

# Fisiologia del tessuto osseo



Silvia C. Colucci, Manuela Dicarlo, Graziana Colaianni

## INTRODUZIONE

Il tessuto osseo è un connettivo specializzato caratterizzato da una matrice extracellulare dura e compatta. Questa è costituita per circa il 60% da una componente inorganica, principalmente rappresentata da cristalli di idrossiapatite, per il 30% da una componente organica, formata da fibre proteiche e matrice amorfa, e per il restante 10% da acqua.

La combinazione di elementi inorganici ed organici rende l'osso una delle strutture più rigide e resistenti dell'organismo, in grado di assicurare funzioni meccaniche di sostegno, di movimento insieme ai muscoli e ai tendini e di protezione di organi vitali, questo è il caso delle ossa della gabbia toracica per cuore e polmoni e della scatola cranica per il cervello. Nonostante la notevole durezza e resistenza meccanica, il tessuto osseo può essere considerato altamente dinamico per via del rimodellamento che lo caratterizza nel corso di tutta la vita. Tale processo consente al tessuto osseo di adattarsi alle forze meccaniche alle quali è sottoposto e permette il mantenimento dell'omeostasi dei sali minerali nell'organismo, in quanto il tessuto osseo è la principale riserva di calcio e fosforo. Inoltre, oggi si riconosce all'osso anche un ruolo endocrino per la secrezione in circolo di specifiche molecole, dette "osteochine", attraverso cui stabilisce interazioni con diversi tessuti che a loro volta rilasciano molecole che lo raggiungono influenzandosi reciprocamente. Questo rende il tessuto osseo il protagonista di *cross-talk* molecolari con tessuto muscolare, adiposo, nervoso e sistema immunitario.

Di seguito sarà trattata in dettaglio l'architettura microscopica e macroscopica dell'osso con particolare attenzione alla composizione e all'organizzazione della matrice extracellulare e alle caratteristiche

morfo-funzionali dei diversi tipi cellulari presenti all'interno di questo tessuto.

## L'OSSO COME TESSUTO: ORGANIZZAZIONE MICROSCOPICA DELLA MATRICE E CELLULE DELL'OSSO

### Matrice extra-cellulare dell'osso

La matrice ossea, con le sue componenti organiche ed inorganiche, è un bioambiente finemente organizzato tra gli spazi extracellulari. Essa costituisce la maggior parte della massa del tessuto, fornisce supporto meccanico alle ossa, ma è anche coinvolta nella regolazione dei processi di adesione, proliferazione e differenziazione cellulare che caratterizzano la completa fisiologia dell'osso maturo. La componente organica, sintetizzata dagli osteoblasti prima del processo di mineralizzazione e per questo definita osteoide, consiste principalmente di collagene di tipo I (90%) e di proteine non collageniche (10%).<sup>1</sup> Queste ultime possono essere classificate in quattro gruppi: proteoglicani, proteine contenenti  $\gamma$ -carbossiglutamato, glicoproteine e proteine SIBLING (*Small Integrin-Binding Ligands N-Linked Glycoproteins*).<sup>2</sup> La matrice osteoide viene poi mineralizzata così da formare la componente inorganica costituita da idrossiapatite e tracce di altri oligoelementi.

Di seguito saranno discusse la parte organica ed inorganica dell'osso.

## LA COMPONENTE ORGANICA DELLA MATRICE OSSEA

### PROTEINE COLLAGENICHE

Il principale componente organico della matrice ossea è il collagene, una proteina fibrosa che costitui-

TAB. 1.I. Principali proteine non collageniche.

Famiglia molecolare	Proteina specifica	Funzione
Proteoglicani	Biglicano (Proteoglicano I)	Regola la formazione delle fibre collagene Regola la mineralizzazione e la formazione dell'osso Lega fattori di crescita
	Decorina (Proteoglicano II)	Regola la formazione delle fibre collagene Lega fattori di crescita
Proteine contenenti $\gamma$ -carbossiglutamato	Osteocalcina	Lega cristalli di idrossiapatite Regola la mineralizzazione della matrice Lega osteopontina
	Proteina Gla della matrice (MGP)	Lega calcio e idrossiapatite
Glicoproteine	Osteonectina (SPARC)	Lega fibre collagene e cristalli di idrossiapatite Regola la mineralizzazione della matrice
	Trombospondine	Regolano il differenziamento delle cellule dell'osso Consentono il mantenimento della massa ossea
Proteine SIBLING	Osteopontina (sialoproteina 1)	Lega fibre collagene e cristalli di idrossiapatite Inibisce la mineralizzazione Consente l'adesione degli osteoclasti alla matrice ossea
	Sialoproteina 2 (BSP)	Regola il differenziamento degli osteoblasti Regola la mineralizzazione della matrice

sce circa l'85-90% della matrice organica dell'osso. Tra i diversi tipi di collagene, la forma predominante nella matrice ossea è quello di tipo I, formato da due catene  $\alpha_1$  identiche tra loro ed una catena  $\alpha_2$ . La biosintesi delle fibrille di collagene, o fibrillogenesi, è un processo complesso che comprende una sequenza di eventi intracellulari che consistono nella sintesi delle catene  $\alpha$  e formazione della tripla elica di procollagene di tipo I, che, in forma di vescicola, viene secreta dalla cellula. Nell'ambiente extracellulare l'azione di specifiche peptidasi rimuove i telopeptidi del procollagene determinando la formazione del tropocollagene. Le molecole di tropocollagene di tipo I si dispongono testa-coda in maniera spontanea formando file parallele di microfibrille ulteriormente aggregate in fibre di maggiori dimensioni.

Indagini microscopiche hanno permesso di far luce sull'orientamento delle fibre collagene nella matrice ossea. Nell'osso maturo dell'adulto esse sono disposte parallelamente tra loro nelle lamelle ossee dove la loro disposizione migliora le capacità biomeccaniche dell'osso, rendendolo molto resistente alle sollecitazioni. Quando le fibre collagene non sono così strettamente impacchettate, esse formano fasci orientati in modo piuttosto casuale e ciò si osserva nell'osso immaturo o non lamellare che si forma molto rapidamente durante lo sviluppo embrio-

nale o nei processi di riparazione delle fratture. Per la sua minore resistenza meccanica, l'osso non lamellare viene progressivamente sostituito dall'osso maturo durante il processo di rimodellamento che segue normalmente lo sviluppo dell'osso o la riparazione delle fratture.

Oltre al collagene di tipo I, nell'osso sono presenti tracce di altri tipi di collagene, quali il tipo III e V, che forniscono ulteriore flessibilità alla matrice ossea e/o contribuiscono alla regolazione della struttura e dell'organizzazione delle fibre collagene. Inoltre, sono presenti collagene di tipo IX, XII, XIV, XIX, XX e XXI, definiti non fibrillari o FACIT (*Fibril-Associated Collagens with Interrupted Triple Helices*) che fungono da ponti molecolari importanti per garantire la stabilità e la corretta organizzazione della matrice dell'osso.

### PROTEINE NON COLLAGENICHE

La famiglia delle proteine non collageniche ed il loro ruolo nella matrice ossea saranno descritte di seguito e schematizzate in **Tabella 1.I.**

#### Proteoglicani

I proteoglicani sono molecole formate da proteine legate a glicosaminoglicani o GAG (catene non ramificate di unità disaccaridiche ripetute). I proteo-

TAB. 1.II. Gli ormoni prodotti dall'osso.

Osteochina	Cellule produttrici	Organo/cellule target	Funzione
FGF-23	Osteociti, osteoblasti	Reni	Aumenta l'escrezione del fosfato e ne riduce il riassorbimento
		Paratiroidi	Regola la produzione di PTH
LCN2	Osteoblasti	Pancreas	Aumenta la secrezione di insulina e la proliferazione delle cellule $\beta$
		Ipotalamo	Regola l'appetito
Osteocalcina	Osteoblasti maturi	Pancreas	Aumenta la secrezione di insulina e la proliferazione delle cellule $\beta$
		Adipociti	Induce secrezione di adiponectina
		Cellule enteroendocrine	Stimola la secrezione di GLP-1 ( <i>Glucagon-Like Peptide-1</i> )
		Cellule muscolari	Favorisce uptake di glucosio e acidi grassi e il rilascio di IL-6
		Cellule di Leydig	Aumenta la produzione di testosterone
Sclerostina	Osteociti maturi	Reni	Regola l'assorbimento e la secrezione di calcio e fosforo
		Tessuto adiposo	Regola metabolismo e adipogenesi

glicani meglio conosciuti nell'osso sono il biglicano e la decorina.

Il biglicano è costituito da un *core* proteico legato a due GAG, rappresentati da due molecole di condroitinsolfato ed è presente nella matrice ossea sia quella osteoide che la mineralizzata.

La decorina, così detta perché tende ad associarsi alle microfibrille di collagene come a decorarle, è il proteoglicano più piccolo, formato da una parte proteica ed un solo GAG rappresentato da una molecola di condroitinsolfato. La decorina è presente solo nella matrice mineralizzata ma non nell'osteoide così da ipotizzare un suo contributo nell'indirizzare la deposizione dei cristalli minerali lungo le fibrille di collagene.

#### Proteine contenenti $\gamma$ -carbossiglutamato

Le proteine ossee contenenti acido  $\gamma$ -carbossiglutamico (Gla), di cui fanno parte l'osteocalcina e la proteina Gla della matrice (*Matrix Gla-Protein*, MGP), sono in grado di legare calcio in modo vitamina K-dipendente influenzando sul processo di mineralizzazione della matrice ossea.

L'osteocalcina, prodotta dagli osteoblasti, rappresenta circa il 3% delle proteine presenti nella matrice ossea. È formata da 49 aminoacidi, presenta 3 domini Gla che permettono l'interazione con l'idrossiapatite, ed è cruciale per l'allineamento dei cristalli paralleli alle fibre collagene. Per le caratteristiche strutturali, è anche nota come proteina Gla dell'osso (*bone gamma-carboxyglutamate protein*, BGLAP) dal gene *Bglap*

da cui è codificata. L'osteocalcina, nelle fasi di degradazione della matrice ossea, è rilasciata in circolo in forma decarbossilata, tale forma riduce l'affinità di legame per l'idrossiapatite, la determinazione dei suoi livelli viene interpretata come marker di formazione ossea. Studi su modelli animali hanno inoltre attribuito alla proteina diversi ruoli, uno dei quali è quello meccanico, poiché grazie all'interazione con un'altra proteina ossea, l'osteopontina, forma ponti molecolari con i cristalli di idrossiapatite. Si riconosce anche un'importante funzione endocrina poiché essa induce precisi effetti su diversi target non ossei (Tab. 1.II).

L'MGP è una piccola proteina della matrice ossea, sintetizzata da osteoblasti ed osteociti con caratteristiche strutturali simili all'osteocalcina, ha 5 residui Gla e lega calcio e idrossiapatite. Studi su modelli animali che non esprimono MGP manifestano una precoce mineralizzazione dell'osso, mentre l'overespressione di MGP da parte degli osteoblasti determina una ridotta mineralizzazione dell'osso intramembranoso.<sup>3,4</sup>

#### Glicoproteine

Tra le glicoproteine non collageniche dell'osso vi sono osteonectina e trombospondine (TSP).

L'osteonectina, nota anche come proteina SPARC (*Secreted Protein Acidic and Riche in Cystein*) è altamente espressa dagli osteoblasti, lega fortemente collagene di tipo I e idrossiapatite e svolge un ruolo cruciale nella mineralizzazione della matrice extracellulare.<sup>5,6</sup>

Le TSP, classificate da TSP1 a TSP5, sono presenti nello scheletro e nell'osso in via di sviluppo e sono espresse dagli osteoblasti. Studi su modelli murini *knockout* hanno dimostrato gravi anomalie nello sviluppo dello scheletro indicando che le TSP svolgono un ruolo critico nella differenziazione delle cellule ossee e nel mantenimento della massa ossea.<sup>7-9</sup>

Le spondine R sono un gruppo di quattro glicoproteine omologhe secrete (Rspo1-4) che appartengono alla famiglia delle proteine matricolari contenenti ripetizioni di trombospondina.

Nel tessuto osseo le spondine R sono identificate come regolatori dello scheletro che controllano lo sviluppo embrionale dell'osso e il rimodellamento nell'adulto.<sup>10</sup>

### Proteine SIBLING

Le più studiate proteine SIBLING presenti nella matrice mineralizzata dell'osso con funzione adesiva sono osteopontina (sialoproteina 1) e sialoproteina 2 (BSP).

Osteopontina è una glicoproteina acida fosforilata espressa dagli osteoblasti ma anche da cellule non ossee con ruoli in diversi processi fisiologici e patologici incluso l'infiammazione. Nell'osso però, per le sue caratteristiche molecolari stabilisce interazioni con fibre collagene, ha forte affinità per l'idrossiapatite ed è coinvolta nell'inibizione della mineralizzazione. Ad essa aderiscono gli osteoclasti per polarizzarsi sulla superficie ossea ed iniziare il processo di riassorbimento. Pertanto, l'osteopontina risulta un importante modulatore del *turnover* osseo inibendo la mineralizzazione e favorendo differenziazione e attività degli osteoclasti.

La BSP è una glicoproteina acida esclusiva della matrice ossea. È importante per la differenziazione osteoblastica, per le prime fasi di nucleazione dei cristalli e della loro crescita partecipando così al processo di mineralizzazione della matrice.<sup>11</sup>

### LA COMPONENTE INORGANICA DELL'OSSO

La componente inorganica o minerale dell'osso è costituita principalmente da fosfato e carbonato di calcio, che formano i cristalli di idrossiapatite ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ), e da tracce di altri elementi (sodio, magnesio potassio e altri). Durante il processo di mineralizzazione, il fosfato di calcio precipita inizialmente sotto forma di minutissimi aggregati

amorfi che crescono ed assumono l'aspetto tipico dei cristalli di apatite circondati da un guscio di molecole di acqua. Nella matrice essi si dispongono parallelamente alle fibre collagene prevalentemente nelle regioni di interruzione risultando così perfettamente incorporati alla matrice organica conferendo all'osso durezza e resistenza.

### Le cellule dell'osso

L'omeostasi del tessuto osseo viene mantenuta e regolata dall'azione di quattro tipi cellulari che differiscono tra di loro per origine, funzione e caratteristiche morfologiche: gli osteoclasti, che appartengono alla famiglia dei monociti-macrofagi e le cellule osteoprogenitrici, osteoblasti ed osteociti che originano da cellule mesenchimali.

### OSTEOCLASTI

Gli osteoclasti sono cellule giganti multinucleate (4-20 nuclei) deputate al riassorbimento della matrice ossea. Essi derivano da cellule della linea monocito-macrofagica che, per azione di specifiche citochine, differenziano in preosteoclasti mononucleati che poi si fondono per generare gli osteoclasti polinucleati maturi. Le molecole che guidano il processo di osteoclastogenesi, prodotte da cellule stromali del midollo osseo, osteoblasti e cellule osteoprogenitrici, sono: il fattore stimolante colonie di monociti-macrofagi, l'M-CSF (*Macrophagy-Colony Stimulating Factor*), ed una citochina appartenente alla stessa famiglia del *Tumor Necrosis Factor*, il RANKL (*Receptor Activator of Nuclear Factor  $\kappa$ B Ligand*).<sup>12</sup> L'M-CSF, legandosi al suo recettore (CSF1R) stimola la proliferazione dei preosteoclasti, che esprimono sulla membrana il recettore RANK in grado di legare RANKL e favorire il differenziamento in osteoclasti. RANKL poi promuove l'espressione di fattori osteoclastogenici DC-STAMP e NFATc1.<sup>12</sup> La proteina transmembrana DC-STAMP è rilevante per la fusione dei preosteoclasti, mentre l'interazione di NFATc1 con i fattori di trascrizione PU.1, cFos e MITF induce l'espressione di molecole, come fosfatasi acida tartrato-resistente, TRAP, e catepsina K, tipici *marker* degli osteoclasti in grado di riassorbire la matrice.<sup>12</sup> L'azione del RANKL è inibita dalla citochina osteoprotegerina (OPG), una glicoproteina prodotta da osteoblasti, osteociti e cellule stromali midollari, che agisce come "recettore esca" di RANKL al quale si lega con elevata affinità diminuendone la disponi-

bilità per il recettore RANK con riduzione della formazione di osteoclasti.

L'osteoclasta maturo è una cellula voluminosa dall'aspetto tondeggiante con piccoli ripiegamenti uniformi sulla membrana, nuclei in posizione centrale e organuli intracellulari distribuiti nel citosol, ma quando l'osteoclasta diventa attivo nel riassorbimento della matrice esso cambia completamente forma.

Nel processo di riassorbimento, si distinguono quattro fasi: ancoraggio, polarizzazione cellulare, riassorbimento e distacco.

Nella fase di adesione alla superficie ossea l'osteoclasta riorganizza il citoscheletro ed un *core* di microfilamenti di actina tiene in asse tozze e corte estroflessioni, dette podosomi, a livello delle quali la cellula esprime l'integrina  $\alpha\beta3$  per l'adesione all'osteopontina. Si genera così una zona, detta chiara o sigillante, priva di organelli che isola la cellula dall'ambiente extracellulare. La regione ventrale della membrana dell'osteoclasta affronta la matrice ossea e si estroflette ed introflette numerose volte in microvilli che formano un tipico orletto arruffato (*ruffled border*) rivolto verso lo spazio sigillato detto lacuna di riassorbimento o di Howship. Qui si genererà un pH acido (da 4 a 5) grazie al rilascio di ioni  $H^+$ , tramite pompe protoniche  $H^+$ -ATPasi localizzate nell'orletto arruffato, e ioni  $Cl^-$ , tramite uno specifico canale. Il pH acido è necessario per la dissoluzione dei cristalli di idrossiapatite e la successiva esposizione della componente organica. Questa sarà degradata ad opera di enzimi idrolitici lisosomiali (catepsina K e metalloproteasi della matrice) ed i prodotti della degradazione, internalizzati dagli stessi osteoclasti mediante endocitosi a livello dell'orletto arruffato, saranno poi rilasciati tramite esocitosi nel dominio basolaterale in contatto con l'ambiente extracellulare.

Al termine del processo di riassorbimento, gli osteoclasti si distaccano dalla matrice ossea per trovare altre regioni in cui proseguire la loro attività erosiva e poi vanno incontro ad apoptosi.

L'attività degli osteoclasti, nonché il processo di riassorbimento osseo, sono finemente regolati da diversi fattori sistemici che saranno discussi nel paragrafo "Il modellamento dell'osso".

### LE CELLULE OSTEOPROGENITRICI

Le cellule osteoprogenitrici derivano dalle cellule staminali mesenchimali del midollo osseo e rappre-

sentano una popolazione cellulare piuttosto eterogenea in grado di differenziare in cellule osteogeniche (preosteoblasti ed osteoblasti) nel corso del rimodellamento osseo e della riparazione di fratture.<sup>13</sup> Le cellule osteoprogenitrici sono localizzate nel periostio, nell'endostio e sulle trabecole in via di ossificazione. Nell'endostio, queste cellule formano le cosiddette cellule allineate (*bone lining cells*) che vengono considerate degli osteoblasti quiescenti in grado di riacquisire la capacità di formare nuovo tessuto osseo dopo opportuna attivazione. Morfologicamente, le cellule osteoprogenitrici sono appiattite o pavimentose, il reticolo endoplasmico rugoso è scarso ed è ridotto l'apparato di Golgi e pochi altri organelli.<sup>13</sup>

### OSTEOBLASTI

Gli osteoblasti sono cellule mononucleate deputate alla produzione di tutte le componenti della matrice ossea.<sup>14</sup>

Gli osteoblasti derivano da cellule staminali mesenchimali il cui differenziamento verso il fenotipo osteogenico è graduale e finemente controllato da una definita sequenza di eventi molecolari che coinvolgono numerosi ormoni, fattori di crescita e di trascrizione. Tra i principali fattori di crescita vi sono le BMP (*Bone Morphogenetic Protein*), l'FGF (*Fibroblast Growth Factor*) e le glicoproteine WNT (*Wingless-Related Integration Site*). La via di segnalazione innescata dalle glicoproteine WNT, dopo il loro legame al recettore *Frizzled* e al corecettore LRP5/6, attiva un segnale intracellulare che determina l'azione di RUNX2 (*Runt-related Transcription Factor 2*), OSX (*Osterix*) e DLX5 (*Distal-less homeobox 5*). Evidenze sperimentali in modelli murini suggeriscono che RUNX2 sia il primo regolatore dell'osteoblastogenesi tanto che l'assenza del gene che lo codifica determina la completa mancanza di tessuto osseo. RUNX2 attiva l'espressione di geni (*Colla1, Alp, Bsp, Bglap, Ocn*, ecc.) che codificano per le componenti organiche della matrice e di altri fattori di trascrizione, in particolare, di OSX.<sup>13</sup> OSX viene considerato il secondo fattore chiave dell'osteoblastogenesi, richiesto per il differenziamento dei preosteoblasti in osteoblasti maturi. Studi *in vitro* ed *in vivo* hanno portato alla scoperta di diverse molecole in grado di inibire l'osteoblastogenesi e, di conseguenza, la formazione del tessuto osseo. Alcuni esempi sono sclerostina e DKK1 (*Dickkopf-1*)

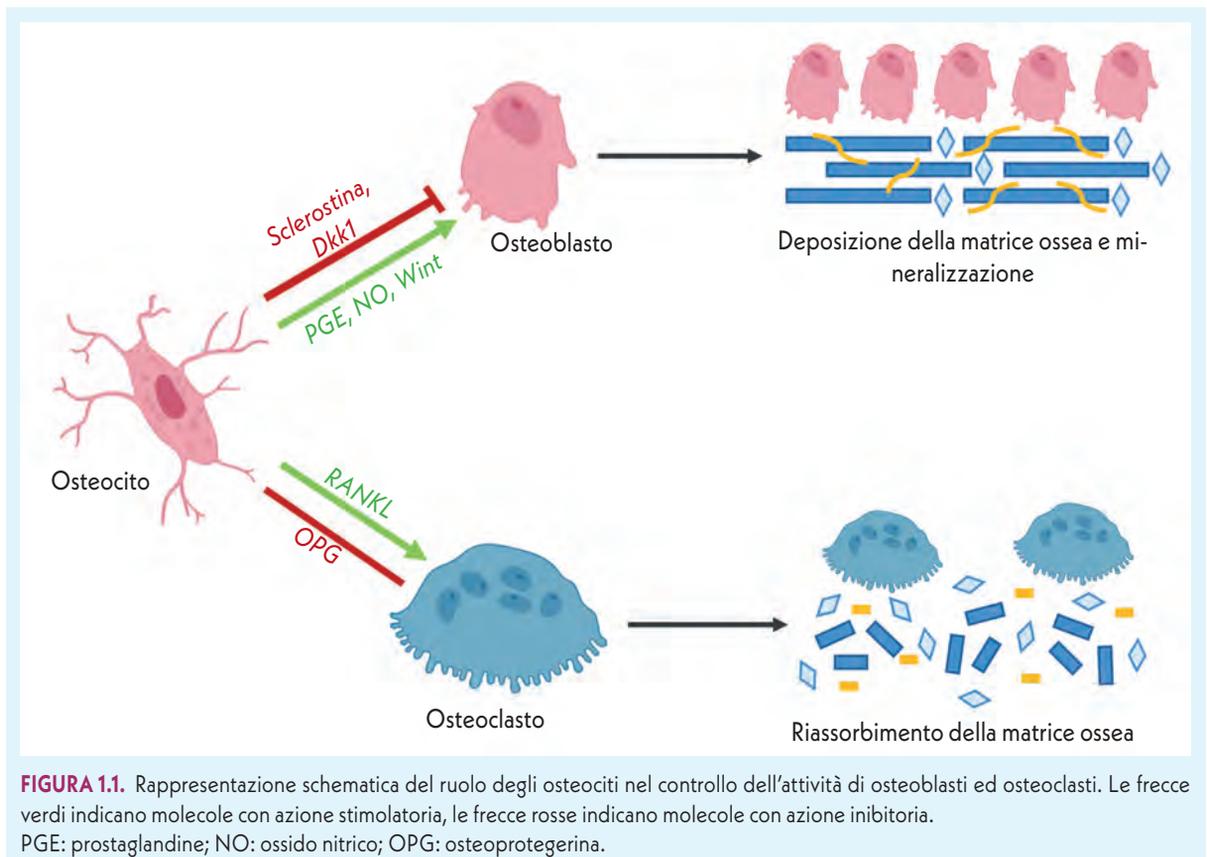
che interferiscono entrambi con la via di segnalazione delle proteine WNT interagendo con il co-recettore LRP5/6.

Indagini microscopiche hanno evidenziato notevoli differenze morfologiche negli osteoblasti in relazione al loro stato funzionale.<sup>15</sup> Gli osteoblasti inattivi sono simili alle cellule osteoprogenitrici ed hanno una forma appiattita, mentre quelli attivi sono cuboidali e, in quanto secernenti, presentano un esteso reticolo endoplasmico rugoso, un prominente apparato di Golgi e numerose vescicole di secrezione.<sup>15</sup> Durante la sintesi della matrice ossea, gli osteoblasti si dispongono a formare un monostrato epiteloide nel quale le cellule adiacenti sono unite lateralmente da giunzioni simil-occludenti ed assumono l'aspetto di cellule polarizzate per l'esocitosi delle componenti della matrice.<sup>15</sup> Bisogna specificare che la sintesi della matrice ossea da parte degli osteoblasti si realizza in due fasi distinte; una prima fase in cui producono le componenti organiche della matrice che formano l'osteoido, seguita da una seconda fase, nella quale inizia la mineralizzazione dell'osteoido.

Gli osteoblasti che restano intrappolati nella matrice ossea vanno incontro all'ultimo stadio del differenziamento osteogenico, modificano la loro forma emettendo numerosi prolungamenti citoplasmatici e attivano specifici geni diventando osteociti. Gli osteoblasti che restano localizzati sulla superficie dell'osso assumono una morfologia appiattita e diventano *bone lining cells*, altri vanno incontro ad apoptosi.<sup>13</sup>

### OSTEOCITI

Gli osteociti sono la popolazione cellulare più numerosa e longeva del tessuto osseo (90-95% di tutte le cellule) con una sopravvivenza media di 10-20 anni. Come descritto nel paragrafo precedente, gli osteociti derivano dagli osteoblasti e questo processo di differenziamento coinvolge un fattore chiave, la proteina E11, che rappresenta il *marker* specifico di una popolazione cellulare che comincia ad emettere i prolungamenti.<sup>16</sup> Questi poi si allungano e all'estremità stabiliscono contatti con altri osteociti o cellule localizzate sulla superficie dell'osso (osteoblasti e *bone lining cells*) tramite *gap junction* formando un esteso sincizio funzionale.<sup>17</sup>



Il corpo cellulare degli osteociti è alloggiato in piccole cavità lenticolari non mineralizzate, le lacune ossee o osteocitarie, mentre i prolungamenti cellulari decorrono in sottili canalicoli. Sono gli stessi osteociti che con l'attività di deposizione e degradazione mantengono non mineralizzata la matrice in cui si trovano e di cui si circondano. Il corpo cellulare e i canalicoli sono permeati dal fluido interstiziale che è sia fonte di nutrienti sia mezzo per lo scambio di fattori solubili (citochine, ormoni, ecc.) con altre cellule.<sup>17</sup> Il fluido, inoltre, consente agli osteociti di svolgere la loro funzione di meccanosensori. Infatti, le variazioni di carico meccanico sull'osso determinano cambiamenti nel flusso del liquido interstiziale che possono essere rilevati dal ciglio primario presente sul corpo cellulare degli osteociti. L'attivazione di questo sensore induce la secrezione di specifici fattori che, in base al carico meccanico, favoriscono la formazione o il riassorbimento del tessuto osseo.<sup>17</sup>

Oggi sappiamo che gli osteociti sono i regolatori del rimodellamento poiché, con le molecole da essi prodotte, supportano sia l'osteoblastogenesi via prostaglandine (PGE), ossido nitrico (NO) e WNT che l'osteoclastogenesi via RANKL. Al contrario possono inibire gli osteoblasti e la formazione ossea, attraverso inibitori della via di WNT, DKK1 e sclerostina, o anche il riassorbimento osseo, attraverso la secrezione di OPG. In **Figura 1.1** è schematizzato il ruolo regolatorio degli osteociti nei confronti di osteoblasti e osteoclasti.

Morfologicamente gli osteociti presentano un aspetto che cambia a seconda della loro attività funzionale. Gli osteociti definiti formativi presentano la maggior parte delle caratteristiche ultrastrutturali degli osteoblasti dai quali derivano, come un abbondante reticolo endoplasmico rugoso e apparato di Golgi. Le dimensioni cellulari si riducono negli osteociti quiescenti (o maturi) che presentano uno scarso apparato di Golgi e reticolo endoplasmico rugoso. Il terzo tipo di osteociti, chiamati riassorbenti, possiedono numerosi profili di reticolo endoplasmico rugoso e apparato di Golgi come gli osteociti formativi, ed inoltre contengono numerosi lisosomi per il rilascio di molecole atte alla lisi della matrice nella lacuna osteocitaria. Giunti al termine del loro ciclo vitale, gli osteociti retraggono i loro prolungamenti e vanno incontro a degenerazione (**Fig. 1.1**).

## L'OSSO COME ORGANO: ORGANIZZAZIONE MACROSCOPICA

Le ossa che costituiscono lo scheletro possono essere distinte in base alla loro forma in:

- lunghe (ad es. tibia, femore, omero, ecc.) con la lunghezza che prevale sulle altre dimensioni. Queste ossa presentano due estremità più ampie, le epifisi, una porzione cilindrica cava al centro, o diafisi, e due zone di transizione tra epifisi e diafisi denominate metafisi;
- piatte (ad es. ossa della volta del cranio, scapola, mandibola e ileo), con profilo appiattito e sottile;
- corte (ad es. ossa del carpo della mano) con lunghezza e diametro equivalenti;
- irregolari (ad es. vertebre) con forma complessa.

Nell'adulto il tessuto osseo è macroscopicamente distinto in corticale o compatto e trabecolare o spugnoso con localizzazioni diverse a seconda della forma delle ossa ed ha un'organizzazione lamellare.<sup>16</sup> Nell'osso corticale a livello delle diafisi delle ossa lunghe e delle parti più esterne delle ossa piatte, corte e irregolari si distinguono sistemi lamellari circolari esterni ed interni e tra questi vi sono delle strutture cilindriche, gli osteoni, con lamelle concentriche intorno ad un canale centrale di Havers, occupato da vasi sanguigni e fibre nervose. Inoltre, per effetto dei costanti processi di rimodellamento che avvengono nell'osso, residui di lamelle di osteoni parzialmente riassorbiti si interpongono tra gli osteoni di recente formazione formando le lamelle interstiziali.<sup>16</sup>

L'osso spugnoso, maggiormente rappresentato a livello delle epifisi delle ossa lunghe e nella parte centrale delle ossa piatte e corte, presenta una struttura porosa o ad alveare, con lamelle di matrice ossea organizzate in trabecole o spicole che delimitano ampie cavità di dimensioni diverse nelle quali alloggiavano il midollo osseo ed i vasi. La peculiare struttura dell'osso spugnoso lo rende più leggero senza ridurre la capacità di sopportare carichi. Inoltre, la disposizione delle trabecole, che dipende dalle linee di carico, permette all'osso spugnoso di sopportare sollecitazioni meccaniche provenienti da direzioni diverse.

Le superfici esterne ed interne delle ossa sono rivestite da membrane connettivali, denominate rispettivamente periostio ed endostio. Queste strutture, oltre a svolgere una funzione di rivestimento,

sono fondamentali nei processi di formazione e crescita dell'osso e di riparazione per la presenza di cellule con potenziale osteogenico.<sup>16</sup> Il periostio, infatti, possiede uno strato cambiale interno, riccamente vascolarizzato, che partecipa ai processi di formazione dell'osso, sia durante lo sviluppo prenatale che nel rimodellamento, e nei processi riparativi nell'adulto, grazie alle cellule osteoprogenitrici, in grado di differenziare in osteoblasti. Lo strato fibroso esterno del periostio assolve, invece, un ruolo meccanico e nutritivo, essendo costituito da tessuto connettivo denso, anch'esso ricco di vasi, dal quale originano grossi fasci di fibre collagene, dette fibre di Sharpey, che ancorano il periostio all'osso sottostante.<sup>16</sup> Analogamente al periostio, anche l'endostio, che riveste sia le cavità midollari che i canali vascolari, contiene cellule osteoprogenitrici o endostali, in grado di favorire i processi di formazione e di riparazione dell'osso.

L'osso è un tessuto altamente vascolarizzato nel quale la ricca perfusione consente il rifornimento di ossigeno e nutrienti e la rimozione dei prodotti del metabolismo ad una vasta popolazione cellulare che comprende oltre alle cellule ossee anche quelle del midollo osseo (cellule ematopoietiche, cellule stromali e adipociti). I vasi sanguigni permettono anche lo scambio di segnali molecolari che modulano l'attività delle cellule ossee e di quelle di altri tessuti distanti dall'osso. La vascolarizzazione svolge, inoltre, un ruolo significativo durante i processi di formazione dell'osso (ossificazione), di rigenerazione e di rimodellamento.<sup>18</sup>

A livello macroscopico, la vascolarizzazione cambia a seconda della forma delle ossa. Le ossa lunghe ricevono l'apporto di sangue da più fonti: arterie nutritive, periostali e metafisarie-epifisarie.<sup>19</sup> Le arterie nutritive principali vascolarizzano la diafisi e garantiscono il maggiore apporto ematico penetrando nell'osso corticale attraverso i forami nutritivi e dividendosi, nella cavità midollare, in rami ascendenti e discendenti che a loro volta si dividono in vasi più piccoli che possono raggiungere la superficie endostale. L'osso corticale è anche perfuso dal sangue arterioso che deriva dalle piccole arterie periostali che sono connesse alle arterie dei sistemi Haversiani tramite le arterie dei canali di Volkmann.

In prossimità delle epifisi, le ramificazioni delle arterie nutritive possono anastomizzarsi con i rami terminali delle arterie metafisarie ed epifisarie.

Queste ultime entrano nell'osso a livello di regioni adiacenti alle articolazioni e, a differenza delle arterie nutritive, non si approfondano nella regione midollare restando localizzate nelle epifisi.<sup>20</sup>

Per le ossa piatte è stato dimostrato che lo spessore dell'osso influenza fortemente la vascolarizzazione in quanto le regioni con uno spessore inferiore a 0,4 mm possiedono solo reti vascolari periostali e superficiali, con vasi di grande calibro che collegano i due lati dell'osso in assenza di una vera e propria rete vascolare interna. Al contrario, le ossa piatte con uno spessore superiore a 0,4 mm presentano una rete vascolare simile a quella delle ossa lunghe, infatti, si osservano distinte reti vascolari periostali, corticali e midollari.<sup>19</sup>

Parallelamente al sistema arterioso è presente un sistema venoso che drena il sangue refluo dall'osso. Nelle ossa lunghe le vene principali che ricevono il sangue deossigenato da capillari presenti in varie regioni della diafisi escono dai forami nutritivi con le arterie nutritive. Anche nelle epifisi sono presenti delle vene, ma queste presentano un calibro più ridotto delle precedenti.<sup>20</sup>

## IL RIMODELLAMENTO OSSEO

L'osso è un tessuto altamente dinamico che per tutta la vita è in rinnovamento costante grazie al processo di rimodellamento, in cui osso invecchiato e danneggiato viene rimosso dagli osteoclasti e una eguale quantità di nuovo osso viene depositato dagli osteoblasti.<sup>21</sup>

In condizioni normali, questi eventi sono in equilibrio e strettamente regolati per garantire che non ci siano alterazioni significative della massa e della resistenza meccanica dell'osso ad ogni ciclo di rimodellamento. Il coordinamento tra il riassorbimento e la neoformazione di tessuto osseo è reso possibile dall'organizzazione di squadre di cellule, chiamate unità multicellulari di rimodellamento osseo (*Bone Multicellular Unit*, BMU). Queste unità sembrano essere per lo più distribuite in modo casuale in tutto lo scheletro, ma la loro attività può essere innescata da microfratture o dall'apoptosi degli osteociti. Le BMU sono strutturate in maniera diversa nell'osso compatto e spugnoso. Nell'osso compatto, le BMU sono costituite da un gruppo di osteoclasti che formano il cono di taglio, seguiti da un gruppo