

POS-C07

PD en Investigación y Evaluación de Medicamentos. Aplicación de la Tecnología Farmacéutica al Desarrollo de Terapias Avanzadas

TERAPIA GENIKO EZ-BIRALA ALZHEIMER GAIXOTASUNARI AURRE EGITEKO

Ilia Villate Beitia, Jon Zarate, Gustavo Puras, Mireia Agirre, Edilberto Ojeda, Jose Luis Pedraz

Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU)

Alzheimer gaitza da neuroendekapenezko gaixotasun ugariena adineko pertsonen artean, eta gaur egun ez dago horri aurre egiteko tratamendu eraginkorrik. Hala ere, zientzia komunitatea estrategia itxaropentsuak ari da garatzen, eta horietako bat da faktore neurotrofiko eta angiogenikoen erabilera. Faktore horiek terapia genikoaren bidez garuneko zeluletan txerta daitezke tokiko ekoizpen iraunkorra lortzeko. Bektore ez-biralak aukera egokia izan daitezke interesatzen zaizkigun faktoreak kodifikatzen dituzten plasmidoak garunera bideratu eta bertako zelulak transfektatzeko. Gure ikerketa taldean, nanopartikula lipidikoetan, polimerikoetan eta magnetikoetan oinarritutako formulazioak erabiltzen ditugu bektore ez-biral gisa, eta transfekzio eredu gisa erabiltzen diren HEK293 zelulez gain, neuronen aurrekari diren NT2 zelulak transfektatzea ere lortu dugu. Transfekzioetan bi plasmido ezberdin erabili ditugu, bata GFP izeneko proteina berde fluoreszentea kodifikatzen du eta, besteak, VEGF faktore angiogenikoa (hau da, proteina terapeutikoa). GFP proteinaren espresio maila fluoreszentsia mikroskopioaren bidez aztertzen dugu lehenik era kualitatiboan eta, jarraian, fluxu zitometriaren bidez fluoreszentsia duten –eta, beraz, transfektatuak izan diren– zelulen portzentajeak kuantifikatzen ditugu. HEK293 zelulen kasuan, %45eko transfekzio mailara iritsi gara, eta NT2 zelulen kasuan %25eko transfekzio maila lortu dugu, neuronak zailagoak izaten baitira transfektatzen. Bestalde, VEGF proteina terapeutikoaren espresioa ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) entseguaren bidez kuantifikatzen dugu. HEK293 zeluletan 17 ng/ml-ko VEGF kontzentrazioak lortu ditugu, NT2 zeluletan, aldiz, soilik 0,6 ng/ml VEGF ekoiztea lortu dugu. Garuneko beste zelula eredu batean (C6 glioblastoma zeluletan) egindako entseguetan berriz, %35eko GFP espresioa eta 15 ng/ml-ko VEGF ekoizpena lortu dugu. Datu hauetatik abiatuz, transfekzio mailak in vitro hobetzea eta gerora in vivo saiaketak egitea da helburua. Gainera, berriki argitaratutako datuek iradokitzen dute bektore ez-biralak sudur barneko bidetik (eman bide ez-inbaditzailea) helarazi daitezkeela garunera, eta, epe luzera, interesgarria litzateke ikerketa ildo horretatik ere bideratzea. Beraz, oraindik bide luzea daukagun arren aurretik, eskuartean dugun proiektuak aukera berritzaile eta itxaropentsua eskaintzen du bektore ez-biraletan oinarritutako terapia genikoa garuneko gaitzen tratamenduetara bideratzeko, besteak beste, Alzheimer gaixotasunerako.