

Resumen #863

Dinámica mitocondrial, beta-tubulina y trampas extracelulares en cultivos autólogos de leucocitos humanos estimulados con LPS

¹Rinero R, ¹Reyna MV, ¹Rodríguez FM, ¹Novak ITC

¹Instituto de Biología Celular- Cátedra Biología Celular, Histología y Embriología. FCM-UNC,

Persona que presenta:

Rodríguez FM, danduscba@gmail.com

Área:

Básica

Resumen:

La endotoxemia producida por los efectos de endotoxinas tales como LPS (lipopolisacáridos) en la circulación sanguínea lleva a la inflamación en múltiples órganos. Las trampas extracelulares (TEs) son estructuras de cromatina y proteínas intracelulares las cuales son extruidas en leucocitos en condiciones inflamatorias. Algunos componentes proteicos del citoesqueleto han sido descritos en las trampas, pero la presencia de beta-tubulina no ha sido reportado. No todas las TEs son creadas igual, esto depende de la fuente de estimulación. Las mitocondrias son consideradas actualmente con funciones reguladoras de la inmunidad innata y adaptativa y son determinantes en los fenotipos que adoptan las células inmunes en sus respuestas. Objetivos: generar TEs en cultivos de leucocitos desafiados con LPS y realizar el marcado de beta-tubulina y por otra parte, observar las características morfológicas de las mitocondrias en linfocitos en el ensayo con LPS.

Cultivos autólogos a partir de muestras de sangre humana sana (n=10) con consentimiento ético (HNC, FCM), anticoagulada con heparina fueron estimulados con 25ng/ml LPS, 30 minutos. Técnica de inmunofluorescencia con anticuerpos anti-beta tubulina, tinción DNA con DAPI. Muestras sanguíneas apareadas proveyeron los controles. Sedimentos celulares de los cultivos fueron estudiados con microscopía electrónica de transmisión.

Moléculas de beta-tubulina fueron localizadas en las TEs. Se observó alteración de morfología mitocondrial de linfocitos en las muestras con LPS con incremento en tamaño y complejidad de las crestas con imágenes electrolúcidas (test t para muestras apareadas, p<0,001).

La expresión de beta-tubulina aporta al mejor entendimiento de la composición de las TEs generadas por LPS y puede tener significancia como blanco terapéutico. Esto es similar en las TEs gatilladas por diferentes estímulos? Los cambios en la morfología de las mitocondrias conducen al mejoramiento o al deterioro de las funciones linfocitarias? Ulteriores experimentos son necesarios para dilucidar esto.

Palabras Clave:

trampas extracelulares; mitocondrias; leucocitos

-Mitochondrial dynamic, beta-tubulin and extracellular traps in autologous cultures of human leukocytes stimulated with LPS

¹Rinero R, ¹Reyna MV, ¹Rodríguez FM, ¹Novak ITC

¹Instituto de Biología Celular- Cátedra Biología Celular, Histología y Embriología. FCM-UNC,

Persona que presenta:

Rodríguez FM, danduscba@gmail.com

Abstract:

The endotoxemia produced by the effects of endotoxins such as LPS (lipopolysaccharides) in the blood circulation leads to inflammation in multiple organs. Extracellular traps (ETs) are structures of chromatin and intracellular proteins which are extruded in leukocytes under inflammatory conditions. Some protein components of the cytoskeleton have been described in the traps, but the presence of beta-tubulin has not been reported. Not all ETs are created equal, this depends on the source of stimulation. Mitochondria are currently considered to have regulating functions of the innate and adaptive immunity and they are determinants in the phenotypes that immune cells adopt in their responses. Objectives: to generate ETs in cultures of leukocytes challenged with LPS and to carry out the beta-tubulin labeling; on the other hand, to observe the morphological characteristics of mitochondria in lymphocytes in the LPS assay.

Autologous cultures from healthy human blood samples with ethical consent (HNC, FCM), anticoagulated with heparin were stimulated with 25ng / ml LPS for 30 minutes. We performed immunofluorescence technique with anti-beta tubulin antibodies, DNA staining with DAPI. Paired blood samples provided the controls. Cell pellets of the cultures were studied with transmission electron microscopy.

Beta-tubulin molecules were localized in ETs. Alterations of the mitochondrial morphology of lymphocytes were observed in the samples with LPS with an increase in size and complexity of the membranal ridges with electro-lucid images ($p < 0.001$).

The expression of beta-tubulin contributes to the better understanding of the composition of the ETs generated by LPS. Is this similar in those ETs triggered by different stimuli? Changes in the morphology of mitochondria lead to the improvement or deterioration of lymphocyte functions? Further experiments are necessary to elucidate this question.

Keywords:

-extracellular traps; mitochondria; leukocytes