

## NUEVAS HERRAMIENTAS PARA EVALUAR LOS LINFOCITOS PORCINOS DE MEMORIA

Hernández J<sup>1\*</sup>, Mercado C<sup>2</sup>, Garfías Y<sup>1</sup>, Reyes J<sup>2</sup>, Zenteno E<sup>3</sup>.

Depto de Bioquímica, INER<sup>1</sup>; Lab de Virología, CIBIOR-IMMS Puebla<sup>2</sup>; Lab de Inmunología, Depto de Bioquímica, Fac de Medicina, UNAM<sup>3</sup>.

La memoria inmunológica es la arma más importante del sistema inmune. La memoria inmune se presenta cuando un huésped infectado monta una respuesta inmune y sobrevive a la infección, y de esta manera queda protegido contra infecciones posteriores. A diferencia de los linfocitos B, en los cuales la determinación de anticuerpos permite evaluar la memoria inmune, en los linfocitos T y en especial en los CD4 existe aun muchas dificultades para analizar la memoria inmunológica. Este trabajo evalúa la lectina de cacahuete (PNA) y de amaranto (ALL) como herramientas para analizar linfocitos T de memoria en el cerdo. Se utilizaron cerdos adultos (>6 meses) para tomar muestras de sangre después de ser infectados con el rubulavirus porcino. Se separaron las células mononucleares (CMN) y se marcaron con anticuerpos específicos contra las moléculas CD4, CD8, CD29 (de memoria) y con las lectinas PNA y ALL conjugadas a biotina. Se realizaron ensayos de proliferación de las CMN, los linfocitos PNA<sup>+</sup> y ALL<sup>+</sup> en presencia del antígeno viral. Estas últimas se separaron por citometría de flujo. El reconocimiento de las lectinas PNA y ALL en los linfocitos porcinos revela que ambas lectinas reconocen, principalmente, linfocitos con fenotipo CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>. La expresión del marcador CD29 muestra que los linfocitos de alta densidad son PNA<sup>+</sup>, mientras que los linfocitos de baja o los que no son ni de alta ni de baja densidad fueron ALL<sup>+</sup>. Los linfocitos PNA<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> proliferan en presencia del antígeno viral, mientras que los PNA<sup>-</sup> no. En el caso de los linfocitos ALL<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>, estos no proliferaron, únicamente los linfocitos ALL<sup>-</sup>. Lo anterior demuestra que la lectina PNA se puede utilizar en el cerdo para identificar los linfocitos de memoria. Esta aseveración se basa en el hecho que los linfocitos CD29 de alta densidad considerados de memoria/efectores, son reconocidos por la lectina PNA; y que los linfocitos CD8<sup>+</sup>PNA<sup>+</sup> proliferan en después del estímulo con el antígeno viral. Por el contrario, la lectina ALL podría reconocer linfocitos vírgenes o linfocitos CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> sin capacidad de memoria inmunológica, ya que los linfocitos ALL<sup>+</sup> son CD29<sup>low</sup> o de intensidad intermedia; y que los linfocitos CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> que reconoce ALL, no proliferan en presencia de antígeno viral. Finalmente podemos concluir que la lectina PNA reconoce linfocitos de memoria, mientras la lectina ALL reconoce linfocitos vírgenes o linfocitos sin capacidad de memoria inmunológica.