



XXVI Comunicaciones Científicas y Tecnológicas

Orden Poster: CA-012 (ID: 1908)

Autor: Alegre Brunel, Fernando Marcelo

Título: Inmunohistoquímica para la detección de Linfocitos Th1 en citologías de nódulos linfoides de caninos infectados con Leishmania sp.

Director: Catuogno, María Silvia

Palabras clave: INMUNOHISTOQUIMICA, LEISHMANIA, LINFOCITOS

Área de Beca: Cs. Agropecuarias

Tipo Beca: Cyt - Pregrado

Periodo: 01/03/2021 al 28/02/2022

Lugar de trabajo: Facultad De Cs. Veterinarias

Proyecto: (18B001) Determinación del tipo de respuesta inmune al tratamiento con inmunomodulador en pacientes caninos infectados naturalmente con Leishmania sp.

Resumen:

La Inmunohistoquímica (IHQ) es una técnica que permite detectar in situ antígenos por medio de anticuerpos específicos (inmuno), empleando para ello sistemas de detección enzimáticos (histoquímica). La IHQ tiene su antecedente en la inmunofluorescencia, y, representó un gran avance en el campo de la Biología Celular y la Histología y es sin dudas la técnica con mayor impacto en la práctica de la Anatomía Patológica Moderna. La citología ha experimentado un gran desarrollo en los últimos años y se ha convertido en una herramienta diagnóstica de primer orden, proporcionando muchas veces diagnósticos definitivos y precisos.

La principal ventaja sobre otras técnicas que también ocupan anticuerpos como herramientas de trabajo como ser RIA, Western blot, ELISA, etc; es que en la IHQ se conservan las relaciones entre los distintos componentes en estudio y sobre todo permite la identificación celular. Las técnicas inmunocitoquímicas permiten precisar el diagnóstico citológico en un 76% de los casos. El desarrollo de la IHQ hizo que se hablase de la "revolución marrón" por el empleo de la diaminobenzidina como cromógeno. La sensibilidad de la técnica hace referencia a la cantidad mínima de antígeno que una técnica IHQ puede detectar. Una técnica con alta sensibilidad es capaz de detectar cantidades muy pequeñas de antígeno.

En cuanto a la Leishmaniosis Visceral (LV) se refiere, esta es una enfermedad sistémica crónica severa causada por *Leishmania donovani* o *Leishmania infantum*. Es transmitida a huéspedes humanos y animales a través de la picadura de moscas hembras del género *Phlebotomus* en el Antiguo Mundo y *Lutzomyia* en el Nuevo Mundo. En la patogenia están involucradas las Células Dendríticas (CD) y hay estudios realizados que describen la presencia de parásitos de *Leishmania* en CD de hospedadores infectados. Las CD cumplen un papel esencial como APC (Células Presentadoras de Antígenos) siendo un nexo entre las respuestas inmunitarias innatas y las adquiridas. Las células precursoras de CD se producen en la médula ósea y circulan hacia los tejidos donde residen como células inmaduras con una alta capacidad fagocítica. Durante el contacto con *Leishmania*, las CD inmaduras interaccionan a través de sus receptores con diversos antígenos de *Leishmania*. Después de la interacción entre los parásitos y las CD, éstas sufren un proceso de maduración durante el cual aumentan la expresión en superficie de MHC (Complejo Mayor de Histocompatibilidad) de tipo I y II, así como de moléculas coestimuladoras. Las CD infectadas son capaces de sintetizar IL-12 (a diferencia de los macrófagos), que conduce a la generación de un perfil de tipo Th1. Dependiendo del tipo de sinapsis que se establezcan se promueven unos u otros fenotipos *Leishmania*-específicos de tipo Th1/Th2 (TCD4+), citotóxico (TCD8+) o supresor (Treg)1.

Se trabajó con muestras obtenidas de caninos. Las muestras se obtuvieron mediante punción aspiración con aguja fina (PAAF) provenientes de Nódulos Linfoides. El material obtenido se colocó sobre portaobjetos previamente tratados con polilisina para evitar que el material se desprenda durante el procedimiento. La aplicación se realizó de manera continua hasta su secado total. Con las muestras de NL obtenidas por PAAF se comenzó a realizar la técnica de inmunocitoquímica.

Dada la condición actual por la que atravesamos debido a la pandemia por COVID-19. Se aprendió a realizar la técnica inmunohistoquímica así como también la preparación de todos los diluyentes y reactivos necesarios para llevar a cabo la técnica. No se alcanzaron a procesar todas las muestras por lo tanto, hasta el momento, no presentamos resultados preliminares. A mediados de Abril 2021 reanudamos el procesamiento de las muestras para obtener los resultados pertinentes a la brevedad posible. Por otra parte, durante toda la pandemia se realizó una intensa búsqueda bibliográfica.