

Conjugación de Péptido C9P-FICT específico para HER2 como potencial nanoterapéutico en cáncer

Andrea C. Alfonseca Ladrón de Guevara¹, Sandeep Panikar¹, Pavel H. Lugo-Fabres², Tanya A. Camacho Villegas², ¹Unidad de Biotecnología Médica y Farmacéutica, CIATEJ, Guadalajara, 44270. ²Investigador por México, Unidad de Biotecnología Médica y Farmacéutica, CIATEJ, Guadalajara, 44270.tcamacho@ciatej.mx

Palabras clave: cáncer de mama, péptidos, nanomedicina

Introducción. HER2 es una proteína transmembranal, perteneciente a la familia ErbB. La expresión de HER2 se asocia con un amplio número de cánceres incluido cáncer de mama, donde se sobreexpresa en ~30% de los cánceres primarios (1). En las células tumorales presenta una distribución espacial heterogénea, que puede afectar potencialmente el tratamiento terapéutico. La actividad de algunos nuevos agentes farmacológicos, pertenecientes al grupo de los conjugados anticuerpo-fármaco (ADC), puede representar una oportunidad para superar este problema (2). En este sentido, los péptidos (6-20 aminoácidos), caracterizados por su bajo peso molecular, se emplean para el direccionamiento activo dirigido a HER2 (1). Previamente, el péptido C9P aislado por nuestro equipo de investigación, demostró especificidad a células SKBR3 y mejoría en la entrega inteligente de fármaco (3). En este trabajo, se empleó el péptido C9P conjugado con fluoresceína (FITC) para demostrar su especificidad, penetración celular y la distribución heterogénea del receptor HER2 mediante microscopía confocal.

Metodología.

1.1 Conjugación del péptido C9P con FITC

Se conjugaron 500 µg de C9P con FITC (1mg/mL) por conjugación activa mediada por EDC. El exceso de FITC se descartó mediante diálisis.

1.2 Ensayo en células

Se seleccionaron las líneas celulares adherentes U87, SKBR3 positivas a la presencia del receptor HER2, y HBEC como control negativo. Se cultivaron hasta confluencia del 95% y viabilidad celular superior al 95%, se tripsinizaron y 100,000 células fueron sembradas por duplicado en cámaras de cultivo celular de 8 pocillos para microscopía. A las 24 h de incubación se agregaron 2 µL de la solución del péptido C9P con FITC. Después de 24 horas se lavaron las muestras y se fijaron con paraformaldehído al 4%, incubando 30 min a temperatura ambiente (TA). Posteriormente de tres lavados con PBS 1X pH 7.4, se secó a TA, los núcleos se tiñeron con yoduro de propidio (1mg/mL). Finalmente, se realizaron tres lavados con PBS 1X, las cámaras de cultivo se secaron a TA y se les colocó el cubreobjeto. El análisis de la especificidad del péptido C9P conjugado con FITC se realizó en un microscopio confocal Leica modelo DM5500-Q del CIATEJ.

Resultados. Las células U87 y SKBR3 fueron positivas a la presencia del receptor HER2 pues existe reconocimiento del péptido C9P conjugado con FITC. Sin embargo, en las células U87 el receptor HER2 no se encuentra sobreexpresado como en las células SKBR3. En cambio, en las células HBEC (control negativo) no se observa la detección de HER2 por C9P-FITC. Lo anterior confirma la sobreexpresión de HER2 en SKBR3 y la especificidad del péptido (3). Según se ha reportado HER2 se expresa hasta en el 80% de los casos de glioblastoma impactando en su malignidad y en la mortalidad temprana de los pacientes (4), específicamente, en la línea U87 se ha reportado un 0.55% de expresión del receptor (4,5). El péptido C9P demostró alta especificidad al receptor HER2, tanto en las células que sobreexpresan el receptor como en aquellas que presentan una baja expresión.

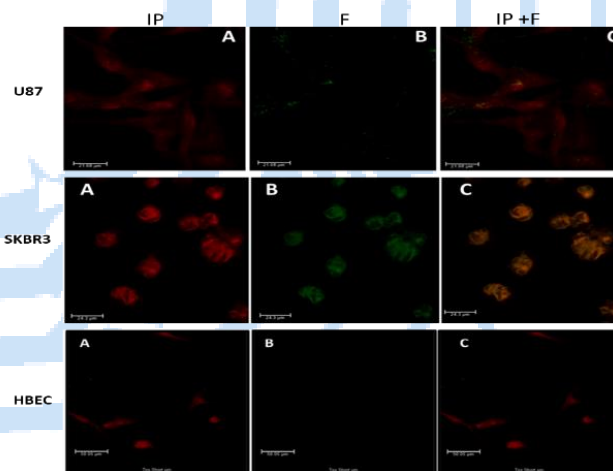


Fig. 1. Microscopía confocal de células (40X). En la figura se pueden observar los núcleos marcados con yoduro de propidio (rojo) y el péptido C9P conjugado con fluoresceína (verde). IP: yoduro de propidio, F: fluoresceína.

Conclusiones. El péptido C9P constituye una alternativa prometedora tanto en la terapia como en el diagnóstico de cáncer de mama.

Agradecimientos. Al CONACYT y al Laboratorio Nacional PlanTECC por el apoyo número 315918.

Bibliografía. 1. Honarvar, H., et al. (2018). *Scientific Reports*, 8(1), 2998. 2. Giugliano, F. et al. (2023). *Cancers*, 15(5), 1385. 3. Panikar, S.S. et al (2019). *Nanoscale*, 11(43), 20598-20613. 4. Shen, L., et al. (2019). *Oncology Reports*, 42(4), 1549-1557. 5. Li, C., et al. (2022). *Biosensors and Bioelectronics*, 214, 114503.