

# 1. Caracterización del perfil funcional de LT CD8+ en respuesta a epítopes mutados derivados de la proteína Gag de cepas circulantes del VIH-1 de Medellín, Colombia

Alexandra Sánchez-Martínez<sup>1</sup>, Liliana Acevedo-Sáenz<sup>1,2</sup>, Juan Carlos Alzate-Ángel<sup>3</sup>, Guzmán Fanny<sup>4</sup>, Paula Andrea Velilla<sup>1</sup>

## INTRODUCCIÓN Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La infección con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH-1) sigue siendo un problema de salud pública. Hasta la fecha, considerando la importancia que tiene los linfocitos T CD8+ (LTCD8+) en el control de la replicación viral, algunas estrategias terapéuticas se han enfocado en la inducción de la respuesta de LTCD8+ específicos de péptidos derivados de la proteína de Gag. El desarrollo de estas estrategias requiere la identificación de epítopes inmunodominantes de cepas virales circulantes, su interacción con las moléculas del HLA-I de alta frecuencia en cada población, y su efecto sobre la calidad de la respuesta de los LTCD8+. Una de las principales dificultades para el desarrollo de estas estrategias es el fenómeno de escape inmunológico, donde un cambio en un aminoácido dentro de un epítopo puede afectar la unión del péptido a la molécula del HLA-I, el reconocimiento por el TCR y la generación de una respuesta efectiva por parte del LTCD8+.

En un estudio previo, en una cohorte de pacientes infectados con VIH-I de la ciudad de Medellín, se evidenció la adaptación de cepas circulantes del VIH-1 a las moléculas HLA-I más prevalentes de la población (HLA-A\*02 y HLA-B\*35), a través de la identificación de mutaciones bajo selección positiva localizadas en epítopes derivados de la proteína Gag (GC9, SL9 y HY9, HA9, respectivamente); además, a través de una predicción *in silico* se evaluó si las mutaciones encontradas tenían una mayor o una menor afinidad

<sup>1</sup> Grupo Inmunovirología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia UdeA, Calle 70 No. 52-21, Medellín, Colombia.

<sup>2</sup> Grupo Cuidado Enfermería CES, Facultad de Enfermería, Universidad CES, Medellín, Colombia.

<sup>3</sup> Unidad de Micología médica y experimental, Corporación para Investigaciones Biológicas, Medellín, Colombia.

<sup>4</sup> Núcleo de Biotecnología Curauma, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, Chile.

Correspondencia: Paula Velilla; paula.velilla@udea.edu.co

Funding: COLCIENCIAS 111577757038; contract: 773-2017

al HLA-I. Si bien esta estrategia permitió predecir la interacción entre péptidos mutados y HLA-I, se desconoce cuál es la respuesta funcional de los LTCD8+ que pueden inducir estos péptidos.

## OBJETIVO GENERAL

Determinar el perfil funcional de los LTCD8+ de pacientes VIH-1+ en respuesta a epítopes mutados derivados de la proteína Gag de cepas circulantes de VIH-1 de la ciudad de Medellín y evaluar la relación entre dicha funcionalidad y parámetros clínicos asociados con la progresión de la infección.

## METODOLOGÍA

Se incluyó 9 pacientes VIH-1+ que presentan el alelo HLA-A\*02, los cuales se encontraban bajo tratamiento antirretroviral. Células mononucleares de sangre periférica de los pacientes fueron estimuladas por 12h con los diferentes péptidos mutados y silvestres derivados de los epítopes GC9 y SL9. Como controles positivos se utilizó el estímulo con PMA/ionomicina y SEB. El perfil funcional de LTCD8+ se evaluó por citometría de flujo, utilizando anticuerpos contra las moléculas IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-2, IL-10, granzima B, perforina y CD107a. Se evaluó la frecuencia de subpoblaciones de acuerdo al número de funciones mediante el software SPICE y análisis multidimensional a través del software ACCENSE.

## RESULTADOS PRELIMINARES

Los LTCD8+ responden al estímulo tanto con los péptidos silvestres como mutados, sin diferencias significativas, predominando una respuesta monofuncional. Sin embargo, la frecuencia de células con una sola función es mayor con los péptidos asociados con menor afinidad, siendo prominente la producción de TNF- $\alpha$  en la respuesta a S54A/E55G del epítopo GC9, y la producción de perforina al Y79F/T884V/L85F del epítopo SL9. En relación a los péptidos asociados con mayor afinidad del GC9, se observó un predominio de perforina a S54A y de TNF- $\alpha$  a S54 T, este último con un perfil similar al silvestre. La producción de IFN- $\gamma$  fue más prominente en las respuestas de 3 a 5 funciones para todos los péptidos evaluados.

## CONCLUSIONES PRELIMINARES

La respuesta es consistente con el perfil de LTCD8+ circulantes efectores, caracterizado por la producción predominante de IFN- $\gamma$ /TNF- $\alpha$  y un perfil citotóxico.