

El desarrollo del esqueleto y la osteoartritis

David Garciadiego Cázares*

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

Dirección para correspondencia:
David Garciadiego Cázares
E-mail: dgarcyadiago@ciencias.unam.mx

Este artículo puede ser consultado en versión completa en:
<http://www.medigraphic.com/rid>

Resumen

El cartílago articular, a diferencia del cartílago de la placa de crecimiento, es un tejido especializado para no calcificarse. Sin embargo, la mineralización del cartílago articular es un proceso común en las complicaciones de la osteoartritis (OA) y el envejecimiento. Algunos trabajos han demostrado cierta similitud de los mecanismos del desarrollo de la placa de crecimiento y la degeneración del cartílago articular. Éstos incluyen la proliferación de los condrocitos, la hipertrofia, mineralización de la matriz extracelular (MEC) y la apoptosis. El desarrollo de la placa de crecimiento está regulado por la señalización de algunos factores de crecimiento y por las interacciones de los condrocitos con las moléculas de la matriz extracelular. La proteína relacionada a la hormona paratiroidea (Pthrp) e Indian Hedgehog (Ihh) son los mediadores centrales del desarrollo del hueso endocondral; la Pthrp es abundante en el líquido sinovial de los pacientes con OA, pero la expresión de Ihh disminuye en el cartílago con OA. Además, Pthrp se conoce por inducir la proliferación de los condrocitos, mientras que el factor de crecimiento de fibroblastos 18 (Fgf-18) la regula negativamente y su aplicación intrasinovial en las ratas con OA resulta en la generación de cartílago. La señalización Wnt también juega un papel importante en la diferenciación del condrocito de la placa de crecimiento. Wnt-5a promueve la prehipertrofia del condrocito, pero al mismo tiempo inhibe la hipertrofia del cartílago; por el contrario, Wnt-4 induce la hipertrofia del condrocito y desde las etapas tempranas de la OA incrementa su expresión en el cartílago articular. Por otro lado, el desbalance del recambio de la matriz del cartílago durante la OA resulta en un mayor depósito de colágeno tipo I y X, características del cartílago hipertrófico, mientras que disminuye la expresión de la colágena tipo II y IX. Es decir, aunque el condrocito es la unidad celular del cartílago articular y el de la placa de crecimiento que comparten varias características, presentan una diferencia importante; la tasa de la hipertrofia del condrocito es mayor en el cartílago articular con OA que en el cartílago articular sano y recapitula la señalización del cartílago de la placa de crecimiento. Pero, ¿cuál es la señal que hace la diferencia? Nosotros pensamos que la respuesta está en el origen embrionario de estos dos tipos de cartílago, justo en la formación de las articulaciones durante la esquelotogénesis.

Abstract

Articular cartilage unlike the growth plate cartilage, is a specialized tissue to keep uncalcified. However, the mineralization of articular cartilage is a common process in the osteoarthritis (OA) and aging complications. Some studies shows similarities in the mechanisms of growth plate differentiation and articular cartilage degeneration. These include chondrocyte proliferation, hypertrophy, extracellular matrix (ECM) mineralization and apoptosis. The growth plate development is regulated by certain growth factors signaling and interactions of chondrocytes with extracellular matrix molecules. Related Protein Parathyroid Hormone (Pthrp) and Indian hedgehog (Ihh) are central mediators of endochondral bone development, Pthrp is abundant in the synovial fluid of OA patients but decreased the expression of Ihh in the cartilage with OA. Furthermore, Pthrp is known to induce the proliferation of chondrocytes, while the Fibroblast Growth Factor 18 (Fgf-18) negative regulates it and their application intra-synovial in OA rats results in the generation of cartilage. Wnt signaling plays an important role in the differentiation of chondrocyte growth plate, Wnt-5a promotes chondrocyte prehypertrofia but simultaneously inhibits cartilage hypertrophy, on the contrary Wnt-4 induces chondrocyte hypertrophy and from the early stages of OA increases its expression in the articular cartilage. Moreover, the imbalance of matrix turnover during the OA cartilage results in increased deposition of col-

Palabras clave: Cartílago articular, osteoartritis, diferenciación de condrocitos, integrinas, Indian hedgehog, GDF-5.

Key words: Articular cartilage, osteoarthritis, chondrocyte differentiation, integrins, Indian hedgehog, GDF-5.

lagen type I and X characteristics of hypertrophic cartilage, while decreasing the expression of collagen type II and IX. That is, although the chondrocyte is the cellular unit of articular cartilage and growth plate that share several characteristics, have an important difference, the rate of chondrocyte hypertrophy is higher in OA articular cartilage, than in healthy articular cartilage and recapitulates the signaling of cartilage growth plate. But, what is the signal that makes the difference? We think the answer is in the embryonic origin of these two types of cartilage, right in the formation of joints for the skeletogenesis.

Introducción

Tradicionalmente se ha pensado que la osteoartritis (OA) es una patología consecuencia del desgaste o fisura del cartílago articular, debido al envejecimiento o como consecuencia de una lesión.¹ La poca capacidad regenerativa del cartílago no puede revertir su destrucción, la cual es en ocasiones desencadenada por una respuesta inflamatoria proveniente de la sinovia, cuando ocurre tal inflamación, a esta patología se le conoce como osteoartritis.²⁻⁴ Es por esto por lo que hasta hace unos años se habían excluido las mutaciones genéticas como un factor de riesgo o predisposición a padecer osteoartrosis. Los primeros genes identificados con la OA codifican para componentes de la matriz extracelular (MEC), como las colágenas *Col2a1*, *Col9a2* y *Col11a2*, las cuales fueron estudiadas en modelos de ratones transgénicos.⁵⁻¹² De ese modo, encontraron que la sustitución de una glicina desestabiliza la estructura de triple hélice de la colágena y esto podría hacerla más susceptible a la degradación. A este respecto, aunque la expresión de las colágenas aumenta durante la OA, éstas podrían ser más sensibles a las metaloproteinasas de la matriz (MMP) como la MMP-13.¹³⁻¹⁶ Ahora se sabe que otras moléculas de la MEC se relacionan con la OA; las enzimas ADAMTS-4 y ADAMTS-5 degradan al agregano,¹⁷⁻²¹ el proteoglicano más abundante del cartílago articular. De modo que, cuando el agregano se degrada, deja «visible» a la colágena II para que la enzima DDR-2 sea capaz de degradarla (Figura 1).²² La alteración de la MEC del cartílago articular ocasiona, en primera instancia, la proliferación celular y la formación de tejido fibroso que forma una cicatriz como respuesta al daño,²³ allí se producen factores de crecimiento como el Tgf- β , que podrían promover la hipertrofia de los condrocitos,²⁴ de tal forma que la OA recapitula los mecanismos de diferenciación del cartílago de la placa de crecimiento para formar, en última instancia, nódulos de hueso en los bordes del cartílago articular conocidos como osteofitos.^{25,26} Es evidente la importancia de la MEC en la diferenciación del cartílago articular, pero existen diversos factores de

crecimiento y factores de transcripción que regulan la maduración y proliferación de los condrocitos del cartílago articular y del cartílago de la placa de crecimiento, los cuales, además, controlan la expresión de muchos de los componentes de la MEC, y también dirigen la morfogénesis del esqueleto.^{27,28} Recientemente se ha determinado que genes como *Smad3*, *Dkk*, *Wnt4*, etcétera, generan OA en modelos murinos.^{24,29,30} Podemos agrupar las moléculas en función del proceso que regulan: condrogénesis, proliferación, diferenciación y muerte celular. Muchas de estas moléculas pueden ser buenos marcadores genéticos de predisposición a la OA, para ello debemos enfocarnos en establecer

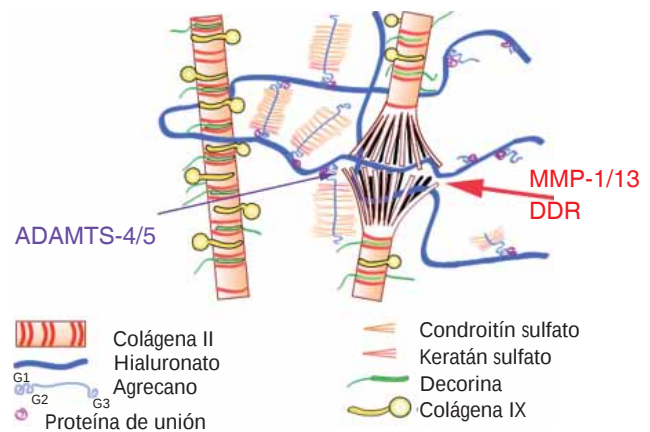


Figura 1. Durante la OA se altera el balance de la síntesis y degradación de la MEC del cartílago articular, las enzimas que remodelan la MEC como ADAMTS 4 y 5 aumentan su expresión y actividad, estas agreganasas actúan entre el dominio G1 y G2 del agregano liberando fragmentos; esto deja al descubierto los dominios de las fibras de colágena tipo II que son susceptibles a la actividad enzimática de las metaloproteinasas 1 y 13 y del DDR, que terminan por deteriorar aún más la estructura de la MEC. Tomada y modificada de Osteoarthritis Research Society International (OARSI) www.oarsi.com. Se puede consultar a color en versión electrónica en: www.medigraphic.com/rid

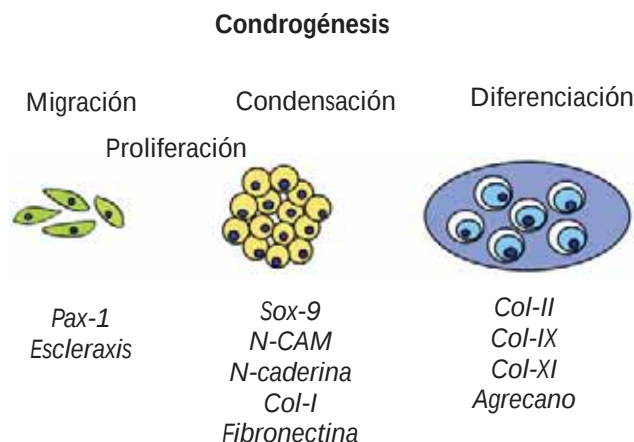


Figura 2. Condrogénesis. Durante el desarrollo la formación de cartílago ocurre a partir de células mesenquimales, las cuales migran hacia el lugar donde se formará el esqueleto, al llegar a ese sitio se agregan y forman nódulos precondrogénicos. En el esquema se indican los genes que se activan durante la condrogénesis.

las diferencias entre los mecanismos de diferenciación del cartílago de la placa de crecimiento y del cartílago articular,^{31,32} por lo que es importante conocer cómo se fueron estableciendo estas diferencias desde la morfogénesis del esqueleto.

La formación del esqueleto y el origen del cartílago: Condrogénesis

El esqueleto se forma a partir de la agregación de células mesenquimales provenientes del mesodermo de la placa lateral; estas células en migración las podemos identificar porque expresan el factor de transcripción *pax-1* y *scleraxis*; estas células mesenquimales se reconocen mediante moléculas de adhesión como N-CAM y N-Cadherina, y se agregan y forman condensaciones de células en proliferación,²⁸ entonces inician la síntesis de matriz extracelular formada por colágena tipo I y fibronectina. Mediante la señalización de las Bmp estas células expresan el factor de transcripción Sox-9, así podemos identificarlas como células comprometidas a la formación de cartílago (Figura 2). Finalmente, las células se diferencian en condrocitos que sintetizan una matriz extracelular rica en colágena tipo IIa y agregano (un proteoglicano altamente sulfatado). En esta etapa los condrocitos forman una «barra» continua que es el molde del esqueleto.

Esqueletogénesis



Figura 3. Patrón de formación del esqueleto. En un inicio mediante la condrogénesis se forma un molde inicial de cartílago representado en color azul; después éste crece y se ramifica en cierto punto (amarillo); en este punto además se articula y se separa en tres partes, el elemento más proximal continúa con la osificación endocondral y desde el centro de cada elemento cartilaginoso se forma hueso (rojo), los elementos más distales continúan articulándose, pero cuando un elemento esquelético forma hueso ya no puede articularse. Se puede consultar a color en versión electrónica en: www.medigraphic.com/rid

El tamaño del esqueleto: Proliferación

Una vez que se ha formado el molde del esqueleto, esta «barra» de cartílago aumenta su tamaño y se alarga debido a la gran capacidad proliferativa de los condrocitos de esta etapa; los componentes de la matriz como los proteoglicanos, la colágena II, la colágena IX y el agregano son abundantes en este tejido. A medida que crece el molde de cartílago se ramifica y se articula, para así formar los diferentes elementos esqueléticos (Figura 3). El crecimiento longitudinal de los elementos esqueléticos depende de las vías de señalización que también se han identificado en la placa de crecimiento. La proteína relacionada a la hormona paratiroidea (PthrP) se expresa en el pericondrio del molde del cartílago, y su receptor (PPR) se expresa en los condrocitos en proliferación. Mediante la acción de PthrP los condrocitos activan la proliferación, de esa forma el cartílago crece longitudinalmente.^{33,34} Los condrocitos

en proliferación se apilan en grupos y se arreglan en columnas llamadas condrones, cuando los condrocitos disminuyen su actividad proliferativa expresan Indian hedgehog (Ihh) y activa a su receptor Patch presente en el pericondrio que, a su vez, induce la expresión de PthrP; de esta manera se cierra un ciclo de señalización que promueve la proliferación celular y el crecimiento del molde cartilaginoso.³⁵ Mientras Ihh se expresa en el cartílago prehipertrófico, los condrocitos siguen proliferando, pero al mismo tiempo que el molde de cartílago crece, los condrocitos prehipertróficos quedan fuera de la zona de influencia del PthrP y las células más alejadas dejan de expresar Ihh, entonces los condrocitos inician su maduración hacia la hipertrofia.³⁶

Sin embargo, a la vez que los condrocitos salen del ciclo celular, expresan el Receptor 3 del factor de crecimiento de fibroblastos (Fgf-R3) e Indian hedgehog (Ihh), estas moléculas determinan y caracterizan a los condrocitos maduros o prehipertróficos, los cuales aumentan su volumen celular y sintetizan una MEC rica en colágena IIb.^{37,38} Los condrocitos prehipertróficos salen del ciclo celular por la señalización del Fgf-18³⁹ que se expresa en el pericondrio y actúa en los condrocitos prehipertróficos, donde el Fgf-R3 activa las moléculas Stat-1 que bloquean la proliferación celular. Es importante mencionar que las mutaciones activadoras del gen Fgf-R3 ocasionan condrodisplasias, es decir, enanismo.^{40,41} Así, el bloqueo de la proliferación activa la maduración de los condrocitos y el cierre prematuro de la placa de crecimiento en el caso de las condrodisplasias.

Podríamos pensar que el tamaño de los huesos largos depende de la señalización PthRp, Ihh y Fgf-18; sin embargo, las proteínas morfogenéticas de hueso (Bmp) también tienen un papel relevante. Estas moléculas se expresan a diferentes niveles de la placa de crecimiento como Bmp2, Bmp4 y Bmp7, todas inducen la condrogénesis y la proliferación de los condrocitos.^{37,42-45} Es difícil determinar cuáles son más importantes, ya que estos grupos de moléculas son codependientes para su señalización. Por ejemplo, una de las razones por las cuales los dedos de los murciélagos son extremadamente largos, se debe a la llamada segunda oleada de la expresión de Sonic hedgehog, la fuerte expresión de Bmps, la ausencia del antagonista de Bmp Nogina y especialmente a la presencia del potenciador *Ptx-1* en la extremidad anterior, *Ptx-1* es un potenciador (*enhancer*) de la expresión de los genes importantes del alargamiento de los elementos esqueléticos.⁴⁶

La forma del esqueleto: Diferenciación y la formación de las articulaciones

Cuando un elemento esquelético alcanza cierto tamaño puede seguir por uno de dos caminos: seguir creciendo o articularse (separarse en dos para formar una articulación sinovial). Una tercera opción es que en ocasiones los elementos esqueléticos en desarrollo se ramifican, pero este mecanismo no ha sido muy estudiado. Aunque la forma del esqueleto en primera instancia depende de los genes homeóticos (HOX), también llamados genes maestros, los cuales determinan el tamaño y forma de cada elemento del cuerpo y el esqueleto,⁴⁷⁻⁴⁹ los mecanismos de diferenciación del condrocito son muy importantes para «esculpir» la forma fina del esqueleto. Hemos visto cómo se forma un elemento cartilaginoso y cómo crece. Conforme el molde de cartílago crece, los condrocitos prehipertróficos ubicados hacia el centro del molde disminuyen la expresión de Ihh y de otros marcadores moleculares del cartílago como la colágena tipo II, Sox-9 y la integrina alfa 5, entre otros;⁵⁰⁻⁵² entonces los condrocitos pierden su fenotipo redondo y adquieren una forma aplanada compacta, formando tres capas de células (Figura 4). Esta región de células desdiferenciadas

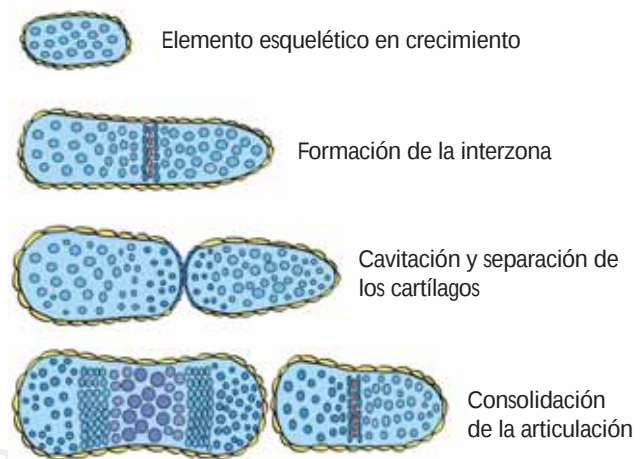


Figura 4. Formación de una articulación. Cuando un elemento cartilaginoso alcanza cierto tamaño una población de células se desdiferencia formando tres capas de células aplanadas, las células de la capa del centro aparentemente mueren por apoptosis y así se separan los elementos esqueléticos, las dos capas adyacentes formarían los cartílagos articulares. Cuando los condrocitos de un elemento esquelético se diferencian hasta la hipertrofia ya no se articula, entonces se osifica y crece longitudinalmente.

se conoce como interzona y también se caracteriza porque las células expresan el gen *Wnt-9a*,⁵³ *Gdf-5*,^{54,55} *autotaxina*,⁵⁶ entre otras moléculas, como la colágena tipo III⁵⁷ y Cd44.⁵⁸ Es de resaltar el papel del *Gdf-5*, ya que la anulación de la expresión de este gen en el ratón genera el fenotipo braquiopodismo, ratones con las extremidades muy cortas que no formaron las articulaciones sinoviales como los codos y las rodillas. De forma similar, la mutación de este gen en el humano, *CDMP-1*, ocasiona el mismo fenotipo.⁵⁴ Sin embargo, la aplicación de *Gdf-5* sobre las articulaciones de los dígitos en desarrollo, también ocasiona la fusión de los cartílagos articulares y no se forman las articulaciones.⁵⁵ Es por ello por lo que se piensa que el papel del gen *Wnt-9a* es determinante para la formación de las articulaciones, la sobreexpresión de este factor en la extremidad de pollo en desarrollo es capaz de inducir la formación de una articulación ectópica. Como mencionamos anteriormente, la interzona se compone de tres capas de células, donde la capa de en medio se compone de células que mueren por apoptosis y esto da lugar a la cavitación, que es el mecanismo con el cual se separan los elementos esqueléticos,^{59,60} mientras que las capas adyacentes podrían formar los cartílagos articulares; es posible que el *Gdf-5* actúe durante la formación y proliferación de las células que dan origen al cartílago articular, mientras que *Wnt-9a* sí tiene la capacidad de inducir la formación de la articulación. Hacemos notar que ésta es una característica relevante del cartílago articular respecto al cartílago de la placa de crecimiento.

El crecimiento de los huesos largos

Conforme el molde de cartílago crece, los condrocitos prehipertróficos disminuyen la expresión de *Ihh*; si este elemento esquelético no está programado para articularse, entonces no se conforma la interzona y se activa la expresión de *Runx2*,⁶¹⁻⁶³ un factor de transcripción que activa varios genes importantes para la formación del hueso, además, los condrocitos cambian su matriz extracelular y la rempazan por colágena tipo X⁶⁴ y colágena tipo I, todas éstas son las características del condrocito hipertrófico, células con un mayor volumen celular; ésta es la última etapa de la diferenciación del condrocito. Posteriormente, los condrocitos secretan una gran cantidad de enzimas llamadas metaloproteinasas y degradan la matriz,⁶⁵ los condrocitos pierden su adhesión y mueren por apoptosis, dejando huecos en la matriz que poco a poco se van calcificando con la invasión de los osteoblastos provenientes de los vasos sanguíneos que en esta etapa comienzan a invadir el

tejido que fue abandonado por los condrocitos hipertróficos.⁶⁶ Este proceso ocurre si el elemento esquelético sigue creciendo para formar hueso. En esta etapa de la morfogénesis se forma la placa de crecimiento, que es una estructura que permite el crecimiento de los huesos largos y proporciona la rigidez al tejido cuando el cartílago es reemplazado paulatinamente por hueso.⁶⁷ Las moléculas como la *Bmp-7* que se expresa durante el desarrollo en las regiones del peri-condrio/periostio, pero no en las interzonas (donde se forman las articulaciones), son fuertes inductoras de la formación de cartílago hipertrófico y de hueso.⁴³ La aplicación de *Bmp-7* debajo de la piel tiene la capacidad de formar hueso, incluso en la patología conocida como *fibrodysplasia ossificans progressive* (FOP) se encuentran altos niveles de *Bmp-4*, aunque la causa genética permanece sin conocerse completamente, las personas con este padecimiento llegan a formar hueso en piel, músculos, ligamentos, tendones, como consecuencia de un golpe que ocasiona una lesión.⁶⁸

La señalización hedgehog ayuda a mantener el cartílago en proliferación y el cartílago maduro, pero es cuando disminuye su expresión que los condrocitos alcanzan la hipertrofia. Esto se lleva a cabo de manera simultánea a la expresión de *Wnt-4*, una molécula que en diferentes sistemas biológicos es antagonista a la señalización hedgehog.⁶⁹ Al activarse la señalización *Wnt*, se induce la expresión de moléculas características del condrocito hipertrófico como colágena tipo X, colágena tipo I y de hueso, como la osteopontina y otras más. Para eso es importante la actividad de la *MMP-9*, que degrada la matriz extracelular del cartílago hipertrófico, favoreciendo la acumulación de la matriz típica de hueso.⁷⁰

La resistencia del esqueleto: Calcificación y muerte celular

Con la degradación de la matriz del cartílago hipertrófico, los condrocitos hipertróficos terminan muriendo mediante apoptosis,⁷¹ ocurre la invasión de vasos sanguíneos por donde llegan las células osteogénicas que ocuparán los espacios que dejaron los condrocitos hipertróficos y comenzarán a sintetizar su propia matriz rica en colágena tipo I, osteopontina, osteonectina, etcétera. La organización y composición de la matriz extracelular del hueso es la que le proporciona gran resistencia mecánica, como es el caso del hueso trabecular que está rodeado de hueso cortical en los huesos largos, además están mineralizados con compuestos como el carbonato de calcio y fosfatos, entre otros.^{72,73}

Semejanzas y diferencias del cartílago de la placa de crecimiento y el cartílago articular

El condrocito es el único tipo celular del cartílago, es por esto que los diferentes tipos de cartílago son muy semejantes, aunque tengan funciones distintas. El cartílago articular y el cartílago de la placa de crecimiento son un buen ejemplo. En general, los mecanismos moleculares de la diferenciación del condrocito de ambos cartílagos son equivalentes. Sin embargo, para el buen funcionamiento de las articulaciones sinoviales, es fundamental que el cartílago no se diferencie hasta hueso, mientras que el crecimiento longitudinal de los huesos depende de la proliferación y diferenciación de los condrocitos de la placa de crecimiento hasta la hipertrofia y la formación de hueso. Incluso, podemos hablar de un modelo que relaciona la estructura y la función del cartílago con base en las diferencias histológicas y funcionales de ambos cartílagos. Tanto en el cartílago de la placa de crecimiento como en el cartílago articular podemos encontrar condrocitos en distintas etapas de diferenciación, pero la organización y actividad de los condrocitos difieren en cada etapa de ambos cartílagos⁷⁴ (Figura 5).

En la placa de crecimiento los condrocitos de reserva representan un estado inmaduro y están organizados en diminutas hileras de células pequeñas y redondas, inmersas en una abundante matriz

extracelular, rica en colágena tipo II y agregano; los condrocitos en proliferación se encuentran apilados como «monedas» formando varias hileras compactas que ocupan una amplia zona de la placa de crecimiento, las células de la región superior de las hileras tienen mayor actividad de proliferación que las células de la zona más profunda de las hileras; los condrocitos prehipertrofos (maduros) son células de mayor tamaño que han salido del ciclo celular y expresan claramente *Ihh*, estas células segregan y acumulan una gran cantidad de hidratos de carbono; finalmente los condrocitos hipertrofos son células de mayor volumen celular y con alta actividad de fosfatasa alcalina, la MEC se compone principalmente de colágena tipo X y comienza a calcificarse, algunas células degeneran y mueren por apoptosis, dejando los espacios que los osteoblastos ocuparán para consolidar así en tejido óseo. Este proceso conocido como osificación endocondral es el que regula el crecimiento de los huesos en función de la diferenciación del cartílago.⁷⁵ Es menester mencionar que un centro de señalización importante en este proceso es el pericondrio; a saber, células muy pequeñas y aplanadas que rodean al cartílago y expresan *Pthrp* y *Fgf-18*, las cuales inducen e inhiben respectivamente la proliferación de los condrocitos, el receptor de *Pthrp* es *PPR* y se expresa en las hileras superiores,⁷⁶ mientras que el receptor de *Fgf-18* es el *Fgf-R3* y se encuentra en las hileras de células más

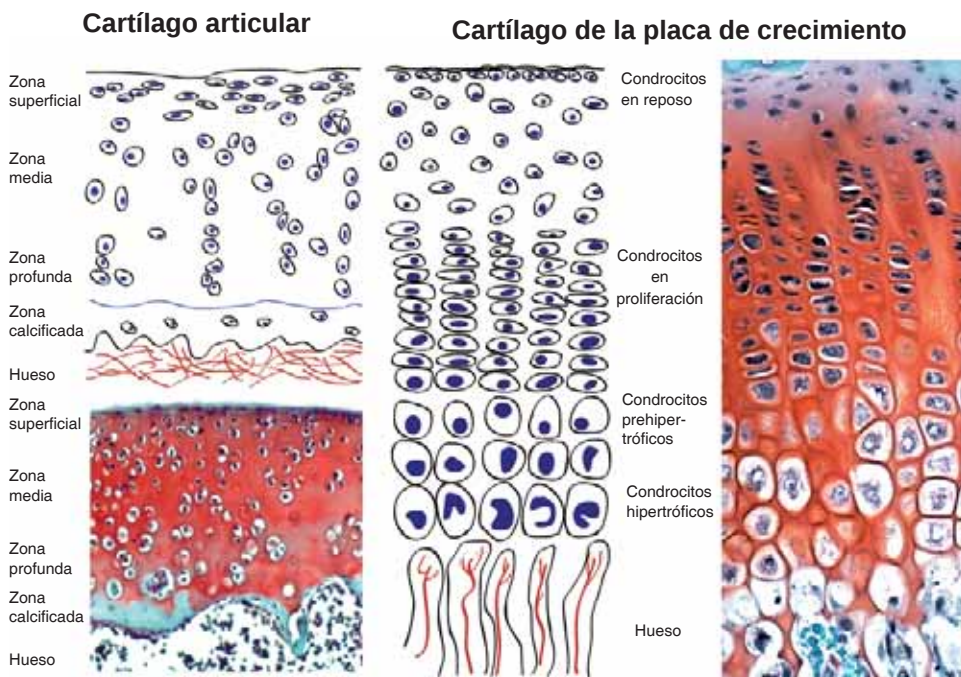


Figura 5. El cartílago articular y el cartílago de la placa de crecimiento comparten el mismo y único tipo celular, el condrocito sin embargo se diferencia de manera similar en ambos casos pero las tasas de proliferación y maduración no son iguales, lo cual se nota incluso en la estructura de estos tejidos.

profundas de los condrocitos en proliferación. Patch es el receptor de *Ihh* y se expresa en el pericondrio; de ese modo, *Ihh* induce la expresión de *Pthrp* y éste, a su vez, induce la proliferación y la expresión de *Ihh* en la placa de crecimiento.³⁹ Esta cascada de regulación propicia el crecimiento longitudinal del molde de cartílago; sin embargo, es necesario que este molde sea rígido. Para ello, el *Fgf-18* inhibe la proliferación del cartílago al regular la expresión de *Ihh* y esto resulta en la diferenciación del condrocito hasta la hipertrofia. Esta cascada de señales también ocurre durante la formación del cartílago articular, donde la formación de hueso es más limitada, como ocurre en los centros de osificación secundaria.

El cartílago articular presenta aparentemente las distintas etapas de diferenciación de los condrocitos, sólo que los que corresponden a los condrocitos en reposo presentan importantes diferencias en cuanto a la composición de la MEC, como la presencia de lubricina,^{77,78} la colágena tipo IIa,⁷⁹ el agregano,⁸⁰ *CD44*,⁸¹ *Ucma*,⁸² estas células son las más abundantes en el cartílago articular. Las células correspondientes a la zona de proliferación no están organizadas en hileras y tienen muy baja tasa de proliferación, lo que las hace más parecidas al cartílago prehipertrofico. Como la tasa de maduración es muy lenta, los condrocitos hipertroficos conforman una zona muy reducida de apenas una o dos líneas de células entre la frontera del cartílago y hueso, conocida como «marca de agua» (*tide mark*).

La osificación endocondral durante el desarrollo del esqueleto y la OA

Las articulaciones que separan los elementos esqueléticos unos de otros sirven como importantes centros de señalización durante el desarrollo del esqueleto y regulan la proliferación y maduración de los condrocitos. Es bien sabido que la maduración de los condrocitos es crucial para la osificación endocondral y para definir el tamaño final de cada elemento esquelético. En la extremidad, los procesos de la formación de articulaciones y la diferenciación del cartílago de los elementos esqueléticos están fuertemente relacionados. Los elementos esqueléticos de la extremidad se forman por osificación endocondral, este proceso inicia con la agregación de células mesenquimales que conforman las condensaciones precartilaginosas, esta condensación crece por la proliferación de los condrocitos y forma una «barra» inicial de cartílago.⁸³ Se ha propuesto que el primer paso para la formación de la articulación es que se inhiba la diferenciación

de los condrocitos prehipertroficos en las células que se ubican en la región de la prospectiva articulación, fuera de la influencia de señales que promueven la maduración del cartílago, mientras que las células vecinas continúan su proceso de diferenciación hasta la hipertrofia y posteriormente forman hueso por osificación endocondral, de tal modo que contribuyen en la formación de los elementos esqueléticos adyacentes.⁵⁹ Las células de la presunta región de la articulación conforman la interzona, la cual se caracteriza por una región de células altamente empaquetadas y aplanadas, estas células producen otros tipos de colágenas como la colágena tipo I y III, a diferencia de los condrocitos que producen colágena tipo II. En la interzona también se expresan moléculas como *Wnt9a* y antagonistas de BMP como *nogina*,⁸⁴ las cuales mantienen la característica no condrogénica de estas células. Algunas moléculas de adhesión celular, como la integrina $\alpha 5 \beta 1$,⁸⁵ también regulan la formación de articulaciones al controlar la diferenciación de los condrocitos, mientras que otras moléculas de señalización que se expresan en la interzona como *Wnt4*,⁵³ *Fgf-18*, los *Gdf* (5, 6 y 7)⁸⁶ y varios miembros de las BMP promueven el crecimiento y diferenciación de los elementos cartilaginosos adyacentes. Es muy probable que los diversos tipos celulares presentes en una articulación sinovial madura, como las células sinoviales, los condrocitos articulares permanentes y las células de la cápsula articular tengan su origen en la interzona. Los condrocitos articulares permanentes que se originan de la interzona son muy parecidos a los condrocitos de la placa de crecimiento, y aunque ambos tipos celulares forman un cartílago hialino tienen importantes diferencias y funciones. La diferencia más importante es que los condrocitos articulares disminuyen considerablemente su maduración hacia la hipertrofia a diferencia de los condrocitos de la placa de crecimiento, donde observamos una amplia región de condrocitos hipertroficos, ya que este proceso permite la osificación y el crecimiento de los huesos largos. Los condrocitos hipertroficos tienen un mayor volumen celular y producen una matriz extracelular muy específica rica en colágena tipo X. La hipertrofia de los condrocitos es seguida por apoptosis, la invasión de vasos sanguíneos, osteoclastos y otras células mesenquimales provenientes del pericondrio y la producción de la matriz de hueso. Por ello, el tamaño y la estructura fina de los huesos largos depende de la regulación coordinada de la proliferación, maduración e hipertrofia de los condrocitos en respuesta a múltiples señales extracelulares. Tanto *Ihh* como el *Pthrp* desempeñan un papel crítico en estos procesos.

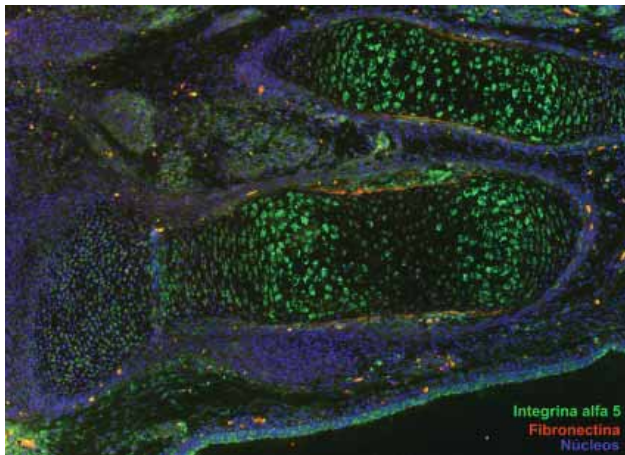


Figura 6. La expresión de la integrina $\alpha 5$ marcada con FITC (verde) se localiza en el cartílago prehipertrófico (similarmente a la expresión de *Ihh*) de un hueso en desarrollo y disminuye su expresión en el cartílago hipertrófico, el cual está flanqueado por la expresión en el pericondrio de la fibronectina marcada con Rojo Texas (rojo). Los núcleos están marcados con DAPI (azul). Se puede consultar a color en versión electrónica en: www.medigraphic.com/rid

Ihh es producido por los condrocitos prehipertróficos e induce la expresión de *PthrP* en el pericondrio que, a su vez, regula la velocidad a la que los condrocitos salen del ciclo celular y siguen a la hipertrofia (Figura 6). *Ihh* también estimula la proliferación de los condrocitos y controla la diferenciación de las células mesenquimales a osteoblastos en el collar óseo. Así, cuando los condrocitos dejan de expresar *Ihh* se activa la expresión de *Runx2* y *Runx3*, unos factores de transcripción de la familia *Runx* necesarios para la hipertrofia de los condrocitos y la diferenciación de los osteoblastos. Por el contrario, el *Fgf-18* que se expresa en el pericondrio y a través de su receptor *Fgf-R3* que se expresa en el cartílago prehipertrófico regula negativamente la proliferación celular y promueve la hipertrofia de los condrocitos; la activación constitutiva de *Fgf-R3* resulta en enanismo y puede inhibir la formación de articulaciones; esto confirma la idea de que los condrocitos en proliferación pueden tener dos destinos posibles: convertirse en condrocitos prearticulares o en condrocitos prehipertróficos.

Otras vías de señalización que regulan la hipertrofia del cartílago relacionadas con la osteoartritis son las vías de señalización de BMP y Wnt; cuando se inactiva el receptor *Bmpr1a* en el ratón se generan

fenotipos similares a la osteoartritis humana y cuando se activa la vía de Wnt, al bloquear a su antagonista *Dkk*,²⁹ se revierten los procesos de destrucción del cartílago articular y la osificación endocondral, esto sugiere que estas vías permiten el mantenimiento del cartílago articular adulto.

No sólo en las etapas embrionarias el desbalance de las señales proliferativas y de hipertrofia traen importantes consecuencias en el cartílago articular, la osteoartritis es un notable ejemplo de este desbalance de señales.⁸⁷ Existen modelos animales que recapitulan esta enfermedad degenerativa de las articulaciones, tal es el caso de los ratones mutantes de *Smad3*,⁸⁸ una molécula que transduce la señal de *TGF- β* . El análisis molecular de estos ratones muestra la expresión ectópica de colágena tipo X en el cartílago articular y el incremento de la hipertrofia de los condrocitos, esto muestra al *TGF- β* como un inhibidor de la diferenciación de los condrocitos articulares. De modo similar, la anulación de *Mig6* en ratones resulta en la degeneración temprana de las articulaciones, evidenciada por la degradación del cartílago articular, la formación de tejido fibroso y el crecimiento de osteofitos.^{89,90} Es bien conocido que las lesiones del cartílago articular pueden resultar en osteoartritis, la formación de tejido fibroso es una respuesta de cicatrización inmediata ante un daño traumático, esta cicatrización en muchas ocasiones es promovida por los *TGF- β* ; el cual, a su vez, podría inducir la formación de osteofitos que recapitula la condrogénesis y la osificación endocondral en el cartílago articular adulto.

Bibliografía

1. Gardner DL. The nature and causes of osteoarthritis. *Br Med J* 1983; 286: 418-424.
2. Hedbom E, Häuselmann HJ. Molecular aspects of pathogenesis in osteoarthritis: the role of inflammation. *Cell Mol Life Sci* 2002; 59: 45-53.
3. Vincent TL, Saklatvala J. Is the response of cartilage to injury relevant to osteoarthritis? *Arthritis Rheum* 2008; 58: 1207-1210.
4. Bos SD, Slagboom PE, Meulenbelt I. New insights into osteoarthritis: early developmental features of an ageing-related disease. *Curr Opin Rheumatol* 2008; 20: 553-559.
5. Ala-Kokko L, Baldwin CT, Moskowitz RW, Prockop DJ. Single base mutation in the type II procollagen gene (COL2A1) as a cause of primary osteoarthritis associated with a mild chondrodysplasia. *PNAS USA* 1990; 87: 6565-6568.
6. Vakkula M, Olsen BR. Unravelling the molecular genetics of osteoarthritis. *Ann Med* 1996; 28: 301-304.
7. Eerola I, Salminen H, Lammi P, Lammi M, Von Der Mark K, Vuorio E, Säämänen AM. Type X collagen, a natural component of mouse articular cartilage. Association with

- growth, aging, and osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 1998; 41: 1287-1295.
8. Aigner T, Zhu Y, Chansky HH, Matsen FA, Maloney WJ, Sandell LJ. Reexpression of type IIA procollagen by adult articular chondrocytes in osteoarthritic cartilage. *Arthritis Rheum* 1999; 42: 1443-1450.
 9. Pfander D, Cramer T, Deuerling D, Weseloh G, Swoboda B. Expression of thrombospondin-1 and its receptor CD36 in human osteoarthritic cartilage. *Ann Rheum Dis* 2000; 59: 448-454.
 10. Garner P, Ayral X, Rousseau JC, Christgau S, Sandell LJ, Dougados M et al. Uncoupling of type II collagen synthesis and degradation predicts progression of joint damage in patients with knee osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 2613-2624.
 11. Pendleton A, Johnson MD, Hughes A, Gurley KA, Ho AM, Doherty M et al. Mutations in ANKH cause chondrocalcinosis. *Am J Hum Genet* 2002; 71: 933-940.
 12. Xu L, Peng H, Glasson S, Lee PL, Hu K, Ijiri K et al. Increased expression of the collagen receptor discoidin domain receptor 2 in articular cartilage as a key event in the pathogenesis of osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 2007; 56: 2663-2673.
 13. Klatt AR, Becker A-KA, Neacsu CD, Paulsson M, Wagener R. The matrilins: Modulators of extracellular matrix assembly. *Int J Biochem Cell Biol* 2011; 43: 320-330.
 14. Otten C, Hansen U, Talke A, Wagener R, Paulsson M, Zaucke F. A matrilin-3 mutation associated with osteoarthritis does not affect collagen affinity but promotes the formation of wider cartilage collagen fibrils. *Hum Mutat* 2010; 31: 254-263.
 15. Klatt AR, Klinger G, Paul-Klaus B, Kühn G, Renno JH, Wagener R et al. Matrilin-3 activates the expression of osteoarthritis-associated genes in primary human chondrocytes. *FEBS Lett* 2009; 583: 3611-3617.
 16. van der Weyden L, Wei L, Luo J, Yang X, Birk DE, Adams DJ et al. Functional knockout of the matrilin-3 gene causes premature chondrocyte maturation to hypertrophy and increases bone mineral density and osteoarthritis. *Am J Pathol* 2006; 169: 515-527.
 17. Majumdar MK, Askew R, Schelling S, Stedman N, Blanchet T, Hopkins B et al. Double-knockout of ADAMTS-4 and ADAMTS-5 in mice results in physiologically normal animals and prevents the progression of osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 2007; 56: 3670-3674.
 18. Huang K, Wu LD. Aggrecanase and aggrecan degradation in osteoarthritis: a review. *J Int Med Res* 2008; 36: 1149-1160.
 19. Malfait A-M, Arner EC, Song R-H, Alston JT, Markosyan S, Staten N et al. Proprotein convertase activation of aggrecanases in cartilage *in situ*. *Arch Biochem Biophys* 2008; 478: 43-51.
 20. Echtermeyer F, Bertrand J, Dreier R, Meinecke I, Neugebauer K, Fuerst M et al. Syndecan-4 regulates ADAMTS-5 activation and cartilage breakdown in osteoarthritis. *Nature Medicine* 2009; 15: 1072-1076.
 21. Miwa HE, Gerken TA, Huynh TD, Duesler LR, Cotter M, Hering TM. Conserved sequence in the aggrecan interglobular domain modulates cleavage by ADAMTS-4 and ADAMTS-5. *Biochim Biophys Acta* 2009; 1790: 161-172.
 22. Xu L, Peng H, Glasson SS, Lee PL, Hu K, Ijiri K et al. Increased expression of the collagen receptor discoidin domain receptor 2 in articular cartilage as a key event in the pathogenesis of osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 2007; 56: 2663-2673.
 23. Reginato AM, Olsen BR. The role of structural genes in the pathogenesis of osteoarthritic disorders. *Arthritis Res* 2002; 4: 337-345.
 24. van der Kraan PM, Blaney Davidson EN, Blom A, van den Berg WB. TGF-beta signaling in chondrocyte terminal differentiation and osteoarthritis: modulation and integration of signaling pathways through receptor-Smads. *Osteoarthr Cartil* 2009; 17: 1539-1545.
 25. Wang M, Shen J, Jin H, Im H-J, Sandy J, Chen D. Recent progress in understanding molecular mechanisms of cartilage degeneration during osteoarthritis. *Ann N Y Acad Sci* 2011; 1240: 61-69.
 26. Scharstuhl A, Glansbeek HL, van Beuningen HM, Vitters EL, van der Kraan PM, van den Berg WB. Inhibition of endogenous TGF-beta during experimental osteoarthritis prevents osteophyte formation and impairs cartilage repair. *J Immunol* 2002; 169: 507-514.
 27. Archer CW. Skeletal development and osteoarthritis. *Ann Rheum Dis* 1994; 53: 624-630.
 28. DeLise AM, Fischer L, Tuan RS. Cellular interactions and signaling in cartilage development. *Osteoarthr Cartil* 2000; 8: 309-334.
 29. Honsawek S, Tanavalee A, Yuktanandana P, Ngarmukos S, Saetan N, Tantavisut S. Dickkopf-1 (Dkk-1) in plasma and synovial fluid is inversely correlated with radiographic severity of knee osteoarthritis patients. *BMC Musculoskelet Dis* 2010; 11: 257.
 30. Luyten FP, Tylzanowski P, Lories RJ. Wnt signaling and osteoarthritis. *Bone* 2009; 44: 522-527.
 31. Aigner T, Gerwin N. Growth plate cartilage as developmental model in osteoarthritis research-potentials and limitations. *Curr Drug Targ* 2007; 8: 377-385.
 32. Sandell LJ, Adler P. Developmental patterns of cartilage. *Front Biosci* 1999; 4: 731-742.
 33. Lanske B, Karaplis AC, Lee K, Luz A, Vortkamp A, Pirro A, Karperien M et al. PTH/PTHrP receptor in early development and Indian hedgehog-regulated bone growth. *Science* 1996; 273: 663-666.
 34. Minina E, Wenzel HM, Kreschel C, Karp S, Gaffield W, McMahon AP et al. BMP and Ihh/PTHrP signaling interact to coordinate chondrocyte proliferation and differentiation. *Development* 2001; 128: 4523-4534.
 35. St-Jacques B, Hammerschmidt M, McMahon AP. Indian hedgehog signaling regulates proliferation and differentiation of chondrocytes and is essential for bone formation. *Genes Dev* 1999; 13: 2072-2086.
 36. Mak KK, Kronenberg HM, Chuang P-T, Mackem S, Yang Y. Indian hedgehog signals independently of PTHrP to promote chondrocyte hypertrophy. *Development* 2008; 135: 1947-1956.

37. Naski MC, Colvin JS, Coffin JD, Ornitz DM. Repression of hedgehog signaling and BMP4 expression in growth plate cartilage by fibroblast growth factor receptor 3. *Development* 1998; 125: 4977-4988.
38. Decker E, Durand C, Bender S, Rödelberger C, Glaser A, Hecht J et al. FGFR3 is a target of the homeobox transcription factor SHOX in limb development. *Hum Mol Genet* 2011; 20: 1524-1535.
39. Ohbayashi N, Shibayama M, Kurotaki Y, Imanishi M, Fujimori T, Itoh N et al. FGF18 is required for normal cell proliferation and differentiation during osteogenesis and chondrogenesis. *Genes Dev* 2002; 16: 870-879.
40. Wang Y, Spatz MK, Kannan K, Hayk H, Avivi A, Gorivodsky M et al. A mouse model for achondroplasia produced by targeting fibroblast growth factor receptor 3. *PNAS USA* 1999; 96: 4455-4460.
41. Wang Q, Green RP, Zhao G, Ornitz DM. Differential regulation of endochondral bone growth and joint development by FGFR1 and FGFR3 tyrosine kinase domains. *Development* 2001; 128: 3867-3876.
42. Duprez D, Bell EJ, Richardson MK, Archer CW, Wolpert L, Brickell PM et al. Overexpression of BMP-2 and BMP-4 alters the size and shape of developing skeletal elements in the chick limb. *Mech Dev* 1996; 57: 145-157.
43. Haaijman A, Karperien M, Lanske B, Hendriks J, Löwik CW, Bronckers AL et al. Inhibition of terminal chondrocyte differentiation by bone morphogenetic protein 7 (OP-1) *in vitro* depends on the periarticular region but is independent of parathyroid hormone-related peptide. *Bone* 1999; 25: 397-404.
44. Minina E, Wenzel HM, Kreschel C, Karp S, Gaffield W, McMahon AP et al. BMP and Ihh/PTHrP signaling interact to coordinate chondrocyte proliferation and differentiation. *Development* 2001; 128: 4523-4534.
45. Mukherjee A, Rotwein P. Akt promotes BMP2-mediated osteoblast differentiation and bone development. *J Cell Sci* 2009; 122: 716-726.
46. Sears KE, Behringer RR, Rasweiler JJ, Niswander LA. Development of bat flight: morphologic and molecular evolution of bat wing digits. *PNAS USA* 2006; 103: 6581-6586.
47. Koyama E, Yasuda T, Minugh-Purvis N, Kinumatsu T, Yallowitz AR, Wellik DM et al. Hox11 genes establish synovial joint organization and phylogenetic characteristics in developing mouse zeugopod skeletal elements. *Development* 2010; 137: 3795-3800.
48. Salsi V, Vigano MA, Cocchiarella F, Mantovani R, Zappavigna V. Hoxd13 binds *in vivo* and regulates the expression of genes acting in key pathways for early limb and skeletal patterning. *Dev Biol* 2008; 317: 497-507.
49. Hérault Y, Beckers J, Gérard M, Duboule D. Hox gene expression in limbs: colinearity by opposite regulatory controls *Dev Biol* 1999; 208: 157-165.
50. Nowlan NC, Sharpe J, Roddy KA, Prendergast PJ, Murphy P. Mechanobiology of embryonic skeletal development: Insights from animal models. *Birth Defect Res C* 2010; 90: 203-213.
51. Montero JA, Hurle JM. Deconstructing digit chondrogenesis. *Bioessays* 2007; 29: 725-737.
52. Ehlen HWA, Buelens LA, Vortkamp A. Hedgehog signaling in skeletal development. *Birth Defect Res C* 2006; 78: 267-279.
53. Hartmann C, Tabin CJ. Wnt-14 plays a pivotal role in inducing synovial joint formation in the developing appendicular skeleton. *Cell* 2001; 104: 341-351.
54. Thomas JT, Lin K, Nandedkar M, Camargo M, Cervenka J, Luyten FP. A human chondrodysplasia due to a mutation in a TGF-beta superfamily member. *Nature Genetics* 1996; 12: 315-317.
55. Francis-West PH, Parish J, Lee K, Archer CW. BMP/GDF-signalling interactions during synovial joint development. *Cell Tiss Res* 1999; 296: 111-119.
56. Bächner D, Ahrens M, Betat N, Schröder D, Gross G. Developmental expression analysis of murine autotaxin (ATX). *Mech Dev* 1999; 84: 121-125.
57. Nalin AM, Greenlee TK, Sandell LJ. Collagen gene expression during development of avian synovial joints: transient expression of types II and XI collagen genes in the joint capsule. *Dev Dyn* 1995; 203: 352-362.
58. Dowthwaite GP, Edwards JC, Pitsillides AA. An essential role for the interaction between hyaluronan and hyaluronan binding proteins during joint development. *J Histochem Cytochem* 1998; 46: 641-651.
59. Archer CW, Dowthwaite GP, Francis-West PH. Development of synovial joints. *Birth Defect Res C* 2003; 69: 144-155.
60. Ben-Ari E. Of Joints and Genes. *HHMI Bulletin* 2003; 2-13.
61. Komori T. Runx2, a multifunctional transcription factor in skeletal development. *J Cell Biochem* 2002; 87:1-8.
62. Stricker S, Fundele R, Vortkamp A, Mundlos S. Role of Runx genes in chondrocyte differentiation. *Dev Biol* 2002; 245: 95-108.
63. Yoshida CA, Yamamoto H, Fujita T, Furuichi T, Ito K, Inoue KI et al. Runx2 and Runx3 are essential for chondrocyte maturation, and Runx2 regulates limb growth through induction of Indian hedgehog. *Genes Dev* 2004; 18: 952-963.
64. Kwan KM, Pang MK, Zhou S, Cowan SK, Kong RY, Pfordte T et al. Abnormal compartmentalization of cartilage matrix components in mice lacking collagen X: implications for function. *J Cell Biol* 1997; 136: 459-471.
65. Perumal S, Antipova O, Orgel JPRO. Collagen fibril architecture, domain organization, and triple-helical conformation govern its proteolysis. *PNAS USA* 2008; 105: 2824-2829.
66. Lefebvre V, Smits P. Transcriptional control of chondrocyte fate and differentiation. *Birth Defects Res C* 2005; 75: 200-212.
67. Milz S, Boszczyk A, Putz R. Development and functional structure of the epiphyseal plate. *Der Orthopäde* 2002; 31:835-840.
68. Reddi AH. Cartilage morphogenetic proteins: role in joint development, homeostasis, and regeneration. *Ann Rheum Dis* 2003; 62 (2): 73-78.

69. Guo X, Mak KK, Taketo MM, Yang Y. The Wnt/beta-catenin pathway interacts differentially with PTHrP signaling to control chondrocyte hypertrophy and final maturation. *PLoS ONE* 2009; 4: e6067.
70. Engsig MT, Chen QJ, Vu TH, Pedersen AC, Therkidsen B, Lund LR et al. Matrix metalloproteinase 9 and vascular endothelial growth factor are essential for osteoclast recruitment into developing long bones. *J Cell Biol* 2000; 151: 879-889.
71. Shum L, Nuckolls G. The life cycle of chondrocytes in the developing skeleton. *Arthr Res* 2002; 4: 94-106.
72. Boyle WJ, Simonet WS, Lacey DL. Osteoclast differentiation and activation. *Nature* 2003; 423: 337-342.
73. Funaba M, Ogawa K, Abe M. Expression and localization of activin receptors during endochondral bone development. *Eur J Endocrinol* 2001; 144: 63-71.
74. McGlashan SR, Haycraft CJ, Jensen CG, Yoder BK, Poole CA. Articular cartilage and growth plate defects are associated with chondrocyte cytoskeletal abnormalities in Tg737orpk mice lacking the primary cilia protein polaris. *Matrix Biol* 2007; 26: 234-246.
75. Burdan F, Szumilo J, Korobowicz A, Farooquee R, Patel S, Patel A et al. Morphology and physiology of the epiphyseal growth plate. *Folia Histochem Cytobiol* 2009; 47: 5-16.
76. Kobayashi T, Chung UI, Schipani E, Starbuck M, Karsenty G, Katagiri T et al. PTHrP and Indian hedgehog control differentiation of growth plate chondrocytes at multiple steps. *Development* 2002; 129: 2977-2986.
77. Swann DA, Silver FH, Slayter HS, Stafford W, Shore E. The molecular structure and lubricating activity of lubricin isolated from bovine and human synovial fluids. *Biochem J* 1985; 225: 195-201.
78. Jay GD, Torres JR, Warman ML, Laderer MC, Breuer KS. The role of lubricin in the mechanical behavior of synovial fluid. *PNAS USA* 2007; 104: 6194-6199.
79. Koyama E, Shibukawa Y, Nagayama M, Sugito H, Young B, Yuasa T et al. A distinct cohort of progenitor cells participates in synovial joint and articular cartilage formation during mouse limb skeletogenesis. *Dev Biol* 2008; 316:62-73.
80. Watanabe H, Yamada Y. Chondrodysplasia of gene knockout mice for aggrecan and link protein. *Glycoconj J* 2002; 19: 269-273.
81. Knudson W, Loeser RF. CD44 and integrin matrix receptors participate in cartilage homeostasis. *Cell Mol Life Sci* 2002; 59: 36-44.
82. Surmann-Schmitt C, Dietz U, Kireva T, Adam N, Park J, Tagariello A et al. UCMA, a novel secreted cartilage-specific protein with implications in osteogenesis. *J Biol Chem* 2008; 283: 7082-7093.
83. Eames BF, Schneider RA. The genesis of cartilage size and shape during development and evolution. *Development* 2008; 135: 3947-3958.
84. Brunet LJ, McMahon JA, McMahon AP, Harland RM. Noggin, cartilage morphogenesis, and joint formation in the mammalian skeleton. *Science* 1998; 280: 1455-1457.
85. Garcíadiego-Cázares D, Rosales C, Katoh M, Chimal-Monroy J. Coordination of chondrocyte differentiation and joint formation by alpha5beta1 integrin in the developing appendicular skeleton. *Development* 2004; 131: 4735-4742.
86. Seemann P, Schwappacher R, Kjaer KW, Krakow D, Lehmann K, Dawson K et al. Activating and deactivating mutations in the receptor interaction site of GDF5 cause symphalangism or brachydactyly type A2. *J Clin Invest* 2005; 115: 2373-2381.
87. van der Kraan PM, van den Berg WB. Chondrocyte hypertrophy and osteoarthritis: Role in initiation and progression of cartilage degeneration? *Osteoarthritis Cartil* 2012; 20: 223-232.
88. Alliston T, Choy L, Ducey P, Karsenty G, Derynck R. TGF-beta-induced repression of CBFA1 by Smad3 decreases cbfa1 and osteocalcin expression and inhibits osteoblast differentiation. *EMBO J* 2001; 20: 2254-2272.
89. Mateescu RG, Todhunter RJ, Lust G, Burton-Wurster N. Increased MIG-6 mRNA transcripts in osteoarthritic cartilage. *Bioch Biophys Res Com* 2005; 332: 482-486.
90. Zhang Y-W, Su Y, Lanning N, Swiatek PJ, Bronson RT, Sigler R et al. Targeted disruption of Mig-6 in the mouse genome leads to early onset degenerative joint disease. *PNAS USA* 2005; 102: 11740-11745.