

EVALUACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE VECTORES ADENOVIRALES CON POTENCIAL APLICACIÓN EN TERAPIA GÉNICA CONTRA CÁNCER

U. Abdallah Sánchez, Yoanna García, Esly Cruz, Carlos A. Tavira, Angélica Meneses. Lab7-BteFar, Facultad de Farmacia, Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Cuernavaca, Mor. C.P. 62209. Email: angelica_meneses@uaem.mx

Palabras clave: Terapia génica, IFN- γ , NPv30-3.

Introducción. El cáncer es un problema de salud pública cuya incidencia y mortalidad se ha incrementado durante los últimos años y se prevé un aumento del 75% de nuevos casos para el año 2030¹. Los cánceres de pulmón y de próstata son los más comunes en los hombres mientras que en las mujeres son los cánceres de mama y colorrectal², por lo cual la investigación de nuevos fármacos y las combinaciones de tratamientos continúa para mejorar los resultados en comparación a las terapias convencionales.

Bajo el contexto de nuevos biofármacos para este padecimiento, se tienen dos modalidades: una que promueve muerte celular programada (MCP) y otra que promueve la inmunoestimulación. Así, en el caso de la primera se reportó que el vector plasmídico *pVAX1/NPv30-3* mostró efectos citotóxicos sobre linajes celulares cancerígenos. Por otro lado, el vector *pVAX1/IFN- γ* fue capaz de promover la expresión de esta citocina para fomentar la inducción de la respuesta inmune^{3,4}. Sin embargo, la baja eficiencia de transfección, así como las limitantes de los plásmidos en modelos *in vitro*, sugiere que es necesario tener mejores vectores. Por lo tanto, el uso de vectores adenovirales para terapia génica (TG) representa una herramienta atractiva para la transferencia de genes terapéuticos debido a su alta eficiencia de transducción.

Objetivo. Determinar la eficacia *in vitro* de la transducción de los vectores *Ad5/NPv30-3* y *Ad5/IFN- γ* en cultivos de células A549 y MCF-7 como modelos de cáncer de pulmón y mama, respectivamente.

Metodología. Se realizó el cultivo celular en placas de pozos para la transducción de los vectores *Ad5/Np30-3* y *Ad5/IFN- γ* a MOI 10, 15 y 30 a 72 y 120 h. Para su evaluación se determinó la viabilidad con azul de tripano y se monitoreó la transducción mediante la técnica de RT-PCR. Finalmente, se detectó la expresión proteica por Western Blot y su cuantificación por la técnica de ELISA. En el caso de la presencia de MCP se determinó la CE₅₀ mediante un análisis *probit*.

Resultados. Se comprobó que los vectores en estudio, son capaces de entregar el gen de interés en las células blanco (MCF-7 y A549) identificando los transcritos de ambas proteínas (NPv30-3 e IFN- γ) mediante un segmento intermedio de 127 pb para la primera y de 120 pb para la segunda, además se identificó su expresión con un peso aproximado de 53 kDa y 25 kDa respectivamente. En el caso del IFN- γ se obtuvo una concentración de 5 pg/mL a MOI 10 en las células A549 y en las células MCF-7 7 pg/mL a MOI 15 y 18.67 pg/mL a MOI 30, dicha producción no afectó la viabilidad celular y no se eclipsó por su co-transducción (Figura 1). Por otro lado, la proteína NPv30-3 desencadenó MCP dependiente de la MOI, observando una mayor afinidad por las células de cáncer de pulmón (A549) pues

se obtuvo una CE₅₀ de MOI 24 a 72 h mientras que en el caso de las células MCF-7 se obtuvo una CE₅₀ de MOI 48 hasta las 120 h.

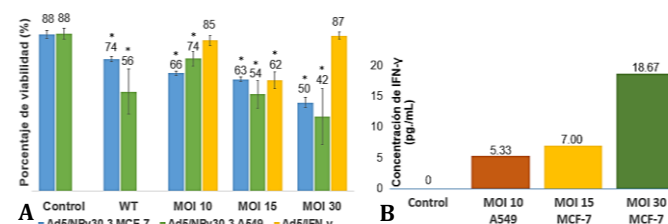


Fig. 1. Efecto en la viabilidad (A) y producción de IFN- γ (B) post-transducción. El transgen fue transferido a las células blanco de manera eficiente generando MCP por la expresión de NPv30-3 y la producción de IFN- γ de manera MOI-dependiente.

Conclusiones. Los vectores adenovirales *Ad5/NPv30-3* y *Ad5/IFN- γ* presentan una transgénesis eficiente de los biofármacos de interés. Donde el vector *Ad5/NPv30-3* tiene la capacidad de inducir MCP con una CE₅₀ de MOI 48 en las células MCF-7 y una CE₅₀ de MOI 24 en las células A549; mientras que el vector *Ad5/IFN- γ* es capaz de expresar el homodímero de IFN- γ humano de manera conjunta o individual de una forma MOI-dependiente, sugiriendo así una mejor estrategia de transgénesis terapéutica en comparación con los datos obtenidos post-transfección de los vectores de origen plasmídico. Con base en lo anterior, se sientan las bases para el estudio de los biofármacos descritos para ser usados en posibles estrategias para el tratamiento del cáncer, mediante la inducción de MCP por la expresión de NPv30-3 o TG inmunoestimulante mediante la producción de IFN- γ así como una posible terapia combinada, con la destrucción de las células tumorales y la subsiguiente inducción de inmunogenicidad.

Agradecimientos. Agradecemos el apoyo del fondo sectorial CONACYT-AEM 2015, a través del proyecto 262872.

Bibliografía.

- Stewart, B. W.; Wild, C. P. (2014). World Cancer Report 2014. OMS - IARC. Retrieved from <http://apps.who.int/bookorders/anglais/detart1.jsp?codlan=1&codco l=76&codcch=31>.
- Pavlova, N. N., & Thompson, C. B. (2016). The Emerging Hallmarks of Cancer Metabolism. *Cell Metabolism*, 23(1), 27–47. <http://doi.org/10.1016/j.cmet.2015.12.006>
- Uribe Toledo L. (2014). Construcción molecular de vectores que expresen el transgén de NPv30-3 para inducir muerte celular programada en sistemas celulares [Tesis].
- Romero Martínez, N. (2014). Construcción y evaluación de vectores moleculares que expresen interferón gamma en células humanas como potencial tratamiento inmunoestimulador [Tesis].

