



ACTUALIZACIONES / Reviews

INTERACCIÓN DEL MICROBIOMA INTESTINAL Y EL HUESO

Gabriela Díaz de Barboza, Valeria Rodríguez, Germán Talamoni, Gabriela Picotto, María Angélica Rivoira, Nori Tolosa de Talamoni*

Laboratorio Dr. Cañas, Cátedra de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Médicas, INICSA (CONICET-Universidad Nacional de Córdoba), Córdoba, Argentina.

Resumen

El “microbioma” no solo está constituido por los microbios, sino por todos los componentes que viven en el mismo hábitat conformando un nicho ecológico. Es decir, está conformado por los microorganismos (bacterias, hongos, protozoos, etc.), todo el espectro de moléculas producidas por ellos tales como sus componentes estructurales (ácidos nucleicos, proteínas, lípidos y glúcidos), metabolitos, toxinas, etc., y las moléculas producidas por el huésped. El microbioma intestinal (MI) ha emergido como un factor que tiene un gran efecto sobre la cantidad, calidad y fuerza del hueso. Las investigaciones revelan que la homeostasis ósea está ligada al microbioma saludable, mientras que la disbiosis (alteración en la biodiversidad microbiana) puede exacerbar la actividad osteoclástica y promover la osteoporosis. Los mecanismos potenciales involucrados en la interacción del microbioma intestinal y el hueso son la influencia del metabolismo del huésped, el mantenimiento de la integridad intestinal y regulación de la absorción de nutrientes, la regulación del eje intestino-sistema inmune y la modulación del sistema endocrino. Es decir que hay múltiples vías por las cuales el

MI influye sobre el hueso, pero estos y otros mecanismos deben profundizarse más aún. También es necesario que se identifiquen y caractericen mejor los microorganismos que están asociados a las enfermedades óseas. El conocimiento de estos aspectos podría ser útil para el desarrollo de herramientas terapéuticas basadas en el MI que puedan mejorar la eficacia de los distintos tratamientos existentes.

Palabras clave: interacción microbioma/hueso, integridad intestinal, eje intestino/sistema inmune, microbioma y sistema endocrino.

Abstract

INTERACTION BETWEEN THE INTESTINAL MICROBIOME AND BONE

The microbiome is not only constituted by microbes, but by all the components that live in the same habitat forming an ecological niche. It is conformed by the microorganisms (bacteria, fungi, protozoa, etc), the entire spectrum of molecules produced by them (nucleic acids, proteins, lipid and carbohydrates, metabolites, toxins, etc) and the molecules produced by the host. The intestinal microbiome (IM) has emerged as a

*Email: ntolosatalamoni@yahoo.com.ar

factor with great effects on the quantity, quality and strength of bone. The investigations reveal that bone homeostasis is linked to the healthy microbiome, while the dysbiosis (alteration in the microbial biodiversity) can exacerbate the osteoclastic activity and promote osteoporosis. The potential mechanisms involved in the interaction between IM and bone are the influence of the host metabolism, the maintenance of the intestinal integrity and regulation of the nutrient absorption, the regulation of the intestine/immune system axis and the modulation of the endocrine system.

That is, there are multiple ways through which IM influences on bone, but these and other mechanisms need to be further studied. It is also necessary to identify and characterize the microorganisms associated with the bone diseases. Knowledge of these aspects could be useful to develop therapeutical tools based on the IM that could improve the efficacy of the current treatments.

Key words: *interaction microbiome/bone, intestinal integrity, intestine/immune system axis, microbiome and endocrine system.*

Introducción

Los términos “microbiota” y “microbioma” suelen usarse indistintamente, pero existe diferencia entre ambos que es importante conocer para evitar confusiones. La “microbiota” es el conjunto de microorganismos que están presentes en un entorno definido.¹ Está constituida por bacterias, hongos, arqueas, protozoos, etc., que existen dentro o fuera del huésped.² Los virus, los plásmidos, los priones, los viroides y el ADN libre no pertenecen a la microbiota porque no suelen considerarse microorganismos vivos. El término “microbioma” no solo está conformado por los microorganismos sino también por todo el espectro de moléculas producidas por ellos tales como sus componentes estructurales (ácidos nucleicos, proteínas, lípidos y glúcidos), metabolitos, toxinas, etc., y moléculas producidas por el huésped, es decir, por todos los componentes que viven en el mismo hábitat conformando un nicho ecológico. Por lo tanto, los elementos génicos móviles tales como los fagos, virus, ADN reliquia (ADN extracelular que deriva de células muertas) forman parte del microbioma pero no de la microbiota.³

Aunque los microbios están presentes sobre la superficie mucosa de cualquier sitio del

huésped, la mayoría reside en el tracto gastrointestinal y constituyen la microbiota intestinal.⁴ La microbiota intestinal humana está constituida por 100 trillones de microbios que codifican por 3,3 millones de genes, un número altamente superior al total de genes que codifica el ser humano (23.000 genes).^{5,6} Pese a que siempre se ha considerado que los microbios son obtenidos originalmente en el nacimiento, casi exclusivamente de la madre, este dogma se ha desafiado debido a que hay ciertas evidencias de la existencia de microbios en la placenta.⁷ La composición de la microbiota puede ser afectada por la edad, la dieta, las enfermedades, los viajes y el abuso de drogas. En la adultez, la composición de la microbiota es relativamente estable.⁸ Con el envejecimiento, la microbiota intestinal se vuelve inestable, presenta una reducida diversidad y pierde resiliencia frente a los cambios en su composición.⁹ La microbiota puede funcionar como un órgano multicelular que influenciaría al huésped de manera beneficiosa mejorando la fisiología intestinal, el crecimiento del huésped, las funciones metabólicas, el funcionamiento del sistema inmune y el balance energético, entre otros.¹⁰ Sin embargo, cuando hay alteración en la biodiversidad microbiana, se produce lo que



se llama “disbiosis” (también denominada “disbacteriosis”), lo que conduce a cambios cuantitativos o cualitativos en la composición de la microbiota, cambios en su funcionamiento o actividades metabólicas, o bien, a cambios en su distribución. Este desequilibrio bacteriano se ha asociado a diversas patologías. La colección de genomas y genes de los componentes de la microbiota intestinal se denomina “metagenoma”.¹¹ Es por ello que algunos autores se refieren al microbioma como al metagenoma de la microbiota.¹²

Recientemente, el microbioma intestinal (MI) ha emergido como un factor que tiene un gran efecto sobre la cantidad, calidad y fuerza del hueso. Es por ello que al MI se lo ha ligado a patologías óseas muy frecuentes como la osteoporosis. El propósito de esta revisión es describir sintéticamente los principales mecanismos moleculares y celulares por los cuales el MI influye sobre la homeostasis del hueso, a fin de contribuir al conocimiento de la patogénesis y tratamiento de las enfermedades óseas, en particular de la osteoporosis.

Composición y función del microbioma intestinal

El intestino humano está colonizado en un 90% por bacterias *Firmicutes* y *Bacteroidetes*. Otras bacterias que están presentes en menor proporción son las *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Fusobacteria* y *Verrucomicrobia*.¹³ Cuando se producen alteraciones del sistema inmune, cambia la relación *Bacteroidetes*/*Firmicutes* con una declinación importante en *Bifidobacteria*.¹⁴ La composición microbiana de los niños depende en gran parte del modo de nacimiento. Los infantes nacidos por vía vaginal tienen una composición de la microbiota similar a la de la microbiota vaginal de la madre, consistente en un predominio de *Lactobacillus*, *Prevotella* o *Sneathia*. Los niños que nacen por cesárea carecen de las especies microbianas de la vagina materna; ellos adquieren microbios de la piel de la madre

y del hospital, con predominio de bacterias *Staphylococcus*, *Corynebacterium* y *Propionibacterium*.¹⁵ La composición de la microbiota intestinal también es influida por factores genéticos del huésped y ambientales,¹⁶ entre ellos por el amamantamiento y el uso de antibióticos. En las etapas iniciales de la vida predominan microbios *Actinobacteria* y *Proteobacteria*, luego se incrementa la diversidad y a los 2,5 años la composición, diversidad y función del perfil microbiano se asemejan a las del adulto.¹⁷ Las bacterias intestinales tienen un rol importante en el mantenimiento de la integridad intestinal, el mantenimiento del sistema inmune y la homeostasis metabólica protegiendo en contra de los patógenos. La disbiosis de la microbiota intestinal se ha asociado con la patogénesis de enfermedades inflamatorias e infecciones.⁷ Se ha demostrado reducción de la relación *Firmicutes*/*Bacteroidetes* en heces de animales de experimentación con osteoporosis inducida por ovariectomía.¹⁸ En los seres humanos se ha asociado la homeostasis del hueso con el microbioma saludable y la disbiosis intestinal con incremento de la actividad osteoclástica y la osteoporosis.¹⁹

Mecanismos potenciales involucrados en la interacción del microbioma intestinal y el hueso

Influencia sobre el metabolismo del huésped

El metabolismo óseo es un equilibrio entre la formación y la resorción ósea. En este proceso participan e interaccionan varios sistemas tales como el sistema inmune y el sistema endocrino. En modelos de ratones libres de gérmenes (LG) se ha demostrado que el MI es un factor crítico en la regulación del remodelado óseo.²⁰ Además, el MI también influye sobre la absorción de minerales relacionados con el hueso; tal es el caso del calcio que se absorbe principalmente en el intestino delgado.²¹ Se ha descrito que el MI modifica la actividad de las células óseas y, si se altera, puede llevar al desarrollo de

patologías como osteoporosis, artritis reumatoide y periodontitis.²²

Las bacterias probióticas son microorganismos vivos que, cuando se administran en cantidades adecuadas, confieren un beneficio a la salud del huésped; ellas alteran la composición o la actividad metabólica del MI. Los mecanismos subyacentes sugeridos de cómo los probióticos contribuyen a la salud son múltiples; se conoce que aumentan la solubilidad y la absorción de minerales, mejoran la barrera intestinal y modulan el sistema inmune. Wallace et al.²³ demostraron que los probióticos pueden mejorar la absorción intestinal del calcio y mantener el pH intestinal a través de una mayor producción de ácidos grasos de cadena corta (AGCC). De manera similar a los ácidos grasos, la fructosa, los oligosacáridos y las fibras solubles de maíz pueden mejorar la eficacia de absorción del calcio, produciendo una mejor calidad ósea. También se ha demostrado que la modulación del MI por el uso de probióticos puede promover la homeostasis ósea en diferentes contextos fisiológicos y patológicos, como lo es la pérdida ósea asociada a la ovariectomía en ratones. Los mecanismos propuestos son la reducción en la expresión de citoquinas inflamatorias, TNF- α e IL-1 β , y el aumento en la expresión de osteoprotegerina, un potente inhibidor de la osteoclastogénesis.²⁴

Por otro lado, la administración de bajas dosis de antibióticos como penicilina y vancomicina a temprana edad que produjeron aumento en la densidad mineral ósea en ratones^{25,26} confirma la interacción del MI y el tejido óseo. Sin embargo, la administración de antibióticos de amplio espectro en humanos no mostró ningún efecto sobre la salud ósea.²⁷ Ríos-Arce et al.²⁸ demostraron recientemente que la disbiosis inducida por antibióticos causa pérdida ósea en múltiples cepas de ratones, efecto que es dependiente de los linfocitos T y B. La repoblación bacteriana después del tratamiento con antibióticos es diferente entre los ratones *wild type* y los ra-

tones deficientes en linfocitos, y la suplementación con *Lactobacillus reuteri* previene la pérdida ósea inducida por disbiosis en estos ratones deficientes.²⁸

El MI también desempeña un rol esencial en el metabolismo de los ácidos biliares (AB). Estos se sintetizan en el hígado a partir del colesterol, se vierten al tracto intestinal y participan en la digestión y absorción de grasas de la dieta. El MI convierte los AB primarios en AB secundarios no conjugados a través de reacciones de desconjugación y deshidroxilación. Ellos actúan como hormonas esteroideas, uniéndose a receptores tales como el receptor de AB acoplado a proteína G 1 (GPBAR1) y el receptor farnesoide X (FXR).²⁹ Recientemente se ha comprobado que los AB pueden regular el metabolismo óseo. Cho et al.³⁰ demostraron que los AB, *in vitro*, a través del FXR, aumentaron la actividad de los osteoblastos mediante el incremento en la expresión de Runx2 y β -catenina. En nuestro laboratorio demostramos que el ácido litocólico (LCA), AB secundario colocado en la luz intestinal, protege la absorción intestinal de Ca⁺² contra los efectos inhibitorios causados por el deoxicolato de sodio, otro AB secundario, normalizando la expresión génica y proteica de las moléculas involucradas en la absorción del catión.³¹ Sin embargo, se necesitan más estudios para evaluar el rol del LCA sobre el metabolismo del hueso.

Mantenimiento de la integridad intestinal y regulación de la absorción de nutrientes

Las células del epitelio intestinal forman la barrera entre los microbios y el tejido intestinal para prevenir la invasión de microbios dentro de la lámina propia intestinal. La barrera intestinal es mantenida por cinco tipos diferentes de células epiteliales especializadas, entre las cuales las células caliciformes secretan mucus que evita el contacto directo entre la microbiota y las células del epitelio intestinal. El mucus está formado por diferentes glicoproteínas, de las cuales la más importante es la



Mucina 2. Las células de Paneth y los enterocitos secretan péptidos antimicrobianos, que pueden eliminar una amplia gama de bacterias Gram(+) y Gram(-), y su secreción es inducida por lipopolisacáridos y oligonucleótidos. Las células enteroendocrinas producen la hormona serotonina, que regula la inflamación intestinal y mantiene la homeostasis inmunitaria.³² También la inmunoglobulina A secretora (IgAs) y las uniones estrechas o *tight junctions* (TJ) regulan la barrera intestinal.²

La integridad intestinal puede deteriorarse en condiciones fisiológicas y patológicas óseas. Se ha demostrado que la barrera intestinal está afectada durante la osteoporosis posmenopáusica, ya que la deficiencia de esteroides sexuales modifica la expresión de las TJ, incrementando la permeabilidad intestinal y la liberación de citoquinas osteoclastogénicas como IL-17, RANKL y TNF- α en el intestino y en la médula ósea dando como resultado la resorción ósea.³³ También se ha demostrado deterioro de la barrera intestinal en la periodontitis³⁴ y la artritis.³⁵ Como la integridad intestinal regula la salud ósea, se requiere el mantenimiento adecuado de la función de la barrera para la inhibición de la inflamación intestinal y, por lo tanto, de la pérdida ósea inflamatoria.

La absorción de nutrientes puede afectarse por la dieta del huésped, que a su vez altera la composición de los microorganismos.³⁶ La absorción de carbohidratos y otros nutrientes proporciona la energía necesaria para la supervivencia de las bacterias intestinales, y la composición de la dieta tiene un impacto importante en la comunidad microbiana. Una dieta alta en calorías se asocia con una proporción reducida de *Bacteroides/Firmicutes*,³⁷ lo que puede provocar trastornos metabólicos en el huésped. Por el contrario, una dieta baja en calorías aumenta la concentración de sustancias nocivas en el intestino, lo que también puede tener un impacto negativo en la salud del huésped.³⁸ Aunque la ingesta adecuada de proteínas proporciona el ma-

terial necesario para el crecimiento óseo, el exceso de proteínas en la dieta puede causar niveles elevados de sustancias tóxicas en el intestino tales como el sulfuro de hidrógeno y el metano.

Algunos trabajos han demostrado que la fermentación microbiana de las fibras dietéticas produce AGCC que son reguladores del metabolismo de los osteocitos y la masa ósea. El consumo de AGCC y una dieta alta en fibra en ratones puede aumentar la masa ósea, prevenir su pérdida y mejorar la osteoporosis. El mecanismo del efecto protector de los AGCC sobre la masa ósea radica en que estos compuestos regulan la diferenciación de osteoclastos e inhiben la resorción ósea *in vitro* e *in vivo* sin afectar la formación ósea. El ácido propiónico (C3) como el ácido butírico (C4) son AGCC que pueden inducir la remodelación metabólica de los osteoclastos, provocando aumento de la glicólisis a expensas de la fosforilación oxidativa y disminución en la expresión de los genes TRAF6 y NFATc1, componentes de señales esenciales en las etapas tempranas de la osteoclastogénesis después de la estimulación de RANKL.³⁹ Todo ello conduce a la inhibición de la diferenciación de los osteoclastos y a la reducción de la resorción ósea.

Es bien conocido que la vitamina D regula la homeostasis de la mucosa intestinal. Tabatabaeizadeh et al.⁴⁰ han demostrado que los suplementos de vitamina D en niñas adolescentes (9 dosis semanales de 50.000 UI) derivaron en un aumento de *Firmicutes*, *Bifidobacterium* y *Enterococcus*, y una disminución de *Bacteroidetes* y *Lactobacillus*. También se ha demostrado que la microbiota intestinal influye en los niveles de vitamina D circulante. Por ejemplo, un ensayo clínico en 127 individuos mostró que la suplementación de *Lactobacillus reuteri* NCIMB 30242 aumentó la circulación media de 25-hidroxivitamina D en un 25,5% después de una intervención de 9 semanas.⁴¹

Regulación del eje intestino-sistema inmune

La osteoimmunología es un nuevo campo de estudio que surgió de evidencias que demostraban la existencia de una interacción cruzada de la inmunidad y el hueso. El grupo de Sjögren²⁰ fue el primero que demostró que el MI influía sobre el hueso alterando el sistema inmune (SI). Ellos observaron que los animales LG presentaban mayor masa ósea asociada a un número reducido de células T CD4+ y de citoquinas inflamatorias en comparación con los animales controles.²⁰ Se han descrito varios tipos celulares pertenecientes al SI que cumplen un rol importante en la homeostasis ósea, como las células T reguladoras (Tregs), las células B reguladoras (Bregs) y las células “T helpers” de tipo 17 (Th17) que producen interleuquina (IL) 17. Las células Th17 pueden migrar a la médula ósea e inducir el reclutamiento de precursores de osteoclastos por secreción de RANKL o por la producción de IL. La IL-17 estimula la inflamación mediada por el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) y otras IL.⁴² Las células Tregs tienen capacidad inmunosupresiva y promueven el mantenimiento de la tolerancia inmunológica. A nivel óseo, ejercen el efecto opuesto dado que inhiben la osteoclastogénesis suprimiendo la formación de MCSF (factor estimulante de la colonia de macrófagos) y RANKL y la síntesis de TNF- β y otras IL.⁸ Por lo tanto, el desequilibrio entre las células Tregs y Th17 podría promover un estado inflamatorio que lleve al desarrollo de patologías como, por ejemplo, la artritis reumatoide o la periodontitis.²² Más recientemente se ha descrito que las células Bregs inhibirían la proliferación de osteoclastos mediante la secreción de IL-10 y que otras células del SI regularían el metabolismo óseo por secreción de interferón y otras IL.⁴³ La barrera intestinal suele estar alterada en la osteoporosis posmenopáusica y este aumento en la permeabilidad puede causar la expansión de las células Th17

y, de esta manera, el incremento en la resorción ósea.³³

Por otro lado, la microbiota intestinal es también necesaria para el desarrollo del SI. Se ha demostrado que la recolonización de animales LG con especies relacionadas con *Clostridia* induce el desarrollo de algunas poblaciones de células Th. Aún más, se ha comunicado que en individuos sanos, algunos antígenos bacterianos son necesarios para la expansión y generación de células Tregs y para mantener su balance con las Th17.⁴⁴ Los lipopolisacáridos (LPS) liberados por las bacterias Gram(-) o el aumento en la producción de IL-6 y otras IL inducido por la microbiota desde las células dendríticas (DC) o macrófagos, promueven la diferenciación de Bregs.⁴⁵

Algunos metabolitos asociados a la microbiota también regulan el eje SI-hueso. Los AGCC mantienen la homeostasis del SI induciendo a los Tregs e inhibiendo a los Th17.⁴⁶ Los Tregs, a su tiempo, inhiben la diferenciación de osteoclastos (OC). La señal inducida por estos compuestos es fundamental para mantener el balance entre inmunidad a patógenos y tolerancia a la microbiota. El butirato aumenta la síntesis de un metabolito que, al unirse a su receptor, programa a las células B para transformarse en Bregs y disminuye así el estado inflamatorio.⁴⁷ Las evidencias actuales muestran que la microbiota tiene un rol importante en la regulación de las relaciones entre el SI y el hueso. Su alteración podría promover algunas patologías óseas, incluidas las de origen inflamatorio. Se requerirán estudios clínicos en humanos a gran escala para comprender la compleja interrelación del eje intestino-SI-hueso y validar estos datos, en su mayoría experimentales.

La Figura 1 describe esquemáticamente los mecanismos potenciales desencadenados por los AGCC y los AB en la interacción del microbioma intestinal con el sistema inmune y el hueso.

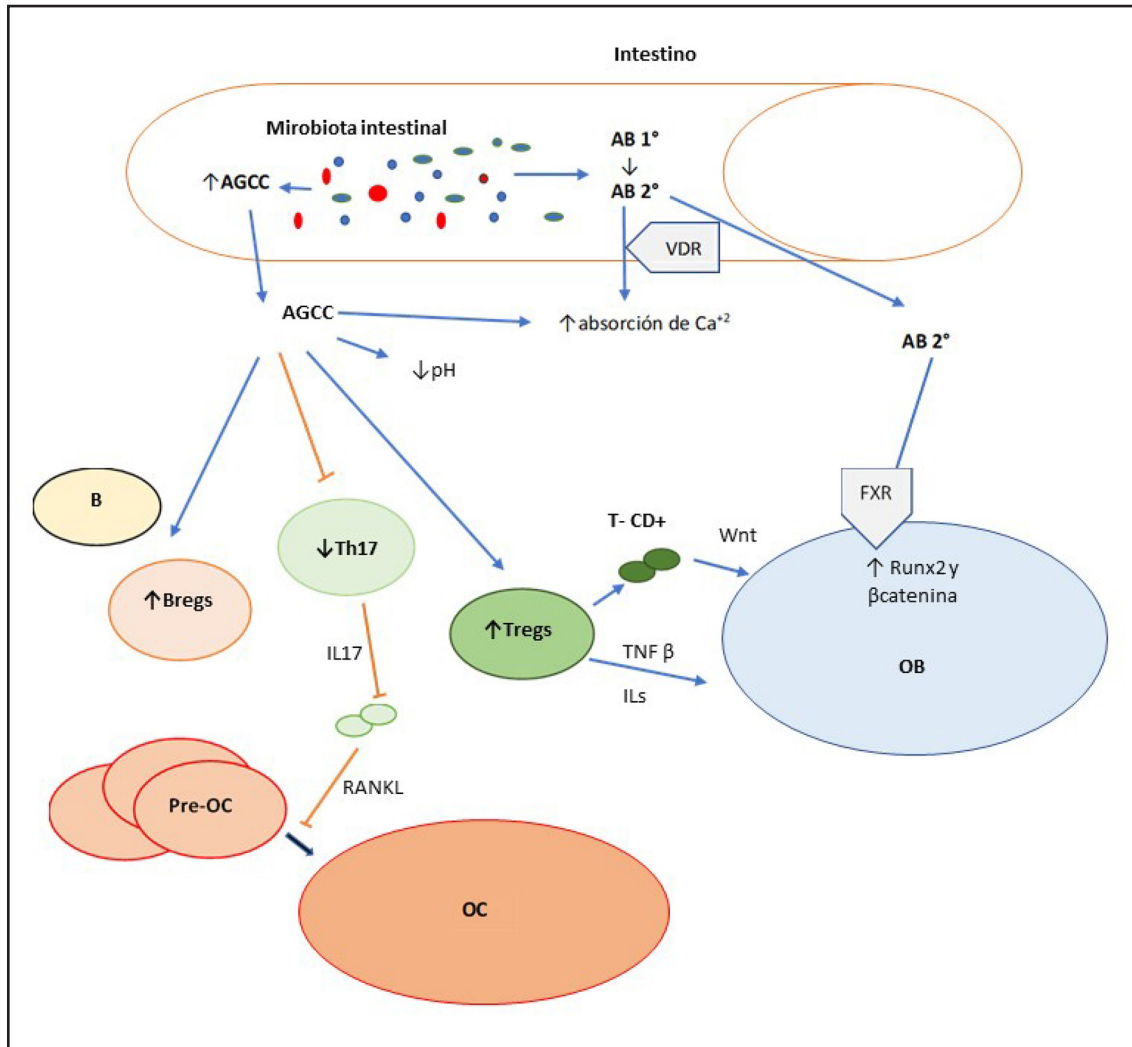


Figura 1. Mecanismos potenciales de AGCC y AB en la interacción del microbioma intestinal, el sistema inmune y el hueso. Las flechas azules significan estimulación. Las líneas rojas muestran inhibición. AB 1.º: ácidos biliares primarios, AB 2.º ácidos biliares secundarios, AGCC: ácidos grasos de cadena corta, B: linfocitos B, Bregs: Linfocitos B reguladores, FXR: receptor farnesoide X, IL: interleuquina, OB: osteoblasto, OC: osteoclasto, Pre-OC: preosteoclastos, RANKL: ligando de receptor activador para el factor nuclear κ B, Runx2: factor de transcripción relaciona a Runt-2, Th17: linfocitos T *helper* 17, TNF β : factor de necrosis tumoral β , Tregs: linfocitos T reguladores, VDR: receptor de la vitamina D.

Modulación del sistema endocrino

Otro mecanismo por el cual el MI puede regular el metabolismo del tejido óseo es la modulación de la producción de algunas hormonas del huésped, como la hormona paratiroidea (PTH), el factor de crecimiento insulino-símil 1

(IGF1), los estrógenos, la vitamina D y la serotonina.^{48,49,33,50} La PTH es crucial para el desarrollo del esqueleto y puede promover tanto la formación como la resorción ósea lo cual también es válido para la PTH exógena dependiendo de su forma de administración. En ambos casos

la participación del MI tiene un rol importante. En un estudio experimental con ratones LG empleando antibióticos de amplio espectro se demostró que la administración de PTH en forma intermitente necesita la presencia del MI para estimular la formación del hueso e incrementar la masa ósea. En el mecanismo de acción de la PTH estaría involucrada la presencia de niveles adecuados de AGCC, los cuales serían los metabolitos responsables de la comunicación intestino-hueso. PTH, en presencia de butirato, incrementa el número de células Tregs en médula ósea, las cuales a su vez aumentan la producción del ligando Wnt en células T CD8+ y la vía de formación ósea dependiente de Wnt.⁴⁸ Por otro lado, los trabajos de Yu et al.⁵¹ mostraron que la administración continua de PTH causó pérdida ósea en ratones cuya microbiota estaba enriquecida en segmentos o taxones de bacterias filamentosas. En este caso, la PTH indujo expansión de células T TNF(+) intestinales y liberación de células osteoclastogénicas Th17 desde el intestino, que viajan hacia la médula ósea y desencadenan la resorción ósea.

IGF1 es otra hormona reguladora del metabolismo óseo cuya acción se modifica por el MI. El nivel de IGF1 circulante en ratones LG es significativamente menor que el de ratones con microbiota intestinal intacta, y esta disminución del nivel de IGF1 se correlacionó con disminución en el crecimiento longitudinal del animal. Se demostró que, administrando IGF1 recombinante a ratones LG después del destete, se promueve el crecimiento corporal y la longitud del fémur, mientras que el bloqueo de la vía de señalización del IGF1 con un inhibidor específico anula este efecto.⁵² Yan et al.⁴⁹ demostraron que el tratamiento con el antibiótico valinomina, cuyo blanco son las bacterias Gram(+), disminuye los niveles circulantes de IGF1 y los del marcador sérico de formación ósea propéptido N terminal del colágeno de tipo 1 (P1NP); mostraron además que la recolonización de la microbiota intestinal revierte estos cambios e incrementa la velocidad de crecimiento óseo y la longitud del fémur. El mecanismo involucrado, aún bajo

estudio, indicaría que la producción de IGF1 no solo dependería de los niveles circulantes de hormona de crecimiento sino también de la producción intestinal de AGCC por parte de las bacterias intestinales.⁴⁹

A nivel de los osteoblastos y osteocitos se han encontrado receptores de serotonina o 5 hidroxitriptamina, que permiten la acción de este neurotransmisor sobre el hueso, promoviendo la proliferación de osteoblastos e inhibiendo la osteoclastogénesis.⁵⁰ A nivel intestinal, las células cromoafines son una importante fuente de serotonina periférica, cuya producción es regulada por el MI. Se ha observado que bacterias autóctonas formadoras de esporas aisladas de ratones y humanos promueven la biosíntesis de serotonina a nivel de células enterocromoafines colónicas en cultivo.⁵⁰ En ratones LG, el nivel de serotonina está disminuido al igual que la expresión en colon de la enzima limitante de su síntesis, la triptófano hidroxilasa-1. Además, la expresión de SERT (transportador de serotonina) está incrementada, quizá como un mecanismo adaptativo para compensar el aumento de la inactivación del neurotransmisor en colon de estos ratones LG. Es de destacar que la colonización de los ratones LG normalizó la masa ósea pero no afectó el nivel de serotonina en el tiempo estudiado por los autores, sugiriendo que este efecto sobre el hueso podría no ser un mecanismo primario del neurotransmisor.⁵³

Los estrógenos son esenciales para mantener una correcta estructura y función ósea, lo cual se pone de manifiesto en la pérdida de hueso desencadenada por la disminución en los niveles de estrógenos en las mujeres posmenopáusicas. Se ha observado que la pérdida de hueso vinculada a la deficiencia de hormonas sexuales está asociada a la microbiota y puede ser prevenida por la administración de probióticos.³³ La incorporación de *Lactobacillus reuteri* o *Lactobacillus paracasei* a ratones ovariectomizados previene la pérdida ósea. En estos estudios también la disminución de la resorción ósea osteoclastica está asociada a la disminución de citoquinas proinflamatorias (TNF- α , IL-1 β) y de



RANKL.^{54,24} Se ha mostrado que la administración de estos probióticos altera la producción de AGCC, modifica el pH intestinal, la absorción de calcio y la respuesta inflamatoria.⁵³ Sato et al.⁵⁵ identificaron una variedad de arándano (Mont) que, añadido a la dieta, protege a los ratones hembras de la pérdida musculoesqueléti-

ca y los cambios en el peso corporal inducidos por la ovariectomía, lo que fue mediado en parte por aumento de la diversidad del MI.

La evaluación del consumo de probióticos en los seres humanos permitió demostrar también la vinculación del MI y el metabolismo de la vitamina D. Como se mencionó anteriormente, la

Tabla 1. Interacción del microbioma con el sistema endocrino y el hueso.

Hormona	Modelo experimental	Mecanismo	Efecto sobre el hueso	Referencia
PTH intermitente	Ratones LG + butirato	↑ T reg. ↑ Wnt en T CD8+	↑ Formación ósea	Li, et al, 2020 ⁴⁸
PTH continua	Ratones C57BL/6 + SBF	↑ TNF+ y Th17 en intestino. ↑ Egreso intestinal de Th17 vía el receptor SIP-1-R1 ↑ Reclutamiento de Th17 en MO por ↑ de la expresión génica de <i>Ccl20</i>	↑ Resorción ósea	Yu et al, 2020 ⁵¹
IGF1	Ratones LG jóvenes	↓ Eje somatotrófico	↓ Crecimiento longitudinal	Schwarzer, et al. 2016 ⁵²
	Ratones LG	↓ AGCC ↓ IGF1 sérico ↓ P1NP	↓ Crecimiento óseo, masa ósea y mineralización.	Yan, et al. 2016 ⁴⁹
	Ratones OVX	↑ TJ ↑ IL-17, RANKL y TNF-α en intestino y hueso	↑ Resorción ósea	Li, et al. 2016 ³³
Deficiencia de estrógenos	Ratones OVX+ <i>L. rhamnosus</i> GG	↑ Th17 ↓ Permeabilidad intestinal ↓ Inflamación	No ↑ resorción ósea. No pérdida trabecular	Li, et al. 2016 ³³
	Ratones OVX+ <i>L. reuteri</i>	↓ Trap5 y RANKL. ↓ T CD4+ en médula ósea. ↓ Osteoclastogenesis.	Previene la pérdida ósea por OVX	Britton et al, 2014 ⁵⁴
	Ratones OVX + <i>L. paracasei</i>	↓ TNFα y IL-1b. ↑ OPG.	Previene la pérdida ósea por OVX	Ohlsson et al. 2014 ²⁴
Serotonina	Ratones +Sp	↑ Serotonina sérica		Yano et al. 2015 ⁵⁰
Vitamina D	Humanos + <i>L. reuteri</i>	↑ 25-OH-vitamina D sérica.		Jones et al. 2013 ⁴¹
		↑ Ácido láctico intestinal ↑ Síntesis de 7 dehidrocolesterol. ↑ Expresión y actividad de VDR		Rizzoli y Biver, 2020 ⁵⁵

AGCC: ácidos grasos de cadena corta, IGF1: Factor de crecimiento similar insulina 1, IL-17: interleuquina 17, *L. Lactobacillus*, LG: libres de gérmenes, MO: médula ósea, OVX: ovariectomizado, RANKL: ligando de receptor activador para el factor nuclear κ B, SBF: segmentos de bacterias filamentosas, SIP1R1: receptor 1 de esfingosina 1 fosfato, Sp: Bacterias autóctonas formadoras de esporas, T CD8+: linfocitos T CD8+, T reg: linfocitos T reguladores, Th17: linfocitos T “helper” 17, TJ: unión estrecha. TNF-α: factor de necrosis tumoral alfa, VDR: receptor de vitamina D.

suplementación oral con el probiótico *L. reuteri* NCIMB 30242 incrementó los niveles circulantes de 25-hidroxivitamina D.⁴¹ El mecanismo de este efecto sobre la vitamina D aún no está bien dilucidado; sin embargo, Rizzoli y Biver⁵⁶ postulan que estaría involucrado el incremento del contenido de ácido láctico intestinal, la modificación de la síntesis del 7-deshidrocolesterol y una mayor expresión de receptores de vitamina D.

En conjunto, todos estos estudios demuestran claramente la influencia del MI sobre el efecto de las hormonas que regulan el metabolismo óseo. La Tabla 1 resume los principales mecanismos desencadenados por las hormonas mencionadas a nivel del hueso mediante interacción con el MI.

Conclusiones y perspectivas futuras

Las investigaciones sugieren que el MI regula el metabolismo óseo y debería ser considerado en la fisiopatogenia y tratamiento de la osteoporosis u otras alteraciones óseas. Los datos revelan que la homeostasis ósea está ligada al microbioma, mientras que la disbiosis exagera la actividad osteoclástica y promueve la pérdida ósea.¹⁹ Si bien está establecida la conexión entre el MI y el hueso, es necesario que se identifiquen y caractericen mejor los microorganismos que predominan en las enfermedades óseas. Los mecanismos que unen el MI al hueso también deben estudiarse en más detalle, aunque los efectos de células del sistema inmune, algunas hormonas circulantes, las vitaminas de-

rivadas de los microbios, el metabolismo del huésped y la integridad intestinal indican que hay múltiples vías por las cuales el MI influye al hueso⁵⁷. El conocimiento del rol del MI en la osteoporosis y su tratamiento –probióticos, prebióticos, microbiota fecal, trasplante de microbiota– han emergido de estudios en modelos animales que exploran la contribución del MI en las vías metabólicas óseas. En humanos se ha estudiado poco. Por lo tanto, se necesitan ensayos clínicos bien controlados para investigar cómo diferentes composiciones de la microbiota afectan al hueso en los distintos trastornos metabólicos de este tejido, incluido el cáncer óseo.⁵⁸ El conocimiento de estos aspectos podría ser útil para el desarrollo de herramientas terapéuticas basadas en el MI que puedan mejorar la eficacia de los distintos tratamientos existentes.

Agradecimientos

Los autores agradecen los subsidios de CONICET (PIP 2017/2019) y SECYT(UNC). La Prof. Dra. Nori Tolosa de Talamoni, la Prof. Dra. Gabriela Picotto y la Prof. Dra. Valeria Rodríguez son miembros de la Carrera de Investigador del CONICET.

Conflicto de interés: los autores declaran que no tienen conflictos de interés.

Recibido: enero 2022

Aceptado: junio 2022

Referencias

1. Marchesi J, Ravel J. The vocabulary of microbiome research: a proposal. *Microbiome* 2015; 3:31. doi: 10.1186/s40168-015-0094-5.
2. Bhardwaj A, Sapra L, Tiwari A, Mishra PK, Sharma S, Srivastava RK. "Osteomicrobiology": The Nexus Between Bone and Bugs. *Frontiers in Microbiology* 2022; 12:812466. doi: 10.3389/fmicb.2021.812466.
3. Berg G, Rybakova D, Fischer D, et al. Microbiome definition re-visited: old concepts and new challenges. *Microbiome* 2020;8:103. doi: 10.1186/s40168-020-00875-0.



4. Sommer F, Bäckhed F. The gut microbiota-masters of host development and physiology. *Nat Rev Microbiol* 2013; 11:227-38. doi: 10.1038/nrmicro2974.
5. Annalisa N, Alessio T, Claudette TD, Erald V, Antonino DL, Nicola DD. Gut Microbioma Population: An Indicator Really Sensible to Any Change in Age, Diet, Metabolic Syndrome, and Life-Style. *Mediators Inflamm* 2014; 901308. doi: 10.1155/2014/901308.
6. Rinninella E, Raoul P, Cintoni M, et al. What is the Healthy Gut Microbiota Composition? A Changing Ecosystem across Age, Environment, Diet, and Diseases. *Microorganisms* 2019; 7:14. doi: 10.3390/microorganisms7010014.
7. Thursby E, Juge N. Introduction to the human gut microbiota. *Biochemical J* 2017; 474:1823-36. doi: 10.1042/BCJ20160510.
8. Ding K, Hua F, Ding W. Gut Microbiome and Osteoporosis. *Aging and Dis* 2020; 11:438-47. doi: 10.14336/AD.2019.0523
9. Ramos C, Gibson GR, Walton GE, Magistro D, Will Kinnear W, Hunter K. Systematic Review of the Effects of Exercise and Physical Activity on the Gut Microbiome of Older Adults. *Nutrients* 2022; 14:674. doi: 10.3390/nu14030674.
10. Behera J, Ison J, Tyagi SC, Tyagi N. The role of gut microbiota in bone homeostasis. *Bone* 2020; 135:115317. doi: 10.1016/j.bone.2020.115317.
11. McDaniel L, Breitbart M, Mobberley J, et al. Metagenomic Analysis of Lysogeny in Tampa Bay: Implications for Prophage Gene Expression. *PLoS One* 2008; 3:e3263. doi: 10.1371/journal.pone.0003263.
12. Ionescu RF, Enache RM, Cretoiu SM, Cretoiu D. The Interplay Between Gut Microbiota and miRNAs in Cardiovascular Diseases. *Front Cardiovasc Med* 2022; 9:856901. doi: 10.3389/fcvm.2022.856901.
13. Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, et al. Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science* 2005 10;308:1635-8. doi: 10.1126/science.1110591.
14. Mariat D, Firmesse O, Levenez F. The Firmicutes/Bacteroidetes ratio of the human microbiota changes with age. *BMC Microbiol* 2009; 9:123. doi: 10.1186/1471-2180-9-123.
15. Dominguez-Bello MG, Costello EK, Contreras M. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010;107:11971-5. doi:10.1073/pnas.1002601107.
16. Shukla SD, Budden KF, Neal R, Hansbro PM. Microbiome effects on immunity, health and disease in the lung. *Clin Transl Immunology* 2017; 6:e133. doi: 10.1038/cti.2017.6.
17. Rodríguez JM, Murphy K, Stanton C, et al. The composition of the gut microbiota throughout life, with an emphasis on early life. *Microb Ecol Health Dis* 2015;26:26050. doi: 10.3402/mehd.v26.26050.
18. Yuan Y, Yang J, Zhuge A, Li L, Ni S. Gut microbiota modulates osteoclast glutathione synthesis and mitochondrial biogenesis in mice subjected to ovariectomy. *Cell Prolif* 2022; 55:e13194. doi: 10.1111/cpr.13194.
19. Seely KD, Kotelko CA, Douglas H, Bealer B, Brooks AE. The Human Gut Microbiota: A Key Mediator of Osteoporosis and Osteogenesis. *Int J Mol Sci* 2021; 22:9452. doi: 10.3390/ijms22179452.
20. Sjögren K, Engdahl C, Henning P, et al. The gut microbiota regulates bone mass in mice. *J. Bone Miner Res* 2012; 27:1357-67. doi: 10.1002/jbmr.1588.
21. Yan J, Charles J F. Gut Microbiome and Bone: to Build, Destroy, or Both? *Curr Osteoporos Rep* 2017; 15: 376-84. doi: 10.1007/s11914-017-0382-z.
22. Ibáñez L, Rouleau M, Wakkach A, Blin-Wakkach C. Gut microbiome and bone. *Joint Bone Spine* 2019; 86: 43-7. doi: 10.1016/j.jbspin.2018.02. 008.
23. Wallace TC, Marzorati M, Spence L, Weaver CM, Williamson PS. New frontiers

- in fibers: Innovative and emerging research on the gut microbiome and bone health. *J Am Coll Nutr* 2017;36:218-22. doi: 10.1080/07315724.2016.1257961.
24. Ohlsson C, Engdahl C, Fåk F, et al. Probiotics protect mice from ovariectomy-induced cortical bone loss. *PLoS One* 2014; 9:e92368. doi: 10.1371/journal.pone.0092368.
 25. Cho I, Yamanishi S, Cox L, et al. Antibiotics in early life alter the murine colonic microbiome and adiposity. *Nature* 2012; 488: 621-6. doi: 10.1038/nature11400.
 26. Cox LM, Yamanishi S, Sohn J, et al. Altering the Intestinal Microbiota during a Critical Developmental Window Has Lasting Metabolic Consequences. *Cell* 2014;158: 705-21. doi: 10.1016/j.cell.2014.05.052.
 27. Mikkelsen KH, Vilsbøll T, Holst JJ, Hartmann B, Knop FK, Frost M. No changes in levels of bone formation and resorption markers following a broad-spectrum antibiotic course. *BMC Endocr Disord* 2018; 18:60. doi: 10.1186/s12902-018-0291-x.
 28. Ríos-Arce ND, Schepper JD, Dagenais A, et al. Post-antibiotic gut dysbiosis-induced trabecular bone loss is dependent on lymphocytes. *Bone* 2020; 134:115269. doi: 10.1016/j.bone.2020.115269.
 29. Fiorucci S, Biagioli M, Zampella A, Distrutti E. Bile Acids Activated Receptors Regulate Innate Immunity. *Front Immunol* 2018; 9:1853. doi: 10.3389/fimmu.2018.01853.
 30. Cho SW, An JH, Park H, et al. Positive regulation of osteogenesis by bile acid through FXR. *J Bone Miner Res* 2013;28:2109-21. doi: 10.1002/jbmr.1961.
 31. Marchionatti AM, Pérez A, Rivoira MA, Rodríguez VA, Tolosa de Talamoni NG. Lithocholic acid: a new emergent protector of intestinal calcium absorption under oxidant conditions. *Biochem Cell Biol* 2017;95:273-9. doi: 10.1139/bcb-2016-0164.
 32. Muniz LR, Knosp C, Yeretssian G. Intestinal antimicrobial peptides during homeostasis, infection, and disease. *Front Immunol* 2012;3:310. doi: 10.3389/fimmu.2012.00310.
 33. Li J-Y, Chassaing B, Tyagi AM, et al. Sex steroid deficiency-associated bone loss is microbiota dependent and prevented by probiotics. *J Clin Invest* 2016;126:2049-63. doi: 10.1172/JCI86062.
 34. Nakajima M, Arimatsu K, Kato T, et al. Oral administration of *P. gingivalis* induces dysbiosis of gut microbiota and impaired barrier function leading to dissemination of enterobacteria to the liver. *PLoS One* 2015;10:0134234. doi: 10.1371/journal.pone.0134234.
 35. Matei DE, Menon M, Alber DG, et al. Intestinal barrier dysfunction plays an integral role in arthritis pathology and can be targeted to ameliorate disease. *Med (NY)* 2021;2:864.e-883.e. doi:10.1016/j.medj.2021.04.013.
 36. McKenzie C, Tan J, Macia L, Mackay CR. The nutrition-gut microbiome-physiology axis and allergic diseases. *Immunol Rev* 2017;278:277-95. doi: 10.1111/imr.12556. doi: 10.1111/imr.12556.
 37. Vaughn AC, Cooper EM, DiLorenzo PM, et al. Energy-dense diet triggers changes in gut microbiota, reorganization of gut-brain vagal communication and increases body fat accumulation. *Acta Neurobiol Exp* 2017;77:18-30. doi: 10.21307/ane-2017-033.
 38. Rowland I, Gibson G, Heinken A, et al. Gut microbiota functions: metabolism of nutrients and other food components. *Eur J Nutr* 2018;57:1-24. doi: 10.1007/s00394-017-1445-8.
 39. Lucas S, Omata Y, Hofmann J, et al. Short-chain fatty acids regulate systemic bone mass and protect from pathological bone loss. *Nat Commun* 2018; 9:55. doi: 10.1038/s41467-017-02490-4.
 40. Tabatabaeizadeh S-A, Fazeli M, Meshkat Z, et al. The effects of high doses of vitamin D on the composition of the gut microbiome of adolescent girls. *Clin Nutr*



- ESPEN 2020;35:103-8. doi: 10.1016/j.clnesp.2019.10.020.
41. Jones ML, Martoni CJ, Prakash S. Oral supplementation with probiotic *L. reuteri* NCIMB 30242 increases mean circulating 25-hydroxyvitamin D: a post hoc analysis of a randomized controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab* 2013;98:2944-51. doi: 10.1210/jc.2012-4262.
 42. Wang M, Tian T, Yu S, He N, Ma D. Th17 and Treg Cells in Bone Related Diseases. *Clin Dev Immunol* 2013;203705. doi: 10.1155/2013/203705
 43. Sapra L, Azam Z, Rani L, et al. Immunoporosis: Immunology of Osteoporosis. *Proc Natl Acad Sci India Sect. B Biol Sci.* 2021. doi: 10.1007/s40011-021-01238-x.
 44. Ivanov II, Littman DR. Segmented filamentous bacteria take the stage. *Mucosal Immunol* 2010; 3: 209-12. doi: 10.1038/mi.2010.3.
 45. Rosser EC, Mauri C. Regulatory B Cells: Origin, Phenotype, and Function. *Immunity* 2015;42: 607-12. doi: 10.1016/j.immuni.2015.04.005
 46. Asarat M, Apostolopoulos V, Vasiljevic T, Donkor O. Short-Chain Fatty Acids Regulate Cytokines and Th17/Treg Cells in Human Peripheral Blood Mononuclear Cells in vitro. *Immunol Invest* 2016;205-22. doi: 10.3109/08820139.2015.1122613.
 47. Rosser EC, Piper CJM, Matei DE, et al. Microbiota-Derived Metabolites Suppress Arthritis by Amplifying Aryl-Hydrocarbon Receptor Activation in Regulatory B Cells. *Cell Metab* 2020; 31: 837-51. doi: 10.1016/j.cmet.2020.03.003.
 48. Li J-Y, Yu M, Pal S, et al. Parathyroid hormone-dependent bone formation requires butyrate production by intestinal microbiota. *J Clin Invest* 2020;130:1767-81. doi: 10.1172/JCI133473.
 49. Yan J, Herzog JW, Tsang K, et al. Gut microbiota induce IGF-1 and promote bone formation and growth. *Proc Natl Acad Sci USA* 2016;113:E7554-63. doi: 10.1073/pnas.1607235113.
 50. Yano JM, Yu K, Donaldson GP, et al. Indigenous bacteria from the gut microbiota regulate host serotonin biosynthesis. *Cell* 2015;161:264-76. doi: 10.1016/j.cell.2015.02.047.
 51. Yu M, Tyagi AM, Li JY, et al. PTH induces bone loss via microbial-dependent expansion of intestinal TNF(+) T cells and Th17 cells. *Nat Commun* 2020;11:468. doi: 10.1038/s41467-019-14148-4.
 52. Schwarzer M, Makki K, Storelli G, et al. *Lactobacillus plantarum* strain maintains growth of infant mice during chronic undernutrition. *Science* 2016;351:854-7. doi: 10.1126/science.aad8588.
 53. Tu Y, Yang R, Xu X, Zhou X. The microbiota-gut-bone axis and bone health. *J Leukoc Biol* 2021;110:525-37. doi: 10.1002/JLB.3MR0321-755R.
 54. Britton RA, Irwin R, Quach D, et al. Probiotic *L. reuteri* treatment prevents bone loss in a menopausal ovariectomized mouse model. *J Cell Physiol* 2014;229:1822-30. doi: 10.1002/jcp.24636.
 55. Sato A, Pellegrini G, Crecory M, et al. Skeletal Protection and Promotion of Microbiome Diversity by Dietary Boosting of the Endogenous Antioxidant Response. *J Bone Miner Res* 2021;36:768-78. doi: 10.1002/jbmr.4231.
 56. Rizzoli R, Biver E. Are Probiotics the New Calcium and Vitamin D for Bone Health? *Curr Osteoporos Rep* 2020;18:273-84. doi:10.1007/s11914-020-00591-6.
 57. Castaneda M, Strong JM, Alabi DA, Hernández CJ. The gut microbiome and bone strength. *Curr Osteoporos Rep* 2020;18:677-83. doi:10.1007/s11914-00627-x.
 58. Chen Y, Wang X, Zhang C, Liu Z, Li C, Ren Z. Gut Microbiota and Bone Diseases: A Growing Partnership. *Front Microbiol* 2022 (<https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.877776>).