

El silenciamiento de la DNA polimerasa theta como método de resensibilización de células colorrectales resistentes a PLK1

Yuliia Fatych^{a*}, Carolina Guerrero Amelín^{a*}, Laura del Puerto Nevado^b, Pedro Antonio Mateos Gómez^{a,1}

a. Unidad de Bioquímica y Biología Molecular, Departamento de Biología de Sistemas, Alcalá de Henares, Madrid, España

b. División de Oncología Traslacional, Instituto de Oncosalud, IIS - Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz (IIS-FJD, UAM), Madrid, España

*Estos autores contribuyeron de manera igualitaria 1. pedroantonio.mateos@uah.es

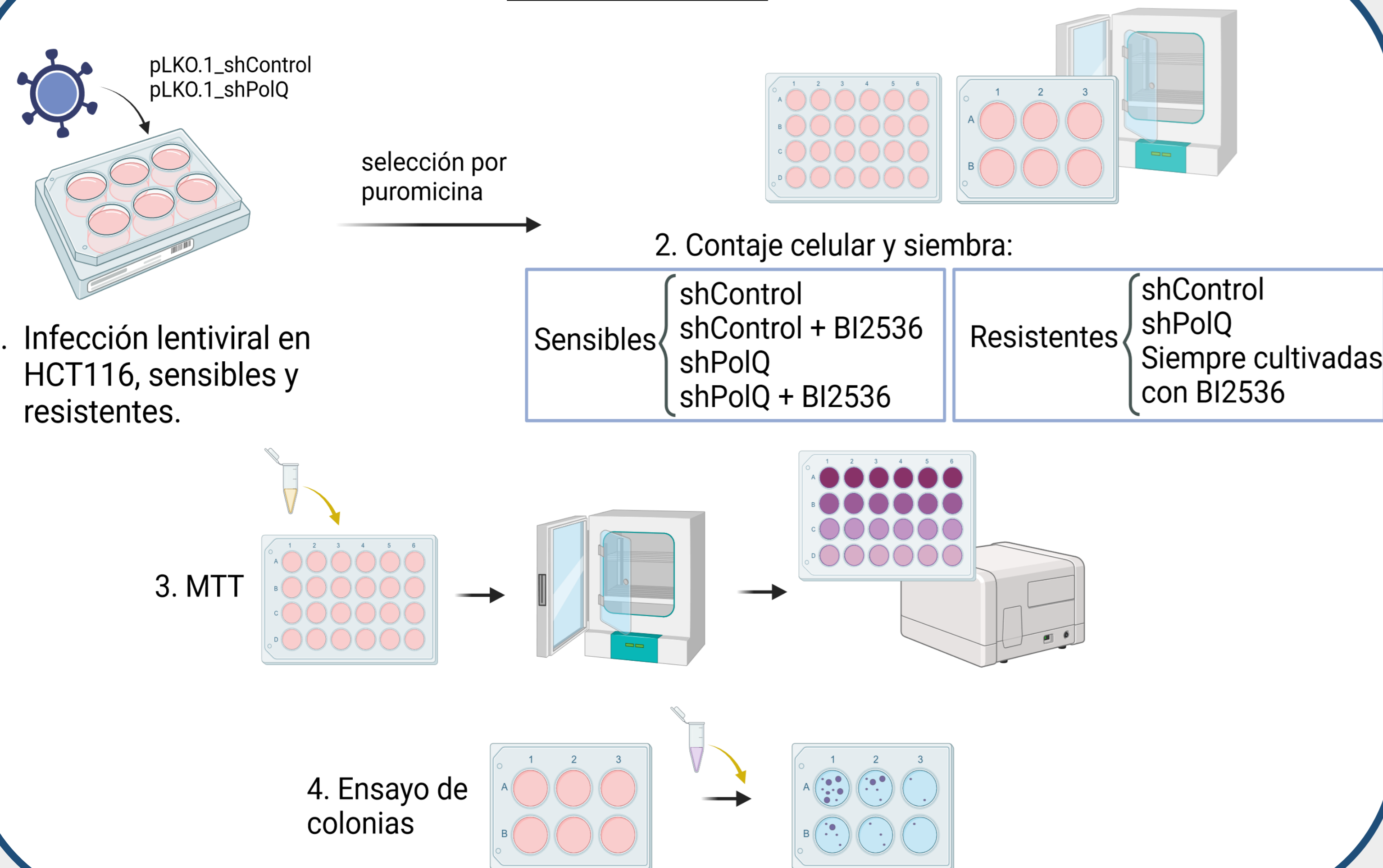
INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

El cáncer colorrectal representa la segunda causa de muerte por cáncer a nivel mundial. Algunos de los agentes antitumorales más prometedores, los inhibidores de la Polo-like kinase 1 (PLK1), actúan sobre un ciclo celular desregulado. Sin embargo, la aparición de resistencias al fármaco durante los ensayos clínicos ha comprometido su uso como antitumoral.

Nuestro objetivo es resensibilizar las células tumorales a un inhibidor de PLK1 (BI2536) mediante el silenciamiento de la DNA polimerasa theta (PolQ). PolQ está implicada en la reparación de daño en el DNA, y está sobreexpresada en células tumorales, donde contrarresta el estrés replicativo y la inestabilidad genómica.

Se emplea la línea de cáncer colorrectal HCT116, que es sensible a BI2536 y una derivada resistente a éste, obtenida mediante exposición continuada al inhibidor. Para estudiar la respuesta al tratamiento combinado se utilizan ensayos de viabilidad celular (MTT) y ensayos de formación de colonias.

METODOLOGÍA



CONCLUSIONES

El silenciamiento de la polimerasa theta (PolQ) disminuyó la capacidad proliferativa de las células de la línea de cáncer de colon HCT116, independientemente de que éstas sean o no resistentes al inhibidor de PLK1 BI2536. Aunque las células resistentes a BI2536 no se resensibilizaron a este inhibidor mediante el silenciamiento de PolQ, el tratamiento combinado con BI2536 y el silenciamiento de PolQ de células HCT116 sensibles condujo a una reducción de la proliferación celular mayor que con cada uno de los tratamientos por separado.

RESULTADOS

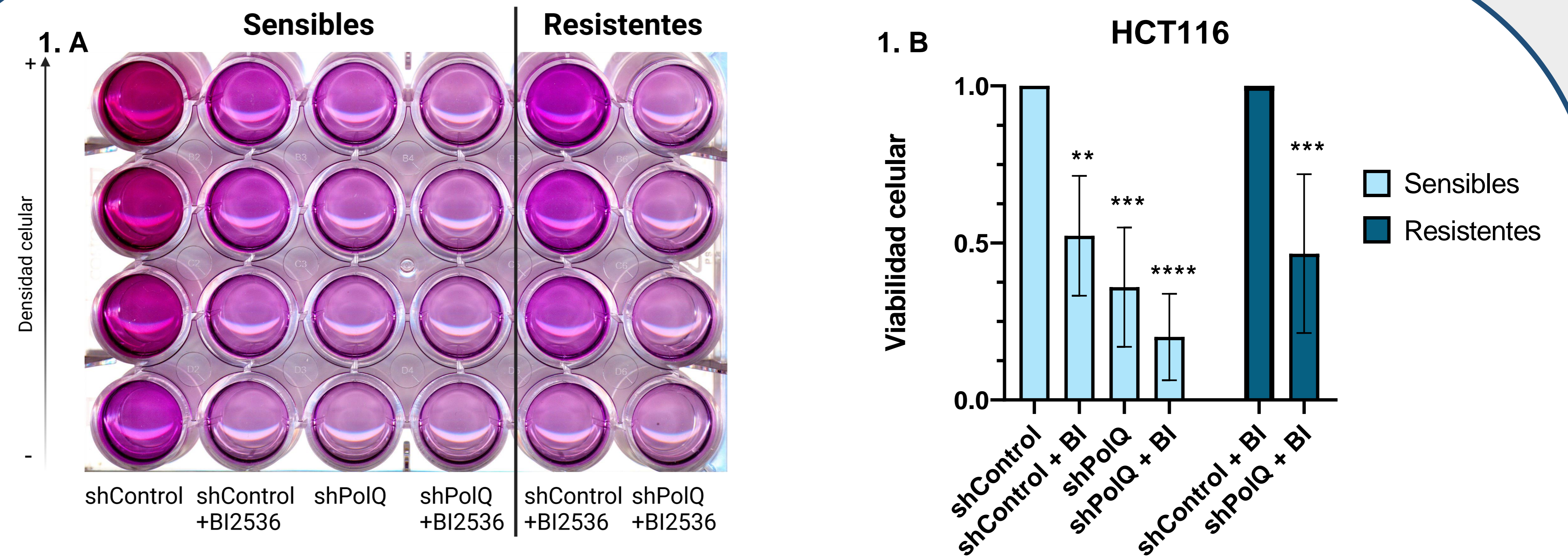
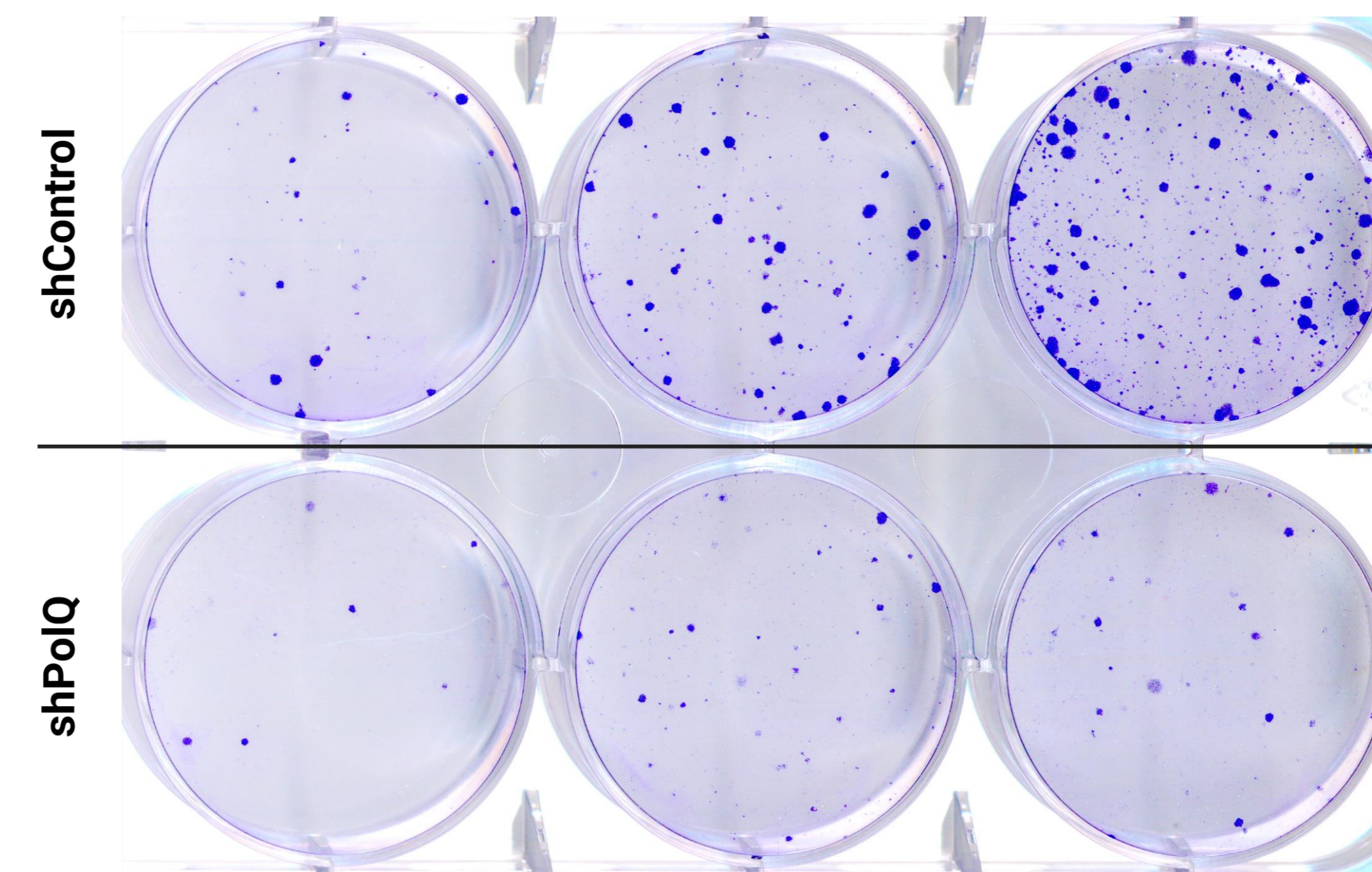


Figura 1. El silenciamiento de PolQ redujo la viabilidad de las células de HCT116 y potenció la acción del inhibidor BI2536 en las células sensibles a éste. A) Ensayo de viabilidad celular mediante MTT. Los tratamientos se indican en la parte inferior de la placa. Hacia abajo se disminuyó el número de células sembradas. **B)** Gráfica mostrando la viabilidad celular mediante MTT con diferentes tratamientos en células HCT116 sensibles y resistentes. Las barras representan la media ± desviación estándar de 4 experimentos independientes y normalizados al tratamiento control. Se consideran diferencias estadísticamente significativas cuando $p < 0.05$ (**: <0.05 ; ***: 0.0001; ****: <0.0001).

2. A



2. B

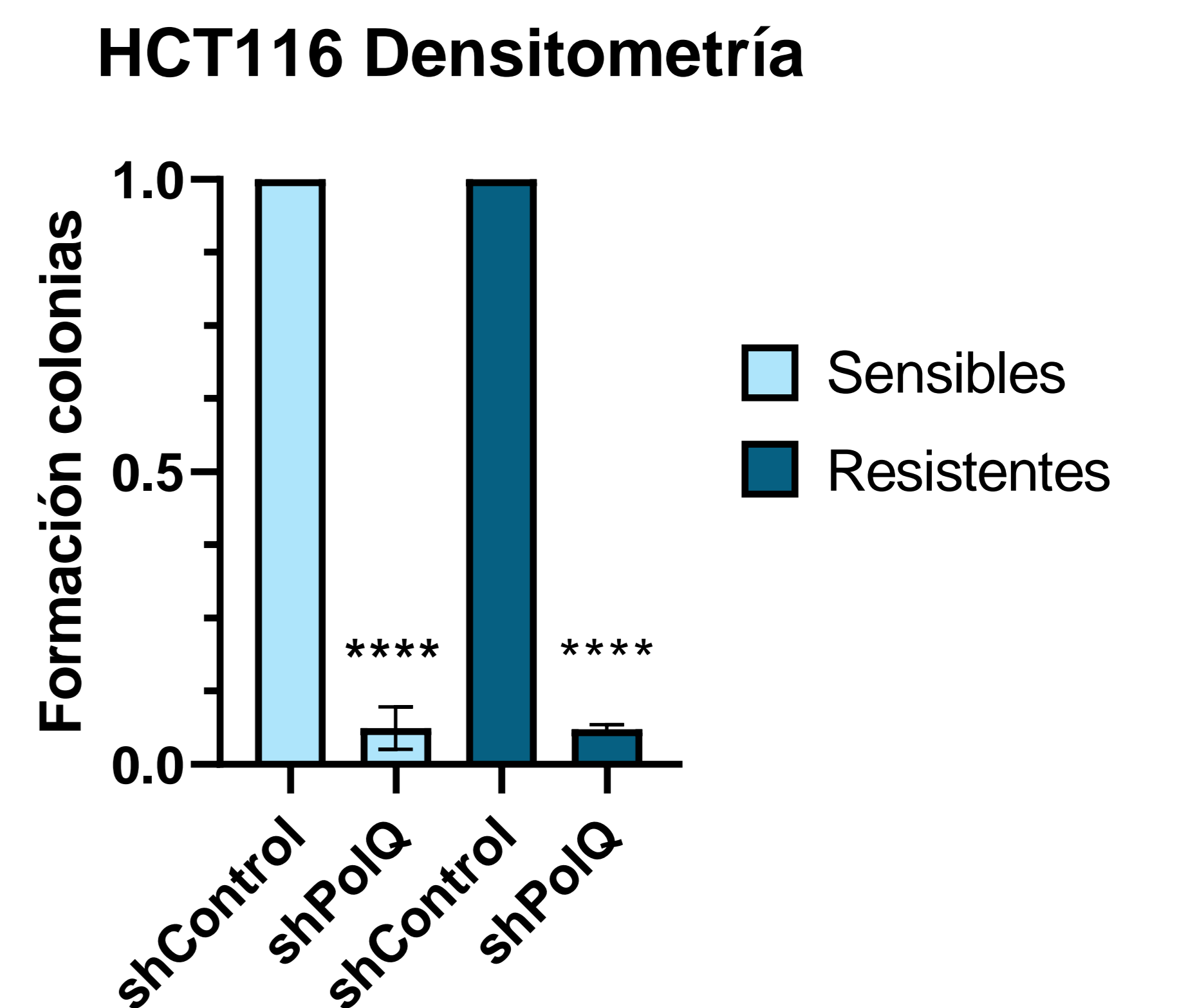


Figura 2. El silenciamiento de PolQ redujo la capacidad de formación de colonias de células HCT116 y potenció la acción del inhibidor BI2536 en las células sensibles a éste. A) Imagen representativa de un ensayo de formación de colonias. A la izquierda se indica el tratamiento. **B)** Comparación mediante densitometría por ImageJ de ensayos de formación de colonias de HCT116 sensibles y resistentes tras el silenciamiento de PolQ. Las barras representan la media ± desviación estándar de 4 experimentos independientes y normalizados al tratamiento control. Se consideran diferencias estadísticamente significativas cuando $p < 0.05$ (**: <0.05 ; ***: 0.0001; ****: <0.0001).