

EVALUACIÓN DEL EFECTO SOBRE EL CITOESQUELETO DE ACTINA DE UN ACARREADOR NANOPARTÍCULADO COMO VEHÍCULO DE ÁCIDO GLICIRRICÍNICO PARA EL TRATAMIENTO DEL VIRUS DE PRRS.

Jardon-Xicotencatl S^{1*}, García-Tovar CG¹, Quintanar-Guerrero D¹, Urbán Z¹, Juárez-Mosqueda ML², Mendoza-Elvira S¹

Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

Palabras clave: Nanopartículas, citoesqueleto, ácido glicirricínico, PRRSv. mvz.jardon@gmail.com

Introducción

El Síndrome Respiratorio y Reproductivo Porcino (PRRS) es un problema viral endémico en la mayoría de las zonas productoras de cerdos del mundo, que genera importantes pérdidas económicas a la industria porcina. Infecta a cerdos de todas las edades. Las manifestaciones clínicas de la enfermedad se caracterizan por problemas respiratorios en los animales jóvenes y reproductivos en los adultos. La nanomedicina en combinación con la medicina tradicional, ha permitido el desarrollo de nuevas y prometedoras investigaciones, como el uso de nanopartículas transportadoras de fármacos de origen natural para el empleo en distintas enfermedades de interés en medicina humana y veterinaria, como el ácido glicirricínico (AG). Recientemente se reportó que nanopartículas lipídicas solidas (SLN) con ácido glicirricínico disminuyen exitosamente la infectividad del PRRSv en células MARC-145, sin embargo inducen cambios morfológicos en las células. Siendo el citoesqueleto el sistema celular encargado de los cambios morfológicos como respuesta a cambios internos y externos en las células, esta investigación plantea la evaluación de este acarreador nanoparticulado sobre la dinámica del citoesqueleto de actina, evaluando su citotoxicidad para establecer si es un vehículo inocuo. **Materiales y métodos** Para el seguimiento de los cambios morfológicos se empleará a la línea celular RK13 (*rabbit kidney*) y para los desafíos de infección con la cepa de PRRS VR2332 a la línea MARC-145. Las SLN se prepararán por el método de enfriamiento de la microemulsión, una vez obtenidas las NPs, se procederá a separarlas por ultracentrifugación, para su posterior caracterización y exposición a los cultivos. Mediante estudios de fluorescencia directa y microscopía electrónica de barrido se evaluarán rearrreglos o alteraciones de los filamentos de actina. Las pruebas de citotoxicidad se realizaran mediante la MTT, exclusión de azul de tripán y rojo neutro. **Resultados y discusión** Se logró la obtención de SLN por el método de enfriamiento de la microemulsión de acuerdo al método Mumper y Jay (2001) y las condiciones descritas por Urban-Morlan. Las SLN presentaron un tamaño promedio de 198 nm ± 82.8nm, con un índice de polidispersión de 0.64, estos parámetros son similares a los reportados para este acarreador por Urbán-Morlán (2015). Urban et al. 2015, reportó que las SLN con ácido glicirricínico poseen actividad antiviral in vitro en células MARC-145 infectadas PRRSv, sin embargo de manera

adversa se inducen cambios en la morfología celular por lo que su efecto en la estructura celular y su citotoxicidad no han sido estudiadas. Para poder establecer el efecto de las SLN sobre la morfología celular se empleó la técnica de fluorescencia para evaluar el citoesqueleto de actina. (Figura 3). En los tres diferentes tiempos de exposición 24 (Figura 1), 48 y 96h (Figuras no mostradas) el comportamiento del citoesqueleto de actina fue similar en los cultivos

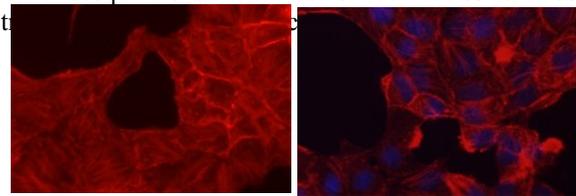


Figura 1. Células RK13 expuestas a NPs lipídicas solidas durante 24 horas de exposición. Fluorescencia para actina. Merge: núcleos con DAPI. Bajo el esquema de exposición empleado en este trabajo el citoesqueleto de actina.

Por microscopía óptica se pudo observar que el tratamiento con las SLN no afectó el desarrollo del cultivo celular (Figura 2).

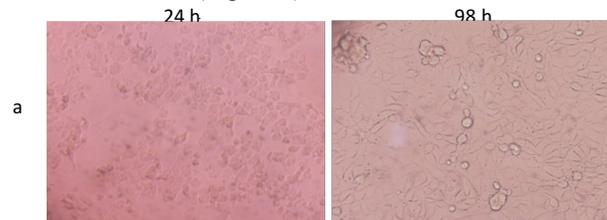


Figura 2. Células RK13 expuestas a NPs lipídicas solidas con AG durante 18 y 92 hrs de exposición. Microscopía óptica. Bajo el esquema de exposición empleado en este trabajo no se observó daño celular en los cultivos de células RK13.

Conclusiones Las nanopartículas lipídicas solidas preparadas por el método de enfriamiento de la microemulsión no modificaron la integridad del cultivo celular durante los tiempos de exposición. El citoesqueleto de actina en las células tratadas fue similar al de los cultivos control. Se requieren más pruebas y evaluación sobre otras condiciones de exposición y sobre otros componentes del citoesqueleto, así como realizar las pruebas de citotoxicidad para obtener más datos para evaluar su seguridad como vehículo transportador del fármaco, para proseguir con los estudios de los ensayos en cultivos infectados.

Referencias bibliográficas: 1. Lyoo, Y. S., 2015, Clinical and experimental vaccine research 4 (2), 159-165. 2. Kim, J.-K., 2006, Journal of virology, 80 (2), 689-696. 3. Wang, T., 2015 Veterinary research, 46 (1), 1-6. 4. Urbán-Morlán, Z., 2015. Tesis Doctoral Universidad Nacional Autónoma de México .