

## 2. Micropartículas como reguladoras de la activación del linfocito B

Héctor Rincón-Arévalo<sup>1</sup>, Adriana Vanegas-García<sup>2,3</sup>, Mauricio Rojas<sup>1</sup>, Gloria Vásquez<sup>1,2</sup>, Diana Castaño<sup>1</sup>

### FINANCIACIÓN

Este trabajo recibe financiación por parte del programa de Sostenibilidad y del CODI de la Universidad de Antioquia (Proyecto de Mediana Cuantía, Acta 7668-2015), así como del Programa de Doctorados Nacionales por parte de COLCIENCIAS (convocatoria 727).

### INTRODUCCIÓN

Los linfocitos B (LB) de pacientes con Artritis Reumatoide (AR) presentan pérdida de la tolerancia frente a antígenos propios. Se postula que las micropartículas (MP), vesículas extracelulares que tienen un amplio espectro de actividades biológicas, podrían ser un elemento clave en la inmunopatología de las enfermedades autoinmunes. En pacientes con AR existe una elevada concentración de MP, las cuales expresan diferentes alarminas, autoantígenos y forman complejos inmunes. Por lo tanto, estas vesículas extracelulares podrían modular la respuesta de los LB al ser reconocidas por diferentes receptores, como son los BCR, TLR y FcR. Aunque hasta el momento se desconocen los mecanismos exactos que están llevando a las alteraciones de los LB en AR, nosotros proponemos que las MP podrían estar modulando positiva o negativamente la respuesta de estas células en los pacientes.

### OBJETIVO

Evaluar el efecto de las MP en la activación y respuesta de LB de pacientes con AR y controles sanos (CS).

### METODOLOGÍA

Los LB se enriquecieron por rosetas a partir de sangre periférica de pacientes con AR y CS, y se cultivaron por 24 y 72 horas con anti-BCR más CpG en ausencia

(agonista) o presencia de MP. Estas vesículas se aislaron de pacientes y CS mediante rondas de centrifugación a partir de sangre anticoagulada con citrato de sodio. Se evaluaron la proliferación de los LB con la sonda CellTrace y la activación celular con anticuerpos contra CD69, CD80, CD86 y CD95, mediante citometría de flujo. Se midieron los niveles de las citoquinas IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-10 y TNF- $\alpha$  en los sobrenadantes de cultivo mediante el estuche "Cytometric Bead Array".

### RESULTADOS

Se observó que las MP por sí solas no indujeron ningún cambio en la expresión de los marcadores de activación evaluados. Los LB de CS estimulados durante 24 horas con anti-BCR más CpG en presencia de MP presentaron una menor inducción en el porcentaje de células CD69<sup>+</sup>, CD80<sup>+</sup> y CD86<sup>+</sup>, así como menores niveles de IL-6, IL-10 y TNF- $\alpha$  comparado con los LB cultivados con el agonista. Resultados similares se observaron en los LB de pacientes con AR estimulados con anti-BCR más CpG en presencia de MP; sin embargo, en ellos se encontró una menor inducción en la frecuencia de LB CD80<sup>+</sup> pero no de CD69<sup>+</sup> y CD86<sup>+</sup>, y menor inducción en la producción de IL-6 e IL-10 más no de TNF- $\alpha$ , comparados con las células de pacientes cultivadas con el agonista.

A las 72 horas con anti-BCR más CpG en presencia de las MP se observó en LB de CS una menor inducción tanto del porcentaje de LB CD69<sup>+</sup> y CD80<sup>+</sup>, de producción de IL-6, IL-8, IL-10 y TNF- $\alpha$ , como de proliferación comparado con los LB de CS estimulados con el agonista. En LB de pacientes, la presencia de MP indujo una menor frecuencia de LB CD80<sup>+</sup> y CD86<sup>+</sup>, de proliferación, así como en la producción de IL-10 más no de IL-6, IL-8 y TNF- $\alpha$  comparado con los LB de pacientes estimulados con el agonista.

### CONCLUSIONES

Las MP por sí solas no activan los LB de CS, pero sí atenúan la respuesta de estas células estimuladas con anti-BCR y CpG. De forma interesante, las vesículas indujeron un menor efecto atenuante en los LB de pacientes con AR comparado con los LB de CS. Estos datos sugieren que las MP pueden regular la activación de los LB, pero en pacientes con AR este mecanismo parece estar comprometido parcialmente, por lo que podría contribuir con la inmunopatología de la enfermedad.

<sup>1</sup> Grupo de Inmunología Celular e Inmunogenética, Instituto de Investigaciones Médicas, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia UdeA, Calle 70 No. 52-21, Medellín, Colombia.

<sup>2</sup> Sección de Reumatología, Hospital Universitario de San Vicente Fundación, Medellín, Colombia.

<sup>3</sup> Grupo de Reumatología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

Correspondencia: Diana Castaño; diana.castano@udea.edu.co