

## 24. AKT-like como parte de las rutas de señalización de la supervivencia celular de *Trypanosoma cruzi* y *Trypanosoma brucei*

Andrés Felipe Díez-Mejía<sup>1</sup>, Rubén Eduardo Varela-Miranda<sup>2</sup>, Sergio Andrés Pulido-Muñoz<sup>2</sup>, María Clara Echeverry-Gaitán<sup>3</sup>, Marcel Marín-Villa<sup>1</sup>

Las quinasas han sido descritas como las proteínas encargadas de la emisión y transducción de señales en la célula, generando respuestas que van desde la regulación de la homeostasis celular, hasta el control de la respuesta a estímulos. Dada la importancia de estas proteínas, reportadas como esenciales, actualmente existen medicamentos basados en la inhibición de quinasas, los cuales se emplean en el tratamiento de patologías como el cáncer y cuyas investigaciones se han extrapolado a la búsqueda de alternativas quimioterapéuticas para combatir enfermedades como la leishmaniasis, la tripanosomiasis americana y la africana, encontrando a las proteínas de la vía de las PI3Ks como dianas prometedoras.

La serina/treonina quinasa AKT, involucrada en diversas rutas de señalización como las PI3Ks y cuya función principal es la promoción de la supervivencia celular, ha sido propuesta como blanco en el desarrollo de fármacos para el tratamiento de enfermedades parasitarias con resultados promisorios hasta la fecha, por lo cual se hace necesaria la caracterización funcional de la AKT con el objetivo de desarrollar alternativas a los tratamientos actuales.

En ese sentido, nuestro objetivo general es validar el papel de la AKT-like de *Trypanosoma cruzi* y *Trypanosoma brucei* en procesos de supervivencia mediante análisis funcionales, utilizando la técnica del RNA de interferencia (iRNA) en el modelo de la cepa 2T1 de *T. brucei*, al igual que la evaluación de inhibidores alostéricos del dominio pleckstrin de la quinasa, predichos computacionalmente, sobre el potencial

de membrana mitocondrial y el daño en el ADN bajo condiciones de estrés mediante citometría de flujo.

El knockdown de la AKT-like de *T. brucei*, alcanzó niveles de interferencia de 73.1%, lo que permitió corroborar que dicha proteína es esencial en condiciones de estrés, dado que al inducir el sistema de iRNA, los parásitos tienen un aumento de 27.2% del daño en el ADN en condiciones de estrés nutricional respecto a parásitos que tienen la AKT-like intacta, por lo cual concluimos que esta proteína juega un papel importante en procesos de inhibición de la muerte producida por eventos de estrés en *T. brucei*.

La evaluación de UBMC4, predicho computacionalmente como un inhibidor de la AKT-like, reveló que el contacto de este con tripomastigotes de *T. cruzi* y con las formas sanguíneas de *T. brucei*, promueve el aumento del porcentaje de hipodiploidía y la despolarización de la membrana mitocondrial, que posteriormente desencadena la alteración de la membrana celular y la muerte en condiciones de estrés nutricional. Además de esto, el contacto de tripomastigotes de *T. cruzi* con cloroquina y UBMC4, promovió un aumento del daño en el DNA y la alteración del potencial de membrana mitocondrial, lo cual nos indica que la inhibición de procesos de autofagia y de la función de AKT, terminan por acelerar procesos de tipo apoptóticos en condiciones de estrés.

Como perspectiva, se espera corroborar mediante wester blot el nivel de interferencia de AKT-like de *T. brucei* y el estado de fosfo-activación de AKT tanto en *T. cruzi* como en *T. brucei* bajo condiciones de estrés, usando anticuerpos para la AKT total y la AKT fosforilada, además, se analizará si hay proteínas fosforilables por AKT aguas abajo de sus vías de señalización y si el uso de UBMC4 causa algún tipo de alteración en los patrones de fosforilación/activación de la misma.

Como conclusión preliminar, la inhibición de la AKT-like de *T. brucei* y *T. cruzi* promueve que no sobrevivan a retos de estrés celular debido a su incapacidad de reprimir procesos de muerte celular de tipo apoptosis bajo condiciones de estrés, por lo cual podemos decir que la inhibición de AKT puede ser usada como una estrategia terapéutica promisoriosa y alternativa a los tratamientos actuales contra la tripanosomiasis americana y la africana.

<sup>1</sup> Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales (PECET), Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia

<sup>2</sup> Facultad de Ciencias Básicas, Universidad Santiago de Cali

<sup>3</sup> Departamento de salud pública de la facultad de Medicina. Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá.

Correspondencia: Andrés Felipe Díez; andresfelipediez@gmail.com

Entidades financiadoras: Colciencias, Universidad de Antioquia y Universidad Santiago de Cali.