



VIII Encuentro de Ciencias Farmacéuticas y Alimentarias

Temática: Tecnología y Biotecnología Farmacéutica

LA SACAROSA INFLUYE EN LAS PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DE LIPOSOMAS QUE ENCAPSULAN STIC HOLYSINA II Y CIGB550-E7

Autor: Yusniel Torres-Palacios, Isbel Lopetegui-López, Rady Judith Laborde-Quintero, María Eliana Lanio, Isabel Fabiola Pazos-Santos, Nelson Acosta-Rivero

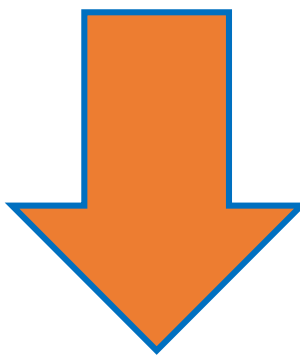


Introducción

Los liposomas permiten controlar su carga superficial, tamaño y afinidad por tejidos diana a través de su composición lipídica y de la incorporación de grupos funcionales, lo que los sitúa como sistemas de liberación para compuestos terapéuticos. La tecnología de deshidratación-rehidratación encapsula moléculas hidrofílicas con eficiencia bajo condiciones suaves, un entorno compatible con proteínas y péptidos sensibles (Marchianò et al. 2020). La adición de sacarosa (sac) durante la etapa de deshidratación modifica las propiedades de la formulación liposomal, incluyendo la estabilidad de la membrana y el comportamiento del lumen acuoso, lo que puede alterar la entrega del antígeno encapsulado (Zadi y Gregoriadis, 2000). En este estudio se prepararon liposomas por deshidratación-rehidratación en presencia o ausencia de sacarosa que co-encapsulan la proteína Sticholisina II, producida por la anémona marina Stichodactyla helianthus, que se erige como una potente molécula inmunomoduladora (Laborde y colaboradores, 2017) y la proteína recombinante CIGB550-E7. Esta última derivada de la proteína E7 del virus del papiloma humano, un antígeno expresado exclusivamente en tumores asociados a infección por VPH (Granadillo y colaboradores, 2017). Se evaluó el efecto de la sacarosa sobre las propiedades físico-químicas de las vesículas y la respuesta inmune inducida, con el fin de caracterizar su influencia en formulaciones liposomales estabilizadas con este disacárido.

Metodologías

Caracterización de liposomas compuestos por CIGB550-E7/StII preparados con o sin sacarosa



Evaluación de las propiedades inmunomoduladoras de liposomas compuestos por CIGB550-E7/StII preparados con o sin sacarosa

-Fluorimetría
-Dispersión Dinámica de la luz (DLS)
-Potencial zeta
-Retención de CIGB550-E7 por 28 días a 4°C

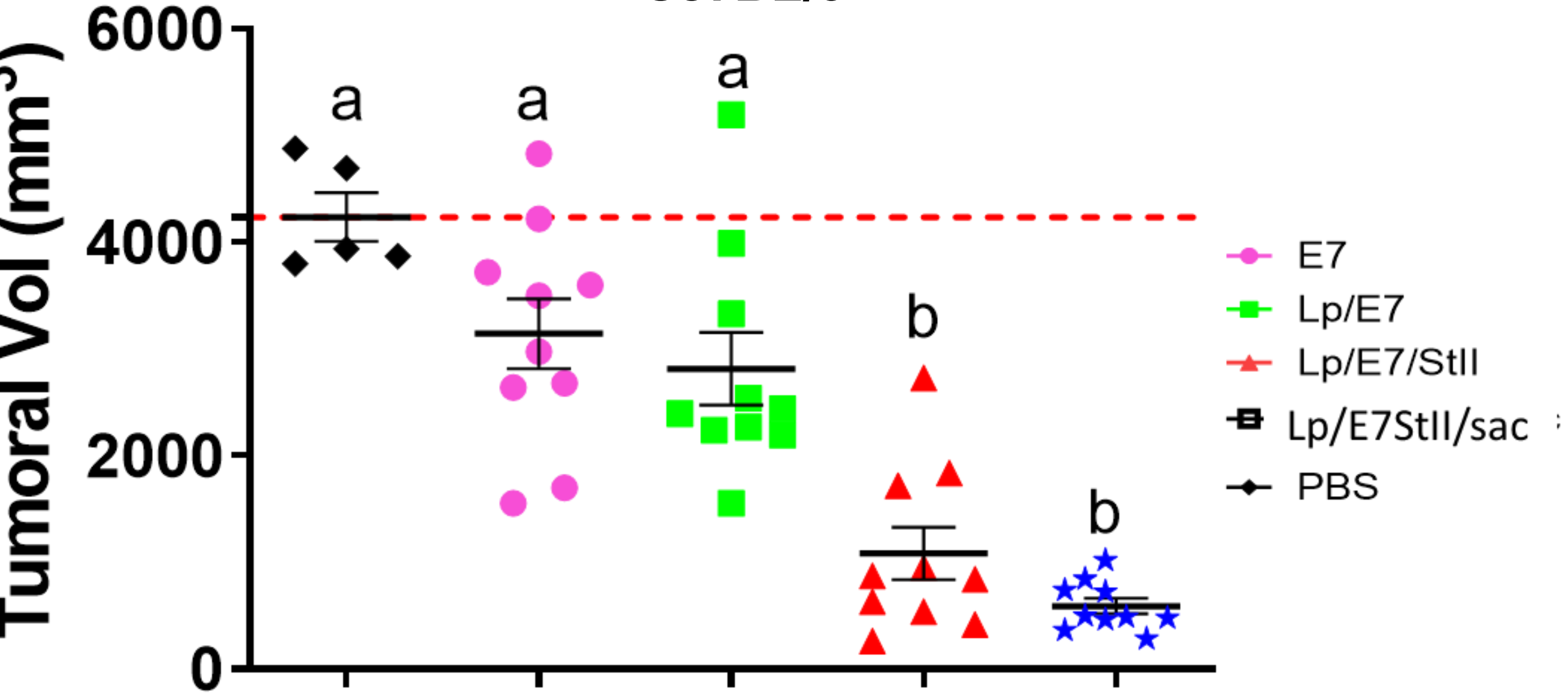
- Protocolo antitumoral en un escenario terapéutico
- Ensayo de Elispot ex vivo

La presencia de sacarosa disminuye el tamaño de las vesículas hasta el orden de los nanómetros, incrementa su homogeneidad y no influye en su carga superficial

Grupo	Diámetro hidrodinámico (µm)		Índice de polidispersidad	
	Sin Sacarosa	Con Sacarosa	Sin Sacarosa	Con Sacarosa
Lp/CIGB550-E7/StII	2,13 ± 0,5 a	0,123 ± 0,0011 b	0,28 ± 0,03 a	0,12 ± 0,08 b
Lp/CIGB550-E7	1,8 ± 0,34 a	0,116 ± 0,0018 b	0,32 ± 0,05 a	0,13 ± 0,05 b

Prueba múltiple de comparaciones de Dunn $p > 0,05$; $a > b$

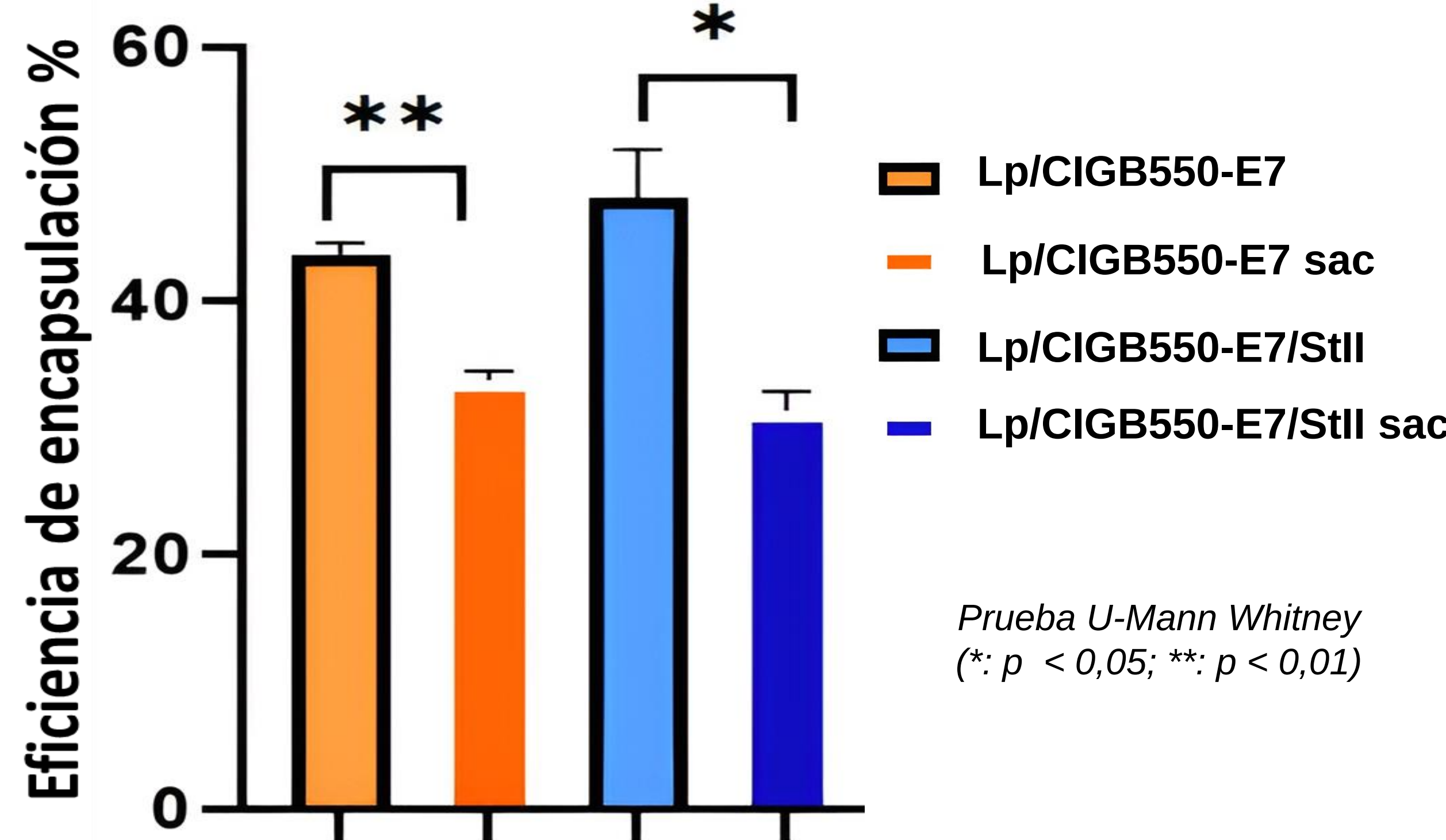
Formulaciones compuestas por CIGB550-E7 (60 µg) co-encapsulada con StII (con o sin sacarosa) inducen una significativa disminución del volumen tumoral en ratones C57BL/6



Prueba de ANOVA seguido de una Prueba de Holm-Sidak, $a > b$, $p < 0,001$

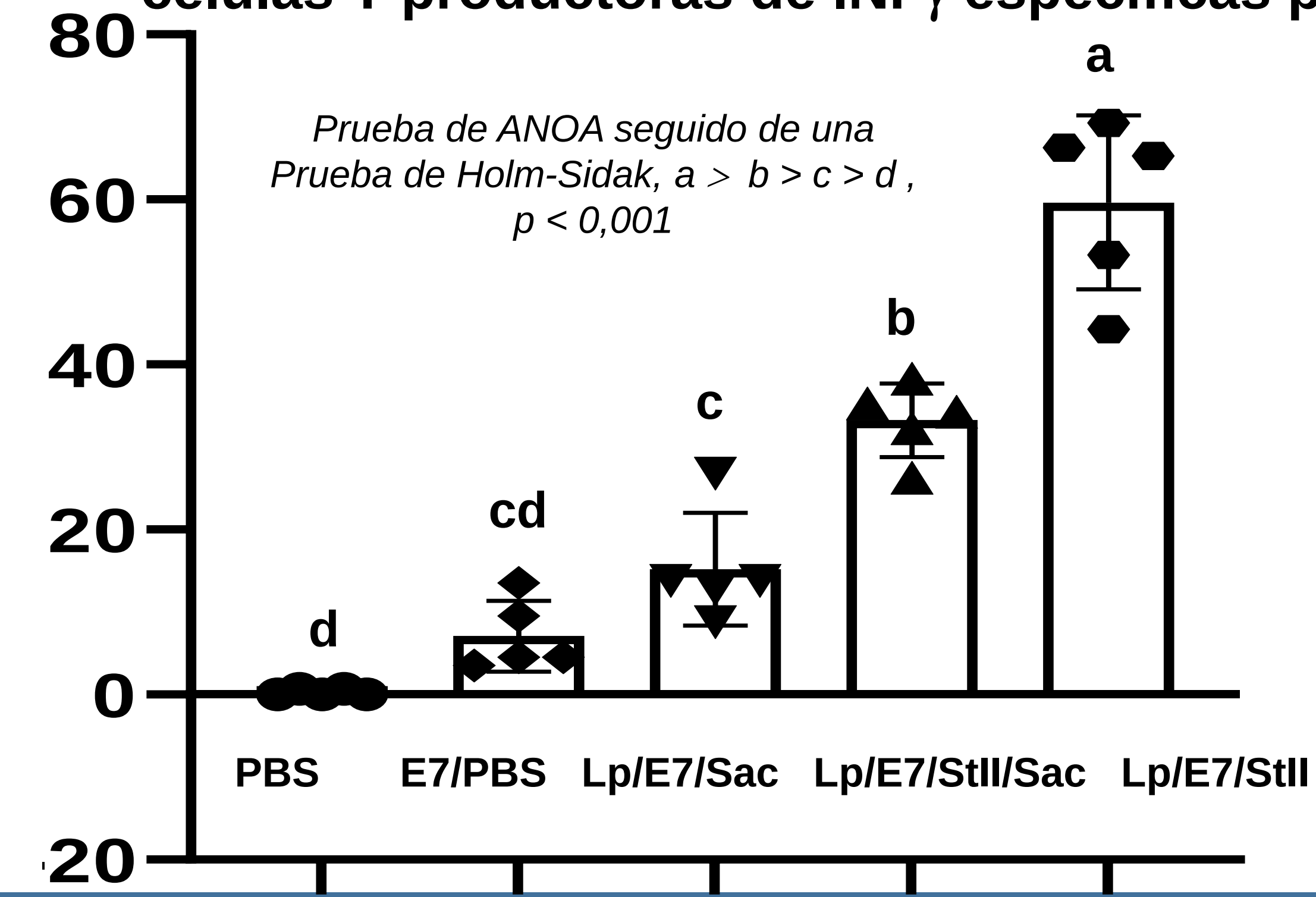
Resultados y Discusión

Los liposomas preparados en presencia de sacarosa tienen una menor eficiencia de encapsulación para la proteína CIGB550-E7



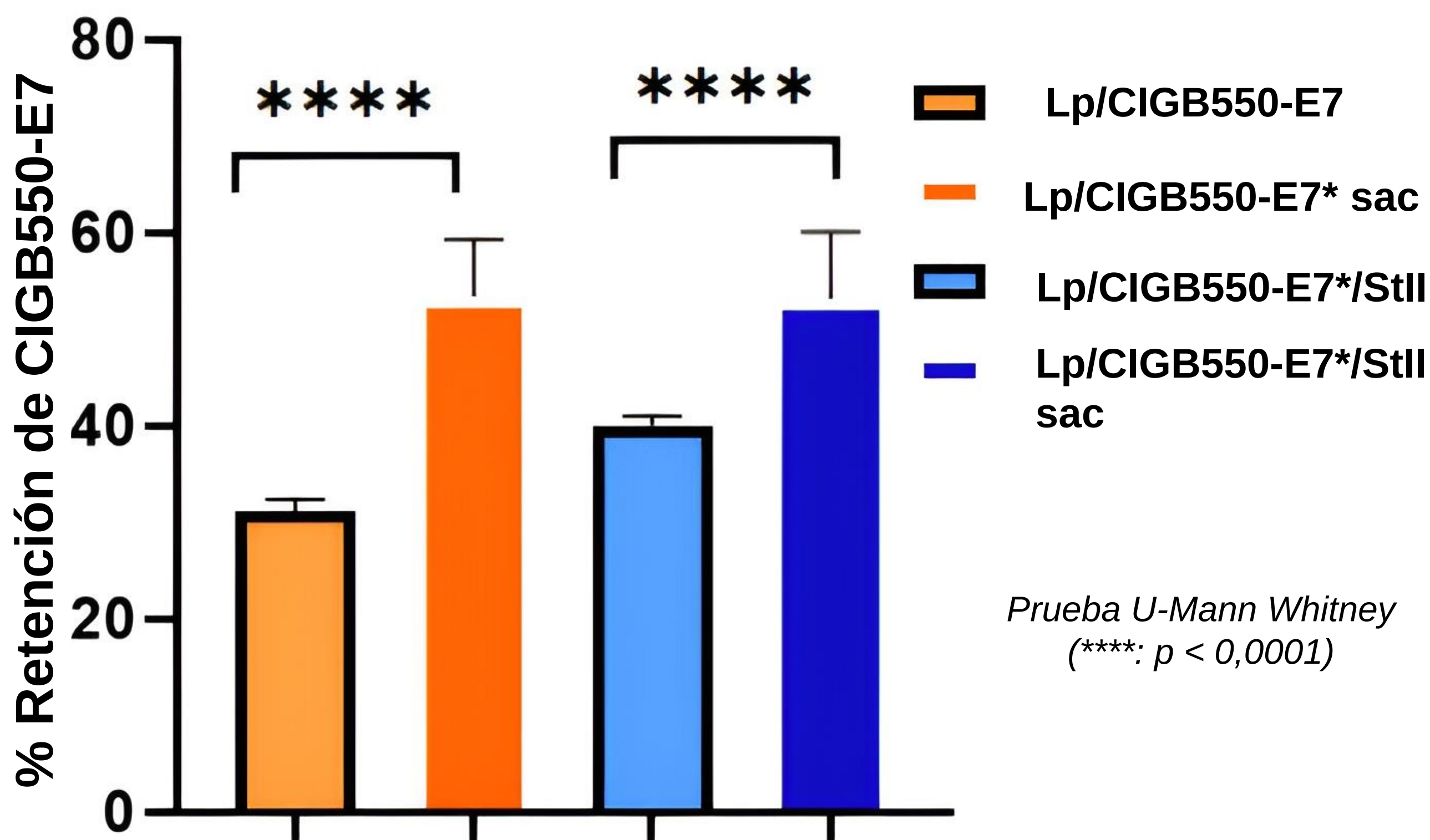
Prueba U-Mann Whitney (*: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$)

Las formulaciones liposomales que contienen CIGB550-E7 (30 µg) y StII con o sin sacarosa inducen una respuesta de células T productoras de INFγ específicas por E7



Prueba de ANOVA seguido de una Prueba de Holm-Sidak, $a > b > c > d$, $p < 0,001$

Los liposomas preparados en presencia de sacarosa tienen una mayor retención de la proteína CIGB550-E7 tras 28 días de almacenamiento a 4°C



Prueba U-Mann Whitney (****: $p < 0,0001$)

Conclusiones

- La incorporación de sacarosa induce la formación de vesículas liposomales homogéneas con un diámetro reducido en el orden de los nm y una mayor retención de la proteína CIGB550-E7 tras 28 días de almacenamiento
- Los liposomas preparados en presencia de sacarosa y que co-encapsulan StII con CIGB550-E7 son capaces de inducir una respuesta inmune antitumoral y de células productoras de INFγ específicas por E7

Referencias Bibliográficas

-Marchianò, Verdiana, María Matos, Esther Serrano-Pertierra, Gemma Gutiérrez, y M. C. Blanco-López. 2020. «Vesicles as Antibiotic Carrier: State of Art». International Journal of Pharmaceutics 585 (julio): 119478. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2020.119478>.
-Zadi, Brahim, y Gregory Gregoriadis. 2000. «A Novel Method for High-Yield Entrapment of Solutes into Small Liposomes». Journal of Liposome Research 10 (1): 73-80. <https://doi.org/10.3109/08982100009031096>.
-Laborde, Rady J., Oraly Sanchez-Ferraz, María C. Luzardo, et al. 2017. «Novel Adjuvant Based on the Pore-Forming Protein Sticholysin II Encapsulated into Liposomes Effectively Enhances the Antigen-Specific CTL-Mediated Immune Response». Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950) 198 (7): 2772-84. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1600310>.
-Granadillo, Milaid, Aileen Batte, Aracelys Blanco, et al. 2017. «LALF32-51-E7 Therapeutic Vaccine Induces Antitumor Immunity against Human Papillomavirus Type 16 E7-Expressing Murine Tumor Metastases in the Lungs». Clinical & Experimental Metastasis 34 (3-4): 241-49. <https://doi.org/10.1007/s10585-017-9846-x>.