

Bannoud N*, Dallotto-Moreno T, Kindgard L, García PA, Rabinovich GA, Croci DO

nadiabannoud@gmail.com

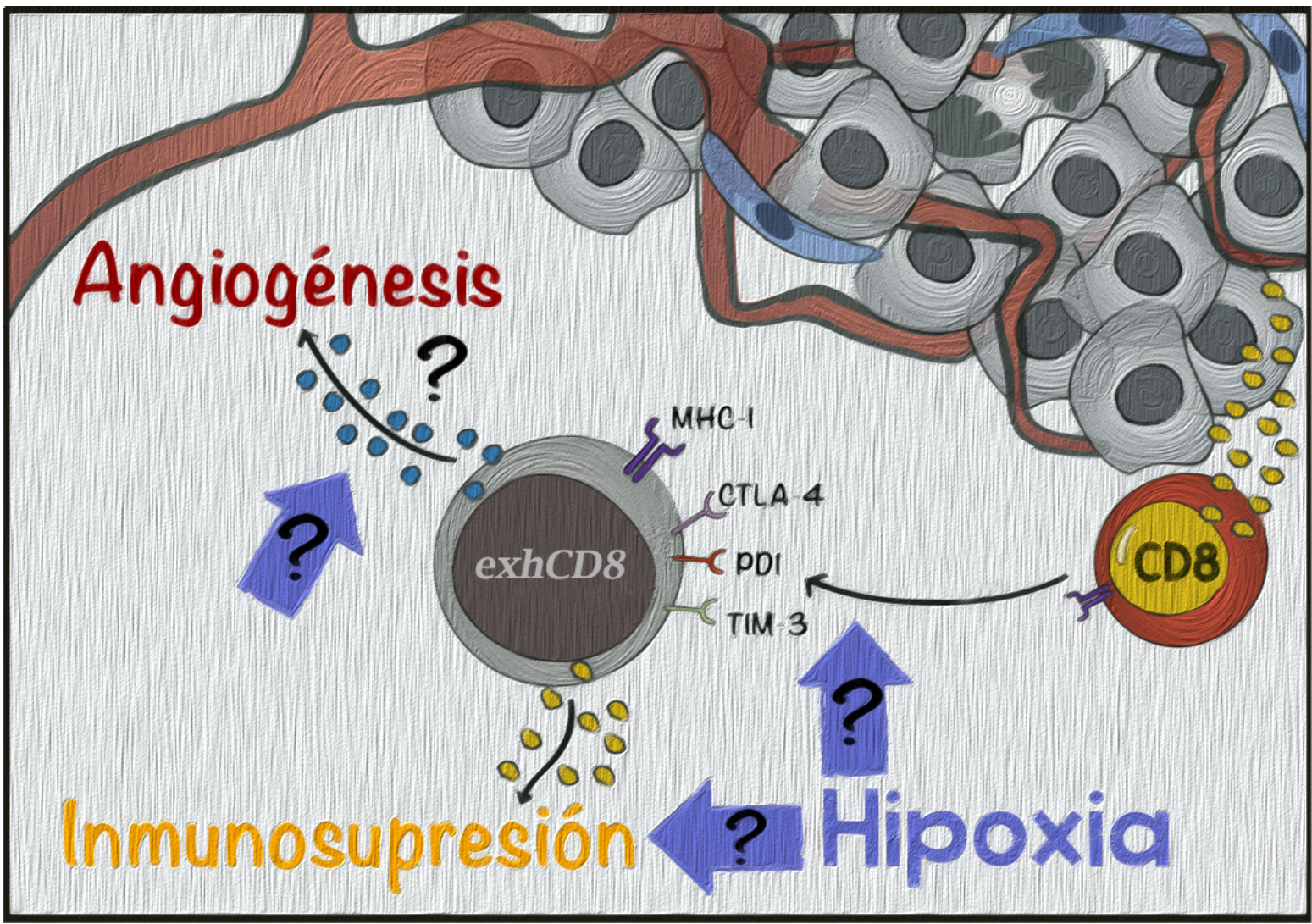
INTRODUCCIÓN

Desde hace ya varios años sabemos que las células tumorales por sí solas no son suficientes para generar cáncer, sino que el microambiente tumoral (TME) es el principal determinante de la progresión tumoral, siendo la hipoxia, la angiogénesis y la inmunosupresión características cruciales e íntimamente relacionadas. Entre los mecanismos inmunosupresores del TME, se destaca el **exhaustamiento de células T**, dada su implicancia en las terapias de bloqueo de puntos de control inmunológicos (ICB). Por otro lado, la **angiogénesis aberrante** que caracteriza al TME, favorece la generación de **hipoxia** y pH ácido, que a su vez favorecen la inmunosupresión y promueven el deterioro de la funcionalidad de células T. Entender los mecanismos moleculares que subyacen al exhaustamiento de células T y a la aparente relación recíproca entre inmunosupresión y angiogénesis, nos permitirá diseñar estrategias terapéuticas racionales para entender y eventualmente superar la restricción en la eficacia de las terapias antitumorales actuales.

OBJETIVO: Evaluar el efecto de la hipoxia sobre el exhaustamiento de células T CD8+ *in vitro* con el fin de desarrollar nuevas herramientas terapéuticas que potencien el uso de ICB.

MATERIALES Y MÉTODOS

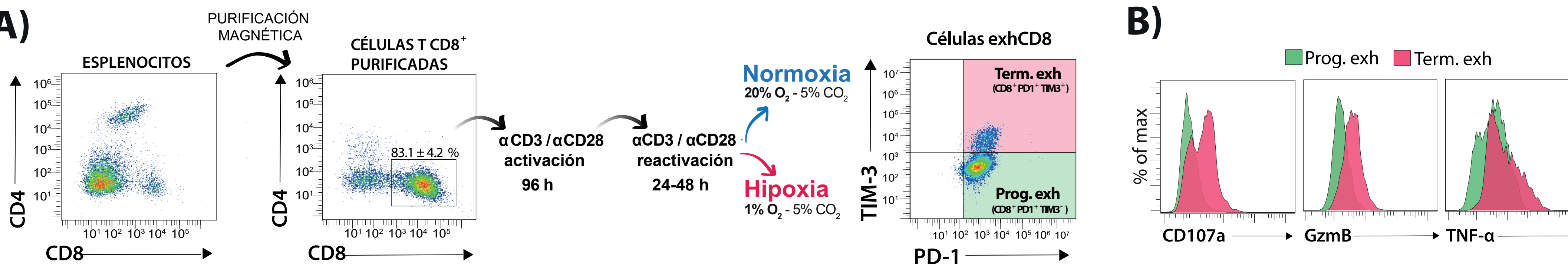
Obtuvimos linfocitos T CD8+ de bazo de ratones C57/BL6 mediante purificación magnética y los expusimos a un protocolo de activación/reactivación con anti-CD3/anti-CD28 para generar células T CD8+ exhaustas (exhCD8) en normoxia (20% O₂), hipoxia (1% O₂) o en presencia de 50 ng/ml de VEGF. Mediante citometría de flujo analizamos la expresión de receptores inhibitorios (PD-1, TIM-3, CXCR5), citoquinas (IL-2, TNF, IFN-γ), Granzima B (GzmB) y degranulación (presencia de CD107a en la membrana plasmática). Evaluamos la secreción de factores proangiogénicos en los medios condicionados obtenidos a partir de células T CD8 naive, activadas y exhaustas (exhCD8) incubadas en normoxia (20% O₂) e hipoxia (1% O₂), a través de un array de citoquinas. También cuantificamos la secreción de VEGF mediante ELISA en los medios condicionados de células exhCD8 progenitoras y terminales.



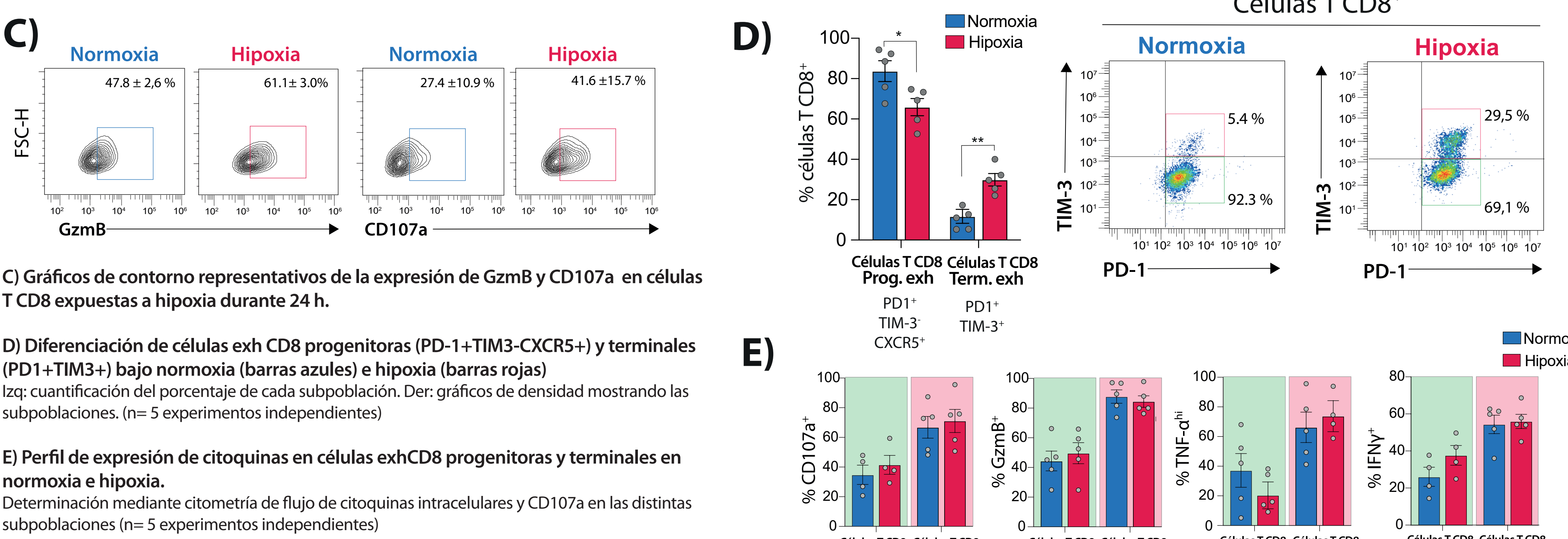
Hipótesis General: la activación de mecanismos moleculares asociados a la falta de oxígeno (hipoxia), característica del microambiente tumoral, modula la generación de células T CD8 exhaustas, así como su efecto proangiogénico e inmunosupresor.

RESULTADOS

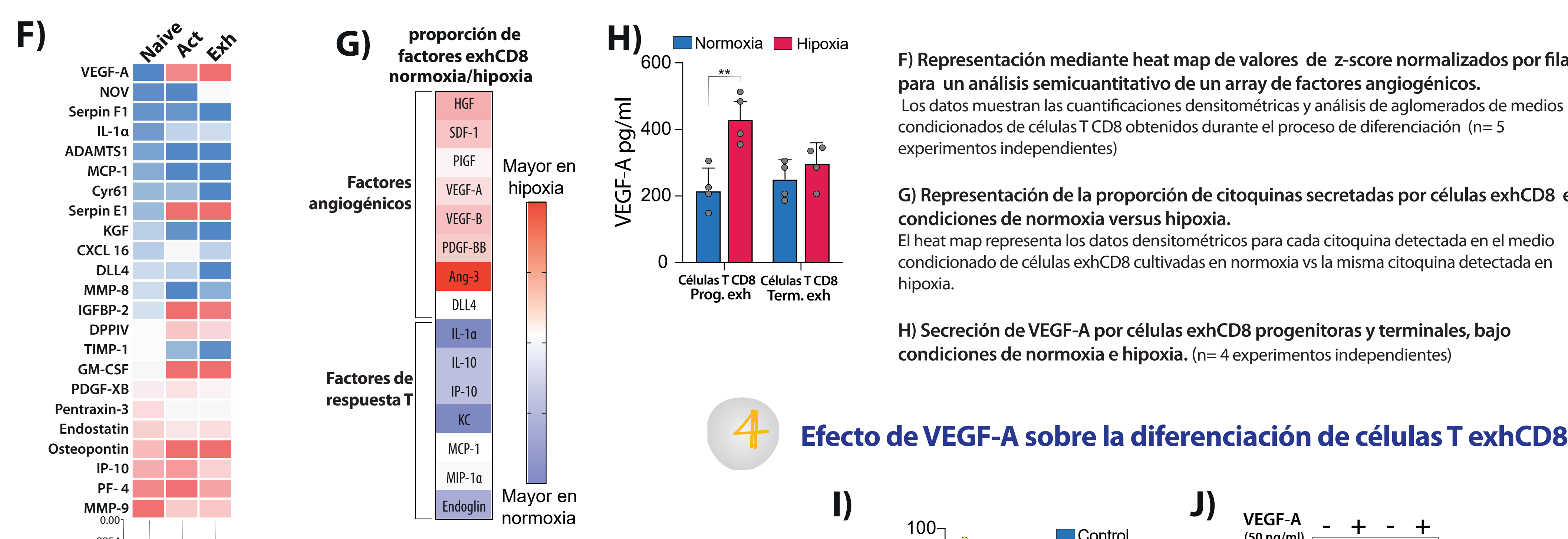
1 Aislamiento de células T CD8 y diferenciación de exhCD8



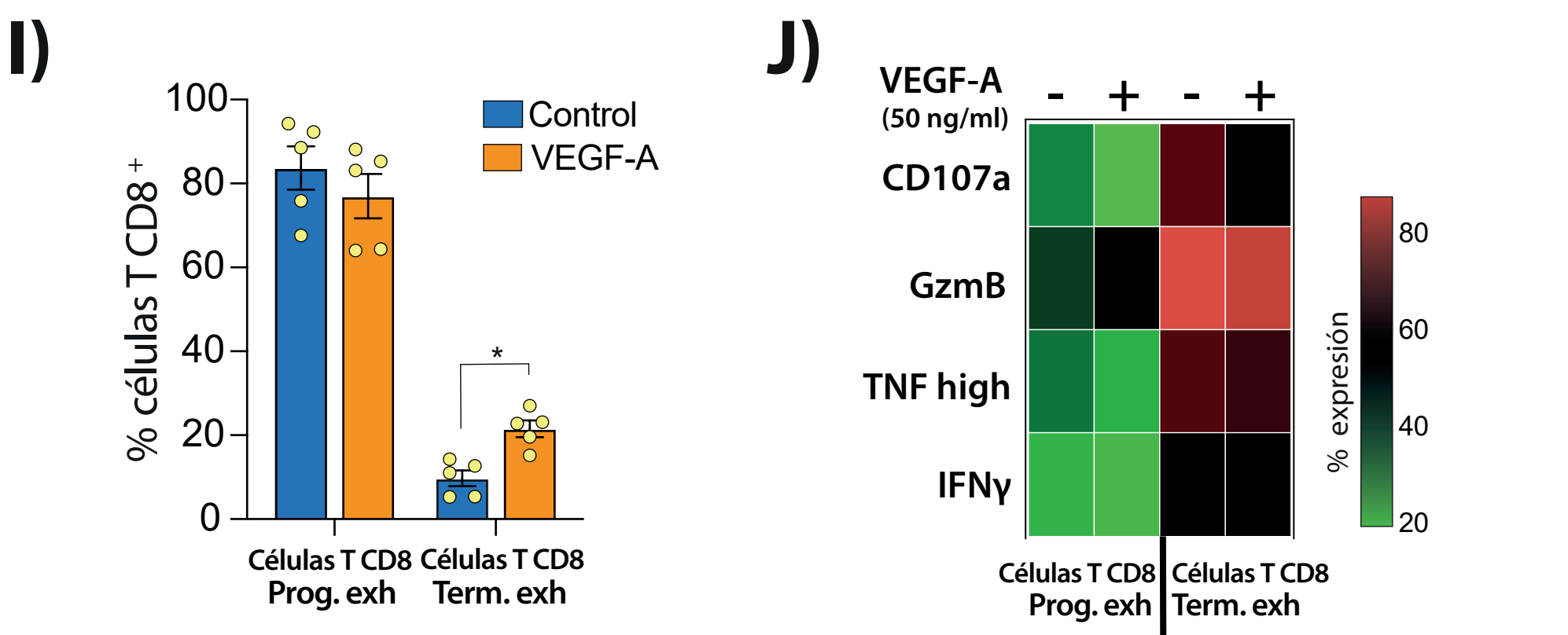
2 Efecto de la hipoxia sobre las células T CD8



3 Secreción de factores angiogénicos durante la diferenciación de células T CD8



4 Efecto de VEGF-A sobre la diferenciación de células T exhCD8



CONCLUSIONES

Nuestros hallazgos proponen una cooperación entre programas de disfuncionalidad y angiogénesis en células exhCD8, que estaría fomentando simultáneamente el escape inmunológico y la neovascularización tumoral, contribuyendo a una comprensión más profunda de la relación recíproca entre la angiogénesis y la inmunosupresión, y proporcionando un fundamento racional para optimizar las estrategias terapéuticas combinadas utilizando inhibidores de HIF o compuestos antiangiogénicos más ICB, con el objetivo de lograr terapias contra el cáncer más efectivas.