

COMENTARIOS BIBLIOGRÁFICOS / *Bibliographical Comments*

Glucocorticoid dose determines osteocyte cell fate.

Jia J, Yao W, Guan M, Dai W, Shahnazari M, Kar R, Bonewald L, Jiang JX, Lane NE.

FASEB J 2011; 25: 3366-76.

Carola B. Bozal*

Cátedra de Histología y Embriología. Facultad de Odontología, UBA, Argentina.

Es interesante observar que, en cuadros de osteoporosis inducida por glucocorticoides (GC), la pérdida de masa ósea no explica el incremento del riesgo de fracturas que presentan los pacientes, en tanto estos sufren fracturas en condiciones de mayor densidad mineral ósea que pacientes con osteoporosis posmenopáusicas.

El cuadro de osteoporosis inducida por glucocorticoides se caracteriza por presentar disminución en el volumen óseo trabecular, en el grosor trabecular y en la formación ósea.¹ Los GC también afectan en forma directa la función de osteoblastos y osteocitos en tanto inhiben la proliferación y diferenciación del linaje osteoblástico, disminuyen la maduración y actividad osteoblástica e inducen la apoptosis de osteoblastos y osteocitos.² En este sentido, la pérdida de los osteocitos por apoptosis inducida por los GC³ provocaría una disrupción en la red de intercomunicación osteocitaria dando lugar a una falla para dirigir la remodelación ósea en sitios de microfracturas.

Los tratamientos con GC se asocian con acumulación intracitoplasmática de radicales

libres y macromoléculas destruidas. El proceso de autofagia es uno de los procesos biológicos más importantes que permiten que una célula sobreviva al estrés y se mantenga la homeostasis celular mediante la degradación/digestión de organelas dañadas.⁴ Este proceso se caracteriza por la formación de autofagosomas, cuando estos se unen con los lisosomas y forman los autolisosomas; luego ocurre la digestión de la organela y las moléculas que se producen son liberadas al citoplasma para el reciclaje y la obtención de energía celular. Sin embargo, la autofagia es considerada como “un cuchillo de doble filo” en tanto es un proceso involucrado no solo en la protección de una célula sino también en la muerte celular.⁵ La función protectora de la autofagia ocurre bajo condiciones de estrés moderado o períodos cortos de estrés. La autofagia es un mecanismo probable por el cual los osteocitos podrían reparar sus organelas celulares o la membrana plasmática dañadas. Sin embargo, si la condición de estrés se prolonga en el tiempo, se comenzarían a acumular autofagosomas en el citoplasma, lo cual podría llevar a la muerte celular.

* Dirección postal: Cátedra de Histología y Embriología. Facultad de Odontología, UBA. Marcelo T. de Alvear 2142 1ºA. CABA (1122), Buenos Aires, Argentina. Correo electrónico: carolaboza@yahoo.com



Si bien se conoce que los GC inducen apoptosis en los osteocitos,⁶ los autores del presente trabajo sostienen que el tratamiento prolongado con GC en ratones provocó un incremento del mecanismo de autofagia en los osteocitos.⁷ Es por ello que la hipótesis del trabajo que estamos comentando postula que la autofagia es uno de los mecanismos con los que responde el osteocito ante la exposición a GC. En tal sentido, el objetivo del trabajo consistió en caracterizar el tipo de falla celular de los osteocitos tanto *in vivo* como *in vitro* que provocan los GC dependiendo de la dosis a la que se exponen estas células.

El estudio *in vivo* se realizó con ratones de 3 meses a los que se les implantaron *pellets* de liberación lenta durante 28 días de prednisona en dosis de 1,4 mg/kg/d; 2,8 mg/kg/d y 5,6 mg/kg/d. Se detectaron osteocitos en autofagia y/o apoptosis mediante el anticuerpo monoclonal para el marcador de autofagia LC3 y un kit para la detección de muerte celular. En el ensayo *in vitro* se sometió a los cultivos de células MLO-Y4 (linaje osteocítico) a una dosis de 10^{-8} a 10^{-6} M de dexametasona durante 24 horas; se las transfundió con un vector de GFP-LC3 para cuantificar la autofagia y se las incubó con LysoSensor Blue para colocalizar el GFP-LC3 (marcador de autofagia) y los lisosomas. Se realizó RT-PCR para determinar genes relacionados con los procesos antioxidantes, autofagia y apoptosis.

Luego de 28 días de tratamiento con bajas dosis de GC en ratones se produjo una activación significativa del mecanismo autofágico, que aumentó la autofagia en osteocitos localizados principalmente en la zona de hueso cortical. Con las mayores dosis de GC, disminuyó la respuesta antiapoptótica y se incrementó el número de osteocitos en apoptosis. Además se encontró una disminución en la activación de la expresión de genes responsables del estrés oxidativo dosis-dependiente de GC. En este sentido, las dosis más bajas de GC activaron la expresión de los genes relacionados con el estrés oxidativo y la auto-

fagia en mucho mayor medida que las dosis más altas de GC.

Si bien numerosos trabajos en la literatura han reportado apoptosis en los osteocitos en animales tratados con GC^{3,6} y en osteocitos *in vitro*,⁸ hay que destacar que no se disponía hasta ese momento de reactivos para determinar la presencia de autofagia. Sin embargo, los estudios previos no se contraponen con el presente trabajo, en tanto con altas dosis de GC los autores encuentran apoptosis en los osteocitos, confirmando los resultados de Weinstein y cols.^{3,6,8} En este trabajo demuestran que no se ha evidenciado expresión de genes proapoptóticos, o la presencia de osteocitos apoptóticos con bajas dosis de GC (1,4 mg/kg/día). Por el contrario, los ratones tratados durante 28 días con altas dosis de GC (2,4 mg/kg/día) presentaron osteocitos apoptóticos en el hueso cortical. Además se sabe que los GC activan el mecanismo oxidativo y aceleran el envejecimiento del tejido óseo.⁹ Si bien en el presente trabajo el tratamiento con GC *in vitro* no activó el mecanismo antioxidante aunque sí incrementó significativamente los niveles de estrés oxidativo, parecería que la respuesta antioxidante que se observó *in vivo* estaría provocada por el estrés oxidativo inducido por los GC, y los osteocitos responderían a esto con autofagia.

Cuando las células se exponen durante periodos prolongados al estrés que provocan los GC se produce un exceso de reciclaje de organelas dañadas que pueden llevar a la muerte celular. En una línea celular osteocitaria (MLO-Y4) se pudo determinar que el tratamiento con dexametasona incrementa la expresión de marcadores de autofagia y la acumulación de autofagosomas.⁷ En el mismo trabajo, los autores determinaron que la dexametasona provocó una disminución en el número de osteocitos metabólicamente normales, y este efecto se incrementó aún más cuando se inhibió el proceso de autofagia. Esto estaría indicando que la autofagia sería un intento de los osteocitos para atenuar el

efecto que los GC provocan sobre su propio metabolismo. Con el incremento de las dosis de GC las defensas antioxidantes de las células se encuentran desbordadas, y la capacidad de supervivencia de los osteocitos disminuye, lo cual direcciona a la célula hacia la apoptosis.

Queda ahora por determinar si, en condiciones de tratamiento con dosis bajas de GC que induce la autofagia de los osteocitos, el hueso resulta con menor fragilidad que la observada luego del tratamiento prolongado con altas dosis. Si se comprobara que las bajas dosis de GC que inducen autofagia en los osteocitos no afectan la formación ósea y la resistencia del hueso, en contraposición con las altas dosis de GC, que inducen apoptosis

de los osteocitos incrementando la fragilidad ósea, estaríamos frente a un nuevo paradigma en relación con la fragilidad ósea inducida por GC. De ser así, la modulación de los mecanismos oxidativos y de autofagia en el tratamiento de pacientes con osteoporosis inducida por GC podría ser nuevo blanco para conservar la formación ósea a fin de prevenir la fragilidad y el incremento de fracturas en estos pacientes.

Conflicto de intereses

La autora declaran no tener conflictos de intereses.

(Recibido: enero 2014.
Aceptado: marzo 2014)

Referencias

1. Dempster DW. Bone histomorphometry in glucocorticoid-induced osteoporosis. *J Bone Miner Res* 1989; 4: 137-41.
2. Weinstein RS. Glucocorticoid-induced osteoporosis. *Rev Endocr Metab Disord* 2001; 2: 65-73.
3. O'Brien CA, Jia D, Plotkin LI, et al. Glucocorticoids act directly on osteoblasts and osteocytes to induce their apoptosis and reduce bone formation and strength. *Endocrinology* 2004; 145: 1835-41.
4. Eisenberg-Lerner A, Bialik S, Simon HU, Kimchi A. Life and death partners: apoptosis, autophagy and the cross-talk between them. *Cell Death Differ* 2009; 16: 966-75.
5. Tsujimoto Y, Shimizu S. Another way to die: autophagic programmed cell death. *Cell Death Differ* 2005; 12(Suppl. 2): 1528-34.
6. Weinstein RS, Jilka RL, Parfitt AM, Manolagas SC. Inhibition of osteoblastogenesis and promotion of apoptosis of osteoblasts and osteocytes by glucocorticoids. Potential mechanisms of their deleterious effects on bone. *J Clin Invest* 1998; 102: 274-82.
7. Xia X, Kar R, Gluhak-Heinrich J, Yao W, Lane NE, Bonewald LF, Biswas SK, Lo WK, Jiang JX. Glucocorticoid induced autophagy in osteocytes. *J Bone Miner Res* 2010; 25: 2479-88.
8. Plotkin LI, Weinstein RS, Parfitt AM, Roberson PK, Manolagas SC, Bellido T. Prevention of osteocyte and osteoblast apoptosis by bisphosphonates and calcitonin. *J Clin Invest* 1999; 104: 1363-74.
9. Komatsu F, Kudoh H, Kagawa Y. Evaluation of oxidative stress and effectiveness of low-dose glucocorticoid therapy on exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2007; 62: 459-64.