Expresión del lipofosfoglucano (LPG) en las formas de ciclo de vida de *Trypanosoma cruzi*

Diego Chamorro Ortiz[1], Adriana Cuéllar[2], Concepción J. Puerta[3], John Mario González[1]

1. Grupo de Ciencias Básicas Médicas, Facultad de Medicina, Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia. 2. Grupo de Inmunobiología y Biología Celular, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia. 3. Laboratorio de Parasitología Molecular, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Chagas es una parasitosis causada por el cinetoplastido *T. cruzi* y transmitida a través de insectos triatominos. Se han estudiado algunos de los factores de virulencia del parasito, pero no están del todo caracterizados, entre ellos el lipofosfoglucano o LPG. LPG es un glucolípido de membrana de importancia en otras infecciones por cinetoplastidos como la *Leishmania spp.* Los estudios del patrón de expresión del LPG en el *T. cruzi* son escasos y en la actualidad se desconoce su posible papel en el proceso de infección a células susceptibles, en especial en los genotipos mas comunes TcI y TcII.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL: Determinar la frecuencia de expresión del lipofosfoglucano (LPG) en la superficie del *T. cruzi* durante los tres estadios del desarrollo en su ciclo de vida.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

1. Determinar la frecuencia de expresión del LPG mediante citometría de flujo en los estadios del ciclo de vida de *T. cruzi* de los genotipos TcI y TcII.

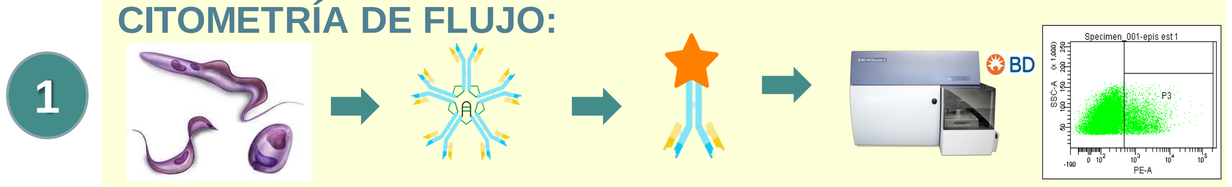
2. Identificar el patrón de distribución del LPG mediante inmunofluorescencia en las formas del ciclo de vida de *T. cruzi* en los genotipos TcI y TcII.

3. Determinar la presencia del LPG en un extracto crudo de parásito de las formas del ciclo de vida de *T. cruzi* pertenecientes a los genotipos TcI y TcII.

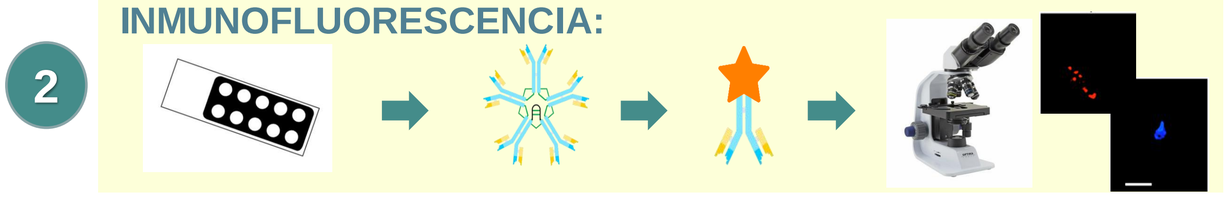
METODOLOGÍA

Estudio experimental y descriptivo, con análisis basados en pruebas de estadística no paramétrica (Mann-Whitney y Kruskal-Wallis).

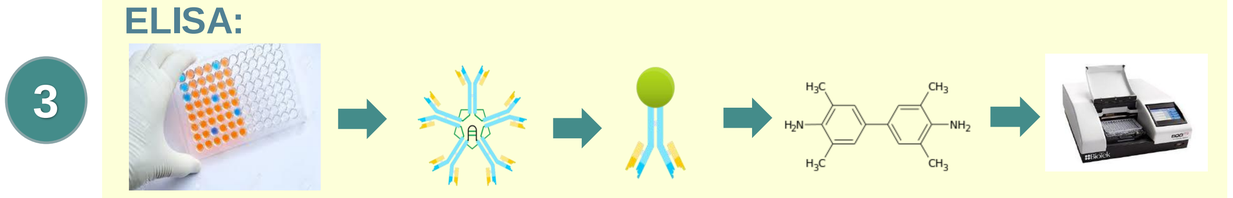
CITOMETRÍA DE FLUJO:



INMUNOFLUORESCENCIA:



ELISA:



RESULTADOS

CITOMETRÍA DE FLUJO

Al evaluar LPG por citometría se encontró una expresión diferencial dependiendo del estadio del parásito dentro del ciclo de vida y del aislado evaluado de *T. cruzi*, ente TcI y TcII (Kruskal-Wallis p=0.0025 y p=0.001).

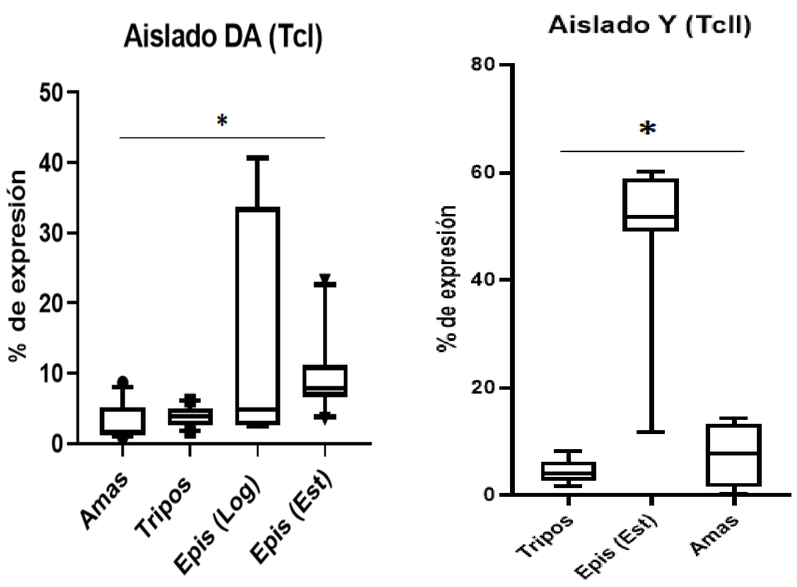


Figura 1. (A) Comparación de expresión de LPG en las formas del aislado DA (Kruskal-Wallis p=0.0025). **(B)** Comparación de expresión de LPG en las formas del aislado Y (Kruskal-Wallis p=0.05).

Los epimastigotes estacionarios de los dos aislados (9.82% y 47.68%), presentaron expresiones diferenciales (Mann-Whitney p=0.0004).

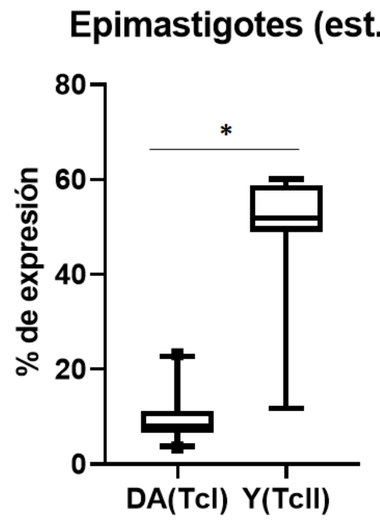


Figura 2. Comparación entre los epimastigotes del aislado DA y Y (Mann Whitney p=0.0004)

La expresión del LPG citoplasma y el flagelo de los epimastigotes estacionarios sigue un patrón granular, no obstante, fue más alta en el TcII, comparada con el parásito de TcI.

INMUNOFLUORESCENCIA

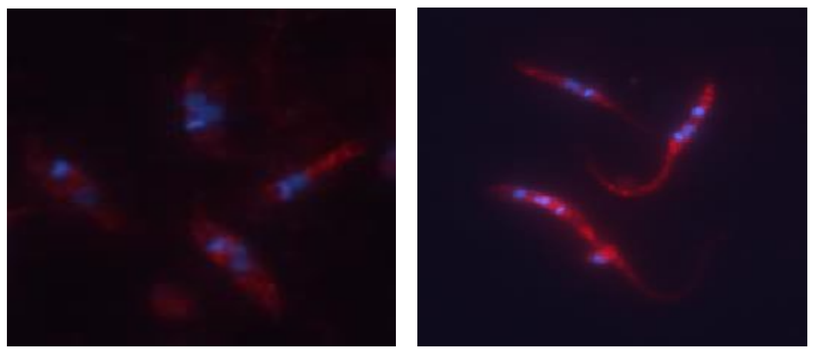


Imagen 1. Inmunofluorescencia indirecta para epimastigotes estacionarios del aislado DA (TcI) (A) y Y TcII) (B). (MFI 29,967 vs 3,474 a.u. Mann Whitney p>0,001).

ELISA

Se determinó la presencia de LPG en extracto crudo de parasito mediante ELISA.

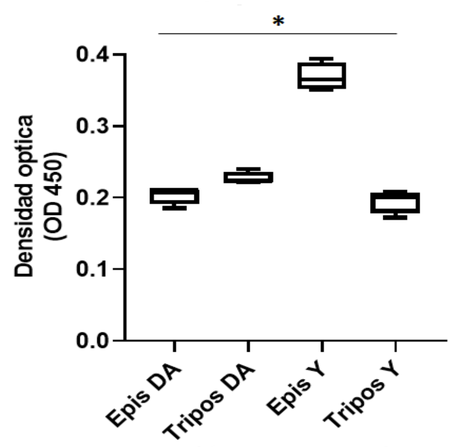


Figura 3. Comparación entre valores de densidad óptica en ELISA para epimastigotes y ripomastigotes de los aislados DA y Y (Kruskal-Wallis p<0.0001)

DISCUSIÓN

El estudio mostró un patrón diferencial de expresión del LPG dependiendo del aislado y la fase dentro del ciclo de vida. La expresión de LPG fue elevada en los epimastigotes del aislado Y (TcII). Se ha reportado que la expresión de LPG es fundamental en el proceso de adhesión a las células epiteliales del intestino posterior del vector.

CONCLUSIÓN

Este es uno de los primeros estudios donde se determinó la expresión de ese factor de virulencia en *Trypanosoma cruzi*. Al evaluar el LPG por diferentes métodos, se encontró que su expresión depende de la forma en el ciclo de vida del parásito. Se puede extender este análisis a otros aislados de parasito y realizar pruebas funcionales con las formas parasitarias.