

BLOQUEO DE LA MADURACIÓN DE LAS CÉLULAS DENDRÍTICAS (CDs) MEDIANTE INHIBICIÓN DE PROTEOSOMAS: UN NUEVO MECANISMO PARA LA GENERACIÓN DE TOLERANCIA INMUNOLÓGICA POSTRASPLANTE

L.I. Sánchez-Abarca, B. Blanco, S. Tabera, A.I. Benito, P. Martín-Jiménez, M. Díez-Campelo, M. Alberca, N. López-Holgado, F. Sánchez-Guijo, C. Cañizo, J. San Miguel y J.A. Pérez Simón

Hematología Hospital Universitario. Salamanca.

Antecedentes: Previamente (Blanco, Blood'06) hemos demostrado que la inhibición de NF- κ B provoca una deplección selectiva de linfocitos T (LT) aloreactivos. Además, NF- κ B es clave en la maduración de las CDs, caracterizada por la expresión de moléculas co-estimuladores. Mientras que las CDs inmaduras favorecen la generación de una respuesta inmune tolerogénica, en situaciones de stress o inflamación (tras trasplante), se favorece su maduración, activando linfocitos T aloreactivos. El Bortezomib es un inhibidor de proteasomas, responsables de la degradación de proteínas como I- κ B (inhibidor de NF- κ B). Su inhibición bloquea la activación de NF- κ B. Nos planteamos utilizar bortezomib para bloquear la maduración de las CDs como medio para generar una respuesta inmune tolerogénica postrasplante.

Resultados: Mediante marcaje con anexina/7AAD, analizamos el efecto del bortezomib sobre la viabilidad de CDs derivadas de monocitos en presencia de GM-CSF+IL-4 y maduras con TNF α +LPS. El bortezomib disminuyó la viabilidad de las CDs siendo este efecto especialmente evidente en las CDs cultivadas con TNF α +LPS. Este efecto se relacionaba con la activación de caspasas 8 y 9 como se apreció mediante Western-Blot. Además, el bortezomib disminuyó la expresión de CD86, CD80, CD40 y HLA-DR y provocó un descenso significativo de la IL12 intracitoplasmática en las CDs. Sin embargo, no afectó la endocitosis como se pudo comprobar mediante análisis de captación de dextrano y de cuerpos apoptóticos marcados con PKH-FITC. Para confirmar que las CDs cultivadas en presencia del fármaco perdían su capacidad inmunogénica, evaluamos su efecto sobre la activación de LT aloreactivos. Tras cultivo con CDs no tratadas con el fármaco, el 20% de los LT cultivados con CDs no maduras se activaron vs 43% de los LT cultivados con CDs maduras con TNF α +LPS ($p=0,02$). Por el contrario, cuando los LT fueron cultivados con CDs tratadas con bortezomib, el porcentaje de LT activados fue de 21% vs 31% ($p=0,34$) tras cultivo con CDs no maduras vs maduras, indicando que las CDs maduras no generan una activación linfocitaria óptima cuando se cultivan con bortezomib. Además, en los cultivos de LT con CDs tratadas con bortezomib, se apreció mediante ELISA un descenso significativo en la producción de IL-2 y un aumento de IL-10. Finalmente, confirmamos que los linfocitos cultivados con CDs tratadas sobreexpresan FoxP3 y bloquean la activación de linfocitos aloreactivos en cultivo mixto.

Conclusión: El Bortezomib disminuye la viabilidad y modifica el patrón de maduración y de citocinas de las CDs. Las CDs tratadas con bortezomib son menos inmunogénicas, ya que provocan una menor activación de linfocitos aloreactivos e inhiben la secreción de citocinas proinflamatorias (IL-2) aumentando la producción de IL-10. Las CDs tratadas con bortezomib generan linfocitos con características de LT regulador. Todas estas propiedades pueden ser de utilidad en el contexto del trasplante alogénico.