

“EFECTO DE LA HISTAMINA SOBRE LA EXPRESIÓN DE LOS RECEPTORES TIPO TOLL EN FIBROBLASTOS GINGIVALES HUMANOS”

Cruz Arrieta S. Gutiérrez Venegas G.

Edif. División Estudios de Posgrado e Investigación Facultad de Odontología
Laboratorio de Bioquímica UNAM, Circuito Institutos s/n, Ciudad Universitaria,
Delegación Coyoacán, C.P. 04510 Tel. /fax 56225554, yllen_6@hotmail.com

OBJETIVO: determinar si la histamina induce la expresión de los receptores tipo Toll presentes en FGH, mediante ensayo de RT-PCR y Western blot.

INTRODUCCIÓN: La histamina es una amina hidrofílica involucrada en respuestas inmunitarias, reacciones alérgicas y de hipersensibilidad, regula la vasodilatación y la bronco constricción y modula la función de varios tipos celulares como; monocitos/macrófagos, eosinofios, células T y células endoteliales.

Los receptores de histamina reconocidos hasta este momento son; H1, H2, H3 Y H4. H1 se expresa en células de músculo liso y endoteliales. H2 participan en la secreción de ácido gástrico y regula la producción de citocina en varios tipos de células cardíacas, músculo liso y el sistema inmunitario. H3 se localiza predominantemente en el cerebro y funcionan como auto receptores pre sinápticos. Los receptores H4 comparten una homología aproximadamente del 40% con los receptores H3, se expresan altamente en la médula y en leucocitos y moderadamente en bazo, timo, pulmón e intestino.

El sistema inmunitario innato reconoce patógenos a través de una familia de receptores llamados receptores tipo Toll (TLRs) por sus siglas en inglés, hasta el momento se han identificado once prototipos, en los que se encuentran los TLR-4 que responden al estímulo de lipopolisacárido y los TLR-2 que reconocen al ácido lipoteicoico ambos receptores se expresan en fibroblastos gingivales humanos.

MATERIALES Y MÉTODOS: En cultivos celulares primarios de fibroblastos gingivales humanos, se investigó el mecanismo de acción de la histamina, sobre la expresión de los receptores TLR-2 y TLR-4.

RESULTADOS: Los resultados muestran que la histamina aumenta la transcripción y la traducción de TLR-2 y TLR-4.

CONCLUSIÓN: Los resultados sugieren que la histamina juega un papel importante en la modulación de la respuesta inmune innata.

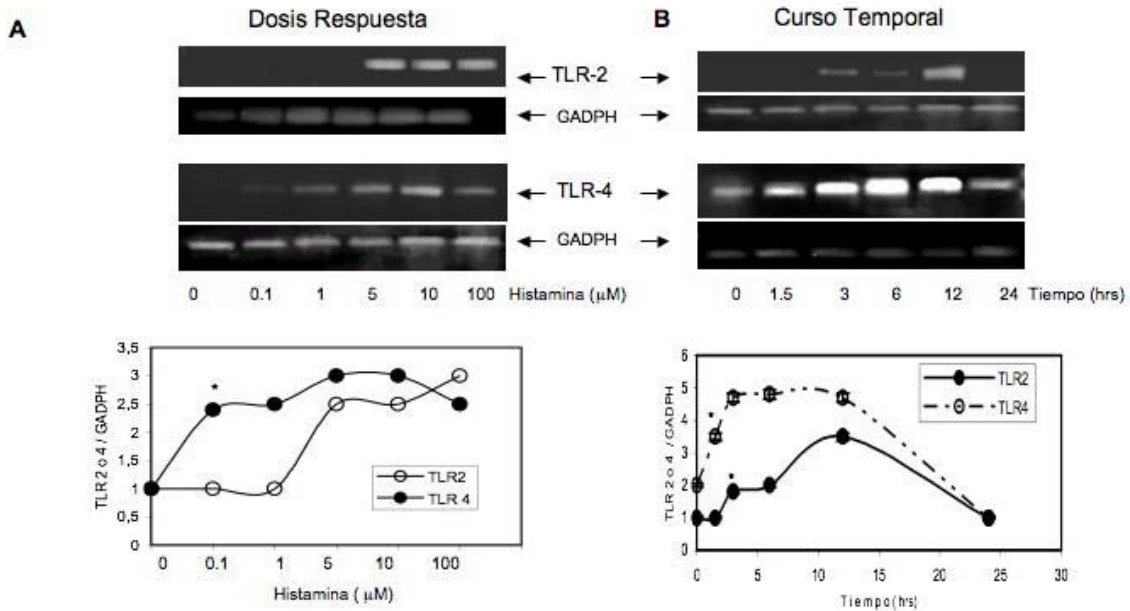


Figura 1 Efecto de la Histamina sobre la expresión de los receptores TLR2 y TLR4.

Fibroblastos gingivales humanos (2×10^4) se sembraron en cajas de 6 pozos y se incubaron durante toda la noche. A) Las monocapas se incubaron con diferentes dosis de histamina 0.1 -100 μM durante 12 hrs. B) Las monocapas se incubaron con histamina (100 μM) en diferentes periodos. Después de la incubación se extrajo el RNA y se procedió a realizar el ensayo de RT-PCR como se describe en la Materiales y métodos, Los resultados que se presentan corresponden a un experimento representativo de tres repeticiones por separado. Las bandas se analizaron con el sistema DigiDocIt y se cuantificaron con el sistema Labs Works, el gráfico representa la media \pm desviación estándar. * $p < 0.05$ con respecto al basal.

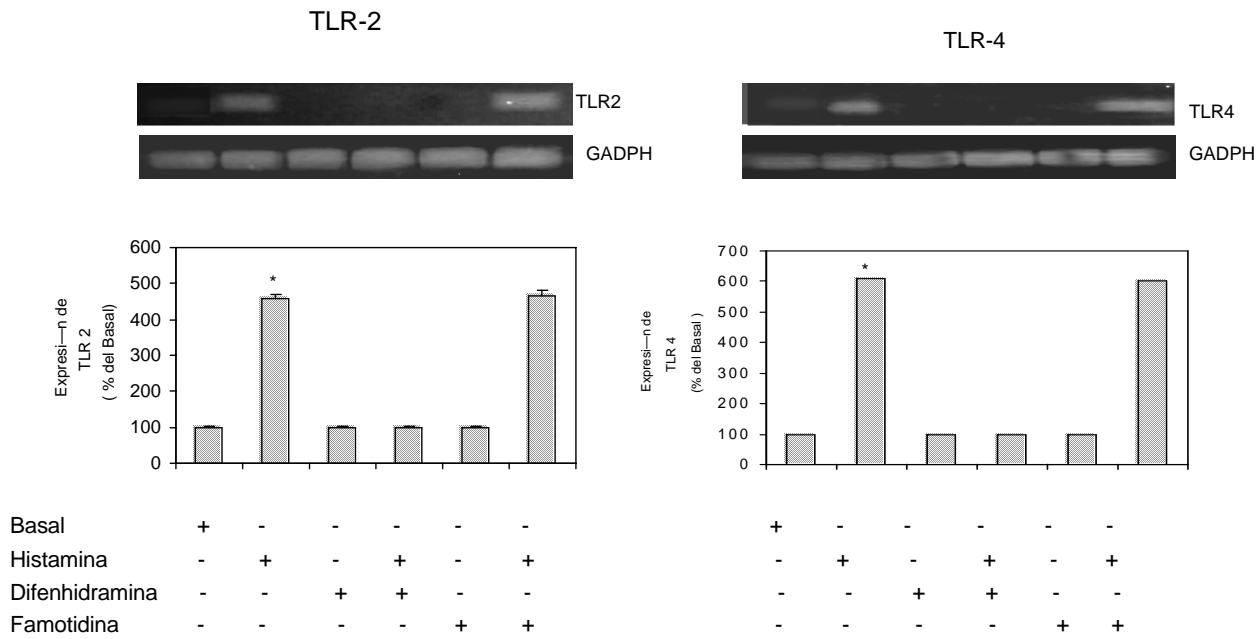


Figura 2 Histamina induce la expresión de TLR2 y TLR4 por asociación al receptor H1.

Los fibroblastos gingivales humanos (2×10^4) se sembraron en cajas de 6 pozos durante toda la noche. Posteriormente las monocapas se incubaron con histamina ($100 \mu\text{M}$) sola o histamina + difenhidramina ($10 \mu\text{M}$) o histamina + famotidina ($10 \mu\text{M}$) por 12 hrs. Después de la incubación se aisló el RNA total y se sometió a RT-PCR usando oligodeoxinucleótidos TLR2 y TLR4. Los productos amplificados se separaron en gel de agarosa 2%. La amplificación de GADPH se utilizó como control. Los resultados presentados corresponden a un experimento representativo de tres repeticiones por separado. Los geles se analizaron por el sistema Digi Doc It y se cuantificaron con el programa Lab Works. El gráfico representa la media \pm desviación estándar. * $p < 0.05$ con respecto al basal.