

Diferenciación del cartílago articular y osteoartritis

Cristina Velasquillo, David Garcadiago y Clemente Ibarra

Unidad de Ingeniería de Tejidos, Terapia Celular y Medicina Regenerativa. Instituto Nacional de Rehabilitación. México DF. México.

Durante el desarrollo del esqueleto, los mecanismos de formación, diferenciación y maduración del cartílago son pasos importantes en la morfogénesis del esqueleto, pues regulan el crecimiento de los huesos largos y la formación de las articulaciones. El cartílago de la placa de crecimiento y el cartílago articular tienen diferencias relevantes en los mecanismos de diferenciación, la mayor tasa de proliferación y maduración de los condrocitos de la placa de crecimiento regula el crecimiento de los huesos largos y el reemplazo de cartílago por hueso, mientras que el retraso de la maduración y la hipertrofia de los condrocitos mantienen el cartílago articular. Posiblemente, la maduración del cartílago articular se activa e incrementa durante la osteoartritis, lo que deja una articulación sin las propiedades biomecánicas requeridas para resistir los impactos que el movimiento del esqueleto implica.

Palabras clave: Diferenciación del condrocito. Morfogénesis del esqueleto. Osteoartritis.

Joint Cartilage Differentiation and Osteoarthritis

During skeletal development, the mechanisms of formation, differentiation and maturation of the cartilage are important steps in the skeleton morphogenesis; these mechanisms regulate growth of long bones and joint formation. Although cartilage in the growth plate and articular cartilage are very similar, they have some differences in the differentiation mechanisms. Growth plate cartilage regulates the growth of long bones by cartilage substitution of bone, while articular cartilage is maintained by delay of chondrocyte maturation and hypertrophy. Maybe, the mechanism of cartilage maturation is activated and increased during osteoarthritis, resulting in loss of the biomechanical properties required by the joints to resist the impact required by the skeleton to move.

Key words: Chondrocyte differentiation. Skeletal morphogenesis. Osteoarthritis.

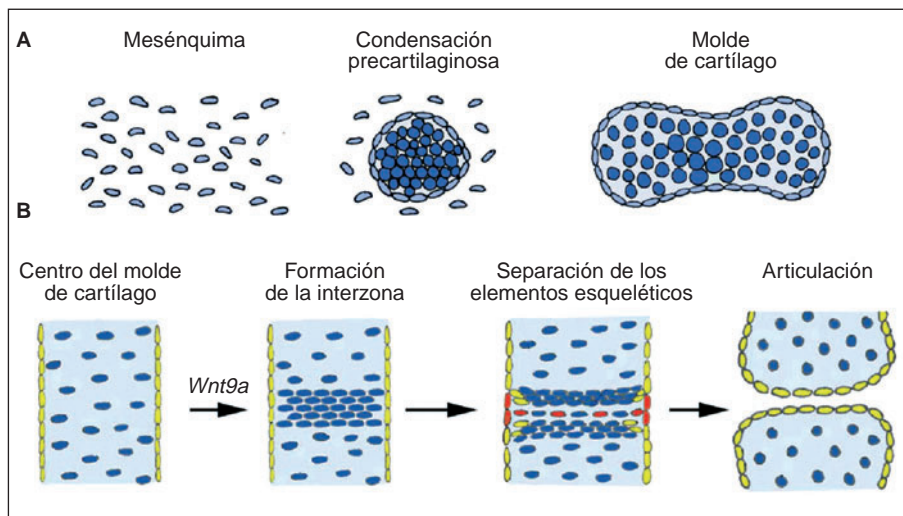
En la morfogénesis del esqueleto los procesos de la formación de articulaciones y la diferenciación de cartílago están estrechamente relacionados. Además, la regulación de la diferenciación del los condrocitos y la homeostasis de la matriz extracelular (MEC) son fundamentales para la función adecuada de la articulación. Cada elemento esquelético se forma a partir de la agregación de células mesenquimales y forman las condensaciones precartilaginosas; entonces ocurre la proliferación y la diferenciación de los condrocitos¹ y el reemplazo de cartílago por hueso mediante la osificación endocondral (fig. 1A), lo cual le da rigidez al esqueleto. Sin embargo, para que éste tenga movilidad, es fundamental la formación de las articulaciones.

Antes de que se inicie la hipertrofia de los elementos esqueléticos, en una región específica de la condensación precartilaginosa (fig. 1A), algunas células conforman la presunta región de la articulación llamada interzona^{2,3} (fig. 1B), que se caracteriza por ser una región de células altamente condensadas y aplanadas, agrupadas en tres capas⁴; estas células pierden su fenotipo diferenciado y producen una MEC rica en colágeno tipos I y III⁵, a diferencia de la MEC del cartílago, rica en colágeno tipo II y agregano. El gen *Wnt9a* es la primera molécula que se expresa en la interzona^{3,6} e inhibe la expresión de *Sox9*, el marcador del linaje condrogénico, dando como consecuencia la disminución de la expresión de colágeno tipo II; además se activa la expresión de algunas proteínas morfogénicas de hueso (BMP) como factor de crecimiento y diferenciación 5 (GDF5)⁷ y algunos de sus antagonistas como nogina⁸ y cordina, que regulan el desarrollo de la articulación. Moléculas de adhesión celular como la integrina $\alpha 5\beta 1$ podrían regular la formación de las articulaciones al mantener el estado diferenciado de los condrocitos⁹; así, para que se forme la interzona es necesaria la desaparición de las integrinas $\alpha 5\beta 1$.

La cavidad articular se forma al desaparecer la capa central de la interzona mediante el proceso conocido como cavitación, mientras que las dos áreas de alta densidad podrían responder al GDF5 y diferenciarse para formar

Correspondencia: Dr. C. Velasquillo.
Avda. México-Xochimilco 289. Arenal de Guadalupe, Tlalpan. México DF. 14389. México.
Correo electrónico: mvelasquillo@inr.gob.mx

Figura 1. Condrogénesis y formación de articulaciones. A: el esqueleto de cartilago se forma a partir de la condensación de células mesenquimales y después, los moldes cartilaginosos. B: los moldes de cartilago se segmentan y forman las articulaciones sinoviales. Los condrocitos del centro de la agregación detienen su maduración en la interzona y se forman tres capas celulares. Las células de la capa media mueren por apoptosis y las capas adyacentes forman los cartílagos articulares.



el cartilago articular que recubre las superficies articulares de los huesos adyacentes. Al inicio de la cavitación se incrementan el hialuronato y su receptor CD44; la adhesión celular disminuye, y posiblemente esto active la apoptosis que facilita la separación completa de los elementos esqueléticos adyacentes. Posiblemente, los diversos tipos celulares presentes en una articulación sinovial madura, como las células sinoviales, los condrocitos articulares permanentes y las células de la cápsula articular, tengan su origen en la interzona.

Los condrocitos del cartilago articular permanente que se originan de la interzona son muy parecidos a los condrocitos de la placa de crecimiento. En ambos tejidos observamos las distintas etapas de diferenciación del cartilago, como los condrocitos de reserva, en proliferación, prehipertróficos e hipertróficos. Sin embargo, ambos cartílagos tienen importantes diferencias; la más evidente es que los condrocitos articulares disminuyen considerablemente su maduración hacia la hipertrofia, sintetizan una MEC abundante en colágeno II y proteoglicanos y sólo presentan una reducida zona de cartilago hipertrófico en una región conocida como "marca de agua" o *tide mark* (fig. 2B), mientras que en la placa de crecimiento se observa una amplia región de condrocitos hipertróficos (fig. 2A) que finalmente serán reemplazados por osteocitos durante la osificación endocondral. Los condrocitos hipertróficos tienen un mayor volumen celular y producen una MEC muy específica, rica en colágeno tipo X¹⁰. La hipertrofia de los condrocitos se sigue de apoptosis, invasión de vasos sanguíneos, osteoclastos y otras células mesenquimales provenientes del pericondrio y la producción de la matriz de hueso. Por ello, el tamaño y la forma de los huesos largos y las articulaciones dependen de la regulación coordinada de la proliferación, la maduración y la hipertrofia de los condrocitos, que se regulan por

múltiples señales; una de ellas es Indian Hedgehog (Ihh), que coordina la proliferación y la diferenciación de los condrocitos.

Ihh es producida por los condrocitos prehipertróficos e induce la expresión de *PTHrP* en el pericondrio, que regula la tasa a la que los condrocitos salen del ciclo celular y siguen a la hipertrofia^{11,12}. Cuando los condrocitos prehipertróficos dejan de expresar *Ihh* continúan su maduración hacia la hipertrofia y se activa la expresión de *Runx2* y *Runx3*¹³ en el pericondrio, que inducen su diferenciación a osteoblastos. Por el contrario, el FGF18 a través de su receptor FGFR3 regula negativamente la proliferación celular y promueve la hipertrofia de los condrocitos; además, la activación constitutiva de FGFR3 inhibe la formación de articulaciones¹⁴.

El balance de estas señales puede determinar que los condrocitos en proliferación del molde cartilaginoso puedan convertirse en condrocitos prearticulares o en condrocitos prehipertróficos. No sólo en las etapas embrionarias el desequilibrio de las señales proliferativas y de hipertrofia tiene importantes consecuencias en el cartilago articular; la osteoartritis es un notable ejemplo de ese desequilibrio de señales. Es bien conocido que las lesiones del cartilago articular pueden resultar en osteoartritis, donde ocurre la degeneración de las articulaciones, evidenciada por la degradación del cartilago articular, la formación de tejido fibroso y el crecimiento de osteofitos. La formación de tejido fibroso es una respuesta de cicatrización inmediata a un daño traumático. Esta cicatrización en muchas ocasiones es promovida por el factor de crecimiento tumoral beta (TGFβ), que a su vez podría inducir la formación de osteofitos que recapitulan la condrogénesis y la osificación endocondral en el cartilago articular adulto. Existen modelos animales que recapitulan esta enfermedad degenerativa de las articulaciones como los ratones mutantes de

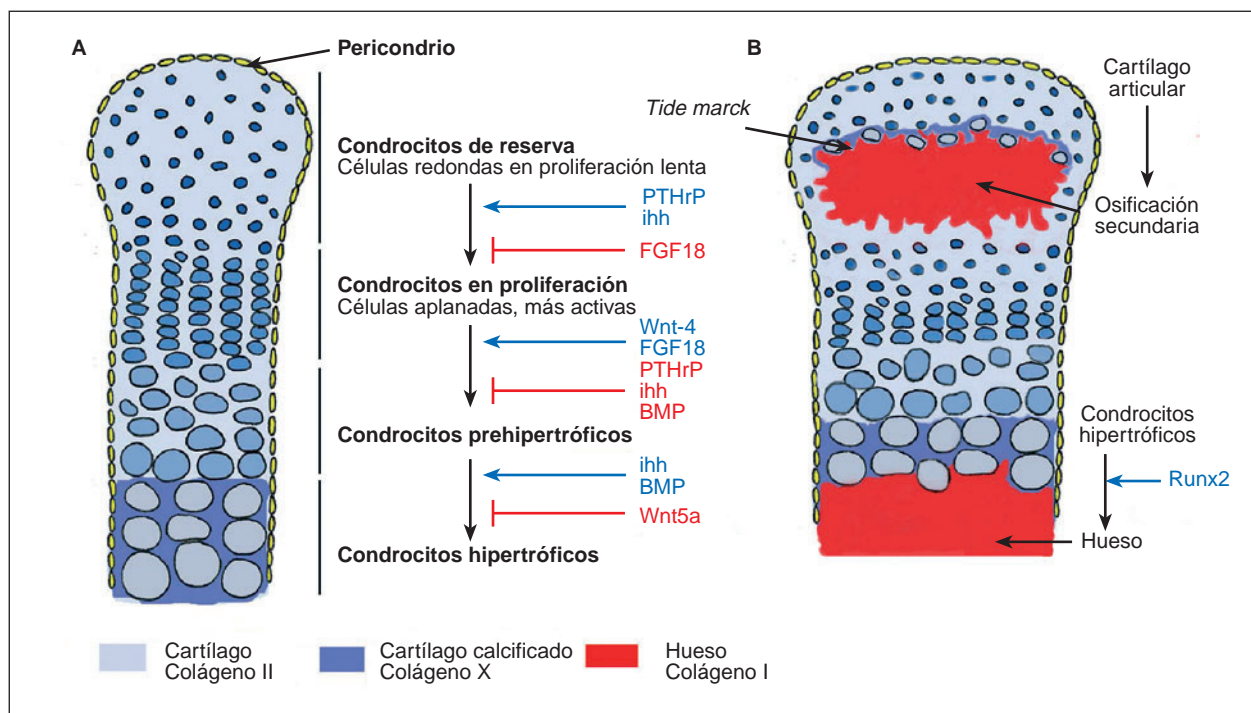


Figura 2. Mecanismos de la diferenciación de los condrocitos en un hueso en desarrollo y maduro. A: la señalización de las diferentes moléculas que regulan la diferenciación de los condrocitos, desde su etapa en reposo, proliferación, prehipertrófica e hipertrófica. En azul se muestran las moléculas que activan la diferenciación y en rojo las que la inhiben. B: la diferencia más notable entre el cartilago articular y la placa de crecimiento reside en la tasa de maduración de los condrocitos hacia la hipertrofia.

*Smad3*¹⁵, una molécula que transduce la señal de TGF β ; el análisis de estos ratones muestra el incremento de la hipertrofia de los condrocitos en el cartilago articular evidenciado por la expresión ectópica de colágeno tipo X. Por otro lado, también se ha relacionado la osteoartritis con el aumento de la expresión de *Runx2*. Otras vías de señalización que regulan la hipertrofia del cartilago y la osteoartritis son las BMP y Wnt. Cuando se inactiva el receptor *Bmpr1a* del ratón, se generan fenotipos similares a los de la osteoartritis humana¹⁶, y cuando se activa la vía de Wnt al bloquear a su antagonista Dkk, se revierten los procesos de destrucción del cartilago articular y la osificación endocondral¹⁷, lo que indica que estas vías permiten el mantenimiento del cartilago articular adulto.

La variación genética de las moléculas de las vías relacionadas con la proliferación y la diferenciación del condrocito como las que hemos mencionado podrían ser un importante factor de riesgo de osteoartritis en humanos. El estudio detallado de estos mecanismos tendría que evaluarse como una posible estrategia terapéutica para el mantenimiento del cartilago articular o para el diseño de estructuras biocompatibles con células que no pierdan su fenotipo diferenciado y sirvan como implantes en tejidos con daño articular.

Agradecimientos

Proyecto financiado por CONACYT Salud-2003-C01-98.

Bibliografía

1. Kavanagh E, Abiri M, Bland YS, Ashhurst DE. Division and death of cells in developing synovial joints and long bones. *Cell Biol Int*. 2002;26:679-88.
2. Chimal-Monroy J, Garcíadiago-Cazares D, Abarca-Buis R, Rios-Flores A. Coordination of Joint Formation and Cartilage Differentiation in the Appendicular Skeleton. *Trends Develop Biol*. 2005;1:47-53.
3. Hartmann C, Tabin CJ. Wnt-14 plays a pivotal role in inducing synovial joint formation in the developing appendicular skeleton. *Cell*. 2001;104:341-51.
4. Archer CW, Dowthwaite GP, Francis-West P. Development of synovial joints. *Birth Defects Res C Embryo Today*. 2003;69:144-55.
5. Craig FM, Bentley G, Archer CW. The spatial and temporal pattern of collagens I and II and keratan sulphate in the developing chick metatarsophalangeal joint. *Development*. 1987;99:383-91.
6. Guo X, Day TF, Jiang X, Garrett-Beal L, Topol L, Yang Y. Wnt/beta-catenin signaling is sufficient and necessary for synovial joint formation. *Genes Dev*. 2004;18:2404-17.
7. Francis-West PH, Abdelfattah A, Chen P, Allen C, Parish J, Ladher R, et al. Mechanisms of GDF-5 action during skeletal development. *Development*. 1999;126:1305-15.
8. Brunet LJ, McMahon JA, McMahon AP, Harland RM. Noggin, cartilage morphogenesis, and joint formation in the mammalian skeleton. *Science*. 1998;280:1455-7.
9. Garcíadiago-Cazares D, Rosales C, Katoh M, Chimal-Monroy J. Coordination of chondrocyte differentiation and joint formation by alpha5beta1

- integrin in the developing appendicular skeleton. *Development*. 2004;131:4735-42.
10. Harrington EK, Lunsford LE, Svoboda KK. Chondrocyte terminal differentiation, apoptosis, and type X collagen expression are downregulated by parathyroid hormone. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol*. 2004;281:1286-95.
 11. Lanske B, Karaplis AC, Lee K, Luz A, Vortkamp A, Pirro A, et al. PTH/PTHrP receptor in early development and Indian hedgehog-regulated bone growth. *Science*. 1996;273:663-6.
 12. Vortkamp A, Lee K, Lanske B, Segre GV, Kronenberg HM, Tabin CJ. Regulation of rate of cartilage differentiation by Indian hedgehog and PTH-related protein. *Science*. 1996;273:613-22.
 13. Yoshida CA, Yamamoto H, Fujita T, Furuichi T, Ito K, Inoue K, et al. Runx2 and Runx3 are essential for chondrocyte maturation, and Runx2 regulates limb growth through induction of Indian hedgehog. *Genes Dev*. 2004;18:952-63.
 14. Wang Q, Green RP, Zhao G, Ornitz DM. Differential regulation of endochondral bone growth and joint development by FGFR1 and FGFR3 tyrosine kinase domains. *Development*. 2001;128:3867-76.
 15. Yang X, Chen L, Xu X, Li C, Huang C, Deng CX. TGF-beta/Smad3 signals repress chondrocyte hypertrophic differentiation and are required for maintaining articular cartilage. *J Cell Biol*. 2001;153:35-46.
 16. Rountree RB, Schoor M, Chen H, Marks ME, Harley V, Mishina Y, et al. BMP receptor signaling is required for postnatal maintenance of articular cartilage. *PLoS Biol*. 2004;2:e355.
 17. Diarra D, Stolina M, Polzer K, Zwerina J, Ominsky MS, Dwyer D, et al. Dickkopf-1 is a master regulator of joint remodeling. *Nat Med*. 2007;13:156-63.