



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



GLICOPROTEÍNAS FUSOGENICAS RECOMBINANTES INCREMENTAN LA EFICACIA DE FARMACOTERAPIAS ANTI-NEOPLÁSICAS

Alberto Gómez, Ma. Elena Cantú, Margarita Ortiz, Salvador Vázquez. Facultad de C. Químicas, Univ. Autónoma de Nuevo León. S. Nicolás de los Garza, N. L. 66451. arcoycello@yahoo.com.mx
Elena Mercadé. Facultat de Farmàcia, Dept. de Microbiologia i Parasitologia Sanitàries Univ. de Barcelona, España.

Palabras clave: glicoproteína F, Paramyxovirus SV5, resistencia a fármacos.

Introducción. En etapas tempranas del proceso de fusión mediado por la glicoproteína F del *Paramyxovirus SV5* se generan poros en membranas citoplasmáticas, que proveen canales de difusión intracelular útiles como vías de acceso para fármacos. Esto proporciona una estrategia para la incorporación de fármacos de efecto antineoplásico en situaciones críticas, tales como disminución de dosis efectivas; o bien, mayor difusión en células con resistencia a multi-fármacos (1,2).

Objetivo. Demostrar que la expresión de la glicoproteína fusogénica de SV5 incrementa la difusión de fármacos antineoplásicos.

Metodología. La expresión de la proteína fusogénica (F), timidinaquinasa (tk), proteína verde fluorescente (GFP) y β -galactosidasa (lacZ) se llevó a cabo mediante transfección con adenovirus recombinantes (Ad) a multiplicidades de infección definidas (m.o.i.). El sistema de activación de Ganciclovir de la tk del virus *Herpes simplex* (HSV-tk/GCV) proporcionó el fármaco monofosfato (GCV-MP). La formación de poros se evidenció mediante difusión de GFP en células CV1 y análisis con microscopía de fluorescencia y electrónica. Los ensayos de viabilidad se llevaron a cabo en placas de co-cultivo con dos poblaciones celulares separadas por una membrana de 0,4 μ m de poro. Se prepararon cultivos de células A431 (Carcinoma) con 4×10^4 células/celda/pozo. Las células en la celda inferior fueron infectadas a 25 m.o.i. con AdF, mientras que las de la celda superior se trataron con Adtk a la misma m.o.i. Cumplidas 24 horas, se renovó el medio de cultivo con 5 μ g/ml de GCV. Los cultivos fueron incubados durante 5 días y posteriormente se determinó la viabilidad celular del compartimento inferior. Se emplearon controles negativos y transfectados con AdlacZ como virus control.

Resultados. La expresión de la glicoproteína F de SV5 induce alteración de la estructura de la membrana celular a través de poros. La mortalidad celular resultante de la aplicación simultánea de ambas terapias es mayor que la alcanzada de manera individual por cada una de ellas. Se produce una disminución del 95% de la población celular en el tratamiento conjunto. En comparación, la aplicación de la expresión de la proteína F de manera individual resulta en una disminución del 60%, mientras

que el tratamiento con el sistema Adtk/GCV solo alcanza a provocar efecto en un 10% de las células.

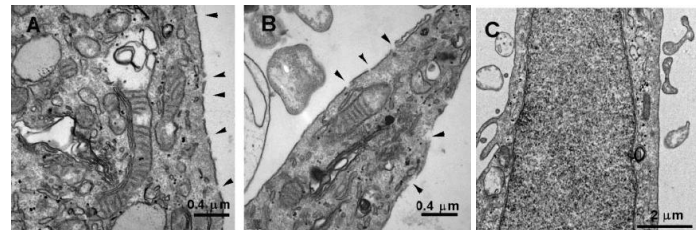


Fig. 1. Caracterización ultraestructural de células A431. A y B, células tratadas con AdF a 75 m.o.i. C, células tratadas con AdlacZ.

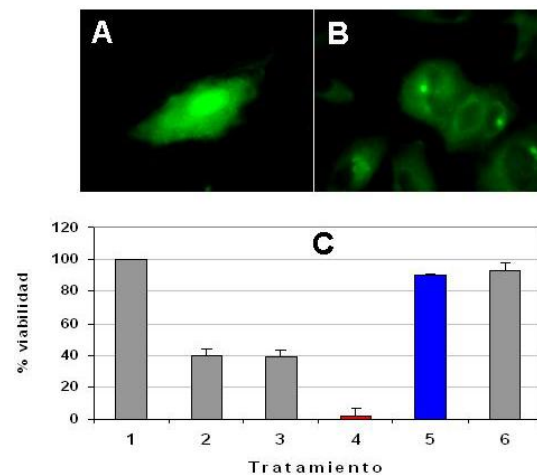


Fig. 2. Difusión de GFP en células CV1. A y B, células tratadas con AdF a 75 m.o.i. 24 y 72 h. post-transfección. C, Viabilidad celular de A431 del compartimento inferior (Control, N/AdF, GCV/AdF, tk-GCV/AdF, tk-GCV/N y GCV/N). N: No tratamiento.

Conclusiones. Se establece que las células que expresan la proteína F de SV5 en su membrana permiten una mayor difusión de GCV-MP que las células con membrana citoplasmática íntegra.

Bibliografía.

- Gómez-Treviño, A., Castel, S., López-Iglesias, C., Cortadellas, N., Comas-Riu, J. y Mercadé, M. (2003). Effects of adenovirus-mediated SV5 fusogenic glycoprotein expression on tumour cells. *J. Gene Med.* 5 (6) 483-492.
- Hoffman, D. y Wildner, O. (2006). Enhanced killing of pancreatic cancer cells by expression of fusogenic membrane glycoproteins in combination with chemotherapy. *Mol. Cancer Ther.* 5(8): 2013-2022.