ISBN: 978-84-09-89635-6

XIV

JORNADA CIENTÍFICA

DE LA SOCIEDAD DE

INMUNOLOGÍA

DE LA COMUNIDAD DE MADRID

LIBRO DE COMUNICACIONES

DE LA 14 JORNADA CIENTÍFICA DE LA SOCIEDAD DE INMUNOLOGÍA DE LA COMUNIDAD DE MADRID (SICAM)

MADRID, 2 DE OCTUBRE DE 2026

SICAM

Libro de Comunicaciones de la 14 Jornada Científica de la Sociedad de Inmunología de la Comunidad de Madrid (SICAM)
Madrid, 2 de octubre de 2026

ISBN: 978-84-09-89635-6
Edita: Sociedad de Inmunología de la Comunidad de Madrid (SICAM)
Dirección editorial: Avda. Reina Victoria, 56, Esc. 1, Planta 1, Puerta A, 28003 Madrid
Compilado por: Sociedad de Inmunología de la Comunidad de Madrid (SICAM)
Editores: Paulette Walo, Paula Cárdenas

Edición: 1.ª edición, edición bilingüe
Formato: Publicación digital en formato PDF descargable
Fecha de aparición: 2 de octubre de 2026
Materias: Inmunología
Idiomas: Español/Castellano, inglés

Los contenidos de las comunicaciones incluidas en esta publicación son responsabilidad de sus respectivos autores. Las opiniones, resultados y conclusiones expresados en ellas corresponden a sus autores y no representan necesariamente la posición de la Sociedad de Inmunología de la Comunidad de Madrid.

© 2026 Sociedad de Inmunología de la Comunidad de Madrid (SICAM)
Todos los derechos reservados. Queda prohibida la reproducción, distribución, comunicación pública o transformación total o parcial de esta obra sin la autorización de los titulares de los derechos, salvo en los supuestos legalmente previstos.

Índice

	Página
COMUNICACIONES ORALES — INMUNOLOGÍA BÁSICA	2
Sustained local delivery of a pH-responsive peptide–drug conjugate elicits CD8⁺ T cell-dependent tumor control in a melanoma model	3
HIF-1α Deficiency in ILC3s Drives Sex-Dimorphic and Microbiota-Dependent Colitis-Associated Colorectal Cancer	4
Desarrollo de una nueva terapia CAR-T académica dirigida al TCR en neoplasias de células T	5
El desorden intrínseco como trampa oculta en la predicción de epítopos B: hallazgo y corrección en un pipeline computacional de diseño vacunal.	6
Alteraciones hepáticas en la leucemia linfoblástica aguda: relación entre infiltración leucémica, inflamación y microambiente hepático	7
TAP-independent antigen presentation during cytomegalovirus infection	8
Evaluating the immunogenicity of novel HCMV antigens as potential vaccine candidates	9
COMUNICACIONES ORALES — INMUNOLOGÍA CLÍNICA	10
Common Variable Immunodeficiency, same name but different etiologies: unraveling heterogeneity through functional and genetic profiling	11
Heterogeneidad etiológica en el estudio de TRECS para el cribado neonatal de inmunodeficiencia combinada grave: un reto diagnóstico y terapéutico en la ontogenia T	12
Therapeutic targeting of CCR7 improves outcomes in a preclinical model of acute graft-versus-host disease	14
Mast cell desensitization induces a distinct IgE-dependent transcriptional program associated with immune regulation	16
Trogocytosis and fratricide killing impair HER2- and B7H3-directed CAR-T cells, but not STAb-T cells functionality in breast cancer	17
Aumento de la frecuencia de células T específicas frente al rinovirus, con preservación de las respuestas Th1/Tc1 en la EPOC.	18
Distinct Complement Dysregulation Profiles Define Clinical Outcomes in ANCA-Associated Renal Vasculitis	19
El universo de la neuroinflamación: el camino de los receptores adrenérgicos hacia los errores innatos de la inmunidad	20

Página

PÓSTERS — INMUNOLOGÍA BÁSICA

Firmas inmunitarias sistémicas compartidas y diferenciales en enfermedad de Graves y enfermedad tiroidea ocular 22

Microbial metabolism of dairy antigens by human oral bacteria alters their immunogenicity 23

Modulación del estado de activación de células dendríticas en un equivalente dérmico humano in vitro tridimensional 24

Pseudomonas aeruginosa metabolizes food allergens and attenuates allergic inflammation 25

Peanut allergoids conjugated to mannan as novel vaccine candidates for allergen-specific immunotherapy: unraveling their immunological mode of action 26

HIF-1α regula la adaptación metabólica de las Treg RORγt⁺ y la dinámica tisular de los linfocitos durante la inflamación intestinal. 27

T cell–specific lamin A/C regulates intestinal inflammation and colitis-associated colorectal cancer development. 28

WIN55,212-2 revierte el programa inflamatorio de tipo 2 inducido por IL-13 en queratinocitos humanos y activa el eje PERK-ATF4 de la respuesta integrada al estrés 29

Modulación mediada por MAPK13 de proteínas desencadenantes del asma en la señalización inflamatoria del músculo liso bronquial 30

Marcadores proteómicos del Oxi-Inflamm-Aging en células inmunes humanas: potenciales biomarcadores y posibles dianas terapéuticas 31

Efectos biológicos de mezclas ambientales de hidrocarburos aromáticos policíclicos asociados al material particulado PM10 en el epitelio y el endotelio pulmonar 32

Diversidad y diferenciación de los linfocitos B de la mucosa nasal en niños menores de dos años con bronquiolitis 33

Alternative routes to MHC-I loading: TAP-independent presentation of vaccinia virus epitopes 34

Comparative Proteomic and Immunogenic Characterization of Cytomegalovirus Dense Bodies Generated in Epithelial and Fibroblast Cells 35

miR-28 Regulates Germinal Center Duration and Antigen-Specific B Cell Selection 36

Modulación por el sistema del complemento de las etapas tempranas de la infección por Leishmania en ratón 37

Disfunción del eje PSGL-1/P-selectina y alteración de la proteostasis en monocitos de pacientes con esclerosis sistémica 38

The tumor suppressor ARF regulates M2 alternative polarization of macrophages by modulating STAT6 nuclear export. 39

Los pacientes deficientes en ISGilación presentan un mayor riesgo de autoinmunidad y enfermedad atópica 40

The regulation of the intestinal epithelial barrier by the endocannabinoid system 41

Ayuno intermitente, autofagia y células madre hematopoyéticas: un nuevo eje metabólico frente a la inmunosenescencia 42

Induction of trained immunity in tissue-resident fibroblasts 43

Página

PÓSTERS — INMUNOLOGÍA BÁSICA

Activación diferencial de linfocitos B de trucha arcoíris (Oncorhynchus mykiss) inducida por el entrecruzamiento del BCR con anti-IgM conjugado a dextranos. 44

Implicación de las integrinas β2 como mediadoras en el proceso de NETosis 46

Papel del Factor H del complemento en el condicionamiento tumoral de macrófagos 47

Contribución del compartimento granulocítico a la progresión de la leucemia linfoblástica aguda de células B 48

Nueva estrategia basada en CRISPR/Cas9 para el análisis del inmunopeptidoma de HLA específico de alelo utilizando un anticuerpo pan-HLA 49

CRISPR/Cas9-Mediated Deletion of Classical HLA-I Molecules Enables Analysis of the Non-Classical HLA Immunopeptidome 50

Exercise-Induced Immune adaptations: characterization of functional cell-cell contacts in peripheral blood, a research proposal 51

Papel de HIF-1α en las células innatas RORγt+ y su impacto en el metabolismo 52

Diseño de una estrategia de PCR-SBT para el estudio de la variabilidad del péptido LMP-$1_{354–362}$ del virus de Epstein-Barr en muestras de ganglio linfático de linfoma de Hodgkin parafinado. 53

Enterocyte Autoantibodies (GECAs) and HLA: Their Relationship with HIV Infection Pathogenesis 54

Genetics of inbred druze population from palestinian region and its relationship with other mediterraneans 55

Circulating carbohydrate antigen Ca10H predicts favorable prognosis in colorectal cancer 56

FGF21 modula el fenotipo de los macrófagos y favorece la inmunosupresión en el colangiocarcinoma intrahepático 57

Función de los receptores de tipo NK y el TCRγδ en células “innate-like” residentes en los tejidos. Capacidad de activación de los linfocitos T γδ: El papel de los NKR y el TCRγδ 58

Phenotypic and functional characterization of hMSC-TERT cells as an FRC-like stromal model of the CLL lymph node microenvironment 59

Identifying different neuroendocrine lineages using soluble immunecheckpoints and cytokines 60

La presentación de antígenos derivados de ncORFs es altamente dependiente de los motivos de anclaje de HLA-I. 61

HLA-G limits the function of CD8+ILT2+ T cells and promotes de novo CD24 expression 62

Physiological regulation and functional persistence of effector responses enhance the therapeutic efficacy of anti-pTα TRuC-T cells over CAR-T cells in T-ALL 65

Trispecific T-cell engager-secreting T cells for dual targeting of B7-H3+ and/or HER2+ tumors 66

Detección del SNP c.97C>T en el exón 1 de DRB3 por PCR-SBT para la identificación del alelo nulo DRB3*01:133N 70

Página

PÓSTERS — INMUNOLOGÍA BÁSICA

Generación de plataformas de células CAR-Tαβ y CAR-Tγδ universales específicas del pre-TCR como una inmunoterapia innovadora y segura frente a leucemia linfoblástica aguda de células T (LLA-T) 74

Preparados polibacterianos en la colitis ulcerosa: efecto sobre las células caliciformes 75

Targeting of ibrutinib resistance–driving pathways by miR-28 in ABC-DLBCL 76

Hepatic stellate cells (HSC)-derived TPL2/COT/MAP3K8 protects against liver fibrogenesis 77

Redox homeostasis in liver fibrosis: the Keap1/Nrf2 axis 78

PÓSTERS — INMUNOLOGÍA CLÍNICA

Autoanticuerpos pancreáticos como herramienta diagnóstica en diabetes autoinmune: validación de un ELISA automatizado 80

STAT4 rs7574865 TT genotype is associated with a severe inflammatory phenotype and increased treatment burden in early arthritis: a multicenter cohort study. 81

Síndrome antifosfolipídico: de la trombosis a la hemorragia. La paradoja del SAL-HPT 83

Anticuerpos anti-Vimentina Citrulinada Mutada en artritis reumatoide: ¿aportan valor diagnóstico en pacientes seronegativos? 84

Limitaciones de la inmunofluorescencia indirecta en el estudio de la miastenia gravis 85

Utilidad de la lamina A/C como biomarcador de gravedad tisular y diagnóstico diferencial en la enfermedad inflamatoria intestinal 87

Validación metodológica y técnica de la determinación por citometría de flujo de linfocitos T-CD8+ activados con fenotipo de migración intestinal para el diagnóstico de Enfermedad Celíaca 88

Optimización del algoritmo diagnóstico en miopatías inflamatorias: de la sospecha clínica a la probabilidad postest 90

Comparativa entre técnicas de detección de anticuerpos anti Receptor de Acetilcolina (anti-AchR) 93

Miopatía necrotizante inmunomediada por anticuerpos anti-HMGCR en paciente expuesta a rosuvastatina. 96

Optimización de los puntos de corte del ELISA para la detección de autoanticuerpos frente al receptor de la fosfolipasa A2 mediante comparación con inmunofluorescencia indirecta. 98

Concordancia y rendimiento diagnóstico de IFI, ELISA y FEIA en la determinación de anticuerpos anti ATPasa H^+/K^+ y anti factor intrínseco 99

Utilidad diagnóstica de los niveles elevados de IgG4 sérica y marcadores asociados en la enfermedad relacionada con IgG4 100

Página

PÓSTERS — INMUNOLOGÍA CLÍNICA

DRESS en paciente polimedicado con mieloma múltiple: aportación del test de transformación linfocitaria al estudio de la causalidad farmacológica	101
El receptor del complemento CR2/CD21 como biomarcador pronóstico en la neumonía adquirida en la comunidad.	102
Increased anti-Nucleocapsid secretory IgA and consumption of complement component 3 in post-COVID syndrome patients	104
Altered Spike- and Nucleocapsid-Specific Antibody Patterns in Post-COVID Syndrome	106
Leishmaniasis visceral recurrente en una paciente adulta con fenotipo de inmunodeficiencia combinada: a propósito de un caso.	108
Anti-CMV immunoglobulins increase the percentage of CD8 T cells that produce interferon gamma against the CMV IE1 antigen: Concept change in thoracic recipients	109
Characterisation of a Post-COVID Syndrome Cohort in the Community of Madrid	110
Caracterización clínica y molecular de la haploinsuficiencia de A20: un caso de expresividad variable intrafamiliar	112
High-dimensional spectral flow cytometry profiling reveals systemic immune dysregulation in pediatric patients with cystic fibrosis	113
Expandiendo el espectro clínico de las alteraciones en HCK: caracterización de una nueva variante asociada a autoinflamación	114
Discriminación diagnóstica y estratificación fenotípica de la respuesta humoral vacunal en pacientes con inmunodeficiencia primaria y secundaria	115
Nueva variante p.Gly91Asp EN CD8A: caracterización inmunológica y funcional de un caso de deficiencia congénita de CD8.	116
Anticuerpos anti-Saccharomyces cerevisiae (ASCA) como potencial biomarcador en la Enfermedad Granulomatosa Crónica.	117
Eritroblastopenia grave por parvovirus B19 como presentación de una alteración de IKZF1 asociada a desregulación inmunitaria	118
Subpoblaciones linfocitarias T y B y riesgo de complicaciones no infecciosas en la inmunodeficiencia común variable.	120
Infección por sapovirus en el paciente trasplantado pulmonar: un reto terapéutico.	121
Afectación neurológica en la Inmunodeficiencia Variable Común: espectro clínico y retos diagnóstico-terapéuticos	122
Inmunodeficiencia variable común, citopenias autoinmunes y enfermedad granulomatosa, debido a probable herencia oligogénica por variantes en los genes TNFRSF13B e IFIH1. A propósito de un caso.	123

Página

PÓSTERS — INMUNOLOGÍA CLÍNICA

Programa de transición multidisciplinar de inmunología pediátrica a adultos en errores congénitos de la inmunidad: experiencia de 5 años en un hospital de referencia 124

Caracterización del perfil inmunológico en una cohorte de pacientes con deficiencia constitucional de reparación de errores de apareamiento (CMMRD) 125

Patterns of inheritance of inborn errors of immunity in a cohort of B-cell lymphoproliferative disorders 126

Valor analítico y pronóstico de Hevylite® en gammapatías monoclonales: clonalidad e inmunoparesia como marcadores de evolución 129

Inflammatory, nutritional and metabolic phenotype in patients with lung cancer at diagnosis 130

Biopsia líquida: identificación de firmas inmunológicas para el diagnóstico de la endometriosis y de su progresión al cáncer de ovario asociado 131

Unraveling the Effects of an Active Lifestyle in Breast Cancer Survivorship: Clinical and Immunometabolic Insights During Endocrine Therapy 132

Tratamiento con brexucabtagene-autoleucel en el linfoma de células del manto con compromiso del SNC: reporte de un caso 133

Expresión y función de ILT2 e ILT4 en pacientes con cáncer colorrectal 135

Seguimiento clínico e inmunológico de la terapia CAR-T en una paciente con inmunodeficiencia primaria por deficiencia de CD8. 136

Punto de corte del índice de cadenas ligeras kappa libres para optimizar el algoritmo diagnóstico de esclerosis múltiple (EM) en HGUGM 137

Cálculo de puntos de corte de MFI de anticuerpos anti-HLA detectados mediante ensayos Single-Antigen Bead para predecir el resultado de pruebas cruzadas por citometría de flujo. 139

Ampliación del acceso al trasplante para candidatos altamente sensibilizados mediante integración de priorización, delisting de anticuerpos y desensibilización selectiva. 140

Reactivación de memoria T efectora en rechazo celular temprano del injerto intestinal en ausencia de anticuerpos 141

¿Puede la MFI de los anticuerpos donante-específicos predecir el resultado de la prueba cruzada por citometría de flujo en el trasplante renal? 142

Página

PÓSTERS DE PROTOCOLOS

Development of PolyFIL (Functional Immune Liquid Biopsy) for the surveillance of high-risk colorectal neoplasias 144

Protocolo de prescripción de autovacunas sublinguales para prevenir infecciones de repetición en pacientes inmunosuprimidos. 145

Nueva guía ERS 2026 para el cribado y diagnóstico de GLILD en pacientes con IDVC: implicaciones para la práctica clínica 146

Protocolo del Hospital Universitario Puerta de Hierro para implementar la técnica del empuje manual en los pacientes candidatos a terapia de reemplazo de inmunoglobulinas. 148

Application of KASP for genotyping of SNPs by qPCR 150

Desarrollo de una PCR-SSP para la determinación específica de HLA-B27 151

COMUNICACIONES ORALES

BÁSICAS

Sustained local delivery of a pH-responsive peptide–drug conjugate elicits CD8⁺ T cell-dependent tumor control in a melanoma model

Nuria Lafuente-Gómez(1,2,3), Shawn Kang(1,2), Wenjun Wang(1,2), Ryann A. Joseph(1,2), Duncan M. Morgan(1,2), Christopher Johnson(2), Des White(2), Hamza Ijaz(2), Kelsey G. Bhola(1), Blake Hanan(1,2), David J. Mooney(1,2)
1 Harvard John A. Paulson School of Engineering and Applied Sciences, Harvard University, Cambridge, MA, 02138, USA
2 Wyss Institute for Biologically Inspired Engineering, Harvard University, Boston, MA, 02115, USA
3 Immunology Service, Hospital Universitario de la Princesa, Instituto Investigación Sanitaria Princesa, Madrid, 28006, Spain

The efficacy of immunotherapies in solid tumors is limited by insufficient tumor-selective delivery and an immunosuppressive tumor microenvironment. To exploit the acidic tumor microenvironment for selective drug delivery, we developed a pH-responsive dual-payload peptide–drug conjugate (PDC) bearing the chemotherapeutic paclitaxel (PTX) and a STING agonist and delivered it locally using an injectable mesoporous silica rod depot (MSR-PDC) (Fig. 1).

The strategy was evaluated in B16F10-OVA, a syngeneic murine melanoma model. Under acidic conditions, the peptide showed enhanced association with B16F10-OVA cells in vitro. PTX-bearing conjugates reduced cell viability and increased apoptosis and calreticulin exposure, whereas the STING agonist-containing dual conjugate increased the frequencies of bone-marrow-derived dendritic cells expressing high levels of CD86 or CD40 and producing IL-12/IL-23 in tumor cell–dendritic cell co-cultures. In vivo, MSR-PDC delayed tumor growth and prolonged survival relative to untreated and bolus-treated controls.

Immune profiling revealed an approximately twofold increase in the intratumoral CD8⁺/CD4⁺ T cell ratio, together with increased frequencies of antigen-specific tumor-infiltrating CD8⁺ T cells and enhanced systemic IFNγ responses. In a bilateral tumor model, local MSR-PDC treatment delayed the growth of both the treated primary tumor and the untreated contralateral tumor and increased antigen-specific CD8⁺ T cells at both sites, demonstrating abscopal tumor control. Tumor-draining lymph nodes showed T cell expansion, while transcriptomic analysis identified cytotoxic and interferon-response programs in T cells from the primary tumor-draining lymph node. The addition of PD-1 blockade prolonged survival relative to MSR-PDC alone, with two of eight mice achieving complete regression and resisting rechallenge. Together, these findings establish a strategy that converts localized, acid-selective drug delivery into systemic CD8⁺ T cell-dependent immunity.

By avoiding reliance on a predefined tumor antigen, this platform could be extended across solid tumors, allowing antitumor immunity to be shaped by tumor antigens released in situ without requiring individualized reformulation.

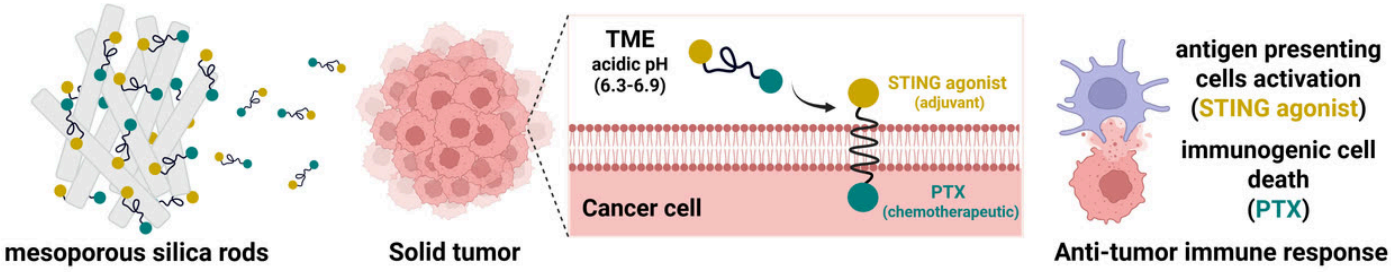


Figure 1. Schematic illustration of pH-responsive peptide delivery from mesoporous silica rods to solid tumors, enabling membrane insertion into cancer cells and induction of an antitumor immune response

HIF-1α Deficiency in ILC3s Drives Sex-Dimorphic and Microbiota-Dependent Colitis-Associated Colorectal Cancer

Raquel Castillo-González[1,2], Lucía Sancho-Temiño[1,2], Alba Seguí-Pérez[1,2], Daniel Arvelo-Rosario[1,2], Cristina Mena-Herrero Gascón[1], María-Jesús Fernández-Aceñero[3], Mercedes Gómez de Agüero[4], Aranzazu Cruz-Adalia[1,2]

[1] Department of Immunology, Ophthalmology and ENT, Faculty of Medicine, Complutense University of Madrid, Madrid, Spain
[2] Instituto de Investigación Sanitaria Hospital 12 de Octubre (imas12), Madrid, Spain
[3] Department of Pathology, Hospital Clínico San Carlos, Madrid, Spain
[4] Institute of Systems Immunology, Julius-Maximilians-Universität Würzburg, Germany

Background: Type 3 innate lymphoid cells (ILC3s) are key regulators of intestinal homeostasis and inflammation and have been implicated in colitis-associated colorectal cancer (CAC). Hypoxia is a hallmark of inflamed and tumor tissues, where HIF-1α regulates cellular adaptation to low oxygen availability. However, the role of HIF-1α in ILC3s during CAC remains poorly understood.

Aim: To investigate how HIF-1α deficiency in ILC3s affects colorectal tumor development, microbiota homeostasis, and sex-specific immune responses during CAC.

Results: Using RAG-1 knockout mice with ILC3-specific HIF-1α deletion (RAG-1 KO HIF-1αΔRorc) subjected to AOM/DSS-induced CAC, we identified a sex-dimorphic phenotype. Female HIF-1α-deficient mice exhibited reduced survival, greater weight loss, and more severe colitis than WT mice, whereas males showed no significant differences. Under separate housing, HIF-1α-deficient females developed increased tumor burden, invasive adenocarcinoma, and elevated $Ki67^+$ proliferation. Remarkably, these phenotypes were reversed by co-housing with WT littermates, indicating a microbiota-dependent mechanism. Flow cytometry revealed increased immune cell accumulation within tumors of separately housed HIF-1α-deficient females, which was reversed by co-housing. Longitudinal 16S rRNA sequencing showed impaired microbiota recovery following inflammation, resulting in persistent dysbiosis during disease progression. Tumor transcriptional analysis revealed stage-dependent immune alterations: IL-22, IFN-γ, and IL-10 were reduced during DSS-induced inflammation, whereas established tumors displayed selective upregulation of lymphotoxin-β (LT-β), without significant changes in TNF-α, IL-22, or IFN-γ. Notably, LT-β upregulation was not reversed by co-housing.

Conclusions: HIF-1α in ILC3s exerts a protective role against CAC in a sex-dimorphic manner, particularly in females. Loss of HIF-1α is associated with impaired microbiota recovery, persistent dysbiosis, increased tumor-associated immune cell accumulation, and exacerbated inflammation and tumorigenesis, largely reversed by co-housing with WT mice. These findings identify a HIF-1α-ILC3-microbiota axis underlying sex-specific susceptibility to CAC. Further studies are required to elucidate mechanisms linking microbiota alterations, immune responses, and sex hormones in this context.

Desarrollo de una nueva terapia CAR-T académica dirigida al TCR en neoplasias de células T

Maria Diez-Alcaraz 1, Ivan Estevez-Benito 1, Claudia Estrella de la Cuesta 1, Pablo Engel 2, Balbino Alarcon 3, Ana V. Marin 1 , Jose R. Regueiro 1

1: Departamento de Inmunología, Oftalmología y ORL, Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid e Instituto de Investigación Sanitario 12 de Octubre (i+12), Madrid, España.
2: Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS) y Unidad de Inmunología, Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud, Universidad de Barcelona, España.
3: Desarrollo y función del sistema inmunitario, Centro de Biología Molecular Severo Ochoa , Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) y Universidad Autónoma de Madrid (UAM), Madrid, España.

El síndrome de Sézary es una neoplasia agresiva de linfocitos T caracterizada por la expansión clonal de células tumorales en piel, sangre y ganglios linfáticos, asociada a un pronóstico desfavorable y supervivencia limitada. Las opciones terapéuticas disponibles son escasas, ninguna es específica y la única curativa es el trasplante de progenitores hematopoyéticos. Aunque las terapias CAR-T han transformado el tratamiento de neoplasias de células B, su aplicación en tumores de células T continúa siendo compleja por la falta de dianas capaces de distinguir con precisión las células malignas de los linfocitos T sanos. En este contexto, dirigir la inmunoterapia frente a regiones variables del receptor de células T (TCR) constituye una estrategia selectiva y prometedora.

El objetivo de este trabajo fue desarrollar una terapia CAR-T dirigida frente a la región variable TCR-Vβ3 utilizando el anticuerpo monoclonal comercial JOVI-3. Para ello, se validó la expresión de TCR-Vβ3 en líneas celulares, se diseñaron y evaluaron dos fragmentos variables de cadena única (scFv) derivados del anticuerpo y se seleccionó la configuración con mayor reconocimiento específico. Se generó un CAR de segunda generación basado en la arquitectura del ARI0001 (CAR anti-CD19) y se expresó en linfocitos T humanos obtenidos de PBMC mediante transducción lentiviral. Los ensayos funcionales demostraron una elevada eficiencia de transducción del CAR y una potente actividad citotóxica específica frente a células TCR-Vβ3+.

En conjunto, estos resultados apoyan el potencial terapéutico de las células CAR-T dirigidas a regiones variables del TCR para tratar selectivamente neoplasias de células T.

El desorden intrínseco como trampa oculta en la predicción de epítopos B: hallazgo y corrección en un pipeline computacional de diseño vacunal.

Enzo Sierra Vera[1], Carlos Oscar Sorzano[1]
[1]Unidad de Biocomputación, Centro Nacional de Biotecnología (CNB-CSIC), Madrid

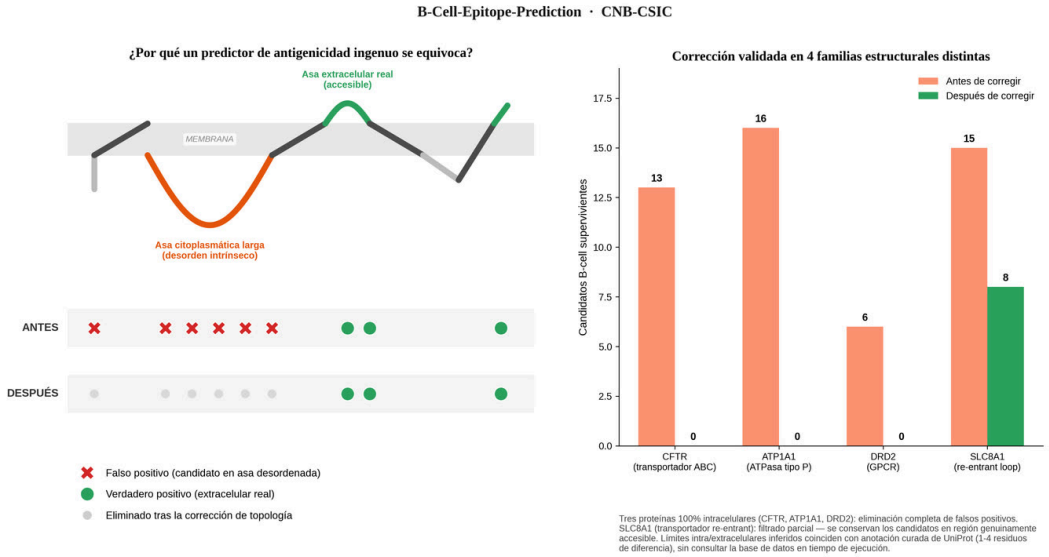
Introducción: El diseño de vacunas basadas en epítopos exige integrar, de forma coherente, predicción de antigenicidad, filtrado de seguridad inmunológica y ensamblaje del constructo final, un proceso que hoy se resuelve encadenando servidores web dispersos, sin garantía de reproducibilidad ni control sobre los datos.

Objetivos: Construir un pipeline íntegramente local, sin llamadas de red en tiempo de ejecución, que prediga epítopos B y T desde secuencia o estructura, filtre candidatos por seguridad biológica, y ensamble automáticamente un constructo vacunal completo.

Materiales y Métodos: Se integraron 16 herramientas en 11 fases: antigenicidad B-cell por secuencia (BepiPred-3.0, EpiDope) y por estructura 3D (DiscoTope-3.0, ScanNet); enmascarado de topología transmembrana (TMbed); autoinmunidad (BLASTp); alergenicidad (AlgPred 2.0); N-glicosilación (StackGlyEmbed); presentación T-helper y T-citotóxica (NetMHCIIpan-4.3, NetMHCpan-4.2, NetCleave); cruce con anticuerpos neutralizantes conocidos (LANL/CATNAP); y ensamblaje con chequeo final de todo el constructo (AlgPred2, ToxinPred2, IApred, SignalP-6.0).

Resultados: La validación reveló un sesgo sistemático: los predictores de antigenicidad B-cell puntúan alto en asas citoplasmáticas largas de proteínas multipaso (p. ej. CFTR), inaccesibles a anticuerpos pese a no ser TM ni péptido señal, coincidiendo con que son regiones intrínsecamente desordenadas, la señal que confunde a predictores "ingenuos". La corrección eliminó estos falsos positivos en un panel de cuatro proteínas estructuralmente diversas, con límites intra/extracelulares casi idénticos a las anotaciones curadas de UniProt (1-4 residuos), sin consultarlas en tiempo de ejecución. Sobre controles positivos, negativos, casos extremos y nueve secuencias reales de Env de VIH-1 (clados B y C), el pipeline generó predicciones coherentes, con hits de bnAb concordantes con la literatura y rechazo correcto de autotolerancia.

Conclusiones: El pipeline aporta una alternativa reproducible y auditable al diseño de vacunas multiepítopo, con un hallazgo mecanístico propio de interés general, y se está integrando como plugin de Scipion para su adopción por la comunidad de bioinformática estructural.



El desorden intrínseco de las asas citoplasmáticas largas genera falsos positivos sistemáticos en la predicción de epítopos B-cell. La inferencia de topología completa (Fase 3b) los elimina sin afectar regiones genuinamente extracelulares.

Alteraciones hepáticas en la leucemia linfoblástica aguda: relación entre infiltración leucémica, inflamación y microambiente hepático

A. Morón-Barón 1, S. González-Soto 1, A. Vigil-Siqueiros 1, L. Sánchez-Casanova 1, R. Sacedón 1, E. Jiménez 1, A. Varas 1, L. M. Fernández-Sevilla 2, Á. Vicente 1

1 Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España; 2 Departamento de Ciencias Básicas de la Salud, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Rey Juan Carlos, Madrid, España

Introducción: La leucemia linfoblástica aguda (LLA) es el cáncer pediátrico más frecuente. Aunque los avances terapéuticos han mejorado la supervivencia, la recaída y la toxicidad siguen siendo importantes retos clínicos. El hígado constituye una localización frecuente de infiltración leucémica; sin embargo, los mecanismos implicados en su afectación y en la remodelación de su microambiente permanecen poco caracterizados.

Objetivos: Analizar la afectación hepática en la LLA y la relación entre la infiltración leucémica, respuesta inflamatoria y células estrelladas hepáticas. Materiales y métodos: Se realizó un estudio retrospectivo en 75 pacientes pediátricos con LLA-B o LLA-T analizando parámetros bioquímicos hepáticos y variables clínicas. Además, se emplearon modelos xenogénicos y cocultivos de líneas leucémicas con células estrelladas para evaluar la respuesta inflamatoria, la remodelación hepática, el ciclo celular y la secreción de factores solubles.

Resultados: Los pacientes presentaron alteraciones bioquímicas hepáticas desde el diagnóstico, observándose una tendencia a mayor riesgo de recaída en aquellos con niveles muy elevados de AST y LDH al diagnóstico. En los modelos experimentales, la infiltración leucémica se asoció a una respuesta inflamatoria temprana y a una remodelación progresiva del microambiente hepático. La combinación de celecoxib con una dosis subóptima de metotrexato mejoró el control de la infiltración leucémica respecto al tratamiento quimioterápico aislado. Además, el cocultivo con células estrelladas disminuyó la proliferación de la línea Nalm6 y modificó la secreción de factores inflamatorios, cambios compatibles con el fenotipo de quimiorresistencia descrito por nuestro grupo.

Conclusiones: La afectación hepática parece formar parte del propio proceso leucémico y no solo de la toxicidad asociada al tratamiento. La infiltración leucémica se asocia a una remodelación inflamatoria del microambiente hepático, en la que las células estrelladas podrían desempeñar un papel relevante. La modulación de la inflamación podría constituir una estrategia terapéutica adyuvante para optimizar tratamientos quimioterápicos de menor intensidad.

TAP-independent antigen presentation during cytomegalovirus infection

Cristina Rodríguez-Rojas1*, Manuel Ramos Álvarez-Buylla1, Andrea C. Méndez1, Niels A.W. Lemmermann2,3, Luis C. Antón1 and Margarita Del Val1,*

1-Centro de Biología Molecular Severo Ochoa, CSIC-UAM, Madrid, Spain. *cristina.rrojas@cbm.csic.es *mdval@cbm.csic.es
2-Institute of Virology, Faculty of Medicine, University Hospital of Bonn University, Bonn, Germany
3-Institute for Virology, University Medical Center Mainz, Mainz, Germany

Cytotoxic T lymphocytes (CTLs) detect and eliminate infected cells by recognizing viral peptides presented by major histocompatibility complex (MHC) class I molecules on the cell surface. These peptides are mainly generated in the cytosol, where viral proteins are degraded into small peptide fragments. Some of these peptides are subsequently transported into the endoplasmic reticulum (ER) by the transporter associated with antigen processing (TAP). Once in the ER, they are loaded onto MHC class I molecules, and the resulting complexes are transported to the cell surface. Although this is the canonical antigen presentation pathway, certain peptides can still be presented when key components of this pathway are absent or inhibited. Understanding these alternative antigen presentation pathways and identifying the peptides generated through them is highly relevant for the development of novel vaccination strategies, as some viruses have evolved mechanisms to interfere with antigen presentation and evade immune surveillance. One such virus is cytomegalovirus, which encodes the US6 protein that specifically inhibits TAP function.

In this study, we aimed to identify murine cytomegalovirus (mCMV)-derived peptides that can be presented in the absence of TAP.

First, using immunopeptidomics, we identified several peptides presented by TAP-deficient murine embryonic fibroblasts (MEFs) infected with mCMV. We then demonstrated that TAP-deficient mice were able to generate CD8+ T-cell responses against one of these peptides and that these responses were cytotoxic. In vitro, we confirmed the ability of three peptides to be presented by dendritic cells and showed that their presentation in the absence of TAP required proteasomal processing. Finally, for two of these peptides, we demonstrated the involvement of signal peptide peptidase (SPP) in their processing and presentation, but only in TAP-deficient dendritic cells.

These findings suggest that distinct antigen-processing pathways may operate depending on the presence or absence of TAP.

Evaluating the immunogenicity of novel HCMV antigens as potential vaccine candidates

Serrano Rísquez C.(1), Martín Martín C. (1), Wang R. (3), García Ríos E. (2), Pérez Romero P. (3)
(1) Institute of Health Carlos III, Virology, Madrid, Spain
(2) Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos, Valencia, Spain
(3) University of Notre Dame, Biological Sciences, Notre Dame, United States

Developing an effective Human Cytomegalovirus (HCMV) vaccine remains a major global health challenge, particularly for protecting vulnerable immunocompromised individuals. An optimal vaccine would likely require a multiple-antigen formulation to induce a broad, protective immunity.

Through bioinformatic screening of the HCMV proteome, we previously identified 39 highly conserved proteins containing putative transmembrane domains. Their localization to either the viral envelope or the host cell membrane would make them promising candidates for multi-antigen vaccine development.

We characterized 20 of these highly conserved proteins to evaluate their expression, localization and immunogenicity. Candidate open reading frames were cloned into a eukaryotic vector and expressed in HEK 293T cells. Membrane localization was confirmed across all 20 proteins by separating the cytosolic and membrane protein fractions followed by Western blot.

To evaluate human humoral recognition, native cell lysates were screened by ELISAs using sera from 21 solid organ transplant recipients (20 of them seropositive with high HCMV titers). Overall, 15 proteins were specifically recognized by patient antibodies. Robust recognition of well-known immunogens, UL55 and UL83, validated the platform, while three targets RL10 (uncharacterized), UL16 (immune evasion), and UL14 (epithelial cell entry), elicited high antibody reactivity. Plasma membrane localization of RL10, UL14 and UL16 was confirmed in HEK 293T transfected cells using immunofluorescence, showing clear colocalization with plasma membrane cell mask staining.

Our results validate the membrane disposition and human immunogenicity of several novel HCMV targets, establishing RL10, UL14 and UL16 as high priority candidates currently advancing to in vivo preclinical vaccine testing.

COMUNICACIONES ORALES

CLÍNICAS

Common Variable Immunodeficiency, same name but different etiologies: unraveling heterogeneity through functional and genetic profiling

Celia Nieto-López1,2, Lucía Dueñas-Prieto1, Hye Sun Kuehn3, Juan D. Acevedo1, Luis A Andara1, María J. Díaz-Madroñero1, Kima López-Aldabe4, Juan José Fernández-Díaz4, Estela Paz-Artal1,2,5, Rebeca Pérez de Diego6, Rebeca Rodríguez-Pena7, Mario Framil8, Sergio D. Rosenzweig3, Oscar Cabrera-Marante1,2, Cristina Serrano9, Luis M. Allende1,2,5

1. Department of Immunology, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid, Spain.
2. Instituto de Investigación Sanitaria Hospital 12 Octubre (imas12), Madrid, Spain.
3. Immunology Service, Department of Laboratory Medicine, Clinical Center, NIH, Bethesda, Maryland, USA.
4. Department of Internal Medicine, Hospital Universitario Galdakao-Usansolo, Usansolo, Spain.
5. School of Medicine, Complutense University of Madrid, Madrid, Spain.
6. Laboratory of Immunogenetics of Human Diseases, IdiPAZ Institute for Health Research, La Paz Hospital, Madrid, Spain.
7. Department of Immunology, Hospital Universitario La Paz, Madrid
8. Department of Immunology, Centre Diagnostic Biomedic, Hospital Clinic de Barcelona, Barcelona, Spain
9. Department of Immunology, Fundación Jiménez Díaz, Madrid, Spain.

Background: Common variable immunodeficiency (CVID) represents a challenge for medical genomics, as it does not fully conform to a classical Mendelian inheritance model. Beyond the monogenic model, diverse molecular mechanisms, including polygenic contributions, somatic mutations, epigenetic modifications, and skewed X-chromosome inactivation, may play relevant roles in disease development, driving a broad clinical spectrum from classical antibody deficiency to complex immune dysregulation. Integrating clinical, immunological, functional, and genetic data is therefore essential to unravel this complexity and advance toward personalized precision medicine.

Methods: A single-center cohort of 80 adult CVID patients was evaluated using a targeted NGS panel of 476 primary immunodeficiency genes. Four complex genetic profiles underwent deep immunophenotyping, functional assays, and multiplex plasma cytokine profiling.

Results: Overall diagnostic yield reached 18.75% (15/80). We identified novel and rare pathogenic variants in key B-cell pathways. Patient 1 (P1) presented a novel IKZF1 variant (c.524G>A; p.Cys175Tyr) that disrupted early B-cell ontogeny, whereas Patient 2 (P2) exhibited a rare compound heterozygous defect in TNFRSF13B (p.Tyr79Cys/p.Cys104Arg) that affected peripheral B-cell activation, both manifesting a predominantly infectious/intermediate immune dysregulation phenotype. In contrast, Patients 3 and 4 presented with severe immune dysregulation. Patient 3 (P3) harbored a novel splice-site deficiency in LRBA (c.8468+1G>C), while Patient 4 (P4) exhibited concurrent heterozygous variants in BLK (c.403G>T; p.Glu135*) and EBF1 (c.1471G>A; p.Gly491Arg), supporting a novel oligogenic “double-hit” hypothesis. Functional assays validated the deleterious impact of these variants on intracellular signaling, B-cell maturation, and survival.

Conclusion: Our findings not only expand the known phenotypic spectrum but also underscore the value of functional assays in validating novel genotypes. Ultimately, this comprehensive profiling provides essential insights to refine prognosis and advance toward tailored medicine in CVID.

Heterogeneidad etiológica en el estudio de TRECS para el cribado neonatal de inmunodeficiencia combinada grave: un reto diagnóstico y terapéutico en la ontogenia T

Carlota C. Ruigómez-Martín1,2*, Celia Nieto-López1,2*, Lucía Dueñas-Prieto1, Juan Acevedo1, Francisco J. Gil-Etayo3, Inés Esteban-Diez4, Cristina Garcia-Muro4, Juan F. Quesada5,6, María J. Díaz-Madroñero1, Leyre Echeverría-Sádaba7, Samuel Martín-Rodríguez7, Elena García-González8, Marta González-Vicent9, Iván Bernardo10, Carmen Rodríguez-Vigil11, José T. Ramos-Amador2,12,13, Marta Fernández-Gaitán12, Nerea Salmón-Rodríguez12, Luis I. González-Granado2,12,13#, Luis M. Allende1,2,13#@

1. Department of Immunology, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid, Spain.
2. Instituto de Investigación Sanitaria Hospital 12 Octubre (imas12), Madrid, Spain.
3. Department of Hematology and Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca (IBSAL), Hospital Universitario de Salamanca, Salamanca, Spain.
4. Department of Pediatrics, Hospital Universitario San Pedro, Logroño, Spain.
5. Department of Genetics, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid, Spain
6. Dysmorphology and Genetics Unit (UDisGen), Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid, Spain
7. Genetics Section, Department of Clinical Analysis, Hospital Universitario San Pedro, Logroño, Spain
8. Newborn Screening Unit, Department of Clinical Chemistry, Hospital Universitario Miguel Servet, Zaragoza, Spain.
9. Hematopoietic Stem Cell Transplantation Unit, Hospital Universitario Niño Jesús, Madrid, Spain.
10. Department of Clinical Analysis, Hospital Universitario San Pedro, Logroño, Spain.
11. Department of Hemato-Oncology Pediatrics, Hospital Universitario Miguel Servet, Zaragoza, Spain.
12. Department of Pediatrics, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid, Spain.
13. School of Medicine, Complutense University of Madrid, Madrid, Spain.

Introducción: El cribado neonatal (NBS) mediante cuantificación de TRECs ha transformado el diagnóstico precoz de las inmunodeficiencias combinadas graves y otros defectos de linfopoyesis T. Sin embargo, los TRECs bajos/ausentes reflejan una disminución de la producción tímica sin identificar el mecanismo subyacente, por lo que su interpretación requiere integrar datos clínicos, inmunofenotípicos y genéticos.

Objetivo: Caracterizar tres mecanismos etiológicos asociados a TRECs alterados, relacionados con la ontogenia T. (Figura 1)

Material y métodos: Del estudio de NBS de Aragón, La Rioja y Navarra se describen tres pacientes con TRECs alterados y linfopenia T. Se realiza estudio de poblaciones T, B y NK, caracterización de linfocitos T naïve/memoria y emigrantes tímicos recientes, inmunoglobulinas y estudio genético mediante secuenciación masiva, confirmación por secuenciación directa Sanger y segregación familiar cuando fue necesario.

Resultados: P1 presentó un fenotipo compatible con SCID T−/B−/NK+ por defecto en DCLRE1C/Artemis enmascarado por la presencia del pseudogén DCLRE1CP1, con marcada linfopenia T, ausencia de linfocitos B, ausencia prácticamente completa de células T naïve, predominio de memoria efectora y síndrome de Omenn parcial que recibió trasplante de progenitores hematopoyéticos de donante familiar HLA idéntico. P2 correspondió a una variante heterocigota en FOXN1, también con linfopenia T y alteración del compartimento T con favorable evolución inmunológica compatible con manejo conservador y seguimiento frecuente. P3 presentó una variante en MSN, con linfopenia grave absoluta pero conservación relativa de compartimentos naïve y emigrantes tímicos recientes, sugiriendo un defecto de homeostasis periférica más que un fallo primario grave de producción tímica. (Ver Tabla 1 y Tabla 2)

Conclusiones: Los TRECs ausentes/bajos identifican un espectro de alteraciones inmunológicas que incluye SCID clásica, defectos de desarrollo tímico y alteraciones post-tímicas. La integración de NBS, inmunofenotipo específico y estudio molecular permite diferenciar pacientes candidatos a trasplante hematopoyético urgente o tímico de aquellos subsidiarios de vigilancia o estrategias alternativas, evitando tanto retrasos terapéuticos como intervenciones innecesarias.

Heterogeneidad etiológica en el estudio de TRECS para el cribado neonatal de inmunodeficiencia combinada grave: un reto diagnóstico y terapéutico en la ontogenia T

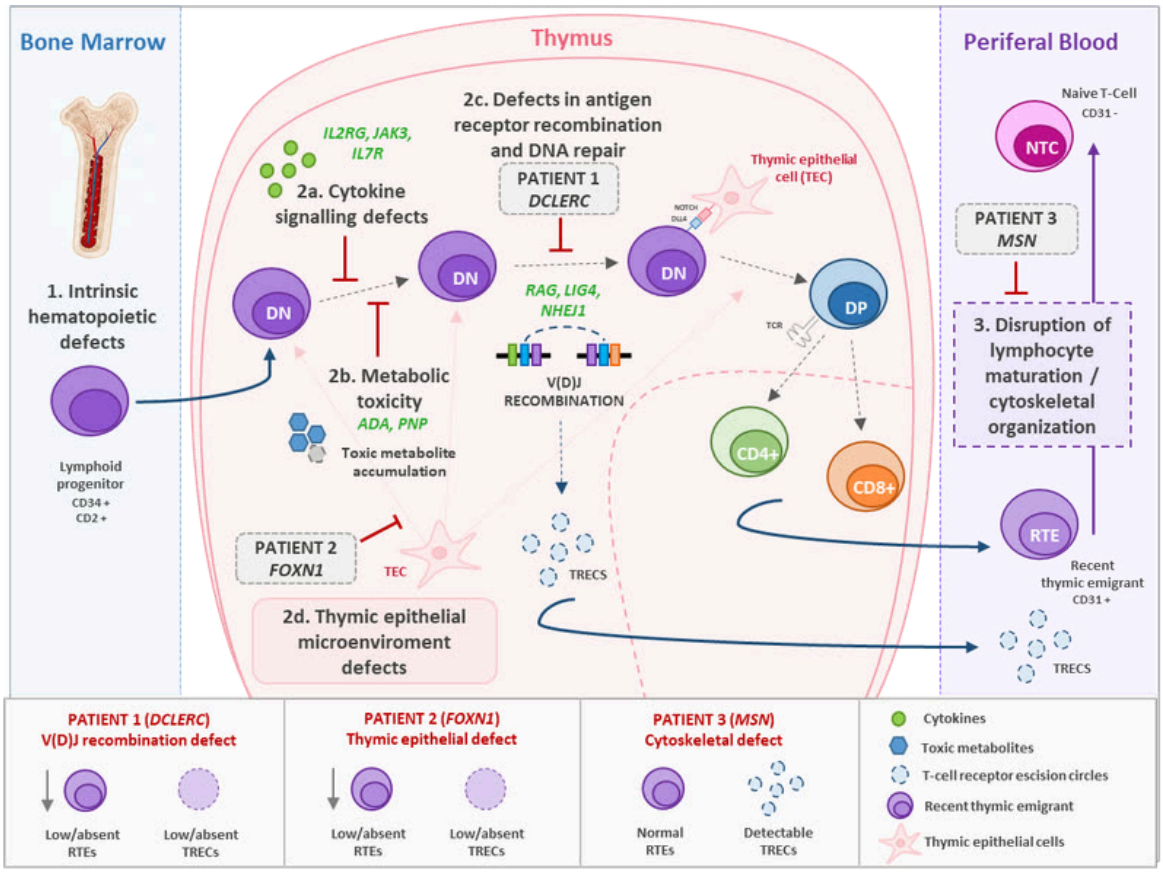


Figure 1. Mechanistic basis of abnormal TREC-based newborn screening in three representative inborn errors of immunity. T-cell development begins in the bone marrow with lymphoid progenitors (CD2+) that migrate to the thymus, where sequential maturation proceeds through the double-negative (DN1–DN4) and double-positive (DP) thymocyte stages before differentiation into mature CD4⁺ and CD8⁺ T lymphocytes. Although these disorders affect different biological compartments, they ultimately converge on reduced thymic export of recent thymic emigrants (RTEs) and decreased peripheral TREC levels.
Patient 1 (DCLRE1C, Artemis deficiency) represents a defect of antigen receptor recombination and DNA repair, in which failure of V(D)J recombination prevents normal T-cell receptor assembly, resulting in absent TREC generation and profound impairment of thymocyte development. Other disorders affecting this pathway, including RAG1/2, LIG4, and NHEJ1, are indicated. Additional mechanistic categories capable of producing abnormal TREC-based newborn screening include cytokine signalling defects (e.g., IL2RG, JAK3, and IL7R), which impair early thymocyte survival and expansion, and metabolic disorders (e.g., ADA and PNP deficiencies), in which accumulation of toxic metabolites induces lymphocyte apoptosis.
Patient 2 (FOXN1 deficiency) illustrates defects affecting the thymic epithelial microenvironment, where abnormal thymic epithelial cell (TEC) differentiation compromises stromal support for thymocyte maturation from DN1–DN4 despite intrinsically normal hematopoietic progenitors. In contrast, Patient 3 (MSN deficiency) represents a defect of lymphocyte cytoskeletal organization and post-thymic immune homeostasis, in which T-cell receptor recombination remains intact but abnormalities in lymphocyte migration, survival, and maintenance lead to reduced peripheral TRECs despite preservation of recent thymic emigrants and naïve T-cell populations.
The lower panel summarizes the characteristic TREC and recent thymic emigrant profiles observed in blood of the three representative patients. Purple circles represent recent thymic emigrants, blue circles represent absent TRECs (episomal DNA circles), green dots indicate cytokines, blue hexagons represent toxic metabolites, and the blue irregular cells illustrate lymphocyte apoptosis. Abbreviations: DN, double negative; DP, double positive; RTE, recent thymic emigrant; TREC, T-cell receptor excision circle.

Therapeutic targeting of CCR7 improves outcomes in a preclinical model of acute graft-versus-host disease

Andrea Hoyos Domingo1,2; Rosa María Andreu Martínez1,2; Alberto Martínez Cano1,2; Leila Pérez Sánchez1; Valle Gómez García de Soria1,2; Carlos Cuesta Mateos1; María Josefa Calzada García1,2; Ana María Marcos Jiménez1,2; Cecilia Muñoz Calleja1,2,3.

1 Instituto de Investigación Sanitaria Hospital Universitario de la Princesa (IIS-Princesa), Madrid, Spain.
2 Universidad Autónoma de Madrid (UAM), Madrid, Spain
3 Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Infecciosas (CIBERINFEC). Instituto de Salud Carlos III

Background & Objectives. Graft-versus-host disease (GvHD) is a major cause of morbidity and mortality after allogeneic haematopoietic cell transplantation (HCT). Understanding the pathogenesis of GvHD is a cornerstone for developing novel therapeutic approaches to HCT free from serious adverse effects. GvHD is triggered in the secondary lymphoid organs (SLOs) when donor-derived alloreactive T cells recognize host antigens presented by dendritic cells (DCs). To do this, both T lymphocytes and mature DCs reach the SLOs through a migratory process largely mediated by the chemokine receptor CCR7. We therefore aimed to confirm the pathogenetic and therapeutic role of CCR7 in an allogeneic murine model.

Methods. The approach consisted of an MHC-mismatched murine model of GvHD in sublethally irradiated C57BL/6 mice receiving either bone marrow alone (BM control group) or bone marrow plus BALB/c splenocytes (GvHD groups). Recipients in the GvHD groups were treated with PBS (PBS group) or 200 µg of anti-CCR7 4B12 (therapeutic anti-CCR7 group).

Results. On the one hand, mice receiving anti-CCR7 therapy sustained a 75% survival rate throughout the entire 180-day monitoring period. In contrast, the PBS group suffered a 50% drop in survival within 60 days, stabilizing at approximately 25% from day 100, while the BM control group stabilized at 40% from day 30 onwards. On the other hand, anti-CCR7-treated mice maintained clinical scores near zero, showing an absence of relevant disease signs. Vehicle-treated mice exhibited severe clinical signs during the first two months and remained affected throughout follow-up.

Conclusion. In a murine model of GvHD, anti-CCR7 treatment improves survival and mitigates clinical severity, emphasizing its potential translational value as a promising addition to the therapeutic options for human GvHD. Future studies will investigate the mechanistic roles of CCR7⁺ T cells and CCR7⁺ DCs in mediating this therapeutic effect.

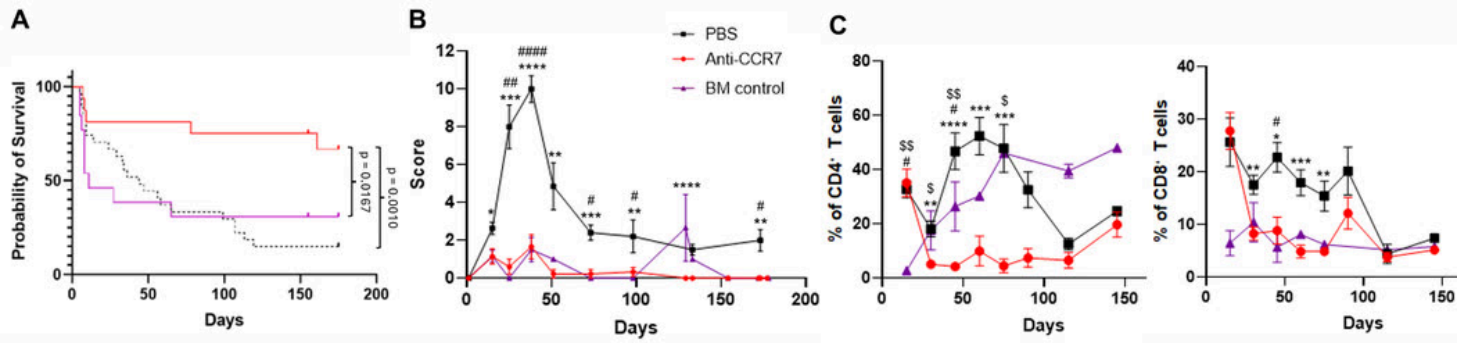


Figure 1. Survival, clinical evolution and immune cell reconstitution in a GvHD animal model. A. Kaplan–Meier survival curves plotted as days post-transplantation; groups were compared using the log-rank test. Tick marks indicate censored animals. **B.** Clinical GvHD score over time. **C.** Longitudinal analysis of peripheral blood T cell subsets: CD4⁺ (left) and CD8⁺ (right) cells expressed as percentage of total lymphocytes.
Data in B and C are presented as mean ± SEM and were analyzed by one-way ANOVA followed by Sídák's multiple comparisons test. Survival included PBS (black, n=21), BM (purple, n=13), and anti-CCR7 (red, n=17) groups; immune phenotyping included PBS (n=14), BM (n=4), and anti-CCR7 (n=13). All experiments were performed in three independent experiments.
• Statistical comparisons: * PBS vs. anti-CCR7; # PBS vs. BM; $ anti-CCR7 vs. BM. *p < 0.05; **p < 0.01; ***p < 0.001; ****p < 0.0001 (same thresholds apply to # and $).

Therapeutic targeting of CCR7 improves outcomes in a preclinical model of acute graft-versus-host disease

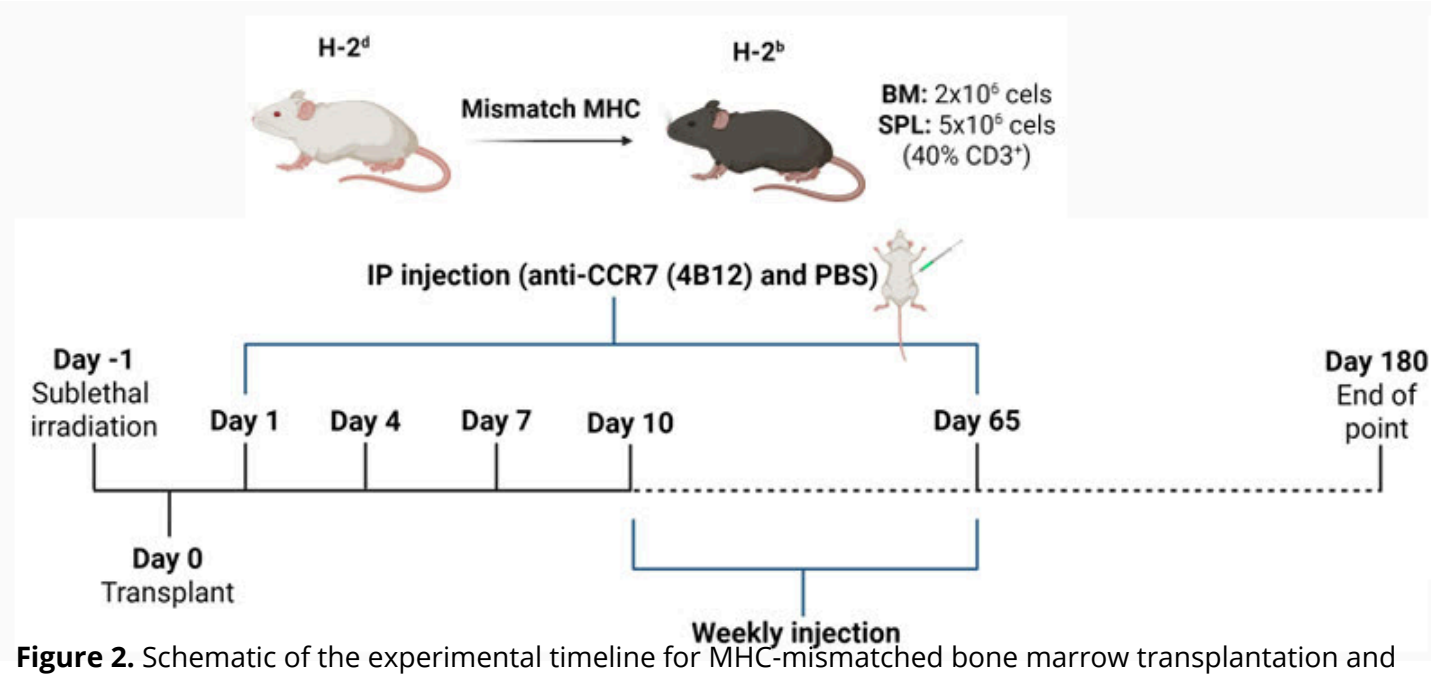


Figure 2. Schematic of the experimental timeline for MHC-mismatched bone marrow transplantation and anti-CCR7 antibody treatment.

CRITERIA	SCORE 0	SCORE 1	SCORE 2
FUR TEXTURE	Normal	Mild-to-moderate ruffling	Severe ruffling/poor grooming
WEIGHT LOSS	≤10%	>10%	
POSTURE	Normal	Hunching noted only at rest	Severe hunching impairs movement
SKIN INTEGRITY	Normal	Scaling of paws	Obvious areas of denuded skins
DIARRHEA	No	Mild-to-moderate diarrhea	Severe diarrhea
FUR LOSS AROUND EYES	No	Light fur loss	Obvious fur loss
EARS INTEGRITY	Normal	Loss of integrity in only one ear	Loss of integrity in both ears
TAIL INJURIES	No	Scaling of tail	Visible injuries

Table 1. Assessment of clinical score of graft-versus-host-disease in transplanted animals.

Hipersensibilidad / Alergia, Inmunoterapia, Inmunología Molecular

Mast cell desensitization induces a distinct IgE-dependent transcriptional program associated with immune regulation

Celia López-Sanz (1), Emilio Nuñez-Borque (1), Alessandra Ruiz-Sánchez (1), Javier Sevilla-Montero (1,2), Cecilia Muñoz-Calleja (1,2), Pedro Ojeda (3), Carlos Blanco (4), Pablo Rodríguez del Río (5), Francisco Sánchez-Madrid (1), Rodrigo Jiménez-Saiz (1).
Affiliations:
(1) Department of Immunology, Instituto de Investigación Sanitaria Hospital Universitario de La Princesa (IIS-Princesa), Madrid, Spain.
(2) CIBER Infectious Diseases (CIBERINFEC), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain.
(3) Clínica de Asma y Alergia Dres. Ojeda, Madrid, Spain.
(4) Department of Allergy, Hospital Universitario de La Princesa, IIS-Princesa, Madrid, Spain.
(5) Department of Allergy, Hospital Infantil Universitario Niño Jesús, Fundación Hospital Niño Jesús, IIS-Princesa, Madrid, Spain.

Introduction and objectives. IgE-mast cell (MC) activation is a hallmark of allergic diseases, whose prevalence continues to rise worldwide. Allergen immunotherapy (AIT) is the only allergen-specific treatment with disease-transforming potential. It begins with an early escalating phase, governed by MC desensitization, followed by a consolidation phase. MC desensitization is essential for AIT success, but whether MCs contribute to AIT consolidation is unknown. We hypothesize that allergen-induced desensitization drives functionally relevant transcriptomic changes in MCs.

Methods. Allergic (ALL) and desensitized (DS) MCs were generated by sensitizing the human MC line LAD2 and murine bone marrow-derived MCs (BMMCs) with human and murine allergic sera, respectively, followed by polyclonal desensitization protocols. Transcriptomic changes between ALL and DS cells were evaluated by RNA-seq and RT-qPCR at 2 and 6 h after desensitization. Differentially expressed genes were subjected to functional enrichment analysis, and selected pathways were investigated through co-culture experiments with BMMCs and splenocytes from allergic mice.

Results. Transcriptomic analysis 2 h post-desensitization identified 187 differentially expressed genes in DS vs. ALL, with 168 upregulated genes ($p<0.05$, $|log2FC|>1$). RT-qPCR confirmed the desensitization-induced signature of 13 of the 18 most upregulated genes. Moreover, 7 of them were exclusively induced in DS cells and absent in allergen challenged ALL cells, demonstrating that desensitization induces a specific transcriptomic signature in MCs. Notably, 10 of these most upregulated genes returned to lower expression levels at 6 h post-desensitization, intimating the need for repeated allergen exposure. However, repeated desensitizations did not further enhance their expression. Functional enrichment analysis associated this transcriptomic program with immune-related processes, including the regulation of leukocyte cell-cell adhesion and T-cell activation. Furthermore, co-culture of allergic splenocytes with DS BMMCs promoted the proliferation of $CD4^+CD44^+$ T-cells.

Conclusion. Allergen-specific desensitization establishes a transcriptional program on MCs, capable of modulating $CD4^+$ T-cell responses, that may contribute to the effects of AIT.

Trogocytosis and fratricide killing impair HER2- and B7H3-directed CAR-T cells, but not STAb-T cells functionality in breast cancer

Clara Bravo Martín 1, Laura Martín García 1, Nerea Sarmiento Tevar 1, Emma Capelo Mera 1, Patrick Chames 2, and Laura Sanz 1.

1 Molecular Immunology Unit, Biomedical Research Institute Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda, Madrid, Spain.
2 Aix Marseille Univ, CNRS, INSERM, Institute Paoli-Calmettes, CRCM, Marseille, France.

I**ntroduction.** CAR-T cell therapy has revolutionized the treatment of hematological malignancies; however, its efficacy in solid tumors remains limited. Key resistance mechanisms include trogocytosis (transfer of the targeted tumor antigen to their own cell surface) which triggers T-cell fratricide. STAb-T cell therapy, based on the local secretion of bispecific T-cell engagers (TCEs), may be a favorable strategy to overcome these limitations.

Objective. Comparison of trogocytosis and subsequent fratricide in HER2 and B7H3-targeted STAb- and CAR-T cells.

Materials and Methods. Primary T cells were transduced with lentiviral vectors to express HER2- or B7H3-directed CAR or to secrete the corresponding bispecific TCEs. Specific cytotoxicity was evaluated in co-cultures with MDA-MB-468 HER2+ B7H3+ LUC tumor cell line at various effector-to-target (E:T) ratios. To evaluate trogocytosis, HER2 and B7H3 expression on both tumor and T cells was quantified by flow cytometry after 24 hours of co-culture. Subsequently, T cells were isolated and apoptosis was assessed by Annexin V staining.

Results. HER2 STAb-T cells exhibited significantly higher specific cytotoxicity against tumor cells compared to HER2 CAR-T cells, even at low E:T ratios (60% vs 15% of lysis). In trogocytosis assays, 11.25% of HER2 STAb-T cells stained positive for HER2 after co-culture with HER2+ B7H3+ tumor cells (comparable to co-culture with control non-transduced T cells), whereas 70% of HER2 CAR-T cells acquired the antigen. Similar results were observed when testing B7H3 STAb and CAR-T cells. This antigen gaining resulted in a high percentage of apoptotic CAR-T cells (87% in HER2 and 80% in B7H3 CAR-T cells) after 24 hours, suggesting fratricidal killing, while STAb-T cells remaining protected from it.

Conclusion. To our knowledge, differential trogocytosis of targeted tumor antigen between STAb- and CAR-T cells had not been previously described, and supports STAb-T cells being a promising therapeutic alternative to enhance long-term anti-tumor activity in solid tumors.

Aumento de la frecuencia de células T específicas frente al rinovirus, con preservación de las respuestas Th1/Tc1 en la EPOC.

Sara Alonso Fernandez (1), Raquel Reyes-Manzanas (1), Myriam Calle-Rubio (1,2), Juan Rodriguez-Hermosa (1,2), Esther M. Lafuente (1), Jesús Reiné (3), Pedro A. Reche (1)

(1) Departamento de Inmunología, Oftalmología y ORL, Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid, España.
(2) Unidad de Neumología, Hospital Clínico San Carlos, España.
(3) Oxford Vaccine Group, Departamento de Pediatría, Universidad de Oxford, Oxford, Reino Unido.

Introducción. La enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad a nivel mundial, y las infecciones virales, en particular los rinovirus (RV), constituyen uno de los principales factores desencadenantes de las exacerbaciones agudas. Sin embargo, el papel de las respuestas de las células T específicas frente a los RV en la EPOC sigue sin estar bien caracterizado. En este trabajo, hemos realizado un estudio exploratorio para investigar las respuestas de las células T frente a epítopos conservados específicos de los RV en pacientes con EPOC y en controles sanos de la misma edad.

Materiales y métodos. Se estimularon las PBMCs de los participantes in vitro con conjuntos de péptidos compuestos por epítopos de células T CD4⁺ (RV-M4) y CD8⁺ (RV-M8) específicos del RV. Las respuestas T memoria se evaluaron mediante ensayos de marcadores inducidos por la activación y ensayos de tinción de citocinas intracelulares. Se utilizaron pruebas de Mann-Whitney para comparar la frecuencia de las poblaciones de células T entre los grupos. Se emplearon correlaciones de Spearman para identificar asociaciones entre la frecuencia de las células T específicas de antígenos y los parámetros de función pulmonar.

Resultados. La frecuencia de las células T CD4⁺ específicas contra el RV aumentó significativamente en los participantes con EPOC en comparación con los controles sanos. Del mismo modo, las células T CD8⁺ específicas contra el RV también mostraron una tendencia hacia una mayor frecuencia en la EPOC, aunque esta no alcanzó significación estadística. Las respuestas funcionales de las células T a epítopos conservados específicos del RV se inclinaban hacia la producción de IFN-γ y TNF-α tanto en los participantes con EPOC como en los sanos, sin diferencias significativas entre ambos grupos. En consecuencia, el aumento de la frecuencia de las células T CD4⁺ específicas del RV en la EPOC no vino acompañado de un aumento de las respuestas Th1, lo que sugiere cierto grado de disociación funcional entre el reconocimiento de antígenos por parte de las células T CD4⁺ específicas del RV y las respuestas funcionales de las citoquinas. Además, observamos una débil correlación inversa entre la frecuencia de células T CD4⁺ productoras de IFN-γ y la gravedad de la EPOC, evaluada mediante el FEV1. No se observó ninguna correlación entre las células T CD8⁺ productoras de IFN-γ o TNF-α y la gravedad de la enfermedad.

Discusión. Nuestros hallazgos sugieren que es poco probable que las respuestas Th1/Tc1 a los epítopos conservados específicos del RV sean los principales factores impulsores de la inmunopatología en la EPOC y respaldan la hipótesis de que las infecciones repetidas por el RV pueden contribuir a las exacerbaciones de la EPOC a través de mecanismos distintos de una inmunidad Th1 excesiva. La preservación de las respuestas funcionales de las células T a los epítopos conservados específicos del RV respalda su posible relevancia para el desarrollo de vacunas contra la EPOC.

Distinct Complement Dysregulation Profiles Define Clinical Outcomes in ANCA-Associated Renal Vasculitis

Chozas-Hernández, Alejandro (1); León-Machado, Lina (2); Gutierrez-Jimenez, Daniel (3); Lucientes-Contienente, Laura (4); Maldonado, María (2); Cobos-Paladines, Evelyn (1); Fernández-Juárez, Gema (2); Goicoechea de Jorge, Elena (1).

1: Centro de Investigaciones Biológicas (CIB)-CSIC, Departamento de Biociencias Celulares y Moleculares.
2: Hospital Universitario La Paz, Departamento de Nefrología
3: Universidad Sapienza de Roma
4: Universidad Complutense de Madrid, Departamento de Inmunología, oftalmología y ORL

Background: Complement alternative pathway (AP) activation is increasingly recognized as a key driver of ANCA-associated vasculitis (AAV), yet the heterogeneity of complement dysregulation and its clinical implications remain poorly understood. Here, we investigated whether complement profiles at diagnosis identify biologically distinct patient subsets with different renal outcomes.

Methods: Fifty-two patients with active biopsy-proven renal AAV were prospectively followed for 12 months. Baseline plasma levels of factor H (FH), factor B (FB), C3, properdin, FH-related proteins (FHR-1 to FHR-5), plasma soluble C5b-9 (sC5b-9), urinary sC5b-9 (usC5b-9), C1s:C1INH and MASP1:C1INH complexes were measured at diagnosis, before immunosuppressive therapy. Unsupervised clustering and Random Forest Proximity Clustering analyses were used to define complement activation profiles and were correlated with disease outcome.

Results: Four distinct complement activation patterns were identified, revealing marked heterogeneity among patients. These clusters were associated with different remission rates (43-100%). A simplified Random Forest proximity clustering model identified FH and usC5b-9 as the strongest prognostic biomarkers, defining three clinically relevant profiles. Profile 1, consisting of patients with slightly high usC5b-9 and mild AP dysregulation has the best prognosis (91%). Profile 2 was characterized by similar usC5b-9 levels to profile 1 but presented evidence of strong AP dysregulation and was associated with an intermediate prognosis (67%). In contrast, profile 3 was defined by mild AP dysregulation but markedly elevated levels of usC5b-9 and was associated with the poorest remission rate (37%). A simple score-based classification system was developed based on the Random Forest analysis to facilitate profile interpretation.

Conclusions: Either strong dysregulation of the AP and/or the terminal pathway may represent a central pathogenic mechanisms in patients and determine poor outcomes under conventional immunosuppressive treatments. Complement profiling at diagnosis may support prognostic stratification and personalized complement-targeted therapies, including proximal AP and terminal inhibition in selected high-risk patients.

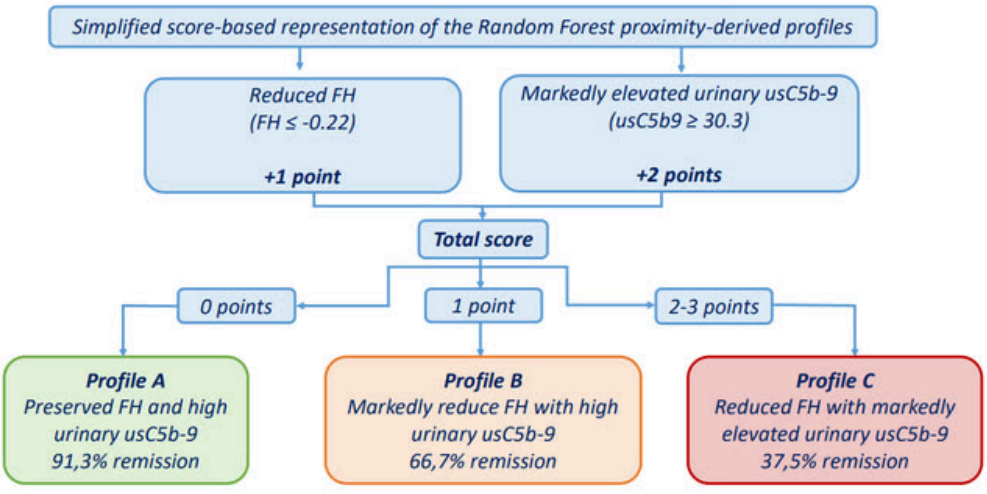


Figure 1. Simplified visual interpretation of the complement profiles

El universo de la neuroinflamación: el camino de los receptores adrenérgicos hacia los errores innatos de la inmunidad

Daniela Aguilar Concepción1,2, Lorenzo Cuello3, Justin Taft3, Rachen Geltman3, Laura Miguel Berenguel1, Gabriela de Alba Amo4, Rebeca Rodríguez Pena1, María Bravo García Morato1, Marta Martín Fernández3,4,5, Carmen Cámara Hijón1,2, Dusan Bogunovic3 y Jordi Ochando2,6.

1. Hospital Universitario La Paz. Departamento de Inmunología.
2. Departamento de Inmunología, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, España.
3. Departamento de Pediatría, Universidad de Columbia, Nueva York, USA.
4. Instituto de Investigación de Enfermedades Raras, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, España.
5. CIBER de Enfermedades Infecciosas, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, España
6. Icahn School of Medicine at Mount Sinai, Nueva York, USA.

Dentro del espectro de las inmunodeficiencias asociadas a neuroinflamación, pocos genes están detalladamente caracterizados dentro del espectro de los Errores Innatos de la Inmunidad. ADRA2B codifica para un adrenorreceptor acoplado a proteína G, que una vez asociado a su ligando, es capaz de controlar la liberación de citoquinas y la respuesta inmune.

En este trabajo, caracterizamos la variante ADRA2B, c.985C>G (p.Gln329Glu), en una familia con susceptibilidad a infecciones virales y encefalitis periviral. El objetivo principal de nuestro estudio es caracterizar la variante ADRA2B c.985C>G (p.Gln329Glu) mediante estudios genéticos y funcionales, y evaluar su posible contribución al fenotipo inmunológico observado.

Para ello, se realizó el estudio genético mediante secuenciación y confirmación por Sanger de la variante en la familia. Se editaron genéticamente células HEK293T mediante CRISPR, para obtener poblaciones knock-out y knock-in (p.Q329E) en ADRA2B. Se diseñaron estudios funcionales para comparar la respuesta de células del paciente y controles, así como de las poblaciones celulares editadas, frente a agonistas y antagonistas de ADRA2B.

En bases de datos públicas hemos encontrado que ADRA2B se expresa en macrófagos y monocitos primarios, y en células HEK293T. La variante ADRA2B c.985C>G (p.Gln329Glu) se encuentra ausente en las bases de datos poblacionales consultadas (MAF=0). Las herramientas de predicción mostraron resultados compatibles con un posible defecto funcional (CADD 13,84; SIFT 0; MutationAssessor 2,285; VEST3 0,283). A nivel funcional, se asocia a una disminución del efecto inhibitorio de los agonistas del receptor, con el consiguiente aumento de citoquinas proinflamatorias, así como un aumento de la replicación viral.

La variante ADRA2B c.985C>G (p.Gln329Glu) constituye un nuevo Error Innato de la Inmunidad que cursa con neuroinflamación asociada a infecciones virales y expande el espectro de las inmunodeficiencias asociadas a neuroinflamación.

COMUNICACIONES FORMATO PÓSTER

BÁSICAS

Firmas inmunitarias sistémicas compartidas y diferenciales en enfermedad de Graves y enfermedad tiroidea ocular

Alejandra Carrero-García (1), Nuria Sánchez de la Blanca-Carrero (1), Esther García-Díez (1), Pablo Sacristán-Gómez (1), Ana Serrano-Somavilla (1), Fernando Sebastián-Valles (1), Antonio Manuel Garrido-Hermosilla (2), Mariola Méndez-Muros (3), Mónica Marazuela-Azpiroz (1), Rebeca Martínez-Hernández (1)

1- Departamento de Endocrinología y Nutrición y Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER GCV14/ER/12), Hospital Universitario de la Princesa, Instituto de Investigación Sanitaria Princesa (IIS-P), Universidad Autónoma de Madrid, Madrid, España.
2- Departamento de Oftalmología, Hospital Universitario Virgen de la Macarena, Sevilla, España.
3- Departamento de Endocrinología y Nutrición, Hospital Universitario Virgen de la Macarena, Sevilla, España.

Introducción. La enfermedad tiroidea ocular (ETO) es la manifestación extratiroidea más frecuente de la enfermedad de Graves (EG), pero los mecanismos inmunitarios sistémicos asociados a la afectación orbitaria no están completamente definidos. El objetivo fue caracterizar las alteraciones inmunotranscriptómicas en células mononucleares de sangre periférica (PBMCs) de pacientes con EG y ETO.

Métodos. Se incluyeron 124 participantes del Hospital Universitario de La Princesa, Madrid (46 EG, 37 ETO y 11 controles), y del Hospital Universitario Virgen Macarena, Sevilla (27 ETO y 3 controles), comparables en sexo. Se realizó RNA-seq de PBMCs y análisis de expresión diferencial para EG–control, ETO–control y ETO–EG, ajustando por centro y sexo. Se empleó Reactome para el análisis de enriquecimiento funcional. A continuación, en ETO se analizaron correlaciones de Spearman entre genes representativos de vías inmunológicas significativas y parámetros hormonales y autoinmunes.

Resultados. En el análisis de componentes principales (PC), el PC1 y el PC2 no mostraron una separación entre EG y ETO. Se identificaron 3164 genes diferencialmente expresados en EG frente a controles, 259 en ETO frente a controles y 202 entre ETO y EG. Ambas enfermedades compartieron 143 genes alterados respecto a los controles y mostraron enriquecimiento de vías relacionadas con BCR, receptores Fc, complemento, fagocitosis, interferón, TLR e inflamasoma. En comparación con EG, ETO presentó mayor enriquecimiento de vías de BCR, FcγR/FcεRI, complemento e interferón tipo I. En ambas enfermedades, IGHE se correlacionó positivamente con CD79B. Sin embargo, únicamente en ETO este eje se extendió a MS4A2, subunidad β del receptor de la IgE β (FcεRIβ), y a la actividad tiroidea, con correlaciones positivas con TSI y T4 y negativa con TSH.

Conclusiones. Pese a que EG y ETO comparten mecanismos inmunitarios sistémicos, en ETO destaca una relación entre BCR, IgE/FcεRI, actividad tiroidea y autoinmunidad.

Microbial metabolism of dairy antigens by human oral bacteria alters their immunogenicity

Lucía Moreno-Serna1,2, Pablo Badolato López-Tormos1, Celia López-Sanz1, Peter Hall3, Salvador Iborra-Martín2, Alberto Caminero3#, Rodrigo Jiménez-Saiz1,3#

1. Department of Immunology, Instituto de Investigación Sanitaria Hospital Universitario de La Princesa (IIS-Princesa), Spain.
2. Fundación Inmunotek S.L., Madrid, Spain.
3. Department of Medicine, McMaster University, Hamilton, Ontario, Canada.

Co-senior authors

Introduction. Cow's milk allergy is a highly anaphylactic and prevalent food allergy mediated by IgE and mast cells (MCs). The factors that modulate its severity remain incompletely understood. In this regard, we have recently shown that the microbial metabolism of peanut allergens determines the severity of acute IgE-mediated reactions. However, it remains unknown whether oral microbial metabolism can affect IgE-mediated reactions to other common food allergens, as well as other aspects of allergic pathology such as late -phase allergic inflammation.

Objective. To investigate whether the metabolism of a major milk allergen, β-casein (CAS), by oral human bacteria can alter its immunogenic properties and thus influence IgE-mediated reactions and allergen-specific CD4+ T-cell activation.

Methods. Bacterial isolates from the saliva of human healthy donors were tested for their capacity to degrade CAS using ELISA and SDS-PAGE. IgE-mediated recognition of bacterially digested CAS was assessed by Western blot analysis and MC activation assays via flow cytometry and β-hexosaminidase assay. Additionally, allergen-specific CD4+ T-cell activation was evaluated following stimulation with bacterially digested CAS in total splenocytes from CAS-allergic mice.

Results. Different bacterial strains from Rothia and Staphylococcus metabolized CAS. Moreover, Western blot analysis using sera from milk-allergic patients and CAS-allergic mice showed a significant reduction in the recognition of CAS by specific-IgE following bacterial digestion. Accordingly, MC activation decreased after stimulation with bacterially digested CAS as compared to the native protein. Finally, a reduction in allergen-specific CD4+ T-cell activation was only observed following Rothia digestion.

Conclusion. Human oral microbiota can modulate IgE responses to dairy antigens, but also the activation of allergen-specific CD4+ T-cells, which may impact different phases of allergic pathology.

Modulación del estado de activación de células dendríticas en un equivalente dérmico humano in vitro tridimensional

Sergio Moreno Nombela (Universidad Carlos III de Madrid/ Fundación LAIR), Diego Velasco Bayón (Universidad Carlos III de Madrid), Paloma Pérez-Aciego (Fundación LAIR) y Leticia Suárez Cabrera (Universidad Carlos III de Madrid)

La dermatitis alérgica de contacto (DAC) se desarrolla tras la sensibilización frente a sustancias químicas de bajo peso molecular. Durante la sensibilización, las células dendríticas (CDs) desempeñan un papel esencial al detectar estos compuestos y desencadenar la respuesta inmunitaria que conduce al desarrollo de memoria inmunológica. Por tanto, la evaluación de este proceso requiere de modelos capaces de reproducir adecuadamente la participación de estas células. Los modelos de piel humana reconstruida constituyen una alternativa a la experimentación animal, pero generalmente carecen de componente inmunitario. Por ello, la incorporación de CDs funcionales representaría un paso clave hacia el desarrollo de modelos cutáneos inmunocompetentes.

En este trabajo investigamos la modulación de la activación de las CDs al incorporarlas en un equivalente dérmico humano basado en colágeno. Las CDs se obtuvieron a partir de inmunoselección magnética de monocitos de sangre periférica y posterior tratamiento con citoquinas para inducir su diferenciación. Posteriormente, se incorporaron junto con fibroblastos humanos primarios en una matriz de colágeno. Para modular su estado de activación, se añadieron como inmunomoduladores vitamina D3 e hidrocortisona, además de LPS como control positivo de activación. Tras 48 horas, la viabilidad y el fenotipo de las CDs se analizaron mediante citometría de flujo.

Ambos inmunomoduladores modificaron el perfil de activación de las CDs, evidenciado por cambios en CD86 y HLA-DR respecto a las condiciones sin tratar y estimuladas con LPS. La vitamina D3 indujo, además, la aparición de una subpoblación $CD14^{+}$ dentro de la población $CD1a^{+}CD209^{+}$, acompañada de una menor expresión de CD86. Este fenotipo podría corresponder a un subconjunto específico de CDs dérmicas y fue menos pronunciado tras el tratamiento con hidrocortisona.

Estos resultados demuestran que el estado de activación de las CDs puede modularse en un entorno dérmico tridimensional, contribuyendo al desarrollo de modelos cutáneos inmunocompetentes para estudios de sensibilización.

Pseudomonas aeruginosa metabolizes food allergens and attenuates allergic inflammation

Elisa Sánchez Martínez1*, Lucía Moreno Serna1*, Rebecca Dang2, Juan J. Rodríguez-Bencomo3, Salvador Iborra4, Alberto Caminero2#, Rodrigo Jiménez-Sáiz1,2#
* First co-authors
#Co-senior authors

1. Department of Immunology, Instituto de Investigación Sanitaria Hospital Universitario de La Princesa (IIS-Princesa), Spain.
2. Department of Medicine, McMaster University, Hamilton, Ontario, Canada.
3. Department of Analytical Chemistry, Faculty of Chemical Sciences, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, Spain.
4. Fundación Inmunotek S.L., Madrid, Spain.

Introduction. Food allergy is characterized by IgE-mediated responses to dietary antigens. Cow´s milk allergy is common and a major cause of anaphylaxis, yet the factors that modulate its severity remain unclear. Emerging evidence shows that the microbial processing of food antigens can alter their immunogenicity and shape immune responses. In this regard, Pseudomonas aeruginosa (PA) has been associated with allergic sensitization and shown to degrade gluten through protease LasB, releasing peptides that exacerbate celiac disease.

Objective. To determine whether PA-mediated metabolism of beta-casein (B-CAS), a major cow´s milk allergen, alters its immunogenicity and thereby modulates allergic inflammation.

Materials and Methods. SDS-PAGE, HPLC, and proteomics of B-CAS digested by PA wild type (WT) were conducted. IgE recognition was assessed by Western blot and mast cell (MC) activation assays using allergic sera from milk-allergic patients and CAS-allergic mice. Allergen-specific CD4+ T-cell responses and cytokine secretion were assessed by flow cytometry following splenocyte stimulation with digested or native allergen. Results PA WT degraded CAS and generated several peptides, some of which had been reported as clinically relevant in allergic patients based on IgE and TCR recognition. Indeed, PA WT digestion of B-CAS significantly decreased human and murine IgE binding compared with undigested CAS, as well as MC degranulation and CAS-specific CD4+ T-cells. In addition, the cytokine profile showed an increased Th1/Th2 ratio following digestion.

Conclusions. PA degrades a major dairy allergen, impairing IgE-mediated responses and allergen-specific CD4+ T cell activation.

Peanut allergoids conjugated to mannan as novel vaccine candidates for allergen-specific immunotherapy: unraveling their immunological mode of action

Malena del Campo-Grijalba1, Alba Angelina1, Sofía Sirvent1, Natalia Cuervo1, Mario Pérez-Diego1, Carmen Sevilla-Ortega, Beatriz Marcos1, Eva Abel-Fernandez2, Salvador Iborra2, José Luis Subiza2 and Oscar Palomares1

1 Department of Biochemistry and Molecular Biology, School of Chemistry, Complutense University of Madrid, Madrid, Spain.
2 Inmunotek, Alcalá de Henares, Madrid, Spain

Background. Food allergy is a worldwide health problem of increasing prevalence. Although increasing research focuses on the study of allergen-specific immunotherapy (AIT) for food allergies, only an oral immunotherapy product for peanut allergy has been approved by FDA. Glutaraldehyde-polymerized grass pollen allergoids coupled to mannan have shown efficacy and safety in phase II and III clinical trials for pollen allergy. Here, we investigate the capacity of peanut allergoids conjugated to mannan (PM) to regulate the phenotype and function of human dendritic cells (DCs) and its therapeutic effect in mouse models of peanut allergy.

Method. Human monocyte-derived DCs (hmoDCs) were stimulated with native (N), glutaraldehyde-polymerized (P) or PM peanut extracts, and cell surface markers, cytokine production, metabolic changes, and allogenic co-cultures with naïve CD4+T cells were analyzed. The in vivo potential therapeutic capacity of PM was determined by analyzing humoral responses, the induction of blocking antibodies, and the generation of regulatory T cells (Tregs).

Results. PM significantly increases the expression of PD-L1 and CD83 and the production of IL-6 and IL-10 in hmoDCs as well as their capacity to polarize FOXP3+ Tregs compared to N or P. Metabolic assays showed that PM induces a metabolic rewiring towards glycolysis, which is essential for the PM-induced phenotype and function in hmoDCs. In vivo, PM displays slightly higher hypoallergenic features than P. Of note, PM-immunized mice display lower total and peanut-specific IgE and higher peanut specific-IgG2a and FOXP3+ Tregs than N- or P-immunized mice. The antibodies generated after mice immunization with PM potently inhibit the binding of serum IgE from peanut allergic patients to native peanut extracts.

Conclusion. Peanut allergoid-mannan conjugates are hypoallergenic vaccines with tolerogenic capacity able to enhance the generation of functional FOXP3+ Tregs and induce potent blocking antibodies, thus positioning these formulations as potential suitable novel AIT vaccine candidates for peanut allergy.

HIF-1α regula la adaptación metabólica de las Treg RORγt⁺ y la dinámica tisular de los linfocitos durante la inflamación intestinal.

Alba Seguí Pérez, Lucía Sancho Temiño, Raquel Castillo González, Cristina Mena-Herrero Gascón, Aranzazu Cruz Adalia.

Departamento de Inmunología, Oftalmología y ORL; Facultad de Medicina; Universidad Complutense de Madrid, Instituto de Investigación Sanitaria Hospital 12 de Octubre (Imas12), Madrid, España

Las células T reguladoras (Treg) RORγt⁺ son esenciales para mantener la tolerancia inmunológica intestinal. Dado que residen en un microambiente fisiológicamente hipóxico, el factor de transcripción HIF-1α podría desempeñar un papel clave en su adaptación, migración y función. Sin embargo, su contribución específica en esta población permanece poco caracterizada.

Se utilizaron ratones knockout condicionales HIF-1αfl/fl RORγt-Cre (HIF-1αΔRorc) y controles WT para caracterizar las Treg RORγt⁺ mediante RNA-seq en ganglios linfáticos mesentéricos (MLN). Además, se empleó el modelo de colitis inducida por transferencia adoptiva de células T naïve procedentes de ratones HIF-1αΔRorc y controles WT a ratones RAG1-KO, para determinar cómo la ausencia de HIF-1α afecta al comportamiento de los linfocitos T durante la inflamación intestinal. Por otro lado, se realizaron ensayos de migración competitiva in vivo para comprobar si HIF-1α regulaba la migración y supervivencia de los linfocitos T.

Las Treg RORγt⁺ WT en MLN presentaron un programa transcripcional enriquecido en genes relacionados con migración, adaptación tisular e inmunorregulación, confirmando su identidad especializada. La ausencia de HIF-1α no alteró su identidad, pero indujo una reprogramación metabólica caracterizada por el enriquecimiento de rutas de fosforilación oxidativa y metabolismo mitocondrial específicamente en las Treg RORγt⁺, mientras que las Treg RORγt⁻ permanecieron inalteradas pese a la ausencia de HIF-1α. Durante la inflamación intestinal, las células deficientes en HIF-1α presentaron menor acumulación en el colon y menor supervivencia, sin cambios en proliferación. Además, en experimentos de migración competitiva, los linfocitos naïve HIF-1αΔRorc presentaban un defecto temprano de homing hacia los MLN comparado con los WT.

HIF-1α no es esencial para establecer la identidad de las Treg RORγt⁺, pero sí para su adaptación metabólica, un efecto que no se observa en las Treg RORγt⁻. Además, regula la migración a los ganglios y la supervivencia y persistencia de los linfocitos en el intestino, favoreciendo su acumulación durante la inflamación.

Inflamación

T cell–specific lamin A/C regulates intestinal inflammation and colitis-associated colorectal cancer development.

Raquel Gómez-Bris 1*; Marina Ortega-Zapero 1,2*; Nicolás de la Madrid de Vega 1; Sara Morán de Bustos 1; Irene Moreno-Aperribay 1; Héctor Sánchez-Martinez 1; Alicia Usategui 4; Marta Amorós-Pérez 3,5; Pilar Gonzalo 3,5; Gabriel Criado 4; Francisco Sánchez-Madrid 3,5,6; Vicente Andrés 3,5; Ángela Saez 1,7#; José M. González-Granado 1,2,5#.
* Equal contribution
# Authors for correspondence.

1. LamImSys Laboratory, Instituto de Investigación Sanitaria Hospital 12 de Octubre (imas12). Madrid. Spain.
2. Department of Immunology, Ophthalmology and ENT, School of Medicine, Universidad Complutense de Madrid (UCM). Madrid. Spain.
3. Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares (CNIC). Madrid. Spain.
4. Grupo de Enfermedades Inflamatorias y Autoinmunes, Instituto de Investigación Sanitaria Hospital 12 de Octubre (imas12). Madrid. Spain.
5. Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Cardiovasculares (CIBERCV). Madrid. Spain.
6. Immunology Service, Instituto de Investigación Sanitaria Hospital Universitario La Princesa, IIS-Princesa. Madrid. Spain; Department of Medicine, Universidad Autónoma de Madrid. Madrid. Spain.
7. Facultad de Ciencias Experimentales, Universidad Francisco de Vitoria (UFV), Pozuelo de Alarcón. Madrid. Spain.

Introduction. Inflammatory bowel disease (IBD) involves dysregulated immune responses and carries an elevated risk of colitis-associated colorectal cancer (CAC). While lamin A/C plays key structural and regulatory roles, its specific intrinsic function within T cells during intestinal inflammation and carcinogenesis remains unclear.

Objectives. To evaluate how T cell–specific lamin A/C expression levels modulate disease severity in acute and chronic DSS-induced colitis and influence susceptibility to CAC.

Materials and Methods. Mouse models with T cell–specific lamin A/C knockout (CD4-KO) or lamin A overexpression (CD4-OE) were compared against wild-type controls (CD4-WT). Acute colitis was induced via a single-cycle DSS protocol, and chronic colitis via a two-cycle DSS protocol. CAC was modeled using azoxymethane (AOM) combined with repeated DSS cycles. Colitis severity was monitored by body weight loss, Disease Activity Index (DAI), colon length, and histological scoring. Colonic tissue transcripts (Tbx21, Foxp3, epithelial integrity markers) and tumor immunophenotypes (IFNγ$^+$ and IL-10$^+$ CD4$^+$ T cells) were analyzed.

Results. In acute colitis, CD4-KO mice showed reduced weight loss and lower DAI compared to controls, whereas CD4-OE mice showed no significant changes. In chronic colitis, disease severity followed a strict genotype-dependent gradient (CD4-KO < CD4-WT < CD4-OE). CD4-OE mice displayed severe weight loss, elevated DAI, shortened colons, increased histological damage, and an increased colonic Tbx21/Foxp3 mRNA ratio, indicating an effector-skewed immune response. In the CAC model, CD4-KO mice were protected, exhibiting markedly reduced tumor numbers and tumor area, whereas CD4-OE mice displayed aggravated tumor burden. Immunophenotyping confirmed that CD4-OE tumors were enriched in IFNγ$^+$ CD4$^+$ T cells, while CD4-KO tumors contained higher frequencies of immunosuppressive IL-10$^+$ CD4$^+$ T cells.

Conclusions. T cell–intrinsic lamin A/C regulates the intestinal effector–regulatory T cell balance. Reducing lamin A/C levels confers protection against chronic colitis and CAC development, whereas lamin A/C overexpression exacerbates chronic inflammation and tumorigenesis.

WIN55,212-2 revierte el programa inflamatorio de tipo 2 inducido por IL-13 en queratinocitos humanos y activa el eje PERK-ATF4 de la respuesta integrada al estrés

Natalia Cuervo1, Carmen Sánchez, Malena del Campo1, Mario Pérez1, Ángel Maldonado1, Alba Angelina1, Oscar Palomares1, Sofía Sirvent1*

1Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España.

Introducción. La dermatitis atópica (DA) está sostenida por un programa inflamatorio de tipo 2, en el que la IL-13 desempeña un papel central al activar la vía de señalización STAT6 en los queratinocitos. Los cannabinoides presentan potencial terapéutico por su capacidad para modular la inflamación y la función de la barrera cutánea. En este estudio se evaluó el efecto del cannabinoide sintético WIN55212-2 sobre la inflamación inducida por IL-13 en queratinocitos humanos y las vías implicadas en su acción antiinflamatoria.

Objetivos. Caracterizar el efecto de WIN55212-2 sobre la respuesta a IL-13 en queratinocitos e identificar las rutas implicadas.

Materiales y métodos. Se estimularon queratinocitos HaCaT con IL-13 (50 ng/mL) en presencia o ausencia de WIN55212,2 (10 μM). El perfil transcriptómico se analizó mediante RNA-seq (n=3/condición) y se comparó con piel lesional de DA (GSE121212). Se analizaron CCL26, IL-6 y POSTN (ELISA), expresión génica (qPCR) y señalización (Western blot: pSTAT6, pP65, pAkt, BiP), usando tapsigargina como control de estrés de retículo.

Resultados. El modelo reprodujo el eje IL-13/STAT6: el 87% de un panel curado de genes tipo 2 cambió en la misma dirección que en piel lesional ($p=5x10^{-5}$). WIN55212,2 revirtió la respuesta a IL-13 en todos los niveles analizados: fosforilación de p65 y de STAT6, normalización de los transcritos inducidos por IL-13 y descenso de CCL26, IL-6 y POSTN. En paralelo, WIN55212,2 indujo la respuesta integrada al estrés, con enriquecimiento de la firma hallmark UPR y del eje PERK-ATF4, confirmado por qPCR (BiP, CHOP, TRIB3) y proteína. La inducción de TRIB3, diana de ATF4 e inhibidor de AKT, acompañó a la caída de pAkt. La tapsigargina reprodujo la activación de la UPR pero no el efecto antiinflamatorio, apuntando a una acción selectiva de WIN55212-2.

Conclusiones. WIN55212,2 revierte el programa inflamatorio inducido por IL-13 y activa simultáneamente el eje PERK-ATF4. Estos resultados sugieren que la respuesta integrada al estrés podría contribuir al efecto antiinflamatorio de WIN55212,2 y constituir una posible diana en inflamación cutánea de tipo 2.

Modulación mediada por MAPK13 de proteínas desencadenantes del asma en la señalización inflamatoria del músculo liso bronquial

C. Rosales-Ariza 1, R. Fernandez-Santamaria 1; L. Cremades-Jimeno 1; B. Cárdaba 1,2

1 Departamento de Alergia e Inmunología, IIS-Fundación Jiménez Díaz-UAM, 28040, Madrid, Spain
2 Ciber de Enfermedades Respiratorias (CIBERES), 28029, Madrid, Spain

Introducción. El asma es una enfermedad respiratoria que cursa con inflamación crónica e hiperreactividad bronquial, causando broncoconstricción con la implicación del músculo liso bronquial. AKT1, MAPK13, STAT1 y TLR4 son proteínas identificadas previamente como desencadenantes del asma, cuyo papel en estas células es aún desconocido.

Objetivos. Analizar la regulación de proteínas desencadenantes del asma ante estímulos inflamatorios en células de músculo liso bronquial humano (HBSMCs), centrándose en el papel de MAPK13.

Métodos. Se silenció la expresión génica de MAPK13 en HBSMCs mediante electroporación con siRNA y se trataron con distintos estímulos inflamatorios de tipo 2. Se cuantificó la expresión génica y proteica de AKT1, MAPK13, STAT1 y TLR4 mediante RT-qPCR y western blot, inmunofluorescencia y citometría de flujo, respectivamente, así como la expresión de proteínas relacionadas con la contractilidad, la producción de colágeno y la regulación de la entrada de calcio. Además, se evaluó la proliferación celular mediante citometría de flujo.

Resultados. La expresión de las proteínas desencadenantes fue modulada por la estimulación inflamatoria, con respuestas heterogéneas en función del estímulo, y disminuyó en células con MAPK13 silenciada. Además, el silenciamiento de MAPK13 redujo la producción de colágeno y calregulina, especialmente en respuesta a IL-13, LPS y TNF-α, e incrementó la de proteínas contráctiles (ACTA2 y MYH11), con IL-4 en mayor medida. Por último, el silenciamiento de MAPK13 inhibió la proliferación de células musculares, potenciándose este efecto en presencia de IL-4, IL-35, LPS y TNF-α.

Conclusiones. Aunque preliminares, los resultados obtenidos muestran que MAPK13 podría estar implicada en la regulación de proteínas desencadenantes del asma. A su vez, participaría en la modulación de aspectos clave de la remodelación de las vías respiratorias bajo condiciones inflamatorias, como la producción de colágeno, la contractilidad y la proliferación de células musculares lisas. Esto la sitúa como potencial diana terapéutica en el asma.

Marcadores proteómicos del Oxi-Inflamm-Aging en células inmunes humanas: potenciales biomarcadores y posibles dianas terapéuticas

Steimetz-Kerszberg N.1 , Pariente-Herrera P.1 , Olazábal-Morán M.1, Muñoz-Silva M.1, González-Soltero R.2, Del Arco J.2, Acosta J.2,De la Fuente M.1,2,4., Garrido A.1,3

1 Nanocaging Research Group, Departamento de Biociencias, Facultad de ciencias biomédicas y de la salud, Universidad Europea de Madrid. Madrid.
2 Departamento de Biociencias, Facultad de ciencias biomédicas y de la salud, Universidad Europea de Madrid. Madrid.
3 Instituto de salud e investigación del Hospital 12 de Octubre (i+12), Madrid, España.
4 Departamento de Genética, fisiología y microbiología (Unidad de fisiología animal), Facultad de ciencias biológicas, Universidad Complutense de Madrid, España.

Introducción. El envejecimiento es un proceso multifactorial caracterizado por el deterioro progresivo de las funciones fisiológicas, especialmente las que afectan a la red neuroinmunoendocrina. Este deterioro altera la homeostasis, aumentando la mortalidad y la susceptibilidad a enfermedades. El estrés oxidativo y el estrés inflamatorio crónico son dos procesos estrechamente vinculados que, impulsados por la disfunción mitocondrial y la desregulación de las citocinas, representan rasgos distintivos del envejecimiento, siendo el sistema inmunitario un elemento clave en ambos. En este contexto, la teoría de la oxidación-inflamación propone que la interacción persistente entre el estrés oxidativo y la inflamación crónica (Oxi-Inflamm-Aging) constituye un mecanismo fundamental que subyace al proceso de envejecimiento y al deterioro funcional que lo acompaña.

Métodos. Para identificar potenciales biomarcadores asociados a Oxi-Inflamm-Aging, se llevó a cabo una revisión con el objetivo de sintetizar la evidencia disponible sobre las alteraciones proteómicas en las células inmunitarias humanas durante el envejecimiento fisiológico. Siguiendo el formato PRISMA, se identificaron y evaluaron estudios que informaban análisis proteómicos de células inmunitarias procedentes de adultos y personas mayores. En total, 11 artículos cumplieron con los criterios de inclusión y fueron incorporados en la revisión.

Resultados. Los estudios incluidos identificaron alteraciones proteómicas asociadas con el estrés oxidativo (NQO1, TXN2, SIRT3, SESN3, GLO1, GDF15 y MPO) y la inflamación crónica (IL6, TNF, MIF y TLR4), lo que respalda el concepto de inflamación asociada al envejecimiento (Oxi-Inflamm-Aging). Además, se observaron de manera recurrente vías de señalización clave que conectan ambos procesos, entre ellas NF-κB, MAPKs y STAT3.

Conclusión. En conjunto, estos hallazgos contribuyen a la identificación y caracterización de potenciales biomarcadores y vías moleculares clave implicadas en el proceso de Oxi-Inflamm-Aging. Estos podrían constituir posibles dianas terapéuticas para el desarrollo de intervenciones dirigidas a promover un envejecimiento saludable y favorecer la longevidad.

Inflamación, Otros

Efectos biológicos de mezclas ambientales de hidrocarburos aromáticos policíclicos asociados al material particulado PM10 en el epitelio y el endotelio pulmonar

Adrián Rodríguez-Gangas1, María del Carmen González-Caballero2, Paloma Acebo3, Sonsoles Hortelano3, David Galán-Madruga4,#, Alfonso Luque1,#.

1 Unidad de Endotelio Funcional; Unidad Funcional de Investigación de Enfermedades Crónicas (UFIEC), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, España.
2 Unidad de Evaluación de Riesgos. Centro Nacional de Salud Ambiental (CNSA). Instituto de Salud Carlos III. Madrid. España.
3 Unidad de Terapias Farmacológicas. Área de Genética Humana. Instituto de Investigación de Enfermedades Raras (IIER), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, España.
4 Laboratorio Nacional de Referencia de la Calidad del Aire. Centro Nacional de Salud Ambiental (CNSA). Instituto de Salud Carlos III. Madrid. España.
David Galán-Madruga y Alfonso Luque contribuyeron por igual a este trabajo.

Introducción. La contaminación atmosférica constituye un importante problema de salud pública. Entre sus componentes más tóxicos se encuentran los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) asociados al material particulado PM10. Sin embargo, la mayoría de los estudios han evaluado compuestos individuales, aunque la exposición humana tiene lugar frente a mezclas complejas presentes en el aire ambiental.

Objetivos. Evaluar los efectos de mezclas reales de HAP asociados a PM10 procedentes de ambientes urbanos sobre la viabilidad, metabolismo, respuesta inflamatoria e integridad de las barreras epitelial y endotelial pulmonares.

Materiales y métodos. Se analizaron cuatro extractos de PM10 obtenidos en Madrid durante junio (menor concentración de HAP) y diciembre (mayor concentración de HAP), procedentes de ambientes interiores y exteriores. Las líneas celulares A549 (epitelio pulmonar) y MLEC-04 (endotelio pulmonar) se expusieron a concentraciones comprendidas entre 0,1 pg/mL y 0,2 ng/mL. Se evaluaron la viabilidad celular mediante videomicroscopía con ioduro de propidio y ensayo MTT, la integridad de la barrera endotelial mediante análisis morfológico y la respuesta inflamatoria mediante RTqPCR. Asimismo, se realizaron experimentos de estimulación cruzada mediante la transferencia de sobrenadantes entre ambos tipos celulares.

Resultados. Las mezclas de HAP no indujeron citotoxicidad ni alteraciones significativas del metabolismo celular. Sin embargo, los extractos con mayor carga de HAP, especialmente los obtenidos en el exterior durante diciembre, provocaron retracción de las células endoteliales y pérdida de la integridad de la barrera. Además, se observó un incremento en la expresión de citocinas proinflamatorias y moléculas de adhesión tanto en células epiteliales como endoteliales, así como una respuesta inflamatoria cruzada entre ambos compartimentos tras la transferencia de sobrenadantes.

Conclusiones. Las mezclas ambientales de HAP asociados a PM10 inducen una respuesta inflamatoria y alteran la integridad de la barrera endotelial pulmonar, reforzando la necesidad de incorporar mezclas reales de contaminantes atmosféricos en la evaluación del riesgo ambiental.

Diversidad y diferenciación de los linfocitos B de la mucosa nasal en niños menores de dos años con bronquiolitis

Mercedes Rodríguez-García1, Yaiza Rodríguez1, Beatriz Solís2, Belén de la Rosa2, Felipe Garrido3, Juncal Díaz4, Gonzalo Oñoro4, Mario Alía5, Alejandro Arrabal1, Isabel Cortegano1, M. Luisa Gaspar1, Belén de Andrés1.

1 Laboratorio de Inmunobiología. CNM-ISCIII.
2 Dept. de Pediatría. Hospital Puerta de Hierro.
3 Clinica Universitaria de Navarra en Madrid.
4Atención Primaria Galapagar
5Unidad de Citometría. ISCIII.

Datos previos del laboratorio demuestran que el lavado nasal (LN) de niños menores de dos años con bronquiolitis moderada, contiene un complejo infiltrado de células CD45+, ausente en muestras de LN de controles sanos (Cortegano et al., 2022). En este trabajo hemos estudiado los LN de una cohorte de niños hospitalizados por bronquiolitis en comparación con niños sanos.

El análisis del perfil de citoquinas, demostró la existencia de un entorno proinflamatorio (IL-1β, IL-6, IL-8, TNF-α) así como la presencia de citoquinas inmunorreguladoras (IL-10 e IL-17) e IL-33 (predictor de asma pediátrico) en los LN de niños con bronquiolitis. El análisis por citometría de flujo sobre linfocitos B de los LN, mostró un compartimento compuesto por células naïve (IgD^+CD27^-), una población de células B de memoria (IgD^-CD27^+) y una subpoblación predominante de células B atípicas IgD^-CD27^-, la cual está ausente en las células CD20+ de sangre periférica de niños con bronquiolitis. A partir de RNA obtenido de muestras de LN en niños con bronquiolitis (estudios RNA-seq), se pudo ampliar la firma genética asociada al perfil de células B memoria atípicas o de tipo mucoso.

La capacidad de respuesta y diferenciación de las células B derivadas de los LN, se evaluó en cultivos de células estromales CD40L+ en presencia de citoquinas. En estas condiciones, las células B de la mucosa nasal se diferenciaron a células B efectoras de clase II^+ productoras de IgM, IgG e IgA. La adición de Pam3CSK4 (TLR2) e imiquimod (TLR7) promovió la aparición de células memoria IgD^-CD27^+, mientras que imiquimod y CpG (TLR9) favorecieron el aumento de las subpoblaciones efectoras IgM^+ e IgG^+.

En resumen, nuestros resultados demuestran la capacidad de diferenciación de las células B de los LN durante una infección respiratoria, desde el período neonatal cuando las vías inmunitarias sistémicas todavía presentan una maduración incompleta.

Alternative routes to MHC-I loading: TAP-independent presentation of vaccinia virus epitopes

Soto-Zaragoza A. (1), Muñoz-Abad V. (1), Gutiérrez-Oliva L.L. (1), Campos-Sánchez E. (1), Lázaro S. (1), Iborra S. (1), Antón L.C. (1), Ramos M. (1), Del Val M. (1)

(1) Centro de Biologia Molecular Severo Ochoa (CBM), CSIC - Universidad Autonoma de Madrid, 28049 Madrid, Spain

The transporter associated with antigen processing (TAP) plays a central role in the classical antigen processing and presentation pathway, as it imports cytosolic peptides into the endoplasmic reticulum (ER) for loading onto major histocompatibility complex class I (MHC-I) molecules. Properly assembled peptide-MHC-I complexes then traffic to the cell surface, where they are exposed to immunosurveillance by CD8+ T lymphocytes.

We previously identified vaccinia virus (VACV) epitopes presented by infected bone marrow-derived dendritic cells even in the absence of TAP. However, the mechanisms underlying TAP-independent presentation remain widely unknown. Because VACV infection markedly reorganizes intracellular membranes, we asked whether infection facilitates peptide access to MHC-I-containing compartments (e.g., the ER) or whether TAP independence is dictated by intrinsic epitope features that enable a noncanonical route.

To address this, we transduced TAP-sufficient and CRISPR-Cas9-generated TAP-deficient mouse cell lines with lentiviral vectors encoding individual VACV proteins containing epitopes that were previously classified as TAP-independent. We quantified antigen presentation by coculturing these transduced cells with epitope-specific CD8+ T lymphocytes, using VACV-infected cells as reference controls, and measuring activation via intracellular staining of interferon-γ (IFN-γ).

Our results show that the capacity to bypass TAP is epitope-specific. Two epitopes were presented without TAP only during VACV infection, indicating that infection can actively remodel antigen processing and/or peptide access to MHC-I-containing compartments. In contrast, other epitopes were presented independently of TAP, even without VACV infection, consistent with constitutive TAP-independent pathways. Together, these findings define infection-dependent and infection-independent routes of TAP-independent MHC-I presentation. Ongoing studies aim to identify the structural determinants that govern TAP independence.

Comparative Proteomic and Immunogenic Characterization of Cytomegalovirus Dense Bodies Generated in Epithelial and Fibroblast Cells

Clara Martín-Martín1,2, Inés Pareja-Cerbán1, Francisco J. Mancebo1, Javier Sotillo1, Estéfani García-Ríos3 and Pilar Pérez-Romero4

1National Center for Microbiology, Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda, 28220 Madrid, Spain
2Doctorate Program in Biomedical Sciences and Public Health, National University of Distance Education, Madrid, Spain.
3Instituto de Ciencias de la Vid y del Vino (CSIC, Universidad de La Rioja, Gobierno de La Rioja), Logroño 26007, Spain
4Department of Biological Sciences, University of Notre Dame, Notre Dame, IN 46556,
USA.

Introduction. Human cytomegalovirus (HCMV) dense bodies (DBs) are non-infectious enveloped subviral particles with strong potential as multiprotein vaccines, however, current production strategies rely almost exclusively on fibroblast cell lines.

Objetives. We investigated how producer cell lineage dictates the proteomic composition and immunogenicity of HCMV DBs by comparing a novel epithelial platform (ARPE-19) with the classical fibroblast model (MRC-5).

Materials and Methods. Both DB preparations underwent structural, mass spectrometry-based proteomic and antigenic profiling. To benchmark baseline immune responses, mice were immunized using an unadjuvanted, low-dose regimen followed by evaluation of cellular and humoral immunogenicity.

Results. We identified a highly conserved core of 51 viral and 538 cellular proteins shared across both platforms. Viral proteins abundance was remarkably similar, except for a distinct enrichment of UL33 and US27 enrichment in MRC-5 DBs. In contrast, the host accessory proteomes diverged substantially: ARPE-19 DBs were enriched for mitochondrial and metabolic proteins, whereas MRC-5 DBs incorporated vesicular trafficking networks. Both platforms preserved key HCMV antigens. In both DB types, gB, pp65 and UL44 were robustly recognized by monoclonal antibodies. Upon low-dose unadjuvanted immunization, ARPE-19-derived DBs uniquely elicited a significant UL44-specific cellular immune response ($p=0.0034$), whereas neither platform induced detectable neutralizing antibodies under this low-dose regimen.

Conclusions. Producer cell origin reshapes the accessory host proteome and modulates the cellular immunogenicity of HCMV DBs without compromising core viral architecture. Epithelial-derived DBs represent a promising next-generation vaccine platform, though clinical translation will require optimization of antigen dose, adjuvant formulation and manufacturing scalability.

miR-28 Regulates Germinal Center Duration and Antigen-Specific B Cell Selection

Rocío Moreno (1), Teresa Fuertes (1,2,3), Ana Rodríguez-Ronchel (2), Emigdio Álvarez- Corrales (1), Elena Hernández-García (4), Marta Iborra-Pernichi (5), Udane Moral-Pérez (1), Sonia Mur (2), Nuria Martínez-Martín (5), Salvador Iborra (4), Almudena R. Ramiro (2), Virginia G de Yébenes (1).

Germinal centers (GCs) are transient structures formed in secondary lymphoid organs in response to immunization or infection and are essential for the generation of high-affinity plasma cells (PCs) and memory B cells (MBCs). Tight regulation of GC duration is critical to ensure effective antigen-specific B cell selection and appropriate differentiation toward PC and MBC fates. However, the molecular mechanisms controlling GC termination remain incompletely understood.

MicroRNA profiling of human and mouse B cells identified miR-28 as a microRNA specifically induced during the GC reaction. For these reasons, we aimed to study the role of miR-28 in the GC reaction in vivo. To investigate its function, we generated a conditional miR-28 reporter and loss-of-function mouse model. We assessed GC and post-GC (PC and MBC) proportions by flow cytometry, antigen-specific responses by neutralization assays and ELISA, and performed transcriptomic analysis after vaccinia virus (VACV) infection.

Using this model, we found that miR-28 expression was highest in dark zone GC B cells and was also detectable in activated B cells and, at lower levels, in MBCs following immunization or VACV infection. Functional analysis revealed that miR-28 deficiency resulted in prolonged GC responses after immunization and secondary VACV infection, accompanied by increased GC proportions.

Although total MBC and PC numbers were reduced, miR-28–deficient mice displayed enhanced antigen-specific humoral responses and increased functional memory B cell–dependent recall responses, indicating improved antigen-specific selection within the GC. Transcriptomic analysis of GC B cells and PCs after VACV infection showed that miR-28 regulates pathways downstream of T follicular helper (Tfh) cell interactions, including mTOR and NF-κB signaling. In vitro stimulation assays, in which B cells were stimulated with anti-CD40, showed higher pS6 induction in the absence of miR-28.

Together, these findings identify miR-28 as a key regulator of GC termination that shapes antigen-specific B cell selection.

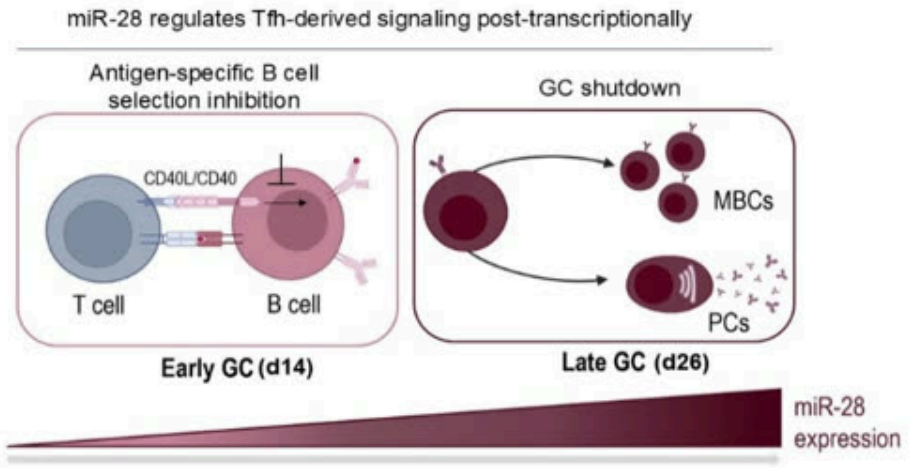


Figure 1. Working model

Modulación por el sistema del complemento de las etapas tempranas de la infección por Leishmania en ratón

1-David Collar Picó- Instituto de Salud Carlos III, Departamento de inmunidad microbiana
2-Soledad Crespo Carrasco- Instituto de Salud Carlos III, Departamento de inmunidad microbiana
3-Ana Belén Martín Ezquerra-Instituto de Salud Carlos III, Departamento de inmunidad microbiana
4- Elifnaz Ilgar- Universidad de Ciencias de la Salud, Estambul/ Instituto de Salud Carlos III
5-María Martínez Luna- Instituto de Salud Carlos III.
6- María Magdalena del Campo y Matilla- Universidad Alfonso X el Sabio, Facultad de Ciencias Biomédicas y de la Salud
7- Mercedes Domínguez Rodríguez- Instituto de Salud Carlos III, Departamento de inmunidad microbiana
8-Inmaculada Moreno Iruela- Instituto de Salud Carlos III, Departamento de inmunidad microbiana

Introducción. Ante una infección, el sistema inmunitario innato (SII) activa mecanismos de defensa como la inflamación, la fagocitosis y el sistema del complemento (SC). Este último desempeña un papel esencial frente a Leishmania, modulando la interacción inicial parásito-hospedador. Analizar su activación permite comprender mejor los mecanismos que favorecen el establecimiento de la infección y la evasión inmunitaria.

Objetivo. Evaluar la contribución y regulación de las distintas etapas del SC durante la interacción de Leishmania con el SII del hospedador, analizando la cinética y el grado de deposición de C3 y C5 mediante suero de cepas de ratón competentes o deficientes en componentes específicos del SC.

Materiales y métodos. Tras incubar promastigotes con suero de ratones BALB/c, BALB/c C3$^{-/-}$, RAG$^{-/-}$ y DBA/2, se analizaron la cinética y el grado de deposición de C3 y C5 en la superficie del parásito mediante anticuerpos monoclonales desarrollados por nuestro grupo. Además, se cuantificaron las concentraciones séricas de C3, C5, FH y FHR.

Resultados. La cinética y el grado de deposición de C3 y C5 sobre los promastigotes variaron en función del suero y de las condiciones experimentales. La activación simultánea de las distintas vías del SC favoreció una opsonización más rápida que la observada tras la inhibición de la vía clásica (VC). La deposición de C5 requirió la formación previa de la C5 convertasa.

Conclusiones. A pesar de que en los ratones RAG$^{-/-}$ no puede producirse la activación de la VC mediada por anticuerpos, las cinéticas de deposición de C3 y C5 fueron similares a las observadas en animales inmunocompetentes. Esto sugiere que, al menos en este modelo, la VC podría iniciarse mediante la unión directa de C1q a la superficie del parásito. Además, la mayor deposición de C3 observada con suero RAG$^{-/-}$ podría estar relacionada con concentraciones séricas más elevadas de FHR.

Disfunción del eje PSGL-1/P-selectina y alteración de la proteostasis en monocitos de pacientes con esclerosis sistémica

Inés Sánchez Abad, Alejandra Ramos Manzano, Esther San Antonio, Esther Vicente Rabaneda, Santos Castañeda, Ana Urzainqui.
Servicio de Inmunología y Reumatología del Hospital Universitario La Princesa

Introducción. La interacción entre el receptor leucocitario PSGL-1 y su ligando P-selectina es crucial para la adhesión y homeostasis inmune y se encuentra alterada en la esclerosis sistémica (SSc). Este trabajo investiga las señales inducidas por esta interacción y su influencia en la proteostasis de monocitos de pacientes con SSc, analizando el efecto de autoanticuerpos anti-centrómero (ACA+) y anti-topoisomerasa I (Scl-70+).

Objetivos. Evaluar la modulación del flujo autofágico y formación de gránulos de estrés (GS) tras la interacción con P-selectina en monocitos de donantes sanos y pacientes con SSc subclasificados por autoanticuerpos.

Materiales y métodos. Monocitos de donantes sanos y pacientes pareados por edad/sexo se incubaron sobre BSA o BSA+P-selectina en condiciones de rodamiento (70rpm, 15min) con o sin reposo de 1h. Mediante citometría de flujo se cuantificaron marcadores autofágicos (LC3B-II, p62), reguladores de señalización (p-mTOR, p-4EBP1), gránulos de estrés (G3BP1) y chaperonas (HSP40, HSP70).

Resultados. En monocitos sanos, la interacción con P-selectina indujo aumento inicial de p62, junto con formación de GS e incremento de HSP40 y HSP70; tras 1h, los niveles de p62 disminuyeron. Los monocitos de pacientes ACA+ mostraron activación de AKT/mTORC1, inducción de G3BP1 y chaperonas, y acumulación de LC3B-II sin cambios en p62. En los pacientes Scl-70+, aumentó la expresión de p-4EBP1 y G3BP1, pero no las chaperonas; además, disminuyó el porcentaje de células LC3B-II+ tras 1h de interacción con P-selectina.

Conclusiones. La señalización PSGL-1/P-selectina promueve la autofagia y respuesta a estrés en monocitos sanos, pero desencadena respuestas alteradas en SSc según el perfil serológico. Los pacientes ACA+ muestran bloqueo autofágico con acumulación de autofagosomas y una clara respuesta a estrés. En los pacientes Scl70+ no hay aumento de LC3B-II ni de chaperonas. Así, la vía PSGL-1/P-selectina podría constituir una prometedora diana inmunoreguladora y terapéutica en SSc.

The tumor suppressor ARF regulates M2 alternative polarization of macrophages by modulating STAT6 nuclear export.

Paloma Acebo1, Sandra Herranz1, Alfonso Luque2, Pablo Gómez-del Arco3, and Sonsoles Hortelano1,

1)Unidad de Terapias Farmacológicas. Área de Genética Humana. Instituto de Investigación de Enfermedades Raras (IIER), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain.
2)Unidad de Endotelio Funcional, Unidad Funcional de Investigación de Enfermedades Crónicas (UFIEC), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain.
3)Unidad de Epigenética y Regulación Génica, Área de Genética Humana. Instituto de Investigación de Enfermedades Raras (IIER), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain.

Introduction. Macrophages exhibit remarkable plasticity, allowing them to shift between pro-inflammatory (M1) or alternative/tissue-repair (M2) phenotypes in response to environmental cues. Previous studies have shown that ARF deficiency promotes macrophage polarization toward an M2-like phenotype, characterized by reduced inflammatory responses and enhanced expression of M2-associated markers. However, the precise molecular mechanisms by which ARF regulates macrophage polarization remain poorly understood.

Objectives. To clarify the molecular mechanisms underlying ARF-mediated regulation of IL-4-induced M2 macrophage polarization, and to determine whether ARF deficiency alters macrophage functional plasticity.

Materials and Methods. Peritoneal and bone marrow-derived macrophages (BMDMs) from wild-type (WT) and ARF-/- mice were stimulated with IL-4 to induce M2 polarization. Functional plasticity was assessed by sequential stimulation of IL-4-polarized macrophages with LPS. Signaling pathways, IL-4 receptor expression, STAT6 phosphorylation, subcellular localization, and nuclear export were analyzed by Western blot, RT-qPCR, confocal microscopy, and pharmacological inhibition.

Results. ARF-/- macrophages displayed an enhanced M2 phenotype in response to IL-4, with increased expression of Arg1, Ym1 and Fizz1, together with elevated arginase activity compared with WT macrophages. Despite this enhanced M2 phenotype, ARF-deficient macrophages retained functional plasticity, as subsequent LPS stimulation efficiently reprogrammed ARF-/- macrophages toward an M1 phenotype, indicating preserved functional plasticity. ARF deficiency did not affect upstream IL-4 signaling components, including JAK, PI3K, p38 MAPK activation, nor IL-4 receptors and SOCS1 expression. In contrast, ARF-/- macrophages exhibited sustained STAT6 phosphorylation and prolonged nuclear retention following IL-4 stimulation. Pharmacological inhibition of CRM-1-mediated nuclear export in WT macrophages recapitulated this phenotype.

Conclusions. ARF acts as a key regulator of IL-4-induced M2 macrophage polarization by limiting STAT6 activity probably through CRM-1-dependent nuclear export, revealing a previously unrecognized mechanism by which ARF controls macrophage plasticity.

Inmunidad Innata, Inflamación, Autoinmunidad, Inmunodeficiencias, Hipersensibilidad, Inmunología Molecular, Inmunogenética

Los pacientes deficientes en ISGilación presentan un mayor riesgo de autoinmunidad y enfermedad atópica

Gabriela de Alba1, Leticia de la Vega1, Andres Martinez-Muniz2, Sofija Buta-Panov2, Dusan Bogunovic2, Marta Martín-Fernández1,2,3

1 Instituto de Investigación de Enfermedades Raras, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, España
2 Universidad de Columbia, Nueva York, Estados Unidos
3 CIBER de Enfermedades Infecciosas, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, España

Los interferones de tipo I (IFN-I) son un grupo de citoquinas que se inducen cuando las células detectan la presencia de patógenos. Funcionan a través de una cascada de señalización mediada por JAK-STAT. Como resultado, se induce un ambiente altamente inflamatorio que debe ser controlado para evitar sus efectos adversos. Para ello, ISG15 y USP18 se encargan de detener esta cascada de señalización. ISG15, además, se une covalentemente a proteínas de manera inespecífica en un proceso denominado ISGilación que se lleva a cabo mediante la actividad de 3 ligasas E: UBA7, UBE2L6 y Herc5.

Hemos realizado un estudio estadístico de las presentaciones clínicas que se encuentran enriquecidas en pacientes que tienen defectos en el proceso de ISGilación. Para ello, buscamos en el biobanco BioMe del Hospital Mount Sinai pacientes con variantes bialélicas raras en UBA7, UBE2L6 y en Herc5 (frecuencia alélica menor, MAF < 0,01) y patogénicas (CADD superior al MSC de cada gen). Se identificaron 18 pacientes con seis variantes diferentes en UBA7 y una en HERC5. Buscamos términos indicativos de autoinmunidad, autoinflamación y atopia.

Los resultados mostraron un enriquecimiento de más de 6 veces en las manifestaciones inflamatorias cutáneas, un enriquecimiento de más de 10 veces en la presencia de linfadenopatía y un enriquecimiento de más de 7 veces en la presencia de tres o más signos de enfermedad atópica.

El estudio molecular de las variantes encontradas mostró defectos en la ISGilación causados por 3 de las variantes portadas por 11 de los pacientes estudiados, que presentaron una mayor incidencia de inflamación cutánea, atopia y enfermedad renal crónica.

Estos resultados apuntan a una implicación de la modificación postraducional ISGilación en la regulación de la vía de IFN-I y sugieren que los pacientes portadores de variantes en UBA7, UBE2L6 y Herc5 podrían ser tratados con inhibidores de JAK.

Inmunidad Innata, Inflamación, Hipersensibilidad / Alergia, Inmunidad frente a infecciones, Inmunología Molecular

The regulation of the intestinal epithelial barrier by the endocannabinoid system

Angel Maldonado1, Alba Angelina1, Duygu Yazici2, Mario Pérez-Diego1, Jennifer Hotie2, Cezmi A. Akdis2, Oscar Palomares1
1 Department of Biochemistry and Molecular Biology, School of Chemistry, Complutense University of Madrid, Madrid, Spain.
2 Swiss Institute of Allergy and Asthma Research (SIAF), University of Zurich, Davos, Switzerland.

Introduction. Cannabinoids have raised attention as potent immunomodulators that target cannabinoid receptors. Previous data showed the capacity of the synthetic cannabinoid WIN55212-2 to restore both human rhinovirus-16 and IL-13-induced airway epithelial barrier damage. Compelling evidence suggests that the endocannabinoid system (ECS) may regulate the intestinal epithelial permeability. Nonetheless, its role in this process is not fully understood yet.

Objective. Investigate the capacity of cannabinoids to modulate the intestinal epithelial barrier integrity in models of type-1 and type-2 inflammation.

Methods. Liquid-liquid-interface and monolayer cultures of human colon cancer cells (Caco-2 and HCT116) were used as a model of intestinal epithelial barrier. The expression of the ECS components was analysed by flow cytometry, confocal microscopy and transcriptomics. Type-1 inflammation was conducted using TNFa in the NF-KB-reporter cell line HCT116, whereas type-2 inflammation was generated using IL-13 in Caco-2. The effects of different cannabinoids (WIN55212-2, HU210, HU308 and CBD) on activated-cells were analyzed by RNAseq, targeted proteomics (OLINK), flow cytometry and transepithelial electrical resistance measurement.

Results. Caco-2 cells express the main ECS components at the RNA and protein level. The synthetic cannabinoids WIN55212-2 and HU210 inhibit TNFa-induced NF-KB activation in HCT116 cells, while diminish IL-13-induced ROS production and preserve the barrier integrity in Caco-2 cells. Mechanistically, WIN55212-2 inhibits IL-13-induced STAT6 phosphorylation thus impeding downstream IL-13 signalling, encompassing ROS producing enzymes, pro-inflammatory chemokines and barrier disrupting proteins. Additionally, WIN55212-2 induces by itself a tolerogenic phenotype in Caco-2 cells by increasing their basal epithelial barrier integrity and mitochondrial fitness.

Conclusions. Cannabinoids promote a tolerogenic phenotype in intestinal epithelial cells upon both type-1 and type-2 inflammation by mechanisms depending on NF-KB and phospho-STAT6 inhibition, respectively. The better understanding of the mode of action of cannabinoids in the gut might well pave the way for the future development of alternative therapeutic strategies for different immune-mediated inflammatory diseases.

Ayuno intermitente, autofagia y células madre hematopoyéticas: un nuevo eje metabólico frente a la inmunosenescencia

Noa Álvarez, Jennifer Lourenço y Luana Meza.
Filiación: Universidad Europea de Madrid

El envejecimiento hematopoyético se caracteriza por la disfunción de las células madre hematopoyéticas (HSC), el sesgo mieloide, entendido como una mayor producción de células mieloides frente a linfoides, y la inflamación crónica. La autofagia constituye una respuesta adaptativa frente al estrés metabólico, mientras que la restricción nutricional modula vías metabólicas y procesos relacionados con la función de células madre. Sin embargo, aún no se ha determinado si ambos mecanismos convergen en la inducción de una programación inflamatoria de las HSC envejecidas.

El objetivo de este trabajo es integrar la evidencia reciente sobre restricción nutricional, autofagia, metabolismo de HSC y hematopoyesis inflamatoria con el fin de proponer una hipótesis mecanística sobre su posible relación con la inmunosenescencia.

Se revisaron estudios experimentales y clínicos centrados en ayuno, alimentación restringida en el tiempo, autofagia, metabolismo, función de HSC, células madre y progenitoras hematopoyéticas (HSPC) y hematopoyesis mieloide durante el envejecimiento.

La evidencia disponible muestra que la inflamación del nicho envejecido altera el metabolismo glucolítico de las HSC mediante SOCS3-AKT/FOXO, mientras que la autofagia contribuye a su adaptación metabólica y los ciclos de ayuno y realimentación pueden favorecer la recuperación de su capacidad regenerativa. Asimismo, la restricción temporal de la alimentación modula la producción mieloide y, en humanos, se ha asociado con cambios en HSPC circulantes y en el flujo autofágico periférico, apoyando la sensibilidad de la hematopoyesis al estado nutricional. La disminución de SIRT3 en HSC envejecidas se ha relacionado recientemente con inmunidad entrenada (trained immunity) y una respuesta mieloide inflamatoria maladaptativa.

En conjunto, se identifica una conexión aún no demostrada entre restricción nutricional, adaptación metabólica/autofágica de HSC envejecidas y programación mieloide inflamatoria. Se propone que la restricción nutricional podría favorecer la homeostasis metabólica y autofágica de estas células, limitando su programación inflamatoria y el sesgo mieloide asociado al envejecimiento.

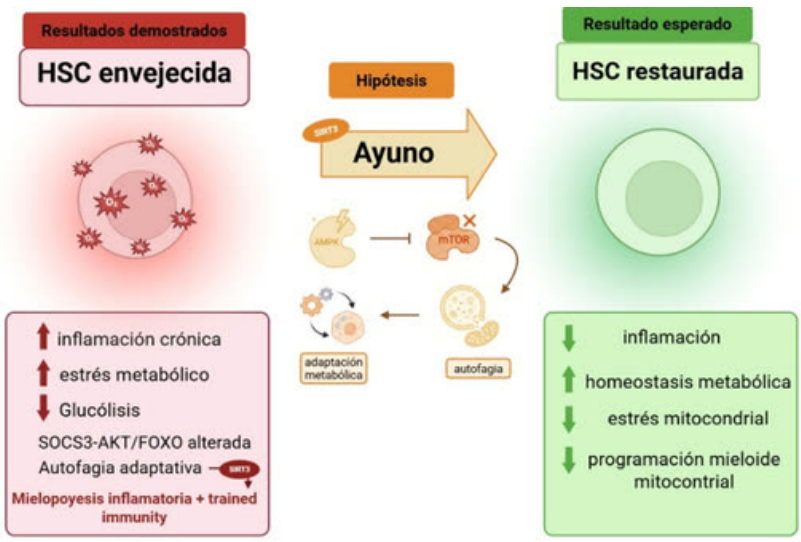


Figura 1.

Induction of trained immunity in tissue-resident fibroblasts

Ainara Álvarez Prada1,3, Salvador Iborra4, Laura Conejero4, Jose Luis Subiza4, Jesús M. Paramio1,2,3, Víctor G. Martínez1,2,3.

1.División de Oncología Molecular y Traslacional, Unidad de Innovación Biomédica, CIEMAT, 2.Centro de Investigación Biomédica en Red Cáncer (CIBERONC), 3.Instituto de investigación Hospital 12 de Octubre, 4.Inmunotek S.L.

Introducción. La inmunidad entrenada (IE) es una forma de memoria inmunitaria innata por la cual células como monocitos y macrófagos sufren reprogramación epigenética y metabólica tras un primer estímulo, montando una respuesta modificada ante desafíos posteriores. MV130 (Bactek) es una preparación polibacteriana inactivada de administración sublingual que confiere protección a largo plazo frente a infecciones respiratorias recurrentes mediante la inducción de IE en progenitores de médula ósea y monocitos circulantes. Más allá de las células inmunitarias clásicas, los fibroblastos pueden adquirir memoria inmunitaria innata en procesos inflamatorios crónicos. Sin embargo, se desconoce si un inductor exógeno como MV130 es capaz de generar este tipo de memoria en fibroblastos.

Materiales y métodos. Se emplearon fibroblastos primarios de mucosa oral de ratones reporteros C57BL/6 CCL2-Proteína Fluorescente Roja (RFP). Los ratones fueron tratados in vivo con MV130 o vehículo durante tres semanas. La cuarta semana, la mucosa oral fue digerida y las células estimuladas ex vivo con agonistas de receptores tipo Toll y estímulos endógenos (TNFα, IFNγ). Las lecturas incluyeron citometría de flujo (CCL2-RFP), perfil de factores secretados por Legendplex y expresión génica por qPCR.

Resultados. El tratamiento con MV130 indujo una reducción consistente de la expresión de Ccl2-RFP en fibroblastos de mucosa, confirmada a nivel proteico junto con otros factores solubles como IL-6 y CXCL1. Experimentos in vitro demostraron que los fibroblastos responden directamente a MV130 y reprodujeron la misma modulación observada in vivo. Se observó un efecto similar en fibroblastos dérmicos humanos.

Conclusiones. Los fibroblastos de mucosa murina y dérmicos humanos adquieren memoria inmunitaria inflamatoria tras el tratamiento con MV130. Esta memoria se manifiesta como un cambio en su respuesta inflamatoria ante estímulos secundarios, extendiendo el concepto de IE a células estromales y revelando un posible nuevo mecanismo de acción de MV130.

Inmunidad Innata, Inmunidad frente a infecciones, Inmunoterapia, Inmunología Molecular, Inmunogenética, Vacunas, Otros

Activación diferencial de linfocitos B de trucha arcoíris (Oncorhynchus mykiss) inducida por el entrecruzamiento del BCR con anti-IgM conjugado a dextranos.

Sebastian Garavito Echeverry - UEM e INIA-CSIC
Dra. Beatriz Abós Gracia - INIA-CSIC
Dra. Carolina Tafalla Piñeiro - INIA-CSIC

Introducción. Los linfocitos B de los peces teleósteos presentan características que los sitúan en un estado evolutivo intermedio entre la inmunidad innata y adaptativa. Su activación mediante el receptor de células B (BCR) puede estudiarse utilizando anticuerpos (Abs) anti-IgM, aunque la eficacia del estímulo depende del grado de entrecruzamiento del receptor. En mamíferos, los Abs anti-IgM conjugados a dextranos (anti-IgM-Dex) inducen una activación superior al anti-IgM convencional, pero esta estrategia no había sido evaluada previamente en teleósteos.

Objetivos. Evaluar la capacidad del anti-IgM-Dex para potenciar la activación de linfocitos B IgM+ de trucha arcoíris (Oncorhynchus mykiss) y analizar sus efectos sobre diferentes funciones efectoras de estas células.

Materiales y métodos. Se aislaron linfocitos B IgM+ de sangre periférica de trucha arcoíris y se estimularon con anti-IgM o anti-IgM-Dex. La activación celular se evaluó mediante ensayos de flujo de Ca^{2+}, proliferación, apoptosis, fagocitosis, ELISA y PCR cuantitativa en tiempo real. Asimismo, se estudió la respuesta en presencia de las citoquinas APRIL, BAFF e IL-21 y del estímulo TNP-LPS.

Resultados. El tratamiento con anti-IgM-Dex indujo una mayor activación del BCR que el anti-IgM convencional, evidenciada por un incremento significativo del flujo de Ca^{2+} y de la proliferación en linfocitos B sanguíneos, con efectos diferenciales en leucocitos de bazo y riñón. Además, redujo los porcentajes de apoptosis e incrementó el número de células fagocíticas. No se observó un efecto sinérgico con APRIL, BAFF, IL-21 o TNP-LPS, ni cambios en la expresión de genes relacionados con la diferenciación a células plasmáticas.

Conclusiones. El anti-IgM-Dex constituye una herramienta eficaz para potenciar la activación del BCR en linfocitos B de peces teleósteos y representa una estrategia prometedora para el estudio de la biología de estas células y el desarrollo de nuevas aproximaciones vacunales.

Inmunidad Innata, Inmunidad frente a infecciones, Inmunoterapia, Inmunología Molecular, Inmunogenética, Vacunas, Otros

Activación diferencial de linfocitos B de trucha arcoíris (Oncorhynchus mykiss) inducida por el entrecruzamiento del BCR con anti-IgM conjugado a dextranos.

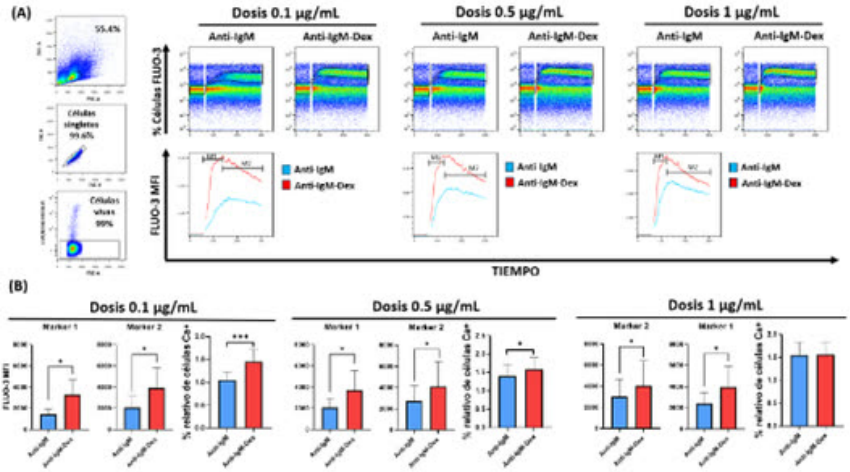


Figure 1.

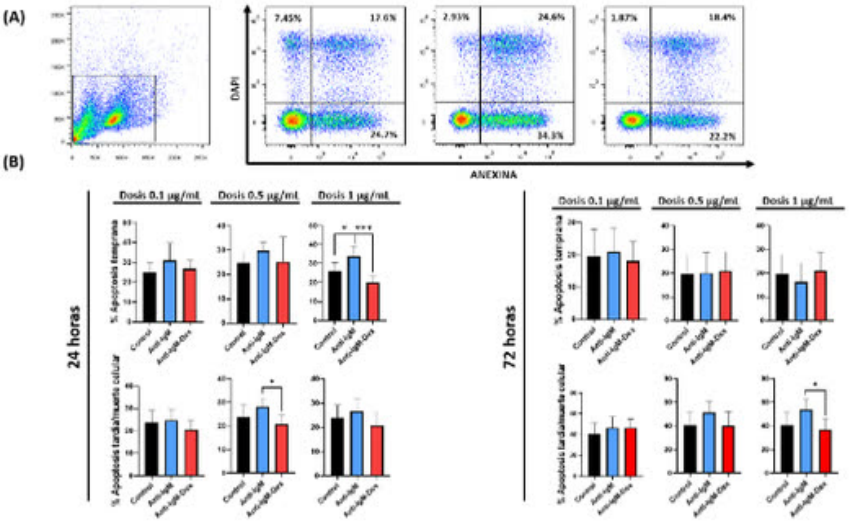


Figure 2.

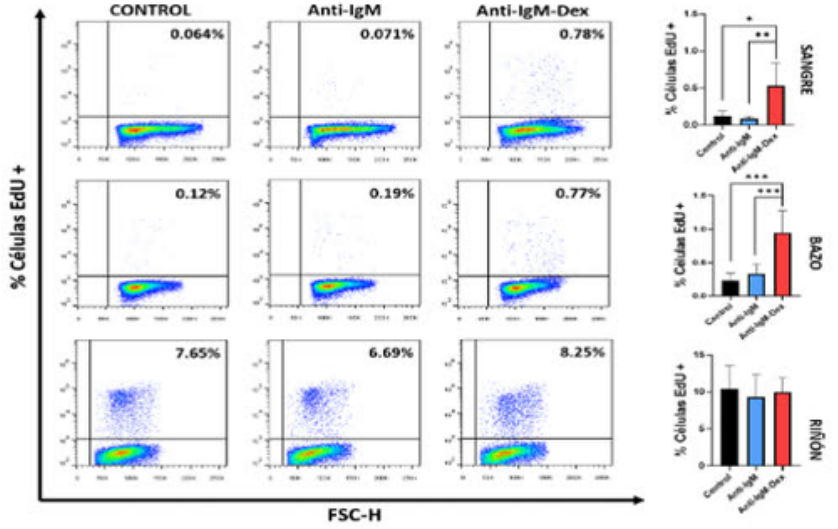


Figure 3.

Implicación de las integrinas β2 como mediadoras en el proceso de NETosis

Carrascosa Sánchez, M. 1; Álvarez Rodríguez, L. 1,2; Mozas Gutiérrez, J. 1; Lafuente Duarte, E.M.* 1; Reyes Manzanas, R.* 1

1. Departamento de Inmunología, Oftalmología y ORL. Universidad Complutense de Madrid.
2. Departamento de Biología Celular e Inmunología. Centro de Biología Molecular Severo Ochoa (CSIC-UAM).

Los neutrófilos desempeñan un papel esencial en la inmunidad innata actuando a través de mecanismos como la fagocitosis, la desgranulación y la formación de trampas extracelulares (NETs). Diferentes estudios sugieren que las integrinas de la subfamilia β2 podrían participar en la activación de los neutrófilos e intervenir en la regulación de la NETosis.

Además de su función antimicrobiana, la NETosis se ha relacionado con la progresión tumoral. Estudios previos de nuestro grupo mostraron que los exosomas derivados de la línea celular de cáncer colorrectal Colo320 son capaces de inducir NETosis. El reconocimiento y/o captación de los exosomas por las células diana está mediado por moléculas que participan en la adhesión, como las integrinas.

El objetivo de este trabajo fue analizar el papel de las integrinas β2 en la formación de NETs y estudiar su posible implicación en la NETosis inducida por los exosomas derivados de Colo320. Para ello, se empleó la línea celular HL-60 diferenciada a neutrófilos y clones de esta línea deficientes en CD18, creados mediante la técnica CRISPR-Cas9.

La NETosis se evaluó mediante la detección de H3 citrulinada por citometría de flujo y las NETs se visualizaron por inmunofluorescencia, observándose una reducción de la formación de NETs inducidas por exosomas en células HL-60 deficientes en CD18.

Por otro lado, se analizó la interacción de estas células con exosomas tumorales mediante ensayos de adhesión, en los que no se observaron diferencias en la unión de las células a exosomas entre células que poseen o no integrinas β2.

Estos hallazgos sugieren un posible papel de las integrinas β2 en la NETosis inducida por exosomas, abriendo nuevas líneas de investigación en el contexto tumoral.

Papel del Factor H del complemento en el condicionamiento tumoral de macrófagos

Juan Mozas Gutiérrez, Raquel Reyes Manzanas, Esther Lafuente Duarte y Pedro Antonio Reche Gallardo

En trabajos previos del grupo se ha descrito que el medio condicionado de la línea de carcinoma oral H413 es capaz de generar macrófagos inmunosupresores con perfil antiinflamatorio a partir de monocitos primarios. Este medio condicionado se analizó mediante un estudio de proteómica que reveló 16 candidatos solubles, entre los que destaca el factor H del complemento (FH), recientemente vinculado a procesos de inmunosupresión y progresión tumoral.

Para analizar el papel del FH, se generó una línea tumoral deficiente para CFH mediante CRISPR-Cas9 y su respectiva línea control. El efecto del medio condicionado por estas líneas sobre monocitos primarios se analizó mediante citometría de flujo, evaluando marcadores M2. Se utilizó ELISA y western blot para detectar FH/FHL-1 en el sobrenadante tumoral de las diferentes líneas.

Los resultados muestran que tanto el FH como su isoforma FHL-1 están presentes en el sobrenadante tumoral en proporción alterada respecto a la sanguínea. Además, el FH purificado es capaz de inducir parcialmente el fenotipo propio del medio tumoral en monocitos primarios, pero el efecto parece verse inhibido por el suero fetal bovino utilizado durante el cultivo.

Por último, se ha generado una línea tumoral deficiente para el gen CFH y los resultados muestran que la ausencia de FH y/o FHL-1 en el medio tumoral no reproduce el fenotipo de macrófagos antiinflamatorios. El FH, presente en el medio tumoral H413, parece ser uno de los componentes responsables del fenotipo inmunosupresor observado en macrófagos, aunque podría estar realizando un efecto sinérgico con otro/s componentes.

Contribución del compartimento granulocítico a la progresión de la leucemia linfoblástica aguda de células B

Andrea Ximena Vigil; S. González-Soto, R Sacedón; J. Valencia, A. Morón-Barón, L. Sánchez-Casanova, A. Varas, L. M. Fernández-Sevilla, Á. Vicente.

Departamento de Biología Celular e Histología, Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid.

Introducción. La leucemia linfoblástica aguda de células B (LLA-B) es la neoplasia maligna más frecuente en la infancia. Aunque los neutrófilos desempeñan funciones pro- y antitumorales dependiendo del contexto, su papel durante la progresión de la LLA permanece escasamente caracterizado.

Objetivo. Evaluar la contribución del compartimento granulocítico a la progresión leucémica mediante estrategias de depleción de neutrófilos e inducción de inmunidad entrenada con β-glucano.

Materiales y métodos. Se emplearon modelos xenogénicos de LLA-B en ratones NSG trasplantados con la línea celular humana Nalm-6. La carga leucémica, las poblaciones granulocíticas, la actividad antileucémica de los neutrófilos, la expresión génica y los niveles séricos de citocinas se analizaron mediante citometría de flujo, PCR cuantitativa e inmunofluorescencia.

Resultados. La depleción temprana de neutrófilos redujo la infiltración leucémica en distintos órganos, mientras que la depleción en fases avanzadas mostró efectos dependientes del nicho tisular y se acompañó de una intensa respuesta de granulopoyesis de emergencia. Los neutrófilos procedentes de animales tratados con β-glucano presentaron una mayor capacidad para reducir la viabilidad de células Nalm-6 en co-cultivos in vitro. Sin embargo, la inducción de inmunidad entrenada no reprodujo este efecto in vivo, sino que se asoció a un incremento de la infiltración leucémica extramedular, acompañado de alteraciones en el perfil transcripcional de los neutrófilos y de cambios en el entorno inflamatorio sistémico.

Conclusiones. Nuestros resultados indican que los neutrófilos constituyen un componente dinámico del microambiente leucémico y que su contribución a la progresión de la enfermedad depende del estadio evolutivo y del contexto tisular. Asimismo, muestran que los efectos de la inmunidad entrenada inducida por β-glucano en la LLA difieren de los descritos en tumores sólidos, sugiriendo que la alteración del nicho hematopoyético condiciona la respuesta funcional del compartimento granulocítico.

Nueva estrategia basada en CRISPR/Cas9 para el análisis del inmunopeptidoma de HLA específico de alelo utilizando un anticuerpo pan-HLA

Laura Cobos-Figueroa1,2§, Javier Robles-Parrado1, Alba C. Cano-Martín1, Ana Pintor-Poveda1, Carmen Mir1, Dganit Melamed3, Arie Admon3, Pilar Lauzurica1*, Elena Lorente1*§
* Estos autores contribuyeron por igual a la supervisión del estudio.
§ Correspondencia compartida.
1 Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, España
2 Centro Láser, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, España
3 Faculty of Biology, Technion-Israel Institute of Technology, Haifa, Israel

La inmunopeptidómica del antígeno leucocitario humano (HLA) está limitada por la escasa disponibilidad de anticuerpos específicos para determinados alelos y por los posibles artefactos derivados de los sistemas de sobreexpresión de HLA. Para superar estas limitaciones, desarrollamos una estrategia basada en CRISPR/Cas9 que elimina selectivamente los alelos clásicos de clase I no deseados, manteniendo un único alelo endógeno. Este enfoque permite analizar el inmunopeptidoma de forma específica para cada alelo utilizando un anticuerpo pan-HLA de clase I.

Para ello, editamos células JY para eliminar HLA-B07:02 y HLA-C07:02, conservando HLA-A02:01 (clones ΔBC). Se inmunoprecipitaron los complejos péptido-HLA de clones WT y ΔBC utilizando el anticuerpo pan-HLA W6/32 o el anticuerpo PA2.1 (específico para HLA-A02:01), seguido del análisis por nano LC-MS/MS y asignación computacional de los péptidos a HLA. La eliminación de HLA-B y HLA-C redujo aproximadamente un 55 % la expresión superficial total de HLA de clase I. Sin embargo, la inmunoprecipitación con W6/32 en los clones ΔBC recuperó una cantidad de péptidos comparable a la obtenida con PA2.1 en células WT.

Las predicciones de afinidad mostraron que la mayoría de los péptidos identificados con W6/32 en los clones ΔBC se asignaban a HLA-A02:01, mientras que los derivados de HLA-B07:02 y HLA-C07:02 prácticamente desaparecieron.

El análisis de los logotipos de secuencia confirmó el motivo canónico de HLA-A02:01 en todas las condiciones. Además, el inmunopeptidoma obtenido con W6/32 en los clones ΔBC mostró un elevado solapamiento (≈88 %) con el repertorio identificado con PA2.1 en células WT, lo que demuestra la especificidad y fidelidad de esta estrategia.

En conjunto, estos resultados apoyan la edición de alelos HLA mediante CRISPR como una estrategia eficaz para el análisis del inmunopeptidoma de una manera específica de alelo utilizando anticuerpos pan-HLA, sin depender de reactivos específicos y facilitando el estudio de alelos de HLA poco representados.

CRISPR/Cas9-Mediated Deletion of Classical HLA-I Molecules Enables Analysis of the Non-Classical HLA Immunopeptidome

Laura Cobos-Figueroa 1,2,§, Alba C Cano-Martín 1, Javier Robles-Parrado 1, Ana Pintor 1, Carmen Mir 1, Dganit Melamed 3, Arie Admon 3, Pilar Lauzurica 1,* , Elena Lorente 1,§,*. *These authors contributed equally to supervision of the study §These authors shared correspondence.

1 Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain 2 Centro Láser, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, Spain 3 Faculty of Biology, Technion-Israel Institute of Technology, Haifa, Israel.

Non-classical HLA class I molecules (HLA-E, -F and -G) play important immunomodulatory roles in pregnancy, infection and cancer, yet their immunopeptidomes remain poorly characterized due to low surface expression and masking by highly abundant classical HLA class I molecules.

We describe a CRISPR/Cas9-based gene editing strategy to enable immunopeptidomic analysis of these non-classical HLA molecules under endogenous regulatory conditions. HLA-A, -B and -C genes were disrupted in JY cells to generate ΔABC clones expressing exclusively non-classical HLA class I molecules. HLA–peptide complexes were isolated using the pan–HLA class I antibody W6/32 and analyzed by LC–MS/MS, and peptide identification was performed using complementary search engines (MaxQuant and PEAKS).

From two independent lysates of each ΔABC clones, we identified a total of 610 non-redundant HLA-bound peptides derived from 253 source proteins. The description of the peptidome sequence revealed a predominance of HLA-F–specific features, characterized by a broad length range, a predominant K at the C-terminus followed by D, R, and G, and an A at position 1, in agreement with the reported HLA-F binding motifs.

Comparison with published datasets confirmed the recovery of well-characterized non-classical HLA ligands, while the majority of peptides (≈86%) represent previously unreported candidates. In addition, functional enrichment analysis showed a marked overrepresentation of peptides derived from ribosomal and chromatin-associated proteins, particularly within the HLA-F ligandome.

These results demonstrate that CRISPR-engineered ΔABC cells, combined with standard immunoprecipitation, enable robust detection of non-classical HLA immunopeptidomes and provide a valuable framework for dissecting allele-specific non-classical HLA peptide repertoires under physiological and pathological conditions.

Exercise-Induced Immune adaptations: characterization of functional cell-cell contacts in peripheral blood, a research proposal

Apolonia Novillo1; Natalia Cuesta1, Catalina Escribano1, Juan José Montoya-Miñano2, Francisco Miguel Tobal2 and Lara del Campo1

1 Dpto. Biología Celular e Histología, Facultad de Medicina, UCM
2 Escuela de Medicina Deportiva, Dpto. Radiología y Rehabilitación, Facultad de Medicina, UCM

Introduction. Peripheral blood functions as a dynamic system that continuously scans all tissues and organs, immediately reflecting exercise-induced physiological changes that shape the immune landscape. Acute high-intensity exercise triggers transient leukocytosis, elevating cytokine levels and circulating counts by 35% to >100% via catecholamine-mediated demargination and hemodynamic shear stress in an intensity-dependent manner. WBC-RBC and WBC-WBC contacts have never been characterized to define their function. Besides, standard single-cell approaches, such as scRNA-seq or flow cytometry workflows, routinely identify and discard "doublets" or "multiplets" as artifacts. However, a subset of these events represents physically interacting cells carrying vital biological information regarding juxtracrine signalling. Exercise offers a tractable physiological perturbation with which to test whether these contacts change in frequency or character.

Objectives: To define WBC-RBC and WBC-WBC contacts in peripheral blood smears from healthy individuals as a proof of concept for a grant proposal to perform a spatial single cell transcriptomic profiling of contacting cells in rest and exercise conditions.

Materials and methods: Giemsa-stained peripheral blood smears from healthy volunteers were visually analyzed and described.

Results: Frequent WBC-RBC contacts are observed and, occasionally, WBC-WBC contacts. Monocytes showed the most striking phenotype: marked cell enlargement and cytoplasmic deformation with protrusions extending toward erythrocytes, frequently accompanied by protein accumulation at the contact zone and even nuclear enlargement and deformation with nuclear protrusions oriented towards the contact zone. Other leukocyte-specific contact patterns (neutrophils and NKs) are detailed in the accompanying poster. These cell-type-specific patterns indicate that the contacts are non-random and suggest a specific underlying function.

Conclusions: We propose that testing whether exercise modifies the frequency or morphological characteristics of these contacts would confirm their physiological role, supporting a proposal for a spatial single-cell transcriptomic characterization of the involved cells.

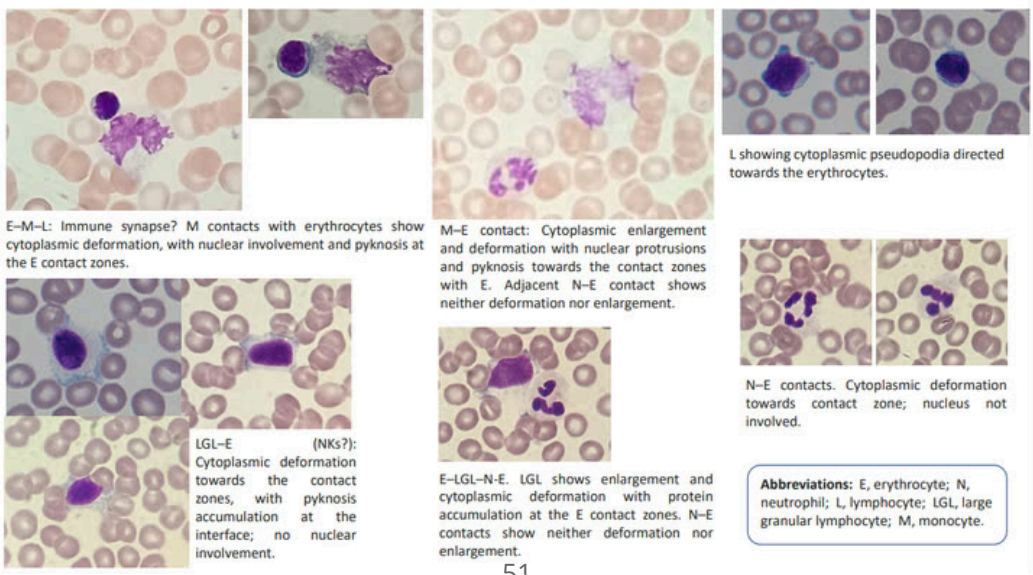


Figure 1.

Papel de HIF-1α en las células innatas RORγt+ y su impacto en el metabolismo

Arvelo-Rosario Daniel1, Marquina-Jiménez Borja1, Castillo-González Raquel1, Seguí-Pérez Alba1, Sancho-Temiño Lucía1, Mena-H. Gascón Cristina1, Cruz-Adalia Aránzazu1

1 Department of Immunology, Ophthalmology, and ENT, Universidad Complutense de Madrid, Instituto de Investigación Sanitaria Hospital 12 de Octubre (Imas12), Madrid, Spain

La interacción inmunometabólica resulta esencial para mantener la homeostasis energética y está implicada en la patogenia de diversas enfermedades. Sin embargo, los mecanismos mediante los cuales las células linfoides innatas RORγt⁺ participan en este proceso permanecen poco caracterizados. En este contexto, la función del factor de transcripción inducible por hipoxia 1α (HIF-1α), un regulador transcripcional clave de la adaptación celular a la hipoxia y del metabolismo glucolítico, en las células innatas RORγt+ no está completamente definida.

Por ello, el objetivo principal de este estudio es determinar el papel de HIF-1α en estas células y evaluar su impacto en la regulación metabólica sistémica.

Para analizar el papel inmunometabólico de las células innatas RORγt+, se utilizaron ratones knockout condicionales Rag1-/-HIF-1αfl/fl RORγt-Cre (HIF-1 αΔRorc). La caracterización metabólica in vivo se realizó mediante jaulas metabólicas. Por su parte, el análisis histológico del tejido adiposo se llevó a cabo con tinción de hematoxilina-eosina, y los niveles de la proteína termogénica UCP1 se determinaron por Western Blot e inmunohistoquímica.

Los ratones HIF-1 αΔRorc mostraron un menor peso corporal, una reducción en el área de los adipocitos y una mayor proporción de tejido adiposo pardo comparado con sus controles. Asimismo, presentaron un incremento en la actividad locomotora y en el cociente de intercambio respiratorio. Estos cambios metabólicos se produjeron sin diferencias significativas en la ingesta de alimento ni en los niveles de la proteína UCP1, lo que sugiere la implicación de mecanismos alternativos de regulación metabólica.

HIF-1α en las células innatas RORγt+ desempeña un papel clave en la regulación metabólica y en el remodelado del tejido adiposo, contribuyendo a la homeostasis metabólica. Estos hallazgos preliminares aportan nuevas evidencias sobre la interacción entre el sistema inmunitario y el metabolismo, y sientan las bases para futuras investigaciones necesarias para esclarecer su implicación en la obesidad y otras enfermedades metabólicas.

Diseño de una estrategia de PCR-SBT para el estudio de la variabilidad del péptido LMP-1$_{354–362}$ del virus de Epstein-Barr en muestras de ganglio linfático de linfoma de Hodgkin parafinado.

Jiménez Vargas, Carmen (1); Martín Acosta, Paloma (2,3); Serrano Martínez, Francisco (1,2); Garrido Herrero, Sofía (1) & Gómez Lozano, Natalia (1,2).

1.Servicio de Inmunología. Hospital Universitario Puerta de Hierro. 2.Grupo de Investigación en Inmunidad y Linfoproliferativos. Instituto de Investigación sanitaria Puerta de Hierro-Segovia de Arana, Majadahonda (Madrid). 3.Grupo de Investigación de Patología Molecular del Cáncer

El eje HLA-E-CD94/NKG2A participa en la respuesta antivírica y antitumoral mediada por células NK y linfocitos T CD8+. El virus de Epstein-Barr (VEB) puede evadirla modulando y estabilizando la expresión de HLA-E mediante la proteína latente de membrana 1 (LMP-1, latent membrane protein 1). El nonapéptido LMP-1$_{354–362}$, localizado entre los residuos 354–362, es polimórfico y puede unirse a HLA-E. Esas diferencias en su secuencia, como sucede con otros péptidos, podrían influir en la capacidad transformante del virus. Como la susceptibilidad al linfoma de Hodgkin clásico (LHc) asociado al VEB está influida por variantes inmunogenéticas que afectan a la interacción HLA-E-CD94/NKG2A, el polimorfismo LMP-1$_{354–362}$ podría tener un papel en el riesgo a desarrollar la enfermedad.

Estudiamos la variabilidad de LMP-1$_{354–362}$ diseñando una estrategia de PCR-SBT para secuenciar esta región del ADN viral en células tumorales de ganglio linfático parafinado. Mediante PCR, amplificamos 161 pb de la región de LMP-1. Optimizamos la técnica con ADN de líneas celulares VEB+ y líneas no linfoides como controles negativos. Posteriormente, analizamos muestras parafinadas de ganglios de pacientes con LHc, VEB+ o VEB−, utilizando biopsias cerebrales como controles negativos. Las muestras positivas fueron secuenciadas para determinar la secuencia de LMP-1$_{354–362}$.

En todas las muestras ganglionares VEB+ se amplificó LMP-1$_{354–362}$, aunque también en algunas VEB−, probablemente por la presencia del genoma viral latente en linfocitos B del microambiente. La secuenciación confirmó la presencia de la secuencia de interés, lo que permitiría estudiar las diferencias entre variantes presentes en células tumorales de LHc-VEB+ y las del microambiente en LHc-VEB−.

En conjunto, la técnica permite caracterizar LMP-1$_{354–362}$ en tejido parafinado. Ello permitirá aplicarla a una cohorte de pacientes, con otros componentes del eje HLA-E-CD94/NKG2A ya estudiados y evaluar la posible implicación de estos polimorfismos en la linfomagénesis del LHc asociado al VEB.

Enterocyte Autoantibodies (GECAs) and HLA: Their Relationship with HIV Infection Pathogenesis

Antonio Arnaiz-Villena , Tomas Lledo Christian Vaquero-Yuste , Ignacio Juarez and Jose Manuel Martin-Villa

Dept Inmunologia-Universdad Complutense de Madrid

Enterocyte autoantibodies (Gut Epithelial Cell Autoantibodies,GECA) present in HIV infected individuals may be crucial for immune deficiency advance and pathogenesis,since they reflect a damage of a important number of antigen presenting cells (entorocytes) which may be crucial for mantein T lymphocyte numbers in adults, once thymus is not longer functional.

In addition, genetic factors like HLA molecules may influence HIV infection course both in vertical and horizontal VIH infection.This neglected epitelial and genetic studies for explaining HIV disease may also be extended to another immunology physiopathologies:immunity books and research are mostly dedicated to body white cells with a little mention to epithelium in immunity.

Another neglected area is that the human microbioma or microgenobioma contains 7% of retroviral sequences and this is also important for HIV diagnosis which on the other hand is nor fully standardized along world.

Genetics of inbred druze population from palestinian region and its relationship with other mediterraneans

Antonio Arnaiz-Villena Ignacio Juarez , Christian Vaquero-Yuste , Jose Manuel Martin-Villa ,Tomas Lledo

Dept Inmunologia,Universidad Complutense de Madrid

The Druze is a relatively isolated population mostly present in Syria, Lebanon, Israel and Jordan. Historical data indicates that may belong to the cultural heritage of ancient Canaanites and other Semitic invader peoples (Assyrians, Babylonians, Persians, etc). The highly polymorphic human leukocyte antigen (HLA) system is used to investigate population structure, genetic affinities, and historical relationships and also to improve health diagnostics and transplantation.

HLA class I (-A, -B) and class II (-DRB1, -DQB1) Druze genetic profile is compared to 1800 HLA haplotypes of other Middle Easteners and Mediteranenans. A total of 100 healthy unrelated Druze individuals from Israel were genotyped using PCR-SSO and high-resolution molecular typing methods. Druze allele frequencies and other populations were compared by genetic distances, neighbor-joinin dendrograms, and correspondence analyses.

High-resolution HLA-DRB1 data revealed a close genetic relatedness between Druze and other Lebanese populations regardless of religious affiliation, as well as with Jews (both Ashkenazi and non-Ashkenazi), and Cretans. Additional analyses using low-resolution DRB1-DQB1 data further supported genetic affinities between Druze and eastern Mediterranean populations such as Armenians, Iranians, Egyptians, and Turks. HLA data also shows that certain HLA alleles input in Lebanon from Nile people culture (Copts, Ethiopians).

Overall, these results indicate that the Druze population constitutes a genetically distinctive yet retaining signatures of an ancient Mediterranean (including sub-Saharians) substratum that predates historical religious and cultural divisions.

Circulating carbohydrate antigen Ca10H predicts favorable prognosis in colorectal cancer

Authors: Pablo Mata-Martínez1,2,3, Laura Bravo-Robles2,3, Laura Hurtado-Navarro2,4, Laura Córdoba2,4, Julia del Prado Montero2,4, Francisco J. Cueto2,4, Karla Montalbán-Hernández1,5, Jaime Fernández2,3, Verónica Terrón-Arcos2,4, Jose Ignacio Tudela1, Mariana Tavecchia6, Joaquín Fisac Vázquez6, Rubén Fernández6, Natalia González7, Sylwia Anna Bilas6, Rebeca Abad7, Esteban Díaz7, Aurora Burgos6, Ramón Cantero-Cid7,8, Eduardo López-Collazo2,4,9,10, José Luis Subiza1, Marcos Viñuela1, Carlos del Fresno 2,3,#.

1. Inmunotek S.L. Alcalá de Henares, Madrid, Spain.
2. The Innate Immune Response Group, La Paz University Hospital Research Institute (IdiPAZ), Paseo de La Castellana 261, Madrid 28046, Spain
3. Immunomodulation Laboratory, La Paz University Hospital Research Institute (IdiPAZ), Madrid, Spain
4. Tumorimmunology laboratory, La Paz University Hospital Research Institute (IdiPAZ), Madrid, Spain
5. Current address: Medical Department, ITF Research Pharma SLU, Alcobendas, Madrid, Spain
6. Digestive Endoscopy Unit, La Paz University Hospital, 28046, Madrid, Spain
7. Digestive Surgery Service, La Paz University Hospital, 28046 Madrid, Spain.
8. Department of Surgery. Medicine faculty. Autonomous University of Madrid, Madrid, Spain.
9. CIBERES (Network of Biomedical Research in Respiratory Diseases), Madrid, Spain.
10. Universidad UNIE, Madrid, Spain.
corresponding author: Carlos del Fresno, carlos.fresno@salud.madrid.org; @arlosdel

Introduction. Non-invasive biomarkers for early detection and prognosis of colorectal cancer (CRC) remain an unmet clinical need. In this work, we investigated Ca10H, a novel circulating carbohydrate antigen, as a plasma biomarker with prognostic value in CRC.

Methods. Plasma Ca10H was quantified by ELISA in a retrospective cohort of 448 individuals, including CRC patients (n=301), patients with colorectal adenomas (n=52), and healthy volunteers (n=95). Blood samples were obtained from patients diagnosed with CRC, individuals with other colorectal adenomas/polyps, and healthy volunteers (HV). CRC patients were recruited during the 2015-2024 period from the Digestive Surgery Service at La Paz University Hospital. These patients diagnosed with CRC underwent a follow-up for up to 10 years (follow-up median: 3.95 years, ranging from 1.73 to 10.15 years). To evaluate disease-specific mortality (exitus), only patients who died due to CRC progression were taken into consideration.

Results. Ca10H levels were significantly elevated in CRC patients and were even higher in patients with adenomas, showing an inverse association with tumor progression. Importantly, baseline Ca10H levels were significantly higher in patients who survived compared with those who died during follow-up, both in univariate and multivariate analyses. Consistently, CRC patients with high plasma Ca10H levels exhibited improved disease-specific survival over an up to 10-year follow-up period, and Cox regression analysis confirmed high Ca10H levels as an independent positive prognostic factor (HR 0.592, 95% CI 0.428 – 0.819, p = 0.002).

Conclusion. Ca10H is a promising non-invasive biomarker associated with a favorable prognosis in CRC, with strong potential for patient stratification and improving personalized management.

FGF21 modula el fenotipo de los macrófagos y favorece la inmunosupresión en el colangiocarcinoma intrahepático

Autores: Ana Cárdenas-Parra (1), Adriana de Bonis (1,2), Sara García-Fernández (1,2), Alejandro Hionides (1,2), Marina Bárcena-Varela (3), Francisco Javier Cubero (1,2,3,4), Magdalena Leiva (1,2,3)

1- Departamento de Inmunología, Oftalmología y ORL, Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid (Spain) | 2- Instituto Universitario de Neuroquímica (IUIN), Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid (Spain) | 3- Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón (IiSGM), Madrid (Spain) | 4- Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERHD), Madrid (Spain)

Introducción. El colangiocarcinoma intrahepático (iCCA) presenta un microambiente tumoral altamente inmunosupresor que favorece la progresión tumoral y limita la eficacia de las estrategias inmunoterapéuticas. Los macrófagos asociados al tumor (TAMs) constituyen una de las principales poblaciones inmunitarias del iCCA y desempeñan un papel central en la progresión tumoral y el agotamiento de los linfocitos T citotóxicos. FGF21 es una hepatocina implicada en la regulación del metabolismo hepático, cuyos niveles aumentan en distintos tipos de cáncer y a la que se han atribuido funciones inmunomoduladoras. Sin embargo, se desconoce su contribución al microambiente inmunitario del iCCA.

Objetivos. (i) Analizar la expresión de FGF21 en células tumorales de iCCA; (ii) determinar su papel inmunomodulador sobre los TAMs; y (iii) evaluar el impacto de su neutralización sobre el microambiente tumoral.

Materiales y métodos. Se analizó la expresión de FGF21 en líneas celulares de iCCA y colangiocitos inmortalizados mediante qPCR. Se diferenciaron macrófagos murinos a partir de progenitores de médula ósea y se estudió el efecto de FGF21 sobre su polarización. Se generó un modelo murino de iCCA mediante inyección hidrodinámica de plásmidos codificantes para formas constitutivamente activas de YAP y AKT, evaluándose el efecto de un anticuerpo neutralizante frente a FGF21.

Resultados. Las líneas de iCCA mostraron una expresión significativamente superior de FGF21 respecto a los colangiocitos. In vitro, FGF21 aumentó la expresión de CD206 en macrófagos estimulados con IL-4 y de PD-L1 tras exposición a medio condicionado de células de iCCA. In vivo, la neutralización de FGF21 redujo la infiltración de macrófagos CD206+ e incrementó los linfocitos T CD8+ efectores, que mostraron menor expresión de PD-1 y TIM-3.

Conclusiones. FGF21 contribuye al establecimiento de un microambiente inmunosupresor en el iCCA mediante la modulación del fenotipo de los macrófagos y la promoción del agotamiento de los linfocitos T CD8+.

Función de los receptores de tipo NK y el TCRγδ en células "innate-like" residentes en los tejidos. Capacidad de activación de los linfocitos T γδ: El papel de los NKR y el TCRγδ

Ángela Zarco1, Bethania Garcia-Cassani1, Nicolas Veland2, Adrian Hayday2, Miguel Muñoz-Ruiz1.

1. Departamento de Inmunología, Oftalmología y Otorrinolaringología, Facultad de Medicina de la Universidad Complutense e Instituto de Investigación Sanitaria 12 de Octubre (imas12), Madrid, España; 2. Laboratorio de Inmunovigilancia, Instituto Francis Crick, Londres, Reino Unido.

Introducción. Los linfocitos Tγδ son el prototipo de células T "innate-like" o no convencionales, capaces de combinar características tanto innatas como adaptativas. A diferencia del receptor antigénico TCRαβ, no necesitan interaccionar con MHC para activarse; ya que reconocen directamente señales de estrés a través del TCRγδ y de receptores de tipo NK (NKR), jugando un papel clave en la inmunovigilancia tisular y defensa anti-tumoral. En ratones, este TCR define su localización, TCRVγ5Cγ1+ corresponde a células Tγδ dendríticas epidérmicas y TCRVγ6/4Cγ1+ a células dérmicas y pulmonares.

Objetivos. Nuestro objetivo se centra en estudiar el papel y la relación de los receptores implicados en la respuesta citotóxica de los linfocitos Tγδ, TCRγδ y NKR, en homeostasis tisular y en contextos patológicos, en concreto en cáncer epidérmico y pulmonar.

Materiales y métodos: Para abordar nuestro objetivo, utilizamos un modelo murino, un knockout inducible para la región constante del TCRγδ(Cγ1), que elimina el TCRγδ de los linfocitos Tγδ intraepiteliales en ratones adultos.

Resultados. Hemos observado: i) el TCRγδ no es imprescindible para la supervivencia de las células Tγδ en la epidermis in vivo; ii) la ausencia del TCRγδ provoca alteraciones morfológicas y fenotípicas; iii) los linfocitos T γδ no son capaces de ejercer su respuesta citotóxica únicamente a través de los NKR, en concreto NKG2D, requiere tanto la presencia como la estimulación del TCRγδ; iv) el TCRγδ participa tanto de forma directa como indirecta (regulación de NKR) en la activación y citotoxicidad celular, lo que se traduce en una reducción del tamaño tumoral.

Conclusiones. Estos hallazgos sugieren que el TCRγδ juega un papel decisivo en la activación celular, respuesta citotóxica y como consecuencia en la eliminación de tumores. Por ello el TCRγδ podría convertirse en una diana prometedora para futuras inmunoterapias.

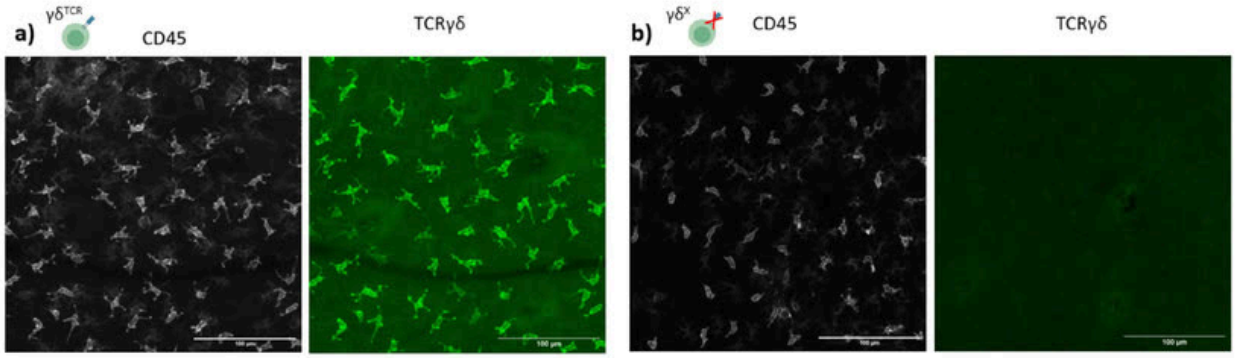


Figura. Eliminación específica y condicional del TCRγδ de la epidermis de un ratón adulto. Imágenes de microscopía confocal en las que se muestra la tinción de CD45 y TCRγδ en la epidermis de la oreja de un a) ratón control b) ratón en el que se ha eliminado condicionalmente el TCRγδ tras la inyección de tamoxifeno. La escala de referencia es de 100μm.

Phenotypic and functional characterization of hMSC-TERT cells as an FRC-like stromal model of the CLL lymph node microenvironment

Ane San Martin Retegi[1,3], Aleksandra Mikula[2], Paloma Pérez-Aciego[1], Ignacio Losada[1], Leticia Valencia[3,4], Diego Velasco[3,4], Reina Mebius[2], Lotte de Winde[2].

[1] Fundación LAIR, Madrid, Spain
[2] Department of Molecular Cell Biology, Amsterdam UMC, Location VU, Amsterdam, the Netherlands
[3] Department of Bioengineering, University Carlos III of Madrid, Leganés, Spain
[4] Instituto de Investigación Sanitaria de la Fundación Jiménez Díaz, Madrid, Spain

Chronic lymphocytic leukemia (CLL) progression and survival are strongly influenced by interactions with the lymph node stromal microenvironment. Fibroblastic reticular cells (FRCs) provide structural and molecular cues regulating malignant B-cell adhesion, migration and spatial organization. However, the limited availability of primary FRCs hampers the development of reproducible human in vitro models.

Here, we characterized hMSC-TERT cells as a potential FRC-like stromal model and compared their phenotypic and functional properties with primary human FRCs in the context of CLL. hMSC-TERT cells and primary FRCs from four donors were characterized by multiparametric flow cytometry using stromal identity and activation markers. Stromal-supported CLL migration was assessed in Transwell assays using 3D collagen I matrices (1 mg/mL), while stromal-CLL spatial organization was evaluated by confocal microscopy. Early tumour-stroma interactions were analysed after 24 h of direct co-culture, focusing on stromal adhesion molecules and tumour-cell integrins and chemokine receptors.

hMSC-TERT cells reproduced key FRC features, including consistently high CD90, FAP and ICAM-1 expression, while showing lower basal PDPN and weaker VCAM-1 induction following CLL co-culture. Primary FRCs promoted the strongest MEC-1 migratory response, exceeding migration towards CXCL12 or CXCL13 alone. hMSC-TERT cells partially reproduced this effect, increasing MEC-1 migration from 13.5% in control conditions to 32.5%. Confocal imaging revealed denser stromal actin networks and more pronounced MEC-1 clustering with primary FRCs. After 24 h, stromal ICAM-1 was maintained whereas VCAM-1 was reduced, suggesting dynamic regulation of adhesion molecules during early tumour-stroma contact.

hMSC-TERT cells recapitulated key phenotypic and functional features of lymph node FRCs, including stromal activation, adhesion molecule expression and support of CLL migration and spatial organization. Despite differences from primary FRCs, their reproducibility and partial functional recapitulation support hMSC-TERT cells as a promising and scalable stromal model for investigating CLL-stroma interactions and developing human in vitro lymph node models.

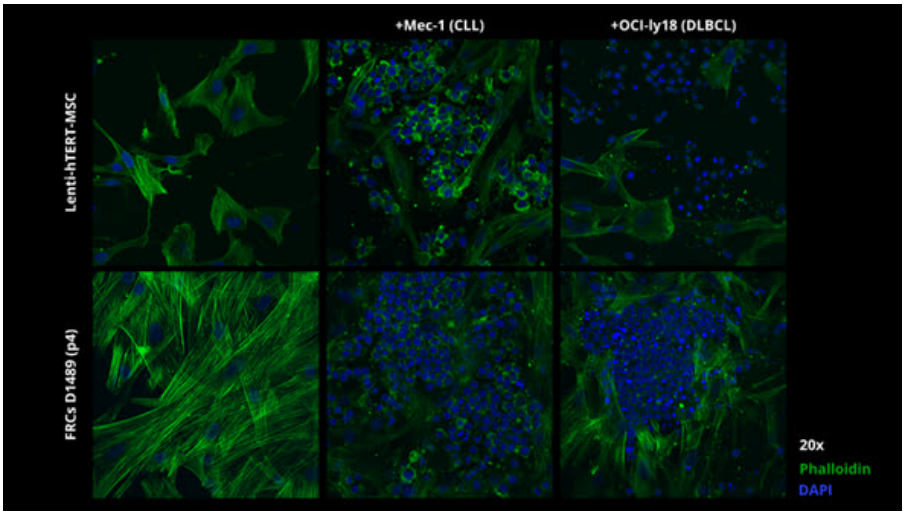


Figure 1.

Identifying different neuroendocrine lineages using soluble immunecheckpoints and cytokines

Authors: Mata Martínez P 1,2 , Celada L 3,4 , Cueto F 1,5 , Sáenz de Santa María G 1,5 , Valdés N 6 , García-Moreira V 7 , Enguita del Toro M 8 , López-Collazo E 1,5 , Chiara M 3,4 , del Fresno C 1,2

1 The Innate Immune Response Group (IdiPAZ), Madrid Madrid, Spain
2 Immunomodulation laboratory (IdiPAZ), Madrid Madrid, Spain
3 Health Research Institute of the Principado de Asturias (ISPA), Oviedo Principado de Asturias, Spain
4 Institute of Oncology of the Principado de Asturias, Oviedo Principado de Asturias, Spain
5 Tumor immunology Laboratory (IdiPAZ), Madrid Madrid, Spain
6 Endocrinology and Nutrition Department, Hospital Universitario Cruces
7 Clinical Analysis Service, San Agustín University Hospital
8 Clinical Analysis Service, Central University Hospital of Asturias

Introduction. Neuroendocrine neoplasms (NENs) comprise a group of rare tumors originating from neuroendocrine cells, which are present in both endocrine glands and scattered throughout the body. Due to their scarcity and absence of specific markers, diagnosing NENs remains a complex challenge. Therefore, new biomarkers are required, ideally, in easy-to-obtain blood samples.

Methods. A panel of blood soluble immune checkpoints (sPD-L1, sPD-L2, sPD-1, sCD25, sTIM3, sLAG3, Galectin-9, sCD27, sB7.2 and sSIGLEC5) and cytokines (IL4, IL6, IP10 and MCP1) was quantified by LEGENDplex in a cohort of 139 NENs, including 29 pituitary NENs (Pit-NENs), 46 pheochromocytomas and paragangliomas (PPGLs), and 67 gastroenteropancreatic and pulmonary (GEPP) NENs, as well as in 64 healthy volunteers (HVs). The potential of these circulating immunological parameters to distinguish NENs from HVs, differentiate among various NENs subtypes, and predict their prognosis was evaluated using mathematical regression models. These immunological factors-based models generated scores that were evaluated by Receiver Operating Characteristic (ROC) and Area Under the Curve (AUC) analyses. From these analyses, a minimal signature emerged, comprising the five shared immunological factors across the models: sCD25, sPD-L2, sTIM3, sLAG3, and Galectin-9.

Results. Most of the immunological factors analyzed showed specific expression patterns among different NENs. Scores based on signatures of these factors identified NENs with high efficiency, showing AUCs ranging between 0.948 and 0.993 depending on the comparison. Additionally, an easy-to-implement minimal signature successfully identified all analyzed NENs with AUC values exceeding 0.900. These findings highlight the effectiveness of the models and minimal signature in accurately diagnosing and differentiating NENs.

La presentación de antígenos derivados de ncORFs es altamente dependiente de los motivos de anclaje de HLA-I.

Andrea Rivera, Elena Lorente, Daniel López.

Unidad de Presentación y Regulación Inmunes, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III. Majadahonda

Los marcos de lectura abiertos no canónicos (ncORFs) codificados a lo largo del genoma humano pueden traducirse en proteínas no convencionales, algunas implicadas en la tumorigénesis mediante la alteración de vías reguladoras clave. Aunque se ha demostrado que péptidos derivados de ncORFs pueden ser presentados por moléculas del antígeno leucocitario humano de clase I (HLA-I), su contribución global al inmunopeptidoma de HLA-I respecto al proteoma canónico es aún desconocida.

El objetivo fue determinar la contribución de los ncORFs al repertorio de ligandos de HLA-I en comparación con el proteoma canónico. Para ello, empleamos una base de datos con 7.264 secuencias de ncORFs humanos para identificar ligandos peptídicos derivados de ncORFs en conjuntos de datos de espectrometría de masas que abarcaban 102 alelos de HLA-I clásicos y no clásicos.

Los ligandos derivados de ncORFs representaron el 2,13% del ligandoma total de HLA-I del conjunto de alelos analizado, que representa a la inmensa mayoría de la población humana, variando su proporción entre alelos. Las moléculas de HLA-I con motivos de anclaje que favorecen aminoácidos básicos, alanina o prolina presentaron mayor proporción de péptidos derivados de ncORFs. El motivo de anclaje C-terminal fue el principal determinante de la presentación de ncORFs. Las proteínas derivadas de ncORFs que originaban epítopos de HLA-I mostraron mayor abundancia de transcritos. Estas proteínas fueron más básicas e hidrofóbicas que aquellas que no generaban ligandos de HLA-I.

En conjunto, los péptidos derivados de ncORFs constituyen una fracción del ligandoma de HLA-I, y las preferencias por motivos de anclaje específicos de los alelos HLA-I determinan su representación en el inmunopeptidoma. Estos resultados amplían el conocimiento del repertorio antigénico presentado por HLA-I en tejidos sanos y, especialmente, tumorales. Los pacientes portadores de alelos HLA-I con mayor número de ligandos no convencionales podrían ser candidatos ideales para identificar antígenos tumorales derivados de ncORFs.

HLA-G limits the function of CD8+ILT2+ T cells and promotes de novo CD24 expression

Sandra Fernández-Uría1, Christian Vaquero-Yuste1, Nikolas Valencia-Salcedo1, Cristina Sanchez del Pueblo2, Inmaculada Lasa-Unzue3, María Luisa Suárez Solís 2, José María Mugüerza-Huguet2, Alberto Gutierrez-Calvo Jose Manuel Martin-Villa1, Ignacio Juarez1

1. Departamento de Inmunología, Oftalmología y ORL; Fac. de Medicina;Universidad Complutense de Madrid.

2. Servicio de Cirugía General y del Aparato Digestivo, Hospital Clínico San Carlos.

3. Servicio de Cirugía General y del Aparato Digestivo. Hospital Universitario Príncipe de Asturias.

HLA-G inhibits T cells during early activation stages through its receptor ILT2 by triggering phosphatases such as SHP-2. However, its effects on T cells upon prolonged activation—when their cytotoxic capacity increases—remains unclear.

This study aimed to characterize gene expression in effector-like CD8+ T cells (Tc) and assess transcriptomic changes following contact with HLA-G–positive cells, in the context of HLA-G–expressing gastrointestinal tumors.

For the in vitro experiments, CD8+ T cells isolated from healthy donors were activated for five days (anti-CD3/CD28), characterized for ILT2 and activation markers, and co-cultured for 24 hours with RCC7 cells either expressing (RCC7-G1) or lacking (RCC7-WT) HLA-G1. RNA-seq was performed on Tc under all conditions. In peripheral blood and tumors from gastric and colorectal cancer patients, the frequency of ILT2+ cells was determined by flow cytometry, while HLA-G expression and lymphocytic infiltration in the tumors were evaluated by immunohistochemistry.

A high frequency of ILT2+ cytotoxic T cells was detected in both the blood and tumor tissues of patients with gastric or colorectal. Following prolonged activation, Tc expressed ILT2 and, after co-culture with RCC7-G1, displayed downregulation of key antitumor pathways, including TNFα, IL-2, and type I/II IFN responses. Gene ontology analysis indicated decreased activation, chemotaxis, and cytokine signaling (Figure 1). Moreover, these cells showed de novo expression of CD24, further validated by flow cytometry (Figure 2). Finally, HLA-G positive tumors showed reduced lymphocytic infiltration and a co-localization of CD24 with T lymphocytes infiltrating HLA-G+ tumor areas.

In conclusion, HLA-G strongly inhibits the function of effector CD8 T cells, and, for the first time, we showed de novo CD24 expression upon HLA-G interaction. This finding supports HLA-G as an emerging immune checkpoint and positions the HLA-G/ILT2 axis as a potential target for immunotherapy.

HLA-G limits the function of CD8+ILT2+ T cells and promotes de novo CD24 expression

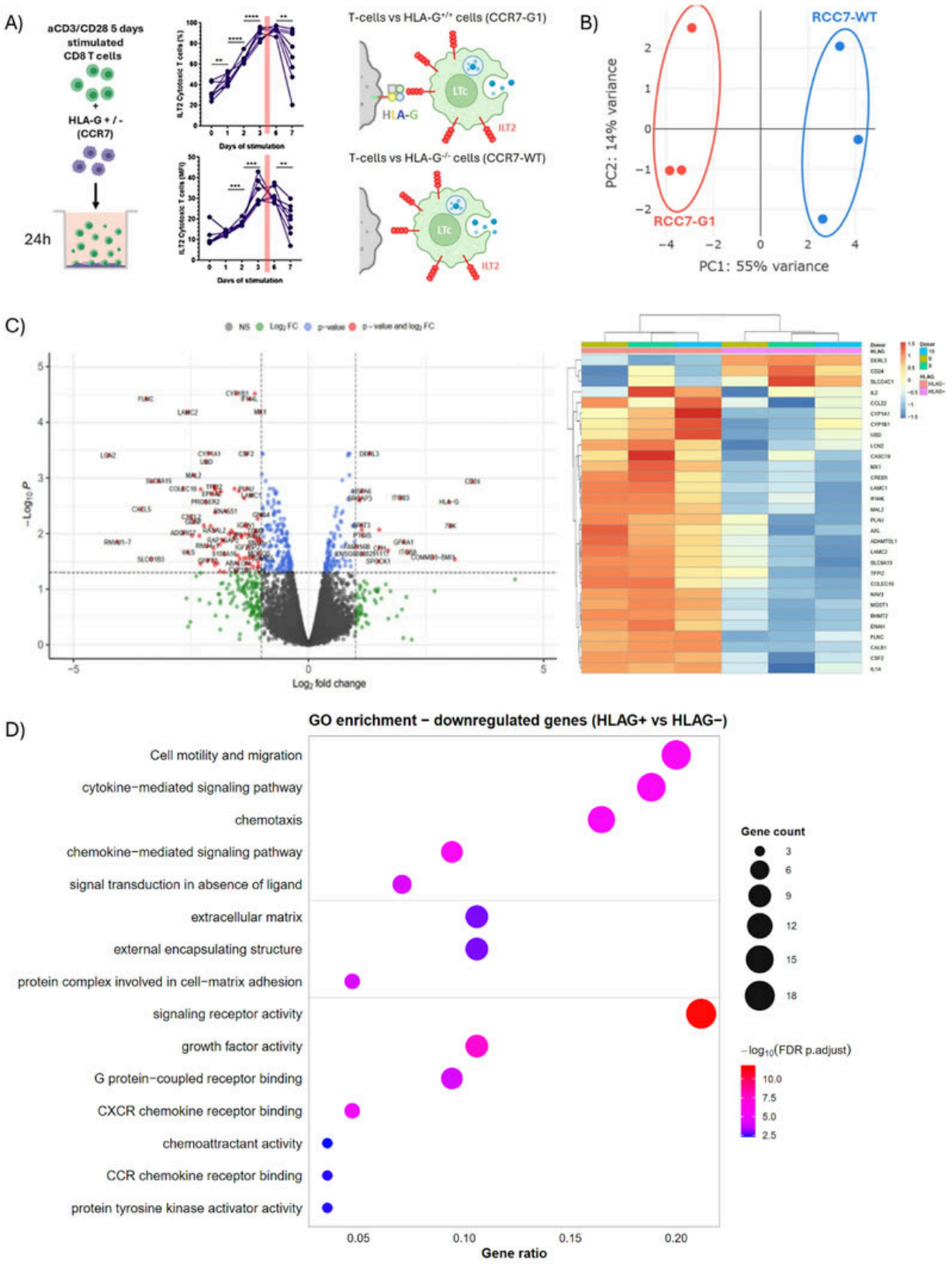


Figure 1.

HLA-G limits the function of CD8+ILT2+ T cells and promotes de novo CD24 expression

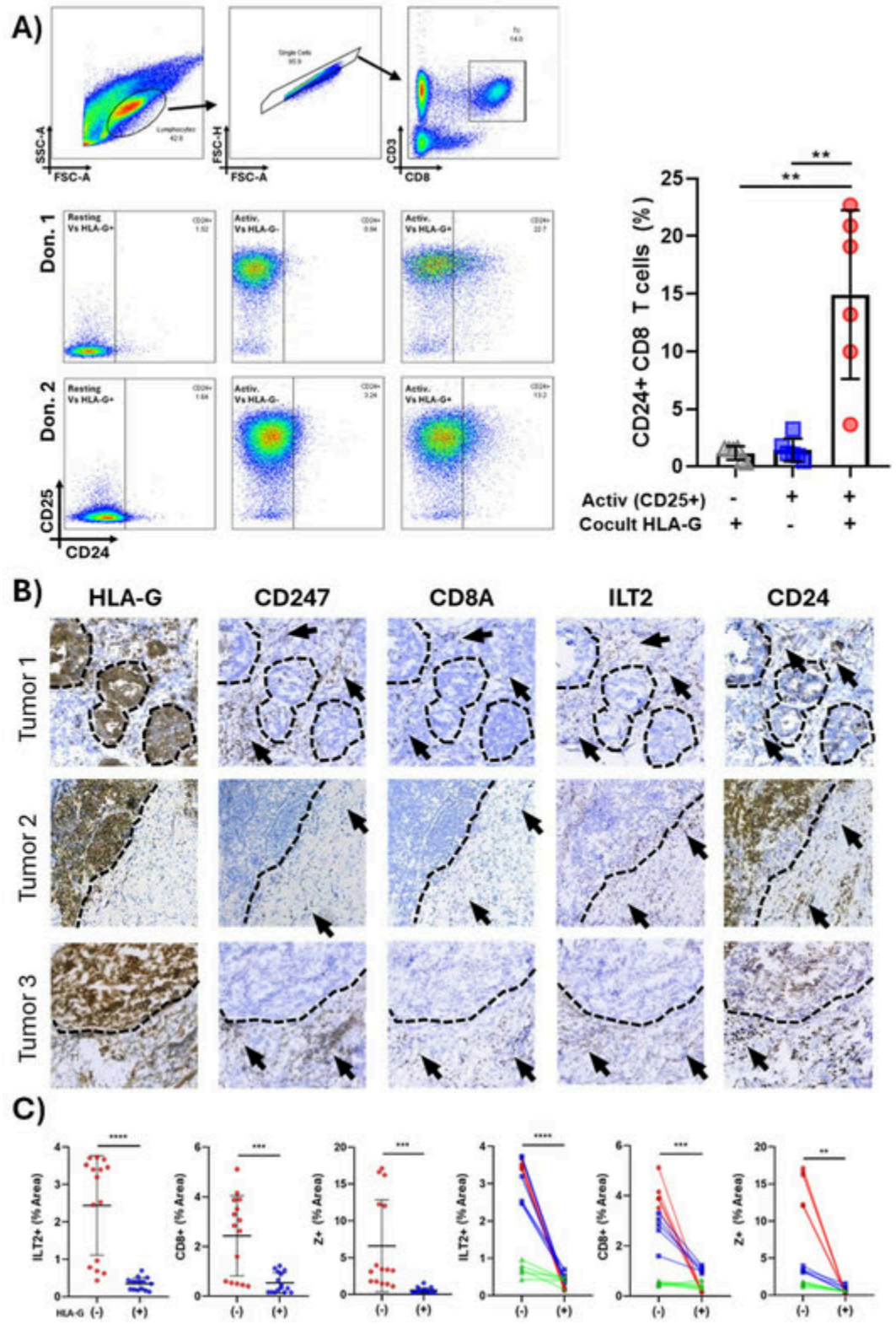


Figure 2.

Physiological regulation and functional persistence of effector responses enhance the therapeutic efficacy of anti-pTα TRuC-T cells over CAR-T cells in T-ALL

Ángela Aparicio Valencia1; Fátima Bayón Calderón1; Wolfgang Schamel2; María L. Toribio1; Sara González García3.

1. Immune System Development and Function Unit. Centro de Biología Molecular Severo Ochoa, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) and Universidad Autónoma
de Madrid (UAM), Madrid, Spain.
2. Department of Immunology, University of Freiburg, Freiburg, Germany.
3. Department of Immunology, Ophthalmology and ENT, Universidad Complutense de Madrid; Instituto de Investigación Sanitaria Hospital 12 de Octubre (imas12), Madrid, Spain.

Introduction. Chimeric Antigen Receptor T (CAR-T) cell therapies have demonstrated clinical efficacy in several hematologic malignancies. However, their therapeutic potential is constrained by elevated tonic signaling, lack of physiological regulation and limited in vivo persistence. T-cell Receptor fusion Constructs (TRuCs) have emerged as an alternative to CARs by integrating tumor antigen recognition into the endogenous TCR complex, enabling more physiological T-cell activation, thereby improving antitumor efficacy. We previously demonstrated that anti-pTα CAR-T cells represent a promising strategy for T-cell acute lymphoblastic leukemia (T-ALL), an aggressive hematologic malignancy requiring targeted immunotherapies. These CAR-T cells target the pTα chain of the pre-TCR, which is expressed in over 50% of T-ALL cases but is absent from normal mature T cells. Here, we developed anti-pTα TRuC-T cells and compared them with anti-pTα CAR-T cells.

Objectives. To compare the antitumor activity, durability of effector responses, functional persistence and physiological regulation of anti-pTα TRuC-T and CAR-T cells as potential immunotherapies for T-ALL.

Methods. Human peripheral T cells were transduced with lentiviral vectors encoding anti-pTα CAR or TRuC constructs. Cytotoxicity against pre-TCR+ T-ALL was assessed by flow cytometry, and cytokine production was quantified by ELISA.

Results. Both TRuC-T and CAR-T cells mediated potent cytotoxicity against pre-TCR+ T-ALL cells. However, under serial antigen stimulation, TRuC-T cells displayed more sustained effector responses than CAR-T cells, with successive waves of robust activation, cytotoxicity, and cytokine production across multiple antigen challenges. After a resting phase, TRuC-T cells returned to a basal activation state while preserving their capacity to produce robust responses upon re-exposure to antigen, indicating durable and physiologically regulated effector function.

Conclusion. Anti-pTα TRuC-T cells demonstrated functional advantages over anti-pTα CAR-T cells by sustaining antitumor activity while maintaining physiologically regulated effector responses through repeated antigen encounters. These findings support anti-pTα TRuC-T cells as a promising therapeutic strategy for pre-TCR+ T-ALL.

Trispecific T-cell engager-secreting T cells for dual targeting of B7-H3+ and/or HER2+ tumors

Nerea Sarmiento Tevar, Laura Martín García, Clara Bravo Martín, Laura Sanz.

IDIPHISA. Molecular Immunology Unit, Biomedical Research Institute Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda, Madrid

T-cell engager antibodies (TCE) have emerged as promising therapeutic tools for cancer immunotherapy. However, the short serum half-life of Fc-less TCE requires continuous administration. To overcome this limitation, we developed a strategy based on lentivirally engineered T cells (STAb-T) secreting a novel trispecific T-cell engager (TriTE) designed to simultaneously recognize CD3 and the two tumor-associated antigens (TAA) B7-H3 and HER2 to improve tumor selectivity and antitumor activity in solid tumors.

The trispecific construct was generated by combining an anti-CD3 single-chain variable fragment (scFv) flanked by two single-domain antibody fragments (VHH) directed against the different TAA into a single molecule. TriTE secretion and antigen binding were confirmed by Western Blot, ELISA and flow cytometry and compared with the corresponding bispecific TCE directed against each individual antigen. Jurkat T cell line and primary human T cells were transduced using lentiviral vectors encoding the TriTE, obtaining STAb-JK and STAb-T cells, respectively.

TriTE secreted by STAb-T cells specifically recognized target antigens and induced T-cell activation in co-culture assays with a panel of genetically engineered tumor cell lines (MDA-MB-468 expresing single, both or none TAA), as demonstrated by increased CD69 expression. In addition, STAb-T cells mediated selective cytotoxicity against single or double-positive tumor cells at different effector-to-target ratios, while no cytotoxic activity was detected against double-negative cells. Furthermore, the STAb-T cells strategy demonstrated a potent bystander effect inducing activation and cytotoxic effect of non-transduced T cells.

In conclusion, these results demonstrated the therapeutic potential of STAb-T cells secreting a trispecific T-cell engager as a promising strategy for cancer immunotherapy.

Empowering the immune system by targeted nanoparticle-based precision delivery of immunoregulatory microRNAs to lymphocytes

Guillermo González-Salso *a,b, Milagros Castellanos Molina (a) Lola Fernández-Messina (b,c)

aIMDEA Nanociencia, Calle Faraday 9, Madrid, Spain.
b Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Complutense de Madrid, Calle de José Antonio Novais 12, Madrid, Spain.
cCentro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares (CNIC), Calle Melchor Fernández Almagro 3, Madrid, Spain.

The immune system is essential in protecting against cancer, but tumors, particularly melanoma, have evolved sophisticated mechanisms to evade immune detection. Melanoma, a highly metastatic skin cancer with high mortality rates (1), escapes immune surveillance stablishing immunosuppressing microenvironment mainly by releasing small extracellular vesicles (sEVs) that impair T-cell function, leading to markers of exhaustion such as PD-1, TIM-3, and LAG-3.

This immune escape challenges the efficacy of immunotherapies (ITs), which, despite their promise, face limitations like inconsistent patient responses, adverse immune effects, and tumor-induced immunosuppression, underscoring the need for more precise and effective approaches. Recent studies suggest that microRNAs (miRNAs)—small RNA molecules that regulate gene expression—can influence immune responses in cancer (2). However, miRNA-based interventions are still limited in clinical application, particularly in the context of directly targeting immune cells and/or immune organs (3). Nanotechnology offers a potential solution, allowing for the development of targeted therapies (4).

In this study, we explore nanoformulations designed to boost immunity in cases where immune function is compromised, such as cancer. Our approach involves creating and testing various carriers, including metallic nanoparticles and protein nanoparticles, to assess their potential for systemic immune targeting. In one application, we developed gold nanoparticles loaded with immunoregulatory miRNAs (miRNA-AuNPs) to counteract melanoma-induced immunosuppression.

sEVs derived from highly metastatic melanoma cell lines (SKMEL103 and A375MA2) were found to suppress T cell activation and upregulate exhaustion markers (PD-1, TIM-3, and LAG3). miRNA-AuNPs, on the other hand, partially reversed this immune suppression by promoting the expression of T cell activation markers such as CD25 and CD69, demonstrating potential to restore immune function.

This interdisciplinary strategy brings together immunology and nanotechnology to address critical challenges in cancer treatment, aiming to advance nanotechnology-driven ITs as a viable approach to enhance immune responses against cancer.

Notes and References:
1. Chopra, A; Sharma, R; Rao, UNM. Surg Clin North Am 2020 Feb;100(1):43-59.
2. Dosil, SG; Rodríguez-Galán, A; Sánchez-Madrid, F; Fernández-Messina, L. Int J Mol Sci. 2022 Dec 23;24(1):250.
3. Singha, S; Shao, K; Ellestad, KK; Yang, Y; Santamaria, P. ACS Nano 2018 Nov 27;12(11):10621-10635.
4. Li, Q; Liu, Y; Huang, Z; Guo, Y; Li, Q. Front Bioeng Biotechnol 2022 Apr 14;10:878524.

Impacto transcripcional de la deleción de SLC7A5 en células T CD4 activadas y diferenciadas a fenotipo regulador.

Autores: Rosario M. Ancarani (1*), Carlos Marrero-Varela (1*), Carmen Silvia Stancu (1), Raquel Sanchez (2), Pilar Martin (2), Nuria Montes (1,3#), Danay Cibrian (1,2,4#).

1. Instituto de Investigación Sanitaria Hospital Universitario de La Princesa, Universidad Autónoma de Madrid. España.
2. Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares, Madrid, España.
3. Facultad de Medicina, departamento de Ciencias Médicas Básicas, Universidad CEU-San Pablo, Madrid, España.
4. Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Cardiovasculares (CIBERCV), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, España.

* Estos autores contribuyeron por igual a este trabajo.
# Autores de Correspondencia: nmontes@salud.madrid.org; dcibrianlab@gmail.com

Introducción. SLC7A5 es un transportador de aminoácidos neutros como la leucina. Aunque la función de SLC7A5 en células T efectoras ha sido descrito, su impacto transcripcional en células T reguladoras (Treg) y células Th0 no ha sido definido.

Objetivo. Caracterizar el efecto de la deficiencia de SLC7A5 sobre los programas transcripcionales de células Treg y Th0 murinas.

Métodos. Se analizaron datos de RNA-seq procedentes de células Th0 y Treg de ratones WT y con deleción de Slc7a5. El análisis incluyó control de calidad, alineamiento frente al genoma murino GRCm39, cuantificación génica y análisis de expresión diferencial con DESeq2. Los genes diferencialmente expresados se estudiaron mediante en-riquecimiento funcional GO, reducción de términos redundantes con rrvgo y análisis GSEA-KEGG.

Resultados. La comparación $Treg^{WT}$ vs $Th0^{WT}$ identificó 1069 genes diferencialmente expresados, evidenciando programas transcripcionales claramente diferenciados entre ambas poblaciones. La deficiencia de SLC7A5 alteró la expresión de 329 genes en Treg y 374 genes en Th0. En Treg, la pérdida de SLC7A5 se asoció con una disminución de la expresión de genes vinculados al fenotipo regulador, como Itgae e Ikzf2, junto con un aumento de genes relacionados con procesos inflamatorios. En Th0, la deleción de SLC7A5 redujo la expresión de genes asociados a respuestas de citocinas de tipo 2 y de programas metabólicos, incluyendo el metabolismo lipídico, la vía del mevalonato y la biosíntesis de esteroles. El análisis integrado identificó además una firma transcripcional asociada a SLC7A5 que combina respuestas compartidas entre Treg y Th0 con otras específicas del contexto celular.

Conclusiones. Estos resultados identifican a SLC7A5 como un regulador de los programas transcripcionales de las células T $CD4^+$. Su deficiencia altera tanto programas metabólicos como inmunológicos, con efectos compartidos y específicos según el estado de diferenciación celular, y sugiere un papel de SLC7A5 en el mantenimiento del fenotipo regulador de las Treg.

Regulatory role of PRLs in mitochondria activity during T cell activation

Adrián González Pinar, Carlos Carrasco Padilla, Julia Cano Rodríguez, Andrés Alulema Colimba, Pedro Roda Navarro

Phosphatases of regenerating liver (PRLs) have been proposed to promote the PI3K/AKT cancer related signalling pathway. Therefore, during T cell immune responses it is plausible that PRLs would regulate this signalling pathway and consequently mTOR activation, which regulates glycolytic function and mitochondrial reprogramming essential for T cell differentiation, memory and exhaustion.

To study this metabolic regulation, we evaluated mitochondrial function in PRL-1 and PRL-2 deficient Jurkat and primary CD8 T cells generated by CRISPR/Cas9 mediated genome editing. We analysed mitochondrial polarization to the immune synapse and membrane potential in Jurkat and Raji cell conjugates by confocal microscopy and assessed mitochondrial ROS by flow cytometry in resting and stimulated Jurkat and primary CD8 T cells.

PRLs deficient Jurkat cells showed increased mitochondrial mass and reduced membrane potential-mitochondrial mass ratio in both synaptic and non-synaptic mitochondria despite proper polarization to the immune synapse. Immune synapse membrane potential-mass ratio relative to the whole cell ratio was higher in absence of PRLs suggesting an inability to utilize the membrane potential. This functional decline was accompanied with increased ROS levels in resting cells and upon TCR stimulation, also validated in primary CD8 T cells.

Despite proper microtubule organization centre and mitochondrial polarization to the immune synapse, those migrant mitochondria seem to be unable to use the membrane potential effectively in PRLs deficient Jurkat cells.

Increased ROS levels and mitochondrial mass may suggest a mitochondrial overload or impaired mitophagy in absence of PRLs.

Detección del SNP c.97C>T en el exón 1 de DRB3 por PCR-SBT para la identificación del alelo nulo DRB3*01:133N

Lucía Espinosa-Mateo (1); Natalia Gómez Lozano (1,2,3); Sofía Garrido (1,2); Francisco Serrano Martínez (1,2,3).

1. Servicio de Inmunología, H.U. Puerta de Hierro Majadahonda
2. Laboratorio HLA-Inmunogenética, Instituto de Investigación Sanitaria Puerta de Hierro-Segovia de Arana, Majadahonda.
3. Grupo de inmunidad y linfoproliferativos, Instituto de Investigación Sanitaria Puerta de Hierro-Segovia de Arana, Majadahonda.

En el transplante alogénico de progenitores hematopoyéticos (alo-TPH), la enfermedad de injerto contra huésped es causa principal de morbi-mortalidad. Por ello, es imprescindible determinar con precisión la compatibilidad HLA donante-receptor. Los estándares de la EFI (European Federation of Immunogenetics), establecen que esta compatibilidad debe determinarse como mínimo a nivel de grupos P, que agrupan alelos con secuencias idénticas en el dominio de unión al antígeno, excluyendo alelos nulos (variantes sin expresión proteica), siendo necesario estudiar regiones génicas fuera de las zonas que codifican el dominio de unión.

Actualmente, el método comercial de tipificación de alta resolución usado en la mayoría de los laboratorios de HLA, incluido el nuestro, no permite estudiar el exón 1 de los locus HLA-DRB asociados (DRB3/4/5), impidiéndonos detectar el alelo DRB3*01:133N , descrito en 2024, y el único hasta la fecha en esa región de los DRB asociados. Este alelo presenta un SNP (single nucleotide polymorphism) c.97C>T, causando un codón de parada prematuro (codón 4).

Para descartarlo, amplificamos y secuenciamos por SBT (sequence based typing) parte del exón 1 de DRB3 para poder detectar el SNP distintivo de DRB3*01:133N. Con este propósito, realizamos un alineamiento múltiple de DRB1/3/4/5 con MSA (multiple sequence allingment) clustal omega, para diseñar cebadores específicos para una PCR-SSP (sequence specific primers) de 261pb de DRB3. Este amplicón flanquea el SNP exclusivo de DRB3*01:133N.

Se analizaron controles de muestras de ADN de genotipo conocido, detectándose el amplicón y la posición de interés únicamente en las muestras DRB3+.

Conclusiones. La PCR-SBT desarrollada permite amplificar y descartar el alelo nulo DRB3*01:133N, permitiendo resolver la limitación de la tipificación de DRB3 de las técnicas NGS comerciales habituales. La limitación de las técnicas de tipificación de alta resolución actuales plantea la necesidad de diseño de estrategias de PCR que permitan amplificar el exón 1 completo de DRB3/4/5.

Inmunología Molecular, Otros

Tubulin-binding cofactor B (TBCB) at the Crossroads of Cytoskeletal Dynamics and Metabolic Reprogramming in the Immune Synapse

Álvaro Gómez Morón1, Ismail Kirrout Flores1, Marta Lozano Prieto1, Lidia Marín Algeciras1, Camila Scagnetti1, Marina Serna2, Juan Carlos Zabala3, Noa Beatriz Martín Cófreces1

1Hospital Universitario de La Princesa, Madrid, Spain 2Centro Nacional de Biotecnología, Madrid, Spain 3Universidad de Cantabria, Cantabria, Spain

The organization and dynamics of the tubulin cytoskeleton play a critical role in the immune synapse (IS). However, the link between the regulation of αβ-tubulin heterodimer folding and its function during T lymphocyte activation has not been fully investigated.

In this work, we therefore investigated the role of the tubulin-binding cofactor B (TBCB), a key protein for α-tubulin folding and heterodimer dissociation, in early TCR signaling and in the architecture of the IS at the T cell side upon TBCB silencing by siRNA. Fixed and live-cell imaging was used to study the tubulin and actin cytoskeleton dynamics during synaptic contacts, and glycolysis was determined by Seahorse analyzer. Immunoprecipitation and mass spectrometry (IP-MS) was used to study TBCB interaction network.

TBCB has been shown to polarize to the IS where colocalizes with the centrosome. Knockdown of TBCB expression in T cells revealed a regulatory role for TBCB in TCR signaling and T cell activation, with decreased phosphorylation of CD3ζ, ZAP70 or PLCγ1 and reduced membrane expression of the activation markers CD69 and CD25. In addition, live-cell microscopy assays in TBCB-silenced cells showed a defect in microtubule polymerization, actin retrograde flow and centrosome translocation to the immune synapse, thus affecting IS architecture.

Yeast two-hybrid, in silico and IP-MS assays revealed an interaction between TBCB and proteins that regulate actin and microtubule polymerization and glycolysis, suggesting a regulatory role of TBCB in T cell metabolism after TCR activation through the regulation of cytoskeleton dynamics.

Taken together, our data show that TBCB localizes at the centrosome of T lymphocytes, thereby regulating its translocation to the synapse and allowing the polarization of molecules and organelles to the immune synapse. This is a key process for the effective activation of T lymphocytes, linking the proteostasis and cytoskeleton dynamics with T cell metabolic reprogramming.

Development and Improvement of a New Humanized CAR-T BCMA to Treat Non-Hodgkin Lymphoma and Multiple Myeloma Patients

Anxing Ge1,Victor Salido-Subiñas1,Beatriz Morales-Zahonero1, Carlos del Hoyo1,Pablo Engel2, Beatriz Martin-Antonio1

1: Instituto de Salud Carlos III, Department of Development of Advanced Medicinal Products, Madrid, Spain.
2: Department of Biomedical Science, University of Barcelona Faculty of Medicine and Health Sciences, Barcelona, Spain.

Introduction. Non-Hodgkin Lymphoma (NHL) and multiple myeloma (MM) are B-cell mature hematological malignancies with a significant proportion of patients developing relapsed or refractory disease after conventional treatment. Although chimeric antigen receptor (CAR)-T cell therapy has emerged as a powerful therapeutic strategy for B-cell malignancies, antigen escape and limited CAR T-cell persistence lead to relapse in a significant proportion of patients.

Objectives. We aimed to develop two novel humanized BCMA-CAR-T cell constructs (CARLY4h-C and CARLY4h-G) derived from the murine clone CARLY4. We evaluated their in vitro and in vivo anti-NHL and anti-MM efficacy compared with ARI0002h (an approved anti-BCMA CAR-T to treat MM). Additionally, we armored the lead construct with IL-18 to enhance anti-tumor persistence.

Materials and Methods. CAR-T cells were obtained from healthy donors. Efficacy of CAR-T cells was determined in short-term and long-term co-cultures and in vivo murine models. Immunophenotype of CAR-T cells was analyzed after manufacturing. Proinflammatory profiles of the CARs were determined in the presence of monocyte-derived macrophages. An ultra-low-dose doxycycline-inducible promoter was engineered to regulate IL-18 expression.

Results. CARLY4 recognized NHL cell lines and MM cell lines, showing lower expression on MM cells. After manufacturing, CARLY4h-G demonstrated higher enrichment in central memory subsets. All three CAR-T constructs exhibited cytotoxicity against NHL cells and MM cells, with CARLY4h-G showing the strongest anti-tumor efficacy in vitro. CARLY4h-G released the highest TNF-α and IFN-γ according to its efficacy without triggering the highest IL-1β secretion. In vivo, CARLY4hG yielded superior anti-MM efficacy and comparable anti-NHL efficacy compared to ARI0002h. Consequently, CARLY4hG was armored with inducible IL18. Doxycycline administration tightly controlled IL-18 secretion, enhancing CARLY4h-G persistence in long-term NHL and MM co-cultures.

Conclusions. CARLY4h-G emerges as a promising new CAR-T treatment for NHL and MM. Inducible IL18 armoring provides a safe strategy to enhance CARLY4h persistence and potentially overcome relapses.

A tumor suppressor role of the miR-15b/16-2 cluster in T-cell acute lymphoblastic leukemia

Maria L. Toribio (Centro de Biología Molecular Severo Ochoa CSIC-UAM, Spain), María García-León (Centro de Biología Molecular Severo Ochoa CSIC-UAM, Spain; Current affiliation: Les Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France), Marina García-Peydró (Centro de Biología Molecular Severo Ochoa CSIC-UAM, Spain) Patricia Fuentes (Centro de Biología Molecular Severo Ochoa CSIC-UAM, Spain), Juan Alcain (Centro de Biología Molecular Severo Ochoa CSIC-UAM, Spain) Enrique Martín-Gayo (Centro de Biología Molecular Severo Ochoa CSIC-UAM, Spain), Carlo Croce (The Ohio State University, United States), Ramiro Garzon (Huntsman Cancer Institute, University of Utah, United States), Sara González-García (Centro de Biología Molecular Severo Ochoa CSIC-UAM; Current affilliation:Department of Immunology, Ophthalmology and ENT, Universidad Complutense de Madrid, Instituto de Investigación Sanitaria Hospital 12 de Octubre (imas12), Madrid, Spain)

Introduction. T-cell acute lymphoblastic leukemia (T-ALL) is an aggressive hematological malignancy arising from the neoplastic transformation of immature T cells during their development in the thymus. Deciphering the developmental programs whose dysregulation drives T-ALL pathogenesis is critical for the development of targeted therapies, which remain an unmet need for T-ALL treatment. MicroRNAs (miRNAs) have emerged as key post-transcriptional regulators of numerous biological processes, including cancer. However, the specific role of miRNAs in human T-cell development and T-ALL pathogenesis remains largely unexplored.

Objective. We aimed to analyze miRNA expression profiles across human T-cell development to identify novel candidates that regulate critical pathways involved in malignant transformation and to explore their potential as therapeutic targets in T-ALL.

Methods. miRNA expression in T cells isolated from human postnatal thymus was analyzed by microarrays. miR-15b/16-2 overexpression and inhibition were performed by lentiviral transduction in early thymic progenitors and T-ALL samples. Gene expression was determined by RNA sequencing. T-cell differentiation was analyzed in fetal thymic organ cultures. Phenotype, proliferation, and apoptosis were assessed by flow cytometry.

Results. We identified a dynamic expression pattern of miR-16-2, which is upregulated during early pre-T-cell proliferative stages up to resting immature thymocytes preceding TCRαβ expression, and subsequently downregulated. We confirmed the coordinated expression of miR-15b, consistent with the clustered genomic location of both miRNAs. Functional studies identified miR-15b/16-2 as negative regulators of early thymocyte proliferation and demonstrated that overexpression in T-ALL cells impaired leukemic growth in vitro and tumor progression in patient-derived xenotransplantation assays. Mechanistically, miR-15b/16-2 represses BCL-2 and CYCLIN D3 expression, thereby promoting apoptosis and cell cycle dysregulation in T-ALL, characterized by an accumulation of G0 phase cells and a defective transition to G2/M phase.

Conclusion. Overall, these findings support a novel tumor-suppressive function for miR-15b/16-2 in T-ALL and highlight its potential as a promising therapeutic target.

Generación de plataformas de células CAR-Tαβ y CAR-Tγδ universales específicas del pre-TCR como una inmunoterapia innovadora y segura frente a leucemia linfoblástica aguda de células T (LLA-T)

Raquel Victoria Pérez Fernández1, Fátima Bayón Calderón1, Patricia Fuentes1, Oscar Quintana-Bustamante3,4,5, Sergi Casadó-Llombart6, Víctor Díaz Cortés6, José Carlos Segovia Sanz3,4,5, Leonardo Beccari7, María L. Toribio1#, Sara González García8#

1. Immune System Development and Function Unit. Centro de Biología Molecular Severo Ochoa, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) and Universidad Autónoma de Madrid (UAM), Madrid, Spain.
2. Division of Hematopoietic Innovative Therapies, Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas (CIEMAT), Madrid, Spain.
3. Cell Technology Division, Biomedical Innovation Unit, Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas (CIEMAT), Madrid, Spain.
4. Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER), Madrid, Spain.
5. Unidad Mixta de Terapias Avanzadas, Instituto de Investigación Sanitaria Fundación Jiménez Díaz (IIS-FJD), Madrid, Spain.
6. OneChain Immunotherapeutics, Barcelona, Spain.
7. Tissue and Organs Homeostasis Unit. Centro de Biología Molecular Severo Ochoa, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC)
8. Department of Immunology, Ophthalmology and ENT, Universidad Complutense de Madrid; Instituto de Investigación Sanitaria Hospital 12 de Octubre (imas12), Madrid, Spain.
corresponding authors: sgonza29@ucm.es, mtoribio@cbm.csic.es

Introducción. La leucemia linfoblástica aguda de células T (LLA-T) es una neoplasia hematológica agresiva con opciones terapéuticas limitadas en pacientes refractarios o en recaída. Con el objetivo de desarrollar nuevas estrategias de inmunoterapia, nuestro grupo diseñó células CAR-T dirigidas contra la subunidad pTα del pre-TCR, un biomarcador tumoral expresado en más del 60% de las LLA-T y ausente en linfocitos T periféricos sanos. Aunque las células CAR-T han demostrado gran eficacia frente a tumores de células B, el tratamiento de la LLA-T con células CAR-T autólogas presenta importantes limitaciones asociadas a la escasez y disfunción de los linfocitos Tαβ de los pacientes.

Objetivo. Evaluar la eficacia anti-tumoral de dos estrategias terapéuticas basadas en células CAR-T universales (uCAR-T) generadas a partir de células Tαβ (uCAR-Tαβ) y (uCAR-Tγδ) alogénicas de donantes sanos.

Materiales y métodos. Se generaron células uCAR-Tαβ mediante CRISPR/Cas9 usando dos aproximaciones: (i) deleción del gen codificante para la región constante del TCRα (TRAC) y transducción lentiviral del CAR anti-pTα (KO uCAR-Tαβ), y (ii) inserción dirigida del CAR en el locus TRAC (KI uCAR-Tαβ). Asimismo, se generaron células uCAR-Tγδ, específicamente uCAR-Tγδ-Vδ1, mediante transducción lentiviral del CAR anti-pTα. La actividad anti-tumoral se evaluó frente a células LLA-T pre-TCR+ y pre-TCR-.

Resultados. Ambas estrategias uCAR-Tαβ reconocieron específicamente líneas LLA-T pre-TCR+, mostrando una elevada actividad citotóxica y producción de citoquinas proinflamatorias. Además, a diferencia de las células CAR-T convencionales, no mostraron respuestas alogénicas frente a líneas celulares pre-TCR-. Las células KI uCAR-Tαβ presentaron ventajas adicionales, incluyendo una expresión más fisiológica del CAR con una menor activación basal. Asimismo, las células uCAR-Tγδ-Vδ1 anti-pTα mostraron una potente citotoxicidad específica frente a LLA-T pre-TCR+.

Conclusión. Nuestros resultados proporcionan la prueba de concepto para el desarrollo de plataformas de células uCAR-Tαβ y uCAR-Tγδ-Vδ1 universales específicas de pTα, como prometedoras immunoterapias celulares “listas-para-usar” frente a la LLA-T.

Preparados polibacterianos en la colitis ulcerosa: efecto sobre las células caliciformes

Lucía Sánchez-Casanova, Eva Jiménez, Sara González-Soto, Andrea Vigil-Siqueiros, Alejandro Morón-Barón, Ángeles Vicente, Alberto Varas, Jaris Valencia

Sección Departamental de Biología Celular e Histología, Facultad de Medicina, Plaza Ramón y Cajal s/n, Universidad Complutense de Madrid, 28040 Madrid

Fundamentos y objetivos. La colitis ulcerosa es una enfermedad inflamatoria intestinal crónica caracterizada por una respuesta inmunitaria desregulada y la alteración de la barrera mucosa intestinal, en cuya integridad las células caliciformes desempeñan un papel esencial. Ante las limitaciones de los tratamientos actuales, MV130, un preparado polibacteriano basado en inmunidad entrenada, emerge como una alternativa con potencial inmunomodulador. El objetivo de este estudio fue comenzar a evaluar los efectos de MV130 sobre las células caliciformes y su posible contribución al mantenimiento de la barrera mucosa intestinal.

Material y métodos. Se empleó un modelo murino de colitis crónica inducida por sulfato sódico dextrano (DSS) para analizar los efectos de MV130 in vivo. Además, se utilizó la línea celular LS174T para estudiar los efectos de MV130 sobre las células caliciformes in vitro.

Resultados. En el modelo murino, MV130 atenuó parcialmente la respuesta inflamatoria y moduló la expresión de genes implicados en la diferenciación y función de las células caliciformes, favoreciendo la expresión de mucinas y otros componentes relacionados con el mantenimiento de la barrera mucosa, aunque sin revertir completamente el daño tisular. En el modelo in vitro, las células LS174T fueron capaces de internalizar MV130 y mostraron una modulación parcial de la respuesta frente al estímulo inflamatorio.

Conclusiones. Los resultados sugieren que MV130 ejerce un efecto inmunomodulador capaz de atenuar parcialmente el daño asociado a la colitis experimental y contribuir al mantenimiento de la integridad de la barrera mucosa intestinal mediante la modulación de las células caliciformes.

Inmunoterapia, Otros

Targeting of ibrutinib resistance–driving pathways by miR-28 in ABC-DLBCL

Emigdio Álvarez-Corrales1,2, Rocío Moreno-Palomares1,2, Carmen Gómez-Escolar 3,6, Mario Martínez 4, Udane Moral-Pérez1,2, María Laguna-Herrero1, Teresa Fuertes1,3,7, Belén S. Estrada5, Sonia Mur3, Adriana de Bonis1, Magdalena Leiva1, Nuria Martínez-Martín5, Álvaro Somoza4, Almudena R. Ramiro3 and Virginia G. de Yébenes 1,2

Filiación: 1Department of Immunology, Ophthalmology and ENT, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, Spain. 2Instituto de Investigación Sanitaria Hospital 12 de Octubre (imas12), Madrid, Spain. 3B Cell Biology Lab. Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares (CNIC), Madrid, Spain. 4Instituto Madrileño de Estudios Avanzados en Nanociencia (IMDEA Nanociencia), Madrid, Spain. 5Interactions with the environment program, Centro de Biología Molecular Severo Ochoa (CBMSO), CSIC-UAM, Madrid, Spain; Intestinal Morphogenesis and Homeostasis Group, Area 3-Cancer, Instituto Ramón y Cajal de Investigación Sanitaria (IRYCIS), Madrid, Spain. 6Present address: Instituto de Neurociencias de Alicante (CSIC), Alicante, Spain. 7Present address: Department of Pharmacy and Nutrition, Faculty of Biomedical and Health Sciences, Universidad Europea de Madrid, Madrid, Spain.

Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) is the most common aggressive B-cell lymphoma. Standard treatment with R-CHOP immunochemotherapy cures many patients, but a significant subset—especially those with the activated B-cell (ABC) subtype—exhibit primary resistance or relapse. The introduction of Bruton's tyrosine kinase (BTK) inhibitors, such as ibrutinib, which block B-cell receptor (BCR)–dependentNF-κB activation, has represented a major therapeutic advance for ABC-DLBCL. However, acquired ibrutinib resistance remains a major barrier to durable responses.

Here, we modeled the development of resistance to ibrutinib in ABC-DLBCL and investigated whether the BCR-signaling regulator microRNA-28 (miR-28) can block this process. Using flow cytometry-based competition assays, multicolor clonal tracking, transcriptomics, and xenograft models, we found that miR-28 expression impairs the emergence of ibrutinib-resistant ABC-DLBCL cells.

Mechanistically, miR-28 interfereswith the clonal selection process triggered by ibrutinib treatment and rewires transcriptional programs by downregulating mitochondrial and mTOR signaling pathways critical for resistance development. Finally, both intratumoral and systemic therapeutic delivery of miR-28 using aptamer-guided nanoparticles suppresses ibrutinib-resistant tumor growth in vivo.

These findings identify miR-28 as an effectiveinhibitor of ibrutinib resistance and highlight its translational potential as an adjunctstrategy in ABC-DLBCL therapy.

Otros

Hepatic stellate cells (HSC)-derived TPL2/COT/MAP3K8 protects against liver fibrogenesis

Sara García-Fernández1,2, Alejandro Hionides-Gutierrez1,2, Carlos Sanz1, Adriana de Bonis1,2, Magdalena Leiva1,2,3, Javier Vaquero3,4, Rafael Bañares3,4, Yulia A. Nevzorova1,2,3,4, Francisco Javier Cubero1,2,3,4

1Department of Immunology, Ophthalmology & ENT, Complutense University School of Medicine, Madrid, Spain
2Institute for Research in Neurochemistry (IUIN), Complutense University of Madrid, Madrid, Spain
3Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón (IiSGM), Madrid, Spain
4Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBEREHD), Madrid, Spain

Background and Aims. MAP3K8, also known as Tpl2 or COT plays a pivotal function in a variety of cellular processes, including inflammation, immunity and cell growth. Hepatic fibrosis is a pathogenic condition in which hepatic stellate cells (HSC) become activated and secrete extracellular matrix (ECM) proteins. In the present study, we aimed to investigate the specific role of MAP3K8 in HSCs.

Methods. Mice harboring a conditional floxed allele of Map3k8 (Map3k8f/f), were crossed with Lrat-Cre mice to obtain a HSC-specific knockout of Map3k8 (Map3k8ΔHSC). Overnight-fasted 8–12 week-old male Map3k8f/f and Map3k8ΔHSC mice were challenged with carbon tetrachloride (CCl4) [0,6 ml/kg] or corn oil for 4 weeks. A second preclinical model was performed using TAA [300 mg/L] or water for 16 weeks. Upon sacrifice, qRT-PCR, Western blot, IHC and IF were performed. In addition, functional experiments were carried out in primary isolated MAP3K8-deficient HSCs and in LX2 cells treated with TGFb (0-24 h) or vehicle. Finally, scRNA-seq of HSC from fibrotic mouse liver and HSCs from normal and cirrhotic human livers was used.

Results. Interestingly, Map3k8ΔHSC mice exhibited loss of hepatic architecture characterized by exacerbated cell death, mitotic catastrophe and immune infiltration as well as compensatory proliferation (Ki-67), compared with Map3k8f/f mice, after one month of CCl4 and 4 months of TAA challenge. Moreover, CCl4 and TAA triggered a significant increase in serum markers of liver damage (ALT, AST, LDH) in Map3k8ΔHSC mice. These changes were accompanied by aggravated periportal fibrosis (Sirius red), robust overexpression of αSMA expression- a classical marker of HSC activation-, and other ECM components (Vimentin, Desmin), the infiltration of immune cells and the production of proinflammatory proteins (TNF-a, IL-6, Tgfβ). These findings were associated with decreased activation of the ERK pathway Map3k8ΔHSC mice. Additionally, LX2 cells exhibited activation of the MAPK/JNK/mTOR. Finally, enrichment of MAP3K8 in HSCs was found in fibrotic murine and cirrhotic human livers.

Conclusion. Our data highlighted a novel protective function of Map3k8 specifically in HSCs in a preclinical model of liver fibrosis, thus its modulation could potentially be used clinically to satisfy the current lack of effective treatments against hepatic fibrosis.

Otros

Redox homeostasis in liver fibrosis: the Keap1/Nrf2 axis

Adriana De Bonis1,2, Alejandro Hionides-Gutierrez1,2, Sara García-Fernández1,2, Iván Estévez-Benito1, Francisco Javier Cubero1,2,3,4, Magdalena Leiva1,2,3

1Department of Immunology, Ophthalmology & ENT, Complutense University School of Medicine, Madrid, Spain
2Instituto Universitario de Neuroquímica (IUIN), Complutense University School of Medicine, Madrid, Spain
3Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón (IiSGM), Madrid, Spain
4Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBEREHD), Madrid, Spain

Introduction. Alterations in the Keap1/Nrf2 balance trigger redox imbalance, which is a master regulator in the progression of chronic inflammatory liver diseases. Upon injury, hepatic stellate cells (HSCs) undergo transdifferentiation into a myofibroblast-like phenotype, leading to excessive extracellular matrix (ECM) deposition, particularly Collagens type I and III. In the present work, we aimed to elucidate the role of Keap1/Nrf2 in the transactivation and phenotypic activation of human HSCs.

Methods. Mice with hepatocyte (Keap1Dhepa) and HSC (Keap1DHSC)-specific deletion of Keap1 were generated and challenged with carbon tetrachloride (CCl4) for 28 days. In parallel, using CRISPR/Cas9, we generated LX2 cell clones with targeted deletions in the NFE2L2 gene affecting the Neh2 (KEAP1 interaction) and Neh4 (transactivation) domains. TGFβ stimulation was applied to induce transactivation. Samples were analysed by Western blot, qPCR, and immunofluorescence.

Results. Keap1Dhepa and Keap1DHSC mice displayed significantly increased serum markers of liver damage (AST, ALT) and overexpression of ECM proteins, including αSMA, vimentin, desmin and Sirius red staining, compared with their control littermates after CCl4 treatment. In vitro, deletion of Neh2 and Neh4 domains led to a significant reduction in phosphorylated NRF2 and a concomitant decrease in expression of activation markers ACTA2 and COL1A1 following TGFβ exposure.

Conclusions. Ours findings indicate that: (i) Keap1 deletion in liver cells triggers exacerbated liver fibrosis; (ii) Neh4 is critical for Nrf2 transcriptional activity; (iii) Neh2 deletion implies a Keap1-independent degradation pathway; (iv) Nrf2 pathway inhibition attenuates HSC activation; and (v) the Keap1/Nrf2 axis acts as a pivotal modulator of hepatic fibrogenesis.

COMUNICACIONES FORMATO PÓSTER

CLÍNICAS

Autoanticuerpos pancreáticos como herramienta diagnóstica en diabetes autoinmune: validación de un ELISA automatizado

Juan David Acevedo-Avila, Sara Garcinuño, Paula Padrón-Anceaume, Luz Divina Blanco-Herrera, Estela Paz-Artal, Oscar Cabrera-Marante.

Servicio de Inmunología, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Introducción. Los autoanticuerpos pancreáticos permiten identificar autoinmunidad asociada a diabetes y apoyar el diagnóstico diferencial entre diabetes mellitus tipo 1 (DT1), diabetes autoinmune latente del adulto (LADA) y diabetes mellitus tipo 2 (DM2), adquiriendo especial relevancia ante la expansión de estrategias de cribado de DT1. Objetivos: Validar una técnica ELISA automatizada para la determinación de anti-GAD65, anti-IA2, anti-ZnT8 y anti-insulina (AIN), y evaluar su utilidad clínica en diferentes formas de diabetes.

Materiales y Métodos. Se estudiaron 120 donantes sanos para establecer puntos de corte mediante el percentil 99 según CLSI C28-A3, con resultado concordante con los establecidos por los fabricantes. Tras revisar 200 historias clínicas, se seleccionaron 93 pacientes con historial clínico completo: 38 DT1, 18 LADA y 37 DM2. Se determinaron anti-GAD65, anti-IA2 y anti-ZnT8 mediante ELISA RSR y AIN mediante ELISA Aesku, automatizados en Triturus. Se evaluaron sensibilidad, especificidad, área bajo la curva ROC (AUC), exactitud diagnóstica y asociaciones con variables clínico-metabólicas.

Resultados. Se detectaron autoanticuerpos en 35/38 DT1 (92,1%), 18/18 LADA (100%) y 4/37 DM2 (10,8%). La positividad fue significativamente superior en diabetes autoinmune (DT1+LADA) frente a DM2 (94,6% vs. 10,8%; p<0,0001). Anti-GAD65 mostró el mejor rendimiento individual (sensibilidad 96%, especificidad 98%; AUC=0,974). La evaluación conjunta alcanzó una sensibilidad del 98,6%, especificidad del 91,0%, AUC=0,94 y exactitud del 93,4%. Anti-GAD65 se correlacionó inversamente con el péptido C (r=-0,52; p<0,0001), asociación que persistió tras ajustar por duración de la enfermedad y sexo (r parcial=-0,41; p=0,0008).

Conclusiones. El ELISA automatizado mostró elevado rendimiento para identificar diabetes autoinmune y diferenciarla de DM2. Anti-GAD65 presentó el mejor rendimiento individual y una asociación independiente con menor péptido C. La validación local y la evaluación conjunta de autoanticuerpos pueden optimizar el diagnóstico de diabetes autoinmune.

STAT4 rs7574865 TT genotype is associated with a severe inflammatory phenotype and increased treatment burden in early arthritis: a multicenter cohort study.

Marisa Pardines-Ortiz1,7, Cristina Valero-Martínez1,7, Nuria Montes 1,2, Ana Triguero-Martínez3, Marina Dueñas-Ochoa1, Ana María Ortiz1, Isabel Castrejón3, Amaya Puig-Kröger3, Chary Lopez-Pedrera4, Alejandro Escudero-Contreras4, David Castro Vazquez5, Amalia Lamana5, Carmen Martínez5, Yasmina Juarranz5, Bjørg-Tilde S. Fevang6, Rosario García-Vicuña1,7, Isidoro González-Álvaro1.
1. Rheumatology Department, Hospital Universitario La Princesa. Biomedical Research Institute La Princesa Hospital (IIS La Princesa), Madrid, Spain
2. Methodology Unit, IIS La Princesa, Madrid, Spain
3. Immunometabolism and Inflammation Laboratory, Rheumatology Department, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón (IISGM), Madrid, Spain
4. IMIBIC/Reina Sofia Hospital/University of Cordoba, Spain
5. Department of Cell Biology and Histology, Faculty of Biological Sciences and Faculty of Medicine, Complutense University of Madrid, Spain.
6. Rheumatology Department, Helse Bergen HF, Haukeland University Hospital, Bergen, Norway
7. Medicine Department, School of Medicine, Universidad Autónoma of Madrid, Madrid, Spain

Background. Despite the relevance of anti-citrullinated proteins antibodies to predict severity in early arthritis patients, the accuracy to estimate severity remains limited. Genetic variation in STAT4, a key transcription factor in the JAK–STAT pathway, may influence inflammatory responses. We have previously described that the TT genotype of rs7574865 polymorphism in STAT4 as associated with higher disease severity in early arthritis. In this work, we aimed to validate this previous description.

Methods. We analyzed a multicenter longitudinal cohort of patients with early rheumatoid arthritis (RA) or undifferentiated arthritis (UA) from four European hospitals. Visits were conducted at baseline, 6, 12 and 24 months. The STAT4 rs7574865 polymorphism was genotyped using a TaqMan allelic discrimination assay. Disease activity was assessed using DAS28-CRP. Associations between genotype and disease activity were evaluated using generalized estimating equations.

Results. A total of 528 patients with early arthritis were included (79.1% RA and 20.9% UA). The T allele was present in 48.3% of patients (GT 42.0%, TT 6.2%). TT homozygotes were more frequent among patients with early-onset disease (<45 years; $p = 0.006$). Disease activity decreased over 2-year-follow-up ($p < 0.001$), and TT carriers showed higher adjusted DAS28-CRP values compared to GG carriers, particularly during the first 6 months ($\beta = 0.35$; $p = 0.044$) (Figure 1). TT carriers also showed significantly greater exposure to corticosteroids, methotrexate and leflunomide, together with higher corticosteroid doses and a numerically higher frequency of TNF inhibitor use.

Conclusion. The STAT4 rs7574865 TT genotype was associated with earlier disease onset, higher disease activity at baseline and at 6 months and a greater treatment burden. Altogether, these findings suggest a more severe inflammatory phenotype in early arthritis patients carrying the TT genotype.

STAT4 rs7574865 TT genotype is associated with a severe inflammatory phenotype and increased treatment burden in early arthritis: a multicenter cohort study.

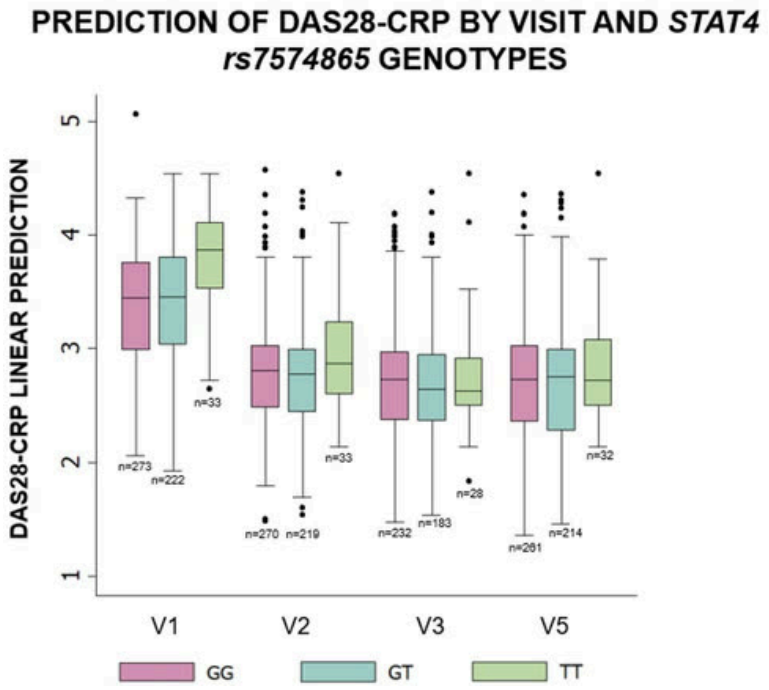


Figure 1.

Síndrome antifosfolipídico: de la trombosis a la hemorragia. La paradoja del SAL-HPT

María José Suárez1, Cristina Fernandez-Maqueda2, Maria Esquíroz2, Carolina Merino3, Paulette Walo1, Javier Carbone1, Manuel Serrano1
1. Servicio de Inmunología Hospital Puerta de Hierro
2. Servicio de Hematología Hospital Puerta de Hierro
3. Servicio de Reumatología Hospital Puerta de Hierro

Introducción: El síndrome antifosfolipídico (SAF) se asocia clásicamente a trombosis y/o morbilidad gestacional en presencia de anticuerpos antifosfolipídicos (AAF). La hemorragia es infrecuente y debe hacer considerar mecanismos adicionales de coagulopatía.

Caso clínico: Mujer de 43 años con síndrome de Sjögren y artritis reumatoide desde la infancia, diagnosticada de SAF en 2009 tras trombosis arterial, con anticoagulante lúpico (AL), anticardiolipina y anti-β2-glicoproteína I positivos. En verano de 2026 presentó un hematoma espontáneo de pared costal, sin traumatismo. Presentaba INR 1,35, sin evidencia de sobredosificación de acenocumarol, y hemoglobina de 8,5 g/dL. Tras vitamina K y complejo protrombínico, evolucionó favorablemente. A pesar de la reversión, persistían prolongación del TP y descenso leve del factor II (57%). Por ello ante la sospecha de coagulopatía adquitirida, se determinaron anticuerpos antiprotrombina (aPT) IgG e IgM siendo positivos.

Discusión y conclusiones: El cuadro es compatible con síndrome de anticoagulante lúpico-hipoprotrombinemia (SAL-HPT), probablemente mediado por anticuerpos antiprotrombina. Esta entidad, infrecuente y asociada a autoinmunidad, puede producir coagulopatía por consumo de protrombina, en este caso por anticuerpos aPT. Estos anticuerpos pertenecen al grupo de AAF no clásicos. Conclusión: En pacientes con SAF y evento hemorrágico se recomienda determinación de anticuerpos aPT con el fin de descartar coagulopatía

Anticuerpos anti-Vimentina Citrulinada Mutada en artritis reumatoide: ¿aportan valor diagnóstico en pacientes seronegativos?

Juan David Acevedo-Avila, Sara Garcinuño, Paula Castillejo-Romero, Irene Garrido-Romeral, Estela Paz-Artal, Oscar Cabrera-Marante.

Servicio de Inmunología, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Introducción: Los anticuerpos anti-CCP y el factor reumatoide (FR) constituyen los principales biomarcadores serológicos de la artritis reumatoide (AR), aunque una proporción de pacientes permanece seronegativa. Los anticuerpos frente a vimentina citrulinada mutada (anti-MCV) se han propuesto como biomarcadores complementarios de interés.

Objetivos: Evaluar la utilidad diagnóstica de anti-MCV en la AR, particularmente en pacientes seronegativos, y analizar su relación con anti-CCP y características clínicas de la enfermedad. Materiales y Métodos: Se estudiaron 140 sujetos: 46 pacientes con AR seropositiva, 41 con AR seronegativa y 53 controles sanos. Se determinaron anti-MCV, anti-CCP y FR mediante inmunoensayo automatizado Alegria® 2 (Sebia). Se compararon las tasas de positividad mediante test exacto de Fisher. Se analizaron correlaciones mediante Spearman y asociaciones clínicas mediante análisis multivariante.

Resultados: Anti-MCV fue positivo en el 93,5% (43/46) de los pacientes con AR seropositiva, frente al 7,3% (3/41) de aquellos con AR seronegativa ($p<0,0001$) y al 5,7% (3/53) de los controles ($p<0,0001$). Aunque anti-MCV fue positivo en tres pacientes con AR seronegativa, su frecuencia no difirió de la observada en controles (7,3% vs. 5,7%; $p=1,000$). Los niveles de anti-MCV mostraron una fuerte correlación con anti-CCP ($\rho=0,826$; IC95%: 0,746–0,883; $p<0,0001$). Asimismo, se correlacionaron con el número acumulado de articulaciones afectadas ($\rho=0,418$; $p=0,0043$), manteniéndose esta asociación tras ajustar por anti-CCP y duración de la enfermedad (r parcial=0,317; $p=0,038$).

Conclusiones: Anti-MCV presenta una marcada asociación con la AR seropositiva y elevado solapamiento con anti-CCP. Aunque fue positivo en tres pacientes con AR seronegativa, su frecuencia fue similar a la de controles, sugiriendo un valor diagnóstico incremental limitado. Su asociación independiente con la extensión articular acumulada plantea un potencial valor complementario en la caracterización fenotípica de la AR, que requiere validación en cohortes independientes de mayor tamaño.

Limitaciones de la inmunofluorescencia indirecta en el estudio de la miastenia gravis

Alicia González Peña (Residente Inmunología HFJD), Alicia González Pozo (Residente Inmunología HFJD), Raquel Téllez Pérez (Facultativa Inmunología HFJD), Javier Galán Picón (Facultativo Inmunología HFJD), Natalia Casado Navarro (Técnico de laboratorio de inmunología HFJD), Elena Sancho Cadenas (Técnico de laboratorio de inmunología HFJD), Celia Ortiz López (Técnico de laboratorio de inmunología HFJD), Karina Guzmán López (Facultativa Inmunología HFJD), Mª José Martínez Becerra (Facultativa Inmunología HFJD)

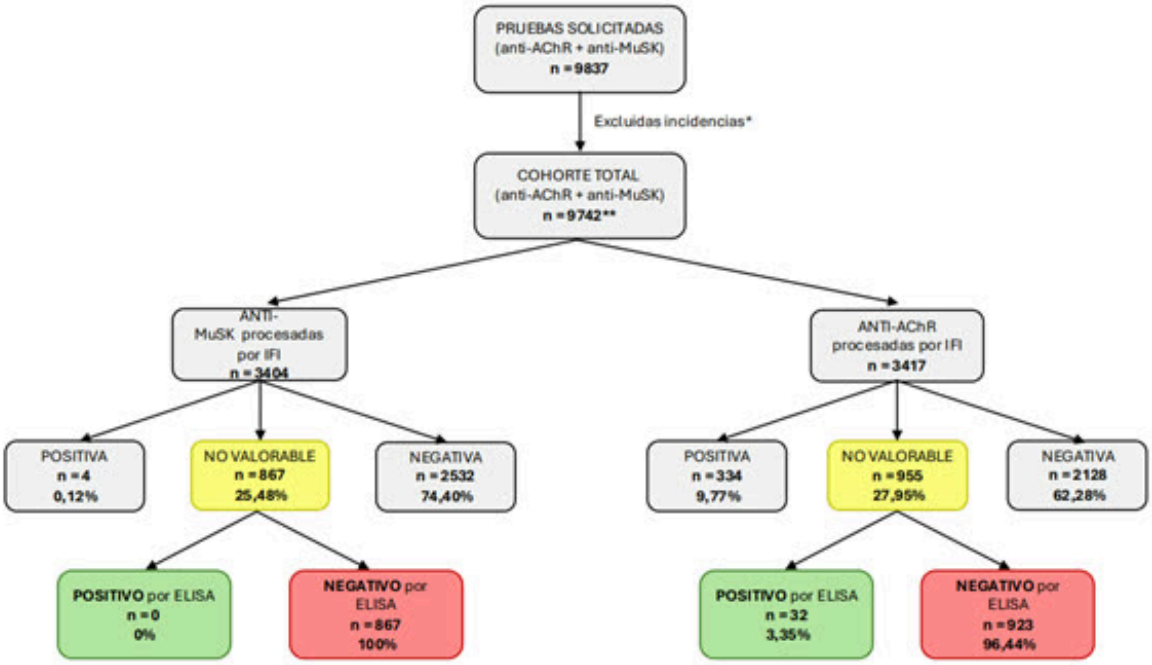
Introducción: El radioinmunoensayo, técnica diagnóstica de referencia en miastenia gravis (MG), no está disponible generalmente en laboratorios de rutina; empleándose inmunofluorescencia indirecta en células transfectadas fijas (IFI-CBA) y/o ELISA. Objetivo: Evaluar el algoritmo diagnóstico para el estudio de anticuerpos anti-AChR y anti-MuSK en MG en un hospital terciario, considerando limitaciones de la IFI-CBA.

Materiales y métodos: Revisión retrospectiva de resultados obtenido en estudios serológicos de MG entre febrero 2025-mayo 2026. Conforme al algoritmo empleado en nuestro centro, tras cribado inicial con IFI-CBA (Euroimmun®), los resultados no valorables (NV) se analizaron mediante ELISA (RSR Limited®) como técnica alternativa de confirmación. Se incluyeron todos los estudios de pacientes con múltiples determinaciones.

Resultados: De 9777 pruebas solicitadas (Figura 1), se procesaron por IFI-CBA 3404 para anti-MuSK: 0,12% (4) positivas y 25,48% (867) NV, estas últimas negativas por ELISA. De anti-AChR se procesaron 3417 pruebas por IFI-CBA: 9,77% (334) positivas y 27,95% (955) NV (Figura 2). Del grupo de anti-AChR NV, el 3,35% (32 pruebas/ 29 pacientes) resultó positivo por ELISA (mediana 2,67 nmol/L, rango 0,47->20 nmol/L). Con acceso a historia clínica en 13 pacientes, el 53,85% (7) al diagnóstico y 46,15% (6) seguimiento. 38,46% (5) corresponden a MG generalizada, 46,15% (6) a ocular y 15,38% (2) sin definir. La MG ocular mostró niveles medios de ELISA más bajos que la MG generalizada (2,50 vs. 8,24 nmol/L) requiriendo confirmación en estudios con mayor cohorte.

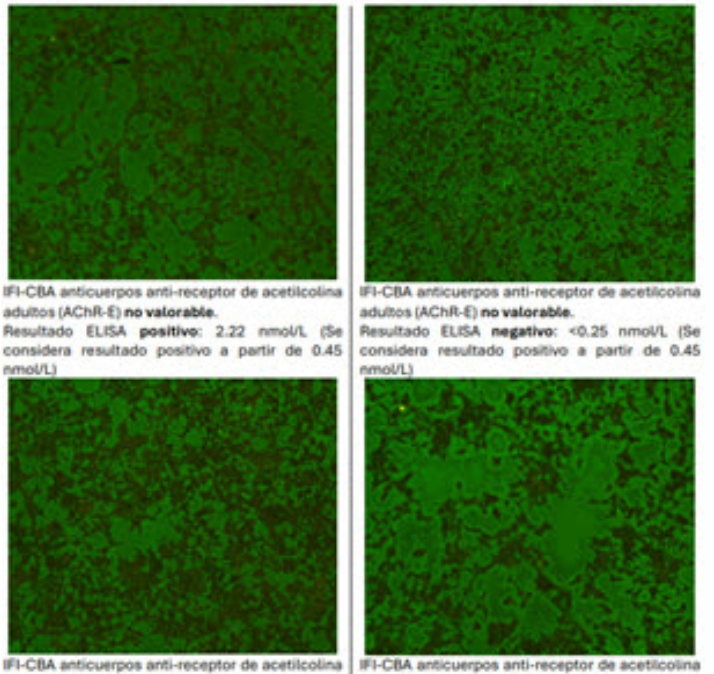
Conclusiones: La IFI-CBA constituye una técnica útil en el cribado de rutina que permite resolver la mayoría de los casos; sin embargo, presenta una tasa relevante de resultados NV (>25%) incrementando tiempos de respuesta, costes asociados y complejidad al algoritmo de trabajo. En las muestras NV para anti-AChR, describimos resultados positivos altos por ELISA, incluyendo al diagnóstico, evidenciando la necesidad de técnicas complementarias en centros con cribado inicial por IFI-CBA.

Limitaciones de la inmunofluorescencia indirecta en el estudio de la miastenia gravis



*Incidencias: falta muestra, muestras no recibidas, etc.
**La cohorte total incluye las siguientes pruebas solicitadas: anti-Musk y/o anti-AChR mediante ELISA y/o IFI.

Figura 1



IFI-CBA anticuerpos anti-receptor de acetilcolina adultos (AChR-E) **no valorable**.
Resultado ELISA **positivo**: 2.22 nmol/L (Se considera resultado positivo a partir de 0.45 nmol/L)

IFI-CBA anticuerpos anti-receptor de acetilcolina adultos (AChR-E) **no valorable**.
Resultado ELISA **negativo**: <0.25 nmol/L (Se considera resultado positivo a partir de 0.45 nmol/L)

IFI-CBA anticuerpos anti-receptor de acetilcolina fetal (AChR-G) **no valorable**.
Resultado ELISA **positivo**: 2.22 nmol/L (Se considera resultado positivo a partir de 0.45 nmol/L)

IFI-CBA anticuerpos anti-receptor de acetilcolina fetal (AChR-G) **no valorable**.
Resultado ELISA **negativo**: <0.25 nmol/L (Se considera resultado positivo a partir de 0.45 nmol/L)

Figura 2. Comparación de imágenes de IFI-CBA de Euroimmun® no valorables para anticuerpos anti-AChR, diferenciando entre aquellas con resultado positivo por ELISA y aquellas con resultado negativo por ELISA. Imágenes captadas automáticamente por EUROPattern Microscope Live (20x).

Utilidad de la lamina A/C como biomarcador de gravedad tisular y diagnóstico diferencial en la enfermedad inflamatoria intestinal

Raquel Gómez-Bris 1*; Marina Ortega-Zapero 1,2*; Víctor Fanjul 3,4; Lauri Polari 5; Markku Voutilainen 6; Markku Kallajoki 8; Diana M Toivola 5; Angela Saez 1,9; José M. González-Granado 1,2,7.
* Equall contribution

1. LamImSys Laboratory, Instituto de Investigación Sanitaria Hospital 12 de Octubre (imas12). Madrid. Spain.
2. Department of Immunology, Ophthalmology and ENT, School of Medicine, Universidad Complutense de Madrid (UCM). Madrid. Spain.
3. Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares (CNIC). Madrid. Spain.
4. SAVANA Research, S.A. Madrid. Spain.
5. Department of Natural and Health Sciences, Cell Biology, Faculty of Science and Engineering, Åbo Akademi University. Turku. Finland; InFLAMES Research Flagship Center, Åbo Akademi University. Turku. Finland.
6. Department of Clinical Medicine, Division of Internal Medicine, University of Turku, Finland.
7. Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Cardiovasculares (CIBERCV). Madrid. Spain.
8. Institute of Biomedicine. University of Turku and Laboratory Division, Turku University Hospital, Turku, Finland.
9. Facultad de Ciencias Experimentales, Universidad Francisco de Vitoria (UFV), Pozuelo de Alarcón. Madrid. Spain.

La lamina A/C regula la homeostasis nuclear, pero su comportamiento en los distintos compartimentos del tejido colorrectal inflamado no está totalmente esclarecido.

En este estudio, se cuantificó mediante inmunofluorescencia y análisis de imagen digital la expresión de lamina A/C en biopsias de pacientes con Enfermedad Inflamatoria Intestinal (EII) (N=16, divididos equitativamente en enfermedad de Crohn (EC) y colitis ulcerosa (CU)) y controles (N=10).

Los resultados en linfocitos T $CD3^+$ de la lamina propia mostraron que la respuesta adaptativa normal de la lamina A/C, la cual aumenta en proporción a la abundancia de CD3 y la expansión nuclear en tejidos sanos ($p < 0.001$), se encuentra significativamente atenuada en el microambiente de la EII ($p < 0.001$). Esta respuesta disminuida correlacionó directamente con la puntuación de gravedad histológica local ($p < 0.001$), independientemente del subtipo de EII.

Por otro lado, al evaluar el epitelio de las criptas, se identificó que el gradiente espacial ascendente hacia la luz intestinal característico de los controles se acelera drásticamente en la EII ($p < 0.001$). Sin embargo, la estratificación por patologías demostró que este incremento abrupto ocurre exclusivamente en la EC ($p < 0.001$), mientras que los pacientes con CU conservan un gradiente idéntico al grupo control ($p = 0.278$). Además, a diferencia de lo observado en linfocitos T, este gradiente epitelial no se asoció con la gravedad del daño tisular ($p = 0.389$).

En conclusión, la lamina A/C sufre una desregulación dual en el intestino inflamado: en las células T actúa como un sensor del daño histológico y la intensidad inflamatoria, mientras que en el compartimento epitelial se comporta como un marcador patológico específico de la Enfermedad de Crohn, reflejando un rediseño intrínseco en su programa de diferenciación.

Validación metodológica y técnica de la determinación por citometría de flujo de linfocitos T-CD8+ activados con fenotipo de migración intestinal para el diagnóstico de Enfermedad Celíaca

Iván García de la Torre (1); Irene Gutiérrez Ramos (1); Elsa de la Fuente Briongos (2); Jorge Infante-Menéndez (3); María Corzo (3); Sara Goméz-Aguililla (3); Conchita Núñez Pardo (3)(4); Roberto Pariente Rodríguez (1)

(1) Servicio de Inmunología, Hospital Universitario Ramón y Cajal
(2) Servicio de Gastroenterología, Hospital Universitario Ramón y Cajal
(3) Laboratorio de Investigación en Genética de enfermedades complejas, Hospital Clínico San Carlos, Instituto de Investigación Sanitaria del Hospital Clínico San Carlos (IdISSC)
(4)Redes de Investigación Cooperativa Orientada a Resultados en Salud (RICORS)

Introducción. El diagnóstico de enfermedad celiaca (EC) en pacientes en dieta sin gluten (DSG) supone un reto debido a la normalización de los marcadores, requiriendo provocaciones prolongadas y, en ocasiones, biopsia confirmatoria. Para minimizar la exposición al gluten, se han desarrollado estrategias basadas en provocaciones cortas, que permiten detectar cambios inmunológicos en sangre asociados a la EC y que podrían facilitar su diagnóstico.

Objetivo. Implementar y validar técnicamente en el Hospital Universitario Ramón y Cajal la determinación por citometría de flujo (CF) de linfocitos T-CD8+ activados con fenotipo de migración intestinal en sangre periférica tras provocación corta con gluten, evaluando su reproducibilidad mediante el análisis en paralelo con el laboratorio del Instituto de Investigación Sanitaría del Hospital Clínico San Carlos que propuso y puso a punto la metodología.

Materiales y métodos. Estudio ciego en fase de validación técnica. Gastroenterología seleccionó 9 pacientes en DSG con EC diagnosticada o con despistaje previo. La prueba consistió en la ingesta de 10g/día de gluten 3 días consecutivos. Empleando sangre periférica, se determinó por CF el porcentaje de células CD8+CD103+β7hiCD38+CCR9+ respecto al total de CD8+ antes de la provocación (día 0) y seis días post-provocación (día 6)(figura 1). Se consideró respuesta positiva un porcentaje ≥0,01% junto a la duplicación a día 6 del valor basal.

Resultados. Se detectó positividad en 2 de 9 pacientes. Los resultados mostraron un 100% de concordancia interlaboratorio respecto al centro de referencia (k=1;IC95%:1,00-1,00;p<0,001) (figura 2).

Conclusiones. Estos resultados preliminares demuestran la correcta implementación de esta metodología, probándose como una técnica viable y reproducible. A la espera de la apertura del ciego clínico, esta técnica se muestra como una alternativa rápida para el diagnóstico de EC en pacientes en DSG. Asimismo, el estudio evaluará su utilidad diagnóstica en pacientes con inmunodeficiencias, en los que la confirmación de EC resulta especialmente compleja.

Validación metodológica y técnica de la determinación por citometría de flujo de linfocitos T-CD8+ activados con fenotipo de migración intestinal para el diagnóstico de Enfermedad Celíaca

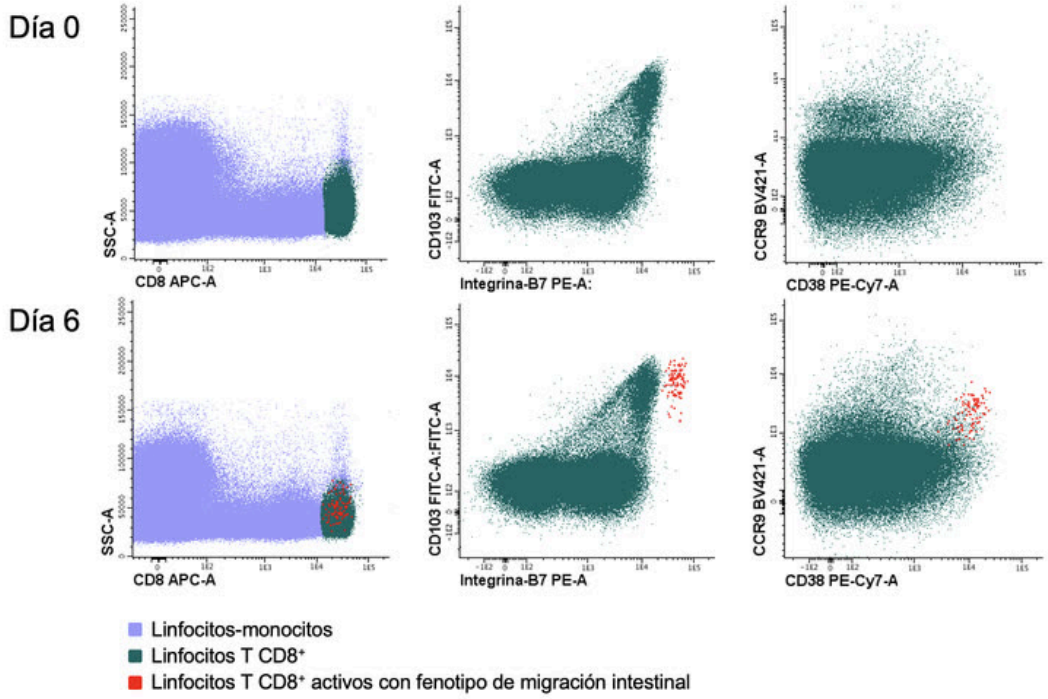


Figura 1. Estrategia de identificación y análisis mediante citometría de flujo de la subpoblación de linfocitos T CD8⁺CD103⁺β7^{hi}CD38⁺CCR9⁺ en sangre periférica de un paciente con respuesta positiva a la provocación con gluten. Se muestran los resultados obtenidos antes de la prueba de provocación (Día 0) y 6 días después de la administración de gluten (Día 6). La provocación se realizó durante 3 días consecutivos con una dosis de 10 g de gluten al día.

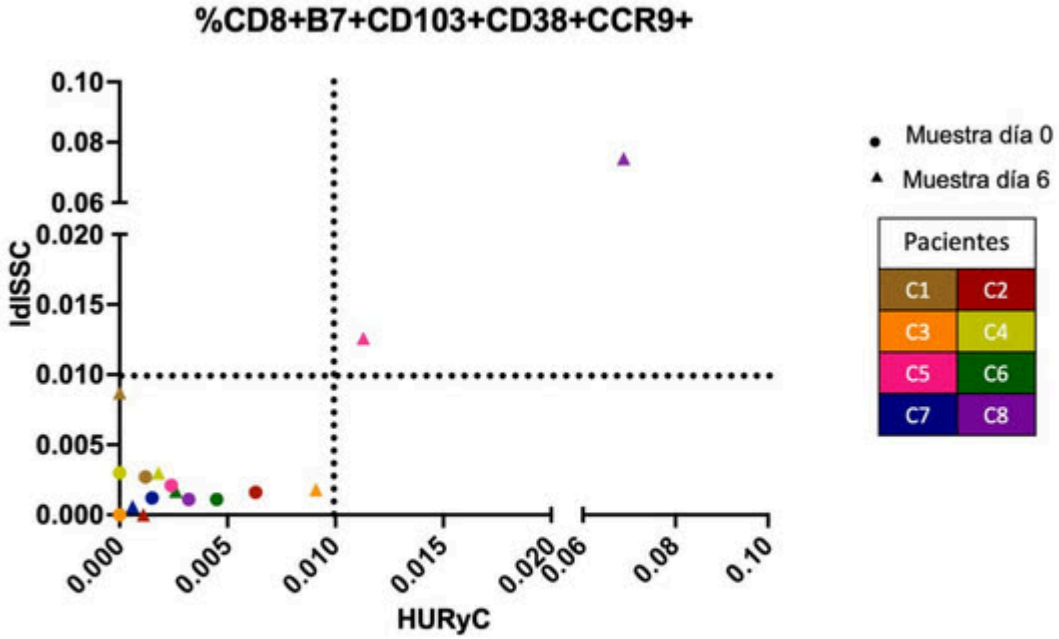


Figura 2. Comparativa interlaboratorio de las cuantificaciones obtenidas. Gráfico de dispersión que muestra los porcentajes de la población CD8+CD103+β7hiCD38+CCR9+ analizados en nuestro laboratorio, HURyC (eje X) y en el IdISSC (eje Y) en $N = 8$ pacientes. Los círculos representan el estado pre-provocación (día 0) y los triángulos el post-provocación (día 6). Las mediciones de un mismo paciente se identifican con un color único. Las líneas discontinuas horizontal y vertical indican el límite de positividad del 0,01%.

Optimización del algoritmo diagnóstico en miopatías inflamatorias: de la sospecha clínica a la probabilidad postest

Paula Padrón Anceaume1; Castillejo Romero, Paula1; Mendieta Álvarez, Estefanía X.1; Acevedo-Ávila, Juan David1; Garcinuño, Sara2; Cabrera Marante, Oscar1; Romo Pasamar, Eva María1; Paz-Artal, Estela1,2

1.- Servicio de Inmunología. Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid. 2.- Instituto de investigación del Hospital Universitario 12 de Octubre (imas12). Madrid.

Introducción. El abordaje clásico de las miopatías inflamatorias idiopáticas (MII) emplea ANA-IFI (Anticuerpos Antinucleares mediante Inmunofluorescencia Indirecta) sobre células HEp-2 como cribado previo al inmunoblot, lo que puede infraestimar autoanticuerpos con dianas citoplasmáticas.

Objetivo. Evaluar la equivalencia diagnóstica del título en IFI e intensidad semicuantitativa del inmunoblot para autoanticuerpos específicos (MSA) y asociados (MAA) a miositis, y modelar la probabilidad postest según sospecha clínica.

Materiales y métodos. Estudio retrospectivo de 43 pacientes con line-blot positivo para 12 MSA/MAA, con registro del patrón y título de ANA-IFI. Se analizaron correlación (ρ-Spearman), equivalencia (Passing-Bablok), concordancia (κ-ponderado) y el rendimiento diagnóstico (curvas ROC) para el panel MSA+MAA y un modelo restringido a MSA con filtro de calidad (≥25 U). Se estimó la probabilidad postest (LR) en tres escenarios de sospecha clínica pretest según criterios del 256th ENMC (baja, moderada, alta).

Resultados. El algoritmo por IFI no identificaría al 43.3% (13/30) de pacientes sintomáticos (IFI-/Blot+). No hubo correlación (ρ=0.2716, p valor=0.0781) ni equivalencia (Passing-Bablok: B=-0.0145, A=1), sugiriendo positividad IFI basal inespecífica (1:160), concordancia débil (κ=0.2305) y asociación inversa clínica-IFI (OR=0.5812). Las probabilidades postest fueron mayores para blot positivo en todos los escenarios de sospecha clínica (MSA [LR+=7.7] vs. MSA+MAA [LR+=2.8] vs. ANA-IFI [LR+=0.82]).

Conclusiones. Proponemos un enfoque diagnóstico integrado: el panel MSA/MAA debe indicarse según la sospecha clínica y la IFI interpretarse como una prueba complementaria y no como filtro excluyente. Nuestros hallazgos son coherentes con las recomendaciones internacionales de Bonroy et al., la ANA-IFI no presenta sensibilidad suficiente como único cribado en MII, pues algunos autoanticuerpos citoplasmáticos clínicamente relevantes pueden detectarse con IFI negativa. El 43.3% de los pacientes sintomáticos con blot positivo presentó una IFI negativa, y otras series llegan incluso al 69%. La ANA-IFI y el inmunoblot no son pruebas equivalentes ni intercambiables en el estudio serológico de MII. En esta cohorte, la positividad MSA con 100% de especificidad respalda la solicitud directa del blot de miositis ante elevada sospecha clínica y cuestiona la IFI como cribado inicial.

Optimización del algoritmo diagnóstico en miopatías inflamatorias: de la sospecha clínica a la probabilidad postest

Tabla 1. Datos demográficos de la cohorte del estudio.

Variables	ANA IFI positivo (n = 26)	ANA IFI negativo (n = 17)	Total (n = 43)	*Valor p*
Edad, años, media (IQR)	55.92 (48.2-69.5)	63,59 (53.0-76.0)	58.95 (50.0-71.0)	0.1426[a]
Sexo femenino, *n* (%)	17 (65.4%)	12 (70.6%)	29 (67.4%)	ns[b]
Sexo masculino, *n* (%)	9 (34.6%)	5 (29.4%)	14 (32.6%)	ns[b]
Diagnóstico principal *n* (%)				0.2700[c]
Síndrome de Sjögren	8 (30.8%)	4 (23.5%)	12 (27.9%)	0.7346[b]
Miositis Overlap	6 (23.1%)	1 (5.9%)	7 (16.3%)	0.2149[b]
Síndrome Antisintetasa	3 (11.5%)	2 (11.8%)	5 (11.6%)	1.00[b]
Dermatomiositis	2 (7.7%)	3 (17.6%)	5 (11.6%)	0.3686[b]
Sospecha de miositis	2 (7.7%)	1 (5.9%)	3 (7.0%)	1.00[b]
EPID	0 (0.0%)	2 (11.8%)	2 (4.7%)	0.1506[b]
Otros	5 (19.2%)	4 (23.5%)	9 (20.9%)	1.00[b]
Asociación con Miositis *n* (%)				0.5131[b]
Síndromes Asociados a Miositis	17 (65.4%)	13 (76.5%)	30 (69.8%)	
Síndromes No asociados a Miositis	9 (34.6%)	4 (23.5%)	13 (30.2%)	

Enfermedad Pulmonar Intersticial Difusa (EPID)

[a]Prueba U de Mann-Whitney
[b]Prueba Exacta de Fisher
[c]Chi-cuadrado Global de Independencia

Tabla 1.

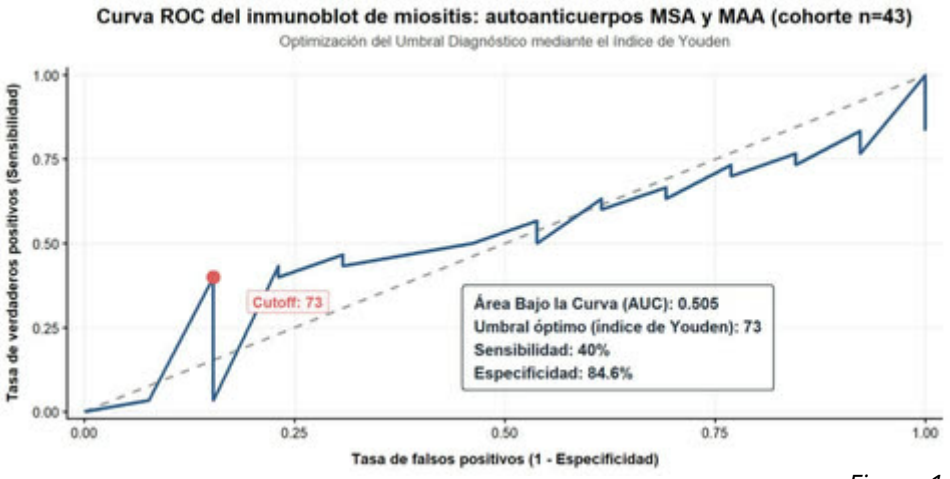


Figura 1.

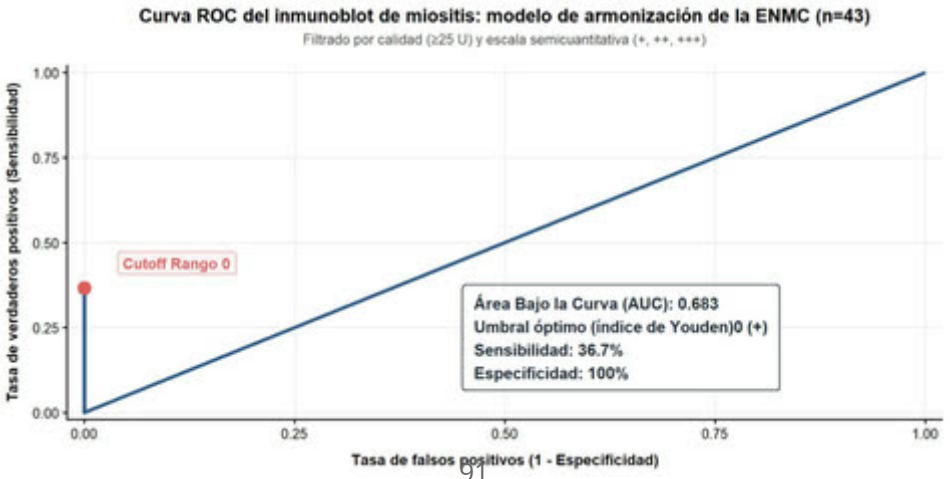


Figura 2.

Optimización del algoritmo diagnóstico en miopatías inflamatorias: de la sospecha clínica a la probabilidad postest

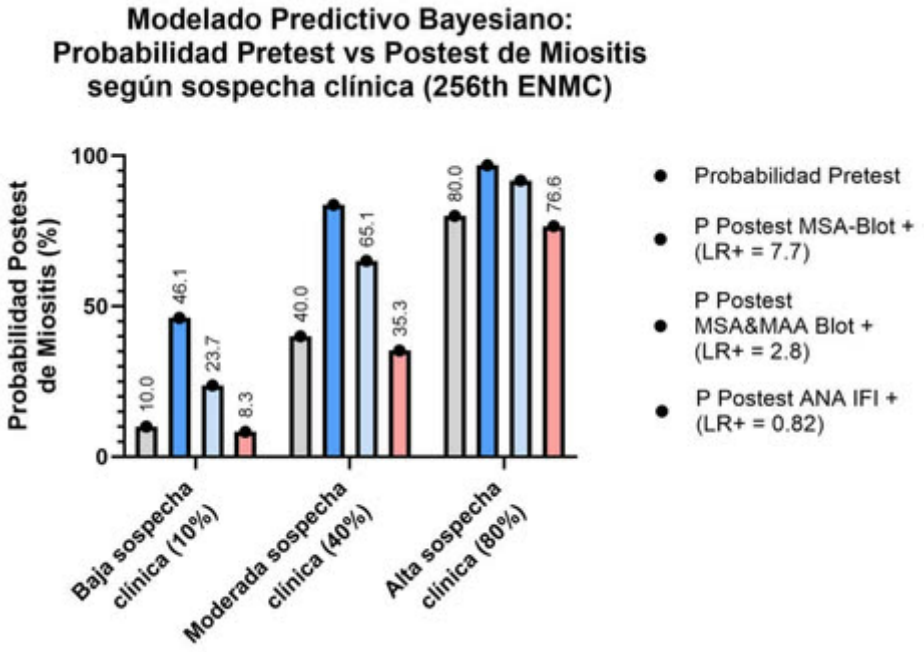


Figura 3.

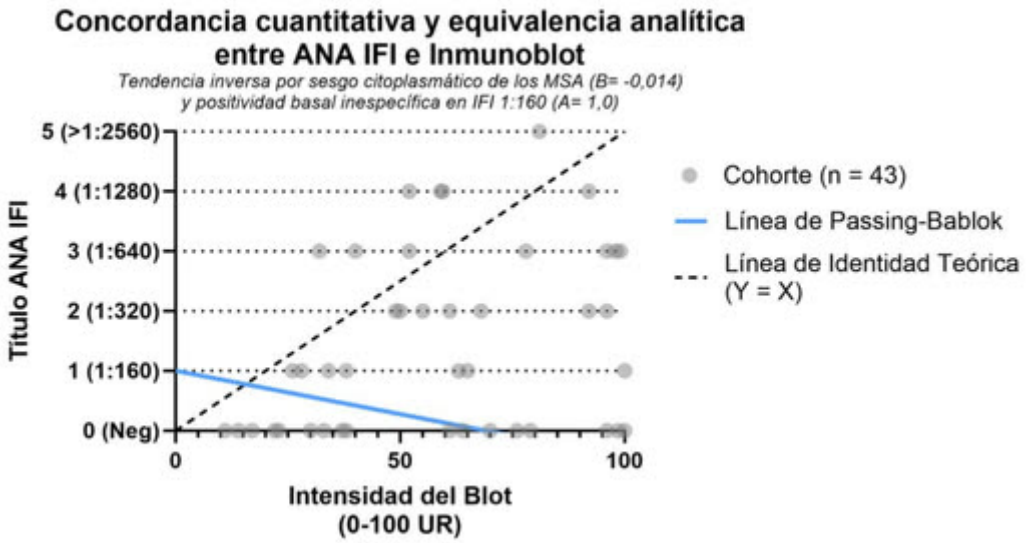


Figura 4.

Comparativa entre técnicas de detección de anticuerpos anti Receptor de Acetilcolina (anti-AchR)

Alicia González Pozo 1; Ángel López Brull 2; Yesenia Jiménez de las Pozas 2; Alicia González Peña 1; Natalia Casado Navarro 1; Sara López Santamaría 1; Elena Sancho Cadenas 1;Javier Galán Picón 1; Raquel Téllez Pérez 1; Karina Guzmán 1; Mª José Martínez Becerra 1

1 Servicio de Inmunología. Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz
2 Laboratorio Central Health Diagnostics - Quirón Salud

I**NTRODUCCIÓN.** La detección de anti-AchR es una herramienta de apoyo para el diagnóstico de Miastenia gravis (MG). Sin embargo, las diferentes técnicas disponibles pueden mostrar resultados discordantes y dificultar su interpretación.

OBJETIVOS. Comparar resultados de anti-AchR entre IFI (células transfectadas fijadas), ELISA y RIA.

MATERIALES Y MÉTODOS. Estudio retrospectivo (enero/2024–junio/2026) de peticiones de rutina de anti-AchR procesadas por IFI-ELISA-RIA conforme al algoritmo de la figura 1. Se recogieron variables demográficas, niveles de anticuerpos mediante ELISA (RSRLimited®), RIA (IBL®; zona gris 0,20-0,50nmol/L considerada positiva) y el resultado semicuantitativo de IFI (Euroimmun®; +/++/+++). Se revisaron las historias clínicas (HC).

RESULTADOS. De 6002 estudios de anti-AchR por IFI, 1934 eran positivas o no valorables (NV). Tras excluir duplicados y aquellos sin resultado por las tres técnicas disponibles, se incluyeron 24 pacientes (54% hombres; edad media: 60±15 [28-84]). 24 pacientes/18 con HC: 7/18 MG, todos en seguimiento; 4/7 en tratamiento (Mestinon®). 16 tenían IFI positiva y 8 NV. Título de IFI: débil en 10/16 [Tabla 1]. En el 31% hubo consenso en los resultados por IFI-RIA y en el 25% por IFI-ELISA. Entre ELISA-RIA el consenso se dio en el 54%. En pacientes con IFI valorable, un paciente fue positivo por las tres técnicas [Tabla 2]. En 8 pacientes el positivo fue aislado por IFI, 5/8 actualmente en estudio [Tabla 2].

CONCLUSIONES. Se observan discrepancias entre IFI, ELISA y RIA para anti-AChR, con una alta tasa de IFI aisladas. En una serie sesgada por resultados discordantes IFI (mayoritariamente débil) y ELISA (con valores máximos muy próximos al negativo), destaca que RIA arroja valores superiores. Subrayar la baja tasa de MGG. No se describen MG al debut en nuestra serie, por lo que estas diferencias podrían no influir en el diseño de algoritmos diagnósticos. Los positivos aislados por IFI sin diagnóstico deben ser monitorizados.

Comparativa entre técnicas de detección de anticuerpos anti Receptor de Acetilcolina (anti-AchR)

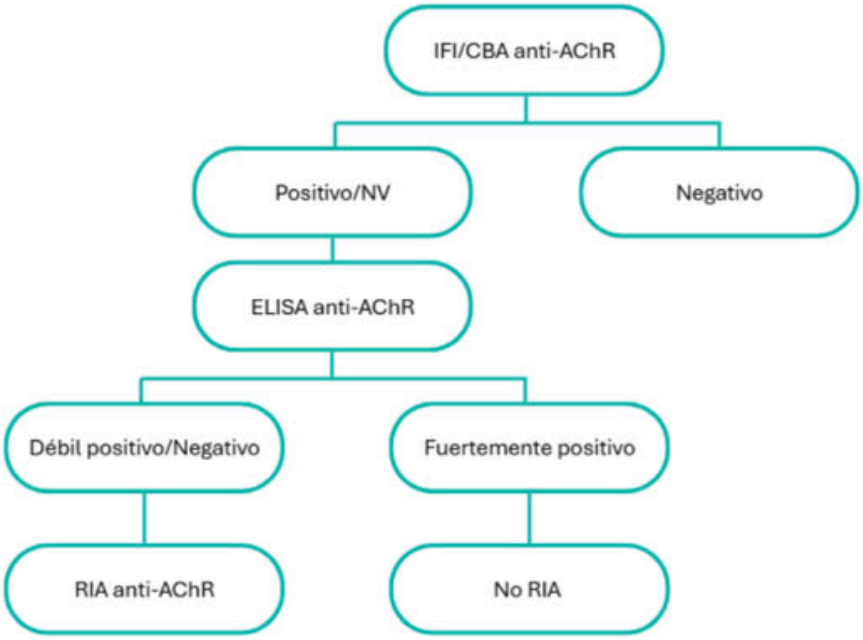


Figura 1. Algoritmo de selección de la cohorte de estudio.

Comparativa entre técnicas de detección de anticuerpos anti Receptor de Acetilcolina (anti-AchR)

	RIA		ELISA	
	+	-	+	-
IFI positiva (n=16)	5 (1,63)	11 (0,09)	4 (0,48)	12 (0,24)
IFI +	1 (0,35)	9 (0,09)	4 (0,48)	6 (0,24)
IFI ++	3 (2,22)	2 (<0,10)	0	5 (0,24)
IFI +++	1 (0,21)	0	0	1 (0,24)
IFI NV (n=8)	2 (2,10)	6 (<0,10)	4 (0,51)	4 (0,24)

Tabla 1. Distribución de los resultados de RIA y ELISA. Entre paréntesis se muestra la mediana de los valores de anti-AChR en nmol/L. Se considera resultado positivo >0,45 nmol/L para ELISA y >0,20 nmol/L para RIA.

Paciente	Diagnóstico	IFI	ELISA	RIA
1	MGO	+	+ (0,48)	Gris (0,35)
2	MGO	+	+ (0,45)	- (<0,10)
3	MGO	+	- (0,28)	- (<0,10)
4	MGO	++	- (<0,25)	+ (2,22)
5	MGO	NV	- (<0,25)	+ (>3)
6	MGO	NV	+ (0,54)	- (<0,10)
7	MGG	++	- (0,44)	+ (2,34)
8	NO MG	+	+ (0,48)	- (<0,10)
9	NO MG	+	+ (0,48)	- (<0,10)
10	NO MG	NV	- (<0,25)	- (<0,10)
11	En estudio	+	- (<0,25)	- (<0,10)
12	En estudio	+	- (<0,25)	- (<0,20)
13	En estudio	+	- (<0,25)	- (<0,10)
14	En estudio	+	- (<0,25)	- (<0,10)
15	En estudio	++	- (<0,25)	- (<0,10)
16	En estudio	NV	+ (0,56)	+ (1,19)
17	En estudio	NV	+ (0,47)	- (<0,10)
18	En estudio	NV	- (0,36)	- (<0,10)
19	ND	+	- (<0,25)	- (<0,10)
20	ND	++	- (<0,25)	- (<0,10)
21	ND	++	- (<0,25)	+ (1,63)
22	ND	+++	- (<0,25)	Gris (0,21)
23	ND	NV	+ (0,48)	- (<0,10)
24	ND	NV	- (<0,25)	- (<0,10)

Tabla 2. Características clínicas y serológicas de la cohorte estudiada. Destacados en gris los resultados positivos. Entre paréntesis se muestra el valor cuantitativo de anti-AChR en nmol/L. MGO: Miastenia gravis ocular; MGG: Miastenia gravis generalizada; ND: No disponible.

Miopatía necrotizante inmunomediada por anticuerpos anti-HMGCR en paciente expuesta a rosuvastatina.

Carlos López de la Osa Bautista, Leire Martín Fernández, Irene Gutiérrez-Ramos, Celia Ferrez Hernández, Enrique García Barrera, Mario Morales Talavera, Margarita Gurkalo Stepanova, Rubén Ballester González, Roberto Pariente Rodríguez. Servicio de Inmunología, Hospital Universitario Ramón y Cajal.

Presentamos el caso de una mujer de 64 años, con antecedentes de dislipemia tratada con rosuvastatina/ezetimiba, que acude al servicio de Urgencias por un cuadro de debilidad muscular en miembros inferiores de tres meses de evolución. En la exploración física destacaba paraparesia de predominio proximal en ambos miembros inferiores: 4/5 en flexión de ambas caderas y rodillas. Fuerza conservada en ambos miembros superiores e hiporreflexia generalizada. En el estudio bioquímico presentaba un aumento de transaminasas (AST: 130 U/L; ALT: 170 U/L), LDH: 574 U/L, PCR: 70,8 mg/L, y una marcada elevación de la CK: 5660 U/L. Los anticuerpos antinucleares (ANA), anti-LKM, anti-ASMA y anti-AMA, determinados mediante inmunofluorescencia indirecta (IFI), fueron negativos, al igual que el inmunoblot para anticuerpos asociados a miopatías autoinmunes. Sin embargo, en el estudio IFI sobre triple tejido de rata se objetivó una tinción citoplasmática granular de hepatocitos dispersos (tipo HALIP), sugerente de la presencia de anticuerpos anti-HMGCR. El estudio confirmatorio de anticuerpos anti-HMGCR mediante quimioluminiscencia resultó positivo, con un valor de 426 CU. Asimismo, el electromiograma y una biopsia de músculo esquelético fueron compatibles con una miopatía inflamatoria.

Ante estos resultados, y considerando la exposición a estatinas, se estableció el diagnóstico de miopatía necrotizante inmunomediada (IMNM) por anticuerpos anti-HMGCR. Se suspendió la rosuvastatina y se inició tratamiento con prednisona (60 mg/día inicialmente y, luego, en pauta descendente hasta 20 mg/día). Posteriormente, se añadieron inmunoglobulinas intravenosas durante 5 días y metotrexato. Desde el inicio del tratamiento la paciente evolucionó favorablemente, con reducción progresiva de los niveles de CK hasta su normalización, y descenso significativo de los anti-HMGCR (8,8 CU tras 9 meses de inmunosupresión). El descenso de los anti-HMGCR paralelo a la mejoría clínica y bioquímica sugiere su utilidad como biomarcador de actividad y respuesta terapéutica, aunque su valor en el seguimiento aún no está plenamente establecido.

Miopatía necrotizante inmunomediada por anticuerpos anti-HMGCR en paciente expuesta a rosuvastatina.

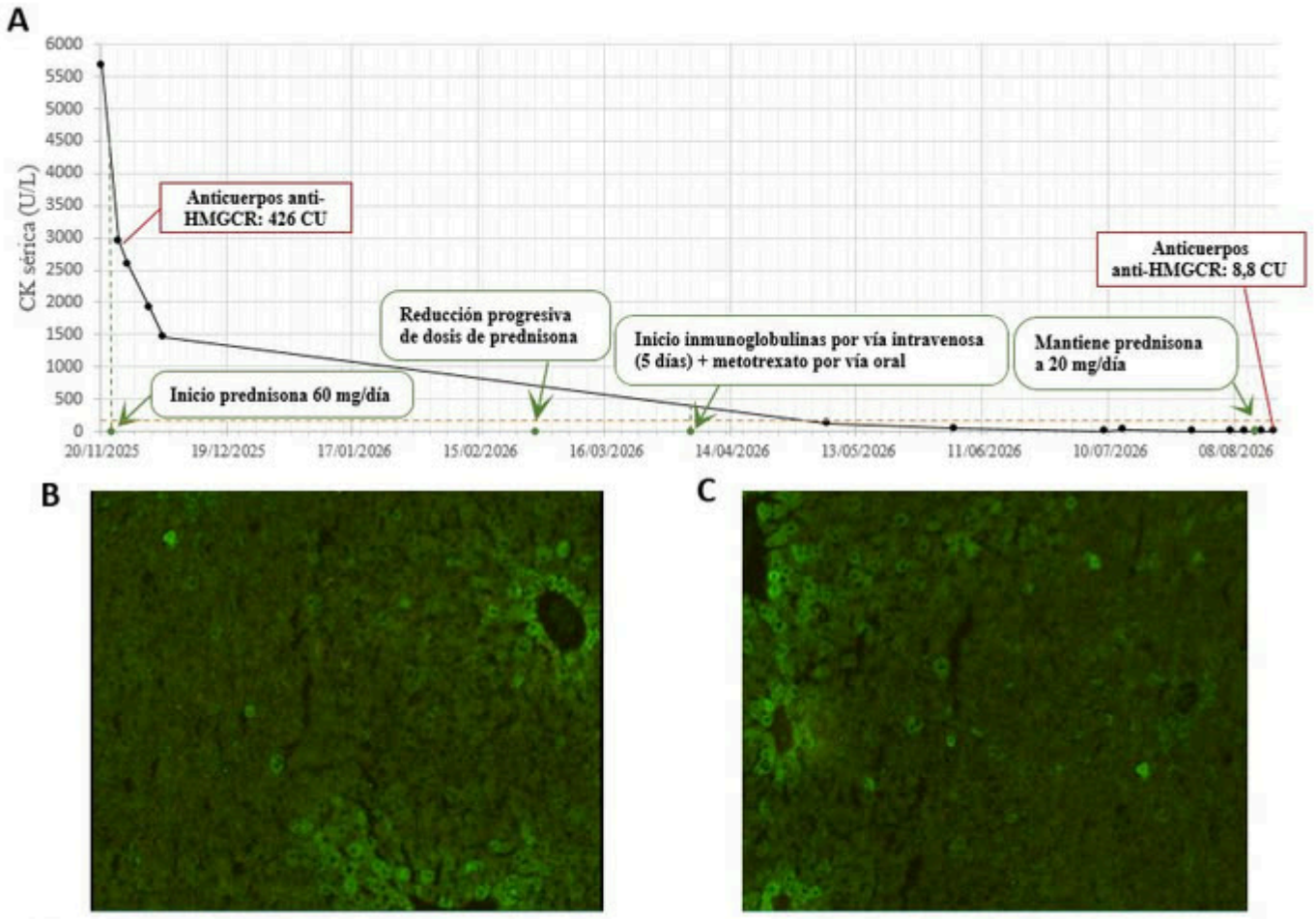


Figura 1A. Evolución de los valores séricos de creatina-cinasa (CK, en negro) y de los anticuerpos anti-HMGCR desde el inicio de la sintomatología. La línea naranja discontinua indica el límite superior del rango de normalidad de la CK sérica, mientras que los tratamientos administrados se muestran en verde.
Figuras 1B-C. Patrón HALIP obtenido del suero de la paciente por inmunofluorescencia indirecta sobre tejido hepático de rata. Ambas imágenes corresponden al momento en el que el título de anticuerpos anti-HMGCR fue de 426 CU.

Optimización de los puntos de corte del ELISA para la detección de autoanticuerpos frente al receptor de la fosfolipasa A2 mediante comparación con inmunofluorescencia indirecta.

Jiménez Vargas, Carmen; Ramos, Edurne; Corulla, Silvia; Serrano, Manuel; Moraru, Manuela

Servicio de Inmunología. Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda.

La nefropatía membranosa (NM) es una enfermedad glomerular asociada mayoritariamente a la presencia de autoanticuerpos frente al receptor de la fosfolipasa A2 (PLA2R). Aunque el diagnóstico es principalmente histopatológico, la determinación serológica mediante ELISA e inmunofluorescencia indirecta (IFI) sobre células transfectadas constituyen herramientas diagnósticas no invasivas adicionales. Para ELISA, existe un punto de corte recomendado por el fabricante, aunque se recomienda definir uno propio en el laboratorio. El objetivo fue establecer un punto de corte optimizado para el ELISA Euroimmun, utilizando la IFI como método comparador.

Se analizaron 54 muestras de suero distribuidas en cuatro grupos: 19 diagnosticados de NM, 12 con otras patologías renales (no NM), 12 con enfermedades autoinmunes sin afectación renal (EAI) y 11 controles sanos. Los anticuerpos anti-PLA2R se determinaron mediante ELISA (punto de corte recomendado por el fabricante es 20 RU/mL) e IFI (positivo >1:10) de Euroimmun.

El análisis estadístico incluyó los test Mann-Whitney y Kruskal-Wallis, índice k de Cohen y curva ROC. Los valores de ELISA fueron significativamente superiores en muestras IFI+ vs IFI− (20,19 vs 2 RU/mL; $p<0,0001$). En grupo NM, 14/19 (73,7%) casos fueron IFI+, sin casos IFI+ en el resto de grupos. Con el corte de 20 RU/mL, la sensibilidad fue del 50% y la especificidad del 100%, con un índice $\kappa=0,66$, indicativo de buena concordancia entre ELISA e IFI. Los niveles de anti-PLA2R fueron superiores en NM respecto a grupos no NM, EAI y sanos ($p<0,005$). El análisis ROC mostró AUC=0,9982. El punto de corte de 3,935 RU/mL alcanzó una sensibilidad del 100% y especificidad del 97,5% con un índice κ de 0,95 (concordancia muy buena).

En conjunto, en nuestra serie, el punto de corte de 3,935 RU/mL presentó mayor sensibilidad diagnóstica que el recomendado por el fabricante para la determinación de anticuerpos anti-PLA2R mediante ELISA en pacientes con NM.

Concordancia y rendimiento diagnóstico de IFI, ELISA y FEIA en la determinación de anticuerpos anti ATPasa H^+/K^+ y anti factor intrínseco

Beatriz Jiménez-Matías 1 , Paula Calvo 1 , Edurne Ramos 1 , Silvia Corulla 1 , Irene Algaba 2, Manuela Moraru 1
1. Servicio Inmunología H. U. Puerta de Hierro
2. Instituto de Investigación Sanitaria Puerta de Hierro

Introducción: La gastritis autoinmune (GA) es una enfermedad inflamatoria crónica de la mucosa oxíntica caracterizada por la destrucción progresiva de las células parietales gástricas (CPG). Los anticuerpos anti-ATPasa-H^+/K^+ son el principal marcador serológico de la GA; adicionalmente, en una minoría de casos y en fases más tardías de la enfermedad se pueden detectar también anticuerpos anti-factor intrínseco (FI).

Objetivo: Comparar el rendimiento diagnóstico y la concordancia entre distintas técnicas disponibles para la detección de anticuerpos anti-ATPasa y anti-FI.

Materiales y Métodos: Se analizaron 1255 muestras con petición de anticuerpos anti-CPG por IFI (AESKU, Grifols) y FEIA (Thermo Fisher Scientific). Tras este análisis, también se estudió la presencia de anticuerpos anti-ATPasa y anti-FI en 78 muestras mediante ELISA (Euroimmun; OrgenTec, Sebia) para comparar parámetros de rendimiento diagnóstico y concordancia entre técnicas.

Resultados: De las 1255 muestras, se identificaron 404 (32,2%) con anticuerpos anti-ATPasa; 7 (0,5%) con anticuerpos anti-FI, no detectados por IFI; y 46 (3,7%) dobles positivos. Para los anticuerpos anti-ATPasa, la IFI presentó mayor capacidad discriminativa (AUC=0,80), seguida de FEIA y ELISA-Euroimmun (AUC≈0,75); ELISA-OrgenTec alcanzó una sensibilidad del 100% a expensas de una especificidad del 37%. Para los anticuerpos anti-FI, FEIA y ELISA mostraron alta especificidad (≈90%) y baja sensibilidad (≈20-30%), con menor rendimiento global (AUC≈0,60). La concordancia entre técnicas para anti-ATPasa fue moderada-alta, destacando un 94% de concordancia entre FEIA-ELISA-Euroimmun y 87% entre FEIA-IFI. Mientras que la concordancia entre técnicas para anti-FI fue del 94%. No se obtuvieron diferencias significativas entre métodos ($p>0,05$).

Conclusiones: La IFI mostró mayor capacidad discriminativa para anti-ATPasa, pero no detecta anticuerpos anti-FI y requiere confirmación mediante técnicas alternativas en determinadas situaciones. Como alternativa a la IFI, estos resultados apoyan el uso de FEIA-anti-ATPasa como cribado inicial complementado con la determinación de anti-FI por cualquiera de los métodos estudiados en pacientes con alta sospecha clínica.

Utilidad diagnóstica de los niveles elevados de IgG4 sérica y marcadores asociados en la enfermedad relacionada con IgG4

Cristina de Gracia Requena Cabezas. Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz. Servicio de Inmunología. Sección de Biología Molecular, Inmunoquímica y Serología.
Ángel Luis Castaño Núñez. Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz. Servicio de Inmunología. Sección de Biología Molecular, Inmunoquímica y Serología.
José Luis Santiago Álvarez. Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz. Servicio de Inmunología. Sección de Biología Molecular, Inmunoquímica y Serología.
Mario Martínez Clemente. Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz. Servicio de Análisis Clínicos.
Eva María Mula Miñarro. Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz. Servicio de Análisis Clínicos.

INTRODUCCIÓN. La enfermedad relacionada con IgG4 (IgG4-ER) es una patología fibroinflamatoria inmunomediada, de diagnóstico complejo, que puede afectar a múltiples órganos, y enmascararse con neoplasias, infecciones y otras enfermedades inmunomediadas. La determinación de IgG4 sérica es útil, pero puede encontrarse elevada en otras múltiples condiciones. El objetivo de este estudio fue evaluar la determinación de los niveles séricos de IgG4, la ratio IgG4/IgG y otros marcadores de IgG4-ER en pacientes con IgG4 muy elevada.

MÉTODOS. Estudio observacional y retrospectivo. El criterio de inclusión fue tener una determinación de IgG4 superior a 3,5 veces el valor superior de referencia (VR=430 mg/dl), desde 2016 hasta la actualidad, en pacientes de cuatro Hospitales de la Comunidad de Madrid. Tras revisión de historia clínica, se dividieron en Diagnosticados (D), Compatibles (C: sospecha clínica y/o afectación orgánica sugerente, sin confirmar), y No-IgG4ER (N).
RESULTADOS. Los datos demográficos y analíticos de los tres grupos se adjuntan en una tabla a parte. El grupo D presentó mayor elevación de IgG4 y una superior ratio IgG4/IgG que el grupo N ($p<0,05$), así como un mayor % de pacientes con IgG4>5*VR que los grupos C y N ($p<0,05$). Eosinófilos y PCR no presentaron diferencias significativas entre los grupos, mientras que si resultaron para VSG (Grupo D menor valor) e IgE (Grupo D más elevado). Sólo el grupo D presentó el Ratio H/M acorde a lo reportado en otros estudios.

CONCLUSIÓN. Estos datos sugieren que cuanto mayor sea el nivel de IgG4 sérica más probabilidades existen de que se trate de una ER-IgG4. Por otro lado, marcadores propuestos como nivel de eosinófilos e IgE fueron superiores. En conjunto, los niveles de IgG4 elevados resultaron muy útiles para orientar el diagnóstico y/o iniciar el tratamiento en aquellos casos con clínica y evidencia compatible.

Tabla 1: Datos demográficos y analíticos

Grupo(n)	D (28)	C (15)	N (32)
ratio H/M	1,71/1	1/2,75	1/1,13
edad	60 ± 18	54 ± 20	56 ± 19
media IgG4 (mg/dl)	740*	719	422*
mediana IgG4	550	387	352
IgG4 >5*VR (%)	71,4	46,6	31,2
IgG4/IgG	0,32*	0,34*	0,23*
eosinófilos (*1000/µl)	0,50	0,39	0,47
Media IgE (n) (mg/dl)	1232(8)*	370 (5)*	496 (7)*
PCR (mg/dl)	1,22	1,06	2,54
VSG (mm/h)	39,7*	40	44,9*

*p<0,05

Tabla 1.

DRESS en paciente polimedicado con mieloma múltiple: aportación del test de transformación linfocitaria al estudio de la causalidad farmacológica

Martí Lucena Pérez-Villegas (1), Fiorela Cinthia Dueñas López (2), Natalia Grano de Oro Sevillano (1), Vicent Ribas Macías (1), Daniela Aguilar Concepción (1), Daniel Rodríguez-Osorio Vegas (1), Elena Ramírez García (2) y Ana Martínez Feito (1)

(1) Unidad de Inmunología, Hospital Universitario La Paz, Madrid
(2) Unidad de Farmacología Clínica, Hospital Universitario La Paz, Madrid

INTRODUCCIÓN. La identificación del fármaco responsable de las reacciones adversas puede resultar compleja en pacientes polimedicados. El test de transformación linfocitaria (TTL) es una herramienta que detecta la proliferación de linfocitos T de memoria específicos frente a fármacos, siendo útil en el diagnóstico de reacciones de hipersensibilidad retardada. En pacientes que reciben múltiples tratamientos, el TTL puede contribuir a identificar el agente responsable.

OBJETIVOS. Caracterizar mediante TTL la respuesta linfocitaria frente a múltiples fármacos en un paciente con síndrome de DRESS (Drug Reaction with Eosinophilia and Systemic Symptoms) y explorar su utilidad en la evaluación de causalidad de reacciones de hipersensibilidad asociadas a anticuerpos monoclonales.

MATERIALES Y MÉTODOS. Varón de 64 años con mieloma múltiple que inició tratamiento según esquema DVRd. Durante el primer ciclo desarrolló un cuadro compatible con DRESS, con daratumumab como principal sospechoso tras evaluación de causalidad. Tras su suspensión cautelar y tratamiento con corticoides, continuó tratamiento y posteriormente presentó toxicidad hepática y pancitopenia grave, con posible implicación de lenalidomida y bortezomib. En este contexto, se realizó TTL frente a diferentes concentraciones de daratumumab, lenalidomida, bortezomib, alopurinol y metamizol.

RESULTADOS. El TTL fue positivo frente a daratumumab (índice de estimulación [IE]=33,8) y lenalidomida (IE=2,3), y negativo frente al resto (IE≤2). La respuesta a daratumumab apoyó su implicación en el DRESS, mientras que la respuesta a lenalidomida sugirió sensibilización específica en el contexto de la pancitopenia grave. En consecuencia, se estableció contraindicación absoluta para ambos fármacos, sin recurrencia del DRESS tras la suspensión de daratumumab.

CONCLUSIONES. El TTL identificó una respuesta linfocitaria específica frente a daratumumab, respaldando su asociación con el DRESS, y aportó evidencia de un mecanismo inmunológico en la toxicidad hematológica asociada a lenalidomida. Este caso ilustra la utilidad del TTL como herramienta complementaria en el estudio de reacciones de hipersensibilidad en pacientes con tratamientos farmacológicos complejos, incluyendo aquellas asociadas a anticuerpos monoclonales.

El receptor del complemento CR2/CD21 como biomarcador pronóstico en la neumonía adquirida en la comunidad.

Andrea Hoyos Domingo (Hospital Universitario La Princesa, Madrid, España)
Eva González González (Hospital Universitario La Princesa, Madrid, España)
Ana Salvador Rodríguez (Hospital Universitario La Princesa, Madrid, España)
Ana Rodríguez Revillas (Hospital Universitario La Princesa, Madrid, España)
Victoria Gutiérrez Gómez-Lus (Hospital Universitario La Princesa, Madrid, España)
Eva María Fernández Bermejo (Hospital Universitario La Princesa, Madrid, España)
Mª Dolores Rodriguez Huerta (Hospital Universitario La Princesa, Madrid, España) Rosa Andreu-Martínez (Hospital Universitario La Princesa, Madrid, España)
José María Eiros-Bachiller (Hospital Universitario La Princesa, Madrid, España) Nuria Montes Casado (Hospital Universitario La Princesa, Madrid, España) Elena Fernández-Ruiz (Hospital Universitario La Princesa, Madrid, España) Emilia Roy Vallejo (Hospital Universitario La Princesa, Madrid, España)
Ana Marcos-Jiménez (Hospital Universitario La Princesa, Madrid, España)

Introducción / Objetivos. La neumonía adquirida en la comunidad (NAC) es la principal causa de mortalidad por infecciones en España, y tanto la estratificación temprana del riesgo como la predicción del desenlace clínico siguen siendo un desafío. Considerando que el CD21 (receptor del complemento tipo 2), juega un papel crucial en la respuesta inmunitaria adaptativa, el objetivo de este estudio es analizar la expresión de CD21 en células B como biomarcador de gravedad en pacientes hospitalizados por NAC.

Materiales y Métodos. Estudio observacional, analítico y prospectivo que incluyó pacientes ingresados por NAC y controles sanos. Se recogieron variables clínicas y se analizaron distintas subpoblaciones celulares al ingreso mediante citometría de flujo, con especial interés en la expresión de CD21 en linfocitos B (cuantificando la mediana de intensidad de fluorescencia o MeFI). Los factores asociados al requerimiento máximo de oxigenoterapia (variable principal) se identificaron mediante regresión logística ordinal multivariante.

Resultados. Se incluyeron 188 pacientes (53% hombres) y 40 controles sanos (40% hombres). Los pacientes presentaron una expresión de CD21 al ingreso significativamente menor que los controles sanos, y además disminuyó progresivamente con el aumento del soporte ventilatorio (Tabla 1 y Figura 1). En el análisis multivariante, una mayor expresión de CD21 y la SaFiO2 (relación entre la saturación de oxígeno y la fracción inspirada de oxígeno) al ingreso se asociaron con un menor requerimiento de oxigenoterapia. Por el contrario, la dislipemia y un mayor porcentaje de linfocitos B se identificaron como factores de riesgo para la necesidad de mayor soporte respiratorio (Tabla 2).

Conclusiones. Nuestros datos preliminares muestran que la disminución de la expresión de CD21 al ingreso se asocia con la oxigenoterapia máxima requerida, lo que sugiere la utilidad de esta molécula como un biomarcador pronóstico temprano del riesgo en pacientes hospitalizados por NAC.

El receptor del complemento CR2/CD21 como biomarcador pronóstico en la neumonía adquirida en la comunidad.

Variable	Controles sanos (N=40)	Pacientes NAC (N=188)	<2 L (n=56)	2 L (n=56)	3–5 L (n=53)	VMK (n=17)	GNAF/VMNI (n=6)	p-valor
Edad	50 [27, 64,5]	80 [66, 88]	74 [54, 85]	80 [63, 88]	83 [75, 90]	83 [73, 88]	63,5 [39, 73]	0,0218
Sexo (masculino)	16 (40 %)	100 (53 %)	33	34	18	12	3	0,1277
MeFi CD21	3980 [3259, 4108]	2290 [1770, 3063]	2750 [1952, 3208]	2378 [1600, 3253]	2290 [1829, 2926]	1770 [1432, 2375]	1642 [1278, 2001]	< 0,001
Porcentaje de linfocitos B	7,56 [5,895, 9,48]	6,79 [4,08, 12,25]	6,715 [4,08, 9,835]	6,31 [3,73, 13,41]	6,79 [4,33, 12,25]	11,38 [6,13, 16,53]	13,075 [7,1, 21,32]	0,0467
Patologías previas	23 (58 %)	167 (89 %)	42	53	50	16	6	0,009

Tabla 1. Características de controles sanos y pacientes con NAC estratificados por oxigenoterapia. Análisis univariante. Las variables continuas (edad, MeFi CD21, porcentaje de linfocitos B) se expresan como mediana [Q1, Q3]. Las variables cualitativas (sexo, patologías previas) se expresan como recuento absoluto n o porcentaje n (%).

Variable	Edad (> 65 años)	Sexo (masculino)	MeFi CD21	Dislipemia	SaFiO_2 ingreso	Porcentaje de linfocitos B
Odds Ratio	1,29	1,32	0,7	1,69	0,99	1,38
IC 95%	0,62-2,70	0,75-2,34	0,54-0,95	0,95-3,01	0,98-0,99	1,04-1,87
p-valor	0,505	0,335	0,022	0,075	< 0,001	0,03

Tabla 2. Análisis multivariante de regresión logística ordinal de factores asociados al requerimiento de oxigenoterapia. La categoría de referencia para las variables dicotómicas se especifica entre paréntesis.

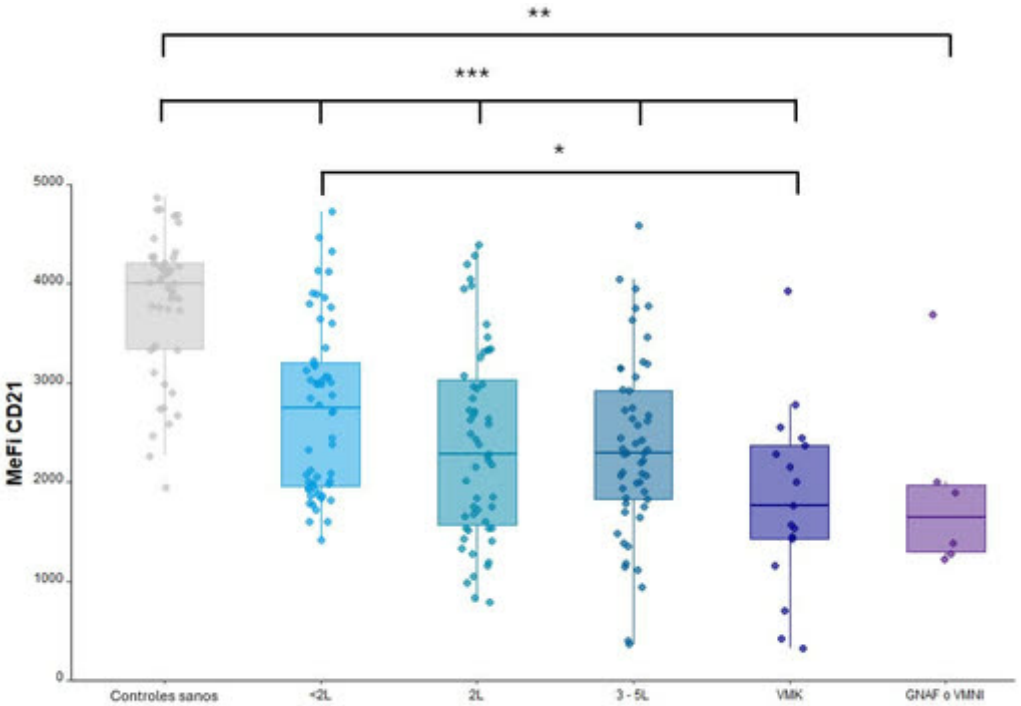


Figura 1. Expresión de CD21 según gravedad. Diagrama de cajas que representa la MeFI de CD21 en controles sanos (n = 58) y en pacientes clasificados según el soporte ventilatorio máximo recibido: <2L (n = 56), 2L (n = 56), 3 - 5L (n = 53), mascarilla Venturi (VMK; n = 17) y gafas nasales de alto flujo o ventilación mecánica no invasiva (GNAF o VMNI; n = 6). Cada punto representa un individuo. Prueba U de Mann-Whitney. *p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001

Increased anti-Nucleocapsid secretory IgA and consumption of complement component 3 in post-COVID syndrome patients

Zhiwen Hai1†, Weihua Yang1† , Azam Ghazi2 , Amalia Buitrago2 , Patricia Marín García3 , Isabel G Azcárate4 , Alba González-Escalada4 , Nineth Rossi1 , Javier Benítez-Cruz1 , Iván Estévez Benito1,5, Agustín Tortajada1,5, José R. Regueiro1,5, José M. Bautista2 , and Narcisa Martinez-Quiles1,*.
1Dept. Immunology, Ophthalmology & ENT, Fac. Medicine, UCM, Madrid, Spain.2Dept. Biochemistry & Molecular Biology, imas12-Hosp. 12 de Octubre, UCM, Madrid, Spain.3Immunology Section, Dept. Medical Specialties & Public Health, URJC, Madrid, Spain. 4Microbiology Section, Dept. Medical Specialties & Public Health, URJC, Madrid, Spain. 5Research Institute Hospital 12 de Octubre (imas12), Madrid, Spain.

Introduction: Post-COVID syndrome (PCS), also known as Long COVID, is a heterogeneous condition characterized by persistent symptoms following acute SARS-CoV-2 infection. Increasing evidence suggests that chronic immune activation, persistent viral antigens, and complement dysregulation contribute to its pathogenesis. However, the interplay between mucosal antibody responses and systemic complement activation in PCS remains unclear.

Methods: Salivary anti-Nucleocapsid (anti-N) secretory IgA (sIgA) and serum complement parameters, including C3, C4, factor B (FB), factor H (FH), total hemolytic activity (CH50), and circulating immune complexes, were measured in PCS patients (n = 104) and COVID-recovered controls (n = 34). Associations between anti-N antibody responses and complement markers were examined, particularly in vaccinated individuals with recent SARS-CoV-2 reinfection. Logistic regression and receiver operating characteristic (ROC) analyses were performed to evaluate the diagnostic utility of identified biomarkers.

Results: PCS patients exhibited significantly elevated salivary anti-N sIgA levels and reduced serum C3 concentrations compared with controls. Although C4 levels showed a downward trend, no significant differences were observed for FB, FH, CH50, or circulating immune complexes. Among recently reinfected, fully vaccinated PCS patients, serum anti-N IgG levels negatively correlated with FH and CH50, suggesting an association between anti-N immune responses and complement consumption. ROC and regression analyses demonstrated that C3 effectively distinguished PCS patients from controls, while the combination of salivary anti-N sIgA and C3 improved classification performance (AUC = 0.93).

Conclusions: Elevated anti-N sIgA together with reduced serum C3 supports the presence of persistent immune activation and complement consumption in PCS. These alterations may be amplified by repeated exposure to SARS-CoV-2 antigens following reinfection. Our findings identify salivary anti-N sIgA and serum C3 as promising candidate biomarkers for PCS diagnosis and monitoring and further highlight complement dysregulation as a potential therapeutic target.

Increased anti-Nucleocapsid secretory IgA and consumption of complement component 3 in post-COVID syndrome patients

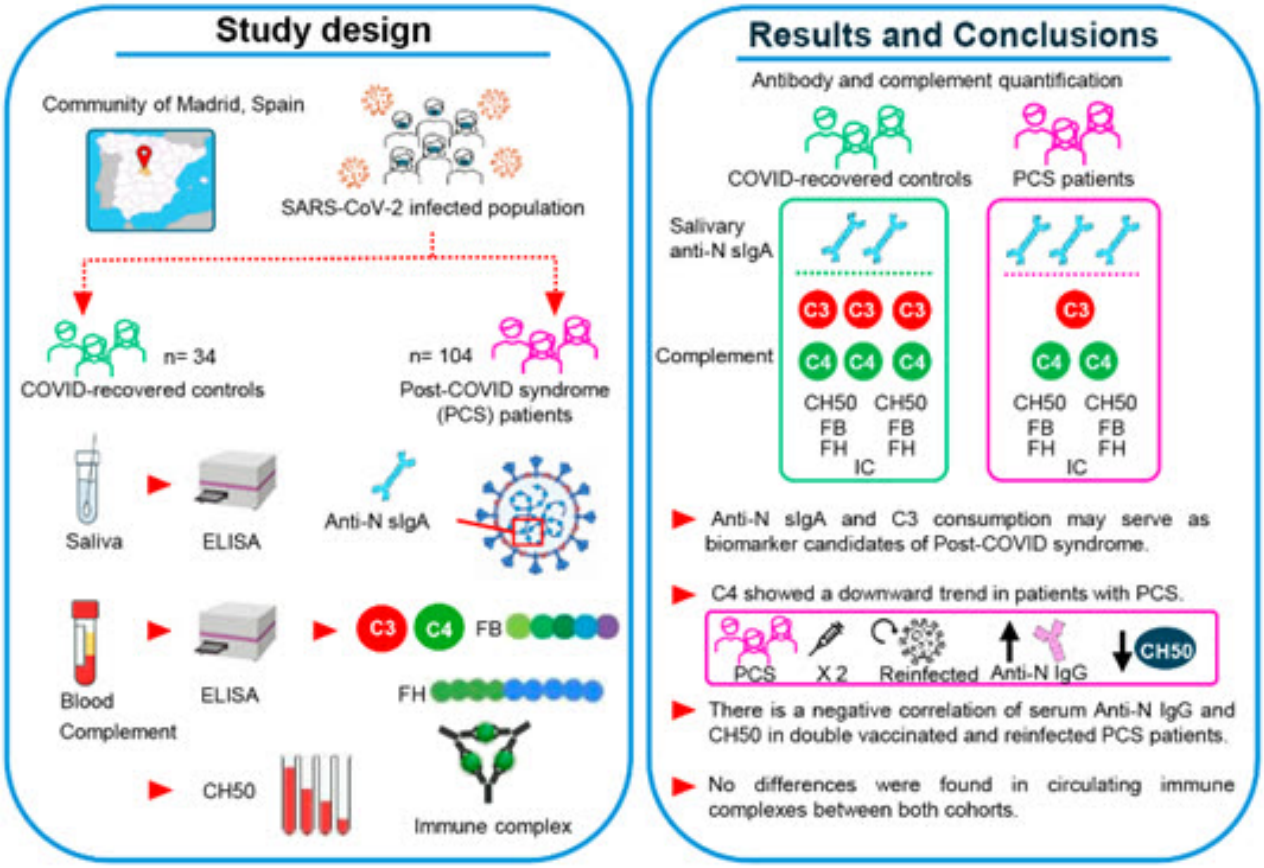


Figura 1.

Altered Spike- and Nucleocapsid-Specific Antibody Patterns in Post-COVID Syndrome

Weihua Yang1, Nineth Rossi1, Javier Benítez-Cruz1, Patricia Marín-García2, Isabel G. Azcárate3, Alba González-Escalada3, Oscar G. Hervás1, Balbino Alarcón4, José R. Regueiro1,5, José M. Bautista6,7 and Narcisa Martínez-Quiles1
1 Department of Immunology, Ophthalmology and ENT, Complutense University School of Medicine, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, Spain.
2 Immunology Section, Faculty of Health Sciences, Department of Medical Specialties and Public Health, Universidad Rey Juan Carlos, Alcorcón, Spain.
3 Microbiology Section, Faculty of Health Sciences, Department of Medical Specialties and Public Health, Universidad Rey Juan Carlos, Alcorcón, Spain.
4 Immune System Development and Function Program, Centro de Biología Molecular Severo Ochoa, CSIC-Universidad Autónoma de Madrid, Cantoblanco, Spain.
5 Research Institute Hospital 12 de Octubre (imas12), Madrid, Spain.
6 Department of Biochemistry and Molecular Biology, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, Spain.
7 Area of Infectious Diseases and AIDS, Research Institute Hospital 12 de Octubre (imas12), Madrid, Spain.

Introduction: PCS involves persistent multisystem symptoms after SARS-CoV-2 infection. Altered immune responses may contribute, but antigen-specific IgG subclass responses remain incompletely understood.

Objectives: To evaluate nucleocapsid, full-length Spike and receptor-binding domain (RBD) antibody responses in PCS and recovered individuals without sequelae and assess associations of vaccination and recent reinfection with IgG subclass patterns.

Materials and Methods: Serum samples from 104 PCS patients, 30 recovered COVID-19 controls and 77 pre-pandemic controls were analyzed. Anti-nucleocapsid IgG was measured by ELISA; full-length Spike-specific total IgG and subclasses by flow cytometry; and RBD-specific IgG1, IgG2 and IgG4 by ELISA. Analyses were stratified by number of vaccine doses and whether reinfection occurred within six months before sampling. A paired subgroup of 36 PCS patients was evaluated at two time points.

Results: PCS samples had higher anti-nucleocapsid IgG but lower full-length Spike-specific total IgG, IgG1, IgG2 and IgG4 than recovered controls. RBD-specific IgG1 was relatively preserved, whereas RBD-specific IgG2 and IgG4 were reduced. Vaccination increased Spike-specific IgG and IgG1 in PCS, particularly after the first dose, but levels generally remained lower than in recovered controls. Among participants with three vaccine doses and recent reinfection, the clearest shift was an increased RBD IgG4/IgG1 ratio. Correlation patterns across full-length Spike and RBD also differed between PCS and recovered controls, suggesting antigen-specific remodeling rather than a uniform reduction in antibody production.

Conclusions: PCS is associated with reduced full-length Spike-specific IgG subclass responses and relatively preserved RBD-specific IgG1. In participants with three vaccine doses and recent reinfection, the RBD IgG4/IgG1 ratio increased. These findings support subclass-aware profiling in future studies of PCS pathogenesis and booster responses.

Altered Spike- and Nucleocapsid-Specific Antibody Patterns in Post-COVID Syndrome

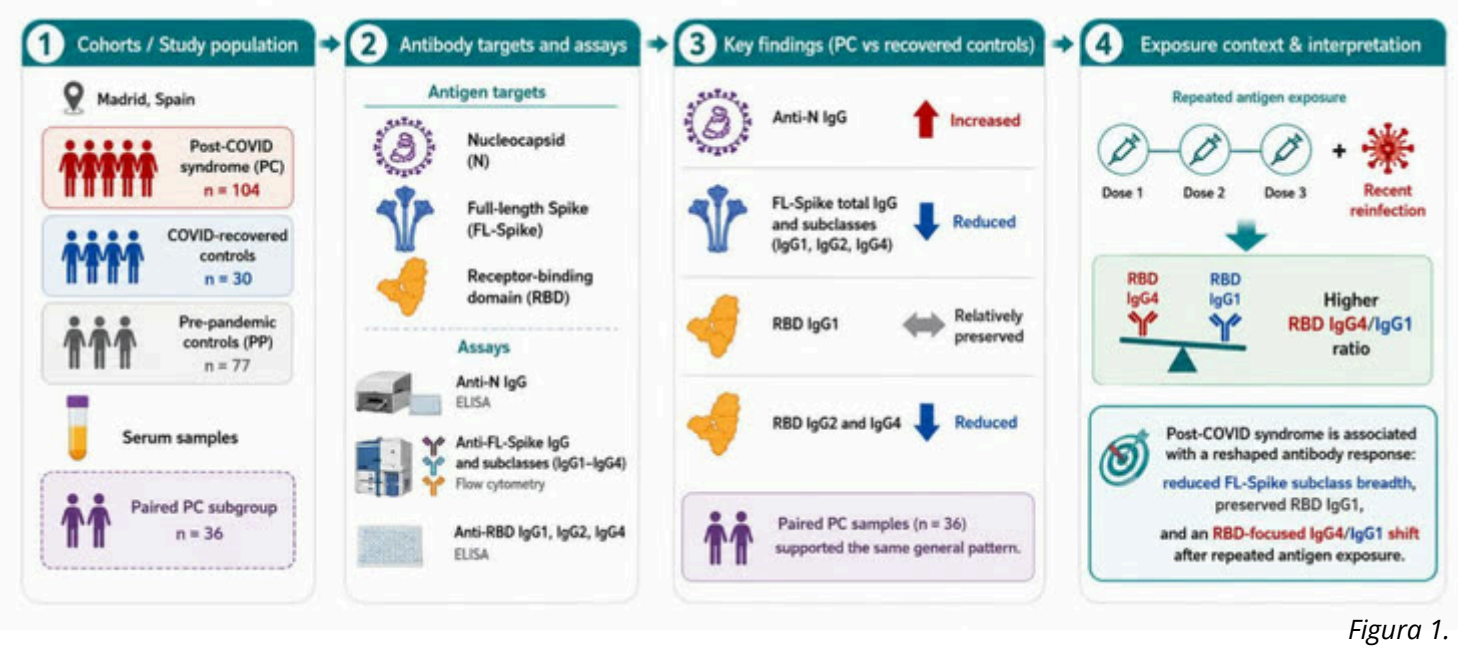


Figura 1.

Leishmaniasis visceral recurrente en una paciente adulta con fenotipo de inmunodeficiencia combinada: a propósito de un caso.

Ferrez Hérnandez Celia, García Barrera Enrique, Dr. Morales Talavera Mario, Garcia de la Torre Iván, Lopez de la Osa Bautista Carlos, Gutiérrez-Ramos Irene, Dr. Mendoza Bravo Daniel Albert,
Hospital Universitario Ramón y Cajal, Hospital Universitario de Badajoz

Introducción. Las inmunodeficiencias de inicio adulto pueden presentar fenotipos clínicos heterogéneos y simular inicialmente inmunodeficiencias predominantemente humorales. La presencia de infecciones oportunistas o inusualmente recurrentes, junto con alteraciones cuantitativas o cualitativas de los compartimentos B y T, debe motivar una evaluación inmunológica profunda.

Objetivo. Describir el fenotipo clínico e inmunológico de una paciente adulta con infecciones oportunistas recurrentes, incluyendo leishmaniasis visceral recurrente, hipogammaglobulinemia y alteración profunda de la maduración B, en ausencia de una alteración genética causal identificada.

Caso clínico. Mujer de 52 años remitida por infecciones recurrentes, clínica articular de 20 años de evolución e hipogammaglobulinemia. Presentó cinco episodios de leishmaniasis visceral por L. infantum entre octubre de 2023 y mayo de 2025, además de candidiasis esofágica e hipertrófica oral, herpes zóster diseminado y diarrea por Campylobacter jejuni y Aeromonas hydrophila. Había recibido prednisona, metotrexato, adalimumab, baricitinib, azatioprina e hidroxicloroquina por sospecha de enfermedad autoinmune. El estudio humoral mostró IgG 383 mg/dL, IgM 9,4 mg/dL e IgA indetectable. Los linfocitos B totales fueron normales, pero con profunda alteración de la diferenciación: células B transicionales 92,4% (tras resolverse Leishmaniasis, el porcentaje de transicionales disminuyó), células B memoria prácticamente ausentes y ausencia de células CD21^low/- y plasmablastos. Los linfocitos T totales fueron normales, con cociente CD4/CD8 invertido (0,9) y disminución de células T CD8+ naïve. El estudio del exoma no identificó variantes causales. Tras iniciar IGIV, presentó mejoría clínica y ausencia de nuevas recurrencias infecciosas.

Conclusión. El fenotipo es compatible con una inmunodeficiencia de inicio adulto con afectación humoral y alteraciones del compartimento T, destacando una profunda alteración de la diferenciación B. La leishmaniasis visceral recurrente sugiere investigar defectos de inmunidad celular frente a patógenos intracelulares. La inmunosupresión farmacológica pudo contribuir a la susceptibilidad infecciosa, pero no explica necesariamente la complejidad del fenotipo inmunológico. El estudio del exoma negativo no excluye una etiología genética.

Inmunofenotipo en sangre periférica 06/08/25

Subpoblación	Resultado	Rango de referencia orientativo*
Linfocitos B totales	13,5 %	~4-20% de linfocitos totales
Linfocitos B transicionales	**92,4% (elevados)**	~1-9% de linfocitos B
Linfocitos B memoria CD27+	Prácticamente indetectables	~15-40% de linfocitos B (memoria total)
Linfocitos B CD21low/-	Indetectables	<2-3% de linfocitos B
Plasmablastos	Indetectables	~0,4-3,6% de linfocitos B
Linfocitos T totales	77,9 %	~60-85% de linfocitos totales
Cociente CD4/CD8	**0,9 (invertido)**	~1,0-2,5
Linfocitos T CD8+ naïve	5%	~30-60% de CD8+ (según edad)
Linfocitos T CD8+ naïve	3,4%	~15-66%

Tabla 1.

Inmunofenotipo en sangre periférica 10/02/26

Subpoblación	Resultado	Rango de referencia orientativo*
Linfocitos B totales	5,3 %	~4-20% de linfocitos totales
Linfocitos B transicionales	9,2%	~1-9% de linfocitos B
Linfocitos B memoria CD27+	0,8%	~15-40% de linfocitos B (memoria total)
Linfocitos B CD21low/-	1.2%	<2-3% de linfocitos B
Plasmablastos	0.7%	~0,4-3,6% de linfocitos B
Linfocitos T totales	86.2%	~64-85% de linfocitos totales
Cociente CD4/CD8	**0,49 (invertido)**	~1,0-2,5
Linfocitos T CD8+ naïve	2,1%	~6-55% de CD8+ (según edad)
Linfocitos T CD8+ naïve	2,1%	~15-66%
Linfocito T reguladores	5.7%	~1-19%

Tabla 2.

Anti-CMV immunoglobulins increase the percentage of CD8 T cells that produce interferon gamma against the CMV IE1 antigen: Concept change in thoracic recipients

Ikram Ezzahouri (1), Irene Algaba (1), Elizabeth Sarmiento (1,2), Rocio Alonso (1), Paulette Walo (1), Ana Vionnet (1), Rosalia Laporta (1), Myriam Aguilar (1), María Teresa Lázaro (1), Carlos Ortiz-Bautista (3), Manuel Gomez Bueno (1), María Alejandra Mejía (3), María del Mar Escudero (1), Javier Carbone (1,3). 1. Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda. 2. Hospital Central de la Defensa. 3. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid.

Cytomegalovirus (CMV) is a common infection in thoracic transplantation (heart or lung). CMV-IVIG has been reported to increase in vitro CD4+ and CD8+ T-cell responses in seronegative and seropositive healthy individuals. We aimed to evaluate the immunomodulatory effect of CMV-IVIG on the functional anti-CMV activity of CD8+ T cells in CMV seronegative thoracic recipients. In a prospective observational multicenter study, the functional activity of CD8+ T cells that produce IFN-gamma was evaluated after stimulation with CMV IE1 peptide.

Studies were performed in peripheral blood mononuclear cells using intracellular cytokine staining by flow cytometry. Patients with IgG CMV negative serology were evaluated at the time of inclusion in the waiting list and after completion of a CMV-IVIG protocol combined with standard of care prophylaxis with antivirals (SOC) or similar time in thoracic recipients that only received SOC prophylaxis. 26 seropositive thoracic transplant controls without infections during the first 3 months after transplantation were also evaluated. These controls used SOC prophylaxis of CMV.

Eleven high risk (Receptor CMV-/Donor CMV+) thoracic recipients received SOC anti-CMV prophilaxis + CMV-IVIG and eleven CMV seronegative recipients received only SOC. CMV-IVIG was associated with a significant increase of CD8+IFN-gamma+ T cells (0,07 to 0,39%, $p<0.001$) while no differences were observed in thoracic recipients using SOC (0,05 to 0.13%, $p=0.13$). In seropositive transplant controls who received SOC there was not a significant increase of anti-CMV specific CD8 responses (0,66 to 0.55%, $p=0.62$). Interestingly up to 15 of these controls disclosed low levels (<0,4%) of CMV specific CD8 immunity at the time of the baseline study before transplantation.

For the first time we demonstrate that CMV-IVIG modulates anti-CMV specific CD8 response. These observations warrants further evaluation in a randomized clinical trial.

Characterisation of a Post-COVID Syndrome Cohort in the Community of Madrid

Javier Benítez de la Cruz1, Nineth Rossi1, Patricia Marín García2, Isabel G. Azcárate3, Alba González-Escalada3, José Ramón Regueiro1, José Manuel Bautista4, and Narcisa Martinez-Quiles1

1 Departamento de Inmunología, Oftalmología y ORL, Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid (UCM), Madrid, Spain.
2 Área de Inmunología, Facultad de Ciencias de la Salud, Departamento de Especialidades Médicas y Salud Pública, Universidad Rey Juan Carlos (URJC), Madrid, Spain.
3 Área de Microbiología, Facultad de Ciencias de la Salud, Departamento de Especialidades Médicas y Salud Pública, Universidad Rey Juan Carlos (URJC), Madrid, Spain.
4 Departamento de Bioquímica y Biología Molecular y Área de Enfermedades Infecciosas y SIDA, Instituto de Investigación imas12, Universidad Complutense de Madrid (UCM), Madrid, Spain.

Introduction: Post-COVID syndrome (PCS) is a persistent multisystem condition that can impair daily functioning after acute SARS-CoV-2 infection. Identifying associated clinical features and symptom changes may improve recognition and follow-up.

Objectives: To identify clinical factors associated with PCS and characterize symptom evolution, focusing on disabling manifestations.

Materials and Methods: We analyzed 104 patients with PCS and 30 individuals who recovered from COVID-19 without persistent sequelae, all recruited in Madrid in 2022. Demographic characteristics, comorbidities, vaccination history, acute infection features and symptoms were compared between groups. Relative risks were estimated, and Mann–Whitney and chi-square tests were used. Symptom frequencies during the acute and post-COVID phases were also compared within the PCS cohort.

Results: The groups were comparable in age, sex distribution and body mass index. Approximately 90% of participants were women, and the mean age was 49 years. Regular medication use, as a proxy for pre-existing comorbidities, was associated with a higher risk of PCS. Pre-vaccination infection, hospitalization during acute infection, and acute-phase fever, dyspnea, fatigue, headache, myalgia, pneumonia, cough and gastrointestinal symptoms were also associated with PCS, whereas not requiring hospitalization was associated with lower risk. Booster vaccination was associated with lower risk, while fewer vaccine doses were more common among patients with PCS. Over time, the clinical profile shifted from respiratory and systemic symptoms during acute infection to persistent fatigue, brain fog, cardiac rhythm-related symptoms and joint pain. Dyspnea and cough became less frequent during the post-COVID phase.

Conclusions: PCS was associated with pre-existing comorbidities, greater acute disease severity, hospitalization and pre-vaccination infection, whereas booster vaccination was associated with lower risk. The shift towards fatigue, cognitive difficulties and musculoskeletal symptoms supports targeted follow-up and multidisciplinary care.

Characterisation of a Post-COVID Syndrome Cohort in the Community of Madrid

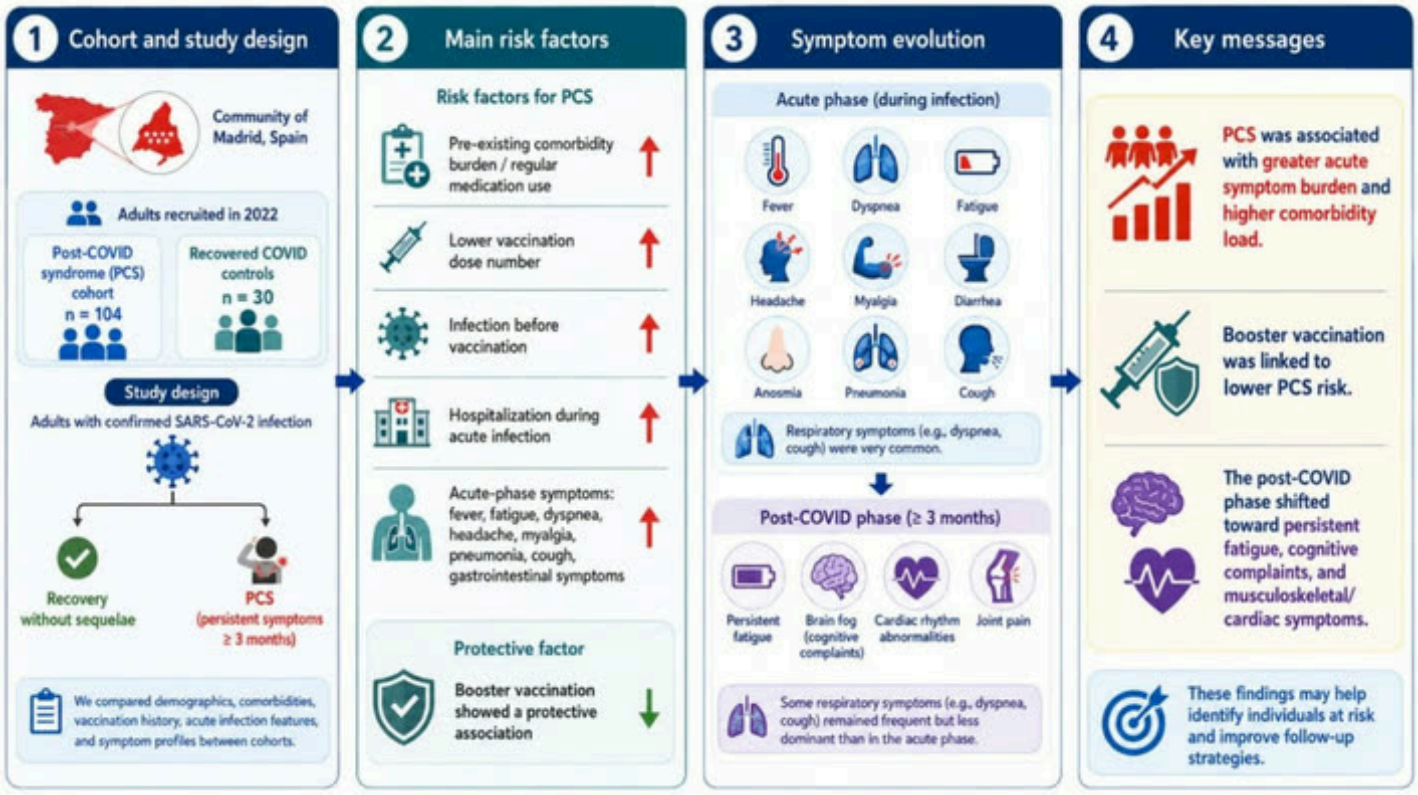


Figura 1.

Caracterización clínica y molecular de la haploinsuficiencia de A20: un caso de expresividad variable intrafamiliar

Maria J Barrero(1,2), Gabriela de Alba(1), Estrella López-Martín(1,2), Gema Gómez-Mariano(1,2), Beatriz Martinez-Delgado(1,2,3), Eva Bermejo(1,2), Marta Martín-Fernández(1,4,5)

(1) Instituto de Investigación de Enfermedades Raras, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, España
(2) Programa de casos sin diagnóstico SpainUDP
(3) CIBER de Enfermedades Raras
(4) CIBER de Enfermedades Infecciosas, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, España
(5) Universidad de Columbia, Nueva York, Estados Unidos

El gen TNFAPI3 codifica la proteína A20, que actúa como enzima editora de ubiquitina y tiene un papel fundamental en inmunomodulación actuando como inhibidor de la vía de NFkB. Las variantes patogénicas en el gen TNFAIP3 causan la haploinsuficiencia de A20 (HA20), un error innato de la inmunidad caracterizado por un amplio espectro de manifestaciones autoinflamatorias y una marcada variabilidad clínica.

Describimos el caso de una paciente con un fenotipo inflamatorio sistémico de predominio gastrointestinal y respuesta insuficiente a los tratamientos convencionales. Además, presentó manifestaciones como celulitis necrotizante, estomatitis aftosa, pioderma gangrenoso en la pared abdominal, bronquiectasias, y fiebre recurrente, todo ello indicativo de enfermedad autoinflamatoria sistémica. Mediante la secuenciación del genoma completo, se detectó la variante p.Thr647Pro (c.1939A>C) de herencia materna en el gen TNFAIP3. Las herramientas in silico predicen que es una variante potencialmente patogénica (CADD = 9.64; MSC_CADD = 3.13) y una frecuencia alélica muy baja (MAF = 0.001999, Gnomad v4). Se realizó un análisis transcriptómico en muestras de sangre total, que evidenció un aumento en la expresión de genes implicados en la inmunidad innata y en la señalización mediada por receptores tipo Toll (TLRs). Tanto la vía de IFNɣ, como la de TNFα, se encuentran igualmente aumentadas. El análisis de conectividad transcriptómica identificó la inhibición de JAK1/2 como una de las estrategias potencialmente capaces de revertir esta firma inflamatoria. En este contexto, la paciente fue tratada con baricitinib, un inhibidor de JAK1/2, con una buena respuesta clínica.

La ausencia de manifestaciones clínicas relevantes en la madre portadora pone de manifiesto la complejidad de la relación genotipo-fenotipo y la posible penetrancia incompleta de HA20. La caracterización molecular permitió identificar una firma inflamatoria y una vía terapéutica potencialmente relevante, poniendo en valor los estudios transcriptómicos para orientar estrategias terapéuticas en pacientes con HA20 y expresión clínica variable.

High-dimensional spectral flow cytometry profiling reveals systemic immune dysregulation in pediatric patients with cystic fibrosis

Laura Bravo-Robles1,2, Pablo Mata-Martínez1,2, Gülce Bıçakcıoğlu1,2, Laura Hurtado-Navarro1,3, Olivia Fernández-Medina4, Paula Almellones-Araiz4, Luna Minute1,2, Verónica Terrón1,3, Jaime Fernández1,2, Eduardo López-Collazo1,3,5,6,7, Cristina de Manuel Gómez8, Marta Ruiz de Valbuena Maiz8, Cristina Calvo9, Carlos del Fresno1,2

1 The Innate Immune Response Group, IdiPAZ, La Paz University Hospital, Madrid, Spain
2 Immunomodulation Laboratory, IdiPAZ, La Paz University Hospital, Madrid, Spain
3 Tumor Immunology Laboratory, IdiPAZ, La Paz University Hospital, Madrid, Spain
4 Department of Obstetrics and Gynecology, Endometriosis Unit, La Paz University Hospital, Madrid, Spain.
5 Pediatric, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain
6 UNIE University, Madrid, Spain
7 Biobank Platform, IdiPAZ, La Paz University Hospital, Madrid, Spain.
8 Neumología Pediátrica, La Paz University Hospital, Madrid, Spain
9 Pediatría Hospitalaria, La Paz University Hospital, Madrid, Spain

Background: Cystic fibrosis (CF) is a rare, life-limiting genetic disorder affecting 1 in 5000 newborns in Spain. CF arises from mutations that disrupt or abolish Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR) protein function. The lungs are most severely affected due to thick mucus that impairs mucociliary clearance, leading to a self-perpetuating cycle of infection and inflammation. CFTR modulators have improved protein function and quality of life, but airway inflammation often persists, and their effect on immune-mediated inflammation remains unclear. Children with CF also exhibit intrinsic innate immune abnormalities; innate cells may be developmentally immature or functionally impaired, reducing bacterial clearance and promoting chronic inflammation from early life. Understanding these early immune alterations is crucial for novel therapies.

Methodology: In this study, we evaluated the immunological profile of circulating immune cells in pediatric patients with CF. Using 1mL of peripheral blood from pediatric patients followed at La Paz University Hospital, we performed a comprehensive immunophenotyping with a 37-color full-spectrum flow cytometry panel designed for this study, rendering 371 immunological variables per patient. This panel assesses lineage, activation, and immune checkpoints (ICs) across T and B lymphocytes, NK and NKT cells, monocytes, dendritic cells, neutrophils, and myeloid-derived suppressor cells (MDSCs)

Results and conclusion: Comparison with healthy donors identified over 50 immune parameters that differed significantly in pediatric CF patients, as well as differences between patients based on their clinical context (CFTR modulators, chronic infections). Therefore, these spectral cytometry analyses distinguish pediatric CF patients from healthy children at the systemic level, revealing immune features that reflect clinically relevant aspects of disease. In addition, differences were identified among patients according to their clinical profiles, highlighting the heterogeneity of immune alterations across different clinical contexts. This work provides the foundation for future translational and therapeutic studies.

Expandiendo el espectro clínico de las alteraciones en HCK: caracterización de una nueva variante asociada a autoinflamación

Gabriela de Alba1, Sofija Buta-Panov2, Dusan Bogunovic2, Marta Martín-Fernández1,2,3

1 Instituto de Investigación de Enfermedades Raras, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, España
2 Universidad de Columbia, Nueva York, Estados Unidos
3 CIBER de Enfermedades Infecciosas, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, España

Los errores innatos de la inmunidad son trastornos genéticos caracterizados por distintos grados de desregulación del sistema inmunitario, que pueden manifestarse como inmunodeficiencia, autoinmunidad o autoinflamación.

En este trabajo describimos el caso de un paciente con autoinflamación severa (eosinofilia, artritis, inflamación cutánea, vasculitis). Se llevó a cabo la secuenciación del Exoma Completo (WES), que reveló la existencia de una mutación de novo en el gen HCK (c.403C>T; p.Arg135Cys). Estudios in silico, predicen que esta variante es patogénica (MAF = 5.33 x10-5; CADD = 22.1; SIFT = 0.01) y que afecta a un residuo localizado en el dominio SH2, que compromete la interacción SH1-SH2, y afecta a la estructura de la proteína.

HCK es una tirosina quinasa de la familia Src que se expresa principalmente en células mieloides y está implicada en múltiples procesos celulares del sistema inmune. Además, está implicada en múltiples rutas de señalización celular.

Hasta la fecha sólo dos pacientes han sido identificados con mutaciones en HCK y un cuadro clínico autoinflamatorio similar al del paciente de nuestro estudio. Sólo uno de ellos ha reportado una buena respuesta a tratamiento con bloqueadores de IL1. El inmunofenotipado detallado de sangre periférica del paciente portador de la variante R135C mostró una marcada expansión de granulocitos, principalmente neutrófilos, junto con una reducción de eosinófilos y de las poblaciones de células B, tanto naïve como de memoria. Asimismo, se observaron alteraciones en distintas subpoblaciones de células NK y T. Además, pudimos apreciar una activación basal de distintas vías de señalización mediadas por JAKs y STATs.

Todos estos resultados apoyan que la variante R135C en HCK es causante de la enfermedad autoinflamatoria observada en el paciente. Estudios funcionales de esta variante y de las descritas anteriormente permitirán un mejor conocimiento de este regulador del sistema inmune, con el fin de conseguir un tratamiento adecuado de los pacientes portadores de variantes en HCK.

Discriminación diagnóstica y estratificación fenotípica de la respuesta humoral vacunal en pacientes con inmunodeficiencia primaria y secundaria

Blanca García López[1], Carlos Blanco Velázquez[2], Helena Vidakovic[2], Jose Reynaldo Homen Fernández[1], Ana Isabel Ramos Lisbona[1], Eduardo de la Fuente[1], Miguel Fernández Arquero[1 3], Julio Ángel Mayol Martínez[3 4], María Guzmán Fulgencio[1], Silvia Sánchez-Ramón[1 3 4]
[1]Servicio de Inmunologia, Hospital Clínico San Carlos, Madrid, España
[2]Unidad de Innovación, Instituto de Investigación Sanitaria San Carlos, Madrid, España.
[3] Instituto de Investigación Sanitaria San Carlos (IdISSC).
[4]Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid, España.

Introducción: La respuesta humoral frente a antígenos T-dependientes (toxoide tetánico, TT) y T-independientes polisacáridos (Salmonella Typhi Vi; neumococo, PCP) constituye un biomarcador funcional de competencia inmunológica en pacientes con inmunodeficiencia primaria (IDP) y secundaria (IDS).

Objetivos: Evaluar la capacidad discriminativa de los títulos post-vacunales frente a estos tres antígenos mediante curvas ROC y, de forma complementaria, caracterizar los fenotipos de respuesta vacunal mediante clustering no supervisado.

Material y métodos: En un estudio retrospectivo de una cohorte de 540 pacientes (PNI, IDP, IDS) se generaron curvas ROC (criterio de Youden) para TT, Typhi Vi y PCP post-vacunales, discriminando PNI frente a IDP+IDS. En paralelo, se aplicó K-means (K=3) sobre el panel de variables de respuesta vacunal, comparando los clústeres mediante test de Kolmogorov-Smirnov con corrección FDR.

Resultados: El mejor rendimiento correspondió a Typhi Vi (AUC 0,752; IC95% 0,707–0,796; corte 24,9 U/mL; sensibilidad 55,0%, especificidad 87,9%), seguido de PCP (AUC 0,697; IC95% 0,650–0,744; corte 18,2 U/mL; sensibilidad 51,0%, especificidad 82,2%) y TT (AUC 0,683; IC95% 0,634–0,732; corte 2,35 U/mL; sensibilidad 56,7%, especificidad 78,0%). El clustering identificó tres fenotipos: uno mayoritario de buena respuesta (n=374, 69%), uno intermedio (n=128, 24%) y un subgrupo minoritario (n=38, 7%) de mayor edad, peor respuesta a los tres antígenos e inmunofenotipo B aberrante (CD19+ 63% frente a ~11% en el resto). Las diferencias entre fenotipos fueron altamente significativas (p ajustada <0,001).

Conclusiones: Este estudio establece puntos de corte diagnósticos frente a TT, Typhi Vi y PCP en una cohorte sensiblemente más amplia que las series publicadas hasta la fecha para este propósito, lo que podría permitir en la práctica clínica una discriminación más precisa entre pacientes con respuesta vacunal adecuada y aquellos con fallo de respuesta. El clustering no supervisado, convergente con el análisis ROC, identifica además un subgrupo con inmunofenotipo B distintivo y fallo vacunal marcado, reforzando el valor de ambos abordajes como herramientas complementarias de estratificación inmunológica.

Nueva variante p.Gly91Asp EN CD8A: caracterización inmunológica y funcional de un caso de deficiencia congénita de CD8.

Dueñas-Prieto, Lucía1; Ripollés-Yuba, Cristina2; Nieto-López, Celia1,; Alfocea-Molina, Ángel1; Díaz-Madroñero, María J.1; Velasco-Valdazo, Alberto E.3; Anel, Alberto2; Serrano del Castillo, Cristina4; Allende, Luis M.1,5

1. Servicio de Inmunología. Hospital Universitario 12 de Octubre, Instituto de Investigación Biomédica del Hospital 12 de Octubre (imas12), Madrid, España.
2. Grupo de Apoptosis, Inmunidad y Cáncer, Universidad de Zaragoza / Instituto de investigación de Aragón, Bioquímica y Biología Molecular y Celular, Zaragoza, España.
3. Servicio de Hematología. Hospital Rey Juan Carlos, Madrid, España.
4. Servicio de Inmunología. Fundación Jiménez Díaz, Madrid, España.
5. Facultad de Medicina. Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España.

INTRODUCCIÓN: La deficiencia de CD8 es una inmunodeficiencia primaria autosómica recesiva muy poco frecuente, caracterizada por la ausencia completa de linfocitos T CD8+ en sangre periférica. La mayoría de los casos descritos presentan la variante homocigota p.Gly111Ser en CD8A, que codifica la cadena α del correceptor CD8. Esta variante, asociada a un efecto fundador en la población romaní ibérica, altera la expresión de CD8α en superficie por defectos en su procesamiento y tráfico intracelular. Los casos descritos hasta la fecha se caracterizan clínicamente por infecciones respiratorias recurrentes.

OBJETIVOS: Caracterización del fenotipo clínico, inmunológico y funcional de una paciente caucásica de 86 años portadora de una nueva variante homocigota en CD8A (p.Gly91Asp).

MATERIALES Y MÉTODOS: Se realizó secuenciación masiva (NGS) con posterior confirmación por Sanger. Se evaluó la inmunidad humoral y se realizaron estudios inmunofenotípicos y funcionales mediante citometría de flujo.

RESULTADOS: La paciente presentó como antecedentes clínicos lupus cutáneo y linfoma B MALT, sin infecciones oportunistas. El inmunofenotipo mostró ausencia completa de células T CD8+ y expansión de células T doble negativas (DNT; CD4−CD8−, TCR αβ), superiores a los controles sanos. No se detectó expresión intracelular de CD8α. Las DNT mostraron un fenotipo activado, efector y senescente. Presentaron proliferación subóptima, incluso superior a la descrita en los casos previamente publicados. Tanto las DNT como las células NK conservaron capacidad citotóxica, a diferencia de los casos con p.Gly111Ser. Además, las DNT respondieron a péptidos virales, evidenciando función parcialmente preservada pese a la ausencia de CD8.

CONCLUSIONES: La variante p.Gly91Asp en CD8A se asocia con ausencia de expresión de CD8 y expansión de DNT. La función efectora preservada sugiere un impacto clínico limitado y revela un perfil clínico y funcional distinto al descrito en la deficiencia clásica de CD8. Se requieren estudios adicionales.

Anticuerpos anti-Saccharomyces cerevisiae (ASCA) como potencial biomarcador en la Enfermedad Granulomatosa Crónica.

Natalia Grano de oro Sevillano1, Daniela Aguilar Concepción1, Martí Lucena Pérez-Villegas1, Vicent Ribas Macías1, Pilar Nozal Aranda1, Carla Gianelli1, Luz Yadira Bravo Gallego1, Rebeca Rodríguez Pena1, María Bravo García Morato1, Eduardo López Granados1, Carmen Cámara Hijón1.

1 Departamento de Inmunología, Hospital Universitario La Paz, Madrid, España.

Introducción: La enfermedad granulomatosa crónica (EGC) es una inmunodeficiencia primaria causada por defectos del complejo NADPH oxidasa, asociada a elevada morbilidad infecciosa e inflamatoria. La inflamación intestinal constituye una de sus complicaciones más graves y frecuentes (hasta en un 62,1%). Los anticuerpos anti-Saccharomyces cerevisiae (ASCA), asociados clásicamente a enfermedad inflamatoria intestinal (EII), también se han descrito en pacientes con EGC, aunque su utilidad diagnóstica en esta enfermedad no está establecida.

Objetivo: El objetivo fue evaluar su potencial como biomarcador de EGC.

Materiales y métodos: Se realizó un estudio retrospectivo de 40 pacientes con EGC, determinando ASCA-IgA e IgG al diagnóstico y tras el trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH), utilizando como población control 40 pacientes con EII pareados por edad y sexo. Los títulos se compararon mediante Mann-Whitney U bilateral.

Resultados: 39/40 pacientes con EGC (97,5%) presentaron ASCA positivos, siendo el único paciente negativo portador de variante en CYBB. Los 6 pacientes que desarrollaron inflamación intestinal no mostraron diferencias relevantes en los títulos ni en el isotipo de ASCA. En cambio, los títulos fueron significativamente superiores en EGC que en EII, tanto para IgA (mediana 297,5 vs. 15,15; p=0,00029) como para IgG (131,5 vs. 28,6; p=0,000115). Por último, tras el TPH, 5/8 pacientes (62,5%) mantuvieron la positividad de los anticuerpos.

Conclusiones: Por tanto, nuestros resultados presentan a los títulos elevados de ASCA como biomarcador de EGC, en presencia de anamnesis compatible. Su presencia parece, además, independiente de la presencia de inflamación activa, al persistir en la mayoría de los pacientes a pesar del TPH exitoso.

Eritroblastopenia grave por parvovirus B19 como presentación de una alteración de IKZF1 asociada a desregulación inmunitaria

María Dolores Mansilla1, Miguel Fernández- Arquero 1, Silvia Sánchez- Ramón 1, Lucía Lacruz Pérez 2
1- Hospital Clínico San Carlos, Servicio Inmunología Clínica.Madrid.
2- Hospital Universitario Politécnico La Fe. Servicio Reumatología Infantil. Valencia.

Introducción y objetivos. Las variantes patogénicas en IKZF1 se asocian a errores congénitos de la inmunidad caracterizados por alteraciones de la homeostasis del sistema inmune, inmunodeficiencia y, en algunos pacientes, fenómenos de desregulación y autoinmunidad. Las infecciones virales pueden actuar como desencadenantes de manifestaciones inmunológicas graves en estos pacientes. Presentamos el caso de una paciente pediátrica con una variante patogénica en IKZF1 que desarrolló eritroblastopenia grave asociada a infección por parvovirus B19 y posteriormente manifestaciones autoinmunes y trombóticas.

Materiales y Métodos. Niña de 10 años ingresada por anemia grave (hemoglobina 2,3 g/dl), leucopenia y trombocitopenia. El estudio de médula ósea mostró hallazgos compatibles con eritroblastopenia y se confirmó infección aguda por parvovirus B19, con una carga viral de 13.400.000 UI/ml. Precisó transfusiones y tratamiento inmunomodulador. Ante la persistencia de las citopenias y la aparición de alteraciones inmunológicas, se realizó un estudio inmunológico y genético ampliado.

Resultados. Durante la evolución presentó ANA positivos, hipocomplementemia (C3 y C4 disminuidos), anticoagulante lúpico y anticuerpos anticardiolipina y anti-β2-glicoproteína I. Posteriormente desarrolló una trombosis de los senos venosos cerebrales, con afectación de los senos transversos y sigmoides y de la vena yugular interna, sin lesión parenquimatosa cerebral. El estudio inmunológico mostró deficiencia de IgA y niveles disminuidos de IgG. El estudio genético identificó una variante patogénica heterocigótica en IKZF1, compatible con un error congénito de la inmunidad asociado a inmunodeficiencia y desregulación inmunitaria. El conjunto de hallazgos sugirió un síndrome antifosfolípido en el contexto de una alteración inmunitaria subyacente, manteniéndose la sospecha de enfermedad autoinmune sistémica en evolución. La paciente recibió corticosteroides, inmunoglobulina intravenosa, anticoagulación y micofenolato mofetilo, con evolución clínica favorable y recuperación progresiva de las citopenias.

Conclusiones. La infección por parvovirus B19 puede constituir un desencadenante de manifestaciones hematológicas e inmunológicas graves en pacientes con errores congénitos de la inmunidad. Este caso pone de manifiesto la importancia de considerar una alteración genética subyacente ante la presencia de citopenias persistentes, hipogammaglobulinemia y fenómenos autoinmunes o trombóticos. La identificación de la variante patogénica en IKZF1 permitió establecer el contexto etiopatogénico de la desregulación inmunitaria y orientar el manejo inmunomodulador.

Eritroblastopenia grave por parvovirus B19 como presentación de una alteración de IKZF1 asociada a desregulación inmunitaria

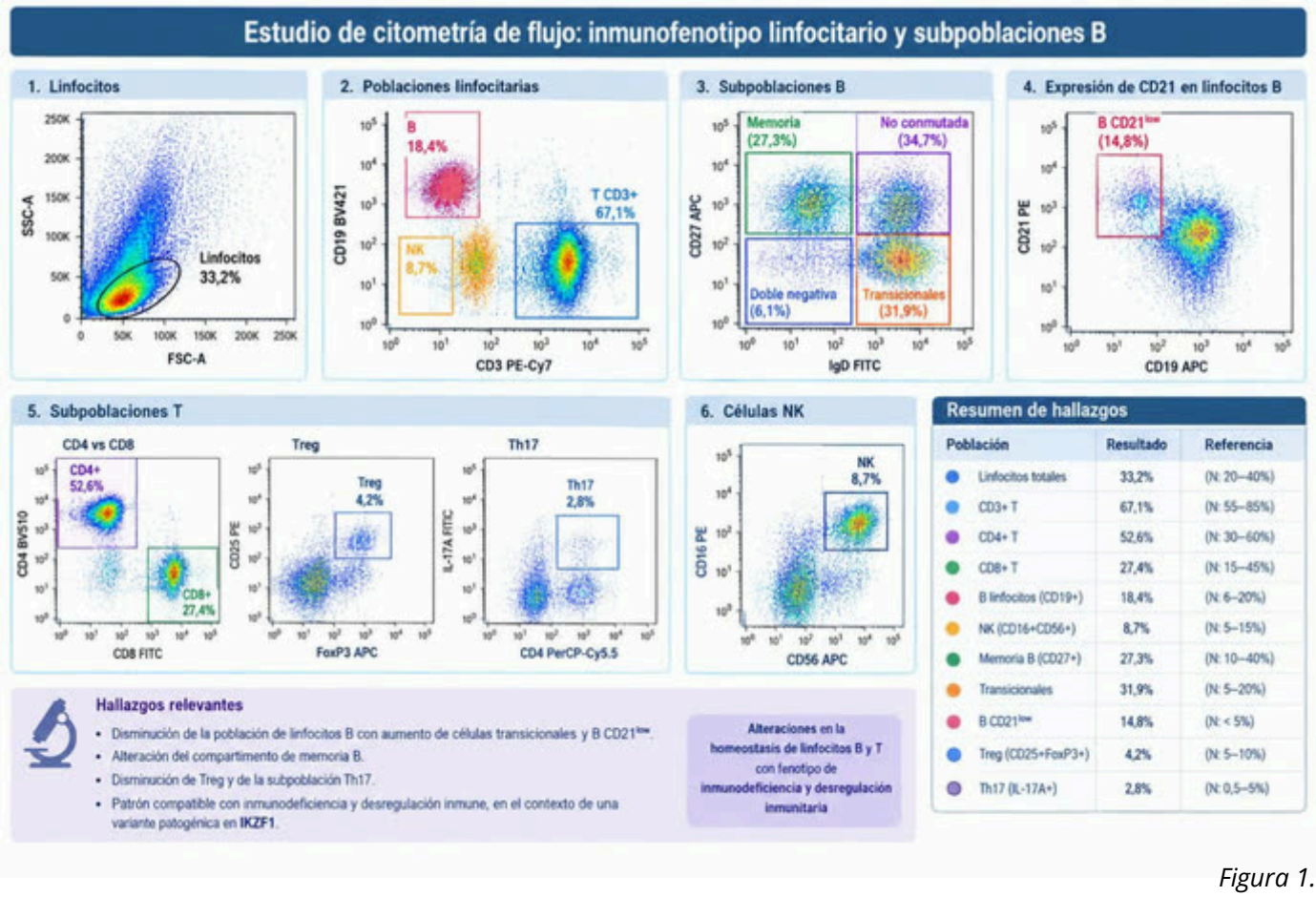


Figura 1.

Subpoblaciones linfocitarias T y B y riesgo de complicaciones no infecciosas en la inmunodeficiencia común variable.

Celia Ferrez Hernández[1], Daniel Albert Mendoza Bravo[2], Margaryta Gurkalo[1], Iván García de la Torre[1], Enrique García Barrera[1], Mario Morales[1], Irene Gutiérrez-Ramos[1], Carlos López de la Osa[1], Ana De Andrés Martín[1].
[1]Hospital Universitario Ramón y Cajal.
[2]Hospital Universitario de Badajoz.

Introducción: La inmunodeficiencia común variable (IDCV) es la inmunodeficiencia primaria sintomática más frecuente y presenta una marcada heterogeneidad clínica. Además de las infecciones recurrentes, los pacientes pueden desarrollar complicaciones no infecciosas —autoinmunidad, enteropatía, trastornos linfoproliferativos y neoplasias hematológicas— que condicionan el pronóstico. La identificación de biomarcadores inmunológicos asociados a estos fenotipos podría contribuir a una mejor estratificación de los pacientes.

Objetivos: Analizar la asociación entre las subpoblaciones linfocitarias T y B y la presencia de complicaciones clínicas específicas en pacientes con IDCV, y explorar su posible utilidad como herramienta de estratificación clínica.

Materiales y métodos: Estudio observacional retrospectivo de 32 pacientes diagnosticados de IDCV. Las subpoblaciones de linfocitos T y B se caracterizaron mediante citometría de flujo multiparamétrica. Se evaluó su asociación con neoplasias hematológicas/trastornos linfoproliferativos (n=6), enteropatía (n=9) y enfermedades autoinmunes (n=7), comparando pacientes afectados y no afectados mediante la prueba U de Mann-Whitney.

Resultados: Los pacientes con neoplasias hematológicas o trastornos linfoproliferativos presentaron una reducción significativa de linfocitos T CD4 naïve (mediana 9,50% frente a 24,45%; p=0,021), con una tendencia concordante en los recuentos absolutos (66,22 frente a 188,10 células/µL; p=0,058). La enteropatía se asoció con porcentajes significativamente menores de linfocitos B memoria con cambio de isotipo (1,05% frente a 6,95%; p=0,031), junto con valores inferiores de B memoria totales (9,80% frente a 17,50%; p=0,097) y B transicionales (0,20% frente a 3,70%; p=0,097), sin alcanzar significación estadística. Los pacientes con autoinmunidad mostraron una tendencia a la expansión de linfocitos B CD21low (29,80% frente a 7,20%; p=0,065).

Conclusiones: Estos hallazgos preliminares sugieren que el inmunofenotipado linfocitario podría ayudar a identificar subgrupos clínicos de IDCV con distintos perfiles de riesgo de complicaciones. Su utilidad como herramienta de estratificación requiere validación en cohortes independientes de mayor tamaño.

Infección por sapovirus en el paciente trasplantado pulmonar: un reto terapéutico.

M.Giammarresi 1, M. Liriano 2, M. Serrano 1, J. Carbone Campoverde 1.

(1)Servicio de Inmunología, Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda, Madrid
(2)Servicio de Inmunología, Hospital Universitario la Princesa, Madrid.

Introducción. La infección por sapovirus humano (HuSaV) constituye una causa emergente de gastroenteritis persistente en pacientes inmunodeprimidos, particularmente en receptores de trasplante de órgano sólido (TOS). A diferencia de los individuos inmunocompetentes, estos pacientes pueden presentar infección prolongada, diarrea crónica y elevada morbilidad. La hipogammaglobulinemia secundaria es frecuente tras el TOS y puede comprometer la respuesta inmunitaria humoral frente a determinados patógenos. En este contexto, la gammaglobulina intravenosa (GGIV) podría desempeñar un papel como estrategia de reconstitución inmunológica.

Objetivo. Describir la evolución clínica de una infección por HuSaV tras la instauración de terapia sustitutiva con GGIV en un receptor de trasplante bipulmonar con hipogammaglobulinemia.

Caso clínico. Varón de 69 años, receptor de trasplante bipulmonar en tratamiento con tacrólimus, micofenolato y prednisona, presentó diarrea de dos meses de evolución y pérdida ponderal de 4 kg. Ingresó con fracaso renal agudo AKIN III (creatinina 5,4 mg/dl; filtrado glomerular estimado 10 ml/min/1,73m²), y acidosis metabólica grave (pH 6,9), requiriendo ingreso en UCI. Se objetivó elevación de los niveles de tacrólimus (15,4 ng/ml). El estudio microbiológico de heces identificó HuSaV. Se documentó hipogammaglobulinemia grave (IgG 352 mg/dl), por lo que se instauró terapia sustitutiva con GGIV, asociada a reconstitución hidroelectrolítica y ajuste de la inmunosupresión. Tras estas intervenciones se observó mejoría clínica progresiva, reconstitución de IgG y con resolución de la diarrea.

Conclusión. La hipogammaglobulinemia podría contribuir a la persistencia de la infección por HuSaV en receptores de TOS. La terapia sustitutiva con GGIV constituye una estrategia potencial de reconstitución inmunológica y podría representar una herramienta terapéutica complementaria en pacientes trasplantados con infección por HuSaV e hipogammaglobulinemia.

Afectación neurológica en la Inmunodeficiencia Variable Común: espectro clínico y retos diagnóstico-terapéuticos

Guadalupe Sophia Rios Damian[1]; Ana Paulina Moncayo Muñoz[1]; Edison Hernan Agila Acurio[1]

[1] Servicio de Inmunología. Hospital General Universitario Gregorio Marañon.

Introducción. La inmunodeficiencia variable común (IDVC) es un trastorno heterogéneo de la inmunidad humoral caracterizado por hipogammaglobulinemia y alteración de la diferenciación de las células B. Además de infecciones recurrentes, algunos pacientes desarrollan complicaciones no infecciosas relacionadas con disregulación inmunitaria. La afectación del sistema nervioso central (SNC) es poco frecuente y las estrategias diagnósticas y terapéuticas son limitadas.

Métodos. Presentamos dos pacientes con IDVC compleja y afectación del SNC.

Caso 1. Varón de 45 años diagnosticado de IDVC en 2017, con infecciones respiratorias recurrentes, enfermedad pulmonar intersticial granulomatosa-linfocítica y linfoproliferación sistémica. En 2018 desarrolló crisis epilépticas. La RM cerebral mostró múltiples lesiones focales frontales, parietales, parietotemporales y occipitales derechas, hipointensas en T1 e hiperintensas en T2. El LCR mostró inicialmente células B aberrantes, posteriormente confirmadas como policlonales tras excluir malignidad. Recibió tratamiento intratecal, posteriormente suspendido, y rituximab, con estabilización clínica y radiológica.

Caso 2. Mujer de 37 años diagnosticada de IDVC en 2011, con citopenias autoinmunes e infecciones respiratorias, víricas, urinarias y gastrointestinales recurrentes. En 2018 presentó cefalea temporal seguida de afasia transitoria. La RM mostró múltiples lesiones de sustancia blanca hiperintensas en T2/FLAIR, con leve efecto de masa. El LCR y la biopsia cerebral mostraron cambios inflamatorios con predominio de células B policlonales, sin evidencia de infección ni malignidad. Fue tratada con corticoides, rituximab y ciclofosfamida, permaneciendo estable con micofenolato mofetilo. Resultados Ambos casos apoyan un proceso inmunomediado del SNC, caracterizado por inflamación con predominio de células B y respuesta a terapias inmunosupresoras y dirigidas frente a células B. Estos hallazgos sugieren mecanismos comunes de disregulación inmunitaria.

Conclusión. Las complicaciones del SNC en la IDVC son poco frecuentes, requieren excluir infección y malignidad y carecen de un manejo estandarizado basado en evidencia sólida. La caracterización inmunológica y el seguimiento multidisciplinar son fundamentales para establecer estrategias terapéuticas individualizadas y optimizar el pronóstico de estos pacientes

Inmunodeficiencia variable común, citopenias autoinmunes y enfermedad granulomatosa, debido a probable herencia oligogénica por variantes en los genes TNFRSF13B e IFIH1. A propósito de un caso.

Morales Talavera, Mario; Gurkalo Stepanova, Margarita; Ferrez Hernández, Celia; Gutiérrez-Ramos, Irene; López de la Osa Bautista, Carlos; García Barrera, Enrique; Martin Fernandez, Leire; De Andrés Martín, Ana.

Hospital Universitario Ramón y Cajal.

Introducción. La inmunodeficiencia variable común representa un diagnóstico "paraguas" debido a su heterogeneidad. El 20-30% tendrá autoinmunidad, siendo la más frecuente las citopenias. Por otra parte, solo cerca del 10% desarrollan granulomas. La caracterización genética permite reclasificar a los pacientes, teniendo implicaciones diagnosticas, terapéuticas y familiares.

Objetivo. Dar a conocer la probable relación entre el curso clínico/inmunológico de un caso de inmunodeficiencia común variable, con probable herencia combinada de variantes en los genes TNFRSF13B e IFIH1.

Caso clínico. Mujer de 42 años, en seguimiento por IgA indetectable e hipogammaglobulinemia IgG, antecedentes de citopenias inmunes refractarias a corticoterapia, mejorando tras esplenectomía. En una biopsia pulmonar, se observó datos de inflamación crónica e inespecífica en parénquima peribronquial e intersticio, además síndrome adénico generalizado, con múltiples nódulos y opacidades seudonodulares pulmonares y renales en TC body. Clínicamente no hacía infecciones de repetición importantes. IgG: 591 mg/dL, IgM: 105 mg/dL e IgA < 7,83 mg/dL, linfocitosis relativa con linfocitos B totales en rango normal, sin embargo, disminución de memoria total, switch y non-switch, plasmablastos disminuidos, pero linfocitos CD21low/CD38- muy aumentados. Linfocitos T CD4+ y CD8+ naive muy disminuidos, con inversión CD4/CD8 y linfocitos T CD4+ > 1500. Estudio de autoinmunidad normal. Estudio genético reportó variante en heterocigosis potencialmente patogénica tipo “missense” en el exón 3 del gen TNFRSF13B y, en heterocigosis variante de significado incierto tipo “splicing” en el intrón 8-9 del gen IFIH1.

Conclusión. El fenotipo clínico no corresponde a su forma clásica, en la que predominan las infecciones recurrentes, siendo más importante la autoinmunidad con enfermedad granulomatosa y linfoproliferacion policlonal. Por otra parte, en inmunodeficiencias primarias con autoinmunidad se ha descrito herencia oligogénica o multifactorial, sin embargo, no se ha reportado un efecto sinérgico entre las variantes descritas y con los conocimientos actuales no podemos descartar el grado de implicación combinado.

Otros

Programa de transición multidisciplinar de inmunología pediátrica a adultos en errores congénitos de la inmunidad: experiencia de 5 años en un hospital de referencia

Castro M., Carlos1,3; Mejía G, M. Alejandra1,3; Quijada M. Patricia2,3; Gil Herrera, Juana1,3; Moncayo M., Paulina1,3; Zambrano I., Gabriela2,3; Sánchez-Mateos R. Paloma1,3; Di Natale, Marisa1,3; Seoane R., Elena2,3.

Filiación:
(1) Servicio de Inmunología, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid, España.
(2) Departamento de Inmunoalergia Infantil, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid, España.
(3) Unidad de Inmunodeficiencias Primarias (Centro Nacional de Referencia para Inmunodeficiencias Primarias - CSUR), Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid, España.

Introducción. La transición de la atención pediátrica a adultos es una fase crítica en pacientes con errores congénitos de la inmunidad (ECI), que requiere un equipo multidisciplinar de niños y adultos para garantizar la continuidad asistencial. Los esfuerzos multidisciplinarios para mejorar el proceso de transición son fundamentales. Evaluamos los resultados de un programa de transición multidisciplinar de 5 años en un hospital de referencia.

Métodos. Estudio descriptivo retrospectivo de 60 pacientes con ECI, transferidos de Inmunología pediátrica a adultos según el protocolo de Transición del CSUR de Inmunodeficiencias, por un período de 5 años. Se analizaron variables demográficas, edad de transición, diagnósticos, rendimiento de pruebas genéticas, esquemas terapéuticos e intervalo de seguimiento post-transición.

Resultados. De los 60 pacientes (56,7% varones, edad media de transición 18,4 años), el 51,7% contaba con estudio genético, identificando alteración citogenética (cariotipo) en el 12,9%, y variantes patogénicas/probablemente patogénicas en el 29,0% de los estudios moleculares. Los diagnósticos predominantes fueron inmunodeficiencia común variable (11,7%), síndrome de DiGeorge (6,7%), déficit selectivo de IgA (5,0%) y fenotipos relacionados con IgE elevada (15,0%), ninguno compatible con síndrome de Hiper-IgE. Se realizó un proceso de transición óptima, manteniendo seguimiento clínico tras la transición en nuestra unidad, con revisiones cada 6-12 meses.

Discusión. Esta cohorte refleja un grupo heterogéneo de pacientes con ECI crónicos y complejos, que requieren seguimiento estructurado a largo plazo. Un modelo de transición multidisciplinar, basado en sesiones clínicas compartidas e idealmente una primera consulta conjunta con el inmunólogo pediátrico y de adultos, garantiza una elevada adherencia al seguimiento y una óptima continuidad asistencial. Con este modelo de transición multidisciplinar, se refuerza la percepción de seguridad y respaldo del paciente. Estos hallazgos destacan la necesidad de programas de transición coordinados y estrategias de seguimiento estandarizadas, para dar respuesta a la heterogeneidad clínica y diagnóstica de los ECI.

Caracterización del perfil inmunológico en una cohorte de pacientes con deficiencia constitucional de reparación de errores de apareamiento (CMMRD)

Ángela Pastor1, Oscar Mesía2, Luis Allende3, Nerea Domínguez-Pinilla4, Vanesa Pérez-Alonso4, Felisa Vázquez5, Serafín Castellano5, Antonio Molinés6, Estela Carrasco7, Anna Llort8, Mara Andrés9, Teresa Tormo9, Luis Robles10, Miguel Soria11, Palma Solano12, Eduardo Quiroga12, Héctor Salvador13, Ana Raquel Jiménez14, Jùlia María Sánchez15, José Manuel Sánchez-Zapardiel1, Beatriz Hidalgo1, Marta Pineda*2, Fátima Marín*2, Luis Ignacio González-Granado*16 en representación del consorcio CMMRD Spain.
*Estos autores comparten primera/última autoría.

1Laboratorio de Cáncer Hereditario, Servicio de Análisis Clínicos, Hospital Universitario Doce de Octubre, Instituto de Investigación i+12, Madrid.
2Programa de Cáncer Hereditario, Instituto Catalán de Oncología, Institut d'Investigació Biomèdica de Bellvitge (IDIBELL), programa ONCOBELL, L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona.
3Laboratorio de Inmunología Celular, Servicio de Inmunología, Hospital Universitario Doce de Octubre, Instituto de Investigación i+12, Madrid.
4Servicio de Pediatría y de Hemato-oncología, Hospital Universitario Doce de Octubre, Instituto de Investigación i+12, Madrid.
5Servicio de Onco-Hematología Pediátrica, Hospital Universitario Infantil Niño Jesús, Madrid.
6Servicio Onco-Hematología Pediátrica, Hospital Universitario Materno-Infantil de Las Palmas de Gran Canaria, Gran Canaria.
7Unidad Alto riesgo y Prevención del Cáncer (UARPC), Hospital Universitario Vall d'Hebron, Barcelona.
8Servicio de Onco-Hematología Pediátrica, Hospital Universitario Vall d'Hebron, Barcelona.
9Servicio Onco-Hematología Pediátrica, Hospital Universitario y Politécnico La Fe, Valencia.
10Unidad de Cáncer Familiar, Servicio de Oncología Médica, Hospital Universitario Doce de Octubre, Instituto de Investigación i+12, Madrid.
11Unidad de Cáncer Familiar, Servicio de Oncología Médica, Hospital Universitario de Getafe, Madrid.
12Servicio de Oncología Pediátrica, Hospital Infantil Virgen del Rocío, Sevilla.
13Servicio Onco-Hematología Pediátrica, Hospital Sant Joan de Déu, Esplugues de Llobregat, Barcelona.
14Servicio de Oncología, Consorci Sanitari de Terrassa, Barcelona.
15Servicio de Dermatología, Consorci Sanitari de Terrassa, Barcelona.
16Unidad de Inmunodeficiencias Primarias, Servicio de Pediatría, Hospital Universitario Doce de Octubre, Instituto de Investigación i+12, Madrid.

El sistema de reparación de errores de apareamiento (MMR, mismatch repair) participa en la recombinación de cambio de clase y la hipermutación somática. La deficiencia constitucional de reparación de errores de apareamiento (CMMRD) es un síndrome raro de predisposición al cáncer infantil, causado por variantes germinales patogénicas bialélicas en los genes MMR. Estudios previos han descrito alteraciones en los niveles de inmunoglobulinas y defectos en la recombinación de cambio de clase, sin una inmunodeficiencia clínica evidente.

El objetivo de este estudio es evaluar longitudinalmente el perfil inmunológico de pacientes con CMMRD.

Se incluyeron 12 pacientes (7 masculinos -2 adultos- y 5 femeninas pediátricas) con variantes en PMS2 (n=6), MSH6 (n=4), MLH1 (n=1) y MSH2 (n=1), que desarrollaron 21 tumores (edad media al primer diagnóstico: 6 años). Se analizaron entre 1 y 12 muestras por paciente durante el seguimiento clínico (3-16 meses), recogiendo variables como la edad y el tratamiento activo. Se realizó el inmunofenotipado por citometría de flujo en sangre periférica y se cuantificaron las inmunoglobulinas séricas por nefelometría.

El inmunofenotipado mostró una reducción persistente en el tiempo de plasmablastos en todos los pacientes (12/12, 100%), de células B de memoria con cambio de clase (10/12, 83,3%) y de células transicionales (7/12, 58,3%). En cuanto al compartimento T, se describió por primera vez una disminución de las células CD4+ TEMRA (8/12, 66,7%). Los niveles de inmunoglobulinas presentaron variabilidad entre individuos. Nuestros resultados confirman las alteraciones del compartimento B y demuestran que el defecto de la inmunidad humoral es intrínseco y persistente en el tiempo. Además, se describe por primera vez una posible afectación del compartimento T.

Estos resultados amplían el espectro del defecto inmunológico en CMMRD y refuerzan el papel del sistema MMR en la homeostasis inmunológica.

Patterns of inheritance of inborn errors of immunity in a cohort of B-cell lymphoproliferative disorders

María Palacios-Ortega1,2,3,6, Blanca García-Solís1,2,3, Teresa Guerra-Galán1,2,3, Marc Pérez-Guzmán1,2,3, María Dolores Mansilla-Ruiz1,2,3, Ángela Villegas Mendiola3, Ascensión Peña-Cortijo4, Eduardo Anguita Mandly4, Marta Polo-Zarzuela, Estefanía Bolaños4, Cristina Pérez López4, Fiorella Medina4, Eduardo de la Fuente1,2,3, María Ruiz del Río1,3, Reynaldo Homen1,2,3, Miguel Fernández-Arquero1,2,3, Juliana Ochoa-Grullón3, María Guzmán-Fulgencio1,2,3, Celina Benavente-Cuesta5, Rebeca Pérez de Diego3,5, Silvia Sánchez-Ramón1,2,3*

1. Department of Clinical Immunology, Institute of Laboratory Medicine and IdISSC, Hospital Clínico San Carlos, Madrid, Spain
2. Department of Immunology, Ophthalmology and ENT, School of Medicine, Complutense University, Madrid, Spain
3. Interdepartmental Unit of Immunodeficiencies, Madrid, Spain
4. Department of Hematology, Institute of Laboratory Medicine and IdISSC, Hospital Clínico San Carlos, Madrid, Spain
5. Laboratory of Immunogenetics of Human Diseases, IdiPAZ Institute for Health Research, La Paz University Hospital, Madrid 28046, Spain
6. Department of Biochemistry and Molecular Biology, Faculty of Chemical Sciences, Complutense University, Madrid, Spain

INTRODUCTION. Inborn errors of immunity (IEI) are genetic defects that cause functional impairment of the immune system, including a higher risk of malignancy development, mostly hematological. However, several questions remain unanswered, particularly regarding the role of the immune system in the development of B-cell lymphoproliferative disorders (B-CLPDs). For that reason, we performed clinical exome analysis in a total of 78 patients with B-CLPDs, to study the patterns of inheritance of genetic variants related to IEIs.

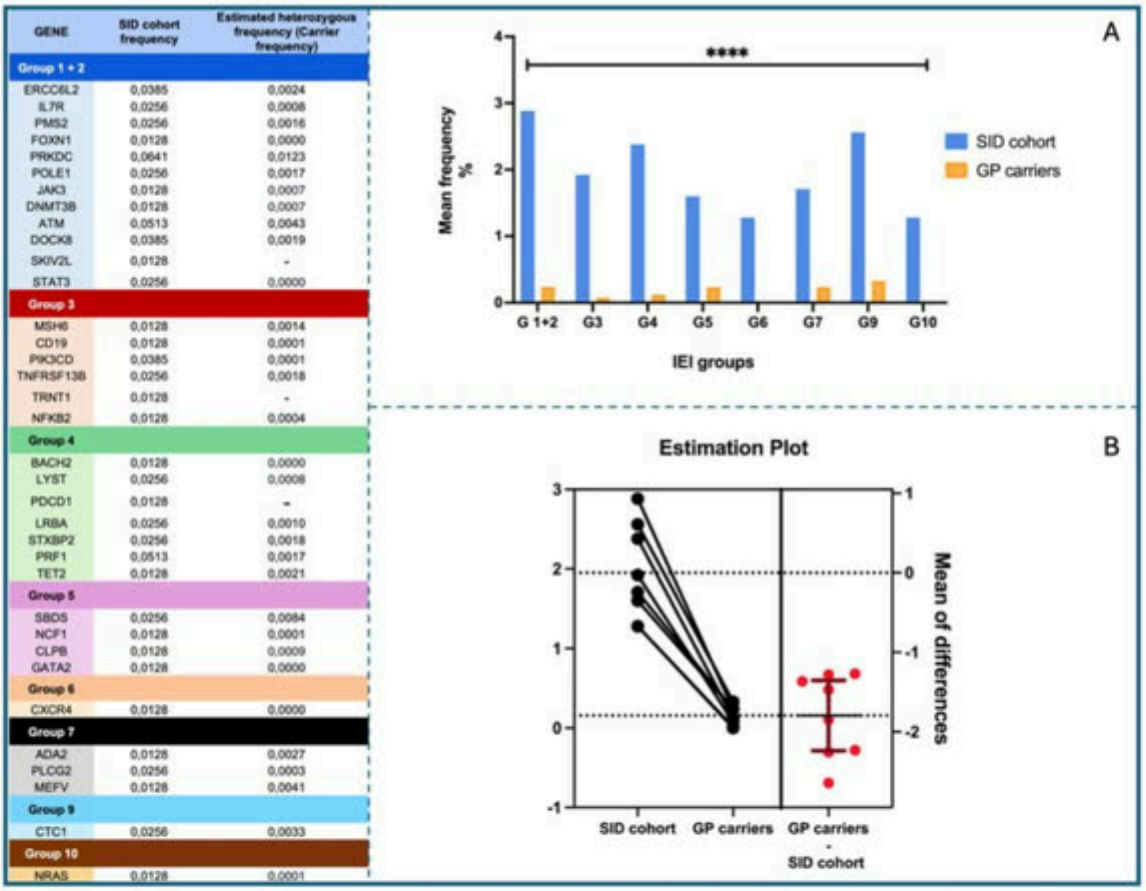
MATERIAL AND METHODS. We performed an observational study and a statistical and in silico analysis of 78 B-CLPD patients with secondary immunodeficiency (SID), through Whole Exome Sequencing (WES), and compared the results with the published data from the general population, and the results of a cohort with PID diagnosis.

RESULTS. The genetic variants found in our B-CLPD cohort resembled those of PID patients, with a similar mutational frequency, above 50%, significantly higher than that of the general population. The patterns of inheritance showed differences between B-CLPD with SID and PID cohorts: SIDs showed increased ratios of IEIs of combined immunodeficiencies and immune dysregulation, more likely pathogenic/pathogenic variants in autosomal recessive genes, more variants of unknown significance in autosomal dominant genes, and more mutational co-occurrence.

CONCLUSIONS. Our results entail novel findings in the study of B-CLPDs. A significantly higher rate of IEIs compared to the general population underscores a potential role of these genetic variants in the development of B-CLPDs, which reinforce the hypothesis of a biological overlap between PID and SID associated with B-CLPD. The distinct patterns of inheritance could explain the different clinical behavior, with later disease onsets and a higher burden of malignancy. Also, the increased mutational co-occurrence and the different combinations between predicted pathogenicity and type of inheritance suggest a much more intricate genetic landscape than that of monogenic IEI/PIDs, converging to a more pleiotropic phenotype of PID.

Patterns of inheritance of inborn errors of immunity in a cohort of B-cell lymphoproliferative disorders

GENE	SID cohort frequency	Estimated heterozygous frequency (Carrier frequency)
Group 1 + 2		
ERCC6L2	0,0385	0,0024
IL7R	0,0256	0,0008
PMS2	0,0256	0,0016
FOXN1	0,0128	0,0000
PRKDC	0,0641	0,0123
POLE1	0,0256	0,0017
JAK3	0,0128	0,0007
DNMT3B	0,0128	0,0007
ATM	0,0513	0,0043
DOCK8	0,0385	0,0019
SKIV2L	0,0128	-
STAT3	0,0256	0,0000
Group 3		
MSH6	0,0128	0,0014
CD19	0,0128	0,0001
PIK3CD	0,0385	0,0001
TNFRSF13B	0,0256	0,0018
TRNT1	0,0128	-
NFKB2	0,0128	0,0004
Group 4		
BACH2	0,0128	0,0000
LYST	0,0256	0,0008
PDCD1	0,0128	-
LRBA	0,0256	0,0010
STXBP2	0,0256	0,0018
PRF1	0,0513	0,0017
TET2	0,0128	0,0021
Group 5		
SBDS	0,0256	0,0084
NCF1	0,0128	0,0001
CLPB	0,0128	0,0009
GATA2	0,0128	0,0000
Group 6		
CXCR4	0,0128	0,0000
Group 7		
ADA2	0,0128	0,0027
PLCG2	0,0256	0,0003
MEFV	0,0128	0,0041
Group 9		
CTC1	0,0256	0,0033
Group 10		
NRAS	0,0128	0,0001



Supplementary figure 1. Comparison of the prevalence of heterozygous IEI variants between the SID cohort and the GP. Left: Table showing the relative prevalence of significant genetic variants in IEI genes, comparing the SID cohort with the estimate heterozygosity frequency in the general population (taken from *GenIE* software). **Right**: (A) Comparison of the mutational frequency between the SID cohort (blue) and the general population (orange) among the different IEI groups. P < 0.0001 is represented by ****; (B) Estimation plot showing the real difference of IEI mutational prevalence among both groups. The column of the left represents the difference between each individual point, while the one on the right shows the difference between means, which statistically significant / SID: Secondary Immunodeficiency; GP: general population.

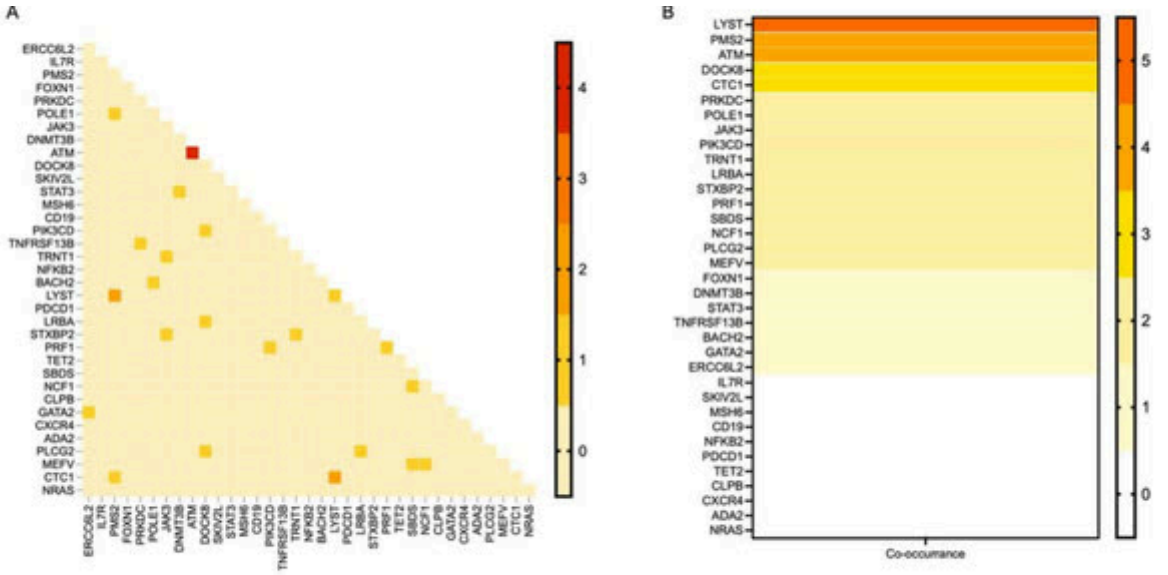


Figure 1. Co-occurrence of IEI gene variants in the SID cohort. (A) Matrix showing the number of times each gene variant appears in co-occurrence with other/s mutations in other genes. (B) Heat-map representing the rates of mutational co-occurrence of every gene variant in the SID patient cohort. The color gradient represents the number of events.

Patterns of inheritance of inborn errors of immunity in a cohort of B-cell lymphoproliferative disorders

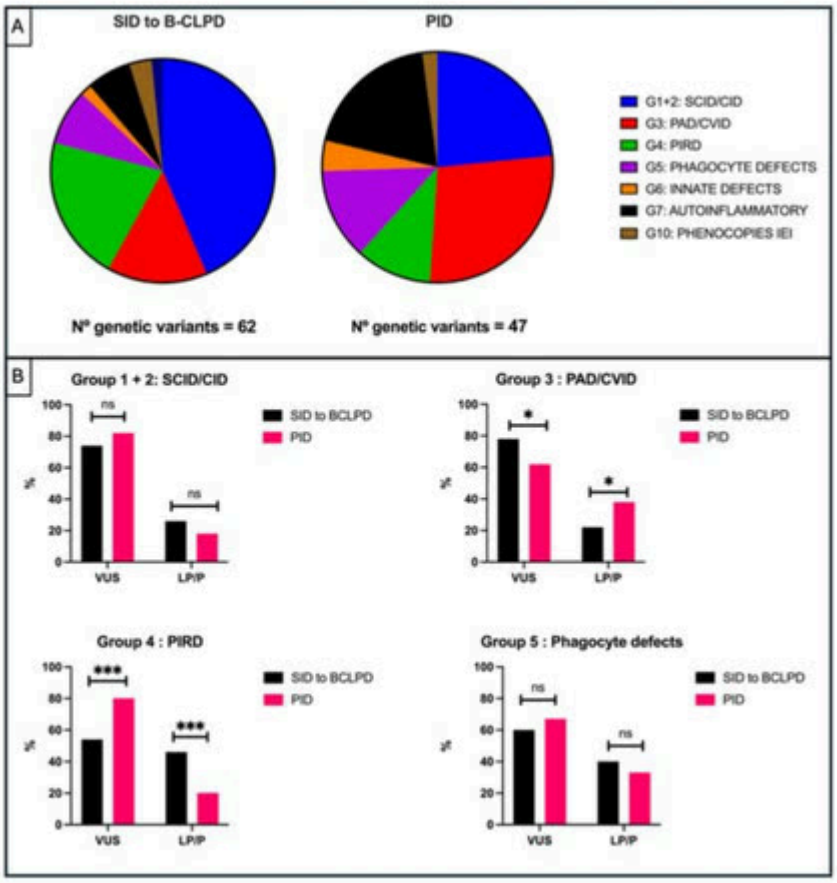
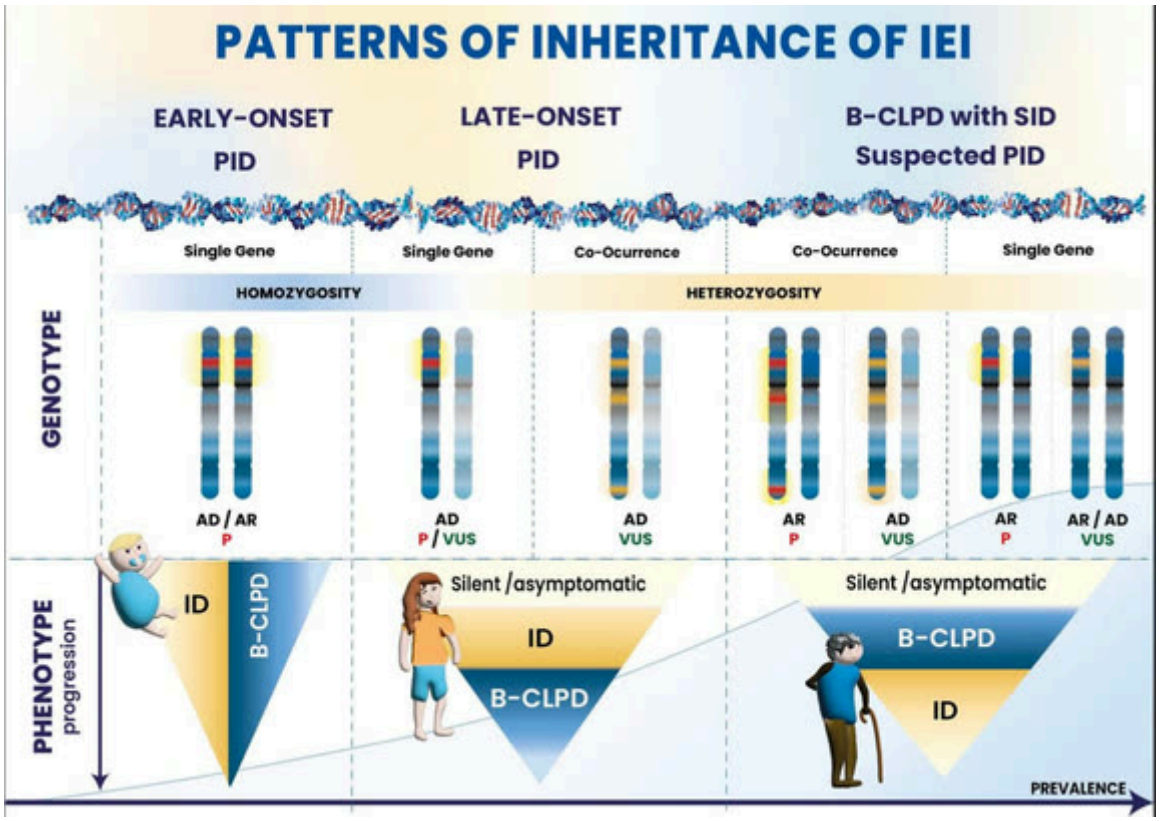


Figure 2. Comparison of the IEI variants between the cohorts of B-CLPD with SID and PID. (A) Representation and comparison of the numeric distribution of IEI variants between the SID to BCLPD and PID patient cohorts. We observed a similar pattern in the distribution of the variants between both groups. However, the cohort of SID patients had a greater representation of variants related to combined immunodeficiencies (group 1+2) and immune dysregulation (group 4), while in PID there were more genetic mutations in relation to antibody deficiencies (group 3) and autoinflammatory disorders; (B) Comparison of VUS and LP/P variants of IEI groups 1+2, 3, 4 and 5, between the cohorts of SID to B-CLPD and PID. The percentage of genetic variants found in IEI groups 1 and 2, and group 5 are similar between our patients with SID to B-CLPD and PID. Groups 3 and 4, however, were found to have a significant difference between both groups. There was a greater presence of LP/P group 3 variants in patients with PID, but higher of group 4 in SID to B-CLPD. $p < 0.05$ is represented as *; $p < 0.001$ is represented as ***; no significant difference is shown as 'ns'.



Valor analítico y pronóstico de Hevylite® en gammapatías monoclonales: clonalidad e inmunoparesia como marcadores de evolución

Bravo-González, Maikel1; Mora-Díaz, Sergio1; Sanoja-Flores, Luzalba2.

Filiación: 1Servicio de Análisis Clínicos, Sección de Inmunología, Hospital General Universitario "Dr. Balmis" de Alicante.
The Binding Site part of Thermo Fisher Scientific, PDX-Iberia

Introducción: En las gammapatías monoclonales (GM), la exploración de proteína monoclonal (PM) tipoInmunoglobulina intacta (Ig) combina tradicionalmenteelectroforesis de proteínas (EPS) e inmunofijaciónsérica (IFEs), más Igs-totales para el estudio de inmunosupresión (IP). El ensayo Hevylite® podría optimizar tal exploración analizando el par de cadena pesada+ligera de Ig, midiendo simultáneamente la concentración de PM (par involucrado/clonal de Ig; iHLC), clonalidad (cociente HLCk/l alterado; rHLC) einmunonoparesia-IMI (par no involucrado/policlonal de Ig; uHLC).

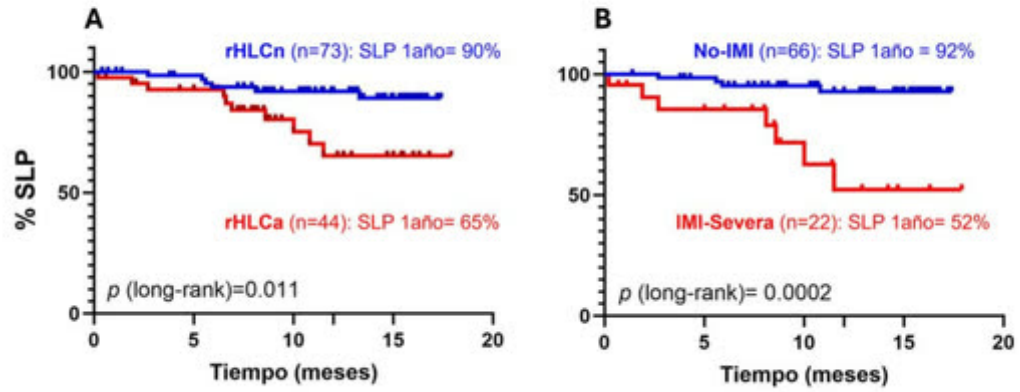
Objetivos: Analizar la utilidad analítica y pronóstica de los marcadores Hevylite® asociados a tumor einmunosupresión frente a las técnicas convencionalesen pacientes con GM.

Materiales y Métodos: Se estudiaron 287 GM: 125 mieloma múltiple tratado (MMt), 101 GM premalignas-asintomáticas, 54 neoplasias linfoproliferativa-B y 7 plasmocitomas. El análisis de PM se realizó mediante EPS e IFEs (Hydrasys, Sebia). La IP se evaluó cuantificando IgG, IgA e IgM (X). El ensayo Hevylite®(The Binding Site, part of ThermoFisher) exploró la PMmás IMI. El programa GraphPad-Prismv10 se empleópara el análisis estadístico de datos, definiendo significancia con un valor de $p<0,05$.

Resultados: El método Hevylite® detectó una mayor proporción de MMt con persistencia de PM mediante rHLCalterado (33,7%) vs EPS (23,2%) ($p=0,017$), reduciendo las tasas de supervivencia libre de progresión (SLP) al año de 90% a 65% respecto a rHLC-normal ($p=0,011$; Figura 1A). Se observó buena correlación entre la Ig-iHLC vs EPS para los isotipos IgG e IgM ($r\geq0,87$; $p<0,0001$), y mejoría en GM-IgA (de $r=0,64$ a $r=0,80$; $p<0,0001$) al correlacionar Ig-iHLC vs IgA-total, limitando la interferencia por comigración de la PM en zona-b-EPS. El hallazgo de IMI severa en MMt se asoció con una disminución del 40% de la SLP/año frente a casos sin IMI ($p=0,0002$; Figura 1B).

Conclusiones: Hevylite® potencia el estudio de GMstras evaluar simultáneamente clonalidad e inmunoparesia, biomarcadores con impacto clínico en MMt.

Figura 1: Curvas de supervivencia Kaplan-Meier en pacientes con mieloma múltiple tras tratamiento de acuerdo con el resultado del ensayo Hevylite®. Panel A, muestra pronóstico según persistencia de clonalidad por rHLC. Panel B, refleja impacto del hallazgo de inmunoparesia del par no involucrado/policlonal de Ig (uHLC).



SLP, supervivencia libre de progresión; rHLC, cociente Hevylite IgHκ/IgHλ, en suero; rHLCn, rHLC normal; rHLCa; rHLC alterado; IMI, inmunoparesia del par no involucrado de inmunoglobulina. Tiempo (meses) desde el momento del estudio Hevylite® hasta la fecha del evento (progresión/muerte) o fecha de última consulta.

Inflammatory, nutritional and metabolic phenotype in patients with lung cancer at diagnosis

Ana Calvo Madueño1*, Andrea Ochaita Aguado1*, Lara P. Fernández1, María García-Beccaria2, Silvia Cruz Gil1, Marta Villarino Sanz3, María Sereno Moyano3, 4, Sandra Falagán Martínez3, Juan Moreno Rubio4, 5, Federica Bergamo6, Alvaro Martins7, Ivan Andújar Martínez8, Nantia Leonidou9, Joana Gomes7, Agustín Rodríguez González9, Gianmarco Martines10, Marcello Tisseo10, 11, 12, Ursula Klingmüller9, Celso Reis7, Erdmann Rapp8, 13, Pedro Mena12, 14, Enrique Casado Saénz3, 4, Cristina M. Fernández Díaz1, 2, Ricardo Ramos Ruiz2, Ana Ramírez de Molina1
1Molecular Oncology Group, IMDEA Nutrition, Madrid, Spain, 2GENYAL Platform on Nutrition and Health, IMDEA Nutrition, Madrid, Spain, 3Medical Oncology Department, Infanta Sofía University Hospital, San Sebastián de los Reyes, Madrid, Spain, 4Clinical Oncology Group, IMDEA Nutrition, Madrid, Spain, 5Precision Oncology Laboratory, Infanta Sofía University Hospital, San Sebastián de los Reyes, Madrid, Spain, 6Human Nutrition Unit, Department of Food and Drug, University of Parma, Parma, Spain, 7Glycobiology in Cancer, Instituto de Investigacao e Inovacao em Saude (i3S), University of Porto, Porto, Portugal, 8Bio/Process Analytics, Max Planck Institute, Magdeburg, 9Systems Biology of Signal Transduction, German Cancer Research Center DKFZ, Heidelberg, Germany, 10Department of Medicine and Surgery, University of Parma, 11Medical Oncology Unit, University Hospital of Parma, 12Microbiome Research Hub, University of Parma, Parma, Italy, 13glyXera GmbH, Magdeburg, Germany, 14Human Nutrition Unit, Department of Food and Drug, University of Parma, Parma, Italy. *These authors contributed equally.

Introduction: Lung cancer is associated with systemic alterations that may contribute to functional and nutritional impairment from the early stages of the disease. However, the relationship between inflammation, nutritional status, metabolism and muscle function at diagnosis remains poorly characterized. The European MENTORING project, “Addressing Malnutrition and Metabolic Health in Lung Cancer Patients through Precision Nutrition,” aims to develop precision nutrition strategies based on the individual characteristics of patients with lung cancer. This project is funded by the European Union under the HORIZON-EIC Pathfinder Challenges 2023 programme (grant agreement No. 101162297).

Objective: To characterize the inflammatory, nutritional and metabolic phenotype of patients with lung cancer at diagnosis and to explore its relationship with muscle function. Materials and

Methods: An observational study was conducted in patients with lung cancer assessed at diagnosis and in a group of healthy controls. Anthropometric and functional parameters, including handgrip strength, were assessed together with biochemical variables related to inflammation, nutritional status and metabolism. Inflammatory markers and parameters related to protein and metabolic status were also determined. Variables were compared between patients and controls, and associations between inflammatory, nutritional and metabolic status and muscle function were explored.

Results: Patients with lung cancer presented a systemic profile characterized by increased inflammation, accompanied by alterations in protein, nutritional and metabolic parameters compared with healthy controls. They also showed lower handgrip strength, indicative of poorer functional status.

Conclusions: Patients with lung cancer present, from the time of diagnosis, a systemic phenotype characterized by inflammatory, nutritional and metabolic alterations, accompanied by poorer functional status. Early characterization of this phenotype may help identify patients with greater vulnerability and lay the foundations for the development of precision nutrition strategies aimed at improving quality of life in patients with lung cancer.

Biopsia líquida: identificación de firmas inmunológicas para el diagnóstico de la endometriosis y de su progresión al cáncer de ovario asociado

María Arribas Tejedor, Emanuela Spagnolo, Paula Almellones Araiz, Verónica Terrón, Carlos del Fresno, Alicia Hernández Gutierrez

INTRODUCCIÓN: La endometriosis es una enfermedad inflamatoria crónica que afecta al 10% de las mujeres en edad reproductiva, causando dolor severo e infertilidad. Pese a su naturaleza benigna, comparte rasgos tumorales y presenta un riesgo hasta cuatro veces mayor de desarrollar cáncer epitelial de ovario —especialmente los subtipos de células claras y endometrioide— impulsado por la inflamación crónica, el estrés oxidativo y la desregulación inmune. Los retrasos diagnósticos y la falta de marcadores no invasivos fiables plantean una necesidad clínica urgente. OBJETIVOS: Este estudio tiene como objetivo generar modelos diagnósticos de la endometriosis y del cáncer de ovario, a partir del perfil inmunológico en sangre periférica.

MATERIALES Y MÉTODOS: Se realizó un estudio prospectivo para evaluar poblaciones celulares inmunitarias, su activación y puntos de control inmunitarios en muestras de sangre periférica de 14 donantes sanas, 19 mujeres con endometriosis y 19 mujeres con cáncer de ovario procedentes del Hospital Universitario La Paz. El componente leucocitario aislado por lisis fue teñido con un panel de 37 anticuerpos monoclonales, y la adquisición de los datos se realizó por citometría de flujo espectral.

RESULTADOS: Se generó un modelo diagnóstico que permitió diferenciar a las pacientes con endometriosis de las sanas (AUC de 0.9887 y 95%CI de 0.964-1.0) con una sensibilidad del 89.47% (95%CI 68.61%-98.13%) y una especificidad del 100% (95%CI 78.47%-100%). De la misma forma, se generó un modelo diagnóstico que permitió diferenciar pacientes con cáncer de ovario de las sanas (AUC de 0.9925 y 95%CI de 0.9728-1.0) con una sensibilidad del 100% (95%CI 83.18%-100%) y una especificidad del 92.86% (95%CI 68.53%-99.63%). Por último, se generó un modelo diagnóstico que permitió diferenciar a las pacientes con cáncer de ovario de las pacientes con endometriosis (AUC de 0.9695 y 95%CI de 0.9239-1.0) con una sensibilidad del 89.47% (95%CI 68.61%-98.13%) y una especificidad del 94.74% (95%CI 75.36%-99.73%).

CONCLUSIONES: Estos resultados sugieren que los modelos generados a partir del perfil inmunológico constituyen una herramienta diagnóstica de gran eficiencia en la endometriosis y el cáncer de ovario.

Inmunología del cáncer, Inmunosenescencia, Inmunogenética, Otros

Unraveling the Effects of an Active Lifestyle in Breast Cancer Survivorship: Clinical and Immunometabolic Insights During Endocrine Therapy

Andrea Ochaita Aguado1, Ana Calvo Madueño1, Marta Villarino4, Beatriz Garrido Rubiales3,4, José Iniesta5, Cristina Fernández1,2, Silvia Cruz1, Ricardo Ramos1,2, Enrique Casado3,4, Lara P. Fernández1, María Merino3,4, Ana Ramírez de Molina1,2
1 Molecular Oncology Group, IMDEA Nutrition Institute, Madrid, Spain.
2 GENYAL Platform on Nutrition and Health, IMDEA Nutrition Institute, Madrid, Spain.
3 Oncology Department, Infanta Sofía University Hospital, Madrid, Spain.
4 Clinical Oncology Group, IMDEA Nutrition Institute, Madrid, Spain.
5Biomedical Engineering and Telemedicine Centre, ETSI Telecomunication, Center for Biomedical Technology, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, Spain.

Introduction: Breast cancer survivorship is frequently accompanied by persistent fatigue, loss of muscle quality, adiposity and immunometabolic dysregulation, particularly during long-term endocrine therapy. These alterations may compromise quality of life, cardiometabolic health and treatment adherence. Exercise is effective in survivorship care, but the biological determinants of heterogeneous response remain poorly defined.

Objectives: To characterize the biological effects of exercise and identify determinants of individual response in breast cancer survivors undergoing endocrine therapy.

Materials and methods: This prospective clinical study (IMD PI-077) will recruit 100 women with stage I–III breast cancer who have completed primary treatment and are initiating adjuvant endocrine therapy. Participants will undertake a four-month individualized, supervised exercise programme combining strength, endurance and flexibility. Comprehensive evaluations will be performed at baseline (before starting), at two months, at the end of the four-month intervention, and one month after its completion. At each time point, longitudinal assessments will include EORTC quality-of-life questionnaires, treatment-related symptoms, dietary and lifestyle measures, body composition by DXA and bioimpedance, muscle ultrasound, handgrip strength, biochemical and inflammatory biomarkers, immune-cell phenotyping, selected genetic variants and routine clinical evaluations.

Results: The study is expected to characterize longitudinal changes associated with exercise intervention and identify variables related to the magnitude of the response. Multidimensional integration may identify patient profiles associated with different patterns of adaptation to exercise, contributing to a better understanding of inter-individual variability and supporting future personalized exercise strategies for breast cancer survivors receiving endocrine therapy.

Conclusions: By connecting supervised exercise with molecular phenotyping, this study moves beyond one-size-fits-all rehabilitation. It provides a clinically implemented framework for optimizing supportive care and personalized rehabilitation strategies in breast cancer survivorship.

Tratamiento con brexucabtagene-autoleucel en el linfoma de células del manto con compromiso del SNC: reporte de un caso

Irene Gutiérrez-Ramos, Carlos López de la Osa Bautista, Leire Martín Fernández, Mario Morales Talavera, Celia Ferrez Hernández, Enrique García Barrera, Margaryta Gurkalo Stepanova, Roberto Pariente Rodríguez, Fernando Martín Moro, Ernesto Roldán Santiago, Eulalia Rodríguez Martín, Iván García de la Torre. Hospital Universitario Ramón y Cajal.

Antecedentes. El linfoma de células del manto en recaída o refractario(LCM-R/R) presenta un difícil manejo. La terapia CAR-T brexucabtagene-autoleucel muestra un 67% de respuesta completa y buen perfil de seguridad en ensayos clínicos(ZUMA-2), pero excluyen a pacientes con infiltración del sistema nervioso central (SNC).

Objetivo. Evaluar mediante citometría de flujo (CF) la eficacia, seguridad y dinámica compartimental de la terapia CAR-T en un paciente con LCM-R/R e infiltración en SNC refractaria a múltiples líneas de tratamiento.

Resultados. Previo a la infusión, la CF en líquido cefalorraquídeo (LCR) confirmó una infiltración masiva por células de LCM (CD19+CD5+CD43+) (Fig.1A), sin enfermedad en médula ósea. Tras la infusión, el pico de expansión CAR-T en sangre periférica (SP) ocurrió el día +7 (10% de linfocitos T; Fig.2A), predominantemente CD8+CD45RO+. Al día +21, la CF en LCR confirmó la erradicación tumoral con un 5,6% de células CAR-T en LCR (Fig.1B), frente a solo el 1,1% en SP. Se monitorizó la IL-6 por CF (Fig.2B). El tratamiento mostró excelente seguridad, con síndrome de liberación de citoquinas grado 1 y sin neurotoxicidad. 15 meses post-infusión, tras respuesta completa sostenida en SNC, presentó recaída por células tumorales de mayor tamaño y fenotipo aberrante (CD10+CD38+).

Discusión. Frente al escenario no cubierto por el ensayo ZUMA-2, este caso demuestra que la administración de brexucabtagene-autoleucel en un paciente con afectación del SNC puede ser segura y efectiva, logrando un aclaramiento tumoral rápido en LCR y una remisión completa sostenida durante más de un año en SNC. La mayor proporción de CAR-T en LCR frente a SP al día +21 (relación 5:1) respalda su capacidad para migrar y expandirse en SNC. Pese a la recaída tardía con transformación inmunofenotípica, este caso confirma que el CAR-T constituye una opción terapéutica factible, con respuesta en LCM con afectación del SNC.

Tratamiento con brexucabtagene-autoleucel en el linfoma de células del manto con compromiso del SNC: reporte de un caso

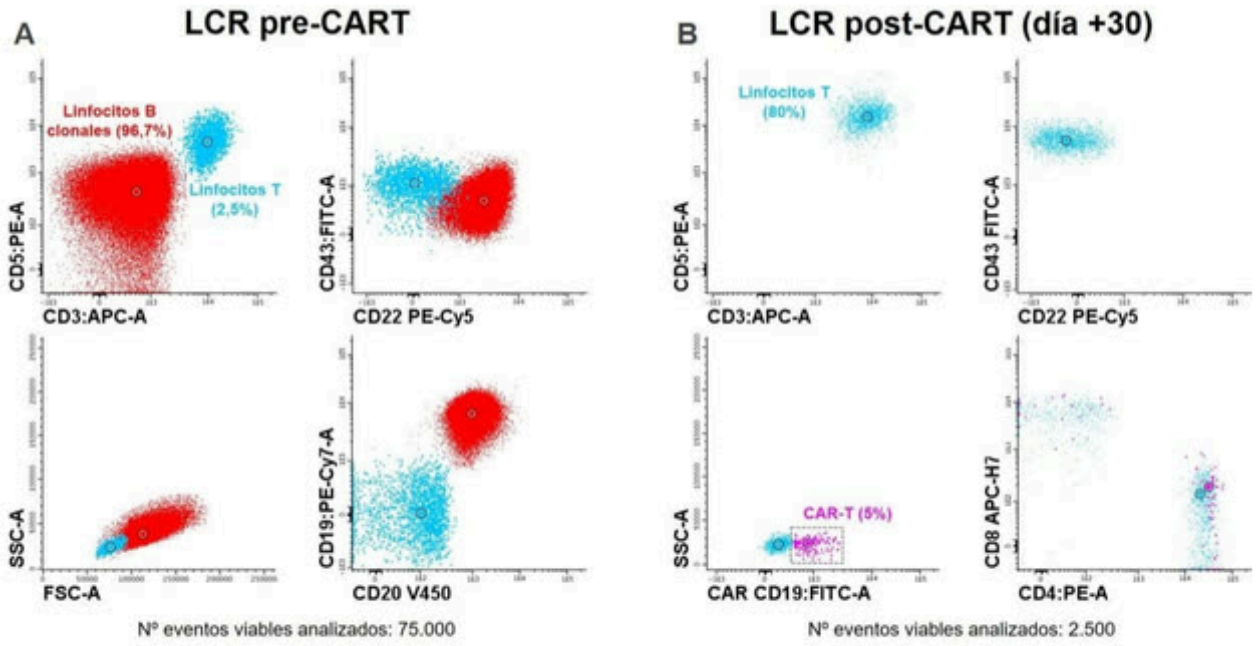


Figura 1. Imágenes de CF del estudio del LCR pre-CAR-T **(A)** y post-CAR-T (**B**; día+21). La población de linfocitos B clonales, que representaba el 96.7% de la celularidad viable (**A**), es indetectable tras la terapia, a la vez que se detectan células CAR-T CD19⁺ (5.6% de los linfocitos T).

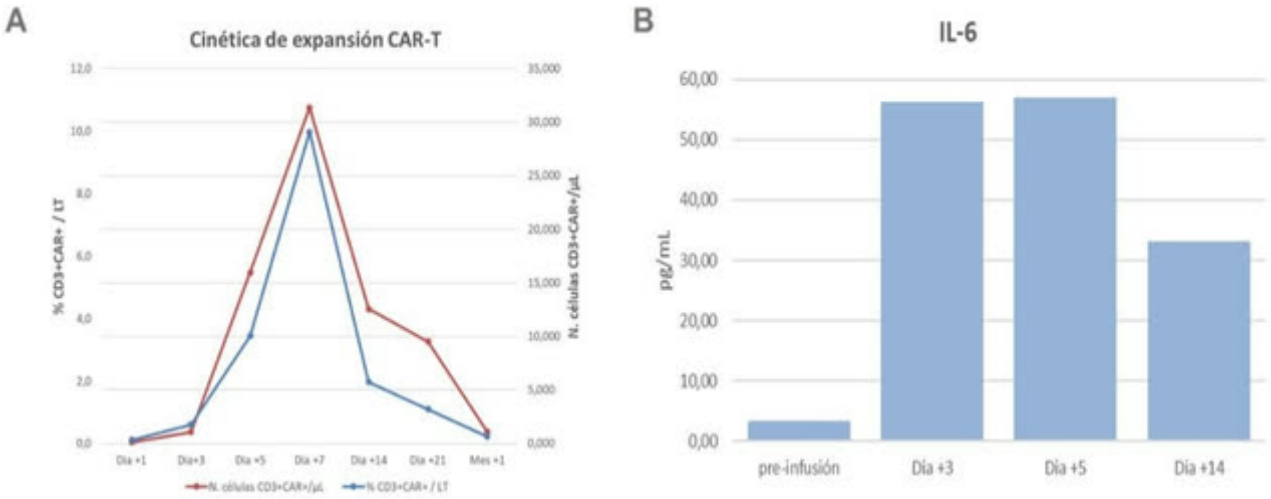


Figura 2. (A) Monitorización de la expansión del CAR-T en SP (día 0 /1 mes). La línea roja representa la concentración de CAR-T/µL y la línea azul el porcentaje de CAR-T respecto a los linfocitos T. **(B)**Monitorización de los niveles de IL-6 (días 0, +3, +5 y +14) determinados por CF.

Expresión y función de ILT2 e ILT4 en pacientes con cáncer colorrectal

Fernandez-Uria, Sandra (1); Vaquero-Yuste, Christian (1); Álvarez-González, Elena (1); Sánchez Del Pueblo, Cristina (2); Suarez-Solis, María Luisa (2); Mugüerza-Huguet, José María (2); Martin-Villa, Jose Manuel (1); Juarez, Ignacio (1).
1) Departamento de Inmunología, Oftalmología y ORL; Facultad de Medicina; Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España; 2) Hospital Clínico San Carlos, Madrid, España.

Aunque el bloqueo de los puntos de control inmunitarios ha mejorado el tratamiento del cáncer, ciertas neoplasias todavía requieren el estudio de nuevas dianas terapéuticas. ILT2 e ILT4 son proteínas transmembrana que se unen con gran afinidad a las moléculas HLA-G presentes en células tumorales, modulando las respuestas mediadas por el sistema inmunitario.

El objetivo de este trabajo es estudiar la vía HLA-G/ILT2-4 en pacientes con cáncer colorrectal y su posible asociación con la patología.

Se confirmó por citometría de flujo la expresión de ILT2 e ILT4 en sangre de pacientes con adenocarcinoma colorrectal. Asimismo, se demostró mediante inmunohistoquímica que estos pacientes muestran un menor infiltrado de células ILT2+, pero una mayor presencia de células ILT4+, en el tejido tumoral respecto al tejido distal. Por otra parte, se analizó el polimorfismo rs7247538 de ILT4, en 85 pacientes con cáncer colorrectal y 108 individuos sanos, sin encontrarse diferencias significativas en la distribución de las frecuencias genotípicas.

Este mismo resultado se obtuvo al comparar pacientes con y sin infiltración nodular linfática, por lo que este polimorfismo no parece relacionarse ni con el riesgo de desarrollo ni con un peor pronóstico de la enfermedad. Sin embargo, se observó un aumento del haplotipo C-C formado por los polimorfismos rs7247538 y rs383369 en los pacientes con afectación nodal, relacionándose este haplotipo con mayor severidad de la patología. Por su parte, la forma soluble de HLA-G promueve tanto la maduración de los macrófagos como el fenotipo inmunosupresor funcionalmente activo de los macrófagos asociados a tumor.

Seguimiento clínico e inmunológico de la terapia CAR-T en una paciente con inmunodeficiencia primaria por deficiencia de CD8.

Dueñas-Prieto, Lucía1; Nieto-López, Celia1; Díaz-Madroñero, María J1,; Blanco-Herrera, Luz D.1; Pedraza-García, Natalia2; Segura-Tudela, Alejandro1; Salvatierra, María G.3; Paz-Artal, Estela1,4; Saéz Marín, Adolfo J.2; Serrano-Castillo, Cristina5; Arroyo-Ródenas, Javier1; Sánchez-Pina, José M.2; Allende, Luis M.1,4

1. Servicio de Inmunología. Hospital Universitario 12 de Octubre; Instituto de Investigación Biomédica del Hospital 12 de Octubre (imas12), Madrid, España.
2. Servicio de Hematología. Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid, España.
3. Servicio de Hematología. Hospital Rey Juan Carlos, Madrid, España.
4. Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid.
5. Servicio de Inmunología, Fundación Jiménez Díaz, Madrid, España.

INTRODUCCIÓN: La terapia CAR-T ha revolucionado el tratamiento de malignidades hematológicas y está aprobada para el linfoma B difuso de células grandes (LBDCG) refractario o en recaída tras al menos dos líneas previas de tratamiento. No obstante, existe escasa evidencia sobre su eficacia en pacientes con inmunodeficiencias primarias, quienes tienen mayor riesgo de desarrollar cáncer. Los defectos en el compartimento de linfocitos T podrían comprometer la eficacia de esta terapia, generando interrogantes clínicos relevantes aún no resueltos.

OBJETIVOS: Caracterización de la evolución clínica e inmunológica de una paciente con deficiencia congénita de CD8 sometida a terapia CAR-T por LBDCG refractario.

MATERIALES Y MÉTODOS: Se realizó el seguimiento longitudinal pre/post-infusión mediante inmunofenotipo por citometría de flujo, evaluación de la inmunidad celular, humoral y monitorización clínica estandarizada de toxicidad, incluyendo síndrome de liberación de citoquinas (CRS) y síndrome de toxicidad neurológica asociado a células inmunoefectoras (ICANS).

RESULTADOS: El producto infundido mostró predominio de células CD4+ (96%), relacionado con la expansión inicial observada. La paciente presentó una expansión retardada de células CAR-T, con un pico tardío a los 38 días —posterior a lo habitual en cohortes de LBDCG refractario—, coincidiendo con expansión de células CAR-T doble negativas (CD4−CD8−, TCR αβ). Predominó un fenotipo de memoria central, activado y senescente, con persistencia de células CAR-T a los tres meses de la infusión del tratamiento. No se registraron eventos de CRS ≥ grado 2 ni ICANS, pero sí infecciones graves que requirieron hospitalización. El PET-TAC evidenció progresión tumoral y recaída del linfoma, culminando en el fallecimiento de la paciente.

CONCLUSIONES: La ausencia de respuesta observada sugiere un papel relevante de la disfunción de las células T CD8 en la funcionalidad del CAR-T, respaldando la necesidad de monitorización inmunológica adaptada y estrategias terapéuticas individualizadas en pacientes con alteración primaria del compartimento T.

Punto de corte del índice de cadenas ligeras kappa libres para optimizar el algoritmo diagnóstico de esclerosis múltiple (EM) en HGUGM

1. Muñoz Gómez, Sara; Servicio de Inmunología, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid; Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón

2. Pérez Botas, Hugo; Servicio de Inmunología, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid; Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón.

3. Castro Moya, Carlos F. ; Servicio de Inmunología, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid; Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón.

4. Lafuente Gómez, Gemma; Servicio de Neurología, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid.

5.Martínez Ginés, María Luisa; Servicio de Neurología, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid.

6. Navarro Caspistegui, Joaquín; Servicio de Inmunología, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid; Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón

Introducción. Los criterios de McDonald 2024 incorporan el índice de cadenas ligeras kappa libres (IKAP) como biomarcador de síntesis intratecal de inmunoglobulinas, ofreciendo una alternativa a las bandas oligoclonales (BOC). El punto de corte debe ser verificado por cada laboratorio según su metodología y población.

Objetivos. El estudio pretende establecer un punto de corte óptimo de IKAP para el diagnóstico de EM en el laboratorio de Inmunología del HGUGM, que permita disminuir la determinación de BOCs, manteniendo una alta precisión diagnóstica y alineándose con los criterios de McDonald vigentes.

Materiales y Métodos. Estudio retrospectivo de pacientes con determinación de cadenas kappa libres en suero y LCR entre 2022–2025, realizada mediante turbidimetría (Optilite, The Binding Site). De 748 pacientes, se analizaron 320 con IKAP calculable: 92 con EM y 228 con otras patologías (120 inflamatorias y 108 no inflamatorias) (Figura 1). Se excluyeron CIS y RIS, aquellos sin diagnóstico establecido y con IKAP no calculable por concentraciones indetectables en LCR. Se realizó análisis ROC, índice de Youden y evaluación de sensibilidad, especificidad, valores predictivos y razones de verosimilitud. Se analizaron específicamente los puntos de corte >20 y >50, así como la concordancia con BOC mediante κ de Cohen.

Resultados. El IKAP mostró una excelente capacidad discriminativa (AUC 0,942; IC95% 0,916–0,968) (Figura 2). El índice de Youden identificó IKAP ≥12,5 como punto óptimo global (sensibilidad 93,5%; especificidad 84,6%). Se estudiaron IKAP>20 e IKAP>50 como candidatos a punto de corte en base a su especificidad (90% y 97% respectivamente), la concordancia con BOC fue superior para IKAP >20 (κ=0,645; concordancia 82,1%) frente a >50 (κ=0,537; 75,7%), de modo que se seleccionó IKAP>20 como punto de corte.

Conclusiones. IKAP >20 es el punto de corte superior validado en nuestro laboratorio para optimizar el diagnóstico de EM y racionalizar la realización de BOC.

Punto de corte del índice de cadenas ligeras kappa libres para optimizar el algoritmo diagnóstico de esclerosis múltiple (EM) en HGUGM

Figura 1. Descripción de la población de pacientes incluidos en el estudio para la estimación del punto de corte óptimo de IKAP en el diagnóstico de EM.

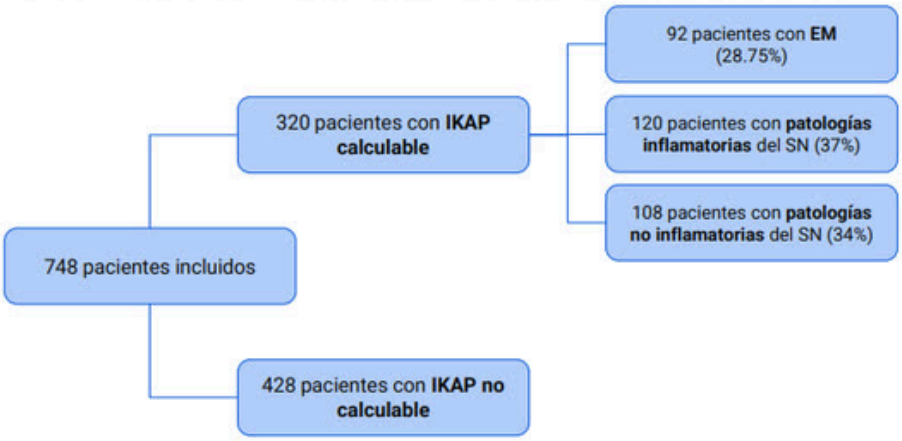
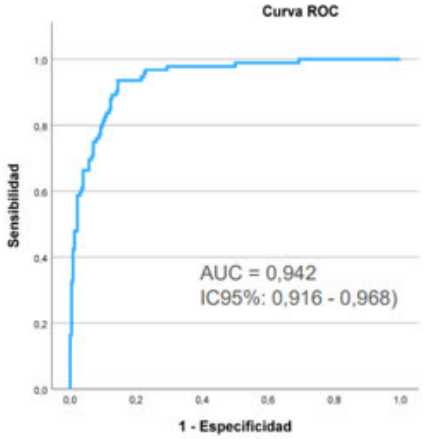


Figura 2. Curva ROC para la evaluación de IKAP en el diagnóstico de EM.



Cálculo de puntos de corte de MFI de anticuerpos anti-HLA detectados mediante ensayos Single-Antigen Bead para predecir el resultado de pruebas cruzadas por citometría de flujo.

Ángel Alfocea Molina (1), Sandra García Jiménez (1), David Gómez Fernández (1), Manuel del Rey Cerros (1), Esther González Monte (2), Natalia Polanco (2), Amado de Andrés Belmonte (2), María José Castro Panete (1), Estela Paz Artal (1), Esther Mancebo Sierra (1).
(1) Servicio de Inmunología, Hospital Universitario 12 de Octubre
(2) Servicio de Nefrología, Hospital Universitario 12 de Octubre

Introducción. La selección de receptores para trasplante se basa en la prueba cruzada virtual (vXM). Sin embargo, los ensayos Single-Antigen Bead (SAB) presentan limitaciones que pueden dificultar el acceso al trasplante de pacientes con DSA preformados y prueba cruzada por citometría de flujo (FC-XM) negativa.

Objetivos. Mejorar la predicción del riesgo inmunológico y optimizar la distribución de órganos

Materiales y métodos. Correlacionamos los resultados de los ensayos SAB y de las FC-XM. Tras vXM seleccionamos sueros con 1 a 3 DSA y realizamos 858 FC-XM con sueros de 221 pacientes hipersensibilizados frente a 80 donantes.

Resultados. La correlación entre las MFI del DSA inmunodominante (iDSA, el de mayor MFI) y del sumatorio de DSA (sumDSA) con la de la FC-XM no mostró diferencias significativas entre sueros con 1 o con 2-3 DSA ($p > 0.05$). La correlación fue mayor para DSA de clase I (Spearman $\rho=0.739$; $p<0.001$) que de clase II (Spearman $\rho=0.527$; $p<0.001$). Estratificando por el locus HLA del iDSA, la correlación del sumDSA se ordenó: B>DRB1>A>DRB3/4/5>DQB1>C>DPB1 (Spearman $\rho=0.809$; 0.662; 0.655; 0.644; 0.551; 0.487; 0.411; respectivamente). La capacidad predictiva de la FC-XM fue significativamente mayor para el sumDSA ($\Delta AUC=0.023$; $p<0.001$ y $\Delta AUC=0.029$; $p=0.016$, en DSA de clase I y II, respectivamente). Según el locus HLA los puntos de corte de la MFI del DSA predictores de una FC-XM positiva variaron sustancialmente, siendo de mayor a menor MFI: DPB1 (17720 MFI) > DQB1 (13277 MFI) > A (9244 MFI) > DRB1 (7422 MFI) > B (6315 MFI) > DRB3/4/5 (6162 MFI) > C (5137 MFI). Con resultados similares en la evaluación de SumDSA e iDSA.

Conclusiones. La obtención de puntos de corte de MFI locus específica podría mejorar la predicción de la FC-XM y facilitar estrategias de delisting, reduciendo el tiempo en lista de espera de los pacientes hipersensibilizados.

Ampliación del acceso al trasplante para candidatos altamente sensibilizados mediante integración de priorización, delisting de anticuerpos y desensibilización selectiva.

Ángel Alfocea Molina (1), Sandra García Jiménez (1), Antonio Sanz Sánchez (1), Beatriz Romero (2), María Isabel García García (1), David Gómez Fernández (1), Francisco Javier Bermejo Olivera (1), Manuel José del Rey Cerros (1), Estela Paz Artal (1), Amado de Andrés Belmonte (2), Esther Mancebo (2).
(1) Servicio de Inmunología, Hospital Universitario 12 de Octubre
(2) Servicio de Nefrología, Hospital Universitario 12 de Octubre

Introducción. Los candidatos a trasplante renal altamente sensibilizados, especialmente aquellos con vPRA 100%, presentan grandes barreras de acceso al trasplante por la presencia de anticuerpos anti-HLA.

Objetivos. Evaluar si la combinación de la priorización nacional con una estrategia estructurada de delisting de anticuerpos anti-HLA y desensibilización mejora el acceso al trasplante sin comprometer la evolución post-trasplante.

Materiales y Métodos. Realizamos un estudio retrospectivo unicéntrico en el Hospital 12 de Octubre, centro con mayor actividad dentro del programa nacional de acceso al trasplante PATHI. Se evaluaron 300 pacientes candidatos a trasplante renal incluidos en el programa PATHI en un periodo de 10 años. Se evaluó su acceso al trasplante antes y después de implementar estrategias de delisting. Finalmente, se evaluó la evolución postrasplante de 148 receptores PATHI, trasplantados entre 2015 y 2023, y se comparó con una cohorte no-PATHI emparejada cronológicamente.

Resultados. 203 de los 300 candidatos fueron trasplantados, siendo el vPRA=100% el predictor más fuerte de permanecer en lista de espera (OR=0,10). Una estrategia estructurada de delisting de anticuerpos anti-HLA mejoró de forma marcada las tasas de trasplante en candidatos con vPRA 100%, pasando del 18,8% al 60,2% ($p<0,0001$), y alcanzando el 81,2% entre los pacientes delistados. Se realizó delisting de alto riesgo en 20 pacientes, logrando el trasplante en 18, incluidos ocho que revirtieron un crossmatch positivo tras el uso de imlifidasa. A pesar del riesgo inmunológico sustancialmente mayor, los receptores PATHI alcanzaron una función del injerto, tasas de rechazo y supervivencia del injerto y del paciente comparables a los controles no-PATHI. El trasplante con DSA preformados cuidadosamente seleccionados no se asoció con peores resultados.

Conclusiones. Esta estrategia inmunológica integrada, que combina delisting y desensibilización dentro de un sistema nacional de asignación que la respalda, ofrece una estrategia escalable para reducir inequidades en el acceso al trasplante en candidatos con vPRA 100%, manteniendo excelentes resultados postrasplante.

Reactivación de memoria T efectora en rechazo celular temprano del injerto intestinal en ausencia de anticuerpos

Carlota Cantonad Ruigómez Martín[1,2], Cecilia González-Cuadrado[2], Celia Nieto-López[1,2], Lorena Pascual-Palacios[2], Francisco López[3], Jorge Calvo Pulido[3], Carmelo Loinaz Segurola[3], Luis Allende Martínez[1,2,4], Estela Paz-Artal[1,2,4], Esther Mancebo Sierra[1,2], Paloma Talayero[5]

[1] Servicio de Inmunología, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid, España.
[2] Instituto de Investigación Sanitaria Hospital 12 de Octubre (imas12), Madrid, España.
[3] Unidad de Cirugía Hepato-Bilio-Pancreática y Trasplante de Órganos Abdominales, Servicio de Cirugía General y del Aparato Digestivo, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid, España.
[4] Departamento de Inmunología, Oftalmología y Otorrinolaringología, Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España.
[5] Hospital Universitario Ramón y Cajal, Madrid, España.

Introducción. El rechazo celular agudo (RCA) del trasplante intestinal (TxI) causa un daño grave en el injerto. Aunque la inmunosupresión frena la alorrespuesta celular, la reactivación de memoria inmunológica preexistente frente a antígenos HLA puede desencadenar episodios tempranos y graves.

Objetivo. Caracterizar la alorrespuesta preexistente en una receptora de TxI con RCA temprano y pérdida del injerto.

Paciente y métodos. La paciente, con anticuerpos anti-HLA pretrasplante negativos pero historia de embarazos, presentó a los 14 días un RCA grave que requirió explantectomía. En este contexto se detectaron anticuerpos donante-específicos, sugiriendo una alosensibilización previa por gestación. Tras comprobar la elevada compatibilidad HLA entre el donante y el marido, se realizó un cultivo mixto de linfocitos entre la paciente y su cónyuge. Se caracterizaron diferentes poblaciones linfocitarias por citometría espectral y se evaluó la secreción de IFNγ mediante ELISpot.

Resultados. Basalmente , la paciente presentó una reducción de células NK (3% vs 21%) y de linfocitos T (52,7% vs 72,2%), con sesgo hacia $CD8^+$ (42,9% vs 31,7%). En $CD8^+$, mostró menor proporción de memoria efectora (ME) (11,3% vs 29,3%) y mayor de TEMRA (17,4% vs 9,1%), sin diferencias en la subpoblación T CD4+. Tras 48h de cultivo, se observaron diferencias en los compartimentos T de memoria: incremento de CD8+ efectoras ($CCR7^-CXCR3^+CCR5^+$) con aumento de $PD\text{-}1^+$ en ME y TEMRA, e incremento de linfocitos CD4+ de ME CD38+ / HLA-DR+. También se halló un enriquecimiento de cTfh1/cTfh1-17 con descenso de cTfh2/cTfh17. La secreción de IFNγ resultó débil, aunque parcialmente recuperable tras coestimulación CD28.

Conclusiones. El predominio de linfocitos $CD8^+$ efectores y $CD4^+$ de memoria sugiere la reactivación de memoria T alorreactiva preexistente. Estos hallazgos evidencian un riesgo celular no detectado por el estudio convencional de anticuerpos, respaldando su evaluación en los estudios pretrasplante.

¿Puede la MFI de los anticuerpos donante-específicos predecir el resultado de la prueba cruzada por citometría de flujo en el trasplante renal?

Jiménez Vargas, Carmen (1); Sánchez, María José (1); Royuela, Ana (2); Iglesias, Juan Pedro (3); Brea, Alicia (3); Carbone Campoverde, Javier (4); Walo Delgado, Paulette E. (4)

1. Residente de Inmunología. Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda. 2. Unidad de Bioestadística. Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda, IDIPHISA. 3.Técnico superior en laboratorio clínico y biomédico. Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda. 4. Facultativo Especialista de Inmunología. Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda

En el trasplante de órganos sólidos, la prueba cruzada virtual (VXM), basada en la identificación de anticuerpos específicos frente al donante (DSA), es fundamental para evaluar la compatibilidad inmunológica. Sin embargo, la presencia de DSA no implica necesariamente una prueba cruzada por citometría de flujo (FCXM) positiva. Analizar la relación entre la intensidad media de fluorescencia (MFI) de los DSA y la FCXM podría mejorar la estratificación del riesgo inmunológico.

El objetivo fue determinar la capacidad predictiva de la MFI de los DSA sobre el resultado de la FCXM.

Se analizaron retrospectivamente 62 VXM positivas de 62 receptores renales y 22 donantes entre febrero y agosto 2026, con FCXM de linfocitos T y B. Los donantes fueron tipificados para HLA mediante qPCR-SSP y los receptores estudiados para anticuerpos anti-HLA clase I y II mediante Single Antigen Assay (Lifecodes LSA Immucor®) en Luminex FlexMAP. Se seleccionó el anticuerpo de mayor MFI, denominado como DSA inmunodominante (iDSA). La FCXM se realizó en citómetro DxFlex (Beckman Coulter®). El análisis estadístico incluyó Mann-Whitney y curvas ROC. La MFI del iDSA fue significativamente superior en muestras con FCXM+ vs FCXM- (Mediana: 32.050 vs 4.626; $p<0,0001$).

Para HLA clase I, el punto de corte de MFI para predecir FCXM+ fue 5.254 (S=0,92 y E=0,84; AUC=0,95; $p<0,0001$). En clase II, no se logró establecer un punto de corte óptimo (AUC=0,5; $p>0,99$) para predecir FCXM+ aunque, al analizar por locus, encontramos que, a igual MFI, la probabilidad de FCXM-B positiva fue mayor para DR que DQ, con puntos de corte de 9.146 (S=0,84 y E=0,81; AUC=0,86; $p<0,001$) y 22.873 (S= 0,83 y E=0,83; AUC=0,86; $p<0,001$), respectivamente.

En conjunto, la MFI de los DSA mostró capacidad predictiva sobre FCXM, aunque la ampliación de la cohorte permitirá establecer puntos de corte específicos con mayor robustez.

PÓSTERS DE PROTOCOLOS

Development of PolyFIL (Functional Immune Liquid Biopsy) for the surveillance of high-risk colorectal neoplasias

Gülce Bıçakcıoğlu, Pablo Mata-Martínez, Laura Bravo Robles, Jaime Fernández, Verónica Terron-Arcos, Mariana Tavecchia, Eduardo López-Collazo, Aurora Burgos, Ramón Cantero, Carlos del Fresno

Introduction: Patients with recurrent or high-risk colorectal polyps require surveillance based on invasive colonoscopy, highlighting the need for minimally invasive approaches capable of monitoring disease evolution and identifying patients at risk of progression. PolyFIL (Poly Functional Immune Liquid Biopsy) is a blood-based approach that combines functional activation of circulating immune cells with their multiparametric phenotypic characterization by 28-colour full-spectrum flow cytometry. In a previous study, PolyFIL allowed the differential identification of pretumor colorectal polyps and cancer in patients subjected to a first colonoscopy or clinical examination (PCT/EP2025/052243).

Objectives: To develop and characterize a multiparametric PolyFIL panel capable of capturing phenotypic and functional differences in circulating immune cells associated with colorectal neoplasia, to identify immune profiles that may distinguish patients with colorectal polyps from those with cancer, when subjected to colonoscopy surveillance after a first endoscopic examination.

Materials and Methods: Blood samples will be collected from patients subjected to colonoscopy surveillance during clinical follow-up. Peripheral blood mononuclear cells will undergo polyclonal activation and multiparametric flow cytometry analysis. The panel will combine lineage markers for identification of major immune cell populations, immune checkpoint markers to characterize their activation and regulation, and intracellular cytokine staining to assess functional immune responses following functional stimulation. Panel design and optimization will focus on robust identification of immune populations and evaluation of phenotypic and functional parameters that may discriminate between clinical groups.

Results: The optimized PolyFIL panel will be evaluated for its capacity to identify distinct immune profiles associated with colorectal polyps and cancer, assessing its potential as a blood-based signature of colorectal neoplasia.

Conclusions: PolyFIL may provide a minimally invasive approach for longitudinal monitoring and risk stratification of patients with colorectal pretumor and neoplastic lesions. Early identification of patients at higher risk of progression could contribute to personalized surveillance.

Protocolo de prescripción de autovacunas sublinguales para prevenir infecciones de repetición en pacientes inmunosuprimidos.

Carlos López de la Osa Bautista, Leire Martín Fernández, Irene Gutiérrez-Ramos, Celia Ferrez Hernández, Enrique García Barrera, Mario Morales Talavera, Margarita Gurkalo Stepanova, Ana de Andrés Martín.

Hospital Universitario Ramón y Cajal, Servicio de Inmunología.

Muchos fármacos inmunosupresores se han posicionado en los últimos años como una estrategia prometedora para tratar ciertas enfermedades reumatológicas. Sin embargo, la inmunosupresión que desencadenan puede favorecer el desarrollo de infecciones de repetición. Para evitarlo, muchos de estos pacientes reciben profilaxis antibiótica, con los potenciales efectos secundarios asociados y la posible contribución al desarrollo de resistencias a los antibióticos.

Sin embargo, la evidencia científica actual respalda el uso de inmunoterapias bacterianas (como los lisados bacterianos y las vacunas bacterianas polivalentes) para la prevención de dichas infecciones de repetición. Estas terapias actúan mediante la inmunidad entrenada, mejorando la respuesta del huésped tanto ante patógenos específicos como frente a una amplia gama de infecciones respiratorias y urinarias. En concreto, se trata de vacunas individualizadas diseñadas para inmunizar al paciente específicamente frente al microorganismo responsable de su infección (autovacunas), siempre y cuando sea posible recoger una muestra cultivable del foco infeccioso del paciente. Así, se han convertido en alternativas interesantes al uso de antibióticos.

Con este fin, presentamos un protocolo de prescripción de autovacunas sublinguales para pacientes reumatológicos inmunosuprimidos que puedan beneficiarse de ellas.

El criterio de selección será presentar más de tres infecciones de repetición: infecciones del tracto urinario, infecciones respiratorias con presencia de esputo o infecciones cutáneas purulentas. En caso de que el paciente cumpla el criterio, se derivará al servicio de Inmunología para su estudio. Una vez descartada una inmunodeficiencia severa que requiera el uso de inmunoglobulinas de reposición, el paciente podrá recibir la autovacuna sublingual.

Nueva guía ERS 2026 para el cribado y diagnóstico de GLILD en pacientes con IDVC: implicaciones para la práctica clínica

Ana Paulina Moncayo Muñoz, Facultativo Especialista del Servicio de Inmunología, Hospital General Universitario Gregorio Marañón.

Introducción: La enfermedad pulmonar intersticial granulomatosa-linfocítica (GLILD) es una complicación no infecciosa relevante de la inmunodeficiencia común variable (IDVC). La nueva guía de la European Respiratory Society (ERS), desarrollada en colaboración con ESID y ERN-RITA, aborda esta necesidad. Objetivos: Sintetizar las recomendaciones de la guía ERS para el cribado y diagnóstico de GLILD en pacientes con IDVC.

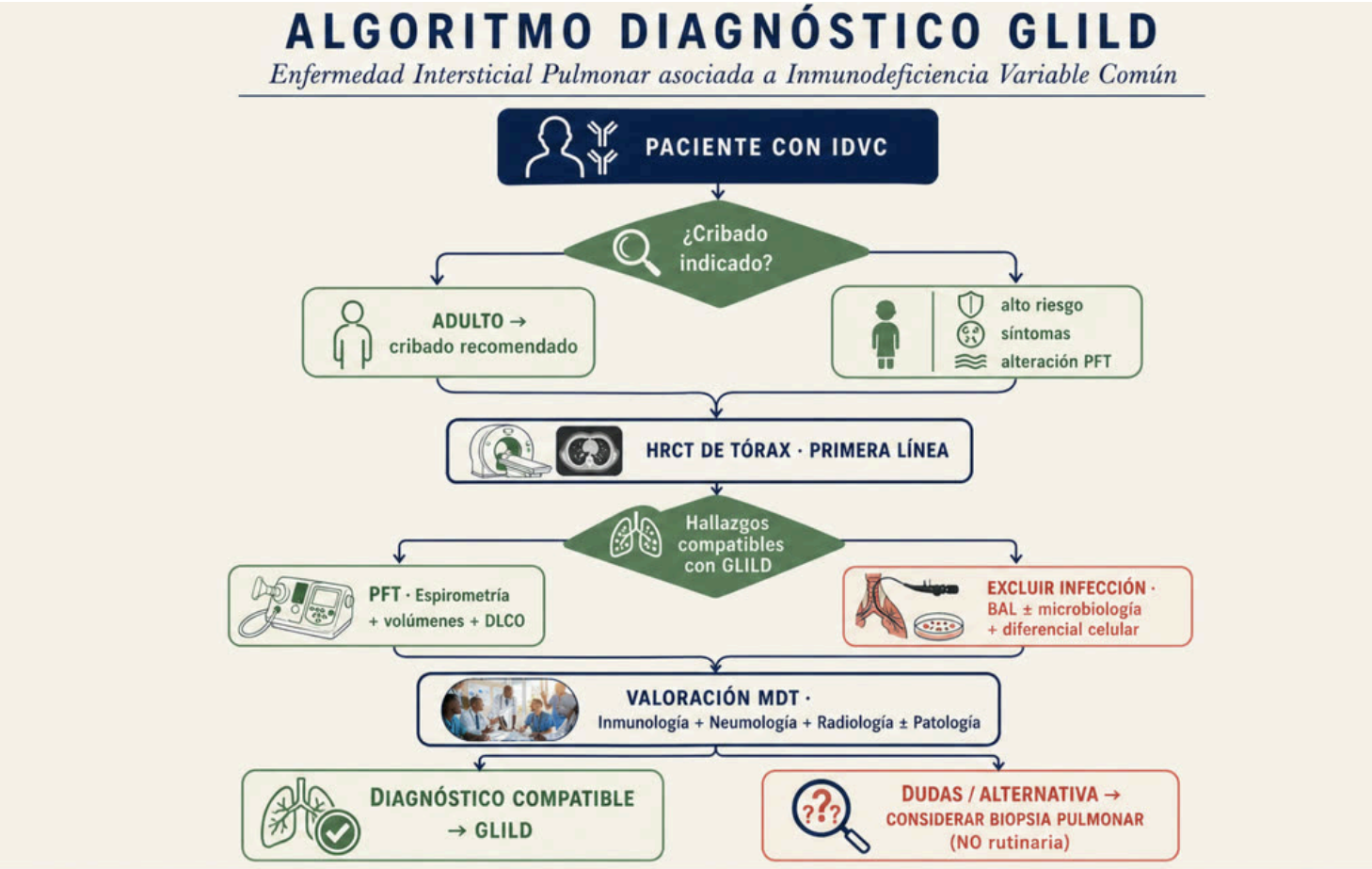
Materiales y Métodos: Se desarrolló una guía basada en evidencia y consenso mediante metodología GRADE. Se priorizaron siete preguntas clínicas de cribado y diagnóstico y se realizó una búsqueda sistemática de la literatura, con evaluación de la certeza de la evidencia y marcos Evidence-to-Decision.

Resultados: La guía establece nueve recomendaciones y dos Good Practice Statements. Recomienda el cribado de GLILD en todos los adultos con IDVC y en niños de alto riesgo, con síntomas respiratorios o alteración de la función pulmonar. La tomografía computarizada de alta resolución (HRCT) se propone como prueba de imagen de primera línea. Ante sospecha de GLILD se recomienda realizar pruebas de función pulmonar, incluyendo DLCO para valorar la afectación. No se recomiendan biomarcadores séricos de rutina. Debe excluirse infección pulmonar y se sugiere broncoscopia con lavado broncoalveolar (BAL); el recuento diferencial celular puede apoyar el diagnóstico, considerando la linfocitosis ≥15% como apoyo en contexto adecuado. La citometría del BAL, incluyendo CD21^low B, permanece como área de investigación. No se recomienda biopsia pulmonar rutinaria; debe considerarse ante hallazgos radiológicos inciertos o diagnósticos alternativos. Se recomienda valoración por un equipo multidisciplinar experto en GLILD.

Conclusiones: La nueva guía propone un diagnóstico integrador basado en contexto clínico, HRCT, función pulmonar, exclusión de infección y BAL, reservando biopsia para casos seleccionados. Su implementación puede homogeneizar el diagnóstico, aunque la certeza de la evidencia continúa siendo baja o muy baja.

Referencia: Bintalib HM, van de Ven AAJM, Rojas-Reyes MX, et al. Clinical Practice Guideline for the diagnosis of Granulomatous-Lymphocytic Interstitial Lung Disease (GLILD) in patients with Common Variable Immunodeficiency Disorders (CVID) – an ERS Clinical Research Collaboration. Eur Respir J. 2026; in press. doi:10.1183/13993003.02224-2025.

Nueva guía ERS 2026 para el cribado y diagnóstico de GLILD en pacientes con IDVC: implicaciones para la práctica clínica



Protocolo del Hospital Universitario Puerta de Hierro para implementar la técnica del empuje manual en los pacientes candidatos a terapia de reemplazo de inmunoglobulinas.

María José Suárez[1]; Manuel Serrano[1]; Carmen Jiménez[1]; Carmen Téllez[2]; Belén Menchén[3]; Javier Carbone[1]; Paulette Walo[1].
Servicio de Inmunología Hospital Universitario Puerta de Hierro, Majadahonda, Madrid.
Servicio de Reumatología Hospital Universitario Puerta de Hierro, Majadahonda, Madrid.
Servicio de Farmacia Hospital Universitario Puerta de Hierro, Majadahonda, Madrid.

La inmunoglobulina humana es el tratamiento sustitutivo estándar en pacientes con inmunodeficiencias primarias y secundarias que presentan alteraciones en la producción de anticuerpos. Las diferentes vías de administración y técnicas disponibles permiten individualizar el tratamiento con el objetivo de mantener una adecuada protección frente a infecciones, disminuir los efectos adversos sistémicos, reducir los tiempos de infusión y brindar mayor autonomía al paciente.

La administración de inmunoglobulina subcutánea (IgSC) mediante la técnica de empuje manual constituye una alternativa a la infusión de IgSC mediante bomba. Esta técnica puede resultar especialmente adecuada para pacientes seleccionados, al permitir la administración de la IgSC de forma sencilla, reduciendo el tiempo de infusión y sin depender de dispositivos específicos. Asimismo, mantiene las ventajas asociadas a la vía subcutánea, como una menor incidencia de efectos adversos sistémicos respecto a la administración intravenosa, y puede contribuir a reducir el coste sanitario.

El objetivo de este póster es describir el protocolo de administración de inmunoglobulina subcutánea mediante técnica de empuje manual implementado en el Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda, incluyendo criterios de selección de pacientes, principales contraindicaciones y precauciones, velocidad de infusión y recomendaciones de seguimiento.

Este protocolo pretende estandarizar la técnica de empuje manual de IgSC con el fin de facilitar su incorporación a la práctica clínica y garantizar una administración correcta y segura para el paciente.

Protocolo del Hospital Universitario Puerta de Hierro para implementar la técnica del empuje manual en los pacientes candidatos a terapia de reemplazo de inmunoglobulinas.

Figura 2 . Protocolo para estandarizar la técnica de empuje manual en el hospital Universitario Puerta de Hierro.

Figura 3. Esquema de monitorización de la infusión de IGSC.

Application of KASP for genotyping of SNPs by qPCR

Alejandro Chozas Hernández (1); Evelyn Cobos Paladines (1); Elena Goicoechea de Jorge (1)

1 : Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas - CSIC (CIB)

Introduction: Single nucleotide polymorphisms (SNPs) are among the most common sources of genetic variability and can influence protein function and susceptibility to disease. Their accurate detection is essential for genetic characterization in both biomedical research and clinical practice. Kompetitive Allele Specific PCR (KASP) is a fluorescence-based genotyping technology that enables rapid and reliable discrimination between homozygous and heterozygous genotypes. Objective: To describe the principles and workflow of the KASP genotyping protocol, explain its fluorescence-based allelic discrimination strategy, and evaluate its suitability as a rapid, accurate, and high-throughput method for SNP detection and genotype assignment.

Materials and Methods: KASP genotyping was performed to genotype of the CFH SNP rs6677604 located at c.1696+2019G>A using a LightCycler® 96 (Roche) instrument. For this, 96 DNA samples from a cohort of patients with ANCA-associated vasculitis was used.

Results: Here we describe the KASP genotyping protocol, a technique based on performing endpoint qPCR with two competing allele-specific primers, one common primer, and FAM/HEX fluorescence-based detection through FRET cassette chemistry. Fluorescence signals were acquired at the end of the amplification and visualized as scatter plots for genotype assignment. The results of the CFH SNP genotyping demonstrated that the KASP technology enables clear discrimination between homozygous (AA or GG) and heterozygous (AG) genotypes. Reliable genotype assignment was achieved when DNA concentration and assay validation requirements were met. The method allows the simultaneous analysis of up to 96 samples per plate with a total processing time of approximately 2–2.5 hours.

Conclusions: KASP is a rapid, accurate, reproducible, and high-throughput method for SNP genotyping. Its straightforward workflow, reliable fluorescence-based allelic discrimination, and scalability make it a valuable tool for genetic studies, biomarker validation, and clinical molecular diagnostics.

Desarrollo de una PCR-SSP para la determinación específica de HLA-B27

Beatriz Jiménez-Matías1; Sofía Garrido1,2; Susana Sánchez-López1, Natalia Gómez-Lozano1,3; Francisco Serrano-Martínez1,2,3

1Laboratorio de HLA-Inmunogenética. Servicio de Inmunología. Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda
2Laboratorio de Inmunogenética e Histocompatibilidad, Instituto de Investigación Sanitaria Puerta de Hierro – Segovia de Arana, Majadahonda, Spain.
3Laboratorio de Inmunidad y Linfoproliferativos, Instituto de Investigación Sanitaria Puerta de Hierro – Segovia de Arana, Majadahonda, Spain

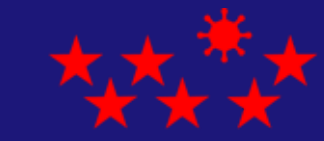
HLA-B27 se considera marcador de predisposición genética de espondiloartropatías reumáticas. Por su rapidez y bajo coste, la citometría de flujo es la técnica mayoritariamente empleada para su determinación en laboratorio. Sin embargo, su uso plantea problemas como: 1) ausencia de controles positivos adecuados; 2) necesidad de análisis rápido de la muestra y, 3) falsos positivos o resultados dudosos por reactividad cruzada de los monoclonales con otros antígenos HLA.

Nuestro laboratorio confirma este tipo de resultados con un kit comercial de tipificación HLA molecular, aumentando costes y el tiempo de respuesta, con lo que nos propusimos desarrollar una PCR-SSP para minimizarlos y evaluarla también como técnica principal para tipificar B*27.

Diseñamos cebadores específicos para amplificar 328 pb del gen y determinar su presencia/ausencia tras electroforesis en gel de agarosa. Como control interno, usamos cebadores que amplifican ~1000 pb de HLA-DRA. El programa de PCR y las concentraciones de la mezcla de reacción fueron estandarizadas previamente en nuestro laboratorio para otras SSP.

Ciento seis muestras, incluyendo todos los grupos antigénicos de HLA-B, excepto B*46, B*59 y B*81, fueron testadas tras tipificarse previamente con PCR-SSO o qPCR-SSP. La especificidad a B*27 tras la PCR-SSP se comprobó adicionalmente secuenciando algunos de los positivos obtenidos. No hubo falsos negativos, pero sí dos falsos positivos (Sensibilidad=100%; Especificidad=96,23%), asociados a la presencia de B*73.

Conclusiones:
1) A pesar de que nuestra PCR-SSP resultó coste-efectiva para determinar HLA-B*27 (ahorro del 70% respecto al kit comercial), el precio de la extracción de ADN la hace más costosa que la citometría.
2) Aunque la pareja de cebadores específicos excluye teóricamente la amplificación de B*73, se demuestra que, antes de incluir la técnica para su uso asistencial, es necesario evaluar todos los grupos antigénicos de HLA-B y diseñar estrategias adicionales para evitar los falsos positivos observados.



SICAM