muestra siempre en relación a tejido mineralizado. Incluso, algunas observaciones indican que la diferenciación osteoclástica es iniciada por contacto con la matriz ósea mineralizada. (79) De hecho, existe una selectividad del osteoclasto para los tejidos mineralizados. Ello permitiría suponer que los osteoclastos se diferencian en respuesta a factores asociados, únicamente, con un medioambiente calcificado. De allí que se haya enfatizado la importancia de la matriz ósea como sustrato en la diferenciación de los osteoclastos y las células gigantes. (86).

El ámbito de los procesos catabólicos comprende los compartimientos intra y extracelulares que intercambian sus productos por endo y exocitosis.

2.3.3. Desmineralización.-

Sería la primera etapa del proceso y su agente el osteoclasto, que actuaría por exocitosis.

Un importante número de observaciones conduce a la convicción de que el osteoclasto actúa inicialmente sobre el componente mineral, solubilizando sus sales, que luego pasan a los líquidos extracelulares que lo rodean. Anteriormente habíamos mencionado la existencia de fibrillas colágenas parcial y totalmente desmineralizadas en la vecindad del osteoclasto, lo cual parece probar aquella convicción.

Como hay acuerdo respecto a que la actividad reabsortiva está asociada con procesos celulares que implican aumento de la glicolisis aerobia, la liberación al medio de hidrogeniones, resultante de esa actividad, sería responsable de la caída del pH en los sitios de reabsorción activa (161). Esa secreción local de H^+ estaría regulada por la anhidrasa carbónica ya que las sustancias que la inhiben suprimen la reabsorción inducida en cultivos tisulares. (87) En osteoclastos activos se localiza ultraestructuralmente la anhidrasa carbónica en las regiones interior y exterior del borde rugoso, así como en relación a los lisosomas intracelulares.

Dicha posición parece destinada a contribuir a la secreción ácida así como participar, extracelularmente, en la disolución mineral por un mecanismo de intercambio iónico. (7) La creación de un ambiente local ácido por debajo del borde rugoso del osteoclasto tendría que ser necesariamente tamponado por las sales óseas de los cristales de hidroxapatita, que se harían, por ello, más solubles en el líquido intersticial. (59)

2.3.4. Despolimerización de la sustancia fundamental .-

La acción desmineralizante del ácido orgánico, resultante del metabolismo del osteoclasto, expone los componentes de la matriz del tejido al ataque enzimático.

En esta segunda etapa el osteoclasto, por exocitosis, volcaría al medio las hidrolasas lisosomales capaces de degradar la sustancia fundamental. Así se estableció la presencia de hialuronidasa, glucosaminidasa y glucorimidasa β durante el proceso, las que afectarían a los mucopolisacáridos de la matriz orgánica. (59) (160) La estrecha relación de los glucosaminglicanos con el colágeno, de tan preponderante participación en la constitución de los tejidos dentales, es natural que la previa degradación de aquellos li-

bera al colágeno de su enmascaramiento, exponiéndolo a la acción enzimática.

Dientes temporarios humanos en estado de resorción fisiológica han mostrado actividad enzimática de mucopolisacaridasa localizada en la pulpa dental y en áreas de población de fibroblastos de los tejidos periodontales. Las técnicas histoquímicas practicadas pusieron de manifiesto que la enzima era capaz de degradar ácido hialurónico, condroitín-4 sulfato y condroitín-6 sulfato. (3) (4).

En el ligamento periodontal de rata se identificó, intracelularmente, hidrólisis de glucosaminoglicanos (componente de la estructura básica de los mucopolisacáridos) por una glucoaminidasa. La reacción fue detectada en osteoclastos, osteoblastos, fibroblastos y macrófagos. (36).

El desalojo de las sales óseas y la digestión de la sustancia fundamental desenmascaran las fibrillas colágenas, produciendo un desmoronamiento local del tejido. En esas circunstancias, el aspecto que presentan las fibrillas, cuando se observan cortes histológicos al microscopio fotónico, podría ser el responsable de estriaciones que, erróneamente, se adjuricaron antes al osteoclasto. (59). Es muy probable que colágeno de tipo I sea liberado de la matriz ósea durante la resorción. (79)

2.3.5. Destino del colágeno.-

Actividad collagenolítica fue puesta de manifiesto incubando el tejido de granulación conteniendo odontoclastos (el llamado "órgano reabsorbente" de Tomes) que es esencial en la rizólisis de los dientes temporarios. (106)

Las enzimas lisosomales encuentran un medio apto para su acción sobre la matriz, por la previa acidificación del medio por los ácidos orgánicos, también segregados por el osteoclasto. La degradación inicial se realiza en el compartimiento extracelular. Allí las proyecciones citoplásmicas del borde fruncido se ven muy móviles entre las fibrillas colágenas desmineralizadas. (87) Luego los fragmentos resultantes del catabolismo son incorporados al citoplasma y llevados a su destino final, por los mismos factores lisosomales.

les en las vacuolas digestivas (*).

Esta interpretación de los hechos no toma en cuenta que no han sido reportados fibrillas colágenas dentro de las vacuolas citoplásmicas (65) ni considera la acción de la colagenasa, (una metaloproteínasa neutra indispensable en la hidrólisis del colágeno). En efecto, la degradación "in vivo" de la colágena parece sugerir la acción inicial de la colagenasa. (147) Y se han aportado pruebas de que la inhibición específica de la misma modula la función osteoclástica. (73) (74) Estos hechos permiten, ahora, comprender mejor el catabolismo de la matriz de los tejidos calcificados. La colagenasa se encuentra normalmente en el tejido periodontal y está incrementada en la gingivitis. Análisis bioquímicos de los ligamentos periodontales, de dientes temporarios humanos en resorción, mostraron actividad colagenolítica a la que se responsabiliza, en parte, de la resorción fisiológica. Concomitantemente, esos dientes mostraron que el contenido total de hidroxipatita de la dentina era 43% más bajo que en dientes temporarios no sometidos a resorción. (4)

Esta enzima, como vimos antes, no está contenida en cantidades operantes en el osteoclasto. Se responsabiliza de su síntesis a otras células que, secundariamente, intervendrían en el proceso volcándola al medio extracelular.

Allí se produciría el clivaje inicial de la molécula de colágeno nativo de triple hélice en dos fragmentos diferentes (131). Si estos, posteriormente, pueden ser digeridos intracelularmente por las proteasas lisosomales del osteoclasto, es algo que se discute.

2.3.5.1. Degradación fibroblástica y epitelial del colágeno.-

En relación a la colagenolisis, otros elementos celulares se han hallado responsables de fagocitar y degradar colágeno. Fibroblastos del ligamento periodontal, asociados con resorción ósea osteoclástica, han mostrado en esa situación, actividad incrementada y fibrillas colágenas intracelulares o citosegregadas pero que aparentan estar contenidas en el aparato lisosomal de la célula (50).

(*) Se discute el mecanismo de incorporación del osteoclasto. Para unos sería la fagocitosis, mientras que algunas experiencias sugieren que la absorción se realiza por medio del "Flujo de membrana".

Asimismo se han comunicado observaciones de fibroblastos en áreas de activo remodelado del tejido conjuntivo de alvéolo dentario de ratas en vías de cicatrización. La microscopía electrónica mostró una íntima asociación entre vacuolas que exhibían un contenido colágeno y gránulos lisosomales, hallazgos que proveen evidencia adicional de que los fibroblastos fagocitan las fibras colágenas (39). En dientes temporarios humanos los fibroblastos del ligamento periodontal son responsabilizados por actividad colagenolítica, cuando esos dientes están en estado de resorción fisiológica. (4) In vitro, la actividad colagenolítica resultó de la fagocitosis de fibrillas colágenas por los fibroblastos (128). Otros autores, también asignan potencial catabólico a los fibroblastos del ligamento periodontal, llamándolos fibroblastos-fibroclastos. (45)

Por otra parte un estudio para testar la capacidad de células epiteliales de los restos celulares de Malassez, para fagocitar colágeno "in vitro" demostró que podían hacerlo y además asimilarlo. (20) Los cultivos de esas células epiteliales han producido sustancias mediadoras de reabsorción ósea como la prostaglandina y colagenasa latente. Concomitantemente otros tipos celulares han demostrado capacidad para liberar factores de reabsorción ósea in vivo. De tal modo se sugiere que, bajo condiciones apropiadas, un efecto osteolítico directo puede ser estimulado por tejidos próximos al hueso "in vivo" (21) (89).

2.3.5.2. Regulación.-

La acción hidrolítica de la colagenasa está bajo el control regulador de un agente inhibidor. Se sabe que los tejidos óseos en cultivo sintetizan una colagenasa específica. La mayor parte de esa enzima extracelular se encuentra en estado latente, bloqueada por la acción de un inhibidor. Este regula su pasaje al estado enzimático activo, modulando así su acción y, por ende, la re

En este fenómeno las partículas se adhieren a la membrana en una primera instancia y luego fluyen hacia el interior, donde son transferidas a los lisosomas (87)

absorción osteoclástica. Extractos de tejidos pobremente vascularizados como la dentina, cartílago y la pared de los vasos han demostrado contener un inhibidor de proteinasa. Ese inhibidor exhibió capacidad para frenar especialmente a la collagenasa. Asimismo desadhirió del hueso los osteoclastos previamente adheridos por un factor activador de los mismos. (OAF) La remoción del inhibidor permitió que los osteoclastos volvieran a tomar contacto con la superficie ósea. (73) (142).

Por otra parte la actividad collagenolítica de la collagenasa gingival humana ha sido inhibida específicamente por una sustancia extraída de dientes humanos. (52).

Estas observaciones permiten entrever una posible relación entre el inhibidor específico de la collagenasa que estaría presente en los tejidos de la raíz dentaria y el hecho de que esta no es afectada por la enzima que degrada el periodonto en la enfermedad periodontal y gingival humana.

2.3.6. Degradación o lisis celular

Quedaría por explicar el destino del componente celular de los tejidos mineralizados. Al respecto se admite que los osteocitos son fagocitados, en el proceso osteolítico, por las células multinucleadas. Hecho que no debe ser correlacionado con el origen y formación de los osteoclastos, puesto que los núcleos de los osteocitos no se incorporan al pool nuclear de aquella célula. (15) (16) (151)

Ya hemos mencionado la presencia de restos celulares, fagocitados por osteoclastos, que podrían corresponder a osteocitos. De todos modos, se demostró que muchos agentes, conocidos como causantes de pérdida de hueso alveolar, inducen fagocitosis celular. (103).

Asimismo se ha comunicado que macrófagos apuestos a superficies óseas en reabsorción y adyacentes a osteoclastos activos, parecen estar comprometidos en fagocitosis y digestión de restos celulares. (123) Ver figura 5.-

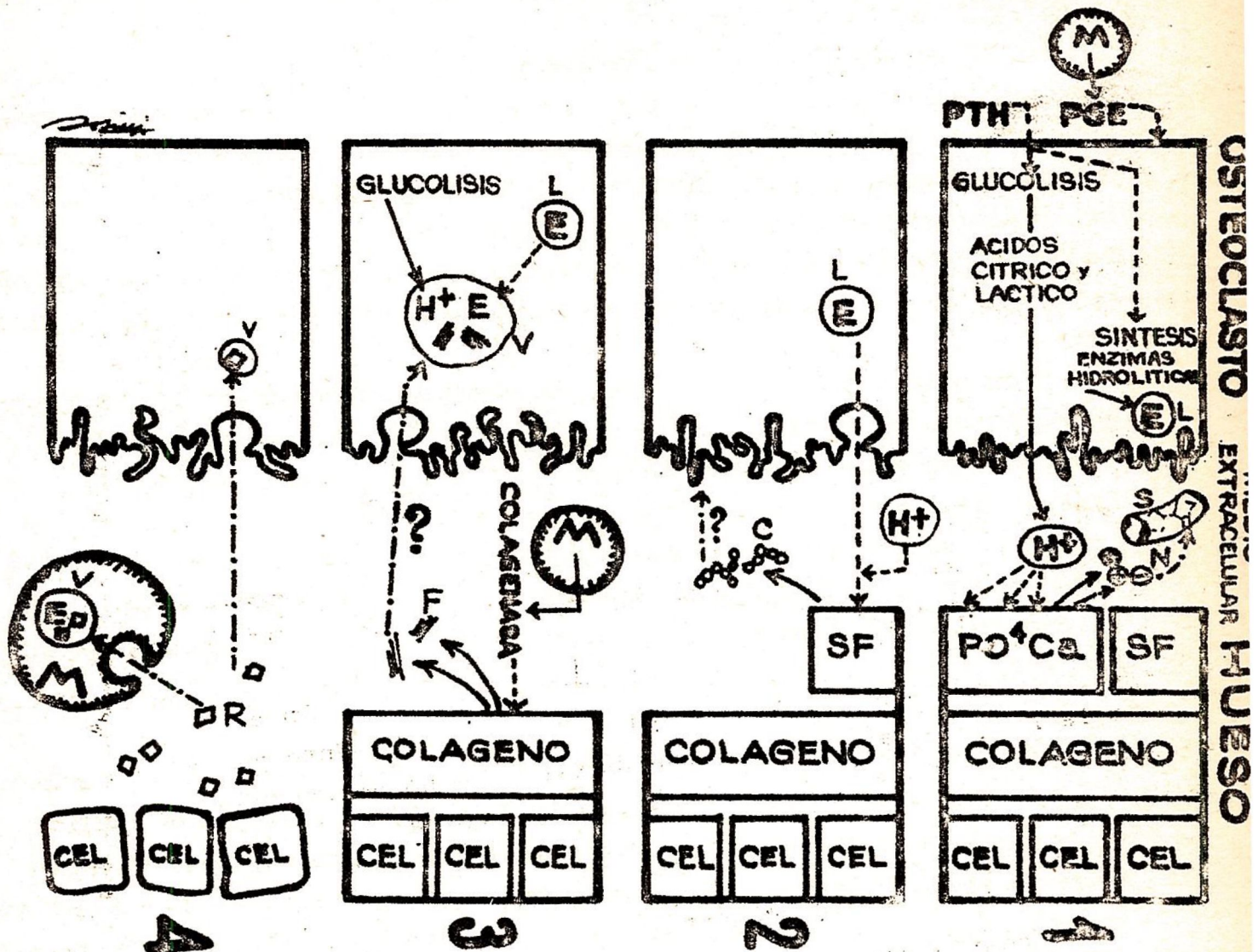


FIG.5.- POSIBLE SECUENCIA DE LOS MECANISMOS QUE OPERAN EN EL MODO DE ACCION DE LA OSTEOCLASIA.

- | | | |
|---|-----------------------|-----------------------|
| M - MONOCITOS, MACROFAGOS | E - ENZIMAS | L - LISOSOMA PRIMARIO |
| H ⁺ - HIDROGENIONES | S - CAPILAR SANGUINEO | N - IONES MINERALES |
| SF - SUSTANCIA FUNDAMENTAL | CEL - OSTEOCITO | |
| C - COMPONENTES ESTRUCTURALES DE LOS MUCOPOLISACARIDOS DE LA S.F. | | |
| F - FRAGMENTOS DE COLAGENO DEGRADADO. | | |
| V - VACUOLA DIGESTIVA O LISOSOMA SECUNDARIO. | | |
| R - RESTOS CELULARES | | |

2.4. FACTORES REGULADORES.-

En estado de salud así como en las situaciones modificadas por la instalación de un proceso patológico la actividad celular es regulada por la acción de compuestos biológicos producidos por distintas funciones corporales.

Algunas de esas sustancias son ampliamente utilizadas en biología ósea experimental y permiten entrever su posible rol en la fisiología y patología humana.

Un grupo destacado de esos factores, que actúan en los complejos procesos de reabsorción ósea, será analizado a continuación.

2.4.1. Hormonas

2.4.1.1. Glándula tiroides.-

El hipertiroidismo provoca un desarrollo óseo acelerado con un ritmo intenso de reabsorciones y erupciones prematuras.

El hipotiroidismo, por el contrario, afecta en menos el desarrollo en general. Hay retardo en la erupción dentro de un cuadro de desarrollo óseo insuficiente. Histológicamente se comprueba, en los gérmenes dentarios, vascularización insuficiente de todos los tejidos y atrofia prematura del epitelio odontógeno. Se observa que, por retraso en la rizoclasia, persisten los dientes temporarios.(164) En un estudio sobre erupción de las dos denticiones en niños hipotiroides se ha informado un retardo en el 82,5% del total de casos. El retardo en la erupción fue mayor para la dentición temporaria.(132) Estas observaciones deben analizarse en el contexto de las alteraciones dentarias que se observaron en el curso del hipoparatiroidismo idiopático a saber: 1) hipoplasia del esmalte, 2) acortamiento de las raíces, 3) detención del desarrollo dentario. (46).

2.4.1.1.1. - calcitonina.-

La calcitonina o tirocalcitonina es una hormona hipocalcemiente e hipofosfatemiante, producida por --

las células parafoliculares claras o células C de los folículos tiroideos. Su acción sobre las células normalmente depositadas sobre las superficies óseas es opuesta a la de la parathormona actuando sobre diferentes regiones de las proteínas cromosómicas de esas células. (25)

Se ha probado, en condiciones experimentales, que su presencia induce una inmediata caída en el número de osteoclastos (102) así como un balance negativo en el número de núcleos de esas células. Paralelamente a la reducción de núcleos se constató que las superficies en reabsorción, tratadas con calcitonina, reducían su extensión. De tal modo, se sugiere que ambas observaciones están interrelacionadas. (37)

La calcitonina actuaría incrementando la incorporación de Ca en el hueso y frenando los procesos de reabsorción ósea. El tratamiento hormonal por vía sistémica estimula inicialmente la osteogénesis pero su administración prolongada termina por inhibirla. (98) Aplicada localmente sola o asociada a otros productos no parece inducir efecto osteogénico en el seno del tejido conjuntivo. (99) (145) Asimismo, un intento por frenar la reabsorción de dientes reimplantados, con la ayuda de calcitonina, no ha tenido éxito. (95) En el tratamiento de las enfermedades óseas generalizadas ha sido empleada con suceso y se han comunicado éxitos en el tratamiento de la parodontitis humana. Pero este último extremo no ha sido confirmado por recientes trabajos. Calcitonina por vía intravenosa no modificó en nada el cuadro clínico de ocho pacientes con parodontitis crónica avanzada. Sólo disminuyó la alveolisis en un sujeto y a nivel de un solo sitio de control radiográfico. (43).

Estudios realizados en cultivos de hueso, obtenidos de fotos de ratas, con reabsorción inducida por extracto paratiroideo, muestran que la adición de calcitonina inhibe totalmente el proceso en el primer día del cultivo y, parcialmente en el segundo día. Pudo establecerse, asimismo, que en el proceso de reabsorción eran excretadas dos enzimas (hidrolasas) lisosomales, las cuales fueron suprimidas o inhibidas por el agregado de calcitonina. (160). Ella ha mostrado inhibir la destrucción de colágeno. (97)

La acción "in vitro" de esta hormona sobre la collagenasa, se mostró que no afecta el nivel de la misma ni el de su inhibidor en reabsorción inducida por vitamina A. Es más, en ciertas condiciones, causó un

pequeño incremento en la producción de la colagenasa latente. De allí que se sugiera que la hormona no desempeña un rol directo en el control del catabolismo de la matriz. Ella afectaría, principalmente los mecanismos involucrados en la remoción mineral y la diferenciación de osteoclastos, que parecen ser previas a la degradación de la matriz orgánica. Por ello la calcitonina puede prevenir la reabsorción osteoclástica, aún cuando la colagenasa activa este presente. (142)

2.4.1.2. Glándula paratiroides.-

Todas las acciones de la paratiroides sobre el metabolismo cálcico persiguen la elevación de la calcemia, estimulando, para ese fin, la reabsorción ósea. El producto de la actividad glandular es la hormona paratiroidea, que es secretada por las células principales que se disponen en acúmulos y cordones irregulares.

El hiperparatiroidismo lleva a la descalcificación ósea. Si la enfermedad es prolongada, los osteoplastos se agrandan afectando, así al osteocito. (100).

También provoca la reabsorción prematura de los dientes temporarios, acelerando la erupción de los sucesores.

2.4.1.2.1. - Parathormona

La parathormona (PTH), que es un factor de la homeostasis, regula el metabolismo fosfo-cálcico con una acción hipofosfatemiante e hipercalcemiante por sus efectos conjugados a nivel de huesos, riñón, intestinos y la glándula mamaria en lactación. Su acción sobre el calcio ha demostrado ser antagónica a la de la calcitonina. La actividad glandular no estaría subordinada a la hipófisis siendo el descenso del calcio sérico el estímulo para su secreción. De esta forma, glándula y calcemia constituyen un mecanismo homeostático que se autorregula (135).

La acción metabólica de la PTH guarda relación con el metabolismo de la vitamina D. En términos generales, la secreción hormonal está incrementada en la deficiencia de vitamina D.

Se le atribuyen a la PTH tres acciones diferentes a nivel de los huesos. 1) aumento de la osteoclasia: a) estimulando la activi-

dad metabólica celular, b) induciendo diferenciación de los osteoclastos a partir de células de reserva. 2) estímulo de la osteolisis osteocítica. 3) inhibición de la osteogénesis (aunque a veces puede estimularla). (116)

El mecanismo de acción de la PTH sobre las células óseas estaría vinculado, por un lado, con fenómenos a nivel de la membrana celular. Por ejemplo: facilitar la fusión de las células para formar osteoclastos. Bajo el ME se observaron células mononucleares que se fusionaban unas con otras, así también como con osteoclastos preexistentes por efecto hormonal de la PTH. De tal modo, los precursores mononucleares de los osteoclastos como el fagocito monocitogénico, deben ser considerados como células blanco de la PTH.

Por otro lado, se ha comunicado que, mediante estudios con ME e histoquímica enzimática, se ha demostrado que la PTH también puede estimular la osteoclasia por activación del sistema lisosomal celular, e induciendo cambios enzimáticos asociados con el proceso. (140) (30) (34). Estudios en vivo demostraron relación entre incremento en el número de núcleos de osteoclastos u odontoclastos y extracto de PTH. (ver pág. 16).

Para estimular la reabsorción, la hormona parece no requerir la previa replicación de precursores de osteoclastos en cultivos de hueso de rata fetal. Los cambios morfológicos inducidos por la PTH solo serían el resultado de la reunión de las células precursoras preexistentes en osteoclastos. (92)

Se ha postulado que la PTH incide en la formación de ácido láctico y cítrico en el osteoclasto. (109).

El metabolismo de las células óseas es sensible a la acción de esta hormona estimuladora de reabsorción y responden con la formación de AMP cíclico "in vitro" (77). Pero debemos tener en cuenta que la calcitonina, inhibidora de reabsorción ósea y que también actúa directamente sobre los osteoclastos, provoca igualmente, un alza de cAMP en el tejido óseo. De tal modo, se ha sugerido que los efectos de la PTH sobre los niveles de cAMP no están, probablemente, asociados con reabsorción osteoclástica. En cambio los efectos inhibitorios de la calcitonina pueden estar mediados por cAMP (66) De todos modos, se admite la influencia de la PTH sobre las células del tejido óseo, in-

cluyendo a los osteoblastos. Estos serían células blanco de la hormona, que influiría sobre ellos y cuyos efectos incluyen:

- a) estimulación de la actividad adenil-ciclase resultante en un realzamiento de AMP cíclico (cAMP),
- b) rápida activación de cAMP-proteino-quinasa dependiente,
- c) inhibición de síntesis colágena; caída en las concentraciones de moléculas específicas de mRNA procolágeno en células clonales de línea osteoblástica, (129)
- d) inhibición de actividad fosfatasa alcalina,
- e) estimulación del realzamiento cálcico,
- f) producción de cambios morfológicos celulares resultantes en un menos estrecho empaquetamiento de las células, observadas tanto en calvaria como en cultivos. (127)

2.4.2. Prostaglandinas

Reconocidas como uno de los efectores biológicos más potentes que se conocen, las prostaglandinas (PG), constituidas por una cadena de 20 C. pertenecen al grupo de los ácidos grasos.

Están presentes en cantidad de tejidos y han sido implicadas como mediadores y moduladores de distintas actividades biológicas, especialmente fenómenos inflamatorios. En este estado patológico se duplica el nivel de PG normalmente presente en los tejidos gingivales. Esa concentración del producto se ha encontrado que es óptima para reabsorber hueso en cultivos de tejidos (131) (38)

Diversas evidencias las señalan como posibles agentes inductores de reabsorción ósea. La prostaglandina E2 (PGE 2) ha sido caracterizada como la más potente de las prostaglandinas testadas como factor estimulador de reabsorción ósea "in vitro". Se sugiere que opera por un mecanismo de neogénesis osteoclástica e incrementando los preosteoclastos (42) (75) (71) El examen microscópico revela, en condiciones experimentales, que la PGE 2 estimula la formación de células gigantes multinucleadas, fosfatasa ácida positiva, a partir de células óseas aisladas. De tal modo, se sugiere que este factor promueve la diferenciación de osteoclastos desde células óseas precursoras "in vivo". (143)

También PGE 2 y los nucleótidos cíclicos AMP y GMP han sido implicados como mediadores de resorción radicular en los dientes temporarios. En efecto, se ha determinado que el contenido relativo de esos nucleótidos y prostaglandina en odontoclastos es más alto que en todos los otros tipos celulares peridentales, con la excepción de osteoblastos. (32).

Fragmentos gingivales incubados con tejido óseo producen elevados niveles de PGE sintetizada por células presentes en la encía. Pero el tejido gingival también produce otro factor al que se responsabiliza de inducir en el hueso la síntesis de PG endógena (131). En encías inflamadas se demostró la actividad de otro factor de reabsorción ósea, estable al calor, distinto a la PG. La identificación en los tejidos gingivales de otros estimuladores de reabsorción ósea pondrían de manifiesto que la importancia de la PG en el proceso es relativa. (71).

Al contrario de lo que ocurre con las experiencias "in vitro", los efectos de la PGE 2 "in vivo" no han sido constantes. En esta última condición, prolongados tratamientos con altas concentraciones de PGE 2 no determinaron áreas de significativa reabsorción ósea. (155).

Los monocitos serían productores de PG y por esa vía regularían la reabsorción ósea (como en el remodelado óseo fisiológico y en la degradación ósea que ocurre en la enfermedad periodontal) estimulando la actividad de los osteoclastos. (35)

Los procesos implicados en la reabsorción ósea son complejos, tal como surge del análisis que venimos realizando. Distintos agentes etiológicos son mencionados y aún se pueden interrelacionar. La PGE 2, parathormona (PTH) y endotoxinas bacterianas, en una interacción sinérgica, promueven niveles de reabsorción que no son alcanzables por cada uno de esos agentes actuando individualmente, a las bajas concentraciones que se usaron en la experiencia. (2)

La PG demostró elevar el nivel de cAMP en los cultivos de hueso (146) La PTH también incrementó ese metabolito en las mismas condiciones. Pero ambos factores, mostraron efectos algo distintos sobre la producción intracelular de cAMP y sobre la cantidad liberada al

medio por las células óseas. Cómo puede influir esa diferencia en el distinto comportamiento de los dos agentes, frente a la actividad reabsortiva ósea, es algo poco claro aún (167).

2.4.3. Endotoxinas bacterianas y reacciones inmunológicas.-

Un microorganismo habitual en la placa dental, *actinomyces viscosus* (AV) actuando en cultivos de tejidos, produce materiales que activan directamente mecanismos de destrucción ósea osteoclástica. En ratas mono infectadas con AV o *Naeslundii* se identificó y caracterizó como posible factor responsable de la resorción de hueso alveolar, a una molécula con gran contenido de carbohidratos. (64) (156) (51).

Concordantemente se asigna a ciertas endotoxinas bacterianas un efecto modulador sobre la osteoclasia mediada por monocitos (165).

Una sustancia llamada factor activador de los osteoclastos (OAF) es producida por linfocitos estimulados en encías sometidas a la acción prolongada de los gérmenes de la placa dental. Dicho factor requiere, para su síntesis, acción sinérgica de macrófagos junto a los linfocitos. (72)

Ambas células han demostrado co-participar en el desarrollo de respuestas inmunes "in vitro", función que parece requerir una estrecha aproximación. Tal agrupamiento celular fue observado bajo el epitelio de unión en perros con gingivitis incipiente provocada. La ME mostró a los macrófagos, que contenían fagosomas y lisosomas secundarios, asociados con uno o más linfocitos. Las membranas plasmáticas, en estrecha aproximación, mostraron complejos de unión en diversos sitios. Linfocitos T y linfocitos medianos revelaron las mismas uniones membranosas (148)

Las endotoxinas que ingresan a los tejidos gingivales pueden promover directamente reabsorción ósea. Pero, especialmente, se comportan como un antígeno y, como tales, activan el sistema inmunitario del huésped. La respuesta comporta dos tipos de mecanismos: el de la inmunidad humoral que reacciona de inmediato y el de la inmunidad mediada por células que se instala en segunda instancia por la exposición prolongada y repetida del huésped a los gérmenes de la placa den-

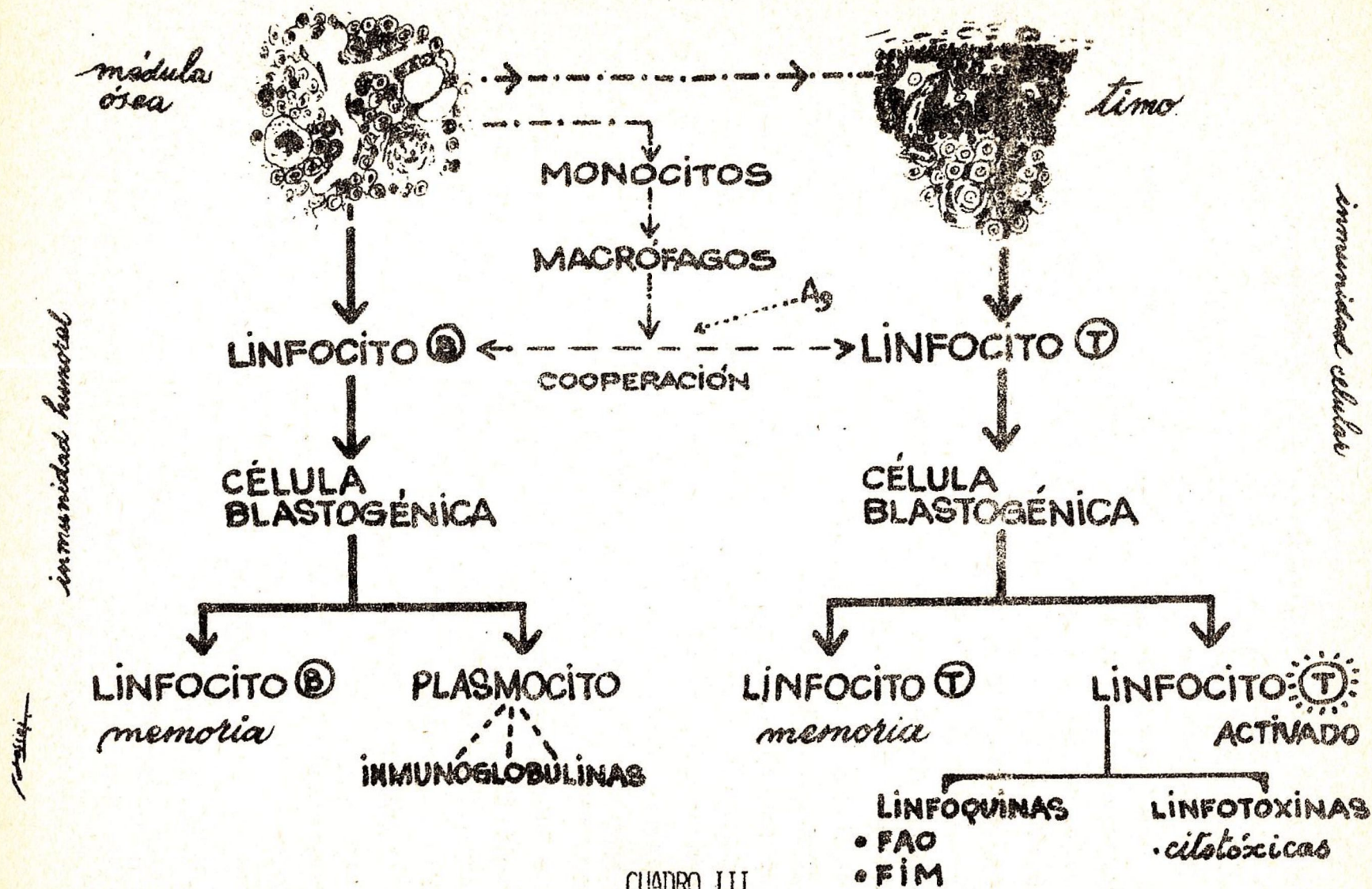
tal. En los hechos, ambos mecanismos de acción no se pueden dissociar. La reacción inmunitaria inicial conlleva una acción protectora, pero la fisiopatología de la respuesta inflamatoria concomitante se traducirá en más destrucción tisular.

Sintetizaremos las reacciones inmunológicas tal como son probables en los tejidos gingivales. Los linfocitos son células inmunológicamente competentes que se ponen en acción al ser sensibilizadas - por un contacto con el antígeno, que es mediado por los macrófagos. Estos realizarían un pretratamiento del antígeno, que luego permite su reconocimiento por las células inmunocompetentes. (116) Actúan en la Reacción Humoral los linfocitos B y en la Reacción de Mediación Celular los linfocitos T. Los primeros, que son predominantes en la enfermedad periodontal crónica humana, por división y transformación darán lugar a otros linfocitos B con memoria y a plasmocitos que serán encargados de la síntesis y secreción de inmunoglobulina. Estos anticuerpos pueden ser identificados en las cavidades del retículo endoplásmico rugoso del plasmocito por Inmunofluorescencia y ME, como cuerpos densos rodeados de membrana : cuerpos de Russel. Los segundos, de la misma forma, originan otros linfocitos T del mismo tipo: unos con memoria antigénica y otros, activados, que producirían linfoquinas. Estas son sustancias biológicamente activas que estimulan a los osteoclastos a resorber hueso (OAF)* al mismo tiempo que son citotóxicas para los fibroblastos (LT) y facilitan la acumulación de macrófagos en el tejido reaccional, al impedir su migración (MIF) * Ver Cuadro III .

Linfocitos T efectores-osteoblastos-osteoclastos parecen constituir un sistema en equilibrio responsable del balance osteoformador-resorción. De tal manera, la acción conjugada de esas células es factor determinante del proceso de remodelado óseo. Se ha demostrado que la población de linfocitos T disminuye en pacientes con osteoporosis postmenopáusica, especialmente en aquellos en que el análisis histomorfológico no evidenció actividad osteoblástica. Ese -

* MIF : Factor inhibidor de la migración de los macrófagos.

* OAF : Factor activador de los osteoclastos.



CUADRO III

DIFERENCIACIÓN DE LOS LINFOLCITOS EN LA RESPUESTA INMUNITARIA

grupo de pacientes presentó un significativo descenso de linfocitos T antígeno estimulados (linfocitos T efectores), por lo que se sugiere una relación entre células T y el fenómeno óseo. (115).

En niños jóvenes, con encías de la dentición decidua poco inflamadas, predominan los linfocitos en el infiltrado del tejido conjuntivo, mientras que en los adultos la célula dominante es el plasmocito. Los linfocitos mencionados han sido caracterizados como pequeños y medianos (59% porcentaje medio), mientras que los linfocitos T-blastos son la menos común de las células encontradas (0,1%).

Los linfocitos B-blastos y plasmocitos están mejor representados que estos últimos (7,2%). La mayor proporción de plasmocitos ha permitido sugerir que la lesión en la gingivitis de la infancia representa una posición intermedia entre las fases inicial y avanzada de la enfermedad periodontal descrita en personas mayores. (90) (91).

Las inmunoglobulinas E están ligadas a los mastocitos que, en ciertas condiciones, pueden reaccionar con los complejos antígeno anticuerpo liberando sus gránulos al medio. La descarga local de mediadores químicos, por degranulación de mastocitos de la encía, pueden aumentar los efectos de una osteoclasia instalada. De esa forma se convierten en un co-factor de resorción capaz de potenciar los efectos de la PTH, endotoxina bacteriana y extractos de fragmentos de encías (110) (111) (131) (144).

Por otra parte, en cultivos de órganos, las interacciones entre endotoxina bacteriana y otros resorbedores óseos como la PTH, PGE 2 y OAF pueden producir amplias respuestas catabólicas del hueso y se sugiere que estas interacciones pueden desempeñar un rol en la patogénesis de las pérdidas óseas. (119)

2.4.4. Vitaminas.-

2.4.4.1. Vitamina D .- Aún no ha sido posible elaborar una teoría unificada que explique satisfactoriamente y exhaustivamente los mecanismos de acción de esta sustancia de la que se ha dicho posee importantes características que le permiten comportarse como hormonas.

El 1,25 -Dihidroxicolecalciferol (1,25-(OH)₂ D 3) es su metabo-

lito más activo. Secretado por el riñón, posee todos los caracteres de las hormonas esteroideas. (44) Su biosíntesis es regulada por el Ca y la PTH.

La actividad biológica esencial de esta vitamina es el transporte activo de los iones Ca, contribuyendo a mantener su nivel normal en el plasma mediante los siguientes mecanismos: absorción digestiva, osteolisis y reabsorción tubular.

Es un hecho admitido que en el metabolismo del tejido óseo está implicada la vitamina D. Los metabolitos de ésta, que ejercen, además, distintas acciones fisiológicas sobre varios órganos, actúan sobre el hueso con efectos diversos.

Comparadas las acciones de varios metabolitos de la vitamina D se ha confirmado que $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ es el más potente de ellos en la estimulación de reabsorción osteoclástica e inhibición de síntesis - osteoblástica de colágeno "in vitro" (118).

Se acepta que dosis fisiológicas de vitamina D favorecen la resorción de fosfato de calcio de los huesos largos. Su rol en la resorción ósea fisiológica ha sido estudiado en animales fosfato carenciados. Dado que la deficiencia en fosfato provoca: a) un marcado aumento de la resorción ósea endostal y b) incremento sérico de metabolitos de la vit.D, se ha intentado correlacionar ambos hechos. La conclusión es que los metabolitos de la vitamina D son un factor significativo en los cambios óseos asociados con deficiencia de fosfato y que el aumento en el número de osteoclastos, que se fue observado, es mediado por esos metabolitos. (76)

Por otra parte, los efectos de la vitamina D sobre el metabolismo óseo son concordantes con aquellos ejercidos por la PTH. Esta induce producción de cAMP en las células óseas, como ya vimos. En ratas, esa producción se ve aumentada cuando se hace actuar, simultáneamente, a la vitamina D. De tal modo, la habilidad de esta vitamina para facilitar los efectos de la PTH puede involucrar, en parte, eventos celulares que conduzcan a la acumulación intracelular de cAMP. (31)

En condiciones particulares, como el raquitismo humano, se le atribuyen efectos directos o indirectos sobre la calcificación de

los huesos largos. En el raquitismo nutricional infantil los metabolitos de la vitamina D tienen un efecto directo y esencialmente inhibitorio sobre la secreción de hormona paratiroidea inmunoreactiva (iPTH) (94)

Además de lo antedicho, también debe considerarse que la carencia de vit.D influye sobre los huesos retardando su crecimiento en virtud de que el estado carencial reduce la absorción de Ca en el intestino.

Por otra parte, en los estados de deficiencia en vitamina D se ha demostrado que se presentan defectos dentales. (47)

2.4.4.1. Vitamina A.- En cultivos de tejidos se comporta como un agente inductor de osteoclasia. Tal vez facilita la liberación de las enzimas lisosómicas contenidas en las vesículas primarias. (87)

2.4.5. Agentes inhibidores.-

Los estudios sobre osteoclasia, que se desarrollan en cultivos de tejidos, aprovechan ciertas propiedades de algunas sustancias químicas que permiten orientar el proceso en una dirección determinada. Así algunas sustancias se comportan como agentes estimulantes. En este capítulo hemos analizado las de mayor importancia biológica.

Otras han demostrado que, por diversos mecanismos, tienen un efecto inhibitorio sobre la osteoclasia. Haremos una simple mención de sus características más destacadas.

2.4.5.1. fluor.-

Diversos estudios ponen de manifiesto que el -- fluor inhibe la resorción de los tejidos mineralizados y se ha determinado que la acción del fluoruro disminuye significativamente la digestión enzimática de glicosaminoglicanos de las raíces de dientes humanos.

Estos hechos podrían tener significación clínica en el control de la resorción de reimplantes dentarios. (5)

En las regiones consumidoras de agua potable, con alto conte-

nido de fluor, se observaron conservación prolongada de molares temporarios. (164)

Por lo tanto, en este caso, puede sospecharse una correlación entre el consumo elevado de fluor y un efecto inhibitorio sobre la rizoclasia.

2.4.5.2. plomo.-

Es conocida la afinidad de este metal para el tejido óseo. Investigaciones de los efectos sobre las células óseas de huesos largos fetales expuestos al plomo "in vitro" han permitido establecer: caída en el número de osteoclastos, y lesiones agudas citoplásmicas e intranucleares específicas para la toxicidad del citado metal. En esos casos la resorción osteoclástica que había sido inducida por la PTH, resultó inhibida por el plomo, cuyo efecto inductor se ejerce, tal vez, por las alteraciones cuantitativas y estructurales del osteoclasto. (10) (9)

2.4.5.3. difosfato, prometazina hidrocloreídica, fenitoína y aurotinalato sódico.-

Son compuestos que actúan como inhibidores de osteoclasia en los cultivos celulares. Los resultados indican que esa inhibición se refleja en alteraciones morfológicas del osteoclasto y células macrofágicas. (54) (130) (149).

3. OSTEOLISIS OSTEOCITICA.-

Osteolisis osteocítica es un término acuñado para designar una degradación del tejido óseo que considera al osteocito como la especie celular que comanda el proceso lítico.

Con tal característica, se pueden deducir las siguientes diferencias de este tipo de reabsorción con respecto a la osteoclasia:

- En la osteolisis osteocítica el agente del proceso destructivo es una célula formadora de hueso que, al pasar a formar parte del tejido, asegura su vitalidad. En la osteoclasia el proceso es regido por una célula que tiene, únicamente, esa misión, como componente del tejido óseo.

- Para cumplir su función el osteocito tendría que alterar diametralmente su metabolismo intermedio. El osteoclasto tiene un solo tipo de metabolismo: el conducente a la degradación del tejido mineralizado.

- En la osteolisis el proceso seguiría direcciones centrífugas, mientras que en la osteoclasia avanza centrípetamente desde las superficies al seno del hueso.

- La osteolisis podría operar, obviamente, sólo en los tejidos vitales, mientras que la osteoclasia afecta tejidos vivos y necrosados.

- Traspolando, en lo pertinente, los fenómenos ocurientes en biología ósea a la histología dentaria concluimos que la osteolisis osteocítica no podría afectar a tejidos acelulares como el cemento primario. Sabemos que la osteoclasia (cementoclasia) sí lo afecta.

Aún existe cierta confusión respecto al mecanismo exacto que regula la homeostasis del calcio. Algunos resultados experimentales cuestionan la relevancia de la acción osteoclástica en el mantenimiento de la calcemia. (114) Otros, por aplicación de fuerzas grandes en el ligamento periodontal, permiten suponer que un mecanismo bioquímico aparentemente no celular o por lo menos no osteoclástico es responsable de una actividad erosiva antes de que aparezca, en el hueso, un incremento en el número de osteoclastos. (26)

En consecuencia, se ha tomado en cuenta la posibilidad de que el calcio necesario para mantener la homeostasis se obtenga por desmineralización de la matriz ósea que recubre la amplia superficie interna de los osteoplastos, y su vasta red canalicular. Como sabemos, esos espacios están ocupados por el cuerpo del osteocito y sus prolongamientes, que intercambian sus metabolitos con el líquido intersticial que circula por ellos. Así, en condiciones en la cuales se está produciendo reabsorción por acción de la PTH se sugiere que la movilización del calcio se debe a la participación activa de los osteocitos más grandes, que son los que se localizan en el centro de las trabéculas del hueso esponjoso. Al parecer, los osteocitos maduros elaboran lisosomas que, bajo el estímulo de la hormona, liberan enzimas líticas hacia la sustancia ósea pericelular. La matriz perilagunar sufriría desmineralización y degradación del colágeno, atribuyéndose una basofilia en torno a los osteoplastos como consecuencia de los mucopolisacáridos que quedan al descubierto por esa causa. De tal forma, el aspecto microscópico del osteoplasto es el de una cavidad agrandada con respecto a su tamaño normal, en tanto el osteocito se presenta hipertrófico, estado que se corresponde con el que fuera descrito como de "gran osteocito". (16).

Aspectos de lagunas dilatadas y confluentes, puestos de manifiesto en el borde de las cavidades de resorción por la microscopía de alto poder, indicarían un aumento de la osteolisis osteocítica. También se han comunicado resultados obtenidos en ratas, con resorción provocada por estimulación de PTH, en cuyos dientes se constataron fenómenos de cementolisis. (18) (16). Resultados iguales en el cemento se habrían obtenido trabajando en perros. (68)

Ciertas similitudes estructurales entre el hueso y el cemento celular permiten admitir, en un contexto teórico, la posibilidad de una actividad de los cementocitos conducente a fenómenos de cementolisis. (120) Sin embargo algunos autores destacan que no son observables cementocitos hiperactivos. (163). En sentido similar, pero referido al aspecto de los osteocitos, se pronuncia un trabajo en el cual se provocó una carencia de calcio en cerdos. La incidencia del déficit cálcico determinó una disminución de la densidad ósea en el hueso alveo

lar. Pero el estudio histológico sólo encontró pruebas de resorción osteoclástica, sin evidencias de otros modos de resorción como la osteolisis osteocítica. (80)

De todos modos, esta teoría no está apoyada convenientemente por documentación histoquímica ni por análisis fundamentado de su modo de acción. (87). La capacidad de la osteolisis para cubrir una demanda inmediata de calcio, en la regulación de la homeostasis, es puesta en duda, también. Parece lógico que, antes esa emergencia, resulta más directo para el organismo utilizar la vía que le ofrece el tejido mieloide con su importante red vascular, sus células de reserva capaces de transformarse en osteoclastos y su contacto con las paredes internas mineralizadas de los conductos de Havers. (59).

B I B L I O G R A F I A . -

1. ADDISON, W.C. The effect of parathyroid hormone on the numbers of nuclei in feline odontoclasts in vivo. J. of periodontal research, 15:536-543, 1980.
2. ALANDER, C., et al. Interaction of bone resorbing mediators in vitro. J. of dental research, 59: Special Issue A, AADR Abstracts 128, 1980.
3. ALEXANDER, S.A., et al. Dental pulp mucopolysaccharidase: identification and role in tooth resorption. J. Dent. Res. 59:1404-1408, 1980.
4. ALEXANDER, S.A. and SWERDLOFF, M. Collagenolytic activity of periodontal ligament and hydroxyproline content during human deciduous root resorption. J. of periodontal Research, 15:434-443, 1980.
5. ALEXANDER, S.A., and MILLER, H. Connective tissue resorption associated with fluoride immersions. J. of Dental Research, V. 60, Special Issue A. IADR Abstracts 973, 1981.
6. ANDERSON, T.R., and TOVERUD, S.U. Purification and characterization of two acid phosphatases from bone. J. of Dental Research. 57: Special Issue A. IADR Abstracts 898, 1978.
7. ANDERSON, R.E., et al. Ultrastructural localization of carbonic anhydrase in active and inactive osteoclast. Calcif. Tissue Int., 33, Abstracts, pp 290, 1981.
8. ARNOLD, J.S., and LEE, W.S.S. Bone growth and osteoclastic activity as indicated by radioautographic distribution of plutonium. Am. J. Anat., 101:367, 1957. cit. (131)
9. BAKER, R.L., and al. Effect of lead on bone resorption "in vitro", J. of Dental Research, 57: Special Issue A, IADR Abstracts 905, 1978.
10. BAKER, R.L., RIFKIN, B.R. Changes in osteoclast numbers in bones exposed to lead "in vitro", J. of Dental Research, 59: Special Issue A. AADR Abstracts 935, 1980.
11. BARGMAN, Wolfgang. Histología y Anatomía Microscópica Humanas. 4 Edición Espaxs, S.A. Barcelona, 1981.
12. BARNICOT, N.A. The supravital staining of osteoclast with neutral red: Their distribution on the parietal bone of normal growing

- mice, and a comparison with the mutants grey-lethal and hydrocephalus-3
Proc.R.Soc.B 134,467-485,1947,cit (49)
13. BARON,R. Le remaniement de los alveolaire au cours du déplacement spontané et provoqué des dents. Revue d'ortopedie dento faciale,9: (3)309-325,1975.
 14. BARON,R. Coated pits on mononuclear-phagocytes before and after bone resorption.J.dent.Res.61:march,IADR Abstracts N°1241,1982.
 15. BAUD,C.A. Submicroscopic structure and functional aspects of the osteocyte.Clin Orthop.RelRes.,56:p.227-236,1968,cit (13)
 16. BAUD,C.A. Morphologie et structure inframicroscopique des osteocytes.Acta Anat.,51:p.209-225,1962,cit.(163)
 17. BAYLEY,F.R. Histología,14 ed.Lopez Libreros editores S.R.L. Buenos Aires,1960.
 18. BELANGER,L.F. Osteocytic osteoclysis,Calcif.Tissue Res.,4:1,1969, cit.(58).
 19. BENQUE,E.P. Curso de paradentología, Facultd de Odontología. División Publicaciones y Ediciones, Montevideo 1979.
 20. BIREK,P. Collagen Phagocytosis by cells of the epithelial rest of Malassez Cultured "in vitro",J.of Dental Research,59:Special Issue A,AADR Abstracts,1055,1980.
 21. BIREK,C. et al. Production of bone resorbing factors by cell cultured from porcine epithelial rest of Malassez.J.of Dental Research, V.60 IADR Abstracts 764,Special Issue A,March,1981.
 22. BLACKMAN,L.D.,and al. Mononuclear phagocytes and bone resorption: acid phosphatase activity in peritoneal mononuclear phagocyte cultures,J.of Dental Research,57:Special Issue A,IADR Abstracts 895, 1978.
 23. BOUYSSOU,et PAYEN (1960) cit.24
 24. BRABANT,H. Rhizalyses.:Encyclopedie Medico-Chirurgicale: Stomatologie, Tome 1,1969, 22016 A 10 p.1-8.
 25. BUSTOS,G.S., and al Parathyroid hormone effect on phosphorylation of calvaria bone cell non-histones,J.of Dental Research,56:Special Issue B,AADR Abstracts 581,1977.
 26. CABRINI,R.L.,ACOSTA,F.A.,LOPEZ OTERO,R.,CARRANZA,F.A.(h). Respuesta osteolítica al movimiento dentario experimental.Rev. de la Asoc. Odontológica Argentina, V.55,N°3,88-90,1967

27. CAMMAROTA, H.E. y TCHOULAMJAN, A. Principios de inmunología. López Libreros Editores - Buenos Aires, 1981.
28. COPENHAVER, W.M. Tratado de Histología, 17 a.ed. Interamericana, México, 1981.
29. COTTON, W.R., et al. Serum acid phosphatase as a factor in deficient bone resorption, J. of Dental Research, 56: Special Issue B, AADR Abstracts 255, 1977.
30. CRAIG, R. et al. Evidence for a role of Blood-Borne Monocytes in Osteoclasts, J. of Dental Research, 56: Special Issue B, AADR Abstracts, 1977.
31. CROWELL, J.A., et al. Enhancement by vit. D of P.T.H. Induced camp accumulation in rat bone cells., calcif. Tissue int., 31: Abstracts 51-88, 1980.
32. DAVIDOVITCH, Z. and al. Root resorption: a cellular process involving cyclic nucleotides and prostaglandins. J. dent. Res., 61: march, IADR Abstracts N°442, 1982.
33. DE ROBERTIS y DE ROBERTIS. Biología celular y molecular. ed. El Ateneo, 10 ed. Buenos Aires, 1983.
34. DHEM, A. Une cellule géante: L'Osteoclaste. Acta Stomat. Bel., Vol. 68, N°2, 213-230. 1971.
35. DOMINGUEZ, J.H. and MUNDY, G.R. Monocytes mediate osteoclastic bone resorption by prostaglandin productions, calcif. Tissue int. 31: 29-34, 1980.
36. DOREY, C.K. and BICK K.L. Ultrastructural analysis of glycosaminoglycan hydrolysis in the rat periodontal ligament.-calcific. Tiss. Res. 24, 135-141, 1977.
37. DUFLOT-VIGNERY, A. and BARON, R. Alveolar bone osteoclasts changes after calcitonin injection in the rat, J. of Dental Research, 56: Special Issue B, AADR Abstracts 233, 1977.
38. DYSON, R.D. Principios de Biología celular. Fondo Educativo Interamericano, S.A., E.E.U.U., 1977.
39. EATON, P.N. Collagen Remodelling in the healing tooth socket in the rat, J. of Dental Research, 59: Special Issue D, Part I, IADR Abstracts pag. 1776, 1980.
40. EJIRI, S. and OZAWA, H. Ultrastructural studies on the formation of

- osteoclasts in rat calvaria in vivo and in vitro. J. dent. Res., 61: 595, Abstract 24, 1982.
41. FALLON, M.D., et al. Multinucleation enhances bone resorption-calcif. Tissue Int., 33, abstracts pp292., 1981.
 42. FELDMAN, R.S., and ACS, G. Prostaglandin E2 stimulation of osteoclast formation "in vitro" J. of Dental Research, 59: Special Issue A, AADR Abstracts 134, 1980.
 43. FOUREL, J., et al. Etude en double aveugle de l'action de la calcitonine chez des malades atteints de parodontite chronique, Rev. Mens. Suisse Odonto-stomatol., 91(2), 1981.
 44. FREDERICH, A. La vitamine D et ses metabolites. Lyon Medical, 233, 10, 1031-1041., 1975
 45. FREEMAN, R., and TEN CATE, A.R. Early ultrastructural changes in the periodontal ligament during orthodontic tooth movement, J. of Dental Research, 57: Special Issue A, IADR Abstracts 256, 1978.
 46. FRENSELLI, J.A. et al. Dental changes of idiopathic hypoparathyroidism: report of three cases. J. oral Surgery, 29, 10, 727-731, 1971.
 47. FRIEDMAN, C., et al. Determination of presence of 1,25-(OH)₂ vitamin D3 in the mandible tooth germ complex, J. of Dental Research, V. 60, Special Issue A, IADR Abstracts 981, 1981.
 48. FUENTES, Artemia. Reabsorción en los dientes temporarios, Anales de la Facultad de Odontología, N°15, pp3-17, 1972.
 49. FULLMER, H.M., (Chapter 21 pg 349-403) en Structural and chemical organization of teeth edited by A.E.W. Miles. Academic Press. New York, 1967.
 50. GARANT, P.R. Collagen resorption by fibroblast: a theory of fibroblastic maintenance of the periodontal ligament. J. of Periodontology, 47: 380-390, 1976.
 51. GARANT, R.P. Light and electron microscopic observations of osteoclastic alveolar bone resorption in rats monoinfected with actinomyces naeslundii, J. of Periodontology, V. 47: 717-723, 1976.
 52. GEIGER, SELLY B., and HARPER, E. The inhibition of human gingival collagenase by an inhibitor extracted from human teeth. J. of Periodontal Research, 16: 8-12, 1981.
 53. GLICKMAN, I Clinical periodontology, 4ed. W.B. Saunders C. Philadelphia, 1972.

54. GOLDBABER, P. and RABADJIIJA, L. Inhibition of bone resorption tissue culture by non-toxic concentrations of promethazine hydrochloride, J. of Dental Research, 57: Special Issue A, IADR Abstracts 89, 1978.
55. GLODHABER, P. Some tissue culture studies concerning bone resorption, in Rose, G.G. (ed), cinemicrography in Cell biology, pag. 227 New York and London, Academic Press, 1963, cit. (131)
56. GONZALEZ, F. and KARNOUSKY, M.J. Electron microscopy of osteoclasts in healing fractures of rat bone, J. Biophys. Biochem. Cytol. 9: 299-316 1961, cit. (34).
57. GREDAY, A.R., et al. Histopathologie des tissus durs: mise en evidence de preodontoclastes dans des cas de resorption interne de dents temporaires humaines, J. Biol. Buc., 10: p178, 1982.
58. GREEP, R.O., WEISS, L. Histología. 3ed. El Ateneo, 1975 Barcelona.
59. HAM, A.W. Histología. 7 ed., Interamericana, México, 1975.
60. HANCOX, N.M. On the occurrence in vitro of cells resembling osteoclasts, J. Physiol. (London) 105: 66-71, 1946, cit. (34)
61. HANCOX, N.M. The osteoclast, in the biochemistry and physiology of bone (G.H. BOURNE, ed.), 212-250, New York, Academic Press, 1956, cit. (34)
62. HANCOX, N.M., and BOOTHROYD, B. Structure-function relationship in the osteoclast, in: Mechanisms of Hard Tissue Destruction (R.F. Sognes, ed.) 497-514, American Association for the advancement of Science, Washington, 1963., cit. (34)
63. HASSELGREN, G., et al. Histochemical demonstration of acid hydrolase activity in internal dentinal resorption, Oral surgery, oral medicine, oral pathology, 2: 381, 1976.
64. HAUSMANN, E., et al. Factor(s) from "actinomyces viscosus" and "naeslundii" which stimulate resorption in bone organ culture, J. of Dental Research, 56: Special Issue B, AADR Abstracts 106, 1977.
65. HEERSCHE, J.N.M. Osteoclastic bone resorption: a process requiring the activity of two cell types. J. of Dental Research, 57: Special Issue A, IADR Abstracts 897, 1978.
66. HEERSCHE, J.N.M., et al. The cAMP response of bone tissue to parathyroid hormone is probably not associated with stimulation of bone resorption. J. of Dental Research, V. 60, Special Issue A, IADR Abstracts 1306, 1981.

67. HEMRIKA-WAGNER, A.M., et al. The dissolution of hydroxylapatite and its implications for the mechanism of bone resorption, *calcif., Tissue Int.*, 31 supplement, Abstracts 66, 1980.
68. HENRIKSON, P. Periodontal disease and calcium deficiency, *act. Odont. Scand.*, sup. 50, 26: 1968.
69. HOLTRUP, M.E., and KING, G.J. The ultrastructure of the osteoclast and its functional implications, *clin orthop.*, 23: 177, 1977, cit. (134)
70. HOLTRUP, M.E., et al. Cells of the mononuclear phagocytic system resorb implanted bone matrix-*calcif. Tissue int.*, 33, (3), Abstracts, pp. 327, 1981.
71. Hopps, R.M., et al. Demonstration and preliminary characterization of bone resorbing activity in freeze-dried gingiva of dogs. *Calcif. Tissue int.*, 31, 239-245, 1980.
72. HORTON, J.E., (1974) Cit. (35)
73. HORTON, J.E., et al. Regulation of osteoclastic bone resorption by an inhibitor of collagenase, *J. of Dental Research*, 57: Special Issue A, IADR Abstracts 90., 1978.
74. HORTON, J.E. et al. Platelet factor 4 (PF4) modulates osteoclastic bone resorption "in vitro", *J. of Dental Research*, 59: Special Issue A, AADR Abstracts 132, 1980.
75. IBBOTSON, K.J., et al. Bone resorbing activities of various prostaglandins in tissue culture, *J. of Dental Research*, 59: Special Issue D, Part I, IADR Abstracts, pg. 1821, 1980.
76. IVEY, J.L. and al. The role of vitamin D in physiologic bone resorption, *J. of Dental Research*, 57: Special Issue A, IADR Abstracts 106 1978.
77. JILKA, B.L., et al. Control of bone cells sensitivity to PTH. *Calcif. Tissue int.*, 31: Abstracts, 51-88, 1980
78. KAHN, A.J. et al. Mononuclear phagocytes respond to bone seeking hormone and bone matrix constituents, calcium metabolism, (*Proc. of Keystone 1980*) pp 182-189, Elsevier North Holland New York, 1981, cit. (127)
79. KAHN, A.J., and al. Recruitment of osteoclast precursor cells in coupled to osteoblastic activity, *J. dent. Res.*, 61: march, IADR Abstracts N° 700, 1982.
80. KEREBEL, B. Histologie de la dentine. 22007 E Encyclopedie Médico Chi

rurgicale: Stomatolog.

81. KEREBEL, B. et al. Incidence de la carence calcique sur le parodon te du porc., Actual. Odonto-Stom N°123, 467-477, 1978.
82. KING, G.T. and MOLTROP, M.E. Actinlike filaments in bone cells of culture mouse calvaria as demonstrated by binding to heavy moromy- osin, J. Cell. Biol., 66:445, 1975. cit. (134).
83. KLINGLER, E. Mouvement dentaire provoqué: remaniement osseux et o- rigine des celules osseuses., Actual. Odonto-Stom, N°115, 561-577, 1976.
84. KNESE, K.H. Knochelbindung un antwicklung der knochenstruktur, ver. Dentsch. Ges. Path., 47:35-54, 1936. cit (34).
KRUKOWSKI, M. and Kahn, J. Devitalized bone matrix and CaCO_3 (EGG SHELL) don not elicit osteoclast diferenciation, J. of Dental Re- search, 59: Special Issue A, Ardr Abstracts 813, 1981.
85. KRONFELD, R. The resorption of the roots of deciduos teeth. The Dental Cosmos 1932: vol 74: pp 103-120, 1932.
86. KRUKOWSKI, M., and KAHN, A.J. Devitalized bone matrix and CaCO_3 (egg shell) do not elicit osteoclast differentiation, J. dent. Res., 59: Special Issue A, AADR Abstracts 813, 1981.
87. LAZZARI, E.P. Bioquímica dental, 2a ed., Interamericana, México, 1978
88. LEONARD, E.P., and GALICH, J.W. Enzyme histochemistry of osteopetro tic bone development in the "El" Mutant, J. of Dental Research, 56: Special Issue B, AADR Abstracts 10, 1977.
89. LIMEBACK, H. and BRUNETTE, D.M. Latent collagenase is produced in vitro by epithelial cells rests of Mallassez J. of Dental Rese- arch, V. 60 Special Issue A. IADR Abstracts 140, 1981.
90. LONGHURST, P., et al. Diferences in lymphocyte and plasma cell densities in inflamed gingiva from adults and young children, J. of Periodontology, 48: (11) 705-710, 1977.
91. LONGHURST, P., et al. Electronmicroscope quantitation of anfla matory infiltrates in childhood gingivitis, J. of Periodontal Re- search, 15: 255-266, 1980.
92. LORENZO, J.A., and RAIZ, L.G. Inhibition of DNA synthesis in bone organ culture does not affect parathyroid hormone stimulated re sorption. Calcif. Tissue Int. 33, Abstracts, pp. 296, 1981.
93. LÖRTHOLARY, P. et DIEBOLD, J. V. Monocytes et système des phagoci- tes mononucleés en B. Dreyfus "Le Sang" 2da. ed. Flamaron Médiçi

- ne Sciences Paris, 1975.
94. MALLET, E., et al. Evaluation of the inhibitory effect of vitamin D metabolites on circulating immunoreactive parathyroid hormone (iPTH) in infantile nutritional rickets., *Calcif. Tissue Int.*, 31: supplement, Abstracts 91, 1980.
 95. MANDELL, M.L. and BERTRAM, U. Calcitonin treatment for root resorption., *J. dent. Res.*, 49:182, 1970.
 96. MARKS, Jr. S.C., and SCHNEIDER, G.B. Evidence for a direct relationship between lymphocytes, monocytes and osteoclasts: Bone resorption restored in ia (osteopetrotic) rats by lymphocytes and monocytes from a normal littermate, *J. of Dental Research*, 56: Special Issue B, AADR Abstracts 234, 1977.
 97. MARTIN, T.J., et al. I: The mode of action of thyrocalcitonin, *The Lancet*, 23:900, 1966. cit (43).
 98. Mc.DAVID, P.T., et al. Lack of effect of topical calcitonin on connective tissue, *J. dent. Res.* 56:540, 1977.
 99. Mc.DAVID, P.T., et al. Effect of autogenous marrow and calcitonin on reactions to a ceramic *J. dental Research*, 58:1471, 1979.
 100. MEUNIER, P. et al. cit. (59) pg. 370
 101. MILLER (1977, 1978) cit. (153)
 102. MILLS, B. (1972) cit. (37)
 103. MILLS, B., et al. Increased osteoclastic phagocytosis induced alveolar bone resorption of *Dental Research*, 57: Special Issue A, IADR Abstracts 264, 1978.
 104. MINKIN, C., and HIXON, E. Bone acid phosphatase: Isolation and characterization, *J. of Dental Research*, 59: Special Issue A AADR Abstracts 932, 1980.
 105. MJOR, and PINDBORG. *Histología del diente humano*. Editorial Labor S.A., Barcelona, 1974.
 106. MORITA, H. et al. The collagenolytic activity during root resorption of bovine deciduous tooth. *Archs. Oral Biol.* 15:503-508., 1970.
 107. MUNDY, G.R. et al. cit. (35)
 108. MUNDY, G.R., et al. Resorbing bone is chemotactic for monocytes, *Nature*, 275:132-135, 1978. cit. (127)
 109. NEUMAN, W.F. and NEUMAN, M.W. The chemical dynamics of bone mineral.

- Univ. of Chicago Press, Chicago, Illinois, 1958. cit. (49)
110. NEWBERY, J. and DAVIES, M. The morphology and bone resorption associated with macrophage bone matrix organ cultures, *Calcif. tissue, int.*, 31: 51-88, 1980.
 111. NICOLAS, R., NICOLAS, J. P., JACQUAR, G. Immunité humorale et maladie parodontale: *Actual. Odonto-Stom.*, N°122: 283-297, 1978.
 112. OWEN, M. The origin of bone cells, *Intern. Rev. Cytol.*, 28: 213-238, 1970, cit. (34).
 113. OWEN, M. Histogenesis of bone cells. *Calcif. Tiss. Res.* 25: 205-207, 1978.
 114. PARODI, R. J. et al. Total body irradiation effects on the bone resorption mechanism in rats subjected to orthodontic movements. *J. Oral Path.* 2: 1-6, 1973.
 115. PEREIRA, A. et al. Poblaciones linfocitarias en osteoporosis. (aún no publicado)
 116. POIRIER, J. *Histología humana*, 3ra. ed. Editorial Marbán, Madrid, 1978.
 117. POSEK, R., and al. Mononuclear phagocytes and bone resorption: bone mediated macrophage chemotaxis. *J. of Dental Research*, 57: Special Issue A, IADR Abstracts 896, 1978.
- ROLLING, I. Histomorphometric analysis of primary teeth during the process of resorption and shering. *Scand. J. Dent. res.*, 1981: 89: 132-142.
118. RAISZ, L. G., et al. Comparison of the effects of citamin D metabolites on collagen synthesis and resorption of fetal rat bone in organ. Culture. *Calcif. Tissue int.* 32: 135-138, 1980.
 119. Raisz, L. G., et al. Interactions between bacterial endotoxin and other stimulator of bone resorption in organ culture. *J. of Periodontal Research*. 16: 1-7. 1981.
 120. RASMUSSEN, P. Histologic and microradiographic observations on teeth during calcium deprivation in rats., *Scand. J. Dent. Res.*, 85: 549-556, 1977.
 121. REITSMA, P. H., and BIJVOET, O. L. Differentiation of osteoblastics activity on the basis or varing dependence on interaction with resorbing cells, *Calcif. tissue int.* 31: Supplement, Abstracts, 17, 1980.

122. RIFKIN,B.R. and HEIJL. The nuclear fibrous lamina of alveolar bone cells, J. Periodontal Res.,14:132-137,1979.
123. RIFKIN,B.R. et al. A study of macrophages in resorbing rat fetal bone explants,J.of.Dental Research,59: Special Issue A,AADR Abstracts 298,1980.
124. RIFKIN,B.R., et al. Fine structure fetal rat calvarium, provisional identification of preosteoclasts, Calcif.Tissue Int.,31:21-28, 1980.
125. RIFKIN,B.R. Identification and characterization of periodontal preosteoclasts.J.of.Dental Research,V.60,Special Issue A IADR Abstracts 766,1981.
126. ROBERTSON. Osteoclast. en Biology of Hard Tissue, Ann M.Budy ed. New York Academy of Sciences, New York, 1967.
127. RODAN,G.A.,MARTIN,T.J. Role osteoblasts in hormonal control of bone resorption a hypothesis.Calcif.Tissue Int.33:349-351,1981.
128. ROSE,G.G.,YAJIMA,T. and MAHAN,C.J. Human gingival fibroblast cell lines in vitro.I.Electron microscopic studies of collagenolysis. J. of Periodontal Research 15:53-70,1980.
129. ROSEN,D.M. and LUBEN,R.A. Hormonal regulation of procollagen messenger RNA levels in an osteoblast-like cell line, Calcif. Tissue Int.,34:Suplement N°1,Abstracts,1982.
130. ROWE,D.J., and HAUSMANN,E. Specificity of the diphosphonate induced alteration of osteoclast morphology,J.of Dental Research,56: Special Issue B,AADR Abstracts 578,1977.
131. ROWE,D.J. Mechanisms of alveolar bone resorption.Dent.Hyg.,Vol. 53:309-314,1979.
132. RUSU,M. et al. Les affections stomatologiques chez les enfants hypothyroïdiens.Rev.Port. Estomat.11:29-34.,1970.
133. RYDER,M.I. and al. An electron microprobe study of osteoclastic bone resorption,J.of Dental Research,61:IADR Abstracts 1240,1982.
134. RYDER,M.I. and al. The adherence to bone by cytoplasmic elements of osteoclasts.J.Dent.Res.60(7): 1349-1355.1981.
135. SANCHEZ,D., et al. Metabolismo fosfo-cálcico. Universidad de la República. Fac. de Odont. Montevideo.1972.
136. SAKAMOTO,S. et al. Localization of tissue collagenase in bone by indirect immunofluorescent antibody technique.Excerpta Medica,p.

- 378,1978.cit.(131).
137. SCHJOWICZ,F. and CABRINI,R.L. Histochemical distribution of succinic deshydrogenase in bone and cartilage, Science 131:1043-1044 1960,cit.(34).
 138. SCHENK,R. and al. Cartilage resorption in tibial epiphiseal plate of growing rats,.J.Cel Biol.,34:274,1967. cit.(134).
 139. SCHERFT,J.P. and DAEMS,W.T. Some ultraestructural aspects of cultivated embryonic mouse Radii,N°120, Excerta Médica Foundation, Amsterdam, 1966, cit.(34).
 140. SCHULZ,A. and DELLING,G. Mononuclear precursors of osteoclasts as targey cells of parathyroid hormone (PTH),Calcif.Tsissue.Int. 31: Suplément,Abstracts 121,1980.
 141. SCOTT,B.L. Thymidine H3 electron microscope radio-autography of osteogenic cells in the fetal rats,J.Cell.Biol.,35:115-126,1967, cit.(34).
 142. SELLERS,A. et al Collagenase and collagenase inhibitor levels following changes in bone resorption in vitro,Calcif.Tissue Int., 31:35-43, 1980.
 143. SETAYESH,R. et al. PGE₂ stimulation of acid phosphatase positive multinucleated giant cell culture.J.of Dental Research,V.60, Special Issue A.IADR Abstracts 767,1981.
 144. SEYMOUR,G.J. and GREAVES,M.F. Identification of cell expressing T and p 28,33 La Like antigens in sections of human chronic inflammatory periodontal disease.Journal of periodontal research 15: 453-461,1980.
 145. SHAMASH,D.B. and BISSADA,N.F. Stimulation of osteogenesis by topical application of calcitonin in periodontal osseous defects.J. Periodontol.,48:619,1977.
 146. SHANFELD,J. and DAVIDOVITCH,Z. Extraction and simultaneous measurement of cAMP and prostaglandin E2 from bone,J.dent.Res.,59: Special Issue A,AADR Abstracts 1074,1980.
 147. SIMPSON,J.W.and al. Identification of collagenase in sultured blood mononuclear cells.J.OI Dental Research,January 1980. V,59, N°1.
 148. SOAMES,J.V. and DAVIES, R.M. Lynphocyte-macrophage and lynphocyte associations in early gingivitis in beagle dogs. Journal of

- periodontal research 15: 341-344,1980.
149. SOMERMAN,M.J. and al. Phenytoin inhibition of bone resorption in organ culture.,J.of Dental Research,56:Special Issue B?56: AADR Abstracts 579,1977.
 150. STUTZMANN,J., et al. Extrinsic origin of bone resorbing cells in orthodontic tooth movement,J.of Dental Research,59:Special Issue A, AADR Abstracts 691,1980.
 151. TONNA,E.A. An electron microscopic study of osteocyte release during osteoclasts in mice of different ages.,Clin.Orthop,87: p.311 - 318,1972.cit.(13).
 152. TOUWN,J.J.A., and al Comparison between the fine localization of lactate dehydrogenase (LDH) in rat osteoclasts and rat peritoneal macrophage after phagocytosis.Calcif.Tissue Int.,31: Supplement, Abstracts 133,1980.
 153. TODWN,J.J.A.? and al. The fine localization of lactatodehydrogenase (LDH) in medullary bone osteoclasts during the egg-laying cycle of the white leg horn, Calcif.Tissue.Int.,31:Supplement,Abstracts 134,1980.
 154. TRAN VAN,P. VIGNERY,A. and BARON,R. Electron microscopic study of bone remodeling in the rat: characterization of different cell types.Calcif.Tissue Int.,33 Abstracts,pp.301, 1981.
 155. TRIPLETT,R.G. et al. Effects of prostaglandin E2 on alveolar bone resorption in monkeys,J.of Dental Research,V.60 Special Issue A, IADR Abstracts 1011,1981.
 156. TRUMMEL,C.L. A simulator of bone resorption produced by "Actynomices viscosus",J.of Dental Research,56: Special Issue B,AADR Abstracts 416,1977.
 157. UBIOSQ,A.M.,and al. Scanning-Electron Microscopic study of osteoclasts,J.of Dental Research,61:615 Abstracts 15,1982.
 158. UMEDA,T. Histochemical study on the resorption of deciduous molars in Guinea Pigs, Shikwa Gakuho,75(3): 560-579,1975, tomado de Oral R.Abst, N°1,pg.101,1977.
 159. VAES,G. La resorption osseuse et l'hormone parathyroïdienne. These Univ.Louvain, Bruxelles,Ed.De Visscher, Paris,Maloine,1966,cit (34).
 160. VAES,G. Inhibitory actions of calcitonin on resorbing bone explants

- in culture and on their release of lysosomal hidrolases, J. of Dental Research, 51: 362, 1972.
161. VAES, G. J. Cel. Biol., 39: 676; 1968. cit. (135)
162. VILMANN, H. Phosphatases and bone growth, Scand. J. Dent. Res., 85: 302-304, 1977.
163. WESPHAL, A., JACQUART, G., NICOLAS, R. Mise au point sur les processus de la rhizalyse des dents deciduales. Revue D'Odonto-Stomatologie, tome VII, N°1, :11-20, 1978.
164. WEYERS, H. en Odontología infantil, HARNDT, E. y WEYERS, H. ed. Mundi, Buenos Aires, 1969.
165. YAARI, A., et al. Effects of parathyroid hormone (PTH) and stimulated lymphocyte supernatans on bone resorption by monocytes, J. of Dental Research, 57: Special Issue A, IADR Abstracts 894, 1978.
166. YOUNG, R. W. Cell proliferation and specialisation during endochronal osteogenesis in young rats. The J. Cell Biology, 14: 357-370, 1962. cit. (83).
167. YU, J. M., and al. Release of cyclic AMP from cultured bone cells after parathyroid hormone and prostaglandin E2 stimulation, J. of Dental Research 56: Special Issue B, AADR Abstracts 580, 1977.
168. ZAMBONIN, Z. A., TETI, A. Osteoclasts of medullary bone in hipocalcaemic EGG laying hens, Calcif. Tissue Int., 31: Supplement, Abstracts 143, 1980.-

Impreso por la División
Publicaciones y Ediciones
Universidad de la República

Comisión del Papel
Esta publicación está amparada
por el Art. 79 de la Ley N°13.349

Depósito Legal N°199.586
Setiembre-1984
H 2058