

2010 Octubre, 2(1): 1-1

ALFA HEMOLISINA INDUCE UN AUMENTO DE CALCIO ERITROCITARIO: Estudio por FLIM (Fluorescence Lifetime Imaging Microscopy)

Autores: Susana Sanchez¹, Laura Bakás², Enrico Gratton² and Vanesa Herlax²

Lugar de trabajo: (1) Laboratory for Fluorescence Dynamics, University of California-Irvine, Irvine, CA

(2) Instituto de Investigaciones Bioquímicas La Plata (INIBIOLP), CCT-La Plata, CONICET, UNLP, Argentina.

e-mail de contacto: vherlax@aetos.med.unlp.edu.ar

Introducción

Alfa hemolisina (HlyA), miembro representativo de la familia de toxinas RTX (**R**epeat in **t**oxin), es una toxina proteica que ciertas cepas patógenas de *E.coli* secretan específicamente al medio. Está demostrado que la toxina es un factor importante de virulencia en enfermedades extraintestinales. Además, se ha determinado que el desarrollo de falla renal aguda aumenta significativamente la mortalidad en pacientes con shock séptico producido por bacterias Gram negativas, en los que distintos factores de virulencia, entre ellos hemolisina, contribuyen al desarrollo de sepsis inducida por *E.coli*. A altas concentraciones la toxina produce lisis de varias células, entre ellas, eritrocitos, granulocitos, monocitos, células endoteliales y epiteliales renales; mientras que a bajas concentraciones induce la producción de citoquinas y apoptosis. Eriptosis, la apoptosis del eritrocito, puede ser inducido por varias toxinas y el aumento de calcio intracelular es el desencadenante de dicho proceso.

Objetivo

Es en este contexto, que se estudió el cambio de las concentraciones de calcio intraeritrocitario en función del tiempo, a eritrocitos incubados con concentraciones sublétricas de toxina.

Materiales y Métodos

Los cambios de calcio se siguieron por cambios en la vida media de fluorescencia de un marcador de calcio (Calcium green 1) por microscopía de dos fotones. Se realizaron medidas en el tiempo, después de incubar los eritrocitos conteniendo la sonda con concentraciones sublétricas de HlyA. Los resultados fueron analizados usando la representación del fasor.

Resultados

Los datos muestran un incremento de calcio intraeritrocitario inducido por HlyA en los primeros 72 segundos. Las concentraciones de dicho catión aumentan desde 40 nM hasta 200 nM.

Conclusiones

A partir de los resultados encontrados nos proponemos determinar si el ingreso de calcio ocurre a través del poro formado por la toxina o por la activación de canales de calcio existentes en el eritrocito.