

Interacción entre carga mecánica e inmunidad innata en condrocitos

María Guillán-Fresco ^{1*}, Miriam López-Fagúndez ^{1*}, Eloi Franco-Trepat ¹, Andrés Pazos-Pérez ¹, José Ramón Caeiro-Rey ² y Rodolfo Gómez ^{1#}

1. Grupo de Patología Musculoesquelética (IDIS). Instituto IDIS, Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, 15706, España.
2. Servicio de Traumatología y Cirugía Ortopédica. Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela. Santiago de Compostela, 15706, España.

*Coautores
Autor en correspondencia



INTRODUCCIÓN

La **artrosis (OA)** es una patología que se caracteriza por la progresiva degradación del cartílago, lo que se traduce a nivel radiológico en un estrechamiento del espacio intraarticular. En ésta, la sobrecarga mecánica articular rompe la homeostasis del cartílago, promoviendo su degradación. Intracelularmente, este estímulo mecánico se transduce en una hiperactivación de múltiples rutas de señalización, como la **vía WNT**. Además, la OA se define por la presencia de un componente inflamatorio que contribuye a su inicio y desarrollo. Esta inflamación está mediada, en parte, por patrones moleculares asociados a daño (DAMPs) producidos por la degradación del cartílago. Estos **DAMPs** desatan respuestas inmunes innatas (RII) en los condrocitos a través de la activación de los receptores *toll like* (TLR4).

OBJETIVOS

Estudiar la **relación bilateral** entre la carga mecánica (activación de la vía WNT) y las respuestas inflamatorias en los condrocitos.

CONCLUSIÓN

El estrés mecánico y la activación de la vía WNT, independientemente, son capaces de modular las respuestas inmunes innatas mediadas por la activación del receptor TLR4 en condrocitos. A su vez, las respuestas inflamatorias son capaces de inhibir la activación de la vía WNT en los condrocitos.

RESULTADOS

DISEÑO DEL MODELO *IN VITRO* DE CARGA MECÁNICA

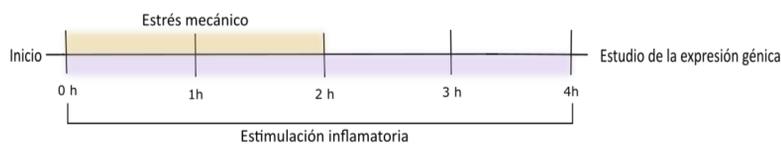


Figura 1. Diseño de un modelo de estrés mecánico y estimulación inflamatoria. Las células se exponen al estímulo inflamatorio durante cuatro horas y al estímulo mecánico durante dos horas.

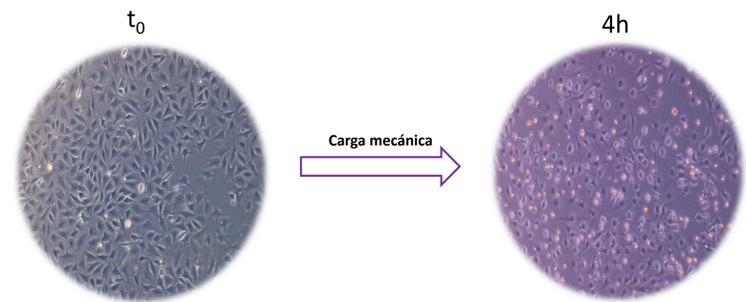


Figura 2. Resultado de la aplicación del modelo sobre las células ATDC5. Las células se exponen al estímulo inflamatorio durante cuatro horas y al estímulo mecánico durante dos horas.

CARGA MECÁNICA E INFLAMACIÓN

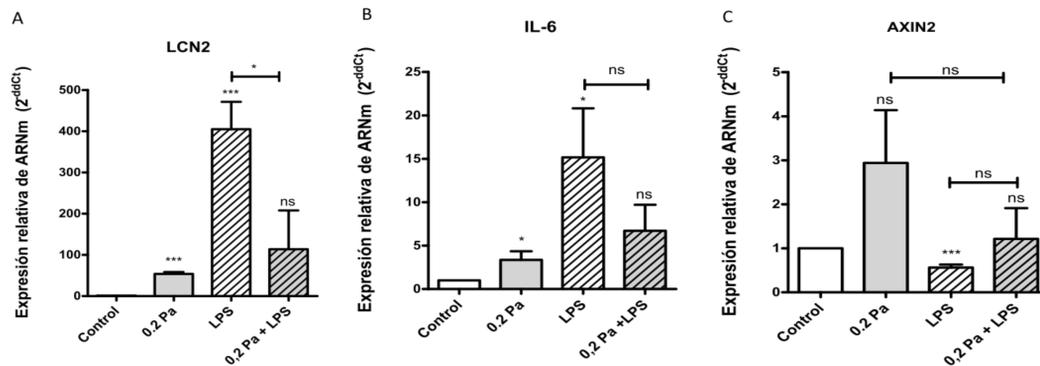


Figura 3: Estudio de la expresión de los genes mediante RT-PCR en un ambiente de estrés mecánico. Los resultados son las medias de al menos 3 experimentos independientes. A) Expresión de LCN2 al aplicarles a los condrocitos carga mecánica y estimularlas con LPS. B) Expresión de IL-6 al aplicarles a los condrocitos carga mecánica y estimularlas con LPS. C) Expresión de AXIN2 al aplicarles a los condrocitos carga mecánica y estimularlas con LPS. Los resultados fueron presentados como media \pm SEM de tres experimentos independientes. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$. La estadística fue determinada por el análisis estadístico T-test.

Para poder estudiar la relación existente entre la **carga mecánica y la inflamación**, estudiamos la expresión génica de la lipocalina 2 (LCN2) y la interleuquina 6 (IL-6). Por otro lado, para estudiar la **interacción entre la vía WNT y la inflamación**, analizamos la expresión de AXIN2 (actúa como marcador de la activación de la vía WNT).

Carga mecánica e inflamación

- El estrés mecánico, por sí solo, e independiente de la activación de la vía WNT, fue capaz de inducir una respuesta inflamatoria en los condrocitos (Figura 3 A, B).
- En contraste, el estrés mecánico redujo las respuestas inflamatorias de los condrocitos inducidas por la activación del receptor TLR4 (Figura 3 A).
- El estímulo inflamatorio reduce significativamente la expresión de AXIN2 (Figura 3C; Figura 4 A).

Vía WNT e inflamación

- La expresión de AXIN 2 aumentó significativamente al tratar las células con Bio, poniendo de manifiesto la activación de la vía WNT (Figura 4 A).
- En contraposición con el comportamiento observado con la carga mecánica, Bio, por sí solo, no indujo la expresión de los genes inflamatorios (Figura 4 B, C).
- Interesantemente, en combinación con el estímulo inflamatorio se potencia el ambiente inflamatorio (Figura 4 B, C).

VÍA WNT E INFLAMACIÓN

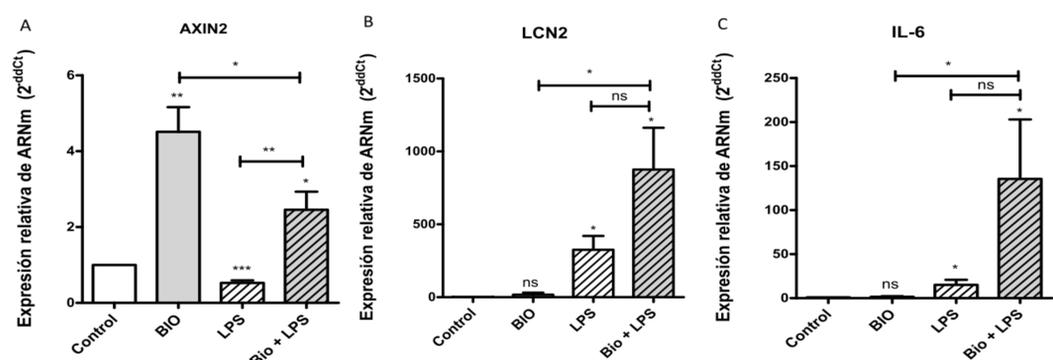


Figura 4: Estudio de la expresión de los genes mediante RT-PCR en un ambiente de activación de la vía WNT. Los resultados son las medias de al menos 3 experimentos independientes. A) Expresión de Axin2 al administrarles Bio y estimularlas con LPS. B) Expresión de LCN2 al administrarles Bio y estimularlas con LPS. C) Expresión de IL-6 al administrarles Bio y estimularlas con LPS. Los resultados fueron presentados como media \pm SEM de tres experimentos independientes. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$. La estadística fue determinada por el análisis estadístico T-test.

MATERIAL Y MÉTODOS

Las células fueron sometidas a estímulos mecánicos empleando una centrífuga termostatazada. Para simular un ambiente inflamatorio, las células se trataron con lipopolisacáridos (LPS) [100 ng/ml]. Con el objetivos de estudiar la vía WNT, tratamos las células con Bio (6-bromoindirubin-3'-oxime) [1 μ M] (activador químico de dicha ruta), sustituyéndolo por la carga mecánica. Se evaluaron sus efectos mediante el estudio de su expresión génica (RT-PCR).

