

Estudio de la actividad antiviral del ácido ursólico en infecciones *in vitro* por Rotavirus

Analysis of the antiviral activity of ursolic acid in *in vitro* Rotavirus infections

M.J. Tohmé¹; M.C. Giménez.^{1,2}; A. Peralta³; M.I. Colombo.^{1,2}; L.R. Delgui^{1,2}

¹Universidad Juan Agustín Maza

²IHEM, Universidad Nacional de Cuyo, CONICET, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Mendoza, Argentina

³INTA-CONICET, Buenos Aires, Argentina

Contacto: julitchapini@hotmail.com

Palabras clave: Rotavirus - ácido ursólico - antivirales

Key Words: *Rotavirus - ursolic acid - antivirals*

Introducción

Rotavirus (RV) es el principal agente causal de gastroenteritis aguda viral en niños menores de cinco años. En Argentina genera anualmente unas 23.100 hospitalizaciones (<http://www.msal.gob.ar/>), es por esto que a partir del año 2015 se incorporó la vacuna anti RV al Calendario Nacional de Vacunación. Si bien se ha evidenciado la utilidad de la misma, su eficacia y seguridad aún continúan siendo evaluadas.

El ácido ursólico (AU) es un triterpeno que se encuentra formando parte de la estructura de saponinas en diversas plantas. Está demostrado que ejerce múltiples acciones biológicas: antiinflamatorias, antitumorales y antivirales.

Objetivos

Partiendo de esta última premisa, y teniendo en cuenta la importancia del patógeno antes mencionado, así como la dificultad en la prevención de la enfermedad que provoca, el objetivo de nuestro grupo de investigación ha sido evaluar la posible actividad antiviral del AU en infecciones *in vitro* por RV.

Metodología

Utilizamos la cepa de RV de simio, SA-11 y la línea celular susceptible, MA 104 como modelos de estudio. En primer lugar, con el fin de determinar las concentraciones no citotóxicas del compuesto AU, se incubaron las células con concentraciones crecientes de AU a diferentes tiempos, determinando cuantitativamente su nivel de citotoxicidad. En segunda instancia, con el objetivo de descartar actividad virucida del AU, evaluamos el título de preparaciones de viriones de RV que habían sido incubados con AU, empleando la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI). Posteriormente, evaluamos el efecto antiviral del AU mediante dos técnicas diferentes. Por un lado, cuantificamos el número de partículas virales infectivas intra- y extra-celulares presentes en células pre-tratadas con AU o mantenidas en situación control empleando la técnica de titulación por IFI. Por último, con el objetivo de abordar el estudio por una aproximación diferente, evaluamos la producción de las proteínas vira-

les estructurales VP6 y VP7 en células pre-tratadas con AU o en condición control e infectadas con RV, empleando la técnica de Western Blot.

Resultados

Nuestros resultados indicaron que el tratamiento de las células con 10 μ M de AU, no citotóxica, afectó la producción de una nueva progenie viral de RV, observando tanto por la disminución de su título intra- y extra-celular, como por la disminución en los niveles de proteínas virales en las células infectadas. Además, este efecto antiviral no se debió a un efecto virucida del compuesto, el cual resultó no modificar el título de viriones que fueron tratados con el mismo.

Discusión y conclusiones

Los resultados obtenidos hasta el momento indican que el AU interfiere en una o más etapas del ciclo de replicación de RV. Actualmente nuestro grupo de investigación se encuentra enfocado en definir si el efecto antiviral ocurre antes, durante o después de la internalización del virus a las células, o en las tres etapas, y a partir de esos resultados buscaremos dilucidar el mecanismo involucrado. Estos resultados son de suma importancia para continuar con un estudio detallado del mecanismo de acción del AU frente a infecciones por RV, analizando blancos y mecanismos moleculares que potencialmente favorezcan el desarrollo de nuevas estrategias de control y tratamiento de la gastroenteritis aguda infantil.