

### **Impacto de la inhibición farmacológica de las vías de lipólisis y lipofagia sobre la multiplicación del virus Tacaribe**

Gil, JA(1); Gravano, MB(1); Garcia, CC (2); Vazquez, CA(1,2); Cordo, SM(1).

(1) Laboratorio de Procesos Moleculares de la Interacción Virus-Célula, Departamento de Química Biológica, FCEN, UBA; (2) Laboratorio de Estrategias Antivirales, Departamento de Química Biológica, FCEN, UBA.

Contacto: *julieta.aylen.gil@gmail.com*

Los mammarenavirus son virus envueltos con genoma de ARN simple cadena, segmentado y ambisentido. De acuerdo a sus características antigénicas y geográficas se dividen en los complejos del viejo y nuevo mundo. El virus no patogénico Tacaribe (TCRV) es prototipo de los mammarenavirus del nuevo mundo, grupo que incluye agentes causales de fiebres hemorrágicas humanas en América, como es el virus Junín (JUNV). Se ha reportado que los mammarenavirus dependen de una configuración lipídica celular específica para su replicación. En particular, la morfogénesis viral depende de la disponibilidad de lípidos. Además, existe una disminución en el número de gotas lipídicas en células infectadas con JUNV. Las vías principales de degradación de las gotas lipídicas son dos: la lipólisis y la lipofagia. La lipólisis ocurre en el citoplasma y depende de la actividad secuencial de lipasas neutras sobre las gotas lipídicas. La lipofagia es un tipo específico de autofagia mediado por lipoautofosomas. El objetivo de este trabajo es determinar si estas vías son necesarias durante el ciclo de replicación del mammarenavirus TCRV, utilizando inhibidores específicos: Atglistatin (inhibidor de la lipasa ATGL, que cataliza el primer paso de la lipólisis) y Lalistat (inhibidor de la lipasa lisosomal ácida y por ende de la lipofagia). Para ello se trabajó con la línea celular de adenocarcinoma de pulmón humano A549, realizando todos los ensayos a 48 horas post-infección. Inicialmente se estudió el efecto de estas drogas sobre la viabilidad celular mediante el método de cristal violeta y se determinó una concentración citotóxica 50 de  $138,2 \pm 17,2$  uM para Lalistat y  $336,2 \pm 67,9$  uM para Atglistatin. En consecuencia, se utilizaron las concentraciones 10 uM y 50 uM de ambas drogas en los ensayos siguientes. Monocapas celulares fueron infectadas y tratadas con las drogas post-infección. Los sobrenadantes de estos ensayos se titularon por método de placas y las monocapas se cosecharon para su análisis mediante Western Blot (WB). En los cultivos tratados con Lalistat 10 uM observamos una reducción significativa en el rendimiento viral de  $63,9 \pm 26,9\%$  respecto del control viral, y en los tratados con Lalistat 50 uM la misma fue de  $85,4 \pm 12,5\%$ . El tratamiento con Atglistatin 10 uM redujo significativamente el rendimiento viral un  $74,6 \pm 5,2\%$ , mientras que la disminución fue de  $80,2 \pm 19,9\%$  con 50 uM de esta droga. Por otro lado, se analizaron los lisados celulares por WB y se cuantificaron los niveles de nucleoproteína viral relativos al control actina en las monocapas celulares. En los cultivos tratados con Lalistat 10 uM y 50 uM se observó una disminución en los niveles de proteína viral de

62,0±12,8% y 95,2±3,4%, respectivamente. En cultivos tratados con Atglistatin 50 uM la disminución fue de 73,9±7,9%. Este trabajo nos permite concluir que tanto la vía de lipólisis como la vía de autofagia son necesarias durante el ciclo de replicación de TCRV, medido tanto a nivel del rendimiento viral como de la síntesis de proteínas.