

Además, en este estudio se han probado por un lado la potenciación de la DAO con la radioterapia y por otro lado la potenciación de la radioterapia con nanopartículas de oro, de modo que como ambos sistemas han dado resultado, en futuros experimentos se comprobará si inmovilizando la DAO en estas nanopartículas de oro y combinándolo con la radioterapia se observa un incremento aún mayor de ROS y por consiguiente de muerte celular. También se deben ajustar tanto las dosis de nanopartículas de oro a añadir como el tamaño adecuado de estas y probar en más líneas celulares para corroborar que se da en todas ellas dicha potenciación.

Debido a que los liposomas no parecen ser el mejor sistema de vehiculización para la DAO, se buscarán otro tipos de soportes como dendrímeros, con el objetivo de ver cuál es más idóneo para esta enzima, o lo que es lo mismo, en cuál de ellos se observa una mayor eficacia y estabilidad para su futuro uso como terapia enzimática. No obstante, el grupo también está pensando en dirigir la enzima mediante otros sistemas, como podría ser el uso de anticuerpos bioconjugados a las nanopartículas, visto que este sistema si resulta ser muy efectivo.

Debido a la inestabilidad del enzima cuando es expuesta a una temperatura por encima de los 4°C o muy por debajo de ésta, sería interesante realizar experimentos de evolución dirigida para establecer mutaciones en la enzima para encontrar una que a 37°C no perdiese su actividad tan rápido, de esta forma podría volverse a intentar su encapsulamiento en los liposomas y ver si se observa actividad.

Dado que con el inhibidor de PARP EB-47 se observa una mayor muerte celular, sería interesante probar con distintos inhibidores de PARP para comprobar si el efecto es general a todos ellos y si es mayor en uno que en otros y ajustar las dosis adecuadas para obtener el mayor efecto posible, así como combinar a su vez estos inhibidores con la DAO y los tratamientos radioterápicos para ver si la potenciación es aún mayor. Por último realizar los tratamiento en más líneas celulares para comprobar que dicha potenciación se observa en todas ellas.

7 BIBLIOGRAFÍA

1. "Defining Cancer". National Cancer Institute. Retrieved 10 June 2014.
2. Firman G (2010) "Principios de tratamiento oncológico".
3. Fang J, Nakamura H, Iyer AK (2007) Tumor-targeted induction of oxystress for cancer therapy. *J Drug Target* 15, 475–486.
4. Niculescu-Duvaz I & Springer CJ (2005) Introduction to the background, principles, and state of the art in suicide gene therapy. *Mol Biotechnol* 30, 71–88.
5. "Targeted Cancer Therapies". National Cancer Institute. Retrieved 25 April 2014.
6. Davies KJ (1995) Oxidative stress: the paradox of aerobic life. *Biochem Soc Symp* 61, 1–31.
7. Schüth, F., Lu, A.H, Salabas, E.L. (2007) Magnetic nanoparticles: synthesis, protection, functionalization, and application. *Angew Chem Int Ed Engl*. 46, p. 1222-1244.
8. Michael Schieber and Navdeep S. Chandel (2014 May 19) ROS Function in Redox Signaling and Oxidative Stress. *Curr Biol*. 24(10): R453–R462.
9. Bladier C, Wolvetang EJ, Hutchinson P, de Haan JB & Kola I (1997) Response of a primary human fibroblast cell line to H₂O₂: senescence-like growth arrest or apoptosis? *Cell Growth Differ* 8, 589–598.
10. Matura T, Kai M, Fujii Y, Ito H & Yamada K (1999) Hydrogen peroxide-induced apoptosis in HL-60 cells requires caspase-3 activation. *Free Radic Res* 30, 73–83.
11. Guisán, J.M. (2006) Immobilization of enzymes as the 21st century begins: An already solved problem or still an exciting challenge? In: *Methods in Biotechnology 22: Immobilization of Enzymes and Cells* (2nd Edition), ISBN: 978-1-58829-290-2, Edited by: J.M. Guisán, Humana Press Inc., Totowa, New Jersey, p. 1-15.
12. Arroyo M (1998) Inmovilización de enzimas. *Fundamentos, métodos y aplicaciones*. *Ars Pharmaceutica*, 39:2; 23-39.
13. Ansari, S.A., Husain, Q. (2012) Potential applications of enzymes immobilized on/in nano materials: a review. *Biotechnol Adv*. 30, p. 512-523.
14. González Pérez M (2004) Los liposomas: Usos y perspectivas. *Revista Cubana de química*, Vol. XVI, Nº 1.
15. Sabín Fernández JD (2007) Estabilidad coloidal de nanoestructuras liposómicas. Tesis doctoral, Facultad de Física, Universidad de Santiago de Compostela, España.
16. Núñez M. (2008) Efectos biológicos de las radiaciones- dosimetría. Escuela Universitaria de Tecnología Médica UdelaR, Montevideo, Uruguay Comité de Tecnólogos de ALASBIMN.
17. B. Jeremic, A. R. Aguerri, N. Filipovic (2013) Radiosensitization by gold nanoparticles. *Clin transl Onco* 15:593-601.
18. Yelamos J. (2014) Poli (ADP-ribosa) polimerasas. Institut Hospital del Mar d'Investigacions Mèdiques.

19. Ben-Yoseph O & Ross BD (1994) Oxidation therapy: the use of a reactive oxygen species-generating enzyme system for tumour treatment. *Br J Cancer* 70, 1131–1135.
20. Stegman LD, Zheng H, Neal ER, Ben-Yoseph O, Pollegioni L, Pilone M & Ross BD (1998) Induction of cytotoxic oxidative stress by d-alanine in brain tumor cells expressing *Rhodotorula gracilis* d-amino acid oxidase: a cancer gene therapy strategy. *Hum Gene Ther* 9, 185–193.
21. Pollegioni L, Piubelli L, Sacchi S, Pilone MS & Molla G (2007) Physiological functions of d-amino acid oxidases: from yeast to humans. *Cell Mol Life Sci* 64, 1373–1394.
22. Pollegioni L, Sacchi S, Caldinelli L, Boselli A, Pilone MS, Piubelli L & Molla G (2007) Engineering the properties of d-amino acid oxidases by a rational and a directed evolution approach. *Curr Protein Pept Sci* 8, 600–618.
23. Yoshikawa T, Kokura S, Tainaka K, Naito Y & Kondo M (1995) A novel cancer therapy based on oxygen radicals. *Cancer Res* 55, 1617–1620.
24. Sánchez-Puelles, J.M., Sanz, J.M., García, J.L., García, E. (1992) Immobilization and single-step purification of fusion proteins using DEAE-cellulose. *Eur J Biochem* 203, p. 153-159.
25. Moldes, C. (2003) Desarrollo de nuevos sistemas para la producción de proteínas de fusión por fermentación. Tesis Doctoral, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid, España.
26. Ruano Aldea M (2013) Fabricación de liposomas y de cápsulas poliméricas. Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Complutense de Madrid, España.
27. Tomás Menor L (2015) . Caracterización analítica y funcional de extractos con actividad antimicrobiana obtenidos de plantas del género *Cistus*. Tesis Doctoral, Instituto de Biología Molecular y Celular, Universidad Miguel Hernández de Elche, España.
28. Sharma A, Singh K, Almasan A (2012) Histone H2AX Phosphorylation: A Marker for DNA Damage. *Methods in Molecular Biology* Volume 920, 2012, pp 613-626.
29. Barraón-Catalán E, Menéndez-Gutiérrez MP, Falco A, Carrato A, Saceda M, Micol V (2009) Selective death of human breast cancer cells by lytic immunoliposomes: Correlation with their HER2 expression level. *Cancer Lett.* 290(2):192-203.
30. Alfaro Ureña Y.(2012) Nueva nucleósido 2'-desoxirribosiltransferasa de *Desulfotalea psychrophila*. Tesis doctoral, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Complutense de Madrid, España.