

233 Efectos de Nanobarras de Oro funcionalizadas con péptidos en la citotoxicidad y cascadas de señalización celular en neuronas de hipocampo.

AL. Riveros¹, O.H. Porras², F. Morales-Zavala¹, C.Velasco¹, M.J.Kogan¹.

¹ Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, Santiago, Chile

² Instituto de Nutrición y Tecnología de los alimentos, Universidad de Chile, Santiago, Chile

Email: riveros.ana@gmail.com; mkogan@ciq.uchile.cl

Las nanopartículas de oro han sido en el último tiempo un gran foco de interés para su utilización en aplicaciones biomédicas, debido a sus propiedades ópticas y a su capacidad de transportar eficientemente moléculas con fines diagnósticos y terapéuticos [1]. En nuestro grupo de trabajo se investiga el uso de nanobarras de oro (NbOs) para el desarrollo de una terapia para la enfermedad de Alzheimer, basada en las propiedades fototérmicas de estas nanopartículas que permiten desagregar los agregados proteicos tóxicos [2].

Notablemente, a pesar de los beneficios de estos nanomateriales, es poco lo que se sabe acerca de sus potenciales efectos nocivos y fisiológicos en el cerebro, por lo que es fundamental realizar un estudio a fondo de los efectos de estos nanomateriales en la citotoxicidad y cascadas de señalización celular en neuronas, teniendo en cuenta que las mismas se dirigirán al cerebro.

Este trabajo se enfoca en analizar y comparar como NbOs funcionalizadas con péptidos, que favorecen el pasaje a través de la barrera hematoencefálica (Angiopep2) [3] o interaccionan selectivamente con A β (D1 o CLPFFD) [4,5], afectan la viabilidad y las señales intracelulares de H₂O₂ y Ca²⁺ de cultivos primarios de neuronas de hipocampo.

Al incubar neuronas de hipocampo por 24 h con NbOs funcionalizadas con los péptidos CLPFFD o Angiopep2/D1 (4pM-0,4nM), se evidenció, mediante ensayos de citotoxicidad (MTS y LDH), que las NbOs-CLPFFD no presentan efectos sobre la viabilidad celular a concentraciones menores a 0,2nM. En cambio al aumentar la concentración a 0,4nM se produce una disminución de la viabilidad celular de un 40% respecto de los controles. Contrariamente las NbO-Angiopep2/D1 no presentaron efectos

sobre la viabilidad celular a las concentraciones ensayadas.

Adicionalmente se realizaron estudios en células individuales en tiempo real por microscopía de fluorescencia con NbOs-CLPFFD, con el fin de evaluar sus efectos sobre el Ca²⁺ intracelular, en neuronas cargadas con FURA2-AM y el estado redox, en neuronas transfectadas con el plasmidio Hyper-Cyto que detecta H₂O₂.

Los resultados indican que las NbOs-CLPFFD inducen aumentos transientes de H₂O₂ y Ca²⁺ intracelular a las concentraciones utilizadas. Además, al utilizar un quelante de Ca²⁺ extracelular (BAPTA), este aumento en los niveles de Ca²⁺ no se produjo.

Por lo tanto se puede concluir que: i) las NbOs-Angiopep2/D1 presentan una baja citotoxicidad, que es menor a la observada con NbOs-CLPFFD y ii) los cambios transientes en los niveles de H₂O₂ y Ca²⁺ intracelular generados por NbOs-CLPFFD, afectarían cascadas de señalización intracelular dependientes de Ca²⁺ extracelular; las cuales, no estarían relacionadas con procesos citotóxicos, pero es posible que estén participando en procesos de internalización celular de NbOs-CLPFFD.

AL. Riveros agradece a FONDECYT de Postdoctorado 3130654; M.J. Kogan agradece a FONDAP/ACCDiS 15130011 y FONDECYT 1130425; O.H. Porras agradece a FONDECYT 112020.

Referencias

- [1] B.D.Chithrani, y col, Nano Lett, (2007).
- [2] M.J. Kogan, y col, Nanomed, (2007).
- [3] M. Demeule y col. J Pharm Exp Ther, (2008).
- [4] C. Soto, y cl, Nat Med, (1998).
- [5] S.A Funke. y col. PLoS One, (2012).