

Revisión de la hipótesis de la matriz funcional.

2. Rol de una red de células óseas conectadas

Melvin Moss, New York

American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics.

Vol. 112 No 2, 221-226, 1997

El espacio intercelular permite a las células óseas transmitir intercelularmente y subsecuentemente procesar información de la matriz funcional periostal, iniciando procesos intracelulares de mecanotransducción. Además el espacio intercelular, actuando como medio para la sinapsis eléctrica, hace posible la organización del tejido óseo como una red celular conectada, y el hecho de que todos los procesos de adaptación ósea sean multicelulares. Son definidas las características estructurales y operacionales de tal red biológica y son descriptos los atributos específicos de las células óseas. Específicamente el hueso es “sintonizado” en la misma frecuencia que la actividad del músculo esquelético. La inclusión de los conceptos y bases de datos que están relacionados por los mecanismos de las células óseas intra e intercelularmente y los procesos de mecanotransducción y la organización del hueso como una red biológica celular conectada, permiten la revisión de la hipótesis de la matriz funcional (HMF) la cual ofrece una serie de explicaciones extendiéndose jerárquicamente desde los eventos epigenéticos de la contracción muscular a la regulación del genoma de las células óseas.

El primer artículo de esta serie consideró las implicancias para la Hipótesis de la Matriz Funcional (FMH) de la capacidad de las células óseas de llevar a cabo mecano-sensación y mecanotransducción intracelular y comunicación intercelular. En este artículo, se considerarán las implicancias para la FMH de la inclusión de la teoría conexionista de redes.

El hueso como una red celular interconectada (CCN)

Todas las células óseas, excepto los osteoclastos, están profusamente interconectadas⁸⁷⁻⁹¹ por espacios de unión que forman una CCN.^{7,8,42} En estas uniones, la proteína principal es la connexin^{43,92}

Cada osteocito, aislado por la matriz mineralizada, tiene muchos ($n = \pm 80$) procesos citoplasmáticos (canalicular), $\pm 15 \mu\text{m}$ de longitud y organizado tridimensionalmente, que conectan con procesos similares de más de 12 células vecinas. Estos procesos quedan dentro de canales de la matriz ósea mineralizada (canaliculi). El pequeño espacio entre la membrana plasmática del proceso celular y la pared canalicular es ocupada por complejos macromoleculares.

Los espacios de unión se hallan donde la membrana plasmática de un par de procesos canaliculares se reúnen marcadamente sobrepuestos.⁹³ En el hueso compacto los canaliculos atraviesan “líneas de cemento”, y forman extensas comunicaciones entre regiones óseas e intersticiales.⁹⁴ Los espacios de unión también conectan osteocitos superficiales a osteoblastos periostales y endostales.

Todos los osteoblastos están en forma similar conectados lateralmente. Verticalmente, los espacios de unión conectan osteoblastos periostales con células preosteoblásticas, y éstas, a su vez, están igualmente interconectadas.⁹⁵ Efectivamente, cada CCN es un verdadero sincicio.^{87, 91, 93} Las células óseas son eléctricamente activas.^{57, 58, 85, 95-101} En un sentido real el tejido óseo está “fuertemente interconectado”.^{7, 8, 96}

Además de permitir la transmisión intercelular de iones y moléculas pequeñas, los espacios de unión exhiben tanto coloración por transmisión eléctrica como por fluorescencia.⁶³ Los espacios de unión son sinápsis eléctricas, a diferencia de las sinápsis interneuronales químicas y significativamente ellas permiten tráfico bidireccional de señales, por Ej. bioquímicas, iónicas.

Células óseas activadas mecanotrans-ductivamente, por Ej. osteocitos, pueden iniciar potenciales de acción de membrana capaces de transmitir a través de los espacios de interconexión. Se sugiere aquí la primacía de señales iónicas más que mensajeros secundarios porque, aunque la transducción de células óseas puede también producirse por pequeñas moléculas bioquímicas que pueden pasar a través de los espacios de unión, el tiempo acotado de procesos mecanosensoriales se cree que son demasiado rápidos como para involucrar a mensajeros secundarios.^{25,32} (Ver Carvalho et al. ¹⁰² para una visión opuesta). Una CCN es operacionalmente análoga a una “red neural artificial” en la cual ocurre procesamiento de señales paralelas o paralelamente distribuidas.¹⁰³⁻¹⁰⁵ Este procesa en forma computarizada, en un modo de red de multiproce-

* Presentado para su publicación el 30/07/09

samiento, las señales intercelulares creadas por un tipo eléctrico de mecanotransducción de estímulos de la matriz funcional del periostio. Subsecuentemente las señales de información producidas por la red computada se mueve jerárquicamente “hacia arriba” para regular la adaptación de la unidad esquelética a las respuestas de los osteoblastos. Afortunadamente, las bases de la teoría del conexionismo son suficientemente seguras para permitir la modelación de una red celular interconectada biológicamente.¹⁰⁶⁻¹¹⁰ Consta de un número relativamente simple, elementos de procesamiento densamente inter-conectados (células óseas), con muchas más interconexiones que células. Es útil que las células óseas formen una red porque los receptores individuales no pueden codificar inequívocamente, sólo una población de células puede hacer esto.¹⁰³

En la teoría de la red, estas células están organizadas en “estratos”: una entrada inicial, una información de salida y uno o más estratos intermedios o “estratos ocultos”. Es importante, que tal red no necesita ser numéricamente compleja para ser operacionalmente compleja.¹¹¹ Los procesos operacionales son idénticos, en principio, para todas las células óseas en todas las capas. Indiferente al actual proceso fisiológico acordado, cada célula en cualquier estrato puede simultáneamente recibir varias entradas de carga (estímulos). Un peso es un atributo cuantitativo. En el estrato inicial, estos representan las cargas. A través de cada célula independientemente, “...todas las entradas de carga son sumadas.”¹¹² Esta suma es luego comparada, dentro de la célula, contra un valor liminal o umbral. Si este valor es excedido, es generada una señal intracelular, es decir, ocurre exitosa mecanotransducción. Esta señal es luego transmitida idénticamente a todos los estratos celulares “ocultos” (osteocitos adyacentes) a los cuales cada estrato inicial de células está conectado por uniones de conjunción (y existen muchos estilos de conectividad). Luego, procesos similares de sumatoria de señales de carga, comparación y transmisión ocurre en estos estratos intermedios hasta que el último estrato de células sea alcanzado (osteoblastos). El potencial generado de estas células anatómicamente superficiales determinan el sitio, ritmo, dirección, magnitud y duración de la respuesta específica adaptativa, es decir, aposición, reabsorción y/o mantenimiento de cada cohorte de osteoblastos.¹¹³

La información no es almacenada discretamente en una red conectada celular, como lo es en el CPU de una simple computadora. Más bien es distribuida a través de toda o parte de la red, y varios tipos de información puede ser almacenada simultáneamente. El estado instantáneo de una Red Celular Interconectada (RCI) es una propiedad del estado de todas sus células y de todas sus conexiones. Acordadamente, la representación informática de la RCI es redundante, asegurando que la red no tenga fallas o

tenga errores tolerables, es decir, una o varias células inoperantes causan pequeña o no registrable pérdida en la operación de la red,¹¹² una cuestión de útil significado clínico.

Las RCI muestran oscilación, es decir, transmisión de señales iterativas recíprocas entre estratos (retroalimentación). Este atributo los habilita a un ajuste por auto-organización. Esta conducta está relacionada al hecho que las redes celulares interconectadas biológicas no están pre-programadas; más bien ellas aprenden por “entrenamiento” no supervisado o epigenético,¹¹⁴ un proceso probablemente relacionado a cambios estructurales o conformacionales en el citoesqueleto.⁸³ El fenómeno de entrenamiento de la red y aprendizaje está relacionado a los sugeridos efectos de la naturaleza oscilatoria de su historia de tensión.¹¹⁵ Acordadamente, los atributos estructuralmente más complejos de la red y la conducta de una RCI se auto-organizan gradual o epigenéticamente y emerge durante la operación. Estos atributos de la red no son simplificables, es decir, ellos ni están claros ni son predecibles desde un conocimiento previo de los atributos de las células individuales.

Los espacios de unión, permitiendo el flujo bidireccional de la información, son las bases citológicas para la conducta oscilatoria de la RCI. Todos los osteoblastos de la cohorte comprometidos en un proceso idéntico de adaptación están interconectados por uniones de conjunción abiertas. La presencia de repentinas discontinuidades histológicas entre cohortes de osteoblastos fenotípicamente diferentes está relacionada a su habilidad para cerrar uniones en los límites entre tales cohortes, y así prevenir el flujo de la información.^{116,117} La red de información también puede transmitir señales inhibitorias, una cuestión significativa más allá de las presentes cuestiones.¹¹⁸

Una RCI esquelética muestra los siguientes atributos: 1) Evolutivamente, es un sistema auto-organizado no entrenado, regulado por auto-adaptación y epigenéticamente. 2) Operacionalmente, es un sistema dinámico, estable, que exhibe una conducta oscilatoria permitiendo retroalimentación. Opera en un entorno ruidoso, no estacionario y probablemente usa útiles y necesarias entradas inhibitorias. 3) Estructuralmente, una RCI ósea no es modular, es decir, las variaciones en su organización permiten discreto procesamiento de señales diferentes. Este atributo es el que permite la triada de respuesta histológica a un evento unitario de carga.

En este artículo existen ciertas simplificaciones, como en mucha de la literatura sobre el hueso. Se asume que las células óseas están organizadas en sólo dos dimensiones, las cargas óseas ocurren sólo en un sitio discreto y los gradientes de las tensiones no son considerados. Sin embargo, la realidad biológica es distinta. En un volumen de

hueso tridimensionalmente cargado gradientes de deformación deben existir y cada osteocito probablemente siente únicamente diferentes propiedades de tensión. Más aun, es probable que cada osteocito esté potencialmente capacitado para transmitir tres señales adaptacionales diferentes, en tres direcciones diferentes – algunas estimulatorias y otras inhibitorias. Sin embargo, estos procesos no han sido aun adecuadamente modelados. El rol de las matrices periostales: la nueva visión.

La primacía morfogenética de las matrices funcionales periostales sobre sus unidades esqueléticas es aceptada consensuadamente. Como se altera una demanda muscular, por ej miotomía, neurectomía, ejercicio, hipertrofia, hiperplasia, atrofia, aumento o reposicionamiento, la triada de procesos activos de crecimiento óseo adapta como corresponde la forma de la unidad esquelética específicamente relacionada.

De inmediato, excluyendo la estimulación de los aferentes neurales en el músculo, tendón y periostio, cargas físicas extrínsecas tienden a deformar el tejido óseo y apela a los procesos adaptativos de respuesta de la unidad esquelética (hueso). Un ejemplo clásico es la regulación de la forma del proceso coronario por el músculo temporal.¹¹⁹ La tensión en el tendón de este músculo contraído transmitida a través de entrelazadas fibras periostales insertadas en el hueso subyacente, deforma la unidad esquelética traccionada.¹²⁰

Aunque algunos osteoblastos periostales pueden ser directamente estimulados,¹²¹ datos existentes sugieren la primacía osteocítica en los procesos mecano-sensoriales.¹²² Anatómicamente, las células óseas son mecanorreceptores competentes. Sus series tridimensionales de amplios procesos celulares canaliculares son arquitectónicamente apropiados para percibir la deformación de la matriz mineralizada.¹²³

Aunque ningún parámetro mecánico confiable predice todas las respuestas adaptacionales o de remodelación del hueso,¹²⁴ la tensión probablemente juega el rol principal¹²⁵⁻¹²⁸ y es un estímulo competente.⁵¹ El atributo tensión puede variar con condiciones específicas.¹²⁹ Estas incluyen: a) categoría ósea respondiendo mejor a la carga dinámica de preferencia a la estática,⁵⁴ b) frecuencia con que el osteocito puede ser fisiológicamente armonizado con las frecuencias de la función muscular,¹³⁰⁻¹³² con sintonía análoga a aquellas células sensoras especializadas no óseas,^{34,35} por ej. células pilosas auditivas; y c) magnitud relativa a pequeñas microtensiones ($\mu\epsilon$) (sobre 10-6 mm/mm) y magnitud de tensión de $2000 \pm 1000 \mu\epsilon$ son morfológicamente competentes.^{55,56,129,133}

Aunque razonablemente se presume que los procesos mecanosensoriales, tanto de tipo iónico como mecánico, involucra los procesos de la membrana plasmática del

cuerpo del osteocito o de los procesos canaliculares, la recepción y la posterior transducción, no son procesos ni bien entendidos ni existe un acuerdo consensuado.

La contracción del músculo esquelético es un evento típico de carga a la matriz funcional periostal,^{13,14,16,120,134, 135} y la frecuencia es uno de los parámetros críticos. Aunque la frecuencia fundamental de contracción del músculo está sobre los 2 Hz, existen otras tensiones en frecuencia armónica de 15 a 40 Hz.

Estas frecuencias de alto orden, significativamente relacionadas a respuestas adaptativas óseas están "...presentes dentro del espectro de energía tensional (contracción muscular) sin considerar el animal o actividad e implica la dinámica de la contracción muscular como la fuente de esta banda de energía" (en *italica* opinión del autor).^{68, 132,136} El significado particular de la HMF es la íntima similitud de las frecuencias del estímulo del músculo a la frecuencia del estímulo de respuesta del tejido óseo.

MECANOTRANSDUCCIÓN: UNA SÍNTESIS TENTATIVA

Los datos mencionados previamente sugieren que la habilidad de las matrices funcionales periostales para regular la respuesta adaptativa de sus unidades esqueléticas por procesos mecanotransductivos iónicos está relacionada a varios factores. Estos son que (a) la función muscular normal insertada al tejido óseo tensiona intermitentemente; (b) la dinámica de la contracción muscular se adecua bastante bien con los requerimientos energético para la sensibilización de la célula ósea; (c) El rango de los armónicos específicos tensión-frecuencia de la dinámica muscular son también aquellos detectados como competentes desde el punto de vista morfogenético (es decir, osteorreguladores); (d) la actividad normal del músculo esquelético produce campos eléctricos intraóseos en el orden de los campos extrínsecos encontrados ser morfogenéticamente similares; y (e) las células óseas pueden ser estimuladas directamente por dos mecanismos por tensión que activa la membrana plasmática y canales e indirectamente por fenómenos electroquinéticos.

Estos factores sugieren enfáticamente más bien una precisa conjunción de características operacionales significativas entre una contracción al estímulo del músculo esquelético y la habilidad de la células óseas cargadas para transducir esto en señales capaces de la regulación de sus respuestas adaptativas. En una frase, el hueso parece estar cercanamente "en consonancia" con el músculo esquelético, es decir, las unidades esqueléticas están en consonancia con sus matrices periósticas funcionales.

Cuando ambos, tanto los procesos transductivos iónicos y mecánicos (palanca molecular) están conceptual y opera-

cionalmente combinados con los datos de los efectos de los campos eléctricos y la frecuencia energética de la contracción, ellos proveen una base biofísica lógica de soporte suficiente para la hipótesis de la regulación epigenética de adaptación del tejido óseo.^{1,13,16-18,38,129,137}

En realidad, es probable que los procesos transductivos iónicos (eléctricos) y mecánicos (palanca molecular) en los osteocitos no son exhaustivos ni mutuamente excluyentes. Mientras usando mecanismos o procesos intermedios de membrana diferentes, ellos comparten una senda común y un final común, es decir, ellos eventualmente producen señales regulatorias de la actividad osteoblástica. Ciertamente en los procesos iónicos y posiblemente en el mecanismo del sistema de palanca molecular, los procesos transductivos también causan un flujo iónico a través de la membrana, creando una señal capaz de transmisión intercelular a células óseas vecinas a través de uniones de conjunción¹²³ y luego subsecuente computación biológica en una red celular conectada ósea.

CONCLUSIÓN

Mientras que la versión original de la HMF ofreció sólo descripciones verbales de la función de la matriz del periostio y de la respuesta de la unidad esquelética, la incorporación a la HMF de los conceptos de mecano-transducción y de biología ósea computarizada ofrece una cadena explicativa que va desde el hecho epigenético de la contracción muscular esquelética, en forma descendente siguiendo las jerarquías., a través de los niveles celulares y moleculares, hasta el genoma de la célula ósea, y luego nuevamente en forma ascendente, a través de los niveles histológicos hasta el hecho de los cambios adaptativos de la forma del hueso. El análisis de los cambios de tamaño y forma mediante métodos de elementos finitos recurriendo a referencia-marco-variación, produce una descripción más comprehensiva e integrada de la totalidad de los procesos de regulación epigenética de la forma del hueso que la que podía lograrse anteriormente.