

INTERIORIZACIÓN DE BACTERIAS INTRACELULARES EN CÉLULAS NO FAGOCITICAS

Rivera Velázquez Vicente^a, Solano Rodríguez Luciana^c, Reyes Rodríguez Erika del Carmen^a, Sánchez Espíndola Ma. Esther^b, y De la Cruz López Juan José^a.

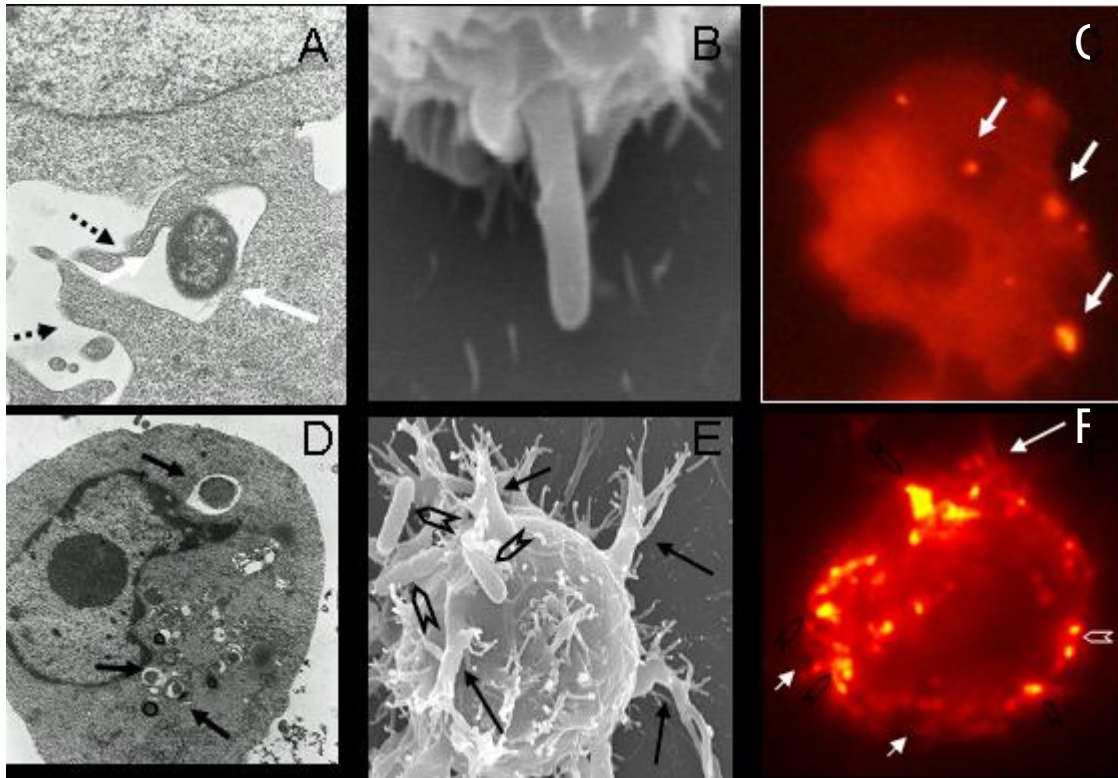
Laboratorio de Inmunología II^a, Central de Instrumentación en Microscopía Electrónica^b.
Departamento de Bioquímica^c. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Carpio y Plan de Ayala. Col. Casco de Santo Tomas. C.P. 11340.México DF.

La macropinocitosis es un mecanismo de endocitosis que involucra la formación de proyecciones membranales (lamelipodios) sostenidas por una red de filamentos de actina. Se ha descrito que las proteínas secretadas por *Salmonella* y *Shigella* inducen su interiorización mediante macropinocitosis en células no fagocíticas (epiteliales y fibroblastos). Este fenómeno ha sido reconocido como un proceso celular importante involucrado en varios fenómenos biológicos, incluyendo la captación de fase fluida y la interiorización de patógenos intracelulares por células fagocíticas y no fagocíticas. Por lo anterior, en este trabajo planteamos el estudio de la macropinocitosis en una línea celular de linfocitos B (Raji) y en cultivos primarios de células endoteliales de cordón umbilical, así como en cultivos primarios de fibroblastos murinos.

La línea celular Raji fue infectada con *Salmonella typhi* con una MOI de 20:1 bacteria-célula, cuantificándose la captación de fase fluida por espectrofluorometría en placa y se analizó el efecto de varios inhibidores de la macropinocitosis: citocalasina D, amilorido y wortmanina. Asimismo se realizó una doble tinción de actina-bacteria con faloidina rodaminada (TRITC) e isotiocianato de fluoresceína (FITC) respectivamente para su observación mediante microscopía de fluorescencia, de igual manera, las células infectadas se observaron mediante microscopía electrónica de barrido. Posteriormente se estableció interiorización de *Mycobacterium smegmatis* y *Salmonella typhi* por células B Raji utilizando microscopía electrónica de transmisión. Los cambios en la membrana de los linfocitos Raji evaluados mediante microscopía electrónica de barrido y microscopía de fluorescencia mostraron la formación de proyecciones membranales constituidas importantemente por filamentos de actina rodeando a *Salmonella typhi*. En la cinética de captación de fase fluida cuantificada por fluorometría de las células infectadas con *Salmonella* observamos un máximo de captación de la marca fluorescente a las 2 horas. El amilorido, inhibidor específico de la macropinocitosis, suprimió la captación de fase fluida inducida por *Salmonella* confirmando así la naturaleza macropinocítica de la interiorización. Así mismo, se realizó la observación ultraestructural de las células Raji infectadas con *M. smegmatis* y *S. typhi* mediante microscopía electrónica de transmisión evidenciándose que ambas bacterias son interiorizadas en vacuolas. En conclusión, los linfocitos B son capaces de interiorizar bacterias intracelulares mediante el proceso de macropinocitosis.

BIBLIOGRAFÍA:

Alpuche-Aranda C.; Racoosin C.; Swanson J.; and Miller S. *Salmonella* stimulate macrophage macropinocytosis and persist within spacious phagosomes. J. Exp. Med. 1994; 179:601-608.
Goosney D.; Knoechel D.; Finlay B. Enteropathogenic *E. coli*, *Salmonella* and *Shigella*: Masters of host cell cytoskeletal exploitation. Emerg. Infect. Dis. 1999; 5:216-223.



Linfocitos B infectados con *S. thypi* (A,B,C) e infectadas con *M. smegmatis* (D,E,F). Microscopía de transmisión (A y D), M. electrónica de Barrido (B y E), M. de fluorescencia (C y F)