

# EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTICANCERÍGENA DE UNA PROTEÍNA RECOMBINANTE HIPOTÉTICA DE *Polaromonas sp.*

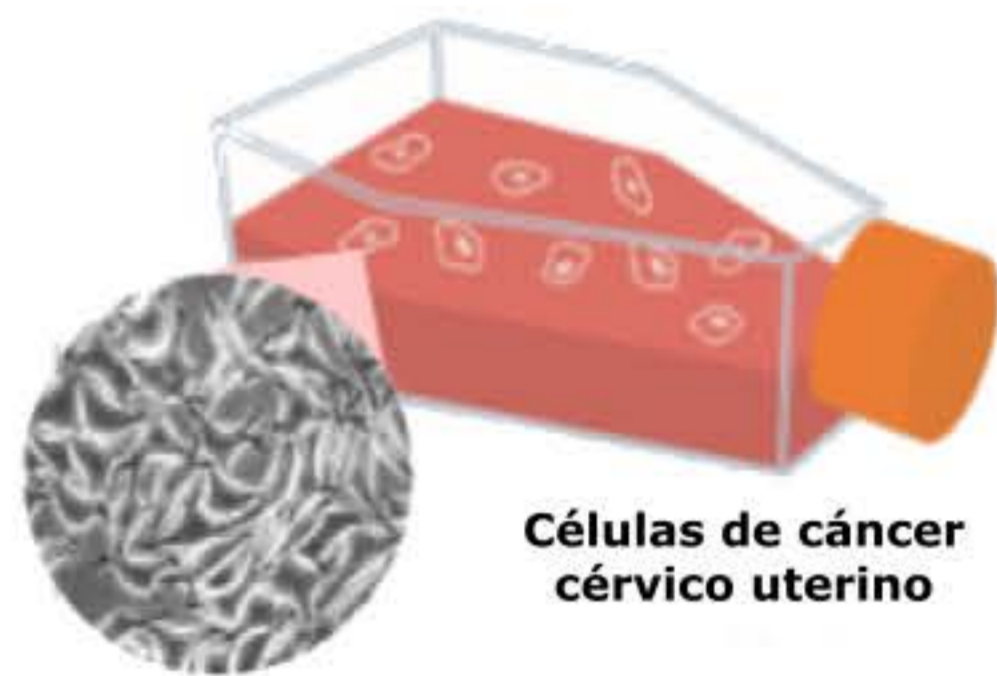
TORRES, Valeria\*<sup>1</sup>; LOPEZ-PAZOS, Silvio Alejandro<sup>2</sup>; LOSADA-BARRAGÁN, Monica<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Grupo de investigación de Biología Celular y Funcional e Ingeniería de Biomoléculas, Universidad Antonio Nariño, Bogotá-Colombia, <sup>2</sup> Grupo de investigación en Ciencias Biológicas y Químicas.

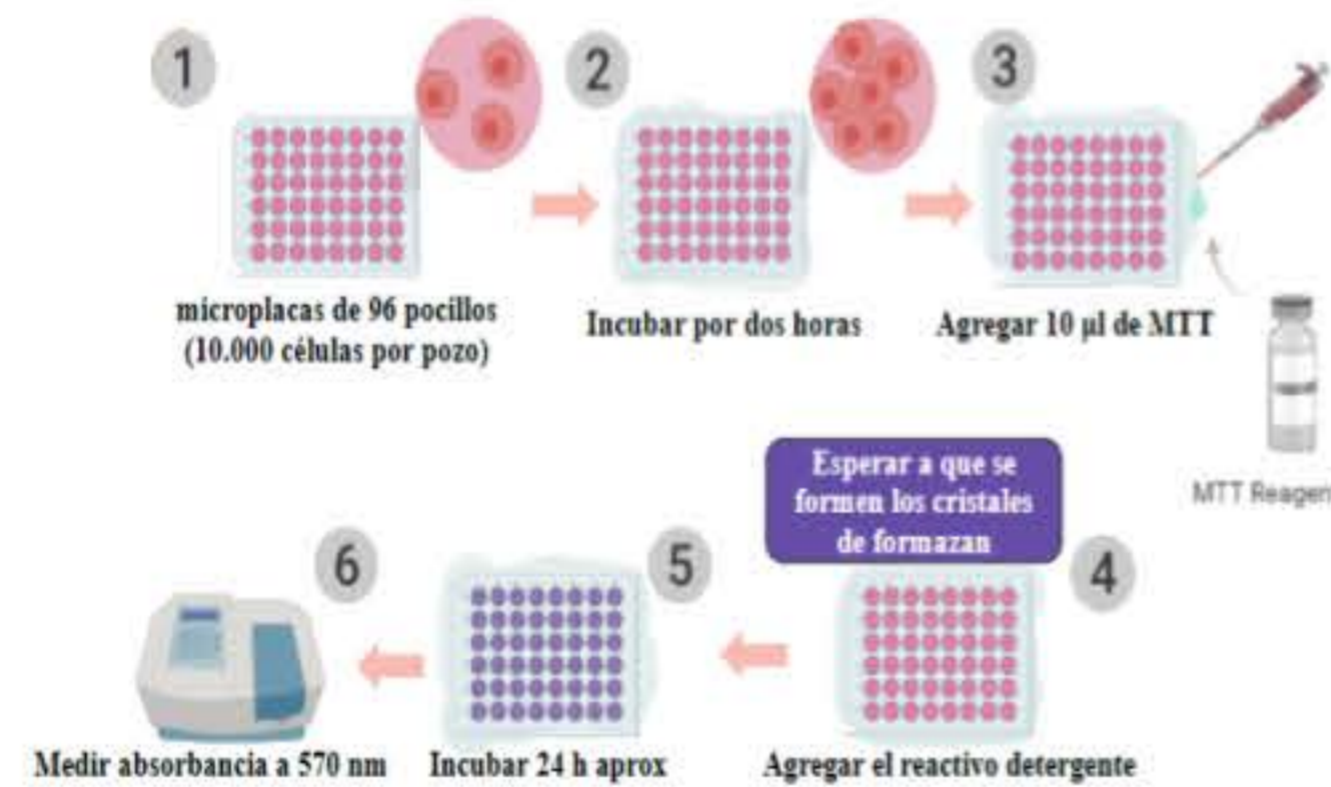
## Introducción

Las proteínas hipotéticas (HPs) se encuentran en diferentes organismos sin una caracterización bioquímica o funcional específica, representando casi el 30% de la información del genoma en bacterias. Este trabajo se centra en el estudio de la proteína hipotética PHP1 de *Polaromonas sp.* una molécula soluble secretada relacionada con péptidos antimicrobianos, con potencial actividad citotóxica en células de cáncer cérvico-uterino. El cáncer del cuello uterino es una de las neoplasias malignas de mayor incidencia y mortalidad entre las mujeres de todas partes del mundo ocupando el segundo lugar entre todas las neoplasias malignas que afectan a la población femenina, por esto es importante buscar alternativas para su tratamiento debido a que los tratamientos existente requieren de técnicas invasivas.

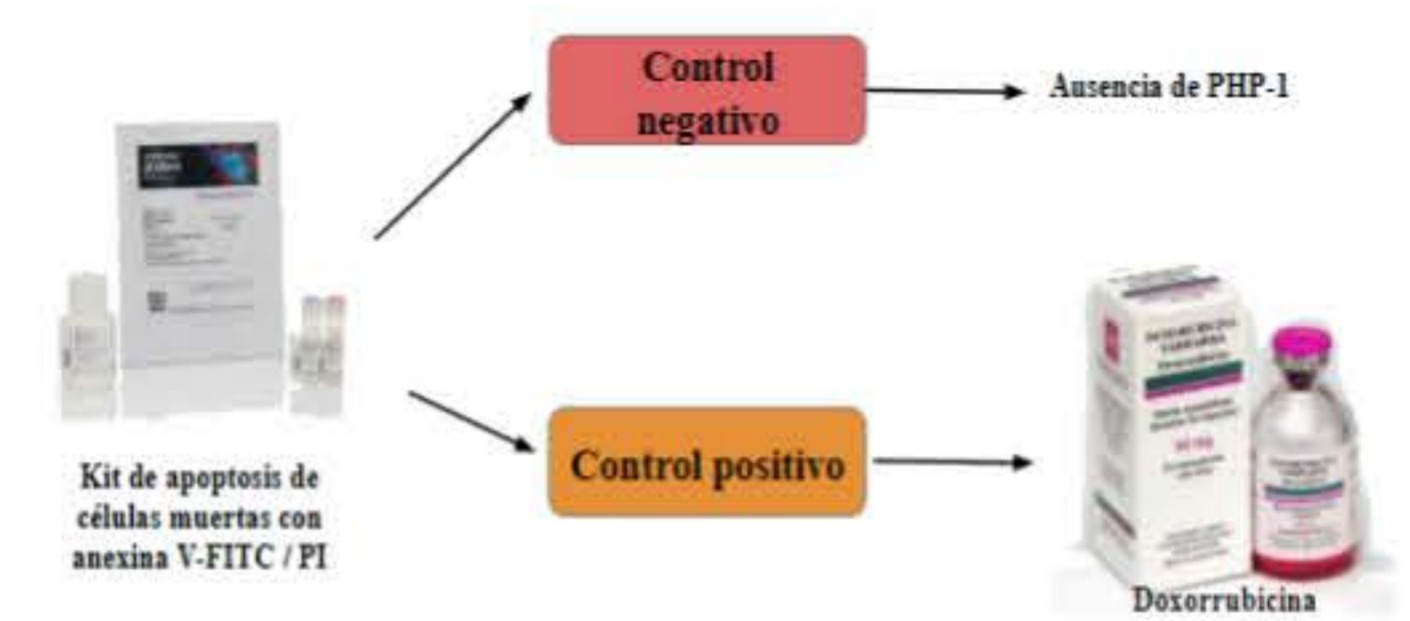
## Materiales y métodos



**Fig. 1** Cultivo celular de HeLa con DMEM suplementado con 10% de SFB (suero fetal bovino) y 1% de penicilina/estreptomocina



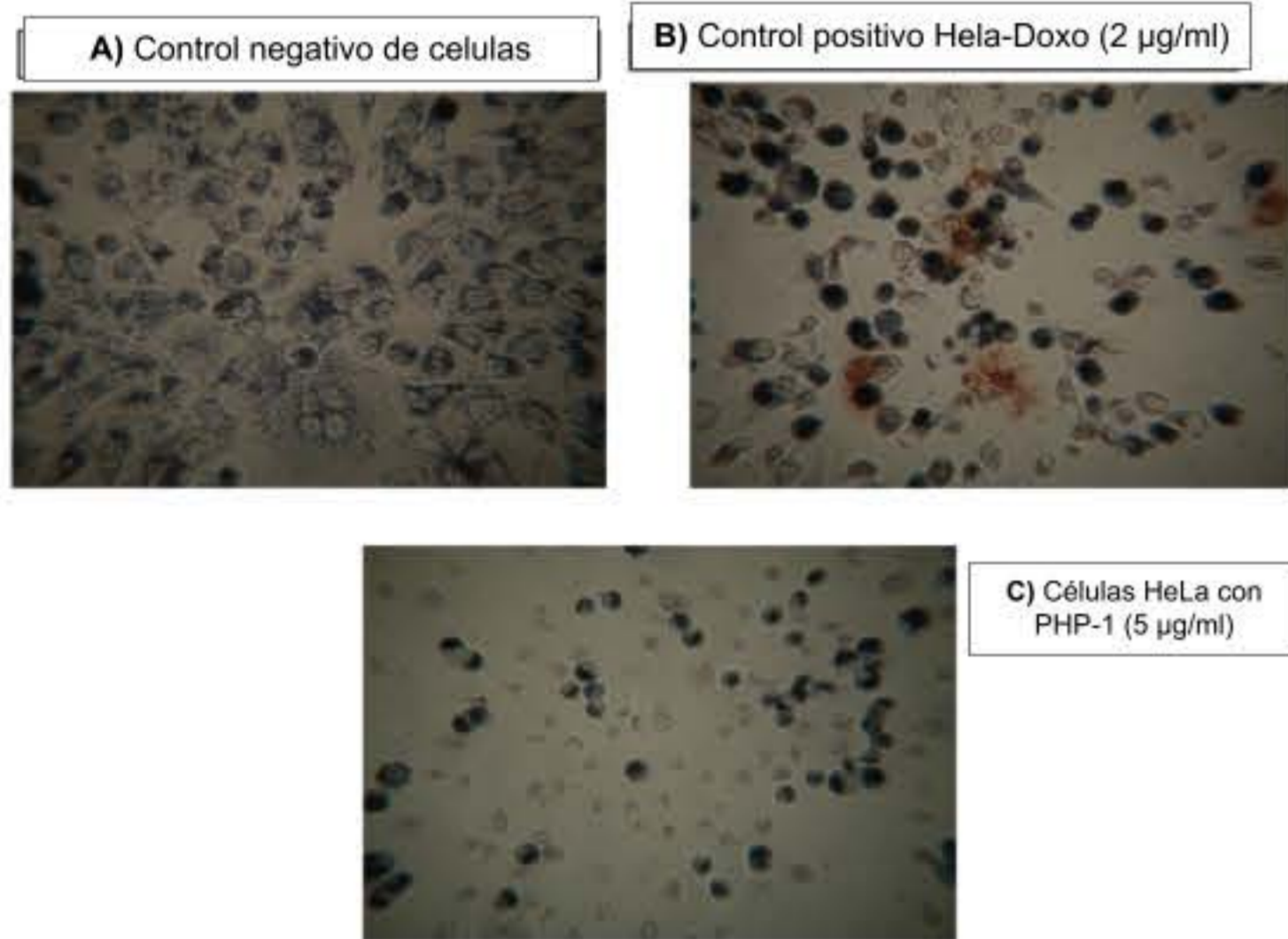
**Fig. 2** Evaluación de la citotoxicidad por ensayo de MTT en un rango de concentraciones 0.5-150 µg/mL a 24 h



**Fig. 3** Ensayo de apoptosis por citometría de flujo utilizando un marcaje de anexina V / yoduro de propidio

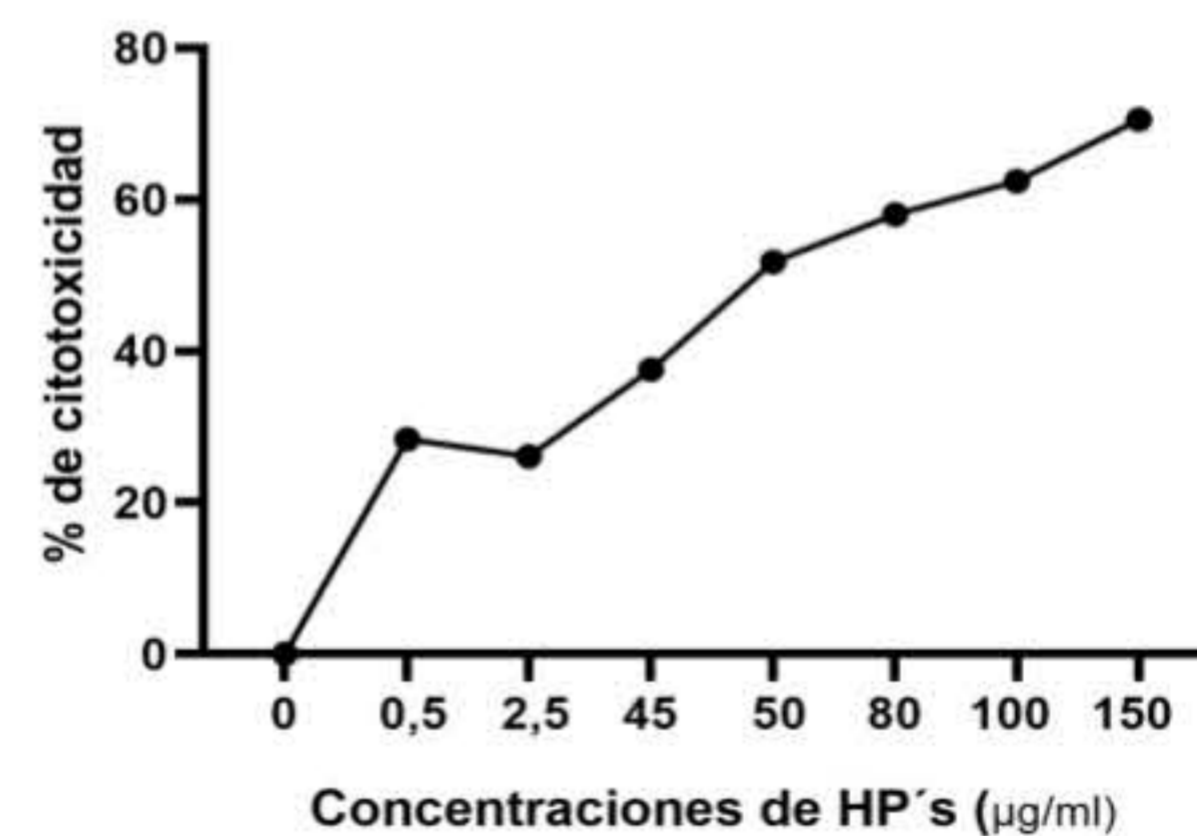
## Resultados

La proteína PHP1 mostró un efecto citotóxico en la línea celular presentando un notable cambio en su morfología característica de epitelio hacia una morfología redondeada, granulosa y con pérdida de adherencia (**Fig. 4**).



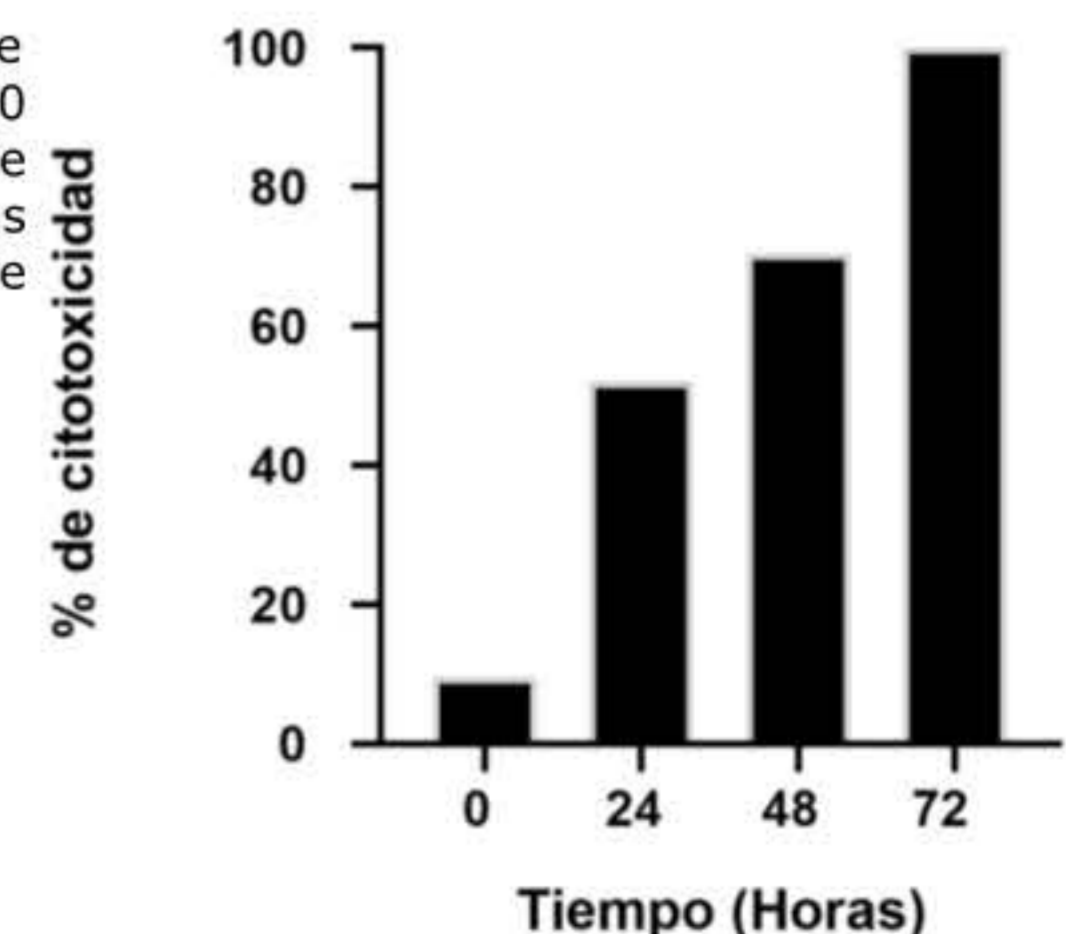
**Fig. 4** Fotografía tomada de microscopio invertido con un objetivo de 10x; A) Representa el control negativo de células HeLa sin tratamiento. B) Control positivo de HeLa con doxorubicina a una concentración de (2 µg/ml). C) Células con PHP-1 con una concentración de (5 µg/ml).

## Promedio de dosis vs % de citotoxicidad

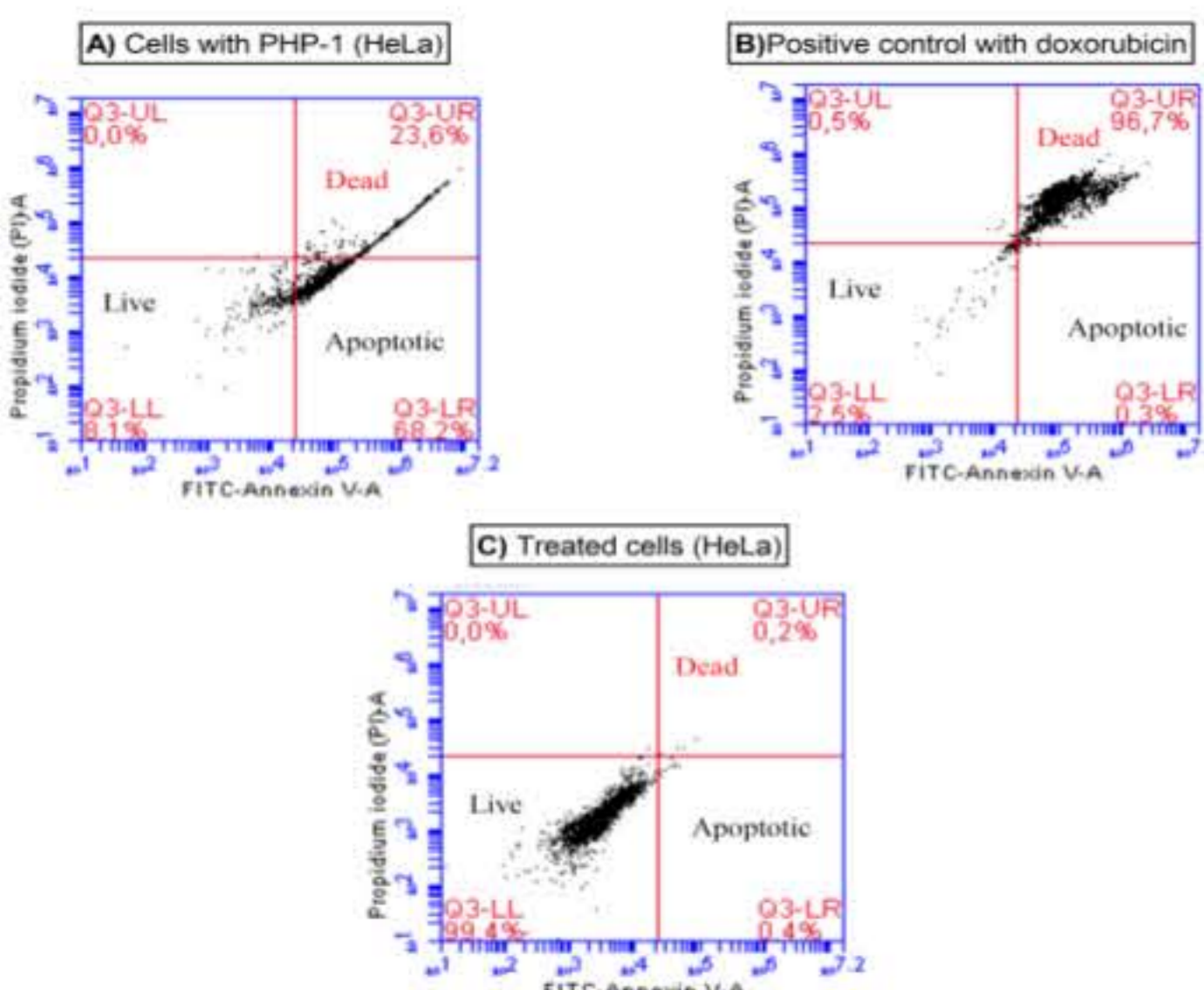


**Tabla 1.** Porcentaje de citotoxicidad de PHP-1 en un rango de concentración de 0.5-150 µg / mL en un período de tiempo de 24 h.

## % de citotoxicidad a través del tiempo



**Tabla 2.** Porcentaje de citotoxicidad a partir del  $Ic_{50}$  (12,5 µg/ml); en lapsos de tiempo de 0,24, 48 y 72 horas con porcentajes de citotoxicidad de



**Fig. 5** Análisis por citometría de flujo a partir de un diagrama de puntos/Dot plot de células de cáncer cervico-uterino (HeLa) inducidos a apoptosis implementando un marcaje de Anexina V / PI en un lapso de tiempo de 24 h. (A) HeLa tratadas con PHP-1 a una concentración de 12,5 µg/ml presentando una actividad pro-apoptótica exhibiendo un porcentaje de 68,2% de células en estado de apoptosis. (B) Control negativo con doxorubicina con un porcentaje de 96,7% de células en apoptosis tardía. (C) Células HeLa marcadas sin tratamiento con un 99,4% de células vivas.

## Discusión:

- Por medio de los ensayos de citotoxicidad se determinó que la concentración de PHP1 que causa una inhibición del crecimiento celular del 50% es de 12,5 µg/ml a 24h.
- La proteína PHP1 induce la muerte celular mediante la vía apoptótica causando un cambio en la morfología celular y una disminución en la tasa de proliferación, esto fue comprobado mediante marcadores apoptóticos Anexina V/PI demostrando un porcentaje de apoptosis >50% en células tratadas con PHP-1.
- Esta proteína hipotética tiene una potencial aplicación en el tratamiento de cáncer cérvico uterino y que destaca la importancia de la caracterización de este tipo de proteínas para identificar posibles usos terapéuticos.