

DETECCIÓN DE EPITOPOS RESTRINGIDOS A LINFOCITOS TH DERIVADOS DEL FACTOR DE ELONGACIÓN-1 α DE *LEISHMANIA MEXICANA*

Kenia López López, Vianney Francisco Ortiz Navarrete, Claudia del Rosario de León Sicairos, Evangelina Beltran López y Héctor Samuel López Moreno. Red Temática BB y CAEC BB UAS-264, Posgrado en Biotecnología y C. Biomédicas, Facultad de Ciencias Químico Biológicas, Culiacán, Sinaloa, CP. 80010, e-mail: kenia.lopez@uas.edu.mx

Palabras claves: Leishmania mexicana, Factor de elongación-1 α , epitopo.

Introducción. La leishmaniasis comprende un grupo de enfermedades causadas por el parásito *Leishmania* (L.). Se distinguen tres formas clínicas: Visceral (LV), Mucocutánea (LM) y Cutánea (LC) (1); esta última es causada por *L. mexicana* en 18 estados endémicos de México. Nuestro grupo de investigación reportó 5 antígenos de *L. mexicana* reactivos al suero de pacientes con diagnóstico de LC (2). El antígeno más prominente, p29, fue identificado como el Factor de Elongación-1alfa (EF-1 α), designado como EFLm. Aún se desconoce su participación en la relación hospedero-parásito; sin embargo, en la LV causada por *L. donovani*, su molécula homóloga (EFLd) ha mostrado una función no canónica como factor de virulencia, interrumpiendo el mecanismo efector leishmanicida en macrófagos, activando a SHP-1 que apaga la vía de señalización JAK/STAT, inhibe la generación de ON e incrementa la sobrevivencia intracelular de *Leishmania* (3), estos sugiere a EFLm como potencial diana farmacológica, por ello la relevancia de estudiar la inmunobiología mediada por EFLm en la LC y analizar perfiles de citocinas Th relacionadas con mecanismos protectores o permisivos en la leishmaniasis (4).

En este contexto, nuestro objetivo fue detectar epitopos restringidos a linfocitos Th derivados del rEFLm.

Metodología. Se produjo la proteína recombinante de EFLm (rEFLm), fusionada al dominio H6-tag y purificada por cromatografía afin a metales. Ratones Balb/c se inmunizaron con rEFLm y se evaluaron los niveles de IgG específica por ELISA como sensor de activación indirecta Th. La respuesta específica se determinó por ensayo de linfoproliferación CFSE, utilizando linfocitos T CD4⁺ purificados en columna magnética, marcador de activación CD44-PerCP y macrófagos RAW264.7 como APC. Los epitopos de rEFLm restringidos a I-A^d se predijeron con base en 4 sitios de anclaje: 1 (degenerado), 4 (alifático), 6 (A), 9 (A/S) y confirmados *in silico* (5). Ratones Balb/c se inmunizaron con el epitopo sintético y se evaluó la respuesta específica Th mediante ensayo de linfoproliferación CFSE. Este epitopo se utilizó como candidato vacunal en la LC experimental desafiando

ratones Balb/c con 1x10⁷ promastigotes de *L. mexicana*. A las 4 semanas después de la infección, se realizó el análisis histopatológico, se evaluó la respuesta Th mediante ensayos de linfoproliferación CFSE y se determinó el perfil de citocinas Th evocado.

Resultados. rEFLm se visualizó por SDS-PAGE 12%, evidenciando una banda de \approx 63 kDa consistente a la proteína de fusión. Los niveles de IgG específicos anti-rEFLm aumentaron 10 veces en comparación con el control negativo y los ratones preinmunes. La predicción mostró 2 posibles epitopos, solo uno podría sintetizarse por restricciones químicas. Nuestro epitopo restringido I-A^d fue diseñado como EFp434: SSGGKVTKAATKAACK. Por análisis *in silico*, obtuvimos un rango de percentil bajo (\approx 2%), lo que sugiere una mayor afinidad de unión por I-A^d. La linfoproliferación específica se evidenció en ratones inmunizados con rEFLm y EFp434. En la LC experimental, también observamos una respuesta linfoproliferativa Th mejorada y un perfil protector de citocinas Th1 (IFN- γ , IL-2 e IL-6), lo que sugiere un análisis más detallado como candidato a vacuna.

Conclusiones. rEFLm es una herramienta biotecnológica que evoca respuestas inmunes humorales y celulares. El epitopo EFp434 predicho también evoca una potente respuesta protectora Th, que puede estar involucrada en la posible resolución de LC experimental. Sin embargo, se requiere un estudio más detallado para proponerlo como vacuna.

Agradecimiento. A CONACYT CB-2014 #240185 por el financiamiento otorgado para este proyecto.

Bibliografía.

- Ochoa-Díaz Y, López-Moreno C, Rendón-Maldonado J, López-Moreno H. (2011). Vector Borne Zoonotic Dis. 12 (1): 78-80.
- Salazar-Mejía P, Tejada-Aguirre C, López-Moreno H. (2010). Salud Pública Mex. 52 (2): 165-169.
- Nandan D, Cherkasov A, Sabouti R, Yi T, Reiner N. (2003). Biochem Biophys Res Commun. 302 (4): 646-652.
- Hezarjaribi HZ, Ghaffarifar F, Dalimi A, Sharifi Z, Jorjani O. (2013). Exp Parasitol. 134 (1) 341-348.
- López-Moreno HS, Correa D, Lacleste JP, Ortiz-Navarrete VF. (2003). Parasite Immunol. 25 (1): 513-516.