

**Papel inmunomodulador de
MINDIN en el microambiente
óseo en condiciones
inflamatorias**

**Immunomodulatory role of
MINDIN in bone
microenvironment under
inflammatory conditions**

10.20960/RevOsteoporosMetabMiner.00102

08/03/2026

Papel inmunomodulador de MINDIN en el microambiente óseo en condiciones inflamatorias

Immunomodulatory role of MINDIN in bone microenvironment under inflammatory conditions

Luis Álvarez-Carrión^{1,3}, Martina Romeo¹, Irene Gutiérrez-Rojas^{1,2}, Gonzalo García de Casasola-Rodríguez¹, Juan Antonio Ardura Rodríguez^{2,3}, Verónica Alonso Rodríguez^{1,3}

¹Laboratorio de Cáncer y Metástasis Óseas, y ²Laboratorio de Fisiopatología Ósea. Instituto de Medicina Molecular Aplicada (IMMA). Facultad de Medicina. Universidad San Pablo-CEU. ³Departamento de Ciencias Médicas Básicas. Facultad de Medicina. Universidad San Pablo-CEU. Madrid

Recibido: 03/09/2025

Aceptado: 03/07/2026

Correspondencia: Verónica Alonso Rodríguez. Laboratorio de Cáncer y Metástasis Óseas. Instituto de Medicina Molecular Aplicada (IMMA). Facultad de Medicina. Universidad San Pablo-CEU. 28925 Alcorcón, Madrid

e-mail: veronica.alonsorodriguez@ceu.es

Luis Álvarez-Carrión y Martina Romeo tienen el mismo grado de contribución en la elaboración de este artículo.

Juan Antonio Ardura Rodríguez y Verónica Alonso Rodríguez tienen el mismo senior estatus.

Agradecimientos: agradecemos el apoyo de la Sociedad Española de Metabolismo Mineral y Óseo (SEIOMM) y de la Fundación Española de

Investigación Ósea y del Metabolismo Mineral (FEIOMM) que ha permitido la elaboración del presente manuscrito.

Financiación: este trabajo se realizó gracias a la BECA FEIOMM BÁSICA 2022.

Conflicto de intereses: los autores declaran no tener conflicto de interés.

Inteligencia artificial: los autores declaran no haber utilizado inteligencia artificial (IA) ni ninguna tecnología asistida por IA en la elaboración del artículo.

RESUMEN

Introducción: el hueso es un órgano dinámico en constante remodelación, proceso en el que colaboran células óseas (osteoclastos y osteoblastos) y células del sistema inmune (como macrófagos y linfocitos). Esta interacción entre ambos tipos celulares es estudiada por el campo de la osteoinmunología, que se centra en cómo factores inmunes influyen en la formación y resorción ósea, especialmente en contextos inflamatorios como la osteoporosis o la osteomielitis.

Objetivo: MINDIN, una proteína de matriz extracelular con funciones inmunomoduladoras, ha sido descrita previamente como mediadora en el reclutamiento y activación de macrófagos, aunque su papel es poco conocido. Por ello, este estudio tuvo como objetivo esclarecer el papel de MINDIN como inmunomodulador en el hueso y sus acciones sobre el remodelado óseo en un contexto inflamatorio.

Material y métodos: se empleó un modelo *ex vivo* de ulna de ratón en condiciones inflamatorias, en el que se estimularon de manera secuencial los huesos primero con LPS seguido de MINDIN, para

analizar el papel de MINDIN en la polarización de macrófagos y el remodelado óseo.

Resultados: la estimulación con MINDIN promovió un perfil proinflamatorio caracterizado por la sobreexpresión de F4/80 e iNOS, sin alterar los niveles de CD206. Además, MINDIN aumentó la expresión de marcadores osteoclásticos como RANKL y TRAP, y también modificó la expresión de AXL, marcador de osteomorfos, en función del contexto inflamatorio. El análisis de correlación entre genes proinflamatorios y de remodelado óseo reveló asociaciones significativas que sugieren una estrecha interacción entre la activación inmune y la resorción ósea.

Conclusiones: en conjunto, estos resultados identifican a MINDIN como un posible mediador en la interfaz entre inflamación y remodelado óseo, con potencial relevancia en enfermedades osteolíticas inflamatorias como la osteomielitis, la artritis reumatoide y las metástasis óseas.

Palabras clave: MINDIN. Macrófagos. Polarización. Osteoimmunología.

ABSTRACT

Introduction: bone is a dynamic organ undergoing constant remodeling, a process involving bone cells (osteoclasts and osteoblasts) and immune system cells (such as macrophages and lymphocytes). This interaction between the two cell types is studied by the field of osteoimmunology, which focuses on how immune factors influence bone formation and resorption, especially in inflammatory contexts such as osteoporosis or osteomyelitis.

Aim: MINDIN, an extracellular matrix protein with immunomodulatory functions, has previously been described as a mediator in the recruitment and activation of macrophages, although its role is poorly understood. Therefore, the present study aimed to clarify the role of

MINDIN as an immunomodulator in bone and its actions on bone remodeling in an inflammatory context.

Material and methods: in *ex vivo* mouse ulna model under inflammatory conditions induced by LPS was used to analyze the role of MINDIN in macrophage polarization and bone remodeling.

Results: stimulation with MINDIN promoted a proinflammatory profile characterized by overexpression of F4/80 and iNOS, without altering CD206 levels. In addition, MINDIN increased the expression of osteoclastic markers such as RANKL and TRAP, as well as modifying the expression of AXL, a marker of osteomorphs, depending on the inflammatory context. Correlation analysis between proinflammatory and bone remodeling genes revealed significant associations suggesting a close interaction between immune activation and bone resorption.

Conclusion: taken together, these results identify MINDIN as a potential mediator at the interface between inflammation and bone remodeling, with potential relevance in inflammatory osteolytic diseases such as osteomyelitis, rheumatoid arthritis, and bone metastases.

Keywords: MINDIN. Macrophages. Polarization. Osteoimmunology.

INTRODUCCIÓN

El sistema esquelético y el sistema inmunitario comparten múltiples moléculas, incluyendo citocinas, factores de transcripción, receptores y hormonas. En condiciones fisiológicas, la interacción entre las células óseas (como los osteoclastos y los osteoblastos) y las células inmunitarias es fundamental para el desarrollo, la reparación, la regeneración y el mantenimiento del equilibrio óseo (1). A pesar de su naturaleza aparentemente estática, el hueso es un órgano muy dinámico que experimenta una remodelación continua a lo largo de la vida en la que intervienen tanto las células óseas (2) como diversas células inmunitarias. Durante este proceso se sustituye de forma

crucial al hueso viejo y/o dañado mediante la actividad coordinada de los osteoclastos, que reabsorben el hueso, y los osteoblastos, que producen y depositan nueva matriz ósea (3-5). El proceso de remodelación ósea mantiene el esqueleto adulto durante toda la vida y se calcula que cada año se remodela un 10 % del esqueleto (6).

Se ha observado que las células inmunitarias y las células óseas se relacionan entre sí; se denomina a esta comunicación celular osteoinmunidad. Este campo interdisciplinario estudia cómo la interacción entre osteoclastos u osteoblastos con diversas células inmunitarias mantienen el equilibrio entre la resorción y la formación ósea, especialmente enfocada en la señalización molecular en entornos inflamatorios como la osteoporosis, el cáncer o la enfermedad periodontal. En relación con esto, se ha descrito que citocinas proinflamatorias como la IL-6, TNF-, IL-1 e IL-11 liberadas por los linfocitos T activados son capaces de inducir la formación de osteoclastos para promover la resorción ósea (1,7-11).

Los osteoclastos son células multinucleadas, grandes y móviles responsables de la resorción ósea. Se desarrollan a partir de progenitores mieloides o de osteomacs de la médula ósea pasando por varias etapas de diferenciación (12-16). Recientemente se han descrito procesos de fisión celular en osteoclastos que dan lugar a pequeñas células hijas denominadas osteomorfos. Estos osteomorfos conservan la capacidad de volverse a fusionar para formar osteoclastos funcionales, por lo que son considerados una población quiescente para la activación de osteoclastos. A diferencia de los osteoclastos, que están adheridos a la superficie ósea, los osteomorfos se encuentran en la médula ósea y en la circulación sanguínea, lo que sugiere un papel dinámico en la regulación del recambio óseo y en la plasticidad del sistema esquelético (17).

Los macrófagos son un grupo de células inmunes de naturaleza fagocítica, diferenciados a partir de monocitos, que se infiltran prácticamente en todos los tejidos (18). Desempeñan un papel fundamental manteniendo la homeostasis tisular, y son

fundamentales en la renovación de la matriz extracelular, la reparación de tejidos y la angiogénesis (18-20). Cabe destacar que los macrófagos tienen la cualidad de ser tremendamente heterogéneos, ya que son capaces de adaptar su fenotipo y funciones a los ambientes donde actúan, generando grupos poblacionales con propiedades particulares (18), proceso conocido como polarización. En una visión muy simplista, los macrófagos se dividen en dos extremos de polarización fenotípica según qué funciones realizan y los estímulos a los que responden. Estos dos extremos son los que definen el paradigma M1/M2, donde los macrófagos M1 tienen una función proinflamatoria y antitumoral, expresando marcadores como INOS o TNF- α , y los macrófagos M2 que tienen una función antiinflamatoria y protumoral y se caracterizan por la expresión de marcadores como CD206 e IL-10.

Con el envejecimiento, y en determinadas patologías, las tasas de resorción y formación ósea se desequilibran, lo que conduce a la pérdida de hueso y a un mayor riesgo de fracturas (21). Concretamente, la osteomielitis causada por la infección por *Staphylococcus aureus* se asocia a una extensa destrucción ósea, que se cree que está mediada principalmente por osteoclastos que reabsorben el hueso (22,23). Los estudios realizados en modelos de cultivo sugieren que los factores producidos por *S. aureus* y/o los niveles elevados de citocinas inflamatorias pueden inducir la formación de osteoclastos (24-27).

MINDIN (también conocida como espondina-2) es una proteína de la matriz extracelular altamente conservada que contiene dominios F-espondina 1 y 2 (FS1 y FS2) en el extremo N-terminal y repeticiones de trombospondina de tipo 1 (TSR) en el extremo C-terminal (28,29). Estudios previos muestran que MINDIN puede iniciar respuestas inmunes innatas mediante el reclutamiento de macrófagos y neutrófilos a lugares de inflamación, y también sirve de puente entre la inmunidad innata y la adaptativa (30). También se ha descrito que en un modelo de ratón con deficiencia de expresión de MINDIN tenían

una capacidad reducida para eliminar el virus de la gripe y las infecciones bacterianas. Esto se debe a que MINDIN es una molécula de reconocimiento de patrones y puede unirse directamente al LPS bacteriano y a las partículas del virus de la gripe para iniciar respuestas inmunitarias innatas, además de funcionar como opsonina para la fagocitosis de bacterias por los macrófagos (30-32). Sin embargo, no se conocen bien los mecanismos por los que MINDIN favorece el proceso de fagocitosis.

Este estudio tuvo como objetivo esclarecer el papel de MINDIN como inmunomodulador en el hueso y sus acciones sobre el remodelado óseo en un contexto inflamatorio.

MATERIALES Y MÉTODOS

Modelo experimental ex vivo

Se desarrolló un modelo de cultivo *ex vivo* de ulna de ratones C57BL/6J hembra de 2 a 4 meses de edad durante 5 días. Se extrajeron las ulnas de los ratones eliminando la piel, el músculo y se cortaron las epífisis. Se cultivaron en una placa de 6 pocillos en medio α -MEM (Thermo Fisher Scientific®, Rockford, IL) con suero fetal de ternera al 2,5 % y suero fetal bovino al 2,5 %, 1 % de penicilina (100 unidades/ml) y estreptomicina (100 μ g/ml) en un incubador humidificado a 37 °C con 5 % de CO₂. Transcurridas las primeras 24 horas de cultivo, los explantes fueron tratados con o sin lipopolisacárido bacteriano (LPS, 100 ng/ml) (Sigma-Aldrich®, Darmstadt, Alemania) para inducir un entorno inflamatorio. A las 24 horas, se estimularon o no con MINDIN (5 ng/ml, que es la concentración más baja observada en suero de pacientes) (R&D Systems®, Minneapolis, MN) durante los últimos 3 días de cultivo. Los huesos se almacenaron en TRIzol™ para la extracción de ARN y su posterior análisis mediante PCR en tiempo real. Las muestras que se usaron fueron las que se muestran en la tabla I.

PCR cuantitativa en tiempo real (RT-qPCR)

El ARN total se aisló mediante un procedimiento estándar (TRIzol™, Life Technologies), y 2 µg de este ARN se retrotranscribieron con el kit de retrotranscripción de alta capacidad de cDNA (High capacity RNA to cDNA Kit, Thermofisher, 4387406) siguiendo las instrucciones del fabricante.

El estudio de expresión por PCR en tiempo real se realizó sobre la base de la emisión de fluorescencia del fluorocromo SYBR Green premix ex Taq (Takara, Otsu, Japón), utilizando el sistema ABI PRISM 7500 (Applied Biosystems). El número de copias de ARNm se calculó para cada muestra utilizando el valor del ciclo umbral (Ct). Los genes del 18S o β-actina, que se utilizaron como control interno o *housekeeping*, se amplificaron en paralelo, permitiendo el cálculo del número de pasos de amplificación requeridos para alcanzar una intensidad arbitraria Ct. La expresión relativa de los genes se definió como la expresión relativa en comparación con el control calculada como $2^{-\Delta\Delta Ct}$, donde $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct \text{ tratamiento} - \Delta Ct \text{ control}$ y $\Delta Ct = Ct \text{ gen problema} - Ct \text{ gen control interno (18S)}$. La expresión génica de muestras de animales se representó como puntos de datos individuales calculando $2^{-\Delta Ct}$, como se ha descrito previamente (33). La especificidad de cada amplicón se confirmó como la presencia de un único pico en la curva de disociación para cada reacción de qPCR. Se utilizó el programa que se expone en la tabla II.

Se analizó la expresión génica del marcador de macrófagos F4/80; marcadores de polarización a fenotipo M1 (iNOS) o M2 (CD206) y marcadores de remodelado óseo

Análisis estadístico

Los datos se encuentran expresados como medias $\pm$ error estándar. Se analizó la distribución de los datos y dado que no se ajustaban a una distribución normal, las diferencias entre los grupos experimentales se evaluaron mediante análisis de la varianza no paramétrico (Kruskal-Wallis). La determinación de las posibles diferencias entre los grupos experimentales se realizó mediante las

pruebas de Dunn o de Mann Whitney. El análisis de correlación se realizó mediante la prueba de correlación no paramétrica de Spearman, obteniendo un coeficiente de correlación (r) y un p -valor asociado. Para realizar los análisis estadísticos se utilizó el programa GraphPad Prism (versión 10.1.1). Se consideró $p < 0,05$ como valor estadísticamente significativo.

RESULTADOS

MINDIN induce un perfil proinflamatorio y de resorción ósea

En el modelo experimental *ex vivo* de inflamación en ulnas por tratamiento con LPS, se estudió el papel de MINDIN como inductor en el reclutamiento y polarización de macrófagos.

La estimulación con MINDIN o con LPS de forma independiente indujo la sobreexpresión del marcador de macrófagos F4/80 (Fig. 1A) y del marcador de polarización M1 iNOS (Fig. 1B), sin observarse cambios en el marcador de macrófagos M2 CD206 (Fig. 1C). Sin embargo, la estimulación secuencial con LPS seguida de MINDIN provocó una disminución en la expresión de los marcadores de macrófagos F4/80 (Fig. 1A), de fenotipo M1 iNOS (Fig. 1B).

Además, en estas condiciones se estudiaron marcadores de remodelado óseo (OPG y RANKL), así como marcadores de osteoclastos activos y diferenciados (TRAP) como de osteomorfos (AXL). Los resultados observados mostraron, de la misma manera que se mostró en el estudio de polarización, que la estimulación independiente con LPS incrementó la expresión de RANKL en comparación con el control no tratado, mientras que la estimulación basal únicamente con MINDIN no indujo cambios estadísticamente significativos en la expresión de RANKL, TRAP ni OPG (Fig. 2A-C). Bajo estímulo inflamatorio (LPS), la estimulación con MINDIN produce una disminución significativa de RANKL respecto al tratamiento exclusivo con LPS, y no de TRAP. Por otro lado, la estimulación únicamente con MINDIN disminuyó la expresión del marcador de osteomorfos AXL. En

cambio, el tratamiento secuencial de LPS y MINDIN no produjo una disminución de la expresión de AXL (Fig. 2D).

A continuación, con el fin de dilucidar los mecanismos moleculares implicados en la inflamación ósea, se realizó un análisis de correlación entre la expresión de ARNm de marcadores inflamatorios y de remodelado óseo. Este análisis buscó poner de manifiesto cómo la inflamación sostenida podría interferir con los procesos fisiológicos de formación y resorción ósea, y el papel de MINDIN como mediador entre la respuesta inmune innata. Nuestros resultados mostraron una correlación positiva entre la expresión de RANKL y TRAP (Fig. 3A), entre F4/80 y TRAP, F4/80 y RANKL, F4/80 e iNOS y F4/80 y AXL (Fig. 3B-E), entre OPG y AXL (Fig. 3F). Estos resultados sugieren una posible interacción estrecha entre el sistema inmunitario (macrófagos) y el sistema óseo (osteoclastos).

DISCUSIÓN

El envejecimiento y ciertas enfermedades óseas como la osteomielitis modifican el remodelado e incrementan la pérdida de masa ósea. Esto se debe, en parte, al reclutamiento de precursores osteoclásticos que fomentan el proceso de resorción ósea. En este trabajo identificamos a MINDIN, proteína de matriz extracelular, como un factor inmunomodulador que puede inducir el reclutamiento y la polarización de los macrófagos en el hueso, pudiendo acelerar la resorción ósea.

En los últimos años, se ha explorado el papel del sistema inmunológico como regulador clave en la preservación del equilibrio óseo y en la reparación frente a una fractura o daño tisular. En este contexto, la capacidad de los macrófagos —células inmunes esenciales— para polarizarse hacia fenotipos con funciones proinflamatorias o antiinflamatorias influye de manera decisiva en la interacción entre células y en la activación de mecanismos fundamentales para la regeneración ósea, como la formación de

nuevos vasos sanguíneos (angiogénesis) y la generación de tejido óseo (osteogénesis) (20-22,34). Los resultados obtenidos en este trabajo refuerzan la idea de que MINDIN no solo actúa como una molécula estructural de la matriz extracelular, sino que también desempeña un papel activo como modulador inmunológico y osteoinmunológico. Su capacidad para inducir la polarización hacia un fenotipo M1, así como para modular la expresión de genes clave en la resorción ósea, sugiere que MINDIN podría estar implicado en la amplificación de respuestas inflamatorias locales y en la activación de vías osteolíticas en contextos patológicos.

Cabe destacar que la relevancia traslacional de MINDIN radica en su papel bivalente como proteína de matriz extracelular y molécula de señalización inmunomoduladora. Nuestros hallazgos demuestran que MINDIN no solo actúa como un componente estructural, sino que promueve activamente un fenotipo macrofágico proinflamatorio (M1), caracterizado por la expresión de iNOS. Nuestros resultados revelan que MINDIN podría tener un papel modulador clave sobre la resorción ósea condicionado por el entorno previo. Por un lado, la adición secuencial de MINDIN es capaz de atenuar significativamente los niveles de RANKL incrementados por el LPS. Por otro lado, la expresión del marcador de osteoclastos activos TRAP es significativamente inferior en el grupo de estimulación secuencial (LPS + MINDIN) al compararlo con la estimulación únicamente con MINDIN. Por consiguiente, la modulación farmacológica de MINDIN, ya sea mediante el diseño de moléculas pequeñas o el uso de anticuerpos monoclonales altamente específicos, surge como una posible diana terapéutica disruptiva. El desarrollo de fármacos contra esta proteína podría representar una estrategia novedosa para frenar la resorción ósea en enfermedades como la artritis reumatoide o la osteomielitis, donde la inflamación desmedida acelera la pérdida de masa ósea.

Estudios previos han descrito la participación de MINDIN en la activación de macrófagos y en la promoción de respuestas inmunes

innatas (32,35,36), particularmente a través de la vía de señalización de integrinas y TLR (32,35-37). Sin embargo, su papel en el tejido óseo y en la interacción con células del linaje osteoclástico ha sido escasamente explorado. Nuestros resultados aportan evidencia experimental que vincula directamente a MINDIN con la regulación de la polarización de macrófagos y con la activación de mecanismos de remodelado óseo, lo que abre nuevas líneas de investigación sobre su función en enfermedades inflamatorias óseas como la artritis reumatoide, la periodontitis o las metástasis óseas.

Desde el punto de vista molecular, la modulación observada en la expresión de Axl sugiere que MINDIN podría influir en la plasticidad de los osteoclastos a través de la generación de osteomorfos, un proceso recientemente descrito como parte del ciclo de reciclado de los osteoclastos (19). La capacidad de MINDIN para inducir o suprimir la expresión de AXL en función del contexto inflamatorio (estimulación directa frente a la secuencial) podría representar un mecanismo adaptativo para regular la resorción ósea en condiciones de inflamación crónica. En condiciones basales sin inflamación, MINDIN disminuye significativamente la expresión de AXL respecto a los cultivos no tratados. No obstante, este efecto desaparece bajo condiciones inflamatorias (LPS), donde la presencia de MINDIN no altera significativamente los niveles de AXL. Todo ello puede indicar que, en condiciones fisiológicas normales, MINDIN funciona como un freno biológico que disminuye la expresión de AXL, reduciendo la reserva de osteomorfos en el tejido sano. Sin embargo, en un entorno de inflamación grave por LPS, la potencia del estímulo inflamatorio podría anular o saturar por completo esta capacidad reguladora de MINDIN sobre dicho marcador.

Cabe destacar que, los resultados del análisis de correlación revelan interacciones relevantes entre mediadores inflamatorios e indicadores de remodelado óseo, lo que aporta información clave sobre los mecanismos moleculares que subyacen a la osteomielitis. Los estudios de correlación reflejan una actividad coordinada de

reclutamiento de macrófagos e infiltración inmune, así como la activación de los osteoclastos.

Un hallazgo singular de este estudio es que MINDIN, tras la administración con LPS, reduce la expresión del factor activador de osteoclastos RANKL. Este fenómeno coincide con un aumento significativo del marcador de osteomorfos AXL en el grupo secuencial en comparación con la estimulación con MINDIN en condiciones basales (sin presencia de LPS). Dado que los osteomorfos se describen como una población quiescente que resulta de la fisión de osteoclastos, nuestros resultados sugieren que MINDIN participa en la modulación de esta reserva celular exclusivamente en condiciones fisiológicas basales, disminuyendo la expresión de AXL en ausencia de inflamación. Por el contrario, en un contexto inflamatorio inducido por LPS, este efecto regulador desaparece por completo, lo que indica que la inflamación podría anular la capacidad de MINDIN para influir en el estado de latencia o reciclaje de estas células.

CONCLUSIONES

En conjunto, estos resultados sitúan a MINDIN como un potencial mediador clave en la osteoinmunología, cuyo papel funcional está condicionado por el contexto biológico inflamatorio del tejido. Su estudio podría tener implicaciones relevantes no solo para la comprensión de la fisiopatología ósea, sino también para el desarrollo de estrategias terapéuticas dirigidas a modular la actividad de macrófagos y osteoclastos en enfermedades inflamatorias y osteolíticas. Sin embargo, serán necesarios estudios de ganancia o pérdida de función para confirmar los mecanismos moleculares subyacentes.

BIBLIOGRAFÍA

1. Yao Y, Cai X, Ren F, Ye Y, Wang F, Zheng C, et al. The Macrophage-Osteoclast Axis in Osteoimmunity and Osteo-Related Diseases. *Front Immunol* 2021;31:12:664871. DOI: 10.3389/fimmu.2021.664871
2. Weitzmann MN, Ofotokun I. Physiological and pathophysiological bone turnover-role of the immune system. *Nat Rev Endocrinol* 2016;12(9):518-32. DOI: 10.1038/nrendo.2016.91
3. Eriksen EF. Cellular mechanisms of bone remodeling. *Rev Endocr Metab Disord*. 2010 Dec;11(4):219-27. DOI: 10.1007/s11154-010-9153-1
4. Matsuo K, Irie N. Osteoclast-osteoblast communication. *Arch Biochem Biophys* 2008;473(2):201-9. DOI: 10.1016/j.abb.2008.03.027
5. Sims NA, Gooi JH. Bone remodeling: Multiple cellular interactions required for coupling of bone formation and resorption. *Semin Cell Dev Biol* 2008;19(5): 444-51. DOI: 10.1016/j.semcdb.2008.07.016
6. Sims NA, Martin TJ. Osteoclasts Provide Coupling Signals to Osteoblast Lineage Cells through Multiple Mechanisms. *Ann Rev Physiol* 2020;82:507-29. DOI: 10.1146/annurev-physiol-021119-034425
7. Nakashima T, Hayashi M, Takayanagi H. New insights into osteoclastogenic signaling mechanisms. *Trends Endocrinol Metab* 2012;23(11):582-90. DOI: 10.1016/j.tem.2012.05.005
8. Takayanagi H. Osteoimmunology: Shared mechanisms and crosstalk between the immune and bone systems. *Nat Rev Immunol* 2007;7(4):292-304. DOI: 10.1038/nri2062
9. Wu L, Su Y, Lin F, Zhu S, Wang J, Hou Y, et al. MicroRNA-21 promotes orthodontic tooth movement by modulating the RANKL/OPG balance in T cells. *Oral Dis* 2020;26(2):370-80. DOI: 10.1111/odi.13239
10. Anderson DM, Marakovsky E, Billingsley WL, Dougall WC, Tometsko ME, Roux ER, et al. A homologue of the TNF receptor and its ligand enhance T-cell growth and dendritic-cell function. *Nature* 1997;390(6656):175-9. DOI: 10.1038/36593
11. Arron JR, Choi Y. Bone versus immune system. *Nature* 2000;408(6812):535-6. DOI: 10.1038/35046196

12. Aguila HL, Rowe DW. Skeletal development, bone remodeling, and hematopoiesis. *Immunological Reviews* 2005;208:7-18. DOI: 10.1111/j.0105-2896.2005.00333.x
13. Sugiyama T, Nagasawa T. Bone marrow niches for hematopoietic stem cells and immune cells. *Inflamm Allergy Drug Targets* 2021;11(3):201-6. DOI: 10.2174/187152812800392689
14. Parfitt AM, Riggs BL, Melton LJ. High bone turnover is intrinsically harmful: Two paths to a similar conclusion. *J Bone Miner Res* 2002;17:1558-9. DOI: 10.1359/jbmr.2002.17.8.1558
15. Takayanagi H. RANKL as the master regulator of osteoclast differentiation. *J Bone Miner Metab* 2021;39(1):13-8. DOI: 10.1007/s00774-020-01191-1
16. Väänänen HK, Zhao H. Osteoclast Function Biology and Mechanisms. *Princ Bone Biol* 2008;1-2. DOI: 10.1016/B978-0-12-373884-4.00030-6
17. Mohamad SF, Xu L, Ghosh J, Childress PJ, Abeysekera I, Himes ER, et al. Osteomacs interact with megakaryocytes and osteoblasts to regulate murine hematopoietic stem cell function. *Blood Adv* 2017;1(26):2520-8. DOI: 10.1182/bloodadvances.2017011304
18. Batoon L, Millard SM, Raggatt LJ, Wu AC, Kaur S, Sun LWH, et al. Osteal macrophages support osteoclast-mediated resorption and contribute to bone pathology in a postmenopausal osteoporosis mouse model. *J Bone Miner Res* 2021;36(11):2214-28. DOI: 10.1002/jbmr.4413
19. McDonald MM, Khoo WH, Ng PY, Xiao Y, Zamerli J, Thatcher P, et al. Osteoclasts recycle via osteomorphs during RANKL-stimulated bone resorption. *Cell* 2021;184(5):1330-47.e13. DOI: 10.1016/j.cell.2021.02.002
20. Aras S, Zaidi MR. TAMEless traitors: macrophages in cancer progression and metastasis. *Br J Cancer* 2017;117(11):1583-91. DOI: 10.1038/bjc.2017.356
21. Han C, Deng Y, Xu W, Liu Z, Wang T, Wang S, et al. The Roles of Tumor-Associated Macrophages in Prostate Cancer. *J Oncol* 2022;7:2022:8580043. DOI: 10.1155/2022/8580043

22. Chen D, Zhang X, Li Z, Zhu B. Metabolic regulatory crosstalk between tumor microenvironment and tumor-associated macrophages. *Theranostics* 2021;11(3):1016-30. DOI: 10.7150/thno.51777
23. Eriksen EF. Normal and pathological remodeling of human trabecular bone: Three dimensional reconstruction of the remodeling sequence in normals and in metabolic bone disease. *Endocr Rev* 1986;7(4):379-408. DOI: 10.1210/edrv-7-4-379
24. Muthukrishnan G, Masters EA, Daiss JL, Schwarz EM. Mechanisms of Immune Evasion and Bone Tissue Colonization That Make *Staphylococcus aureus* the Primary Pathogen in Osteomyelitis. *Current Osteoporosis Reports* 2019;17(6):395-404. DOI: 10.1007/s11914-019-00548-4
25. Wright JA, Nair SP. Interaction of staphylococci with bone. *Int J Med Microbiol* 2010;300(2-3):193-204. DOI: 10.1016/j.ijmm.2009.10.003
26. O'Brien W, Fissel BM, Maeda Y, Yan J, Ge X, Gravallese EM, et al. RANK-Independent Osteoclast Formation and Bone Erosion in Inflammatory Arthritis. *Arthritis Rheumatol* 2016;68(12):2889-900. DOI: 10.1002/art.39837
27. Kobayashi H, Fujita R, Hiratsuka S, Shimizu T, Sato D, Hamano H, et al. Differential effects of anti-RANKL monoclonal antibody and zoledronic acid on necrotic bone in a murine model of *Staphylococcus aureus*-induced osteomyelitis. *J Orthop Res* 2022;40(3):614-23. DOI: 10.1002/jor.25102
28. Ren LR, Wang ZH, Wang H, He XQ, Song MG, Xu YQ. *Staphylococcus aureus* induces osteoclastogenesis via the NF- κ B signaling pathway. *Med Sci Monit* 2017;24:23:4579-90. DOI: 10.12659/msm.903371
29. Lau YS, Wang W, Sabokbar A, Simpson H, Nair S, Henderson B, et al. *Staphylococcus aureus* capsular material promotes osteoclast formation. *Injury* 2006;37(Suppl 2):S41-8. DOI: 10.1016/j.injury.2006.04.008
30. Higashijima S, Nose A, Eguchi G, Hotta Y, Okamoto H. Mindin/F-spondin family: Novel ECM proteins expressed in the zebrafish embryonic axis. *Dev Biol* 1997;192(2):211-27. DOI: 10.1006/dbio.1997.8760

31. Adams JC, Tucker RP. The thrombospondin type 1 repeat (TSR) superfamily: Diverse proteins with related roles in neuronal development. *Developmental Dynamics* 2000;218(2):280-99. DOI:10.1002/(SICI)1097-0177(200006)218:2 < 280::AID-DVDY4 > 3.0.CO;2-0
32. Jia W, Li H, He YW. The extracellular matrix protein mindin serves as an integrin ligand and is critical for inflammatory cell recruitment. *Blood* 2005;106 (12):3854-9. DOI: 10.1182/blood-2005-04-1658
33. Schmittgen TD, Livak KJ. Analyzing real-time PCR data by the comparative C(T) method. *Nat Protoc* 2008;3(6):1101-8. DOI: 10.1038/nprot.2008.73
34. Jayasingam SD, Citartan M, Tang TH, Zin AAZ, Ang KC, Ch`ng ES. Evaluating the Polarization of Tumor-Associated Macrophages into M1 and M2 Phenotypes in Human Cancer Tissue: Technicalities and Challenges in Routine Clinical Practice. *Front Oncol* 2020;9. DOI: 10.3389/fonc.2019.01512
35. Jia W, Li H, He Y-W. Pattern Recognition Molecule Mindin Promotes Intranasal Clearance of Influenza Viruses. *J Immunol* 2008;180(9):6255-61. DOI: 10.4049/jimmunol.180.9.6255
36. He YW, Li H, Zhang J, Lin C, Lin E, Zhang N, et al. The extracellular matrix protein mindin is a pattern-recognition molecule for microbial pathogens. *Nat Immunol* 2004;5.
37. Li H, Oliver T, Jia W, He YW. Efficient dendritic cell priming of T lymphocytes depends on the extracellular matrix protein mindin. *EMBO J* 2006;25(17):4097-107. DOI: 10.1038/sj.emboj.7601289

Tabla I

Tipo de hueso	Número de muestras
Control	8
Estimulados con MINDIN	5

Estimulados con LPS	5
Estimulados con LPS + MINDIN	6

Tabla II

Ciclos	Temperatura	Tiempo
1	95 °C	10 minutos
45	95 °C	15 segundos
	60 °C	15 segundos
	72 °C	15 segundos
1	95 °C	0 segundos
	65 °C	15 segundos
	95 °C	0 segundos
1	40 °C	30 segundos

(OPG, RANKL, TRAP), así como de osteomorfos (Axl) (Tabla III).

Tabla III

Gen	Primer <i>Forward</i> (5' --- > 3')	<i>Reverse</i> (5' --- > 3')
<i>RNA18S</i>	ATGCTCTTAGCTGAGGTGCCC G	ATTCCTAGCTGCGGTATCCAG G
<i>OPG</i>	CAGAGCGAAACACAGTTTG	CACACAGGGTGACATCTATTC
<i>INOS</i>	CCTGCTTTGTGCGAAGTGTC	CCCTTTGTGCTGGGAGTCAT
<i>CD206</i>	CCACAGCATTGAGGAGTTTG	ACAGCTCATCATTTGGCTCA
<i>RANK-L</i>	TGTACTTTTCGAGCGCAGATG	AGGCTTGTTTCATCCTCCTG
<i>TRAP</i>	CACGAGAGTCCTGCTTGTC	AGTTGGTGTGGGCATACTTC
<i>Axl</i>	GGAAAGAGGTGAACTGGTAGT C	CCATGACGTCTCGTAGTTTCTC

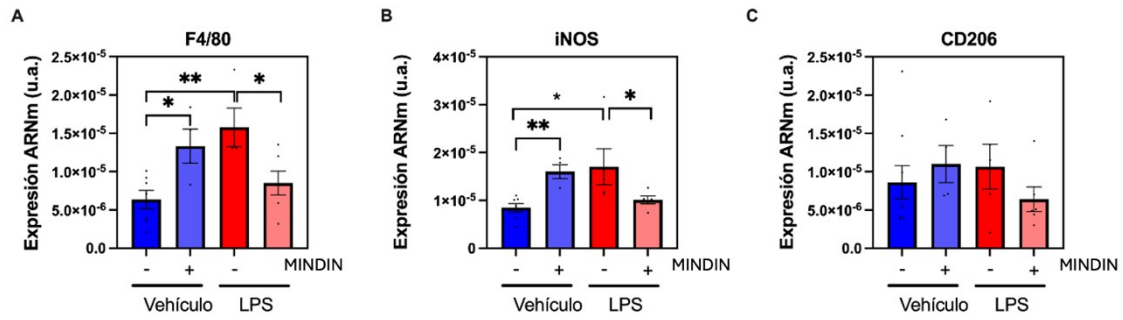


Figura 1. MINDIN induce inflamación en huesos *ex vivo* de ratón. Expresión de ARNm de (A) F4/80, (B) iNOS y (C) CD206 en ulnas de ratones evaluada mediante PCR en tiempo real. Tras 24 horas en cultivo las ulnas fueron estimuladas o no con LPS bacteriano y posteriormente con MINDIN o no durante los 3 últimos días. Los datos se representan como la media $\pm$ SEM ($n = 7-10$ por grupo). * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

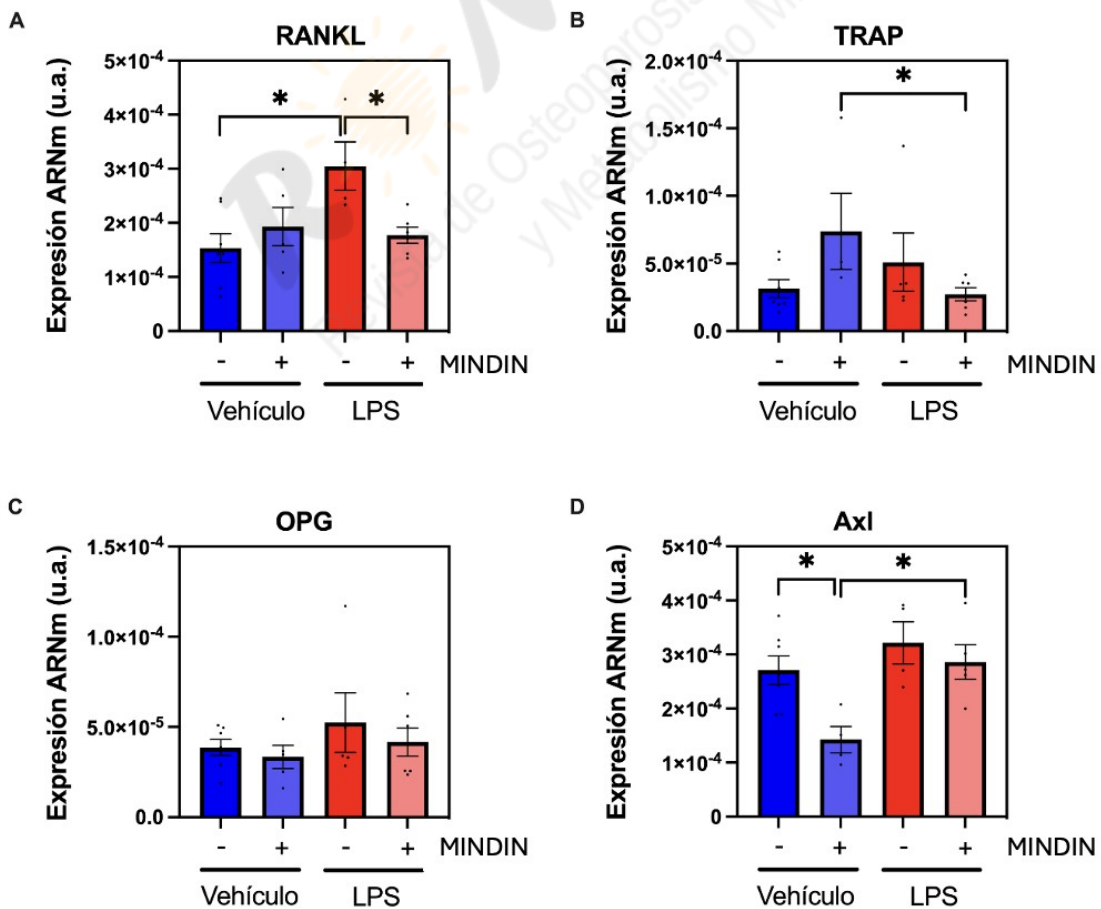


Figura 2. MINDIN induce remodelado óseo en huesos *ex vivo* de ratón. Expresión de ARNm de (A) RANKL, (B) TRAP, (C) OPG y (D) Axl en ulnas de ratones evaluada mediante PCR en tiempo real. Tras 24 horas en cultivo, las ulnas fueron estimuladas o no con LPS bacteriano y posteriormente con MINDIN o no durante los 3 últimos días. Los datos se representan como la media $\pm$ SEM ($n = 7-10$ por grupo). * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

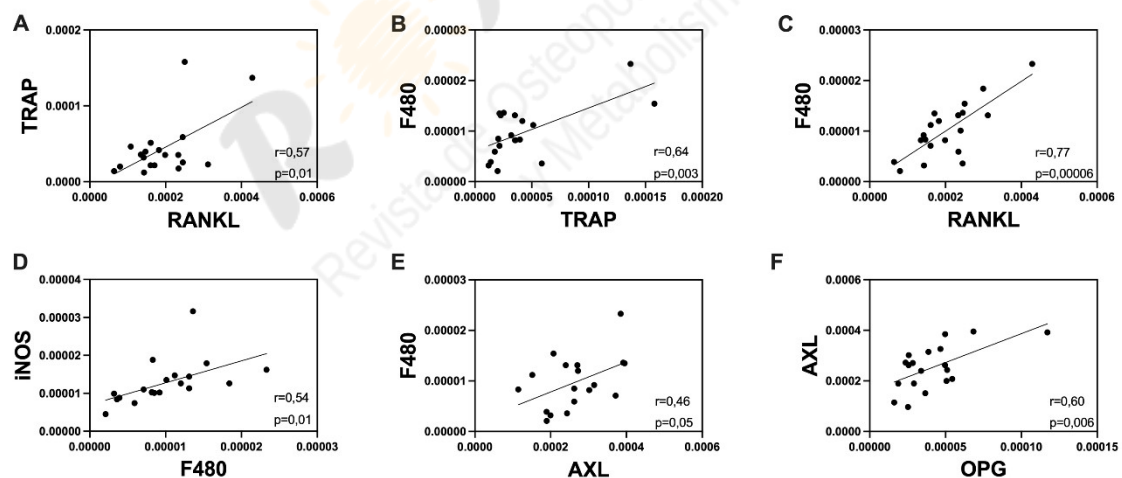


Figura 3. Gráficos que muestran correlaciones lineales entre la expresión de ARNm de TRAP con RANKL (A), F480 con TRAP (B), F480 con RANKL (C), iNOS con F480 (D), F480 con AXL (E) y AXL con OPG (F). El coeficiente de correlación (r) se muestra para cada gráfico y representa la fuerza y la dirección de una relación lineal entre las variables medidas correspondientes. Los valores cercanos a 1 o -1 indican una relación lineal fuerte, y los valores cercanos a 0 indican una relación lineal débil o nula.

