



ACTUALIZACIONES / Review

Inmunopatología de la brucelosis osteoarticular

María Victoria Delpino*

Instituto de Inmunología, Genética y Metabolismo (INIGEM). CONICET. Hospital de Clínicas. Universidad de Buenos Aires. Departamento de Microbiología, Parasitología e Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires. Argentina.

Resumen

La brucelosis es una de las enfermedades zoonóticas más importantes a nivel mundial capaz de producir enfermedad crónica en los seres humanos. La localización osteoarticular es la presentación más común de la enfermedad activa en el hombre. Sin embargo, algunos de los mecanismos moleculares implicados en la enfermedad osteoarticular han comenzado a dilucidarse recientemente. *Brucella abortus* induce daño óseo a través de diversos mecanismos en los cuales están implicados TNF- α y RANKL. En estos procesos participan células inflamatorias que incluyen monocitos/macrófagos, neutrófilos, linfocitos T del tipo Th17 y linfocitos B. Además, *B. abortus* puede afectar directamente las células osteoarticulares. La bacteria inhibe la deposición de la matriz ósea por los osteoblastos y modifica el fenotipo de estas células para producir metaloproteinasas de matriz (MMPs) y la secreción de citoquinas que contribuyen a la degradación del hueso. Por otro lado, la infección por *B. abortus* induce un aumento en la osteoclastogénesis, lo que au-

menta la resorción de la matriz ósea orgánica y mineral y contribuye al daño óseo. Dado que la patología inducida por *Brucella* afecta el tejido articular, se estudió el efecto de la infección sobre los sinoviocitos. Estos estudios revelaron que, además de inducir la activación de estas células para secretar quemoquinas, citoquinas proinflamatorias y MMPs, la infección inhibe la muerte por apoptosis de los sinoviocitos. *Brucella* es una bacteria intracelular que se replica en el retículo endoplásmico de los macrófagos. El análisis de los sinoviocitos infectados con *B. abortus* indicó que las bacterias también se multiplican en el retículo endoplasmático, lo que sugiere que la bacteria podría usar este tipo celular para la multiplicación intracelular durante la localización osteoarticular de la enfermedad. Los hallazgos presentados en esta revisión intentan responder a preguntas sobre los mediadores inflamatorios implicados en el daño osteoarticular causado por *Brucella*.

Palabras clave: *Brucella*, sinoviocito, osteoblasto, osteoclasto, células T y B, neutrófilo, macrófago.

*E-mail: mdelpino@ffyb.uba.ar

Abstract

IMMUNOPATHOLOGY OF OSTEOARTICULAR BRUCELOSIS

Brucellosis is one of the most important zoonotic diseases that can produce chronic disease in humans worldwide. Osteoarticular involvement is the most common presentation of human active disease. The molecular mechanisms implicated in bone damage have started to be elucidated. B. abortus induces bone damage through diverse mechanisms in which TNF- α and RANKL are implicated. These processes are driven by inflammatory cells, including monocytes/macrophages, neutrophils, Th17 lymphocytes and B cells. Also, Brucella abortus (B. abortus) can directly affect osteoarticular cells. The bacterium inhibits bone matrix deposition by osteoblast and modifies the phenotype of these cells to produce matrix metalloproteinases (MMPs) and cytokine secretion that contribute to bone matrix degradation. B. abortus also affects osteoclast increasing mineral and organic

bone matrix resorption and contributing to bone damage. Since the pathology induced by Brucella species involves joint tissue, experiments conducted in sinoviocytes revealed that besides inducing the activation of these cells to secrete chemokines, proinflammatory cytokines and MMPs, the infection also inhibits sinoviocyte apoptosis. Brucella is an intracellular bacterium that replicate in the endoplasmic reticulum of macrophages. The analysis of B. abortus infected sinoviocytes indicated that bacteria also replicate in their reticulum suggesting that the bacterium could use this cell type for intracellular replication during the osteoarticular localization of the disease. The findings presented in this review try to answer key questions about the inflammatory mediators involved in osteoarticular damage caused by Brucella.

Key words: *Brucella, synoviocyte, osteoblast, osteoclast, B and T cells, neutrophil, macrophage.*

Brucelosis

Las bacterias del género *Brucella* son organismos negativos que se comportan como patógenos intracelulares facultativos. Estas bacterias producen enfermedades en forma directa sobre el hombre y los animales relacionadas con su alimentación: bovinos, caprinos, porcinos y ovinos.

La brucelosis es una enfermedad endémica en muchos países en vías de desarrollo.¹ La Organización Mundial de la Salud considera la brucelosis como una de las siete zoonosis olvidadas que contribuye a la perpetuación de la pobreza.²

En la Argentina, *Brucella abortus* es la especie que tiene mayor incidencia en la región de la Pampa Húmeda donde predomina la explotación de ganado vacuno.¹ Los esfuerzos para controlar la brucelosis han sido un reto, con el reciente resurgimiento de la enferme-

dad y nuevos focos endémicos que presentan riesgos significativos para la salud humana.³ El manejo de individuos con brucelosis es extremadamente complejo debido a su amplio espectro de manifestaciones clínicas, lo que deriva en un alto fracaso inicial del tratamiento y un riesgo significativo de recaída.^{3,4} Las complicaciones osteoarticulares de la infección por *Brucella* son la manifestación clínica más común, pero los síntomas también incluyen daño neurológico, cardíaco y hepático debilitante.⁴ En un estudio reciente, realizado en Turquía, hasta el 46,5% de los pacientes con brucelosis experimentaron complicaciones osteoarticulares.⁵

La afección osteoarticular por *Brucella* puede ser de dos tipos: osteomielitis (destrucción del hueso) y artritis (inflamación y destrucción de la articulación). Entre las osteomielitis, los huesos más frecuentemen-



te afectados son las vértebras (espondilitis), mientras que las artritis suelen afectar con mayor frecuencia la articulación sacroilíaca.^{6,7} Si bien las complicaciones osteoarticulares son las más frecuentes en la brucelosis activa en el hombre, solo una parte de los mecanismos inmunes implicados en la patología ósea o articular por *Brucella* spp han sido recientemente estudiados. Debido a que frecuentemente los desafíos de la brucelosis clínica están asociados a las formas localizadas de la enfermedad, estudiar los mediadores inmunes e inflamatorios implicados en el daño osteoarticular causado por *Brucella* puede ser de gran utilidad tanto para fines diagnósticos como terapéuticos.

Osteoinmunología

El hueso es un componente crucial del sistema esquelético-locomotor, que también funciona como un órgano del sistema inmune que alberga células madre hematopoyéticas y células progenitoras inmunitarias. El área de la osteoinmunología ha comenzado investigarse desde el descubrimiento de RANKL en los años 90; sus primeros aportes se realizaron en estudios sobre el papel de la respuesta inmune en el daño ocasionado por la artritis reumatoide.

Hoy en día es sabido que existe una íntima relación entre las células óseas y las células del sistema inmune tanto durante la homeostasis como en la enfermedad.

El hueso está compuesto de células y una matriz extracelular que se mineraliza y que proporciona rigidez y fuerza ósea. El hueso tiene tres tipos de células diferentes que actúan en un proceso coordinado entre la formación y la degradación del hueso durante el remodelado óseo que ocurre en condiciones fisiológicas: osteoblastos o células formadoras de hueso, osteoclastos o células de resorción ósea, y osteocitos, que son osteoblastos diferenciados terminalmente.⁸ Para equilibrar la formación y resorción ósea, los osteoblastos secretan RANKL, que regula la diferencia-

ción de los osteoclastos. Los osteocitos son la fuente del antagonista de la vía de señalización de Wnt, esclerostina. La señalización de Wnt regulada por esclerostina modula la actividad de los osteoblastos⁹ y de los osteocitos, que también secretan RANKL contribuyendo a regular la actividad de los osteoclastos.¹⁰

La formación de osteoclastos requiere, en condiciones fisiológicas, la presencia del factor estimulante de colonias de macrófagos (M-CSF) y RANKL.

En condiciones patológicas, otras citoquinas y factores de crecimiento pueden estar implicados en la formación de osteoclastos.¹¹ En presencia de M-CSF, otras moléculas como TNF- α , LIGHT (un receptor expresado en linfocitos T), APRIL (un ligando que induce proliferación), BAFF (un factor de activación de células B), el factor de crecimiento similar a insulina (IGF-I, según sus siglas en inglés), TGF- β , IL-6 IL-8 pueden participar de la osteoclastogénesis.¹¹

Otras citoquinas como IL-1 β , IL-7, IL-17 e IL-23 son capaces de inducir osteoclastogénesis mediante un mecanismo indirecto que involucra la inducción de la secreción de RANKL por otras células y el incremento de la expresión de su receptor RANK en la superficie de los precursores de osteoclastos.¹²

Su contraparte, los osteoblastos, son muy conocidos por su función en construir el esqueleto, el cual provee soporte mecánico, un sitio para la inserción de los músculos y un reservorio de fósforo y calcio. Sin embargo, estas células tienen funciones adicionales, al contribuir al microambiente de la médula ósea y desempeñar un papel preponderante en la hematopoyesis.¹³

Por otro lado, la expresión de RANKL, por parte de los osteoblastos es estimulada por las citoquinas proinflamatorias TNF- α , IL-6 e IL-1 β .¹⁴

El hueso normalmente es resistente a las infecciones; sin embargo, las bacterias del género *Brucella* tienen un tropismo por la localización osteoarticular. Por lo tanto, en esta

revisión, nos centraremos en la interacción de *Brucella* con las células óseas y el papel que desempeñan las células inmunes que podrían estar infiltrando la zona osteoarticular durante la infección.

Brucella y su interacción con los osteoblastos, los osteocitos, los osteoclastos y los sinoviocitos

Osteoblastos

Brucella abortus es capaz de infectar osteoblastos, osteocitos y precursores de osteoclastos. Al infectar a los osteoblastos, *B. abortus* modifica su metabolismo inhibiendo la deposición de matriz orgánica y mineral, e

induciendo la expresión de RANKL y la metaloproteasa de matriz (MMP)-2.¹⁵ Por otro lado, los osteoblastos secretan quemoquinas en respuesta a la infección por *Brucella*; entre estas, MCP-1 es la principal involucrada en atraer monocitos/macrófagos al sitio de infección. Los macrófagos, además de constituir el principal nicho de multiplicación de las bacterias del género *Brucella*, secretan las citoquinas proinflamatorias (TNF- α , IL-1 β e IL-6) y MMP-9 en respuesta a la infección.¹⁶ Los macrófagos infectados contribuyen mediante un mecanismo dependiente de TNF- α a la inhibición de la deposición de matriz extracelular tanto orgánica como mineral por parte de los osteoblastos (Figura 1).

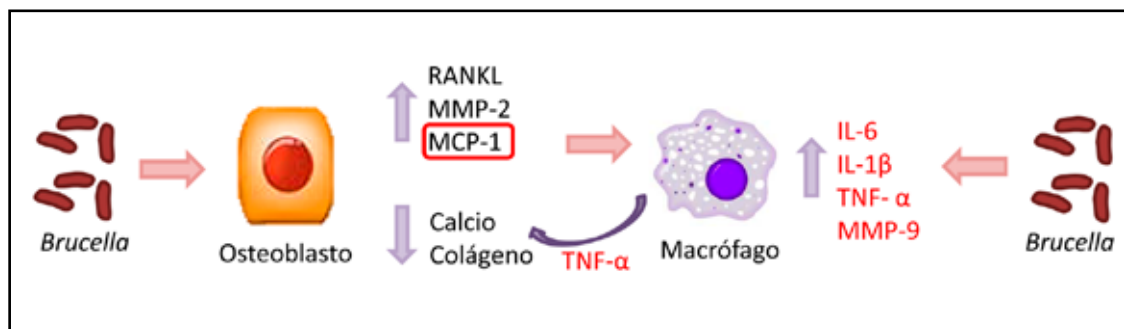


Figura 1. Esquema de la interacción de *Brucella abortus* con los osteoblastos y los macrófagos y los mediadores implicados en la modulación de la diferenciación y actividad de los osteoblastos.

Osteocitos

Los osteocitos constituyen el estadio de diferenciación final de los osteoblastos, que residen embebidos en la matriz ósea mineralizada y comprenden más del 95% de las células del hueso del esqueleto de un adulto.¹⁷ Por otro lado, son los principales reguladores de la diferenciación y actividad de los osteoblastos y de los osteoclastos durante el remodelado óseo.¹⁸ Los osteocitos secretan MMP-9, RANKL y citoquinas proinflamatorias (TNF- α e IL-6) en respuesta a la infección por *B. abortus*. Esta respuesta inflamatoria induce la diferenciación de osteoclastos a partir de precursores derivados de médula ósea mediante

un mecanismo que depende de la presencia de RANKL y TNF- α . Debido a que los osteocitos se encuentran inmersos en la matriz mineralizada del hueso, la comunicación intercelular está mediada por comunicaciones intercelulares “gap junction”. Dentro de estas, conexina-43 (Cx43) es la predominante en el hueso. La infección por *B. abortus* inhibe la expresión de Cx43, que no solo participa en la comunicación intercelular, sino también en mantener la viabilidad de los osteocitos. Sin embargo, la inhibición en la expresión de Cx43 inducida por la infección por *B. abortus* no es suficiente para inducir la muerte celular (Figura 2).¹⁹

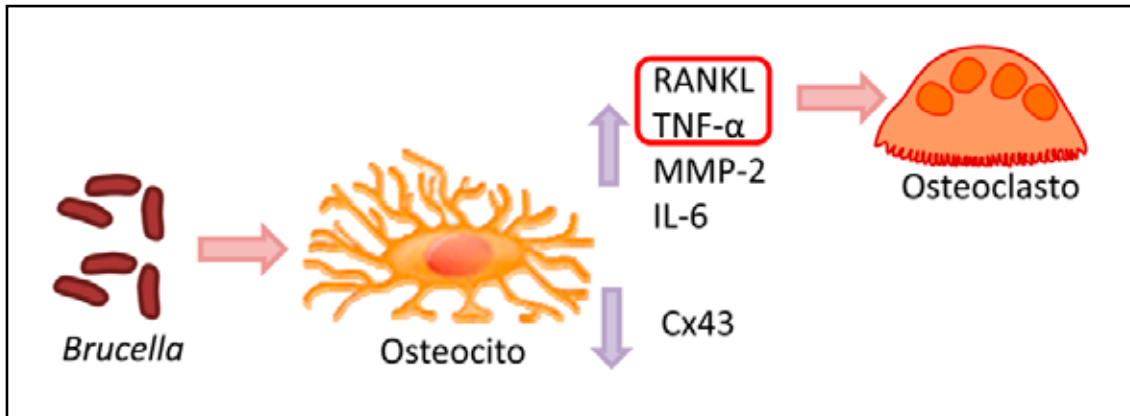


Figura 2. Esquema de la interacción de *Brucella abortus* con los osteocitos.

Osteoclastos

Como mencionamos, el nicho preferencial de multiplicación de las bacterias del género *Brucella* lo constituyen las células del linaje monocito/macrófago, las cuales no solo contribuyen al daño óseo mediante la secreción de citoquinas proinflamatorias sino pueden contribuir a la resorción ósea al diferenciarse a osteoclastos durante la infección. Debido a la incapacidad de los macrófagos de secretar RANKL, los macrófagos infectados con *B. abortus* inducen osteoclastogénesis a través de la secreción de citoquinas proinflamatorias; entre estas, TNF- α es la principal involucrada en la inducción de osteoclastos maduros capaces de resorber matriz ósea.²⁰ Esto se demostró al utilizar precursores de osteoclastos provenientes de médula ósea de ratones deficientes en el receptor de TNF- α (TNFR1p55^{-/-}) y empleando anticuerpos neutralizantes anti-TNF- α .

Otras células inmunes que contribuyen a la osteoclastogénesis durante la infección por *B. abortus* son los linfocitos T y B.

La interacción entre los linfocitos T y los osteoclastos es importante tanto en la patología ósea de origen infeccioso como no infeccioso.²¹ En función del estímulo, los linfocitos T pueden responder secretando citoquinas que inhiban (IFN- γ , IL-4 e IL-10) o que estimulen

(RANKL, TNF- α e IL-17) la osteoclastogénesis.²² En la brucelosis osteoarticular, la presencia de linfocitos T constituye un hallazgo patológico característico.⁷ Los estudios *in vitro* utilizando linfocitos T murinos permitieron dilucidar, al menos en parte, la contribución de este tipo celular en la osteoclastogénesis durante la infección por *B. abortus*. El receptor de los linfocitos T (TCR, por sus siglas en inglés) se une a pequeños péptidos que están asociados a las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) de las células presentadoras de antígeno, produciendo su activación. El TCR está asociado sobre la membrana de los linfocitos T con otras moléculas denominadas en conjunto CD3. El complejo entre TCR y CD3 es necesario para la interacción estable entre la célula T y la célula presentadora de antígenos. *In vitro* es posible simular la activación de los linfocitos T, mediante la estimulación con un anticuerpo anti-CD3. Esta activación induce la secreción de IFN- γ . Sin embargo, cuando estos linfocitos T previamente activados con anti-CD3 son estimulados con sobrenadantes de macrófagos infectados por *B. abortus*, las células T cambian su fenotipo para convertirse en secretoras de RANKL e IL-17.²³ Utilizando anticuerpos neutralizantes anti-IL-17 o realizando los experimentos utilizando pre-

cursores de médula ósea provenientes de ratones deficientes en la expresión del receptor de IL-17 (IL17R^{-/-}), se demostró que IL-17 desempeña un rol preponderante en la inducción de osteoclastogénesis. Esto resultó llamativo, ya que RANKL es la principal citoquina que regula la diferenciación de osteoclastos. Una posible explicación es que, si bien las células Th17 son capaces de secretar RANKL, el aporte de dicha citoquina por este tipo celular no es fundamental en la osteoclastogénesis, ya que la principal fuente de RANKL son las células que provienen del linaje mesenquimal.²⁴ Por otro lado, estos linfocitos activados por los sobrenadantes de macrófagos infectados por *B. abortus*, además de RANKL e IL-17, como fue mencionado, secretan IL-10. Esta última tiene la capacidad de inhibir la interacción de RANKL y RANK²⁵ y de exacerbar la artritis inducida por colágeno, al favorecer el reclutamiento de células T productoras de IL-17 hacia la articulación afectada.²⁶ IL-17 media la osteoclastogénesis indirectamente, a través de la inducción de citoquinas proinflamatorias por parte de los precursores de osteoclastos. Al utilizar precursores provenientes de ratones deficientes en el receptor de TNF- α (TNFRp55^{-/-}) demostramos que TNF- α es la principal citoquina involucrada en la osteoclastogénesis inducida por IL-17 proveniente de los linfocitos T.²³ Por otro lado, cuando los experimentos fueron realizados utilizando las subpoblaciones T CD4⁺ y CD8⁺

separadas, demostramos que los linfocitos T CD8 no inducen osteoclastogénesis durante la infección por *Brucella*.²³ El papel que desempeñan otras subpoblaciones de células T CD4⁺ en la brucelosis osteoarticular no ha sido dilucidado aún.

Las otras células de la inmunidad adaptativa y que pueden participar en la osteoclastogénesis son los linfocitos B, a pesar de que su función primaria es la producción de inmunoglobulinas antimicrobianas contra el patógeno que está causando la infección. La infección por *B. abortus* no solo activa los linfocitos B, sino además estas células constituyen un nicho de persistencia para la bacteria.^{27,28} Asimismo, los linfocitos B se encuentran infiltrando el tejido osteoarticular en los pacientes con brucelosis.^{7,29} En estudios *in vitro* se demostró que los linfocitos B provenientes de bazo de ratón secretan MMP-9, RANKL, IL-6, TNF- α e IL-1 β en respuesta a la infección por *B. abortus*, induciendo la diferenciación de osteoclastos a partir de los precursores de médula ósea. RANKL así como las citoquinas proinflamatorias secretadas por los linfocitos B infectados podrían ser capaces de inducir osteoclastogénesis. Sin embargo, los ensayos de diferenciación de osteoclastos realizados en presencia de osteoprotegerina (OPG) revelaron que RANKL es la principal citoquina involucrada en la osteoclastogénesis mediada por estas células³⁰ (Figura 3).

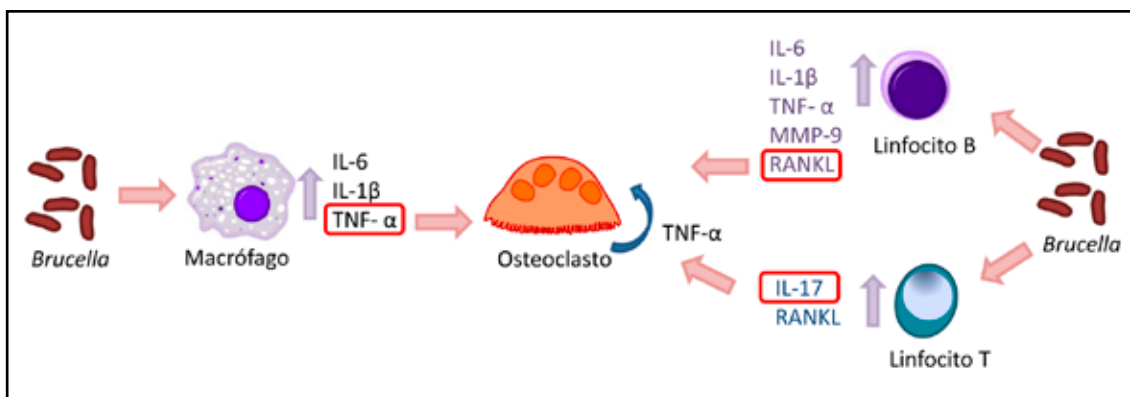


Figura 3. Esquema de la modulación de la respuesta inmune durante la infección por *Brucella abortus* y sus implicancias en la osteoclastogénesis.



Sinoviocitos

La membrana sinovial está formada por dos tipos de sinoviocitos: los de tipo A o macrófagos sinoviales, y los de tipo B o fibroblastos sinoviales. Los macrófagos sinoviales son células fagocíticas con características similares a los macrófagos, mientras que los fibroblastos sinoviales tienen funciones sintéticas relacionadas con la homeostasis de la matriz extracelular, así como también con la secreción de los componentes esenciales del líquido sinovial.

Los fibroblastos sinoviales median el daño articular en la artritis inflamatoria tanto infecciosa como estéril.^{31,32} Su papel está determinado por su capacidad de producir MMPs, citoquinas y quemoquinas que pueden mediar la atracción de células inmunes a la sinovia y su subsecuente activación. La infección por *B. abortus* de fibroblastos sinoviales humanos demostró que estos secretan RANKL, MMP-2 y mediadores proinflamatorios que podrían promover la migración de monocitos y neutrófilos al sitio de infección. Los fibroblastos sinoviales infecta-

dos por *B. abortus* son capaces de inducir osteoclastogénesis vía la secreción de RANKL.³³ Además, la infección inhibe la muerte por apoptosis de los fibroblastos sinoviales, mediante un mecanismo que involucra el aumento de factores que inhiben la apoptosis como cIAP-2, clasterina, livin y P21/CIP/CDNK1A, y la reducción de factores que promueven la apoptosis como P-p53 y TNFRSF1A.³³ Debido a que las bacterias que tienen su nicho de replicación intracelular inhiben la apoptosis de la célula que colonizan, se puede especular que los fibroblastos sinoviales podrían constituir un nicho de multiplicación alternativo cuando la bacteria alcanzó la localización osteoarticular. De acuerdo con esta hipótesis, las imágenes de microscopia confocal revelaron que –tal como ocurre en los macrófagos (el principal nicho de multiplicación de *Brucella*)– la bacteria se multiplica en vacuolas positivas para marcadores de retículo endoplasmático.³³ Esto indica que los fibroblastos sinoviales podrán tener un papel importante en la persistencia de la infección (Figura 4).

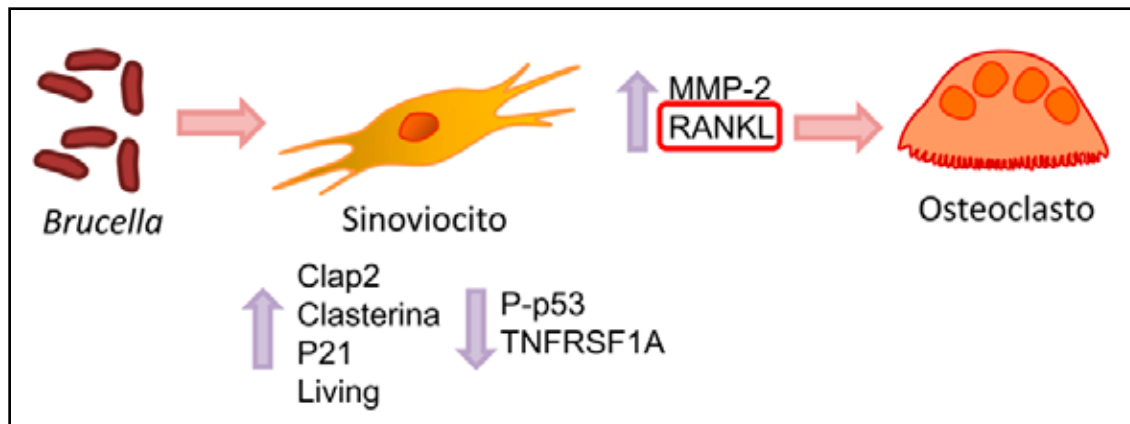


Figura 4. Esquema de la interacción de *Brucella abortus* con los sinoviocitos, mediadores implicados en la inducción del daño óseo y la modulación de los factores de supervivencia y muerte celular.

MMPs

Las MMPs son enzimas de la familia de las endopeptidasas dependientes de zinc y calcio, con capacidad para degradar matriz

extracelular durante el remodelado de tejido, la inflamación crónica, la metástasis celular asociada a procesos tumorales y la progresión de varias enfermedades infecciosas.³⁴⁻³⁶

Las MMPs son secretadas como proenzimas inactivas y subsecuentemente activadas por escisión proteolítica.^{37,38}

Las MMPs desempeñan un papel importante al facilitar la migración de células inflamatorias de la inmunidad innata.³⁹ Sin embargo, un aumento excesivo en los niveles de MMPs puede causar daño en los tejidos.⁴⁰ MMP-2 y 9 (gelatinasas A y B, respectivamente) pueden degradar una variedad de colágenos incluyendo el presente en la membrana basal (colágeno de tipo IV), el colágeno fibrilar desnaturalizado de tipo I (gelatina) y el colágeno de tipo V.⁴¹ El incremento en los niveles locales de MMPs se ha observado en numerosas enfermedades osteoarticulares, incluyendo condiciones reumáticas (artritis reumatoide, osteoartritis y espondilitis) y en artritis infecciosas tales como la observada en la enfermedad de Lyme.⁴¹⁻⁴³ Incluso, el incremento en los niveles de MMPs no solo ha sido observado durante la infección *in vitro* como se mencionó previamente, sino también en el líquido sinovial de un paciente con bursitis causada por la infección por *Brucella*. El líqui-

do sinovial del paciente con *bursitis* presentó altos niveles de MMP-9 medidos por zimografía y ELISA, los cuales fueron más elevados que los encontrados en el líquido sinovial de pacientes con artritis séptica o artritis reumatoide que fueron incluidos como control en el mismo ensayo.⁴⁴ Esto apoya fuertemente la hipótesis de que las MMPs pueden estar involucradas en el daño osteoarticular mediado por la infección por *Brucella*.

Conclusiones

En este trabajo de revisión se analizó el conocimiento actual sobre los mediadores inflamatorios implicados en el daño osteoarticular causado por la infección por *B. abortus*.

Este conocimiento sienta las bases para futuras investigaciones que llevarán a proponer nuevos blancos terapéuticos para ser abordados junto con la terapia antibiótica durante la forma localizada de la enfermedad.

Conflicto de intereses: la autora declara no tener conflicto de intereses.

Recibido: octubre 2018

Aceptado: febrero 2019

Referencias

1. Pappas G, Akritidis N, Bosilkovski M, Tsianos E. Brucellosis. *N Engl J Med* 2005; 352 (22): 2325-36.
2. World Health Organization (WHO) The Control of Neglected Zoonotic Diseases: a Route to Poverty Alleviation. (2006, Sept) http://www.who.int/zoonoses/Report_Sept06.pdf.
3. Pappas G, Papadimitriou P, Akritidis N, Christou L, Tsianos EV. The new global map of human brucellosis. *Lancet Infect Dis* 2005; 6(2):91-9.
4. Buzgan T, Karahocagil MK, Irmak H, et al. Clinical manifestations and complications in 1028 cases of brucellosis: a retrospective evaluation and review of the literature. *Int J Infect Dis* 2010; 14(6): e469-78.
5. Turan H, Serefhanoglu K, Karadeli E, Togan T, Arslan H. Osteoarticular involvement among 202 brucellosis cases identified in Central Anatolia region of Turkey. *Intern Med* 2011; 50(5):421-8.
6. Adamopoulos IE, Bowman EP. Immune regulation of bone loss by Th17 cells. *Arthritis Res Ther* 2008; 10(11):225.



7. Madkour MM. Osteoarticular brucellosis. In: Madkour MM (ed.). Madkour's brucellosis, 2nd ed. Berlin: Springer; 2001. p. 74-87.
8. Ikeda K, Takeshita S. The role of osteoclast differentiation and function in skeletal homeostasis. *J Biochem* 2016; 159(1):1-8.
9. Karner CM, Long F. Wnt signaling and cellular metabolism in osteoblasts. *Cell Mol Life Sci* 2016; 74(9):1649-57.
10. Chen H, Senda T, Kubo KY. The osteocyte plays multiple roles in bone remodeling and mineral homeostasis. *Med Mol Morphol* 2015; 48(2):61-8.
11. Lampiasi N, Russo R, Zito F. The Alternative Faces of Macrophage Generate Osteoclasts. *Biomed Res Int* 2016, 9089610.
12. Adamopoulos IE, Chao CC, Geissler R, et al. Interleukin-17A upregulates receptor activator of NF-kappaB on osteoclast precursors. *Arthritis Res Ther* 2010; 12(1):R29.
13. Visnjic D, Kalajzic I, Gronowicz G, et al. Conditional ablation of the osteoblast lineage in Col2.3deltatg transgenic mice. *J Bone Miner Res* 2001; 16(12):2222-31.
14. Mori G, D'Amelio P, Faccio R, Brunetti G. The Interplay between the bone and the immune system. *Clin Dev Immunol* 2013, 720504.
15. Scian R, Barrionuevo P, Fossati CA, Giambartolomei GH, Delpino MV. *Brucella abortus* invasion of osteoblasts inhibits bone formation. *Infect Immun* 2012; 80(7):2333-45.
16. Scian R, Barrionuevo P, Giambartolomei GH, Fossati CA, Baldi PC, Delpino MV. V. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor- and tumor necrosis factor alpha-mediated matrix metalloproteinase production by human osteoblasts and monocytes after infection with *Brucella abortus*. *Infect Immun* 2011; 79(1):192-202.
17. Bonewald LF. The amazing osteocyte. *J Bone Miner Res* 2011; 26(2):229-38.
18. Zhao S, Zhang YK, Harris S, Ahuja SS, Bonewald LF. MLO-Y4 osteocyte-like cells support osteoclast formation and activation. *J Bone Miner Res* 2002; 17(11):2068-79.
19. Pesce Vigiueti AI, Arriola Benítez PC, Gentilini MV, et al. *Brucella abortus* Invasion of Osteocytes Modulates Connexin 43 and Integrin Expression and Induces Osteoclastogenesis via Receptor Activator of NF-kappaB Ligand and Tumor Necrosis Factor Alpha Secretion. *Infect Immun* 2016; 84(1):11-20.
20. Delpino MV, Barrionuevo P, Macedo GC, et al. Macrophage-elicited osteoclastogenesis in response to *Brucella abortus* infection requires TLR2/MyD88-dependent TNF-alpha production. *J Leukoc Biol* 2012; 91(2):285-98.
21. Takayanagi H. Osteoimmunology: shared mechanisms and crosstalk between the immune and bone systems. *Nat Rev Immunol* 2007; 7 4): 292-304.
22. Takayanagi H. The unexpected link between osteoclasts and the immune system. *Adv Exp Med Biol* 2010; 658:61-8.
23. Giambartolomei GH, Scian R, Acosta-Rodríguez E, Fossati CA, Delpino MV. *Brucella abortus*-infected macrophages modulate T lymphocytes to promote osteoclastogenesis via IL-17. *Am J Pathol* 2012; 181(3):887-96.
24. Sato K, Suematsu A, Okamoto K, et al. Th17 functions as an osteoclastogenic helper T cell subset that links T cell activation and bone destruction. *J Exp Med* 2006; 203(12):2673-82.
25. Park-Min KH, Ji JD, Antoniv T, et al. IL-10 suppresses calcium-mediated costimulation of receptor activator NF-kappa B signaling during human osteoclast differentiation by inhibiting TREM-2 expression. *J Immunol* 2009; 183(4):2444-55.
26. Tao J, Kamanaka M, Hao J, et al. IL-10 signaling in CD4+ T cells is critical for the pathogenesis of collagen-induced arthritis. *Arthritis Res Ther* 2011; 13(6):R212.
27. Goenka R, Parent MA, Elzer PH, Baldwin CL. B cell-deficient mice display markedly enhanced resistance to the intracellular bacterium *Brucella abortus*. *J Infect Dis* 2011; 203 (8):1136-46.
28. Goenka R, Guirnalda PD, Black SJ, Baldwin CL. B Lymphocytes provide an infection niche for intracellular bacterium *Brucella abortus*. *J Infect Dis* 2012; 206(1):91-8.

29. Young EJ. Family studies in brucellosis. *Infection* 2008; 36:578-9.
30. Pesce Viglietti AI, Arriola Benitez PC, Giambartolomei GH, Delpino MV. *Brucella abortus*-infected B cells induce osteoclastogenesis. *Microbes Infect* 2016; 18(9): 529-35.
31. Inman RD, Payne U. Determinants of synoviocyte clearance of arthritogenic bacteria. *J Rheumatol* 2003; 30(6):1291-7.
32. Bartok B, Firestein GS. Fibroblast-like synoviocytes: key effector cells in rheumatoid arthritis. *Immunol Rev* 2010; 233(1):233-55.
33. Scian R, Barrionuevo P, Rodríguez AM, et al. *Brucella abortus* invasion of synoviocytes inhibits apoptosis and induces bone resorption through RANKL expression. *Infect Immun* 2013; 81(6):1940-51.
34. Okamoto T, Akuta T, Tamura F, van Der Vliet A, Akaike T. Molecular mechanism for activation and regulation of matrix metalloproteinases during bacterial infections and respiratory inflammation. *Biol Chem* 2004; 385(11):997-1006.
35. Opdenakker G, Van den Steen PE, Dubois B, et al. Gelatinase B functions as regulator and effector in leukocyte biology. *J Leukoc Biol* 2001; 69(6):851-9.
36. Shapiro SD. Diverse roles of macrophage matrix metalloproteinases in tissue destruction and tumor growth. *Thromb Haemost* 1999; 82(2):846-9.
37. Brinckerhoff CE, Matrisian LM. Matrix metalloproteinases: a tail of a frog that became a prince. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2002; 3(3):207-14.
38. Parks WC, Wilson CL, Lopez-Boado YS. Matrix metalloproteinases as modulators of inflammation and innate immunity. *Nat Rev Immunol* 2004; 4(8):617-29.
39. Elkington PT, O’Kane CM, Friedland JS. The paradox of matrix metalloproteinases in infectious disease. *Clin Exp Immunol* 2005; 142(1):12-20.
40. Lai WC, Zhou M, Shankavaram U, Peng G, Wahl LM. Differential regulation of lipopolysaccharide-induced monocyte matrix metalloproteinase (MMP)-1 and MMP-9 by p38 and extracellular signal-regulated kinase 1/2 mitogen-activated protein kinases. *J Immunol* 2003; 170(12):6244-9.
41. Rengel Y, Ospelt C, Gay S. Proteinases in the joint: clinical relevance of proteinases in joint destruction. *Arthritis Res Ther* 2007; 9(5):221.
42. Behera AK, Hildebrand E, Scagliotti J, Steere AC, Hu LT. Induction of host matrix metalloproteinases by *Borrelia burgdorferi* differs in human and murine lyme arthritis. *Infect Immun* 2005; 73(1):126-34.
43. Vandooren B, Kruithof E, Yu DT, et al. Involvement of matrix metalloproteinases and their inhibitors in peripheral synovitis and down-regulation by tumor necrosis factor alpha blockade in spondylarthropathy. *Arthritis Rheum* 2004; 50(9):2942-53.
44. Wallach JC, Delpino MV, Scian R, Deodato B, Fossati CA, Baldi PC. Prepatellar bursitis due to *Brucella abortus*: Case report and analysis of the local immune response. *J Med Microbiol* 2010; 59(12):1514-18.