

Restablecimiento de la expresión de HLA-A*02:01 y HLA-B*44:01 en líneas celulares tumorales mediante transferencia génica usando adenovirus recombinantes

Jessica Catalina Ruiz Munévar^{a,c,*}, Alba Lucía Combita^{a,b}, Josefa Antonia Rodríguez^a

^a Grupo de Investigación en Biología del Cáncer, Instituto Nacional de Cancerología, Bogotá D. C., Colombia

^b Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá D. C., Colombia

^c Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá D. C., Colombia
Correo electrónico: jcruiz@cancer.gov.co (J.C.R. Munévar).

Introducción: Las alteraciones en la expresión de HLA-I constituyen el mecanismo de evasión inmune más utilizado por las células tumorales, dado que estas moléculas son indispensables para la presentación de antígenos tumorales a los linfocitos T citotóxicos. Una de las estrategias planteadas para mejorar la respuesta inmune se basa en el restablecimiento de la expresión de las moléculas de HLA-I.

Objetivo: Restablecer la expresión de las moléculas de HLA-A*02:01 y HLA-B*44:01 en una línea celular de cáncer mediante transferencia génica usando adenovirus recombinantes.

Materiales y métodos: La tipificación de HLA-I en la línea celular SiHa se realizó por PCR-SSP y Luminex. Paralelamente los genes de HLA-A*02:01 y HLA-B*44:01 se clonaron en el vector de transferencia pShuttle-CMV. Se realizó la recombinación homóloga entre el pShuttle y el genoma adenoviral (pAdEasy1). La clonación y la recombinación se verificaron por PCR y electroforesis en agarosa. Las células Ad293 fueron transfectadas con el vector adenoviral recombinante para la producción de los respectivos adenovirus.

Resultados: La tipificación mostró que el fenotipo de la línea SiHa es HLA-I, HLA-A*24:02/A*24:02;HLA-B*40:02/B*40:02;HLA-C*03:04/C*03:04. Con PCR se confirmó la clonación de los genes HLA-A*02:01 y HLA-B*44:01 en el pShuttle-CMV, y con PCR dúplex se confirmó la recombinación homóloga del vector de transferencia con el genoma del Adenovirus.

Conclusiones: Se clonó HLA-A*02:01 y HLA-B*44:01 en el vector Shuttle-CMV. Se recombinó el pShuttle-CMV-HLA-A*02:01 y el pShuttle-CMV-HLA-B*44:01 con el pAdEasy. Los adenovirus producidos en células Ad-293 están en proceso de confirmación de su identidad.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.rccan.2017.02.044>

Identification of QTL associated with cardiotoxicity due to anthracyclines and taxanes and DNA damage response

Roberto Corchado Cobos^{a,1}, Aurora Gómez vecino^{b,1}, Carmen García Macías^c, Susana Fraile^c, María Isidoro García^{b,d}, María Asunción García Sánchez^{b,d}, Julie Milena Galvis Jiménez^{a,b,e}, Isabel Ramos Fernández^a, Adrián Blanco Gómez^{a,b,2}, Pedro Luis Sánchez Fernández^{b,f,2}, Jesús Pérez Losada^{a,b,2}

^a Instituto de Biología Molecular y Celular del Cáncer (IBMCC-CIC), Universidad de Salamanca/CSIC, Salamanca, España

^b Instituto de Investigación Biosanitaria de Salamanca (IBSAL), Salamanca, España

^c Servicio de Patología Molecular Comparada, Instituto de Biología Molecular y Celular del Cáncer (IBMCC-CIC), Universidad de Salamanca, Salamanca, España

^d Servicio de Bioquímica Clínica, Hospital Universitario de Salamanca, Salamanca, España

^e Instituto Nacional de Cancerología de Colombia, Bogotá D. C., Colombia

^f Servicio de Cardiología Hospital Universitario de Salamanca, Salamanca, España

¹ Igual contribución como primeros autores.

² Igual contribución como autores senior.

Introduction: Anthracyclines are among the most widely used chemotherapeutic agents in the treatment of a variety of tumours. The identification of genetic and molecular factors responsible for the increased risk of CDA (cardiotoxicity due to anthracyclines) will contribute to a better understanding of their pathophysiology. This, in turn, could lead to new approaches to predict, prevent, and treat this serious complication of chemotherapy.

WORKING HYPOTHESIS: Based on two premises: (i) anthracyclines have a pro-genotoxicity effect. Differences in anti-genotoxicity pathways and genetic variants could contribute to different susceptibility to CDA. (ii) Simplified model system to identify genetic determinants involved in the quantitative inheritance of complex traits.

Materials and methods: In this study, a cohort of mice carrying ERBB2 breast cancer are treated with doxorubicin alone (N=85) or in combination with docetaxel (N=77). The cohort was generated by a backcross between two genetically homogeneous strains, C57BL / 6 and FVB, with the latter carrying the transgene ErbB2 / Neu, under the mammary mouse tumour virus (MMTV) promoter. Histopathological heart damage was assessed using the Ariol™ system. Measurements were made of the cardiac levels of some key proteins involved in the pathways protecting against genotoxicity: total ATR, pp53 (Ser15), Total P21, Total MDM2, pHistone H2AX (Ser139), pCHK1 (Ser345), and pCHK2 (Thr68).

Results: Identification was made of: (i) differences dependent on the genetic background in both cardiotoxicity and the levels of proteins implicated in the pathways protecting against genotoxicity; (ii) levels of anti-genotoxicity pathways were associated with chemotherapy cardiotoxicity; (iii) quantitative trait loci (QTLs) specific and common to cardiotoxicity, and the levels of the pathways studied.

Conclusion: Genetic determinants associated with anthracycline cardiotoxicity have been identified using components of the anti-genotoxic pathways as sub-phenotypes. Crosses of syngeneic mouse strains are useful in these studies, but require further validation in the human population.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.rccan.2017.02.045>