



Original

Aumento de la expresión de las moléculas CD11c y CD103 en neutrófilos de sangre periférica tratados con una formulación de ribosomas bacterianos y proteoglicanos de *Klebsiella pneumoniae*

Jessica Villa-Ambriz^{a,b}, Alain R. Rodríguez-Orozco^{a,b,*}, Carlos Béjar-Lozano^c y Christian Cortés-Rojo^{a,b}

^a Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas Dr. Ignacio Chávez, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, Michoacán, México

^b Instituto de Investigación Científica en Temas de Familia, Alergia e Inmunología, Morelia, Michoacán, México

^c Laboratorios Clínicos SERVIMED, Morelia, Michoacán, México

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 14 de abril de 2012

Aceptado el 22 de abril de 2012

On-line el 15 de junio de 2012

Palabras clave:

Ribovac
Ribomunyl
Immucytal
CD103
CD11c
Neutrófilos humanos
Sangre
Inmunogenicidad
Ribosomas
Proteoglicanos

RESUMEN

Objetivo: Evaluar el efecto de una preparación con ribosomas bacterianos y proteoglicanos de *Klebsiella pneumoniae* «R» sobre la expresión *in vitro* de las moléculas CD11c y CD103 en neutrófilos de sangre periférica.

Métodos: Aislamiento de neutrófilos de sangre periférica con Ficoll-Paque, incubación con R y detección de CD11c y CD103 mediante citometría de flujo.

Resultados: A las 6 h postincubación, la expresión de CD11c aumentó de manera significativa respecto al control con 125 y 500 µg/ml de R ($p=0,017$ y $p=0,006$, respectivamente). La expresión de CD103 inducida con 125 µg/ml de R a las 6 h fue significativamente mayor que la observada a las 4 h a la misma concentración ($p=0,014$) y que la encontrada con 62,5 µg/ml ($p=0,017$).

Conclusiones: El aumento en la expresión de CD11c y CD103 inducido por R en neutrófilos podría contribuir al mecanismo de acción de R contra patógenos respiratorios.

© 2012 SEPAR. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

The Increased Expression of CD11c and CD103 Molecules in the Neutrophils of the Peripheral Blood Treated With a Formula of Bacterial Ribosomes and Proteoglycans of *Klebsiella pneumoniae*

ABSTRACT

Aim: To evaluate the effect of a preparation with bacterial ribosomes and proteoglycans from *Klebsiella pneumoniae* «R» on the *in vitro* expression of CD11c and CD103 molecules in neutrophils from peripheral blood.

Methods: Isolation of neutrophils from peripheral blood with Ficoll-Paque, incubation with R and detection of CD11c and CD103 through flow cytometry.

Results: Six hours after the incubation period, CD11c expression increased significantly compared with the control with 125 and 500 µg/ml of R ($P=.017$ and $P=.006$, respectively). CD103 expression induced with 125 µg/ml of R after 6 hours was significantly higher than that observed after 4 hours at the same concentration ($P=.014$) and that found with 62.5 µg/ml ($P=.017$) of R.

Conclusions: The increased expression of CD11c and CD103 induced by R in the neutrophils could contribute to the R mechanism against respiratory pathogens.

© 2012 SEPAR. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Keywords:

Ribovac
Ribomunyl
Immucytal
CD103
CD11c
Human neutrophils
Blood
Immunogenicity
Ribosomes
Proteoglycans

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: arorozco69@yahoo.com.mx (A.R. Rodríguez-Orozco).

Introducción

Las infecciones agudas de las vías respiratorias son uno de los problemas de salud más importantes en los países en desarrollo: causan 2 millones de muertes en niños menores de 5 años y representan una carga económica muy significativa para los sistemas regionales de salud¹. Esto ha llevado a la implementación de estrategias para el manejo de dichas infecciones en las que la Organización Mundial de la Salud ha enfatizado los efectos perjudiciales del uso indiscriminado de antibióticos². Una alternativa al uso de antibióticos es la inmunoterapia con las fracciones ribosomales de *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Haemophilus influenzae* y los proteoglicanos de *K. pneumoniae* contenidos en Ribovac® (una formulación de ribosomas bacterianos y proteoglicanos de *K. pneumoniae*), también comercializado como Ribomunyl® e Immucytal®, del cual se ha demostrado su eficacia para disminuir la recurrencia y la duración de las infecciones de vías respiratorias y la necesidad de antibióticos para su control³.

Uno de los efectos que R ejerce en el sistema inmune es el aumento en la adhesividad de neutrófilos de sangre periférica⁴, lo cual se ha asociado a la sobreexpresión de la subunidad β_2 (CD18) de la familia de integrinas heterodiméricas CD11(α)/CD18⁵, las cuales además participan en el rodamiento y la diapédesis leucocitaria⁶. La función específica de cada miembro de esta familia de proteínas depende del tipo de subunidad α a la cual se asocia CD18. Debido a posibles efectos pleiotrópicos atribuibles a la amplia variedad de ligandos para los diferentes miembros de CD11, es preciso determinar el impacto de R sobre CD11c, el cual es muy importante en el proceso de adhesión leucocitaria.

Otra molécula de adhesión que es crucial para las respuestas innatas a nivel de las mucosas de vías respiratorias es la integrina αE (CD103)/ $\beta 7$, que está involucrada en la adhesión y la trans migración de los leucocitos entre las células epiteliales para permitir la captura de antígenos en el lumen de las vías respiratorias y su posterior presentación a células T vírgenes en el nodo linfático bronquial⁷.

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de R sobre la expresión de las moléculas CD11c y CD103 en neutrófilos de sangre periférica.

Materiales y métodos

Obtención de neutrófilos

La separación de neutrófilos se realizó a partir de sangre periférica de donantes sanos, quienes nunca fumaron, mediante la separación con Ficoll-Paque ($\delta = 1,113$) (Amersham Biosciences, Piscataway, Nueva Jersey, EE. UU.) de acuerdo a los procedimientos indicados por el fabricante. La viabilidad celular se determinó antes de cada experimento por el método de exclusión de azul de tripano. Se aceptó una viabilidad celular $\geq 95\%$.

Tratamientos con una formulación de ribosomas bacterianos y proteoglicanos de *K. pneumoniae* y detección de CD11c y CD103

Las células (2×10^5 células/100 μ l) se trataron con volúmenes de 20 μ l de R a concentraciones finales de 0, 62,5, 125 y 500 μ g/ml y se incubaron durante 4 y 6 h a 37 °C en una atmósfera humidificada de CO₂ al 5%. Se eligieron tales concentraciones porque con estas se indujeron las máximas concentraciones de citocinas IL-6 e IL-1 en ensayos previos realizados en nuestro laboratorio. La detección de las moléculas de adhesión se realizó con un citómetro de flujo EPICS XCL (Beckman Coulter, Brea, California, EE. UU.) utilizando los

anticuerpos monoclonales anti-CD11c-PE y anti-CD103-FITC, adquiridos de Beckman Coulter (Brea, California, EE. UU.).

La concentración de R se eligió sobre la base de que a esas concentraciones tanto en nuestro laboratorio como en otros laboratorios se ha reportado la mayor inducción de la producción de citocinas por células mononucleadas activadas por R, y el tiempo de cultivo de neutrófilos se limitó a 4 y 6 h porque su tasa de mortalidad suele ser mayor en tiempos mayores y nos propusimos trabajar con una viabilidad celular superior al 95% para las células que se colocaron en los cultivos celulares.

Análisis estadístico

Los resultados fueron expresados como la media \pm EE de al menos 3 experimentos independientes. La significancia estadística entre las medias se comparó utilizando la prueba t de Student, aceptándose un valor de confianza $\geq 95\%$ y un valor de $p < 0,05$. Todos los procedimientos se realizaron con el paquete estadístico SPSS versión 18.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, EE. UU.).

Resultados

Expresión de CD11c

No se observaron cambios estadísticamente significativos respecto al control en la expresión de CD11c a todas las concentraciones probadas de R a las 4 h de incubación (fig. 1). A las 6 h, la expresión de CD11c aumentó de manera significativa respecto al control con 125 y 500 μ g/ml de R ($p = 0,017$ y $p = 0,006$, respectivamente). Asimismo, se observó que la expresión de CD11c inducida con 500 μ g/ml de R fue significativamente mayor que la expresión de este marcador en células tratadas con 125 μ g/ml ($p = 0,030$).

Expresión de CD103

No se observaron cambios estadísticamente significativos respecto al control en la expresión de CD103 a todas las concentraciones probadas de R a las 4 h de incubación (fig. 2). A las 6 h, la expresión de CD103 fue mayor respecto al control y a todas las concentraciones ensayadas de R, siendo estadísticamente significativa solo con 500 μ g/ml ($p = 0,034$). Sin embargo, la expresión de CD103 inducida con 125 μ g/ml de R a las 6 h fue significativamente

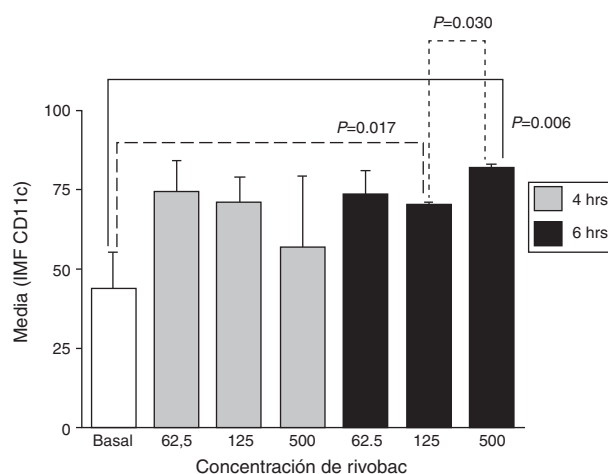


Figura 1. Efectos de la concentración de la formulación con ribosomas bacterianos y proteoglicanos de *K. pneumoniae* y el tiempo de incubación sobre la expresión de CD11c en neutrófilos. Los resultados se expresan como la media \pm EE de la intensidad media de fluorescencia (IMF) de 3 experimentos independientes. Las concentraciones se expresan en μ g/ml de R.

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/4203670>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/4203670>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)