

Resumen #261

Neutrófilos humanos de pacientes con serología positiva para Chagas en cultivo autólogo.

<sup>1</sup>Rodríguez FM, <sup>1</sup>Orquera AD, <sup>1</sup>Maturano MR, <sup>1</sup>Infante NS, <sup>1</sup>Novak ITC

<sup>1</sup>Instituto de Biología Celular, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba

**Área:**

Clínico / Quirúrgica

**Resumen:**

Los leucocitos neutrófilos o polimorfonucleares (PMN) cumplen una función crucial en la protección contra las infecciones y recientes evidencias sugieren que participan en un rol clave en los mecanismos efectores y reguladores de las respuestas innatas y adaptativas (Mantovani et al., 2011; Phillipson and Kubes, 2011). En la actualidad existe controversia en cuanto a la vida media de estas células (Kolaczowska y Kubes, 2013). En condiciones inflamatorias, los PMN pueden liberar trampas extracelulares neutrófilas (NETs) (Brinkmann et al, 2004, Kolaczowska y Kubes, 2013) compuestas por cromatina, histonas y proteínas granulares, que en ocasiones conducen a NETosis. Objetivos: realizar un estudio ultraestructural para observar la morfología de los PMN en relación a características de viabilidad, apoptosis o NETosis, en diferentes tiempos de cultivo autólogo en personas sanas y con serología positiva para Chagas que donan sangre al Banco de Sangre de la UNC. A partir de muestras de sangre humana sana (n=10) y con serología positiva para Chagas (n=6), anticoagulada con Heparina (donadas por Banco de Sangre, UNC, en anonimato, con datos de serología) se realizaron cultivos leucocitarios autólogos en medio TC199 (SIGMA, St. Louis, MO). Las muestras de cultivo celular a 1, 3, 20, 24 y 48 h se sometieron a tinciones estándares, H/E, ATO, Giemsa para microscopía óptica y a técnicas de procesamiento para el estudio ultraestructural con microscopio electrónico MET: Zeiss LEO-906E. Resultados: en muestras de cultivos de personas con serología positiva para Chagas se observaron PMN con características ultraestructurales de viabilidad en todos los tiempos aún a 48h; en un caso se observó una imagen compatible con NETosis. En personas sanas, a partir de las 3 h de cultivo se observan imágenes de apoptosis y a las 20 h, la mayoría de los PMN exhibieron características apoptóticas. Abrimos interrogantes para ulteriores estudios: qué estímulos contribuyen a aumentar la vida media de los PMN en Chagas, cuáles inducen a NETosis?, esta NETosis es "vital" o "suicida"?

**Palabras Clave:**

neutrófilos humanos, polimorfonucleares, cultivo celular, Chagas

Neutrophils of patients with Chagas positive serology in autologous culture.

<sup>1</sup>Rodríguez FM, <sup>1</sup>Orquera AD, <sup>1</sup>Maturano MR, <sup>1</sup>Infante NS, <sup>1</sup>Novak ITC

<sup>1</sup>Instituto de Biología Celular, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba

**Abstract:**

Neutrophils or polymorphonuclear (PMN) leukocytes play a crucial role in protecting against infections and recent evidence suggests that they are involved in a key role in effector and regulatory mechanisms of the innate and adaptive responses (Mantovani et al., 2011; Phillipson and Kubes, 2011). Currently there is controversy about the half life of these cells (Kolaczowska and Kubes, 2013). In inflammatory conditions, PMN can release neutrophil extracellular traps (NETs) (Brinkmann et al, 2004, Kolaczowska and Kubes, 2013) composed of chromatin, histones and granule proteins, which sometimes lead to NETosis. Objectives: perform an ultrastructural study to observe the morphology of PMN in relation to characteristics of viability, apoptosis, or NETosis, at different times of autologous culture in healthy people and with positive serology for Chagas who donate blood to the blood bank of the UNC. From healthy human blood samples (n = 10) and with positive Chagas serology (n = 6) anticoagulated with heparin (donated by the blood bank, UNC, in anonymity, with serology data) autologous leukocyte cultures were performed in TC199 medium (SIGMA, St. Louis, MO). Samples of cell culture to 1, 3, 20, 24 and 48 h were subjected to stains standard, H/E, ATO, Giemsa microscopy and processing techniques for ultrastructural study with an electron microscope MET: Zeiss LEO-neoi. Results: in culture samples with positive serology for Chagas PMN were observed ultrastructural features of viability at all times even at 48h; in one case it was observed an NETosis-compatible image. In healthy people, after 3 h of culture were observed images of apoptosis. Most of PMN after 20 h showed apoptotic characteristics. We open questions for further study: what stimuli contribute to increase the half-life of PMN in Chagas? which stimuli induce to NETosis?, is this NETosis "vital" or "suicide"?

**Keywords:**

human neutrophils, polymorphonuclears, cell culture, Chagas