



DETECCIÓN DE mRNA DE IL-2, IL-4 e IL-10 EN INTESTINO PORCINO MEDIANTE LA TÉCNICA DE HIBRIDACIÓN *in situ* (ISH)

Ortiz Sánchez E¹., Chávez PO²., Garrido EG²., Vega López MA³.

1.Laboratorio de Inmunología Humana, FES-Cuautitlán-UNAM.

2.Dependencia de Genética y Biología Molecular y ³Departamento de Patología Experimental, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del I.P.N. Av. IPN 2508, México 07360, D.F. mavegal@yahoo.com

El sistema inmune intestinal genera tolerancia contra la flora normal y los alimentos y respuesta inmune local y sistémica contra los patógenos. Esto requiere de mecanismos de regulación que incluyen perfiles específicos de citocinas que pueden ser de tipo TH1 (IL-2 e IFN- γ), TH2 (IL-4, IL-6 e IL-9) y TH3 (IL-10 y TGF- β). En este trabajo se diseñaron sondas específicas de RNA (ribosondas) para detectar los mensajeros de las IL-2, IL-4 e IL-10 en yeyuno de cerdo por hibridación *in situ* (ISH). Las ribosondas se marcaron con digoxigenina (Dig) por transcripción *in vitro*, partiendo de productos de PCR (IL-2 e IL-4) y de RT-PCR (IL-10) que contienen los promotores adecuados para la transcripción. En el caso de la IL-2 e IL-4 se tomó como molde cDNA clonado en los plásmidos pUC19, mientras que para la IL-10, se tomó como molde DNA obtenido por RT-PCR, partiendo de RNA total extraído de células sanguíneas de cerdo cultivadas 6 h con Concanavalina A (ConA). Como control positivo de la técnica de ISH se diseñaron sondas de β -actina y como control positivo de expresión se emplearon linfocitos sanguíneos de cerdos cultivados con ConA. Primero se comprobó por RT-PCR la expresión cualitativa de la IL-2 e IL-4 en el intestino. Se realizó ISH en intestino fijado con PLP de animales sanos y se observó una baja expresión constitutiva de las citocinas comparada con las sondas sentido correspondientes. Sin embargo, en muestras de animales infectados experimentalmente con el parásito helminto *Trichinella spiralis*, se observó un incremento en la expresión de mRNA de todas las citocinas, comparado con los tejidos sin infección. La IL-10 fue la citocina de mayor expresión intestinal, por lo que su papel podría ser muy importante para la regulación del sistema inmune mucosal. Además, se observó que las células epiteliales de las vellosidades y de las criptas en el intestino también expresaron mRNA de citocinas, por lo que podrían influir en esa regulación como células accesorias. Es importante hacer notar que la presencia en el tejido de mRNA no significa su traducción a proteína, por lo que estos estudios deberán complementarse con la detección inmunohistoquímica de la citocina. Con las estrategias empleadas en este trabajo sería posible detectar otras citocinas importantes, cuya secuencia de oligonucleótidos sea conocida.

Proyecto parcialmente financiado por CONACyT (proyecto 26361-B)