

Las vesículas extracelulares median la transferencia de resistencia al metronidazol en *Giardia lamblia*

Luna Pizarro G (1), Laiolo J (1,2), Salas N (1), Quassollo G (1), Feliziani C (1), Rópolo AS (1), Touz MC (1)

(1)Instituto de Investigación Médica Mercedes y Martín Ferreyra. INIMEC-CONICET-Universidad Nacional de Córdoba. Córdoba, Argentina; (2)Laboratorio de parasitología, Facultad de Ciencias Químicas – Universidad Católica de Córdoba. Córdoba, Argentina

Contacto: ctouz@immf.uncor.edu

La parasitosis intestinal conocida como giardiasis es causada por el protozooario parásito *Giardia lamblia* y representa una de las principales causas de diarrea y mal nutrición en infantes, especialmente en países en vías de desarrollo. Los medicamentos antiparasitarios más utilizados para tratar la giardiasis pertenecen a la familia de los 5-nitroimidazoles, siendo el metronidazol (MTZ) la primera elección. Sin embargo, el tratamiento con MTZ se asocia a elevadas tasas de fracaso terapéutico debido a múltiples factores como el no cumplimiento del régimen de administración, fallas del sistema inmunológico y/o presencia de cepas resistentes. Actualmente, las vesículas extracelulares (VEs) están siendo ampliamente estudiadas como mecanismo de comunicación entre células y su relación con la transferencia de resistencia antimicrobiana. En este trabajo nos enfocamos en estudiar la comunicación mediada por VEs tipo exosoma (EIVs - del inglés: exosome-like vesicles) como mecanismo capaz de transmitir la resistencia al MTZ en diferentes cepas de *G. lamblia*. Para esto, inicialmente caracterizamos las EIVs aisladas de cepas salvajes y resistentes a MTZ (generadas *in vitro* en el laboratorio por selección y subclonado) mediante análisis de seguimiento de nano partículas (NTA) y microscopía electrónica de transmisión (MET). Para poder estudiar los eventos de internalización celular, marcamos las EIVs con la sonda fluorescente BODIPY-FL-C5-ceramida. Mediante ensayos de viabilidad celular basados en MTT, determinamos las concentraciones inhibitorias 50 (CI50) del MTZ. Además, estudiamos la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) por citometría de flujo e inmunofluorescencia (IFA). Y finalmente, analizamos la expresión de enzimas involucradas en el metabolismo de MTZ mediante ensayos de PCR cuantitativa y describimos las modificaciones postraduccionales de histonas usando anticuerpos específicos. Nuestros resultados muestran que la comunicación por EIVs en *G. lamblia* ocurre entre cepas salvajes y resistentes y que, más importante, tiene la capacidad de generar una rápida respuesta moduladora en las células receptoras. Las EIVs aisladas de cepas resistentes modifican la dinámica de las modificaciones postraduccionales de histonas de cepas salvajes receptoras, alterando la expresión de genes asociados al metabolismo del MTZ, lo que genera cambios en la respuesta al fármaco.