

COMPARACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE IL-1 β , IL-10 Y TGF- β 1 EN UN MODELO EXPERIMENTAL DE OSTEOARTRITIS (OA) TEMPRANA Y EN GRUPOS SOMETIDOS A EJERCICIO DE ALTO IMPACTO.

Mariel Rojas-Ortega, José M. Hernández- Hernández, Juan B. Kouri.

Centro de Investigación y de Estudios Avanzados (CINVESTAV-IPN), Ciudad de México, México. Email: qbpmarriel@gmail.com

El mantenimiento de la homeostasis en el cartílago articular es crucial para la integridad de su estructura y función. El balance de la conversión de matriz está regulado por la actividad catabólica y anabólica de los condrocitos [1]. En la Osteoartritis (OA), el equilibrio se altera, incrementándose el catabolismo de la matriz, lo cual conlleva a la degradación del cartílago. Se piensa que entre las moléculas que pueden provocar este cambio en la regulación, se encuentran las citocinas y los factores de crecimiento [2]. Numerosos estudios revelan que la IL-1 β es el principal mediador de la destrucción del cartílago articular. Esta citocina proinflamatoria, disminuye la producción de matriz extracelular y estimula la síntesis y activación de MMP [3]. La producción de estas metaloproteasas se asocia con la degradación de la matriz extracelular y por tanto con la pérdida de la relación matriz células lo que con lleva a la muerte celular por condroptosis[. Los condrocitos pueden producir también citocinas antiinflamatorias como IL-10 la cual tiene un papel de inhibición de la IL-1, y además de sintetizar factores de crecimiento como TGF- β el cual está asociado con la síntesis de proteoglicanos. Cambios en la expresión de estas moléculas puede estar vinculado con los cambios fenotípicos observados en la progresión de la OA en el modelo experimental [4]. El presente trabajo analiza la expresión de IL-1 β , IL-10, TGF- β 1 en un modelo de OA en rata [5] en periodos temprano de la inducción del proceso degenerativo del cartílago y se compara con el efecto inducido solamente por el ejercicio. Se trabajo con 2 grupos de ratas Wistar: 1 grupo de ratas ejercitadas durante 3, 6, 8 y 10 días y otro grupo de ratas sometido a menisectomía parcial y ejercitadas durante los mismos días; además se usaron ratas normales sin ejercitar como control. A partir de estos grupos se obtuvieron el cartílago los cuales se digirieron con tripsina 0.2% y colagenasa 0.2% y se obtuvieron los condrocitos a partir de los cuales se extrajo el RNA con el kit Micro to Midi de Invitrogen y se amplificó utilizando los oligos descritos en la tabla No.1 mediante el kit Titan One Tube por RT-PCR. Además se obtuvieron cóndilos femorales los cuales se fijaron con paraformaldehído al 4% para obtener criocortes los cuales se procesaron para inmunohistoquímica, utilizando anticuerpos policlonales primarios de conejo anti-IL-1 β , de cabra anti-IL-10 y de cabra anti TGF- β (Santa Cruz Biotechnology, CA, USA); los anticuerpos secundarios estaban acoplados a FITC (Jackson Immunoresearch, PA, USA). Las imágenes fueron analizadas por microscopia confocal utilizando un microsocopio Leica confocal TSC-SP5Mo y el programa LAS AF.

En los grupos normales con ejercicio la expresión de los mensajeros de las IL-10 y TGF- β 1 se encuentra en todos los días analizados, a diferencia del mRNA de IL-1 β el cual no pudo detectarse en los ensayos realizados. En los grupos OA encontramos que la expresión del mensajero de las 3 citocinas es constante durante los días del experimento. En cuanto a la expresión de la proteína en los grupos normales con ejercicio pudimos observar que IL-1 β aparece hasta el día 8 de ejercicio y solo se observa en la zona superficial. La IL-10 presenta expresión en

todos los días de ejercicio y en las 3 zonas del cartilago (superficial, media y profunda). El TGF- β 1 se expresa principalmente en las células de la zona superficial y muestra tendencia a incrementarse conforme se incrementan los días de ejercicio. En los grupos OA se observa que IL-1 β se expresa a partir del día 6 y que la expresión se incrementa con respecto al tiempo de ejercicio. La IL-10 mantiene niveles bajos de expresión durante los días del experimento. Además, el TGF- β 1 aparece a partir del cartilago normal y disminuye con respecto a los días de ejercicio.

Podemos concluir que la expresión de IL-1 β , IL-10 y TGF- β 1 en el cartilago articular está asociada a los cambios fenotípicos observados en el modelo experimental, lo que puede estar involucrado en el proceso degenerativo del cartilago OA durante la patogénesis de la enfermedad al perderse el balance anabólico/catabólico de la matriz y la muerte celular por condroptosis [4]. Además de que los condrocitos en el cartilago responden de manera diferencial a los estímulos recibidos (ejercicio y/o menisectomía).

Agradecimientos. Este trabajo recibió financiamiento del CINVSTAV y CONACYT. Los autores agradecen el apoyo brindado por el M. en C. Iván J. Galván Mendoza en la microscopia confocal.

Referencias.

- [1]Goldring M, Goldring S. J Cell Physiol (2007) 213:626-634.
- [2] Martel-Pelletier J. Osteoarthritis and Cartilage (2004) 12, S31
- [3] Baugé C, et al.Arthritis & Rheumatism (2008) 58:221–226.
- [4]Kouri JB, Lavalle C. Histology and Histopathology (2006) 21:793-802.
- [5]Kourí-Flores JB, Abbud-Lozoya KA. Pathology Research and Practice (2000) 196:729-745.

Tabla No.1 Oligonucleotidos utilizados en el RT-PCR

Molécula	Forward	Reverse
IL-1 β	5'TACAAGGAGAGACAAGCAACGACA3'	3'GATCCACACTCTCCAGCTGCA5'
IL-10	5'GTTGCCAAGCCTTGTCAGAAA3'	3'TTTCTGGGCCATGGTTCTCT5'
TGF- β 1	5'TCCCAAACGTCGAGGTGAC 3'	3'CAGGTGTTGAGCCCTTCCA5'

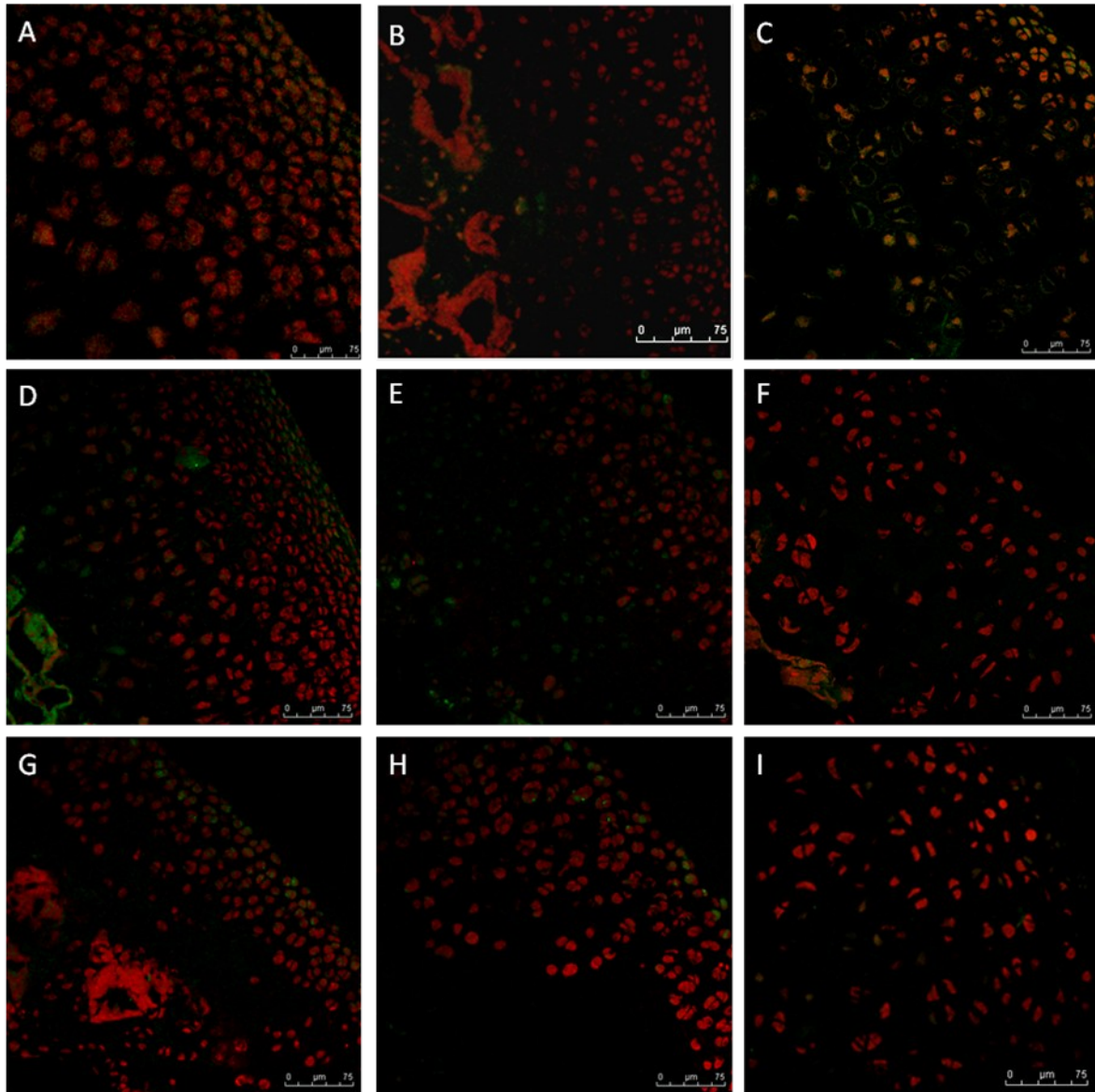


Figura 3.- Expresión de IL-1 β , IL-10 y TGF- β 1 en el modelo de OA. A, B y C Cortes de cóndilos femorales de ratas OA ejercitadas durante 6,8 y 10 días respectivamente y analizadas para IL-1; D,E y F cortes de cóndilos femorales de ratas OA ejercitadas durante 6,8 y 10 días respectivamente y analizadas para IL-10; G, H e I cortes de cóndilos femorales de ratas OA ejercitadas durante 6, 8 y 10 días respectivamente y analizadas para TGF-1. Todas las imágenes fueron analizadas con el objetivo de 40x por microscopia confocal.