

Expresión de TLRs en OA Experimental de Rata.

Elena Cristina González Castillo, Vianney F. Ortíz y Juan B. Kouri

Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (CINVESTAV-IPN). C. P. 07360. México D. F. E-mail: biol.elena.glez@gmail.com

La osteoartritis (OA) es la enfermedad articular más común de todos los tipos de artritis (artritis reumatoide, gota, etc.) y por tanto la que mayor número de personas con discapacidad causa [1]. Es considerada una enfermedad crónica degenerativa multifactorial debido a que puede ser el resultado de la combinación de factores como edad, predisposición genética, actividades de alto impacto (traumatismos, desalineación articular), obesidad, entre otros. El efecto constante de estos factores, desencadena una serie de eventos moleculares que conllevan al desequilibrio fisiológico (aumento en el catabolismo y disminución del anabolismo) y que resultan en inflamación y degradación del cartílago. En este proceso, todos los elementos de la articulación (sinovial, hueso y cartílago) se encuentran involucrados en los mecanismos fisiopatológicos que determinan la degeneración progresiva de la articulación [2].

Se ha observado que la inflamación juega un papel importante en el catabolismo del cartílago dado que estímulos como estrés mecánico y citocinas inflamatorias (presentes en la articulación) favorecen la síntesis de enzimas degradativas, citocinas y óxido nítrico (NO) por los condrocitos [3, 4], lo que promueve la degradación de la matriz extracelular (MEC) y la muerte celular, principalmente por condroptosis (muerte celular programada del condrocito) [5, 6]. Se ha descrito que la síntesis de dichas moléculas podría estar mediada vía la estimulación de receptores tipo Toll (TLRs) [7,8].

Los TLRs juegan un papel muy importante en la respuesta inmune innata inicial, induciendo la síntesis de moléculas como las citocinas que permiten la activación de la inmunidad adquirida. En el cartílago articular normal y OA de humano, se ha demostrado que los condrocitos expresan TLRs como el TLR2 y el TLR4 y que estos pueden ser estimulados por ligandos como fragmentos de fibronectina [7] y microcristales de pirofosfato de calcio dihidratado (CPPD), entre otros. La activación de estos TLRs, induce la síntesis de diversas moléculas inflamatorias como NO, citocinas y metaloproteasas (MMPs) [8].

Debido a que la expresión de los TLRs en humano parece ser importante durante la patogénesis de la OA, es importante determinar su expresión en un modelo experimental como lo es el de rata. Esto nos permitirá determinar como es que se va dando la expresión de estos receptores en el inicio de la enfermedad para posteriormente evaluar su relación específica con la expresión de las citocinas y metaloproteasas que se expresan en el desarrollo de la enfermedad y que participan en el catabolismo en el cartílago. Es por ello que el objetivo de este trabajo es determinar la expresión de los TLRs -2 y -4 en cartílago de rata normal y con OA experimental a los 3, 6, 8, 10 y 20 días post-inducción.

La inducción de OA se llevo a cabo por menisectomía parcial y ejercicio de 15 min. al día. Una vez obtenidos los grupos, las ratas fueron sacrificadas en cámara de CO₂ y los cóndilos femorales fijados en paraformaldehído al 4% y procesados para inmunofluorescencias indirectas, utilizando el anticuerpo secundario anti-goat acoplado a FITC (Jackson Immunoresearch. PA, USA). Las inmunofluorescencias, fueron observadas con el objetivo 40X de inmersión de un microscopio confocal Leica (TCS-SP5-DMI6000B con objetivos Plan NeoFluar). Los láseres utilizados, fueron Argón para el verde (FITC) y el Diodo 405nm para el azul (DAPI).

La expresión de los TLR-2 (Fig. 1) y -4 no muestra diferencias aparentes en la expresión entre los grupos, lo que denota que estas células poseen características comunes a las del sistema inmune innato como lo son los

macrófagos y que al igual que en el humano, los condrocitos de rata podrían responder a los estímulos que se generen a través de los TLRs. Esto, hace que la rata sea un buen modelo para determinar la relación que tiene la expresión de estos receptores con la síntesis de citocinas y metaloproteasas, *in vivo*.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco el apoyo en la realización de este trabajo al M. en C. Iván J Galván Mendoza, M. en C. Raymundo Cruz, M. en C. Mariel Rojas Ortega y a la Biol. Exp. Maylin Almonte Becerril.

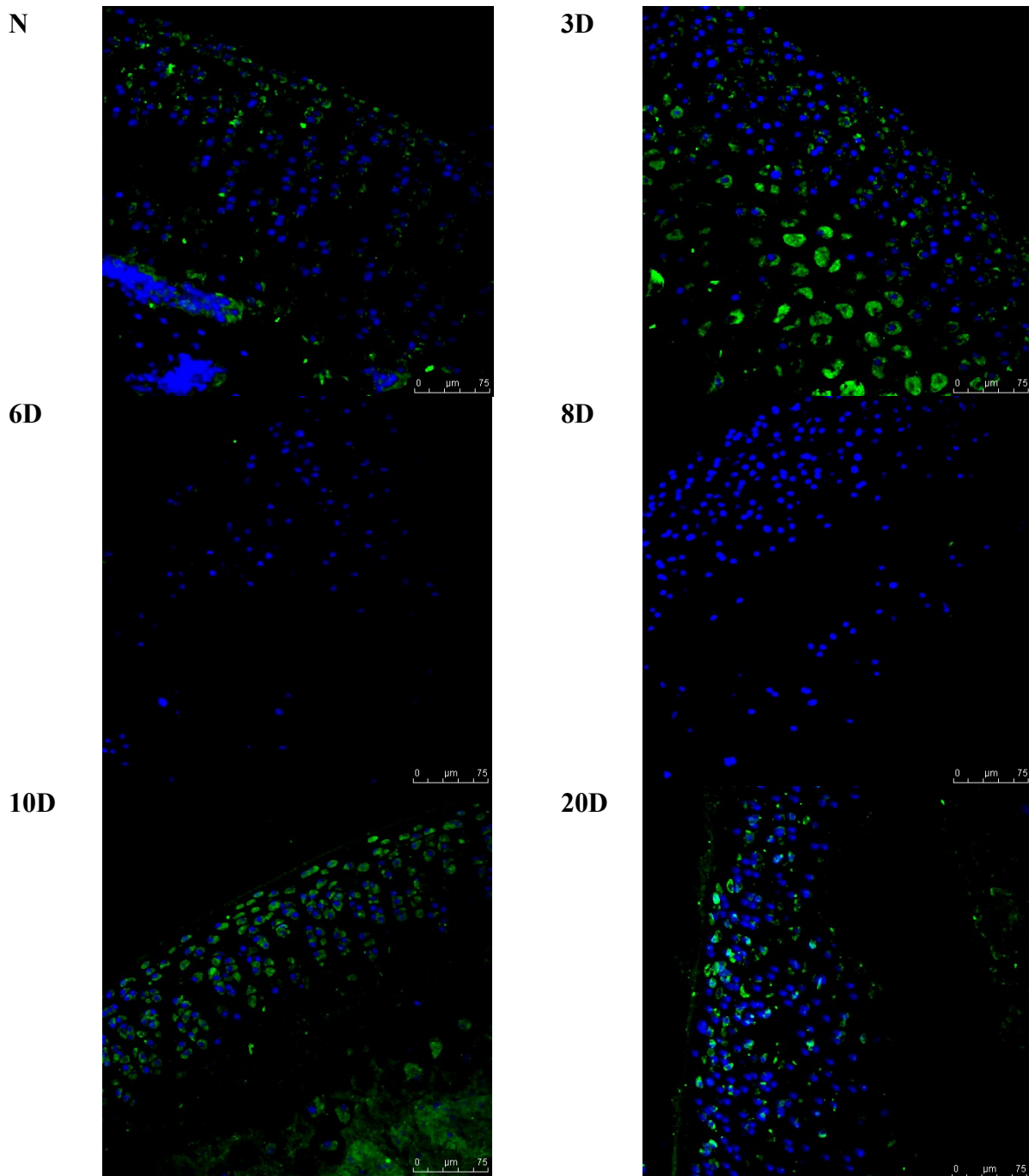


Fig. 1. Expresión de TLR2. Inmunofluorescencias indirectas. En verde se observa a TLR2 y en azul, los núcleos teñidos con DAPI y se observa q la expresión de TLR2 se mantiene desde el cartílago normal.

REFERENCIAS

- [1] Heike A Wieland, *Nature Reviews Drug Discovery* 4 (2005) 331–344
- [2] Svetlana Krasnokutsky, *Bulletin of the NYU Hospital for Joint Diseases* 65 (2007) 222-8
- [3] Tetlow, *Arthritis & Rheumatism*. 44 (2001) 585-94
- [4] Xian, *Arthritis & Rheumatis* 50 (2004) 1511-21
- [5] H Roach, *Apoptosis* 9 (2004) 265-77
- [6] JB Kouri, *Histology Histopathology* 21 (2006) 793-802
- [7] Su, *Osteoarthritis and Cartilage* 13 (2005) 879-86
- [8] Liu-Bryan, *Journal of Immunol* 74 (2005) 5016-23