

Resumen #559

HLA-DR EN PMNs EN CULTIVOS AUTOLOGOS DE LEUCOCITOS TOTALES HUMANOS CON SEROLOGIA POSITIVA PARA CHAGAS ESTIMULADOS CON LPS

¹Rodriguez FM, ¹Rinero R, ¹Reyna MV, ²Vargas AH, ²Carabajal Miotti CL, ²Gonzalez Silva NE, ²Ruiz de Frattari SG, ³Novak ITC

¹Instituto de Biología Celular, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba; ²Instituto de Hematología y Hemoterapia, Universidad Nacional de Córdoba; ³Instituto de Biología Celular, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba

Persona que presenta:

Rodriguez FM, danduscba@hotmail.com

Área:

Básica

Resumen:

Las células T sólo reconocen antígenos que se presentan sobre las superficies celulares en el contexto de moléculas del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH) Clase I y Clase II. Las dos clases de moléculas de CMH se expresan en forma diferencial en las células. Las células presentadoras de antígenos profesionales (CPAs) expresan moléculas Clase II, además de los linfocitos T activados. La estimulación con LPS, puede inducir la expresión de las moléculas HLA-DR (CMH Clase II). Nuestro objetivo fue observar su expresión en neutrófilos polimorfonucleares (PMNs) en interacciones celulares en cultivo. A partir de muestras controles de sangre humana sana (n=10) y muestras con serología positiva para Chagas (n=6), anticoagulada con Heparina (en anonimato, con datos de serología) consentimiento informado aprobado por Comité de Etica, Hospital Nacional Clínicas, R169/13, se realizaron cultivos leucocitarios autólogos en medio TC199 (SIGMA, St. Louis, MO) y estimulación in vitro con LPS (Sigma-Aldrich) 25 ng/ml a 37 °C en estufa gaseada, 30 minutos y otras controles sin estimulación. Las muestras a 30 min y 24 horas se sometieron a técnica de Inmunofluorescencia para HLA-DR (FITC; Santa Cruz Biotechnology), a 4 °C toda la noche. Tinción nuclear con DAPI (4,6'-diamidino-2-phenylindole) (Sigma, St Louis, MO). Algunas muestras se procesaron para estudio ultraestructural de interacciones celulares en cultivo, MET: Zeiss LEO-906E. Resultados: La estimulación con LPS, indujo la expresión de las moléculas HLA-DR (CMH Clase II) en PMNs y en muestras de serología para Chagas se observó mayor número de linfocitos HLA-DR + (p <0,001, test t para muestras apareadas). Se observaron interacciones entre PMNs y linfocitos y estos últimos presentaron citoplasma abundante, y polarización de mitocondrias. Conclusiones: Los aspectos ultraestructurales revelan signos de activación celular en muestras chagásicas e interacciones entre PMNs y linfocitos. La expresión de HLA-DR en PMNs podría implicar presentación de antígenos vía Clase II.

Palabras Clave:

HLA-DR, CMH Clase II, PMN, leucocitos, Chagas

HLA-DR IN PMNs IN AUTOLOGOUS CULTURE OF TOTAL HUMAN LEUKOCYTES WITH POSITIVE SEROLOGY FOR CHAGAS DISEASE
STIMULATED WITH LPS

¹Rodriguez FM, ¹Rinero R, ¹Reyna MV, ²Vargas AH, ²Carabajal Miotti CL, ²Gonzalez Silva NE, ²Ruiz de Frattari SG, ³Novak ITC

¹Instituto de Biología Celular, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba; ²Instituto de Hematología y Hemoterapia, Universidad Nacional de Córdoba; ³Instituto de Biología Celular, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba

Persona que presenta:

Rodriguez FM, danduscba@hotmail.com

Abstract:

T cells only recognize antigens that appear on cell surfaces in the context of Class I and Class II Major Histocompatibility Complex (MHC) molecules. The two classes of MHC molecules are differentially expressed in cells. Activated human T lymphocytes express Class II molecules in addition professional antigen presenting cells (APCs). LPS stimulation can induce the expression of HLA-DR molecules (MHC Class II) and our aim was to observe their expression in polymorphonuclear neutrophils (PMNs) in cellular interactions in culture in blood samples for positive Chagas serology. From healthy human blood samples (n = 10) and samples with positive serology for Chagas (n = 6), anticoagulated with Heparin (in anonymity, with serology data) with ethical consent according to procedures approved by ethical committee of National Hospital Clinicas R169/13, autologous leukocyte cultures were performed in TC199 medium (SIGMA, St. Louis, MO) and in vitro stimulation with LPS (Sigma-Aldrich) 25 ng / ml at 37 ° C in a gaseous stove, 30 minutes and other controls without stimulation. Samples at 30 min and 24 hours were performed with HLA-DR Immunofluorescence (FITC; Santa Cruz Biotechnology) technique at 4 ° C overnight. Nuclear staining with DAPI (4,6'-diamidino-2-phenylindole) (Sigma, St. Louis, MO). Some samples were processed for ultrastructural study of cell interactions in culture with MET: Zeiss LEO-906E. Results: LPS stimulation induced expression of HLA-DR (MHC Class II) molecules in PMNs and samples for positive Chagas serology showed a higher number of HLA-DR + lymphocytes (p <0.001, t-test for paired samples). Interactions between PMNs and lymphocytes were observed and the latter showed abundant cytoplasm, and polarization of mitochondria. Conclusions: The ultrastructural aspects reveal signs of cellular activation in chagasic samples and interactions between PMNs and lymphocytes. Expression of HLA-DR in PMNs could involve antigen presentation via Class II

Keywords:

HLA-DR, MHC Class II, PMN, leukocytes, Chagas