

PI3/18-09-AF-16

Estudio de los exosomas derivados de células dendríticas estimuladas con el Virus de la Fiebre Aftosa en su forma infectiva o inactivada y su participación en la modulación de la respuesta inmune anti-viral

Menay, Florencia; Coccozza, Federico, Gravisaco María José; Elisei, Analia; Re, Javier Ignacio; Ferella Alejandra, Sampedro, Pura; Mongini, Claudia.

Universidad de Morón (UM) Instituto de virología e innovación Tecnológica (IVIT-CONICET-INTA), E-mail: mongini.claudia@inta.gob.ar

El virus de la fiebre aftosa (VFA) es el agente causante de una enfermedad altamente contagiosa del ganado y económicamente importante en todo el mundo. La principal estrategia para el control es la vacunación con virus inactivados químicamente con etilenimidabina (VFAi). La protección lograda es buena, pero requiere re-inoculaciones regulares para producir inmunidad sostenida en el tiempo. Las vesículas extracelulares (VEs) son microvesículas de 30 a 100 nm secretadas por la mayoría de las células. Las secretadas por las células presentadoras de antígeno (CPA) desempeñan un papel crucial en el transporte y la presentación de péptidos para la generación de una respuesta inmune. El proyecto propone avanzar en el conocimiento de la respuesta inmune diferencial lograda con el VFAi estudiando la participación de las VEs en la modulación de la respuesta inmune antiviral. En este trabajo evaluamos la capacidad de las VEs derivadas de CPA pulsadas con el VFAi de estimular una respuesta específica a linfocitos T o B. Para este propósito, se aislaron VEs del sobrenadante de CPA pulsadas con VFAi durante 18 h con VFAi (5 $\mu\text{g/ml}$). Las VEs demostraron una fuerte expresión de los marcadores de exosomas CD9 y CD81, CMH-II, CD86 y se detectó la expresión de antígenos del VFA. Utilizando un ensayo de linfoproliferación específica por dilución de CFSE, demostramos que las VEs-VFAi indujeron la proliferación *in vitro* específica de esplenocitos sensibilizados *in vivo* con VFAi. Las VEs-VFAi indujeron la proliferación de linfocitos B ($16,05\% \pm 0,61$ p <0,001) y de linfocitos T específicos ($8,5\% \pm 0,81$ p <0,01) en comparación con esplenocitos sensibilizados no estimulados ($9,66\% \pm 0,17$ y $5,70\% \pm 0,15$, respectivamente). Nuestros resultados muestran que el VFAi inactivado puede ser internalizada por CPAs y estas células a su vez liberan vesículas que expresan antígenos del VFA y marcadores de CPA. Los antígenos virales presentes en las EVs-VFAi estarían en una conformación nativa o parcialmente procesados. Estos péptidos pueden ser reconocidos por el receptor específico expresado en los linfocitos B (BCR) y estimular la respuesta específica de los linfocitos B contra la infección viral. Además, las VEs-VFAi activan indirectamente (mediado por citoquinas) o directamente una respuesta a linfocitos T que podría colaborar en la activación de células B. El conocimiento derivado de este trabajo servirá para profundizar en el conocimiento de la interrelación entre el virus de la fiebre aftosa y el sistema inmunológico que servirá para el diseño racional de vacunas.

Palabras clave: Fiebre aftosa, exosomas, vesículas extracelulares, células dendríticas, respuesta inmune antiviral.