

Principios Básicos de la Osteoimmunología en las Enfermedades Reumáticas

Consuelo Rodríguez Martínez,
Médica Becada, Inmunología Clínica,
Universidad de Chile

Resumen

El estudio de la inmunología ósea va adquiriendo cada vez mayor relevancia en la comprensión de las enfermedades reumatológicas y sus potenciales manejos. El conocimiento de la estructura y función ósea de los distintos tipos de tejidos óseos, así como las vías clave involucradas en los procesos de osificación y remodelación ósea, son hoy en día puntos fundamentales para entender y proponer nuevos tratamientos. Mediante el estudio de la osteoimmunología se ha logrado explicar procesos característicos de las enfermedades reumatológicas, como lo son las erosiones óseas yuxta-articulares, la osteoporosis periarticular y sistémica, además de la neoformación de hueso que ocurre en enfermedades como la espondilitis anquilosante o la osteoartritis. A continuación se expone una revisión detallada de los conocimientos actuales en osteoimmunología.

Palabras clave: Osteoimmunología, osificación, enfermedades reumáticas.

Basic Principles of Osteoimmunology in Rheumatic Diseases

Summary

The study of osteoimmunology is gaining increasing importance in the understanding of rheumatic diseases and their potential treatments. The knowledge of the bone structure and function of the different types of bone tissues, as well as the key pathways involved in the processes of ossification and bone remodeling, are now key points in the understanding and the development of new treatments. The osteoimmunology has explained different processes that are characteristic in the rheumatic diseases, such as juxta-articular bone erosions, periarticular and systemic osteoporosis, as well as the new

bone formation that occurs in diseases such ankylosing spondylitis or osteoarthritis. In this presentation, it will be presented a detailed review of the current knowledge in osteoimmunology.

Key words: Osteoimmunology, ossification, rheumatic diseases.

La osteología y la inmunología corresponden a dos disciplinas independientes, pero muy relacionadas entre sí. La rápida pérdida ósea, mediada por la activación de los osteoclastos, que ocurre en pacientes con artritis reumatoide (AR), así como con otras enfermedades inflamatorias crónicas, autoinmunes, cáncer, sumada a la evidencia de fenómenos inmunológicos en la osteoporosis, llevaron en el año 2000 a Aoron y Choi a acuñar el término de osteoimmunología, disciplina que ha adquirido cada vez más importancia.^(1,2)

Los mecanismos involucrados en la osteoimmunología se convierten así en un nicho importante de investigación actual, que nos ayudará a entender y potencialmente crear nuevas estrategias terapéuticas para evitar o disminuir el daño óseo en las enfermedades inmunológicas.⁽²⁾

ESTRUCTURA Y FUNCIÓN ÓSEA

El hueso es un órgano muy activo, desde el punto de vista funcional, altamente organizado y que forma la mayor parte del esqueleto. Sus principales funciones son la protección de los órganos internos y el soporte de las estructuras corporales. Sirve además como sitio de anclaje de la musculatura esquelética, permitiendo la movilidad del cuerpo; es el recipiente de la médula ósea hematopoyética y un gran reservorio mineral, participando activamente en la mantención de la homeostasis del calcio y fósforo.

La estructura ósea está formada por células y la matriz extracelular (MEC), esta última dividida en MEC orgánica formada principalmente por colágeno tipo I (95%), así como otros tipos de colágeno, proteínas no colagenosas y proteoglicanos. La MEC inorgánica, por su parte, está formada principalmente por calcio y fósforo en forma de cristales de hidroxapatita, los cuales se depositan sobre la MEC orgánica colagenosa.⁽²⁾ Las células que forman el hueso pueden ser de origen hematopoyético, como los osteoclastos, encargados de la resorción ósea, o de origen mesenquimatoso, tales como los condroblastos y osteoblastos, que se diferencian a osteocitos.

TIPOS DE TEJIDO ÓSEO⁽³⁾

Existen dos tipos de tejidos óseos: el cortical o compacto y el trabecular o esponjoso. En el hueso el tejido óseo compacto se encuentra en la zona externa, mientras que el tejido esponjoso se ubica en la parte interna, delimitando cavidades en las que se ubica la médula ósea. El hueso cortical se encuentra principalmente en las diáfisis de los huesos largos y está formado por numerosas osteonas o sistemas cilíndricos haversianos superpuestos entre sí. En el centro de la osteona existe un lumen por donde pasa el paquete vasculonervioso, que está rodeado de densas laminillas de colágeno concéntricas, entre las cuales se disponen los osteocitos (osteoblastos con diferenciación terminal). Los osteocitos se comunican entre sí por medio de canaliculos, permitiendo de esta manera el intercambio de nutrientes, desechos y estímulos mecánicos. Los vasos sanguíneos de las osteonas se comunican con la superficie ósea por medio de los canales de Volkmann. Esta organización le otorga al hueso una resistencia máxima a las fuerzas de torsión y flexión, así como a la carga.

Por su parte, el hueso esponjoso se encuentra principalmente a nivel de las epífisis de los huesos largos, en huesos planos y en los cuerpos vertebrales, donde las fuerzas son aplicadas en distintos ejes. Está compuesto por una malla de trabéculas que le permite disminuir el peso sin alterar la resistencia tensil y lograr una amplia superficie ósea. Si consideramos que la remodelación ósea ocurre sólo a nivel de la superficie ósea, el hueso trabecular es muy rápido de reparar, pero a la vez desproporcionadamente susceptible de daño. El hueso esponjoso es mucho más activo metabólicamente, aportando los minerales necesarios ante estados de déficits agudos.⁽⁴⁾

PROCESO DE OSIFICACIÓN: INTRAMEMBRANOSO Y ENDOCONDRALE

Durante el desarrollo embrionario ocurren dos formas de osificación: la intramembranosa o directa y la endocondral o indirecta.

La osificación intramembranosa ocurre en los huesos planos de la bóveda craneal. En este proceso, que ocurre sobre una base de tejido conectivo, las células mesenquimales progenitoras se diferencian directamente en osteoblastos, los cuales producen espículas óseas confluyentes que forman una red trabecular de tejido óseo. Esta red será luego revestida de firmes laminillas de colágeno en distintas direcciones que le otorgan gran resistencia. Posteriormente se deposita sobre esta red el componente mineral de calcio y fósforo, formándose así la matriz ósea mineralizada. Una vez que finaliza el proceso, los osteoblastos se encontrarán embebidos por la matriz ósea, determinando así su diferenciación terminal hacia osteocitos. Es así como, durante la osificación intramembranosa, se forma tejido óseo a partir de tejido conjuntivo, sin pasar por una etapa cartilaginosa.

Más allá del período embrionario, este tipo de osificación puede ocurrir también posterior a fracturas o en la enfermedad de Paget.

En la pelvis, columna vertebral y extremidades ocurre otro tipo de osificación, la osificación endocondral, un proceso formado por múltiples pasos, que depende de la secuencial formación y degradación de estructuras de cartílago hialino, que sirven de molde para la formación de hueso. En este proceso, las células mesenquimales progenitoras se diferencian primariamente a condrocitos, los cuales producen cartílago hialino desprovisto de vasos sanguíneos. Los condrocitos, a medida que se van formando, se agrupan y generan un modelo cartilaginoso de lo que será el futuro hueso. Luego, mediante la secreción de colágeno y fosfatasas alcalinas, permiten el crecimiento intersticial longitudinal del molde cartilaginoso. Cuando a nivel de la diáfisis del molde cartilaginoso penetra la arteria nutricia, las células mesenquimales ubicadas en la periferia del molde (pericondrio) se diferencian a osteoblastos y comienza la osificación endocondral primaria. Los condrocitos destinados así a la apoptosis secretan MMP-13, la cual degrada la matriz colagenosa del molde en forma longitudinal, creando canales para el paso de los vasos sanguíneos, las células del frente osificante y los constituyentes de la médula ósea. Los osteoblastos depositan matriz ósea a nivel de los restos de los con-

drocitos, formando las trabéculas del hueso esponjoso. Luego aparecen los osteoclastos que forman el canal medular a romper las trabéculas. Este proceso es clave también en etapas posteriores al período embrionario, como durante la reparación de fracturas óseas.

Cuando las arterias invaden la epífisis de los huesos largos, comienza la osificación secundaria, proceso muy similar a la osificación endocondral primaria, exceptuando que sucede exclusivamente a nivel de las epífisis de los huesos largos, y que no ocurre formación de canal medular.

A nivel del límite entre la epífisis y la diáfisis, persiste cartílago hialino, formando así los platillos de crecimiento, que permiten la proliferación de los condrocitos y el hueso largo en forma longitudinal.

Este proceso finaliza una vez que el platillo de crecimiento esté totalmente osificado.

El cartílago hialino presente en las superficies articulares a nivel de los extremos de los huesos largos permanece sin calcificarse.^(3,6)

Se ha visto que el proceso de osificación endocondral ocurre, además, en forma patológica en pacientes con espondilitis anquilosante, siendo responsable de gran parte de las manifestaciones clínicas de la enfermedad.⁽⁵⁾

REGULACIÓN DE LA OSIFICACIÓN ENDOCONDAL

La formación de hueso endocondral es controlada por dos vías moleculares principales, comunicadas entre sí. En etapas iniciales el control está dado principalmente por proteínas morfogénicas óseas (BMP), una familia de citoquinas y factores de crecimiento que pertenecen a la superfamilia del factor de crecimiento transformante beta (TGF β). A través de la vía de señalización Smad (*mothers against decapentaplegic homolog*) las distintas BMP actúan en distintas etapas de la diferenciación de los condrocitos y osteoblastos. Además, existe una vía independiente de las Smad, llamada vía no canónica de las BMP. Por cualquiera de las dos vías de las BMP estimuladas se producen factores de crecimiento, como Runx2, Dlx5, OsX, claves en la diferenciación de condrocitos y osteoblastos a partir de células mesenquimales. La activación de la vía de las BMP determina la producción de Dickkopf 1 (DKK1) y esclerostina, dos proteínas inhibitoras de la vía Wntless. Esta regulación es clave, ya que se ha visto que la delección de estos inhibidores libera a la vía Wntless, determinando un aumento significativo de la masa ósea.

Por su parte, la vía de las BMP es regulada negativamente por noggin, proteína que impide la unión de los ligandos a las BMP.^(3,5,6)

La vía Wntless (Wnt) es una vía de señalización intracelular clave en múltiples procesos, como son la proliferación, diferenciación, supervivencia y motilidad celular. Es crucial para el desarrollo embrionario, la mantención de la homeostasis tisular, el desarrollo del sistema inmunológico, hematológico, así como del tejido óseo, ya que participa en la determinación de los linajes celulares a nivel de las células progenitoras. A nivel de leucocitos funciona como un mecanismo universal que permite la producción de un pool de células indiferenciadas, para su posterior selección, maduración a células efectoras y diferenciación terminal. Por esta razón, esta vía debe tener un control muy estricto, pues las disregulaciones en ella determinan la formación de neoplasias, principalmente hematológicas.^(3,7,8)

Existen al menos tres vías distintas de Wnt: la canónica o de las β -cateninas, la vía de la polaridad celular plana y la vía dependiente de calcio. Se comentará con más detalle la vía canónica al ser la involucrada en la homeostasis ósea.

A nivel óseo, esta vía regula la diferenciación de los osteoblastos, por lo que un aumento de la actividad de ésta determina un aumento en la masa ósea. Esta vía es clave en etapas tardías de la formación de hueso endocondral, al actuar sobre las células mesenquimales, donde la β -catenina a nivel del núcleo determina la diferenciación hacia el linaje osteoblástico y la inhibición de la diferenciación de osteoclastos. De esta forma la señalización Wnt es reconocida actualmente como la vía dominante de la regulación de la remodelación ósea.⁽⁵⁻⁸⁾

En condiciones basales, en ausencia de ligandos activadores de la vía canónica de Wnt, los niveles de β -catenina en el citoplasma y núcleo son muy bajos, secundario a la continua fosforilación de ésta, por medio de las serino/treonina quinasas CK1 (casein kinasa 1) y la quinasa sintetasa de glicógeno 3B (GSK3B), que lleva a la formación de complejos proteicos que son degradados en el proteosoma. A nivel nuclear, el factor de células T (TCF) se encuentra unido a proteínas represoras que evitan la expresión de los genes asociados a Wnt, y por su parte la unión entre β -catenina y TCF a nivel nuclear es inhibida por ICAT. El complejo receptor Frizzled (FZD), compuesto por FZD y los correceptores relacionados con las lipoproteínas de baja densidad

5 y 6 (LRP5/6), por su parte, es activamente inhibido por proteínas solubles como el homólogo DKK1.

Cuando las proteínas de la vía canónica de Wnt se unen en sus células blanco al complejo receptor de transmembrana FZD-LRP5/6, se inicia una cascada de señalización. LRP es fosforilado por CK1 y GSK3B y de esta forma las quinasas del complejo de destrucción de β -catenina se inactivan y se inhibe la degradación intracelular de β -catenina. Como consecuencia del aumento intracelular de los niveles de β -catenina, ésta es trasladada al núcleo, donde forma un complejo activo con el TCF y LEF (*lymphoid enhancer binding factor*), entre otros, que permite la transcripción de los genes blanco, entre ellos el ya nombrado Runx2, clave en la diferenciación de osteoblastos. ^(3,7-9)

Esta vía de señalización está regulada en distintos niveles, por ejemplo, por la presencia o no de ligandos de Wnt, correceptores LRP, moléculas de señalización intracelular y de los factores de transcripción. Más allá, es regulada también por factores extracelulares inhibitorios, como proteínas solubles relacionadas con FZD, factores inhibidores de los ligandos de Wnt, como las ya nombradas DKK1 y la esclerostina; ambas se unen a los correceptores LRP5/6 y evitan así la formación del complejo receptor con FZD. La esclerostina se expresa exclusivamente en los osteocitos.

La DKK1 ha sido implicada como una supresora de la formación ósea en artritis reumatoide, siendo activada por el TNF α y detectada a nivel sérico y sinovial en estos pacientes. Esta proteína sería la principal responsable de la escasa reparación ósea existente en la AR, al reducir la actividad de la vía Wnt. ⁽⁵⁾

REMODELACIÓN ÓSEA

Los constantes cambios en las demandas funcionales a las que se somete el sistema esquelético requieren una permanente adaptación de su estructura y microarquitectura, proceso conocido como remodelación ósea. ⁽³⁾

En general, un 5% a 25% de nuestro esqueleto se encuentra en constante remodelación, proceso que dura alrededor de tres meses. Se estima que cada 10 años ocurre un ciclo de recambio del esqueleto completo.

El proceso de recambio óseo se inicia con la detección de señales activadoras por parte del osteocito, tales como tensión mecánica, daño estructural, procesos sistémicos que determinen cambios en los niveles hormonales (paratohormona [PTH], estrógenos, corticoi-

des exógenos). Estos estímulos llevan a apoptosis a los osteocitos, lo que favorece el reclutamiento de precursores de osteoclastos, al disminuir su factor inhibidor secretado por los osteocitos, el TGF β . ^(3,10,11)

Las células de revestimiento (osteoblastos quiescentes) también reciben señales de los osteocitos activados o en apoptosis, que las comunican a la médula ósea y a la vez se activan como osteoblastos, para dar así inicio al proceso de formación ósea.

Evidencia *in vivo* demuestra que luego de tres días de inmovilización ocurre ya apoptosis de osteocitos y dos semanas después es posible detectar osteoclastogénesis. Una vez maduros, los osteoclastos crean un microambiente ácido que disuelve la matriz inorgánica, y la orgánica es degradada mediante proteasas. Cuando se completa este proceso de resorción, los osteoclastos desaparecen y llegan células mononucleares (MN) que eliminan los osteoclastos remanentes y dejan preparada la superficie para que los osteoblastos comiencen a formar hueso, proceso que finaliza cuando se ha restituido la masa ósea original. Salvo en este caso, no se conocen otras señales que determinen el cese de la formación ósea, pero se cree que sería determinado por señales emitidas por los osteocitos embebidos en la matriz ósea madura. Finalmente, las células de revestimiento cubren la zona ósea neoformada, dejándola quiescente hasta un nuevo proceso. ^(3,5,10-13)

LINAJE OSTEOBLÁSTICO

Los osteoblastos derivan de las células mesenquimáticas progenitoras. Su principal función es la secreción de matriz colágena orgánica (principalmente colágeno tipo I) y orquestar su mineralización por medio de la producción de proteínas como osteocalcina, osteopontina y sialoproteína ósea. Además, son los principales productores de RANKL y su receptor señuelo osteoprotegerina (OPG).

Cuando un osteoblasto secreta RANKL, éste es capaz de unirse a su receptor RANK en el precursor osteoclástico y estimular así su diferenciación; por otra parte, RANKL ligando puede ser captado y neutralizado por OPG, su receptor soluble, y de esta forma evitar la osteoclastogénesis. Es así como los osteoblastos son claves en la regulación de la osteoclastogénesis. ^(6,10-13)

Una vez que los osteoblastos han sido rodeados completamente de matriz mineralizada y han alcanzado su diferenciación terminal, se convierten en osteocitos, los cuales son las células más numerosas en el tejido óseo,

capaces de actuar como sensores mecánicos a través de sus largas prolongaciones que forman una malla sensorial en el hueso. Las señales mecánicas captadas por los osteocitos gatillan dos tipos de respuestas, estimulan a las células de revestimiento en la superficie externa del hueso, o estimulan el reclutamiento de osteoclastos. Cualquiera de estas dos señales permite a los osteocitos iniciar el proceso de reparación del hueso dañado. ^(3,6,11)

Si bien son los osteoblastos los encargados de producir la matriz ósea, son los osteocitos los responsables de mantener la integridad, y por ello la depleción experimental de osteocitos a un ratón determina una marcada fragilidad ósea, con porosidad a nivel intracortical y microfracturas. Más allá de su capacidad de sensor los estímulos mecánicos, los osteocitos secretan inhibidores de la mineralización ósea, como fetuina-A, proteína de la matriz dental, plex y la proteína inhibidora de Wnt, la esclerostina. Los glucocorticoides son capaces de estimular la secreción de estos inhibidores, comprometiendo así la calidad y resistencia ósea. En los últimos años se ha hecho evidente que los osteocitos son los verdaderos coreógrafos de la remodelación ósea debido a su habilidad para sensor el desgaste óseo, dirigir el movimiento de los osteoclastos y eventualmente de los osteoblastos hacia el sitio donde son necesarios, producir el RANKL y la esclerostina, que regulan la producción de osteoclastos y osteoblastos, así como controlar y modificar la mineralización de la matriz ósea generada por los osteoblastos. ^(1,2,3,13)

Otra función importante del linaje osteoblástico es la mantención del nicho y *homing* de las *stem cells* hematopoyéticas. Además, los osteoblastos en condiciones fisiopatológicas actúan como células presentadoras de antígenos no profesionales. Las células del linaje osteoblástico expresan distintas proteínas según su estado de diferenciación, es así como los osteoblastos inmaduros expresan grandes cantidades de RANKL, y los maduros, así como los osteocitos, expresan principalmente esclerostina y osteocalcina. Sin embargo, estudios recientes han mostrado una gran expresión de RANKL en los osteocitos de adultos. ^(3,4)

REGULACIÓN DEL LINAJE OSTEABLÁSTICO

Los osteoblastos expresan además receptores para varias hormonas, que incluyen PTH, 1,25 hidroxivitamina D3, estrógenos, glucocorticoides y leptina, las cuales están involucradas en su diferenciación celular. Son regulados por factores locales, como las BMP 2,

4, 6 y 7, factores de crecimiento como TGFβ, factor de crecimiento epidérmico e insulino like (IGF), así como también en forma auto y paracrina por miembros de la familia Wnt. ^(3,4,12)

El receptor nuclear de proliferación peroxisomal activado (PPARγ), por su parte, es crucial para el paso de células mesenquimales multipotenciales a osteoprogenitores. Sus ligandos naturales corresponden a prostaglandinas J2 o ácidos grasos libres, así puede ser activado por ligandos sintéticos como la Rosiglitazona. El PPARγ suprime la diferenciación de los progenitores hacia el linaje osteoblástico, al desviar la diferenciación hacia adipocitos. Su activación a nivel de preosteoclastos favorece su diferenciación y activación. De esta forma, el PPARγ determina un fenotipo osteopéxico. ^(3,4,13)

Se ha encontrado que la vía canónica de Wnt inhibe la transcripción del receptor PPARγ, favoreciendo de esta manera la formación ósea. ⁽⁴⁾

Un aumento de las especies reactivas derivadas del oxígeno (ERDO) ha sido implicado en la disminución de la formación ósea asociada a la vejez. El estrés oxidativo a nivel de los osteoblastos estimula su apoptosis y disminuye la formación de hueso. En adultos mayores ocurre una disminución de los mecanismos de detoxificación de los ERDO, un aumento de las fugas de la cadena respiratoria mitocondrial y un aumento de la actividad de las oxidadas de membrana; estos tres mecanismos desencadenan así un estrés oxidativo. ⁽⁴⁾

Por su parte, el estrés oxidativo es necesario para la estimulación de RANKL sobre la osteoclastogénesis. Por otra parte, el RANKL al actuar potencia la generación de ERDO. Se ha encontrado que la administración de N-acetilcisteína es capaz de inhibir la osteoclastogénesis. Distintos antioxidantes han mostrado prevenir la resorción ósea asociada a la disminución de hormonas sexuales. ^(3,4,10)

LINAJE OSTEABLÁSTICO

Los osteoclastos y los macrófagos tisulares residentes en el hueso (osteomacs) derivan del linaje hematopoyético monocítico. ⁽³⁾

Los osteomacs constituyen un sexto de las células del tejido óseo, y a través de sus ramificaciones forman una red a lo largo de la superficie ósea. Se cree que contribuyen a la sobrevivencia de las células de la médula ósea, reaccionando rápidamente ante estímulos inflamatorios. Los osteomacs se diferencian de los

osteoclastos por la expresión del marcador F4/80 y por no indicar marcadores de osteoclastos como TRAP. Además, participarían en la fase reversa de la remodelación ósea e interactúan con los osteoblastos por medio de la secreción de factores estimulantes como BMP-2 y TGFβ. ^(1,2,3,5)

Los osteoclastos son células gigantes multinucleadas que se forman a partir de la fusión de precursores monocíticos. Son las únicas células capaces de destruir grandes cantidades de hueso mineralizado, dentina o cartílago calcificado, proceso que ocurre normalmente como parte de la remodelación ósea, evento clave en la homeostasis del hueso.

La osteoclastogénesis ocurre durante la remodelación ósea, proceso que comienza con la retracción de las células de revestimiento que dejan al hueso expuesto, permitiendo la migración de precursores mononucleares. Estos precursores en un primer paso se comprometen hacia el linaje osteoclástico, expresando receptores c-fms, sobre los cuales se unen moléculas del factor estimulador de colonias de macrófagos (M-CSF) secretadas por los osteoblastos, estimulando la supervivencia y la proliferación celular. Desde etapas precoces debe existir una estimulación de los correceptores tipo inmunoglobulina (Ig-like) presentes en las membranas de los osteoclastos; los ligandos coestimuladores serían MCH clase I, colágeno, entre otros. Un segundo paso importante en la osteoclastogénesis es la expresión en la membrana celular, inducida por M-CSF/c-fms, del receptor activador de NFκB (RANK), que al unirse a su ligando (RANKL), estimula la fusión y formación de células gigantes multinucleadas, dando origen a los osteoclastos. RANKL se expresa en la membrana de los osteoblastos, en sus precursores y en los osteocitos; actualmente se postula que estos últimos serían la fuente principal en el hueso adulto de RANKL. En condiciones fisiopatológicas, y quizás fisiológicas, RANKL es secretado además en forma soluble a partir de linfocitos B y T. ^(3,5,14-16)

La activación de RANK/RANKL determina el reclutamiento intracelular del factor 6 asociado al receptor del factor de necrosis tumoral (TRAF6), además de la fosforilación en los motivos ITAM de DAF12 y del receptor Fcγ (FcRγ), las cuales actúan como proteínas adaptadoras de los receptores de coestimulación Ig-like del receptor RANK. Esto resulta en el reclutamiento de la quinasa SYK que activa a la fosfolipasa C (PLCγ) e induce finalmente la traslocación al núcleo y transcrip-

ción de NFATc1, junto a otros factores (AP-1 y NFκB), determinando la síntesis de proteínas osteoclásticas clave, como catepsina K, TRAP y el receptor de calcitonina. Se postula que NFATc1 sería por sí solo suficiente para inducir la osteoclastogénesis. RANKL es, así, la citoquina crítica en la regulación de la osteoclastogénesis. ^(1,3,11,15,16)

Los osteoclastos maduros expresan, entonces, proteínas específicas como TRAP, receptor de calcitonina (CTR) y receptores de integrina (al menos cuatro distintos), y es mediante estos últimos cuando se anclan estrechamente a la matriz para formar una laguna aislada (Howship) capaz de mantener el ambiente ácido necesario para la resorción ósea. Los receptores de integrina se anclan a proteínas como la vitronectina, colágeno, osteopontina y BSP. Luego de la unión ocurre un reordenamiento intracelular, generándose un borde de resorción y uno de secreción, ambos unidos entre sí por microtúbulos que mueven vesículas exocíticas, que se postula estarían formadas por material óseo resorbido y que se secreta al medio extracelular. Este proceso es dependiente de GTPasas Rho, las cuales a su vez requieren mevalonato para su activación. *Los bifosfonatos inhiben a una enzima de la vía del mevalonato, y de esta forma inhiben a los osteoclastos.* El borde de resorción se forma de la fusión de vacuolas ácidas que se liberan hacia la laguna de Howship, produciendo una rápida disolución de los cristales de hidroxapatita. Para la mantención del pH ácido es clave la anhidrasa carbónica. La matriz orgánica, por su parte, es degradada por proteínas como TRAP, catepsina K y MMP9. Luego de la resorción ósea, y por mecanismos desconocidos, los osteoclastos van hacia la apoptosis. Los bifosfonatos son capaces de inducir, además, la apoptosis de los osteoclastos. ^(3,11,14,15)

REGULACIÓN DE LA REMODELACIÓN ÓSEA

Hormonas y citoquinas

PTH es la hormona más importante en el metabolismo del calcio. Se secreta por las células C de las paratiroides ante estados de hipocalcemia y actúa a nivel de riñón, intestino y hueso. A nivel óseo estimula la secreción de IL-6 y RANKL por las células estromales y osteoblastos, y aumenta la supervivencia de los osteoclastos. De esta forma estimula la resorción ósea y la liberación de calcio. La exposición intermitente a PTH produce un efecto anabólico al estimular los osteo-

blastos, siendo éste el único tratamiento anabólico aprobado para la osteoporosis posmenopáusica. ⁽¹⁻⁴⁾

El calcitriol tiene un efecto dosisdependiente. En niveles normales es importante en la mantención del hueso mineralizado. Se ha visto que su déficit produce aumento de los osteoblastos, la formación de hueso y masa ósea. Además produce disminución del número de osteoclastos secundario a la baja producción de RANKL y aumento de OPG. Al contrario, en altas dosis, secundaria a una hipocalcemia severa, es capaz de estimular la osteoclastogénesis. ⁽⁴⁾

Las hormonas sexuales, estrógenos y progesterona tienen efectos anabólicos e inhibidores de la resorción ósea. El déficit de estrógenos produce un aumento en la resorción ósea, a partir de elevados niveles de RANKL, citoquinas proinflamatorias y prorroresorativas, como IL-1, IL-6 y TNF α , así como bajos niveles de OPG.

Las células óseas poseen además receptores de glucocorticoides. Si bien el cortisol endógeno es necesario para la formación de hueso, estimulando el linaje osteoblástico, los glucocorticoides exógenos en cantidades excesivas por períodos prolongados son deletéreos, provocando una disminución de la masa ósea en los primeros meses de uso. Esto se explica por una hiperactivación transitoria de los osteoclastos secundaria a un aumento de la razón RANKL/OPG en los osteoblastos, los cuales son severamente suprimidos al disminuir la actividad de runx2, BMP y Wnt. Por esta razón existe evidencia de que este tipo de osteoporosis debiera ser tratada en forma efectiva con bifosfonatos, PTH o Denosumab. ^(3,4,11,12)

Sistema RANK/RANKL/OPG

La homeostasis ósea, como ya se ha comentado, depende de un equilibrio entre los procesos de resorción y formación ósea. Disregulaciones a favor de la osteoclastogénesis secundarias a alteraciones entre RANK, RANKL y OPG son responsables de patologías óseas metabólicas, como la osteoporosis, enfermedad de Paget, artritis reumatoide y osteoartritis. De esta forma los inhibidores de RANKL hoy en día son un arma terapéutica importante en la inhibición de esta catástrofe ósea. La OPG es una proteína con patrón fenotípico osteopetrótico, perteneciente a la superfamilia de los receptores de TNF, pero no posee dominios transmembrana ni citoplasmáticos. Es secretada por los preosteoblastos/células estromales y es capaz de inhibir el desarrollo y activación de los osteoclastos.

Su nombre está dado por su efecto protector del hueso, ya que previene la activación de los osteoclastos y la resorción ósea al unirse al RANKL, evitando su unión a RANK. Se expresa en múltiples tejidos, incluyendo pulmón, corazón, riñón, hígado, estómago, intestino, sistema nervioso central, tiroides y hueso, indicando sus múltiples funciones, donde la más prominente es la protección ósea. Sin embargo, estudios recientes han propuesto un rol importante de la OPG en la sobrevivencia de las células endoteliales y la calcificación vascular. El RANKL, por su parte, es una proteína secretada también por múltiples tejidos, incluyendo hueso, cerebro, corazón, riñón, intestino, hígado, pulmón, músculo esquelético, placenta, bazo, timo y testículos; es clave, además, en la interacción entre linfocitos T y células dendríticas; se plantean de igual forma variadas funciones; sin embargo, la principal estaría dada por la regulación de la remodelación ósea. RANKL es un miembro de la superfamilia de los TNF, es secretado por preosteoblastos/células estromales y linfocitos T activados. Existen tres isoformas, RANKL 1 y 2 son proteínas de transmembrana tipo II, donde RANKL 2 posee un corto dominio transmembrana. RANKL 3 es una proteína soluble, que sería clivada desde transmembrana por la metaloproteínasa TACE (enzima convertidora de TNF α). El último implicado en este sistema es el RANK, que al igual que la OPG pertenece a la superfamilia de los receptores de TNF α , siendo un receptor de transmembrana tipo I que se expresa en los mismos tejidos que el RANKL. Su expresión es más frecuente en osteoclastos y células dendríticas. Su déficit fenotípicamente es muy similar al déficit de RANKL. ^(3,4,11,12)

La expresión de RANKL y OPG es fuertemente influenciada por factores sistémicos y locales. Reguladores positivos de la OPG resultan los estrógenos, BMP2, IFN γ y TGF β ; así como la PTH, calcitriol, glucocorticoides, prostaglandina E, IL-1, IL-6, IL-11 aumentan la expresión de RANKL.

Citoquinas y quemoquinas

La remodelación ósea es regulada, además, por citoquinas y quemoquinas, tanto en forma fisiológica como fisiopatológica. La mayoría de las citoquinas proinflamatorias (TNF α , IL-1, IL-6, IL-7, IL-11, IL-15 e IL-17) provocan pérdida ósea, ya sea aumentando la producción de osteoclastos y/o su actividad, o por inducción de la síntesis de RANKL por parte de los osteoblastos. Por otro lado, citoquinas como IL-4, IL-10, IL-12, IL-13,

IL-18 e $IFN\alpha/\beta/\gamma$ se comportan como inhibidores de la osteoclastogénesis al bloquear la señalización dada por el RANKL, en forma directa o indirecta. ⁽³⁾

Por su parte, la IL-1 estimula en forma directa la expresión de TRAF6 en los osteoclastos, potenciando así la vía del RANK, así como el $IFN\gamma$ disminuye los niveles de esta proteína intracelular, al estimular la degradación proteosómica de TRAF6, evitando la osteoclastogénesis. ^(1-3,11-13)

Poco se sabe del rol de las citoquinas sobre los osteoblastos. $TNF\alpha$, IL-1 e $IFN\gamma$ han demostrado inhibir la diferenciación osteoblástica y bloquear la síntesis de colágeno.

Se ha demostrado que la IL-6 y su receptor son producidos por los osteoblastos y las células estromales, pero no se conoce su rol en la osteoblastogénesis. La IL-4 se ha visto como quimioattractante para osteoblastos y estimulador de su proliferación, pero tiene un rol inhibidor de su diferenciación.

Con respecto a las quemoquinas, es poco lo que se sabe: se ha reportado que el receptor de quemoquinas CCR2 es clave en la mantención en condiciones fisiológicas y fisiopatológicas de la masa ósea, al regular la osteoclastogénesis. Se ha visto que CCR2 induce la expresión de RANK en los precursores de los osteoclastos, por medio de las vías de ERK y $NF\kappa B$, haciéndolos, a la vez, más susceptibles a la acción de RANKL. Esto sin afectar a los osteoblastos. ^(1,2,3,13)

Regulación por parte de los megacariocitos de la masa ósea

Los megacariocitos influyen directamente sobre la remodelación ósea. Diversos estudios *in vitro* y en modelos murinos han demostrado que los megacariocitos estimulan, por medio de contacto célula-célula y por secreción de un estimulante, la proliferación y diferenciación de los osteoblastos, así como, a la vez, inhiben la formación de osteoclastos, al secretar un factor inhibidor. ^(3,4)

ASPECTOS CLAVE DE LA OSTEOINMUNOLOGÍA EN ENFERMEDADES REUMÁTICAS

Erosiones óseas yuxtaarticulares

Son un evento central en la artritis reumatoide y psoriática, comportándose como marcadores de actividad y severidad. Son secundarias a la inflamación crónica articular, donde a nivel sinovial se acumulan los

osteoclastos, que son los únicos responsables directos de la erosión ósea. Sin osteoclastos no ocurre erosión ósea. Estas células no se encuentran en condiciones normales a nivel articular, sino que deben ocurrir dos eventos clave para que esto suceda. En primer lugar, debido a la inflamación articular, se reclutan células mononucleares precursoras de osteoclastos. Cuando estas células mononucleares llegan al ambiente inflamatorio articular, son influenciadas por $TNF\alpha$, citoquina que estimula la expresión de OSCAR (*osteoclast associated receptor*), una molécula coestimuladora clave en los osteoclastos. Así también existen factores que regulan negativamente la diferenciación a osteoclastos, como la presencia de linfocitos reguladores con la molécula CTLA-4, que se une a los receptores CD80/86 de los monocitos, inhibiendo su diferenciación, sin importar la expresión de RANKL. Pero los monocitos que llegan a la articulación inflamada encuentran allí un microambiente rico en RANKL y M-CSF, ambos factores que favorecen su diferenciación a osteoclastos y su posterior activación. El M-CSF se une al receptor c-fms codificado por el protooncogén c-fms, y determina la proliferación y sobrevivencia de los precursores de osteoclastos. La vía de RANKL, que ya se comentó previamente, es clave también en este proceso. En las articulaciones es crucial el diálogo entre los monocitos precursores y los sinoviocitos tipo fibroblastos, así como los linfocitos T activados TH1 y TH17, los cuales son capaces de secretar en forma inducible altos niveles de RANKL, generando un desequilibrio con la OPG, llevando a la osteoclastogénesis y resorción ósea. Esto se ve reflejado en la evidencia reciente de que Denosumab, un anticuerpo monoclonal bloqueador de RANKL, es capaz de evitar el daño estructural óseo en AR.

Además, citoquinas proinflamatorias, en particular $TNF\alpha$, así como también IL-1, IL-6 e IL-17, son potentes estimuladores de la secreción de RANKL, aportando a esta sinovial osteoclastogénica, y explican el rol de los anticuerpos anticitoquinas en el tratamiento de las artritis. ^(3,4,17,18)

Pérdida ósea periarticular y sistémica en enfermedades reumáticas

Se ha visto en estudios con resonancia nuclear magnética e histología que a nivel yuxtaarticular, más allá de la inflamación a nivel de la superficie ósea de la sinovial, existe un aumento del contenido líquido en el canal medular, debido al reemplazo del tejido graso

por infiltrado inflamatorio rico en linfocitos B y T, sugiriendo, de esa manera, que la cavidad medular de las metáfisis de los huesos inflamados es parte del proceso artrítico. Estas lesiones a nivel del canal medular se han detectado en etapas precoces de las artritis y se relacionan con frecuencia con lesiones a nivel de la superficie ósea, ya sea erosiones óseas o canales óseos que comunican la sinovial con la médula ósea yuxtaarticular. Además, estas lesiones de la médula ósea se correlacionan con reacciones endosteales, ya que se asocian a acumulaciones de osteoblastos y a formación ósea a nivel endosteal.

Las artritis, al evolucionar como inflamaciones crónicas, desencadenan una pérdida acelerada de la masa ósea en forma sistémica.

Estudios han demostrado que la pérdida ósea en enfermedades inflamatorias crónicas como la Artritis Reumatoidea (AR) estaría mediada por la activación del eje del receptor activador del ligando del factor nuclear κ B (RANKL) y de la osteoprotegerina (OPG) de activación de los osteoclastos y que ocurriría por la presencia de LT activados, en este caso por la AR. El RANKL es un regulador importante de la osteoclastogénesis, transformándose así en un modulador clave de la remodelación ósea. En este proceso, que es crucial para la mantención de la fuerza e integridad ósea, el osteoclasto remueve el hueso viejo y dañado y éste es reemplazado por hueso de neoformación producido por los osteoblastos. Alteraciones en la remodelación ósea es la característica de los procesos inflamatorios crónicos, pudiendo llevar a un aumento o disminución de la masa ósea. ^(2,3,17,18)

Aspectos osteoimmunológicos de la formación de hueso en las enfermedades reumáticas

Lo habitual es que cuando se estimula la resorción ósea, en forma paralela se gatilla la formación de éste. La AR corresponde a la excepción a esta regla, ya que es una enfermedad casi exclusivamente resorptiva. En el caso de otras inflamaciones articulares, como la espondilitis anquilosante, osteoartritis, artritis psoriática, así como artropatías metabólicas, se caracterizan, ya sea en forma parcial o muy frecuente, por la formación de hueso a nivel de los espacios intervertebrales, secundarios a vías metabólicas distintas de las responsables de la erosión ósea. Áreas propensas a esto son el periostio periarticular, las zonas de inserción de tendones y las esquinas de los cuerpos vertebrales, probablemente por

ser zonas ricas en fibrocartilago desde donde emerge el neohueso y zonas sometidas a estrés mecánico, un posible gatillante del proceso. Las moléculas involucradas en este proceso son las ya nombradas BMP, que mediante Smad3 facilitan la formación de osteoblastos y son inhibidas por noggin; también cumple un rol el TGF β y la familia de proteínas Wnt, las cuales actúan en forma sinérgica con las BMP y, por otra parte, aumentan los niveles de OPG, bloqueando así al RANKL y a la osteoclastogénesis. ^(1,2,3,17,18)

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Lorenzo J, Horowitz M, Choi Y. Osteoimmunology: Interactions of the Bone and Immune System. *Endocrine Reviews* 2008; 29(4):403-440.
- Rauner M, Sipos W, Pietschmann P. Osteoimmunology. *International Archives of Allergy and Immunology* 2007; 143:31-48.
- Rauner M, Stein N, et al. Basics of Bone Biology; en *Principles of Osteoimmunology, Molecular mechanisms and clinical application* 2011; 1:1-17.
- Manolagas S, Drezner M, Mulder J. Normal skeletal development and regulation of bone formation and resorption. *Uptodate* 2012.
- Tam L, et al. Pathogenesis of ankylosing spondylitis. *Nature Reviews Rheumatology* 2010; 6:399-405.
- Chen G, Deng Ch, Li Y. TGF- β and BMP Signaling in Osteoblast Differentiation and Bone Formation. *International Journal of Biological Sciences* 2012; 8(2):272-228.
- Lodewyckx L, et al. Tight regulation of wntless-type signaling in the articular cartilage – subchondral bone biomechanical unit: transcriptomics in Frzb knockout mice. *Arthritis Research and Therapy* 2012; 14:1-18.
- Frank S, Tiago C, Machteld M. WNT signalling in the immune system: WNT is spreading its wings. *Nature Reviews Rheumatology* 2008; 581-593.
- Kerschand-Schundl K, Ebenbichler G, et al. Osteoimmunological Aspects of Biomechanics, en *Principles of Osteoimmunology, Molecular Mechanisms and Clinical Application* 2011; 5:97-107.
- White D. Rheumatoid Arthritis and Ankylosing Spondylitis; en *Principles of Osteoimmunology, Molecular Mechanisms and Clinical Application* 2011; 8:169-190.
- Takayanagi H. Osteoimmunology: shared mechanisms and crosstalk between the immune and bone systems. *Nature Reviews Rheumatology* 2007;7:292-304.
- Nakashima T, Takayanagi H. Osteoimmunology: Crosstalk Between the Immune and Bone Systems. *J Clin Immunol* 2009; 29:555-567.
- Caetano-Lopes J, Canhao H, Fonseca JE. Osteoimmunology – The hidden immune regulation of bone. *Autoimmunity Reviews* 2009; 8:250-255.
- Nakashima T, Takayanagi H. The dynamic interplay between osteoclasts and the immune system. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 2008; 473:166-171.
- Nakashima T, Takayanagi H. New Regulation Mechanisms of Osteoclasts Differentiation. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2011; 13-18.
- Quinn J, Hasnawati S. Modulation of osteoclast function in bone by the immune system. *Molecular and Cellular Endocrinology* 2009; (310): 40-51.
- Schett G, David J. Osteoimmunology, *The Scientific Basis of Rheumatic Diseases. Hochberg Rheumatology* 2011; 5(19):169-172.
- Schett G. Osteoimmunology in rheumatic diseases. *Arthritis Research and Therapy* 2009; 11:210-216.