

## Póster

## Papel del Factor de Transcripción EB (TFEB) en la entrada de *Acinetobacter baumannii* en el huésped



María del Mar Oliveros López, Raquel Parra Millán, Jerónimo Pachón, Younes Smani

Departamento de Enfermedades Infecciosas, Instituto de Biomedicina de Sevilla, Sevilla.

*Palabras clave:* *Acinetobacter baumannii*, TFEB

### RESUMEN

**Motivación:** El sistema endosoma/lisosoma está implicado en procesos fundamentales tales como la secreción, reparación de la membrana plasmática, señalización y en el metabolismo energético(1). El factor de transcripción EB (TFEB) forma parte de este sistema (2) y podría estar implicado en la entrada y la persistencia de *Acinetobacter baumannii* en el huésped mediante la activación del mismo. *A.baumannii* es un agente infeccioso de gran importancia clínica que está asociado con las infecciones nosocomiales (3). Hasta el momento no hay trabajos realizados para observar dicho proceso. El objetivo de este estudio es determinar el papel del TFEB en la entrada y la persistencia de *A.baumannii* en el huésped mediante el silenciamiento del ARN del TFEB y su sobreexpresión in vitro.

**Métodos:** Se utilizaron células epiteliales de pulmón humano (A549) que fueron infectadas con la cepa *A.baumannii* (ATCC 17978 con  $10^8$  ufc/ml) para observar los diferentes objetivos del proyecto. Para todos los ensayos en primer lugar se cultivaron las células A549 en placas con medio de cultivo completo durante 24 h para realizar ensayos de silenciamiento, expresión y sobreexpresión del TFEB. Para efectuar el silenciamiento del ARN del TFEB o su sobreexpresión se realizó una transfección con el siRNA del TFEB o con un plásmido pEGFP-N1-TFEB durante 48 o 24 h, respectivamente, y luego realizamos ensayos de adherencia e invasión bacteriana en las células A549 durante 2 h. La expresión del TFEB se determinó por Western Blot. También se llevó a cabo ensayos de inmunomarcaje con diferentes anticuerpos para observar las diferencias de expresión del TFEB entre células infectadas y no infectadas durante 30 y 120 min.

**Resultados:** Se observó que el silenciamiento del ARN del TFEB disminuye la entrada bacteriana en las células epiteliales (64% vs. control). Todo lo contrario en el caso de la sobreexpresión del TFEB que vimos que hay una mayor invasión bacteriana (266% vs. control). Referente a los ensayos de expresión del TFEB vemos un aumento progresivo de la expresión del TFEB tras 30 y 120 min de la infección con respecto a las células que no han sido infectadas.

**Conclusiones:** Los resultados obtenidos en este estudio permiten concluir que el TFEB está implicado en la entrada de *A.baumannii* en el huésped. Esto puede abrir nuevos caminos para encontrar inhibidores de estas vías y así poder evitar las infecciones causadas por este tipo de bacterias, puesto que hoy en día es un patógeno resistente.

### BIBLIOGRAFIA

- Settembre,C.; Fraldi, A.;Medina1 D.L.and Andrea Ballabio,A. (2013) Signals from the lysosome: a control centre for cellular clearance and energy metabolism. *NATURE REVIEWS*, **14**, 283-296.
- Sardiello, M. et al. (2009) A Gene Network Regulating Lysosomal Biogenesis and Function. *Science* **325**, 473-477.
- McConnell,M.J., Actis,L. and Pachón,J.(2013) *Acinetobacter baumannii*: human infections, factors contributing to pathogenesis and animal models. *FEMS Microbiol Rev* **37**, 130-155.