

Leucocitos humanos expresan ARNm de la isoforma corta 1b del receptor de prolactina *Human leukocytes express prolactin receptor short isoform 1b mRNA*

F. Yúdica¹; R. Quiles¹; J. Mussi¹; C. Quintero¹; J.P. Mackern-Oberti^{1,2} y G. Recalde¹ ¹Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Juan Agustín Maza. Mendoza, Argentina. ²IMBECU CCT Mendoza, Argentina.

Contacto: gabrielamrecalde@gmail.com

Palabras clave: Receptor de Prolactina; Enfermedades Autoinmunes; Marcador Pronóstico
Key Words: *Prolactin Receptor; Autoimmune Diseases; Prognostic Marker*

Introducción: la prolactina (PRL) tiene múltiples acciones sobre el sistema inmune. La respuesta y sensibilidad de los diferentes tejidos a la PRL está dado principalmente por las características de su receptor. El desarrollo de nuevos test pronósticos para enfermedades autoinmunes basados en la expresión de ARNm de moléculas inhibitorias como por ejemplo PD-L1, CTLA-4 y receptores hormonales como receptor de prolactina (PRL-R) beneficiarán el buen uso de terapias. La expresión de las isoformas del PRL-R está regulada en forma diferencial durante la activación de linfocitos T para ayudar a limitar su respuesta; mientras que en enfermedades autoinmunes, esta regulación podría encontrarse alterada. La expresión disminuida del PRL-RC (forma corta) y aumentada del PRL-RL (forma larga) en pacientes con enfermedades autoinmunes podría ser una excelente herramienta clínica para evaluar la eficacia y pronóstico de nuevos tratamientos.

Objetivo: validar la determinación de ARNm para la isoforma corta del receptor de prolactina (PRL-RS1b) para su futura utilización como posible marcador pronóstico de enfermedades autoinmunes.

Metodología: para llevar a cabo nuestro objetivo se utilizó como control positivo de expresión de PRL-RL y control negativo de expresión de isoforma corta a una línea de cáncer mamario humano (MCF7). Además se utilizaron 3 muestras de leucocitos de sangre periférica de voluntarios sanos, los cuales fueron debidamente informados para su incorporación al protocolo, el cual se encuentra aprobado por el Comité de Bioética.-FCM-UNCuyo. Se obtuvo ARN total de todas las muestras analizadas mediante la técnica de TRIZOL. Luego se sintetizó ADN copia con posterior amplificación por PCR (30 ciclos de 95°C por 30 segundos (desnaturalización), 60°C por 30 segundos (annealing), 72°C por 30 segundos (extensión). Los productos fueron visualizados en geles de agarosa revelados con SYBRGold. Se utilizaron primers específicos para la isoforma larga del PRL-RL (Fw, CCTTGTC-CAGGTTGCTGCAAAA; Rv, AGATGAGCATCAAATCCTTTA), actina (Fw, AAAGACCTGTACGCCAACAC; Rv, GTCATACTCC TGCTTGCT GAT) y PRL-RS1b (Fw, TAAATGGTC TCCACCTACCCTGAT; Rv, CACCTCCAACAGAT-

GAGCATCAAATCC). La expresión de actina fue evaluada para corroborar la correcta purificación de ARN y síntesis de ADN copia para luego evaluar la presencia de ARNm de las diferentes isoformas del PRL-R.

Resultados: en primer lugar logramos satisfactoriamente determinar que células MCF7 expresan ARNm del PRL-RL, pero no así el PRL-RS1b lo cual sugiere que nuestra metodología es competente para la determinación de ARNm de las distintas isoformas. Posteriormente, las muestras provenientes de leucocitos humanos fueron procesadas de la misma manera observando que estas expresan ambas isoformas del PRL-R. Para nuestro conocimiento, se reporta por primera vez la presencia de PRL-RS1b de las muestras de leucocitos humanos.

Conclusiones: la expresión de PRL-RS1b en leucocitos indica que éste podría inhibir la activación celular inducida por prolactina mediada por PRL-RL-prolactina. En pacientes con enfermedades autoinmunes se desconoce cómo se encuentra la expresión de ARNm de PRL-RS1b indicando que podría ser utilizada como biomarcador de autoinmunidad.