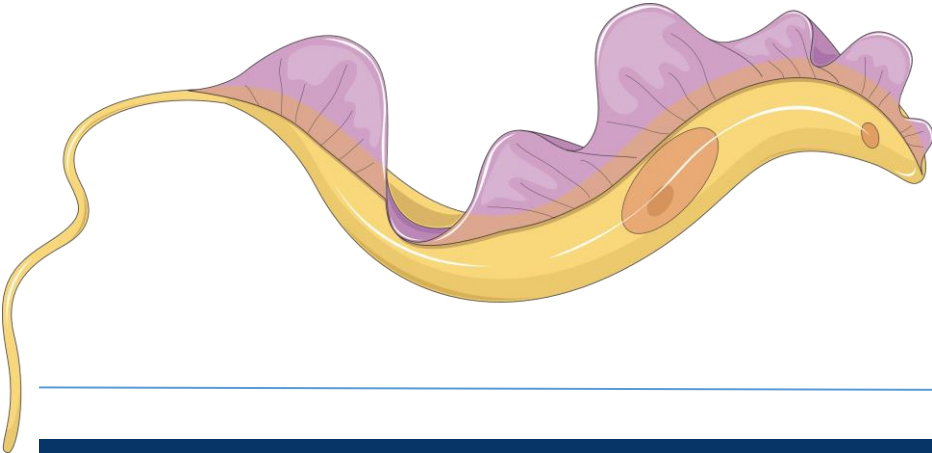


IMPLICANCIAS DE TcBDF7 EN LA RESISTENCIA A FÁRMACOS Y EN LA ADAPTACIÓN FRENTE AL ESTRÉS AMBIENTAL EN *Trypanosoma cruzi*

PERDOMO, Virginia^{1,3*}; BOSELLI, Victoria²; PIEVAROLI, Giovanna¹; MANARIN, Romina¹; SERRA, Esteban^{1,2}.

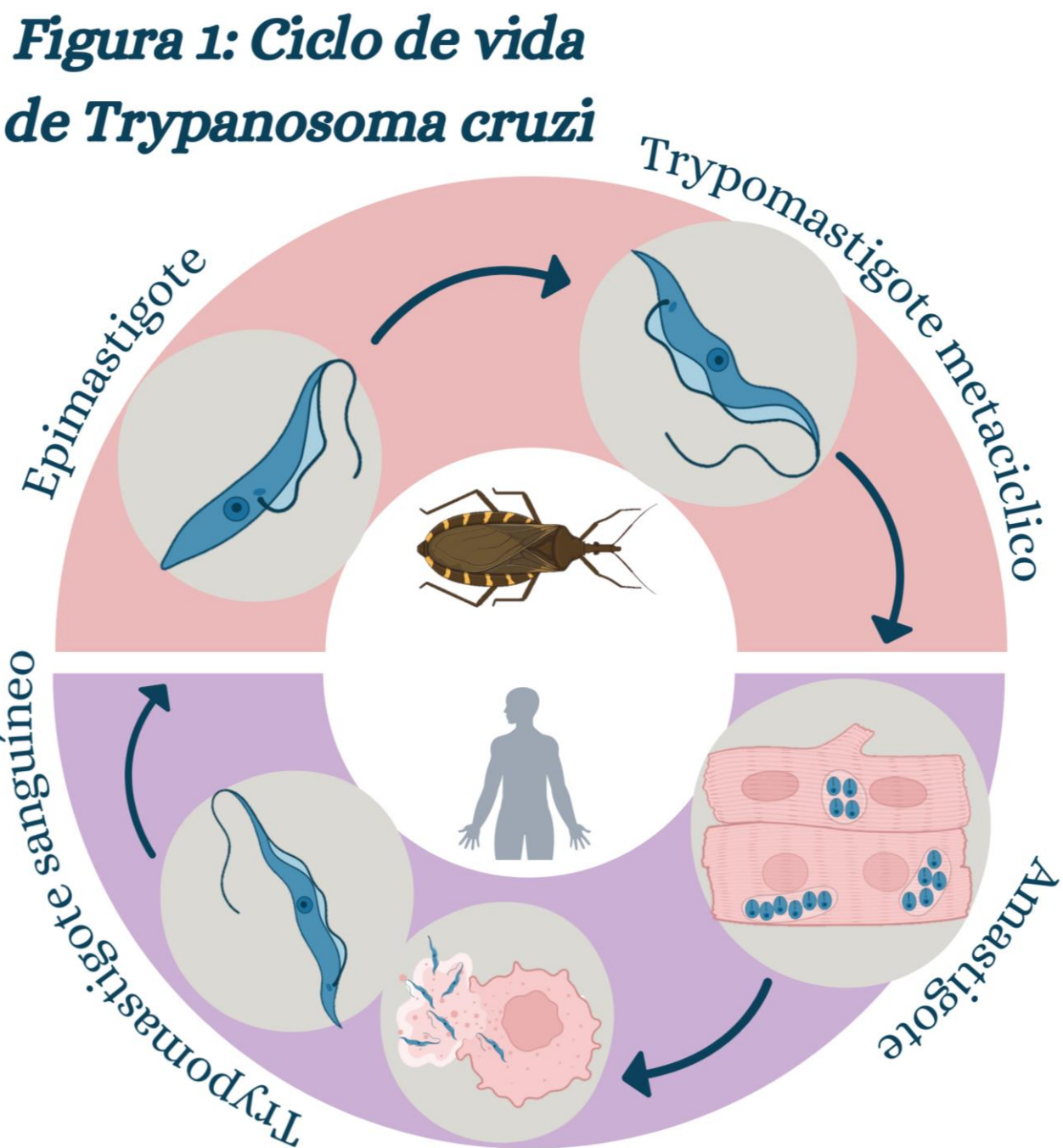
¹Área Parasitología, FBioyF, UNR/*vperdomo@fbioyf.unr.edu.ar
²IBR-CONICET; ³CONICET



Palabras claves: *Trypanosoma cruzi*; Estrés; Regulación epigenética; Bromodominios.

INTRODUCCIÓN e HIPÓTESIS

La enfermedad de Chagas, causada por el parásito *Trypanosoma cruzi*, representa un importante problema de salud pública. En tripanosomátidos, la regulación de la densidad nucleosómica por la carga o eliminación de histonas, es mediada principalmente por proteínas chaperonas. Entre estas, las proteínas homólogas de TcBDF7, han sido asociadas a mecanismos de resistencia al estrés. Hipótesis: **TcBDF7 es capaz de reconocer, unir y re-direccionar histonas (o sus variantes) al ADN, regulando epigenéticamente la transcripción de genes y/o modificando la sensibilidad al estrés.**



OBJETIVO

Estudiar la implicancia de TcBDF7 en la tolerancia al estrés químico y resistencia a drogas.

METODOLOGÍA / MATERIALES Y MÉTODOS

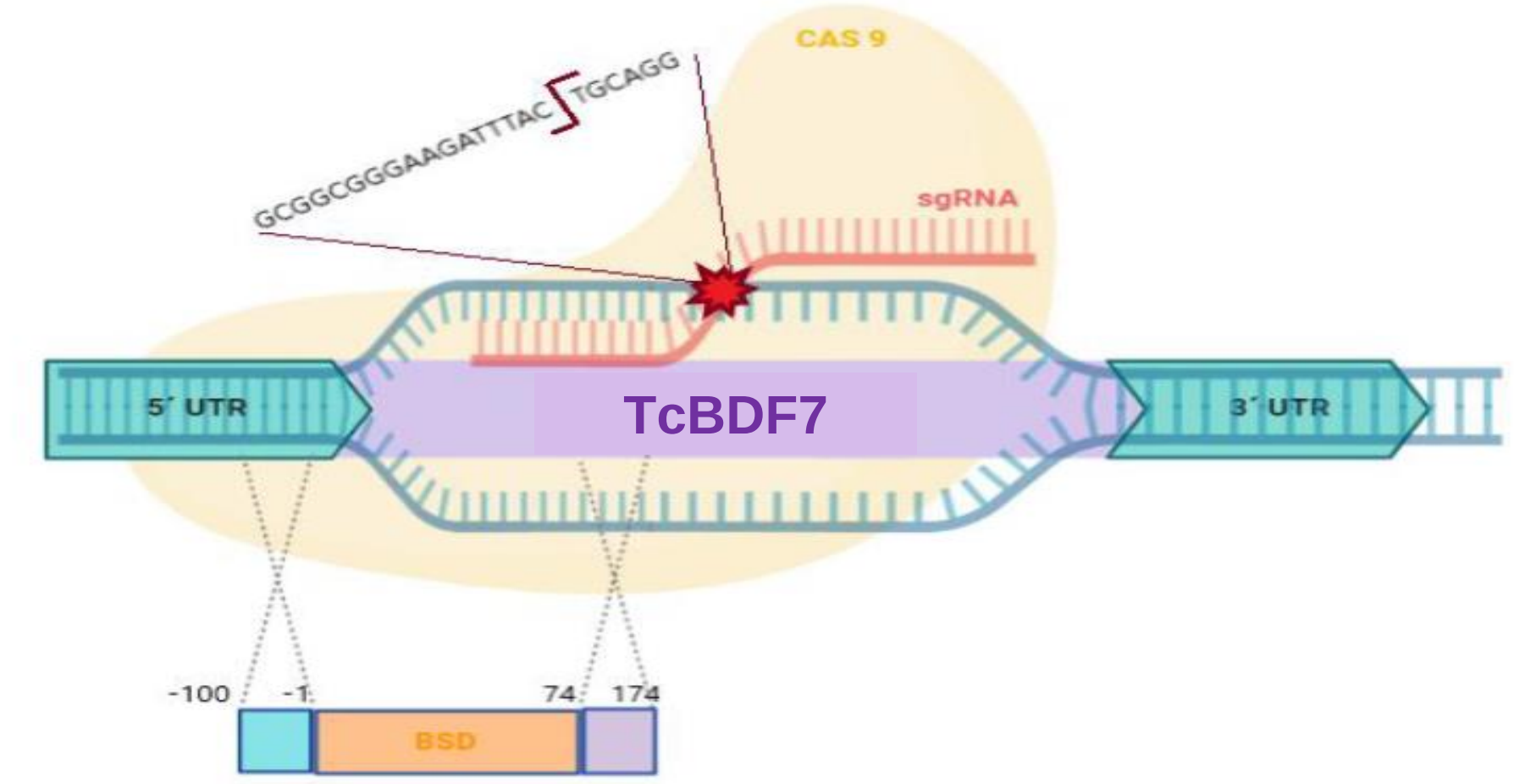


Figura 2. Delesión de TcBDF7 con CRISPR-Cas9. Se evaluó la presencia/ausencia del gen mediante PCR y seleccionó clones hetero- y homocigotas negativos (TcBDF7^{-/+} y TcBDF7^{-/-}).

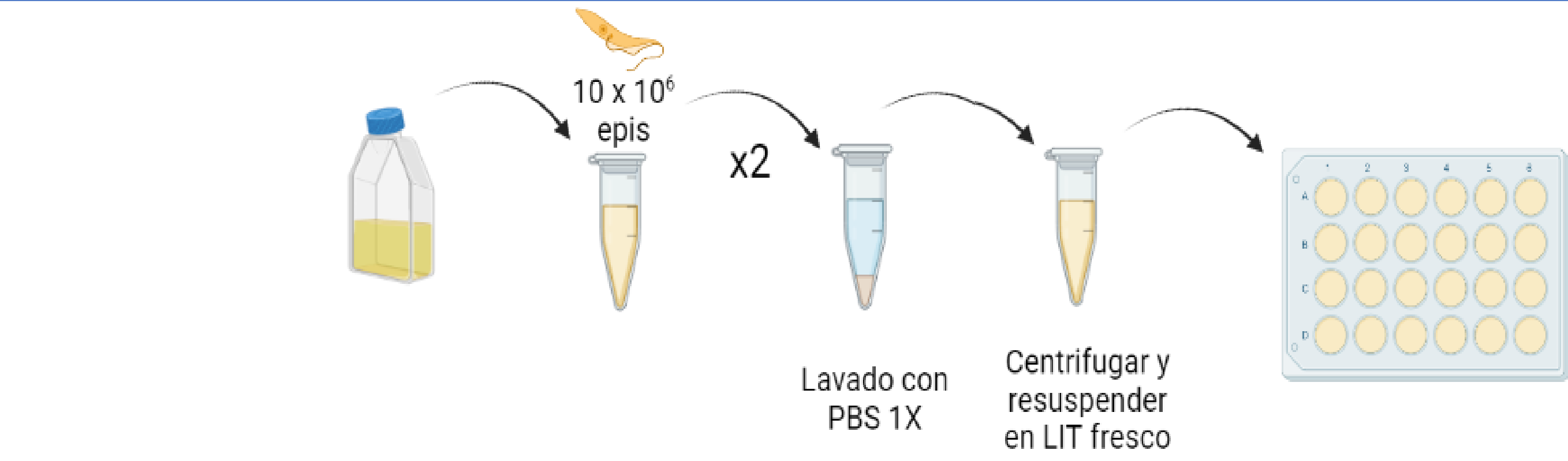


Figura 3. Ensayos de sensibilidad a estrés. Epimastigotes de los distintos clones (Ci: 5x10⁶ parásitos/ml, n=4) fueron tratados con concentraciones crecientes de H₂O₂ (0-250 µM), Cisplatina (0-15 µM), Doxorrubicina (0-20 µM), Benznidazol (BZL: 0-40 µM) o Nifurtimox (NFX: 0-10 µM), e incubados a 28°C durante 72 hs. Posteriormente, se fijaron los parásitos, se determinó su concentración mediante un contador hematológico y se calculó el IC₅₀.

RESULTADOS y DISCUSIÓN

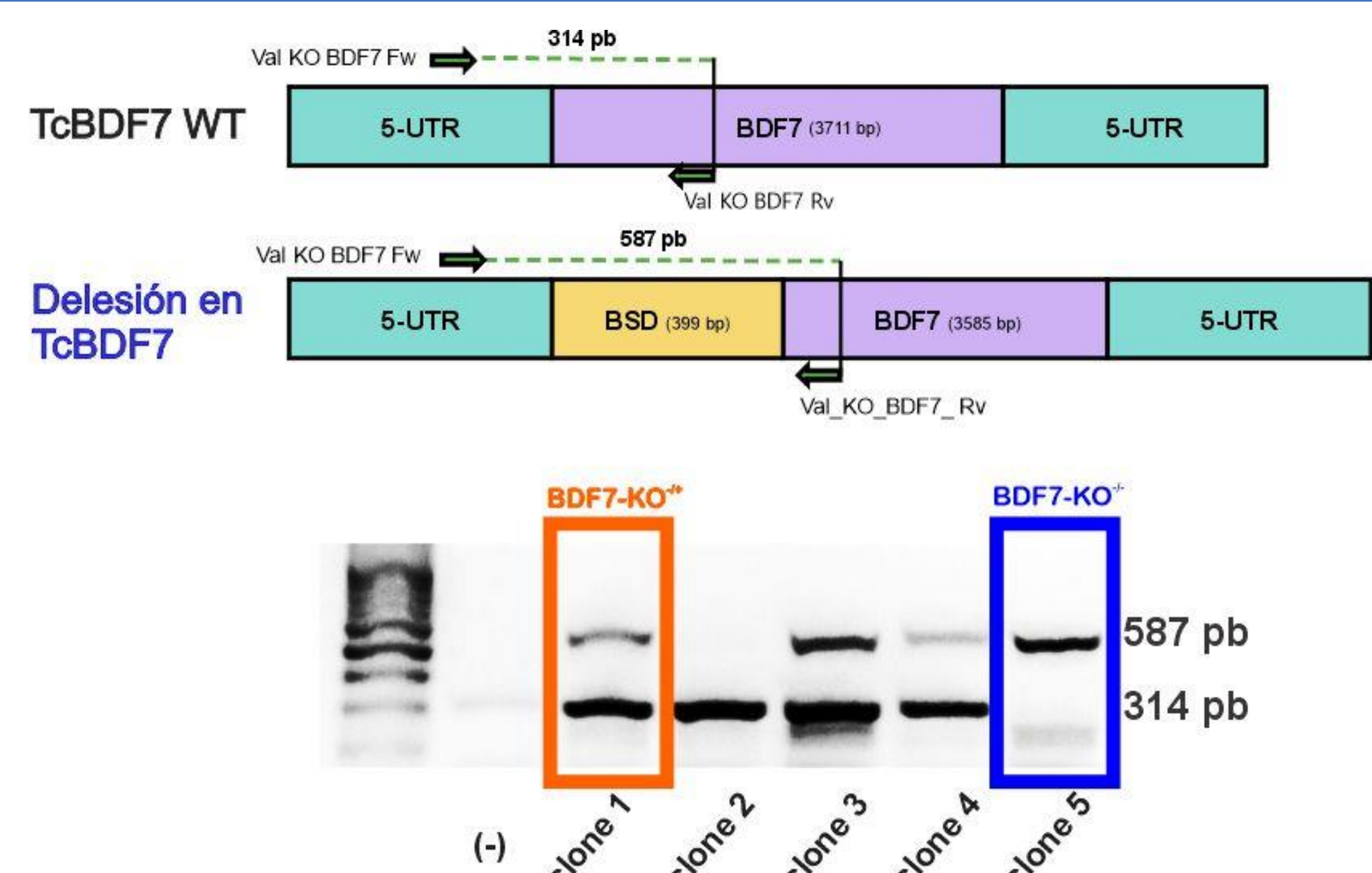


Figura 4. Delesión de TcBDF7. Arriba: esquema de delesión del gen de TcBDF7. Abajo: gel de agarosa de los productos de PCR de ADN genómico de los distintos clones aislados. Izquierda a derecha: marcador de peso molecular, clones 1 a 5. El gen nativo de TcBDF7 (sin delesión) amplifica una secuencia de 314 pb, mientras que la delesión del gen genera un fragmento de 587 pb.

Tabla 1. IC ₅₀ de epimastigotes de <i>Trypanosoma cruzi</i> sometidos a estrés químico y oxidativo.			
Tratamiento/ Grupo experimental	Dm28c WT	TcBDF7 ^{-/+}	TcBDF7 ^{-/-}
H ₂ O ₂	192,9 µM	208,1 µM	225,6 µM
Cisplatina	9,903 µM	8,852 µM	9,968 µM
Doxorrubicina	22,33 µM	16,43 µM *	12,09 µM *
Benznidazol	15,82 µM	19,72 µM *	20,57 µM *
Nifurtimox	1,883 µM	2,869 µM *	2,548 µM *

*Estadísticamente significativo, p<0,05, ANOVA test, n=4.

No se encontró correlación entre la resistencia al estrés oxidativo (H₂O₂) y/o químico inducido por drogas anticancerígenas (cisplatina) y los niveles de expresión de la proteína. Sin embargo, la disminución en la expresión de TcBDF7 incrementó significativamente la susceptibilidad de *T. cruzi* a los fármacos tripanocidas NFX y BZL.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos nos permiten concluir que **TcBDF7 no estaría implicada en la regulación de mecanismos resistencia a estrés químico y/o reparación del ADN**. No obstante, los cambios observados en la susceptibilidad a los fármacos tripanocidas indican que TcBDF7 podría estar implicada **en la regulación de genes asociados al metabolismo y/o detoxificación de fármacos**, lo que influiría en la resistencia de *Trypanosoma cruzi* a los únicos fármacos actualmente disponibles para el tratamiento de la Enfermedad de Chagas.

AGRADECIMIENTOS y FINANCIAMIENTO

Financia este trabajo ASaCTel – Agencia Santafesina de Ciencia, Tecnología e Innovación, PEICID-2023-115.