

2016 Diciembre, 6(5): 1-1

## LIBERACIÓN DE MICROVESÍCULAS DE ERITROCITOS TRATADOS CON ALFA HEMOLISINA DE *E. COLI*

Karen Strack<sup>1</sup>, Sabina Maté<sup>1</sup> y Vanesa Herlax<sup>1</sup>.

1- INIBIOLP, Facultad de Ciencias Médicas.

[vherlax@med.unlp.edu.ar](mailto:vherlax@med.unlp.edu.ar)

### Introducción

Alfa hemolisina (**HlyA**) pertenece a una familia de toxinas denominadas RTX (Repeat in toxins), y es uno de los factores de virulencia de las cepas uropatógenas de *E. coli*. HlyA, al igual que muchas de las toxinas de esta familia, debe ser acilada en dos residuos internos de Lys en el interior de la bacteria antes de ser secretada al medio. Esta modificación postraduccional hace que la toxina pase de la forma inactiva (ProHlyA), sin acilar, a una proteína activa acilada (HlyA). En los últimos años hemos estudiado los efectos que produce esta toxina a los eritrocitos a concentraciones subletales. Hemos encontrado que induce un aumento bifásico de calcio [1], que produce la activación de calpaínas que degradan proteínas del citoesqueleto; siendo responsables de los cambios morfológicos que sufren los eritrocitos previos a la lisis [2]. Además, HlyA activa esfingomielinasas endógenas, produciendo un aumento de ceramida en la membrana, hecho que cambia las propiedades físicas de la membrana [3]. Por otro lado, estudios más detallados de los cambios morfológicos observados, demostraron que estos cambios son independientes del ingreso de calcio [4] y que HlyA sufre un proceso de transformación de discocito a esferocito [5].

### Objetivos

Todos los eventos anteriormente descritos ocurren en aquellas células que secretan microvesículas al medio como un proceso de remodelación de la membrana [6, 7]. Por otro lado se ha visto que estas microvesículas participan en procesos de intercomunicación celular. Es por eso que el objetivo del presente trabajo fue estudiar la liberación de microvesículas de eritrocitos tratados con HlyA.

### Materiales y métodos

Se realizaron observaciones en microscopio electrónico de transmisión (MET) de eritrocitos tratados con HlyA y ProHlyA a concentraciones subletales y de microvesículas purificadas por ultracentrifugación. Se realizó una caracterización de las proteínas de las microvesículas por SDS-PAGE 10 %.

### Resultados

Las observaciones de cortes de eritrocitos tratados con HlyA por MET mostraron la secreción de microvesículas, mientras que eritrocitos tratados con la toxina sin acilar (ProHlyA) no liberaron estas partículas. Por otro lado se pudieron observar microvesículas de 200 nm en las muestras tratadas con HlyA. Los perfiles electroforéticos de estas vesículas son distintos a los fantasmas de eritrocitos y tiene el mismo perfil que aquellas microvesículas obtenidas con un ionóforo.

### Conclusiones

Eritrocitos tratados con concentraciones subletales de HlyA liberan microvesículas de 200 nm,

### Bibliografía

1. Sanchez, S., L. Bakás, E. Gratton, and V. Herlax, (2011). PLoS One. 6 (6): p. e21127.
2. Velasquez, F.C., S. Mate, L. Bakas, and V. Herlax, (2015). Biochim Biophys Acta. 1848(11 PtA): p. 2779-88.
3. Vazquez, R.F., S.M. Mate, L.S. Bakas, C. Munoz-Garay, and V.S. Herlax, (2016). Biochim Biophys Acta. 1858(8): p. 1944-1953.
4. Hagerstrand, H. and B. Isomaa, (1992). Biochim Biophys Acta. 1109(2): p. 117-26.
5. Freyssinet, J.M., (2001). J Thromb Haemost. 1(7): p. 1655-1662.
6. Boulanger, C.M., N. Amabile, and A. Tedgui, (2006). Hypertension. 48(2): p. 180-186.

Figura 1: Año de cursada de la materia

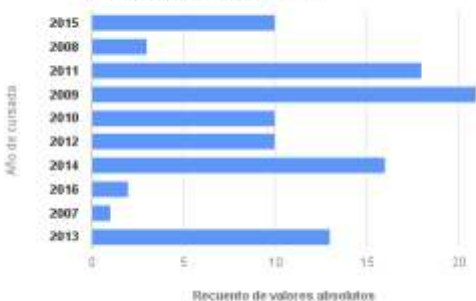
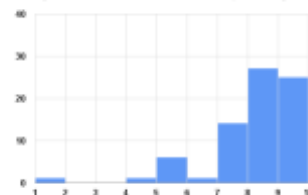


Figura 2: Grado de satisfacción al realizar trabajos de investigación



### Conclusiones

La realización del TIBI es una herramienta más en el proceso de enseñanza-aprendizaje para el ejercicio de la profesión: aprender a redactar trabajos científicos. A pesar de ser tedioso, en general la percepción del estudiantado es positiva, expresado en el grado de satisfacción. Y es el primer entrenamiento que tiene aquel interesado en la publicación de trabajos. Como propuesta superadora se sugiere la redacción unificada de una guía de referencia en la FCM, con el fin de utilizarla en las distintas cátedras en las que se presentan trabajos de investigación y/o de campo.