

QC-7

RESPUESTA ANTIOXIDANTE Y DE ESTRÉS DE CÉLULAS HEЛА EXPUESTAS A CONCENTRACIONES SUBLETALES DE ARSÉNICO Y CADMIO. PROTECCIÓN MEDIANTE EL ENVÍO DEL GEN γ -GLUTAMILCISTEIN LIGASA

Selene Huerta-Olvera,¹ José Macías-Barragán,² Fernando Siller-López.³

¹ Posgrado en Ciencias Biomédicas Básicas, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de San Luis Potosí. ² Doctorado en Ciencias Biomédicas, Universidad de Guadalajara. ³ Instituto de Biología Molecular y Terapia Génica, Centro Universitario de Ciencias de la Salud, Universidad de Guadalajara. e-mail: fsiller@cuucs.udg.mx

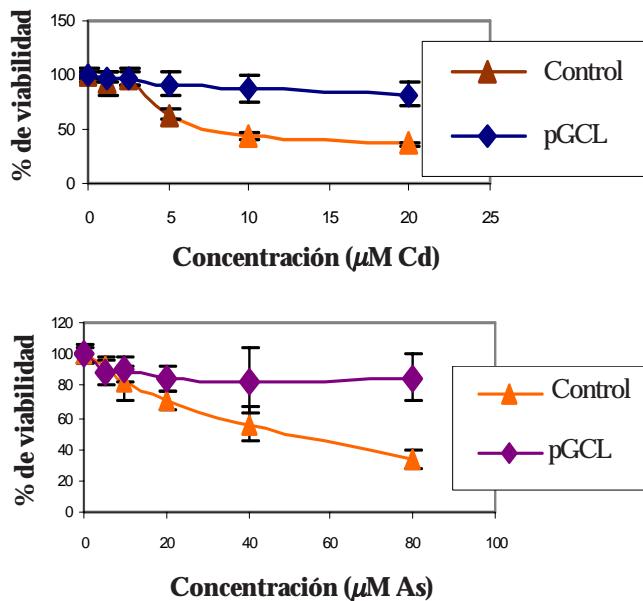
Palabras clave: Respuesta antioxidante, toxicidad, cadmio, arsénico, transferencia génica.

Introducción: El cadmio y el arsénico generan estrés oxidativo como mecanismo de acción tóxica.¹ Por su parte, las células han desarrollado diversos sistemas para contrarrestar este tipo de toxicidad mediante la síntesis de proteínas de estrés y de elementos antioxidantes.² En este trabajo analizamos la respuesta a la exposición *in vitro* a cada metal y el efecto del envío del gen de la γ -glutamilcistein ligasa (γ -GCL), enzima clave para la síntesis de glutatión (GSH),³ como un elemento protector contra la toxicidad por estos metales.

Metodología: Células HeLa fueron expuestas a una concentración subletal de $5 \mu\text{M Cd}^{2+}$ o $20 \mu\text{M As}^{3+}$ 24 h posteriores a su siembra, y 24 h después fueron recolectadas para el análisis mediante RT-qPCR de la expresión de diversos genes relacionados a la respuesta de estrés y de respuesta antioxidante, además de realizar análisis de la actividad enzimática de γ -GCL. En otro diseño experimental se clonaron en un plásmido las subunidades catalítica y reguladora del gene de γ -GCL (pGCL) para su posterior envío a las células HeLa. La protección conferida por esta vía ante la exposición a diversas concentraciones de Cd^{2+} o As^{3+} fue analizada mediante el ensayo de actividad metabólica de MTT a las 72 h posteriores al envío (24 h después de la exposición a los tóxicos).

Resultados: El Cd^{2+} incrementó significativamente la expresión de metalotioneína (MTA1), heme oxigenasa (HMOX1) y glutatión S-transferasa (GSTA1) (150, 100 y 43-veces, respectivamente). El As^{3+} incrementó HOX1 (44 veces) y MTA1 (22 veces). No se observaron cambios significativos en la expresión de las subunidades catalítica y moduladora de γ -GCL, glutatión sintetasa (GSS), superóxido dismutasa (SOD) y glutatión peroxidasa (GPX). Cuando se transfecionaron las células con el plásmido γ -GCL se observó en la actividad metabólica de las células una protección significativa a la toxicidad por ambos metales (*Figuras*).

Discusión y conclusiones. Al tiempo evaluado, las enzimas principalmente comprendidas en la respuesta a las especies reactivas de oxígeno como SOD, GPx y las relacionadas con la síntesis de GSH no incrementaron su expresión en magnitud



tan significativa como lo hicieron las proteínas de respuesta a estrés como MTA1, HOX1 y GSTA1. Lo anterior puede indicar la preferencia en la respuesta celular primaria para la resolución de la toxicidad mediante proteínas de estrés en vez de proteínas con función antioxidante reconocida. Es de notar la mayor magnitud en la respuesta de inducción de expresión de este tipo de genes por el Cd^{2+} en comparación al As^{3+} utilizando la misma CI50 de actividad metabólica. Por otro lado, la transfección con el pGCL significativamente mejoró la actividad metabólica de MTT de las células HeLa, indicando que la sobre-expresión de γ -GCL y por lo tanto la síntesis incrementada de GSH puede ser una alternativa potencial de terapia génica contra la toxicidad por metales o de enfermedades relacionadas con estrés oxidativo.

REFERENCIAS

1. Valko M, et al. *Chem Biol Interact* 2006; 160:1-40.
2. Halliwell B. *Annu Rev Nutr* 1996; 16: 33-50.
3. Deneke SM, Fanburg BL. *Am J Physiol* 1989; 257: L163-L173.