

## 10 Detección de interferón gama y factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos en células NK murinas por citometría de flujo

Julio César Bueno Sánchez<sup>1</sup>

### PALABRAS CLAVE

NATURAL KILLER CELL  
ACTIVACIÓN  
GESTACIÓN  
CRECIMIENTO EMBRIONARIO

### INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

Las células asesinas naturales (NK) son linfocitos de un tamaño promedio de 30 mm y morfología granular, presentes en los tejidos linfoides, sangre periférica, endometrio y decidua. Esta población corresponde a un 10-15% del total de células mononucleares de sangre periférica mientras que en el bazo llega a ser alrededor del 5%. Las células NK presentan receptores tipo lectina en su superficie, y a través de sus dominios de unión a carbohidratos inducen señales de activación o inhibición (1). Tradicionalmente se ha caracterizado la activación de las células NK mediante ensayos de citotoxicidad; sin embargo, en los estadios tempranos de las infecciones son capaces de producir citoquinas como interferón gama (IFN- $\gamma$ ) y en la médula ósea producen factores de crecimiento como el factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos (GM-CSF) (2). Es a través de la producción de citoquinas como hemos planteado el posible papel de estas células en la gestación temprana, pues se conoce que tanto el IFN $\gamma$  como el GM-CSF participan en la regulación del crecimiento embrionario.

### METODOLOGÍA

Este estudio evaluó la producción de ambas citoquinas en células NK aisladas de bazo de ratones, utilizando dos estímulos durante 5 horas: forbol-miristato-acetato (PMA), activador de la proteína quinasa C, y el ionóforo de calcio A 23187, el cual induce la apertura de los canales de calcio. La producción intracelular de las citoquinas fue evaluada por citometría de flujo mediante el uso de un inhibidor del transporte de proteínas, la brefeldina A, y anticuerpos monoclonales anti-IFN $\gamma$  y anti-GM-CSF.

### RESULTADOS

El porcentaje de células NK activadas que produjeron GM-CSF fue de un 13% del total de esplenocitos, es decir, un 62% de las células NK. Por su parte, el 26% de las células NK produjeron IFN- $\gamma$  luego de la activación. La producción basal de ambas citoquinas fue menor del 1%.

### DISCUSIÓN

Los resultados demuestran que a través de la vía de señalización dependiente del calcio aumenta la producción de IFN- $\gamma$  y GM-CSF. Es necesario observar este efecto en células NK uterinas, correspondientes al 26% en suspensiones de decidua, como un posible mecanismo que explique el crecimiento embrionario.

### BIBLIOGRAFÍA

1. TIMONEN T. Natural killer cells: endothelial interactions, migration and target cell recognition. *J Leuk Biol* 1997; 62: 693-701.
2. ASHKAR A, CROY A. Interferon- $\gamma$  contributes to the normalcy of murine pregnancy. *Biol Reprod* 1999; 61: 493-502.

<sup>1</sup> MD, Estudiante de MSc, Área Inmunología  
Programa de Reproducción, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.  
juliobs@medicina.udea.edu.co

## 11 Estudio de la expresión genómica en pacientes con inmunodeficiencia común variable

Julio Orrego<sup>1</sup>, Pablo Patiño<sup>2</sup>, José Franco<sup>3</sup>

### PALABRAS CLAVE

MICROMATRICES  
INMUNODEFICIENCIA COMÚN VARIABLE  
GENÓMICA FUNCIONAL

### INTRODUCCIÓN

Existen múltiples entidades que poseen un patrón de herencia desconocido o poligénico, lo cual ha hecho que el análisis genético tradicional sea más complicado y no se logre conocer el funcionamiento celular de forma completa y coherente (1).

La genómica funcional es la respuesta a este planteamiento y ha surgido como una disciplina para el entendimiento de las funciones de los genes y sus proteínas asociadas (2). La tecnología más sobresaliente desarrollada hasta la fecha es la de micromatrices de ADN, las cuales aprovechan el transcriptoma (ARN mensajero de una célula), para definir patrones globales de expresión de múltiples genes en un solo experimento.

En el estudio de las inmunodeficiencias primarias se han desarrollado pocos trabajos para estudiar el transcriptoma de esta forma (3); es nuestro objetivo aplicar esta nueva metodología para el conocimiento de la Inmunodeficiencia Común Variable (ICV), una inmunodeficiencia primaria caracterizada por el déficit en la producción de anticuerpos, infecciones sinopulmonares recurrentes y un aumento en la presentación de enfermedades linfoproliferativas y autoinmunes (1).

Los estudios previos de la fisiopatología de esta enfermedad revelan que pueden existir defectos en la coestimulación del linfocito T a la célula B para su diferenciación a célula plasmática, o defectos en la activación y diferenciación del linfocito B.

### OBJETIVO

Estudiar mediante micromatrices de ADN la expresión de aproximadamente 50 genes involucrados en la señalización intracelular, producción de citoquinas y de sus receptores en células T y B de 9 pacientes con ICV.

### METODOLOGÍA

Se obtendrá ADN complementario (por RT-PCR a partir de ARN<sub>m</sub> de los linfocitos) marcado con radioisótopos, el cual es incubado en una matriz sólida que contiene muchos genes (en su mayoría fragmentos de ADN representativos), facilitando la hibridación de los pares complementarios. El patrón de expresión se obtiene cuantificando la intensidad de la radioactividad y estableciendo si hubo regulación positiva, negativa o ninguna modificación luego de la activación *in vitro* de los linfocitos con antígenos (2). Luego se desarrollarán estudios funcionales para aquellos genes que posean patrones de expresión especiales.

### RESULTADOS ESPERADOS

Generar un patrón de expresión global de algunos genes de linfocitos T y B y relacionar este patrón con funciones conocidas o estudiadas en los mismos.

### BIBLIOGRAFÍA

1. PUCK J, NUSSBAUM R. Genetic principles and technologies in the study of immune disorders. In: Ochs H, Smith E, Puck J, eds. *Primary Immunodeficiency Diseases. A molecular and genetic approach*. 1ª ed. New York: Oxford University Press; 1999: 12-22.
2. STAUDT L, BROWN P. Genomic views of the immune system. *Annu Rev Immunol* 2000; 18: 829-859.
3. FESKE S, GILTANNE J, DOLMETSCH R, STAUDT L, RAO A. Gene regulation mediated by calcium signals in T lymphocytes. *Nature Immunol* 2001; 2: 316-324.

Grupo de Inmunodeficiencias Primarias, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia

<sup>1</sup> Estudiante de Maestría, Posgrado en Ciencias Básicas Biomédicas

<sup>2</sup> Profesor, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia

<sup>3</sup> Estudiante de Doctorado en Ciencias Básicas Biomédicas

jcoaa@hotmail.com  
Proyecto de Investigación