

# OBTENCIÓN DE CÉLULAS DENDRÍTICAS TOLEROGÉNICAS PARA EL ESTUDIO DE SU RELACIÓN EN LA ENFERMEDAD DE PARKINSON: UN MODELO *IN VITRO*

Vega-Angeles VT\*<sup>1</sup>, Delgadillo U<sup>1</sup>, Guevara A<sup>1</sup>, Alvarez-Luquin D<sup>1</sup>, Romero-Rodriguez D<sup>2</sup>, Adalid-Peralta L<sup>1</sup>

1. Laboratorio de Neuroinflamación, Unidad Periférica para el estudio de la Neuroinflamación, Instituto de Investigaciones Biomédicas en el Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía, Manuel Velasco Suárez, México; 2. Unidad de Citometría de flujo, Subdirección de Investigación Biomédica, Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias, México

recibido: 15-05-2023 aceptado: 26-06-2023 publicado: 21-11-2023

**Objetivo:** Establecer y caracterizar un modelo *in vitro* de diferenciación de células dendríticas tolerogénicas a partir de PBMCs para estudios de estimulación con pramipexol.

**Antecedentes:** Las células dendríticas (CD) son una población heterogénea, cuyas funciones principales son procesar y presentar antígenos a los linfocitos T, e inducir y mantener tolerancia. Las CD pueden generarse *in vitro* a partir de progenitores CD34+ o de monocitos CD14+ en presencia de GM-CSF e IL-4. En pacientes con enfermedad de Parkinson (EP), el número de CD en la sangre se reduce, por lo que la generación *in vitro* de CD en la sangre ayudaría a comprender la relación entre la presencia de CD en el SNC y la progresión de la enfermedad. En un modelo murino de EP inducido con MPTP, se observó que la generación de CD tolerogénicas (CDtol) con GM-CSF produjo una respuesta reguladora, aumentando la neuroprotección.

**Métodos:** A partir de concentrados eritrocitarios de donadores se obtuvieron células mononucleares de sangre periférica (PBMCs) por gradiente de densidad. Las células se aislaron, cultivaron y diferenciaron *in vitro* con GM-CSF e IL-4. Posteriormente, se aislaron las CDtol por sorting celular y se estimularon (24 h) con pramipexol. Finalmente, se aisló el RNA de los cultivos.

**Resultados:** Se estableció un modelo de cultivo y diferenciación *in vitro* de CDtol a partir de PBMCs utilizando GM-CSF e IL-4. Se caracterizó la presencia de CD11c e ILT-3. Se estandarizó la purificación de la población cultivada para estimular los cultivos con pramipexol. Se estandarizó la obtención de RNA de CDtol, para incluirlos en un chip de Fluidigm.

**Conclusiones:** Se obtuvieron, aislaron y cultivaron CD a partir de PBMCs, y se diferenciaron hacia un fenotipo tolerogénico. Se obtuvo ARN para la genotipificación de las CDtol estimuladas con pramipexol.

**Palabras clave:** *Enfermedad de Parkinson, Neuroinflamación, Células dendríticas*

Núm. de registro del protocolo: 145/19

