

Evaluación de la SELfd en la vectorización de sistemas para el tratamiento de enfermedades inflamatorias intestinales

García Recio Verónica¹, Córdoba Díaz Manuel¹, Garrosa García Manuel², Rojo Rodríguez María Ángeles³, Jiménez López Pilar⁴, Girbés Juan Tomás⁴, Córdoba Díaz Damián*¹

¹ Departamento de Farmacia Galénica y Tecnología Alimentaria e Instituto Universitario de Farmacia Industrial, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid.

² Departamento de Histología e INCYL, Facultad de Medicina, Universidad de Valladolid.

³ Departamento de Ciencias Experimentales, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Europea Miguel de Cervantes.

⁴ Departamento de Nutrición y Bromatología, Facultad de Medicina, Universidad de Valladolid.

*Correspondencia: damianco@ucm.es

1. Introducción

Las lectinas son proteínas fijadoras de glicosaminoglicanos (CBPs) capaces de reconocer carbohidratos de manera altamente específica, reversible y sin modificar su estructura, a través de los dominios de reconocimiento de carbohidratos. En el ámbito de la Farmacia Galénica estas proteínas se están empleando entre otros usos, para dirigir de manera altamente específica, fármacos o sistemas micro o nanoparticulares a la superficie glicosilada de ciertos tejidos (reverse lectin targeting) [1].

La SELfd es una lectina dimérica aislada de frutos de *Sambucus ebulus* L. con una gran afinidad por restos L-fucosa, D-(+)- galactosa, N-acetil-D-glucosamina, y N- acetil-D-galactosamina. Estos carbohidratos se encuentran sobreexpresados en los bordes apicales de las membranas glicoproteicas de las células M de las placas de Peyer, ciertos tumores o en tejido intestinal inflamado. El objetivo del presente estudio consiste en evaluar la especificidad de dicha proteína por tejido inflamado en un modelo reversible de daño-regeneración intestinal para determinar si dicha proteína podría emplearse en sistemas de vectorización en patologías tipo Crohn.

2. Materiales y métodos

2.1. SELfd: aislamiento y caracterización

El extracto crudo obtenido a partir de frutos verdes de *S. ebulus* L. fue sometido a una cromatografía líquida de afinidad y posterior cromatografía líquida de exclusión molecular (SEC) [2]. Posteriormente se evaluaron los siguientes parámetros: pureza (SDS-PAGE), riqueza (Kalb & Bernlohr) y viabilidad (hemoaglutinación).

2.2. Microscopía confocal de fluorescencia

Una vez marcada la SELfd con Cy3 maleimida, se incubó una solución al 1 % en tejido intestinal de ratón sano (grupo control) o procedente de animales en los que previamente se les había inducido un modelo de pseudo-Crohn reversible mediado por ebulina-f [2] y se trató con una solución de DAPI en PBS (0, 2mg/mL).

3. Resultados y Discusión

La SELfd ha sido obtenida con una adecuada pureza y manteniendo su viabilidad (Fig.1).

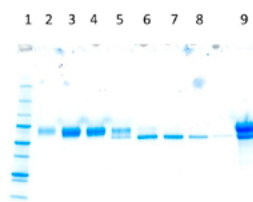


Fig. 1. Pureza de uno de los aislamientos realizados. Calle 1, marcadores; calles 2-4, fracciones seleccionadas primer pico SEC; calle 5, fracción intermedia entre picos SEC; calles 6- 8, fracciones seleccionadas segundo pico SEC; calle 9, concentrado antes de elución.

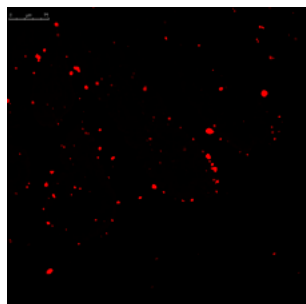


Fig 2. Aspecto de la unión de la SELfd sobre la superficie del epitelio intestinal en ratones control (escala lateral superior, 75µm).

A la vista de las microfotografías obtenidas en el grupo control (Fig. 2), parece que la SELfd se une de manera inespecífica sobre los enterocitos dispuestos en toda la superficie del epitelio intestinal, aunque no puede descartarse la unión específica probablemente a células caliciformes.

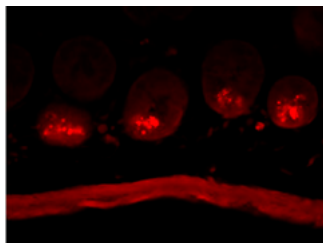


Fig. 3. Detalle de la unión de la SELfd a las criptas intestinales en donde se muestra una gran afinidad de la lectina por células de Paneth.

Referencias bibliográficas

1. Bawa RA, Rubinstein I. Reverse Lectin Targeting. En: Bawa RA, Rubinstein I. Eds. Handbook of Clinical Nanomedicine: Nanoparticles, Imaging, Therapy, and Clinical Applications. New York, EEUU: Taylor and Francis Group; 2016. p. 1548-61.
2. Jiménez P, Gayoso M, Tejero J, Cabrero P, Córdoba-Díaz D, Basterrechea JE, Gírbés T. Toxicity in mice of lectin ebulin f present in dwarf Elderberry (*Sambucus ebulus* L.). *Toxicol*, 2013;61:26-9.
3. Garrosa M, Jiménez P, Córdoba-Díaz D, García-Recio V, Gayoso S, Rojo MA, Gayoso MJ, Gírbés T. In vivo

Este trabajo debe ser citado como:

García Recio V, Córdoba Díaz M, Garrosa García M, Rojo Rodríguez MA, Jiménez López P, Gírbés JT, Córdoba Díaz D. Evaluación de la SELfd en la vectorización de sistemas para el tratamiento de enfermedades inflamatorias intestinales. *Rev Esp Cien Farm.* 2021;2(2):139-40.

Una observación directa sobre las criptas intestinales (Fig. 3), muestra un acúmulo de lectina de manera muy específica sobre las células madre secundarias, células del segmento TAC y células de Paneth.

Las lectinas han sido ampliamente utilizadas en estudios histoquímicos como sondas para localizar un tipo de célula en particular y para evaluar el estado celular, como la diferenciación, la activación o la progresión de una enfermedad. En este sentido, evaluando los resultados obtenidos en su conjunto, se puede afirmar que la SELfd presenta afinidad por los restos glucídicos presentes en la superficie de células intestinales secretoras. Dichos resultados son concordantes con resultados previos de nuestro equipo de investigación obtenidos con diversas quimerolectinas tóxicas aisladas tanto de *S. ebulus* L. como de *S. nigra* L. [3].

4. Conclusión

La SELfd, una lectina dimérica B-B' carente de actividad enzimática, podría ser empleada en el diseño de sistemas de vectorización activa de sistemas particulares hacia tejidos que sobreexpresen ligandos glucídicos con restos galactosa en superficie, como los hepatocitos, células M del GALT o tejido inflamado en patologías intestinales, lo que aumentaría la bioadhesividad de la formulación y el tiempo de residencia en el tejido afectado y no en tejido sano, lo que permitiría disminuir la dosis de fármaco administrado y por tanto los efectos secundarios debido a fármaco que no alcanza biofase.

Agradecimientos

Grupo de Excelencia GR106 y Convenio- Consejería de Sanidad) UVA-GIR J.E. Basterrechea por su asistencia técnica.