Otro - Póster

Rol de los exosomas de fibroblastos infectados por *Trypanosoma cruzi* en la diferenciación hacia miofibroblastos.

Poulakidas, S. , Pérez Brandán, C , Acuña, L , Parodi, C , Mesías, A

Instituto de Patología Experimental "Dr. Miguel Ángel Basombrío", CONICET -
Universidad Nacional de Salta, Salta, Argentina.

Contacto: *andreamesias@gmail.com*

La enfermedad de Chagas, causada por el parásito *Trypanosoma cruzi* y considerada por la OMS como una de las enfermedades tropicales desatendidas, es endémica de Latinoamérica y responsable de ~12.000 muertes anuales. Presenta dos fases distintivas: aguda y crónica, esta última, puede evolucionar hacia la cardiopatía chagásica caracterizada por el debilitamiento de la musculatura cardíaca por reducción de la contractibilidad debido a la sobreproducción de matriz extracelular (ECM). Los fibroblastos (Fb) son células que forman parte del tejido conectivo en numerosos órganos y en el corazón, representan el tipo celular más abundante luego de los miocitos. Si bien su función más característica es su participación en la cicatrización de heridas, cada vez se valora más su rol en la inmunidad frente a agentes infecciosos. Estas células, durante el proceso natural de reparación de tejidos, se diferencian en miofibroblastos (mioFb) con elevada producción de ECM. La fibrosis representa la versión patológica de este fenómeno. Los exosomas son un tipo de vesículas extracelulares (EVs) de 30-150 nm de diámetro, producidos por todas las células, que actúan como mediadores de la comunicación intercelular. Así, el presente trabajo tiene como objetivo principal evaluar los efectos de los exosomas producidos por Fb de la línea L929 infectados con parásitos de la cepa TCC de *T. cruzi*, en la diferenciación de Fb hacia mioFb, fenotipos altamente productores de ECM, para aproximarnos a la comprensión del rol de estas EVs en la patología fibrótica. Los exosomas se obtuvieron mediante ultracentrifugación del medio condicionado del cultivo celular, tanto de Fb infectados con *T. cruzi* (EXOSFb+Tc) como de Fb no infectados (EXOSFb). Brevemente, el medio condicionado se filtró, concentró empleando membranas de ultrafiltración, y se ultracentrifugó en un gradiente de iodixanol. Se aislaron las fracciones correspondientes a la densidad de los exosomas (1.1- 1.2 g/ml), y se confirmó su identidad por TEM y Western Blot. Posteriormente, los Fb L929 fueron estimulados con exosomas aislados (4 µg/ml) durante 24 h y se evaluaron distintos marcadores de diferenciación celular. Luego, se evaluó si los exosomas modifican el porcentaje de células en apoptosis empleando como indicador la condensación de la cromatina (picnosis). Además, se evaluaron posibles cambios morfológicos hacia mioFb mediante SEM, y finalmente se evaluó si ocurrieron cambios en la proliferación celular de fibroblastos y en la producción de citoquinas. Nuestros resultados preliminares indican que los Fb tratados con EXOSFb+Tc presentaron menores porcentajes de picnosis respecto de los tratados con exosomas control (4.83% vs. 9.20%,

respectivamente, $p < 0.05$). Esto sugiere una posible mayor diferenciación de los fibroblastos hacia miofibroblastos a partir del estímulo con EXOSFb+Tc, ya que en éstos últimos se reportó una menor susceptibilidad a la apoptosis. Mientras que, a nivel de la morfología, se observaron mayormente células de forma estrellada o fusiforme, típica de los Fb. Si bien aún no podemos concluir de manera definitiva si estos exosomas afectan la diferenciación de Fb, es interesante destacar que las diferencias observadas a nivel de la apoptosis podrían sugerir que estas vesículas transportan señales diferentes cuando provienen de células infectadas con *T. cruzi*. Es decir que, estas células podrían ser capaces de responder ante la infección produciendo un “mensaje” diferente. Esperamos, en un futuro cercano, profundizar en nuestra comprensión del efecto de los EXOSFb+Tc en la diferenciación de los Fb, mediante el análisis de otros parámetros relevantes, como las variaciones en la migración celular, en la producción de α -actina y en los niveles de síntesis de colágenos para así determinar el rol de los exosomas producidos por estas células en el desarrollo de la patología en la enfermedad de Chagas.