

Estudio de la expresión de la proteína COX-2 en cultivos infectados con mammarenavirus.

Gravano, MB(1); Vázquez, CA(1); Cordo, SM(1).

(1) Laboratorio de Procesos Moleculares de la interacción virus-célula.
Departamento de Química Biológica-IQUIBICEN, CONICET, FCEyN, UBA.
Contacto: belengravano@gmail.com

La infección de células humanas activa la vía de interferón que induce una respuesta inmune innata. Esta respuesta intenta controlar la infección viral activando la expresión de proteínas como ciclooxygenasa 2 (COX-2), enzima crucial en la biosíntesis de las prostaglandinas (PGEs) y ácido araquidónico, que activa las vías inflamatorias y anti-apoptóticas. Se ha reportado una función pro-viral de esta enzima frente a la infección con virus como dengue y hepatitis C. Además, su incremento junto con PGEs modula positivamente la replicación del virus parainfluenza y citomegalovirus. Se ha demostrado que los inhibidores antiinflamatorios no esteroideos (AINE) selectivos de COX-2 tienen un efecto antiviral frente a virus inductores de la enzima, como influenza H5N1 y herpes simple. Dentro de estos inhibidores selectivos farmacológicos se encuentra la familia de los Coxib, como Celecoxib y Etoricoxib. Para los mammarenavirus del Nuevo Mundo (NW), como el virus Junín (JUNV) o Tacaribe (TCRV), el estudio de COX-2 en la replicación no ha sido abordado hasta el momento. Nuestros estudios previos indican que COX-2 es estimulada en células de adenocarcinoma de pulmón humano A549 durante la infección con JUNV. Esta inducción comienza a las 24 h y alcanza valores máximos a las 54 h p.i. El objetivo de este trabajo es el estudio de la expresión de esta enzima durante la infección con TCRV, virus no patogénico prototipo del NW. Se utilizaron cultivos de la línea celular A549 infectados a una m.o.i.= 0.1 y se analizaron por Western Blot los lisados celulares. Se incluyó como control la inducción de los mismos cultivos con forbol-12 miristato 13-acetato. Se determinó la presencia de COX-2 y la nucleoproteína viral N. Observamos que COX-2 está inducida luego de 54 h p.i. mientras que a las 5 h p.i. no se detecta. Por otro lado, se moduló negativamente la función enzimática de COX-2 para investigar su efecto durante el ciclo de multiplicación de JUNV y TCRV. Con este objetivo se utilizó Celecoxib (12.5 a 50 μ M) y Etoricoxib (100 a 200 μ M). Se determinó la viabilidad celular de cultivos A549 por el método de MTT, observándose que en todo el rango de concentraciones ensayado la viabilidad se mantuvo por encima del $80\pm 4,78\%$. Se determinó que para las concentraciones máximas utilizadas ambos compuestos carecen de la actividad virucida. Luego se trataron células infectadas durante 24 h, se cosecharon los sobrenadantes y se cuantificaron los niveles de producción viral por el método de UFP. Para las máximas concentraciones determinamos una reducción significativa en la producción viral (UFP/ml) del $64\pm 11,87\%$ y $70\pm 0,14\%$ para JUNV en presencia de Celecoxib y Etoricoxib respectivamente, respecto al control. Asimismo, para TCRV se

observó una inhibición de la infección del $87 \pm 16,19\%$ en presencia de Celecoxib. De esta manera concluimos que ambos mammarenavirus inducen la expresión de COX-2. Además, nuestros resultados con inhibidores de la actividad enzimática de COX-2 sugieren que esta enzima tendría un rol proviral.