



## PEPTIDOS ANTIMICROBIANOS DE PLANTAS: EFECTOS SOBRE PATÓGENOS INTRACELULARES E INMUNOMODULADORES EN CÉLULAS DE MAMÍFERO

Eduardo Sagrero Cisneros, Heber Loeza Ángeles, Joel Edmundo López Meza y Alejandra Ochoa Zarzosa, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Centro Multidisciplinario de Estudios en Biotecnología-FMVZ, Morelia, Michoacán, CP 58893, esagrero@yahoo.com.mx

*Palabras clave:* Péptidos antimicrobianos, patógenos intracelulares, inmunomodulación.

**Introducción.** Las plantas producen diversos tipos de péptidos antimicrobianos (PAP) como las defensinas y las tioninas. *Capsicum chinense* expresa la defensina  $\gamma$ -tionina, mientras que *Arabidopsis thaliana* produce la tionina Thi2.1. Ambos PAP pueden ser expresados por células endoteliales bovinas (CEB) (1), cuyo medio condicionado (MC) inhibe la viabilidad extracelular de *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*, pero se desconoce si tienen actividad en contra de éstos una vez internalizados en células de mamíferos. Además de los efectos antimicrobianos, se han reportado efectos inmunomoduladores de los PA de mamíferos, pero no se han estudiado los efectos de los PAP sobre la respuesta innata de mamíferos.

El objetivo del presente trabajo fue explorar la actividad antimicrobiana del MC de la  $\gamma$ -tionina (MC $\gamma$ ) y Thi2.1 (MCT) producidos por CEB, sobre *S. aureus* y *C. albicans* intracelulares y determinar algunos efectos inmunomoduladores sobre la respuesta inmune innata (RII) de células de mamífero.

**Metodología.** Se emplearon los siguientes modelos hospedero-patógeno: 1) células de epitelio mamario bovino (CEMB)-*S. aureus*, 2) CEB-*S. aureus* y 3) CEB-*C. albicans*. Se incubaron los microorganismos con la respectiva línea celular y se eliminaron aquellos que no se internalizaron. En cada modelo se evaluó la capacidad del MC (3.125  $\mu$ g de proteína total) de CEB productoras de los PAP por separado, para reducir la viabilidad de los microorganismos intracelulares a diferentes tiempos. Las células infectadas se lisaron y distribuyeron en medio sólido. Para analizar los efectos inmunomoduladores de los PAP se midió la producción de NO en los modelos anteriores y en la línea celular humana Caco-2 sin infectar. Adicionalmente en las CEMB se analizó la expresión de genes de la RII mediante RT-PCR, en respuesta a los MC. Entre éstos se analizó la expresión de IL-1 $\beta$  y del PA traqueal (TAP). En todos los casos se empleó como control el MC de CEB no transfectadas (MC-NT).

**Resultados.** En los 3 modelos se consideró como 100% de internalización el efecto del MC-NT. Los resultados demuestran que el MCT inhibió 100% la viabilidad intracelular de *S. aureus* en las CEMB después de 24 h (Fig. 1). En las CEB (Fig. 2), el MC $\gamma$  presentó el mejor efecto para matar *S. aureus*

intracelular durante 12-24 h, efecto que se correlacionó con un incremento en la producción de NO (~2 veces). Después de 12 h el MCT inhibió en un ~90% la viabilidad intracelular de *C. albicans* en CEB, mientras que el MC $\gamma$  lo hizo en un 35% (Fig. 3). La actividad antifúngica no correlacionó con la producción de NO.

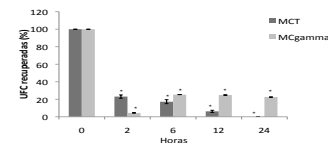


Fig. 1. Efecto de los MC de CEB productoras de PAP sobre la internalización de *S. aureus* en CEMB. \*  $p \leq 0.05$  vs 0 h.

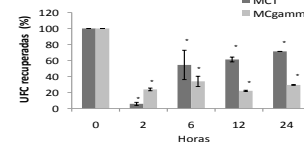


Fig. 2. Efecto de los MC de CEB productoras de PAP sobre la internalización de *S. aureus* en CEB. \*  $p \leq 0.05$  vs 0 h.

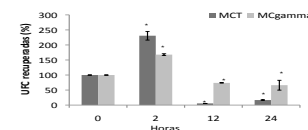


Fig. 3. Efecto de los MC de CEB productoras de PAP sobre la internalización de *C. albicans* en CEB. \*  $p \leq 0.05$  vs 0 h.

En Caco-2 ambos MC inducen la formación de NO. MC $\gamma$  induce en CEMB la expresión de TAP, y disminuye la expresión de IL-1 $\beta$ , mientras que MCT inhibe la expresión de TAP y de NO en CEMB, pero induce la expresión de IL-1 $\beta$ .

**Conclusiones.** Los PAP presentan actividad antimicrobiana en contra de los patógenos *S. aureus* y *C. albicans* una vez endocitados y modulan la respuesta inmune innata de mamíferos.

**Agradecimiento.** Financiamiento: proyectos CONACyT CB-83895; FOMIX (Michoacán)-115926 y CIC 14.1.

### Bibliografía.

1. Loeza-Ángeles H, Sagrero-Cisneros E, Lara-Zárate L, Villagómez-Gómez E, López-Meza JE y Ochoa-Zarzosa A (2008). *Biotechn Lett* 30: 1713-1719.