

Centro de Estudios farmacológicos y Botánicos (CEFyBO)-UBA-
CONICET

Laboratorio de Oncoinmunología Molecular

Segunda Cátedra de Farmacología

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Estudio comparativo del rol del factor estimulador de colonias de granulocitos (G-CSF) sobre la movilización de células progenitoras de médula ósea murinas y su diferenciación en células mieloides supresoras.

REQUISITOS

Sin restricciones de materias aprobadas, aunque se dará preferencia a estudiantes avanzados en la carrera.

DOCENTE: Dra. María Gabriela Lombardi

E-MAIL: lombardimg@yahoo.com.ar

UBICACIÓN: Piso 16, lado Uriburu, Facultad de Medicina

TAREAS

El practicante deberá desarrollar tareas de armado y esterilización de material en autoclave y estufa, preparación de medios y soluciones, preparación del material para enviar a esterilizar por radiación. Además, incorporará la destreza para manipular ratones CD1 e inocular en los animales las drogas experimentales por vía intraperitoneal; para lo cual deberá realizar y aprobar el curso de formación del CICUAL de Fmed. Asimismo, se le brindará la formación para poder realizar frotis hematológicos y recuentos de células inmunes maduras y precursores, experimentos de citometría de flujo, real time PCR, extracción de médula ósea de ratones CD1 adultos, gradientes de ficoll y técnicas de cultivo celular en cabinas y experimentos in vitro de proliferación celular, etc.

PROGRAMA:

- Preparación de material y soluciones: durante toda la duración del practicantado
- Curso del CICUAL: en la primera emisión del mismo a partir de la incorporación en el laboratorio
- Experimentación con ratones CD1: distribuidos de acuerdo a la necesidad del proyecto durante la duración del practicantado
- Técnicas hematológicas, inmunológicas y moleculares: la enseñanza y desarrollo se escalonará a lo largo de la duración del practicantado.

OBJETIVOS

El factor estimulador de colonias de granulocitos (G-CSF) es una citoquina que actúa a nivel del microambiente de médula ósea para estimular la formación de células sanguíneas. Promueve selectivamente el crecimiento y maduración de células progenitoras de neutrófilos. Estas células son

componentes claves de la defensa inmune innata del huésped contra infecciones.

El G-CSF recombinante se emplea en medicina asistencial desde hace más de 20 años para tratar o prevenir la neutropenia y el riesgo de infecciones que derivan de ellas. Adicionalmente, este factor se utiliza para aumentar la movilización de células desde médula ósea e incrementar la cantidad de células pluripotentes hematopoyéticas en sangre periférica, que pueden ser utilizadas en trasplantes de precursores. Al presente, se emplean corrientemente en medicina tres proteínas producidas por biotecnología a partir del gen de G-CSF. El filgrastim, es el más utilizado y se obtiene expresando el gen en *Escherichia coli*, por lo que la proteína resultante no está glicosilada. El lenograstim en cambio, es producido en la línea celular CHO (derivada de ovario de hámster chino), por lo que está glicosilado (como la proteína endógena), es un poco más potente que el filgrastim y se utiliza esencialmente en las mismas indicaciones que el filgrastim, aunque su tasa de empleo es mucho menor. Más recientemente, se diseñó el pegfilgrastim resultante de ligar covalentemente un residuo de polietilenglicol al filgrastim, de forma de modificar el perfil cinético de la proteína, prolongando así su duración en el organismo. Si bien se ha descrito que estos análogos de G-CSF tienen una eficacia equivalente en sus capacidades clínicas, han surgido reportes que evidencian diferencias entre los mismos, aunque la bibliografía que compara a los tres simultáneamente es escasa. En este contexto, determinar si existen diferencias en los efectos biológicos desencadenados por los análogos de G-CSF analizados es fundamental para el desarrollo y efectividad de terapias más específicas y para la identificación de riesgos reales o potenciales, y consecuentemente, para su prevención o minimización.

Las células supresoras derivadas de mieloides (MDSC). Estas se clasifican en: las de tipo granulocítico similares a los granulocitos (G-MDSC o PMN-MDSC) y las MDSC con características similares a los monocitos (M-MDSCs). El papel de las MDSC está emergiendo en los trasplantes. Se ha informado de que se produce una expansión de células progenitoras mieloides (CPM) con capacidad supresora en el curso de los protocolos de trasplante alogénico de células madre hematopoyéticas (CMH). Se reportó que parte de las células mieloides en expansión purificadas a partir de muestras de sangre periférica de donantes tratados con G-CSF presentan el fenotipo típico de los subtipos G-MDSC y M-MDSC que se han descrito previamente, y que ambos tienen la capacidad de regular las respuestas de las células T alo-reativas *in vitro*.

En este proyecto se utilizará un modelo de citopenia inducido con ciclofosfamida en ratones Balb/c adultos. En los distintos grupos experimentales se comparará el efecto de los agonistas recombinantes sobre la movilización y diferenciación de células pluripotentes de médula ósea murinas. Por otro lado, se analizará la capacidad relativa de expandir las MDSC. Sabiendo que la glicosilación típica de células eucariotas puede conferir a las proteínas propiedades distintivas, particularmente modificando sus actividades y funciones; y que, algunos estudios han reportado que el G-CSF glicosilado es más potente que el no-glicosilado, hipotetizamos que la presencia o no de glicosilación podría modificar la actividad biológica del G-CSF rHu, por medio de

una interacción diferencial del ligando con el receptor específico impactando directamente sobre la funcionalidad de la célula.

CARGA HORARIA: 15 horas semanales distribuidas de acuerdo a disponibilidad horaria del practicante