

Resumen # 184

NETosis de neutrófilos y eosinófilos en un estudio de la citología bronquial en la Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica. Implicancias fisiopatogénicas y terapéuticas.

¹Uribe Echevarría EM, ²García LN, ²Leimgruber C, ¹García González JA, ¹Nevado A, ²Quintar AA, ²Maldonado CA
¹Sanatorio Allende (centro); ²Centro de Microscopía Electrónica, FCM.INICSA-CONICET-UNC

Área:

Clínico / Quirúrgica

Resumen:

Introducción: La importancia de la Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica (EPOC) como causa de morbi-mortalidad aumenta cada década. La inflamación neutrofílica crónica de la vía aérea puede estar presente en fumadores, desconociéndose el proceso que lleva al deterioro en 20% de los pacientes que deja de fumar. En otras patologías crónicas pulmonares se ha descrito un mecanismo de muerte del neutrófilo llamado NETosis, que consiste en la descondensación y extrusión de la cromatina para formar redes extracelulares (NETS) bactericidas, formadas por DNA y proteínas granulares. Sin embargo, escasamente se conoce acerca de este fenómeno en la fisiopatogenia de la EPOC. **Objetivos:** evaluar la NETosis en EPOC y correlacionarla con los perfiles clínicos.

Materiales y Métodos: Se analizaron muestras de esputo de fumadores sanos de más de 20 P/Y, y de pacientes EPOC en los diferentes estadios (GOLD 2014), de ambos sexos, mayor o igual a 60 años y no tratados. La NETosis se identificó por microscopía electrónica e inmunofluorescencia (colocalización de elastasa con ADN identificado con DAPI).

Resultados: Fumadores sanos (FS, n=5) y pacientes EPOC A (n=4) presentaron neutrófilos activos y con frecuencia apoptóticos, sin registrarse NETosis; en cambio, pacientes EPOC B (n=7), C (n=9) y D (n=10) mostraron numerosos neutrófilos en NETosis y/o en estado "prenetótico" identificados morfológicamente. Además, en pacientes cuya celularidad incluía tanto eosinófilos como neutrófilos, se observaron imágenes de NETosis de ambos tipos celulares, resultando en mayor destrucción celular. Al reclasificar los pacientes según fenotipos celulares en eosinofílicos (Eo), neutrofílicos (Neu), mixtos (M), y paucigranulocitos (Pg) encontramos que la mayor parte de los FS y EPOC A fueron Neu o Pg mientras que los grupos EPOC B-D eran Eo o Neu-Eo.

Discusión: NETosis fue un hallazgo constante en EPOC de mayor gravedad, mientras que EPOC A y FS sólo presentaron neutrófilos activos o apoptóticos. La NETosis en eosinófilos es un hallazgo novedoso, cuya aparente contribución al deterioro tisular marca la importancia de evaluar el estado inflamatorio del fumador, clínicamente considerado sano en el momento de abandonar el tabaquismo; proporciona además, un importante objetivo potencial para una terapéutica específica que contribuya a evitar la progresión de la enfermedad.

Palabras Clave:

EPOC, neutrófilos, eosinófilos, NETosis, fumador sano

Neutrophil-eosinophil NETosis in a study of COPD bronchial cytology: therapeutic and physiopathogenic implications

¹Uribe Echevarría EM, ²García LN, ²Leimgruber C, ¹García González JA, ¹Nevado A, ²Quintar AA, ²Maldonado CA
¹Sanatorio Allende (centro); ²Centro de Microscopía Electrónica, FCM.INICSA-CONICET-UNC

Abstract:

Introduction: Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD) is worldwide escalating with high burden of morbi-mortality. Chronic neutrophilic airways inflammation can be present in smokers, however, the causes why only 20 % of smokers develop COPD are still lacking. In others chronic pulmonary diseases, a new neutrophil death mechanisms called NETosis has been described; it consists in chromatin decondensation and extrusion to form bactericides extracellular traps (NETS) formed by DNA and granule proteins. However, scarce knowledge is available about the importance of this process in COPD physiopathogenic. Therefore, the objective of this paper was to evaluate NETosis in COPD and correlate its presence with clinical profiles.

Materials and methods: Induced sputum was collected from healthy smokers, more than 20 pack/year, and different COPD stadium patients (GOLD 2014), both sex, >60 years old and treatment naïve. NETosis was identified by electron microscopy and immunofluorescence to colocalise elastase and DAPI-stained DNA.

Results: Healthy smokers (HS, n=5) and COPD A patients (n=4) exhibited active neutrophils and frequently apoptotic, but no NETosis was registered; by contrast, COPD B patients (n=7), C (n=9) and D (n=10) exhibited numerous netotic neutrophils or a "pre-netotic" state as identified by morphologic parameters. Furthermore, in patients whose induced sputum cellularity included eosinophils as well as neutrophils, both cell types exhibited NETosis, which resulted in a higher cellular destruction. We then reclassified patients according to the cellular phenotype in eosinophilic (Eo), neutrophilic (Neu), mixes (M), and paucigranulocytic (Pg) and found that most of HS and COPD A patients were Neu or Pg; meanwhile, COPD B-D were Eo or M cellular predominance.

Discussion: These results indicate that NETosis was a constant finding in patients with higher COPD severity, while COPD A and HS only exhibited very active neutrophils and some apoptotic ones. Eosinophils NETosis was a novel finding, with apparent contribution to the tissue deterioration, which indicates the importance of the inflammation evaluation in the smoker, considered as healthy according to clinical at the moment of quit smoking; besides, it provides an important potential target for a specific therapeutic that could prevent the illness progression.

Keywords:

COPD, neutrophils, eosinophils, NETosis, healthy smoker