



154 - PAPEL DE LAS PROTEÍNAS EXPORTADORAS DE FÁRMACOS ABCC4 Y ABCC5 EN LA QUIMIORRESISTENCIA DEL CÁNCER GÁSTRICO

L. Pérez-Silva¹, R. Al-Abdulla¹, R.A. Espinosa-Escudero¹, E. Lozano¹, E. Herráez^{1,2}, R.I.R. Macías^{1,2}, N. Segués³, M. Abad⁴, Ó. Briz¹, L. Bujanda^{2,3} y J.J.G. Marín^{1,2}

¹Hepatología Experimental y Vectorización de Fármacos (HEVEFARM), IBSAL, Universidad de Salamanca. ²Centro de Investigación Biomédica en Red para el estudio de enfermedades hepáticas y digestivas (CIBERehd). ³Biodonostia, Hospital Universitario de San Sebastián, Universidad del País Vasco, Ikerbasque, San Sebastián. ⁴Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Universitario de Salamanca, IBSAL, Universidad de Salamanca.

Resumen

Introducción: La respuesta del adenocarcinoma gástrico (ACG) avanzado al tratamiento farmacológico de primera línea con 5-fluorouracilo (5-FU) y cisplatino es menor del 5%. Uno de los mecanismos responsables es la eficaz expulsión de los fármacos por las células tumorales.

Objetivos: Dilucidar el papel de las proteínas ABC (ATP-binding cassette) en la quimiorresistencia del ACG.

Métodos: La expresión de bombas ABC en muestras de ACG procedentes de los Biobancos de Salamanca y San Sebastián se determinó mediante Taqman Low Density Arrays (TLDA) seguida de confirmación mediante RT-QPCR convencional.

Resultados: Las proteínas ABC con mayor nivel de expresión en ACG fueron ABCC4 y ABCC5. A partir del cDNA obtenido por RT de alta fidelidad del mRNA de una línea celular de ACG humano se clonaron las secuencias codificantes (ORF) de estas proteínas. Debido al gran tamaño de ambas ORFs fue necesario clonarlas por fragmentos que se reconstruyeron en un vector lentiviral (pWPI). En los dos casos se secuenció la construcción final y se obtuvieron partículas lentivirales completas para la transducción de células HEK-293. La capacidad de sobre-expresar ambas bombas se comprobó mediante la determinación de los niveles de mRNA (RT-QPCR) y de proteína (western blot), así como la localización en la membrana plasmática (inmunofluorescencia). Se llevaron a cabo pruebas funcionales por citometría de flujo para comprobar que la expresión de ABCC4 y ABCC5 confería a las células la capacidad de expulsar sustratos fluorescentes específicos (Fluo-3 y 6-carboxifluoresceína, respectivamente). Esta propiedad se reducía en presencia de diclofenaco, un inhibidor general de bombas ABCC. Por último, los estudios de viabilidad celular mediante ensayos de MTT mostraron que ABCC4 confería resistencia al 5-FU y a algunos fármacos de segunda línea en el tratamiento del ACG, como SN-38, sorafenib, regorafenib y panobinostat, pero no a cisplatino. Por otra parte, ABCC5 confería resistencia al 5-FU y a la 6-tioguanina.

Conclusiones: Las bombas ABCC4 y ABCC5 están implicadas en la falta de respuesta a la quimioterapia del ACG, por lo que constituyen interesantes dianas farmacológicas para el desarrollo de nuevas estrategias quimiosensibilizantes.