

García Aguilar MR¹, Estrada Muñiz E¹, Elizondo G², Vega L¹

¹Departamento de Toxicología. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional.

²Departamento de Biología Celular. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional.

Av. Instituto Politécnico Nacional 2508, San Pedro Zacatenco, G.A Madero, CP 07360, Ciudad de México, *Teléfono: 5557473800, ext. 5427

INTRODUCCIÓN

La exposición a Arsénico (As) incrementa el riesgo a presentar cáncer de piel, de vejiga y de riñón. La toxicidad de este elemento depende de su ingreso a las células a través de proteínas transportadoras, tal como la Acuaporina 3 (AQP3), que se expresa selectiva y abundantemente en el túbulo distal de las nefronas. Un análisis in silico del transportador reveló que la región promotora contiene elementos de respuesta a xenobióticos, por lo que su regulación puede asociarse con la activación del AhR. Adicionalmente se conoce que el As induce la traslocación nuclear del AhR y modifica la expresión de genes relacionados con su activación. Debido a estos antecedentes fue de nuestro interés determinar si la exposición a arsenito de sodio (NaAsO₂) induce los niveles proteicos de AQP3 de forma dependiente del AhR en los túbulos distales del riñón, órgano diana de la toxicidad del As.

ESTRATEGIA EXPERIMENTAL

Ratones C57BL/6 WT y KO del AhR

Genotipificación de roedores

Obtención del cultivo primario de células renales del túbulo distal (AhR^{+/+} y AhR^{-/-})

Determinación de la activación del AhR por RT-PCR -Cyp1a1 -18s

Vehículo (H₂O y DMSO)

NaAsO₂ (0.1, 1 y 5 μM)

TCDD (10 nM)

Análisis de viabilidad por MTT -24 Horas

Cuantificación de niveles proteicos -AQP3 -Actina

Análisis estadístico ANOVA, post-hoc Bonferroni y t de Student

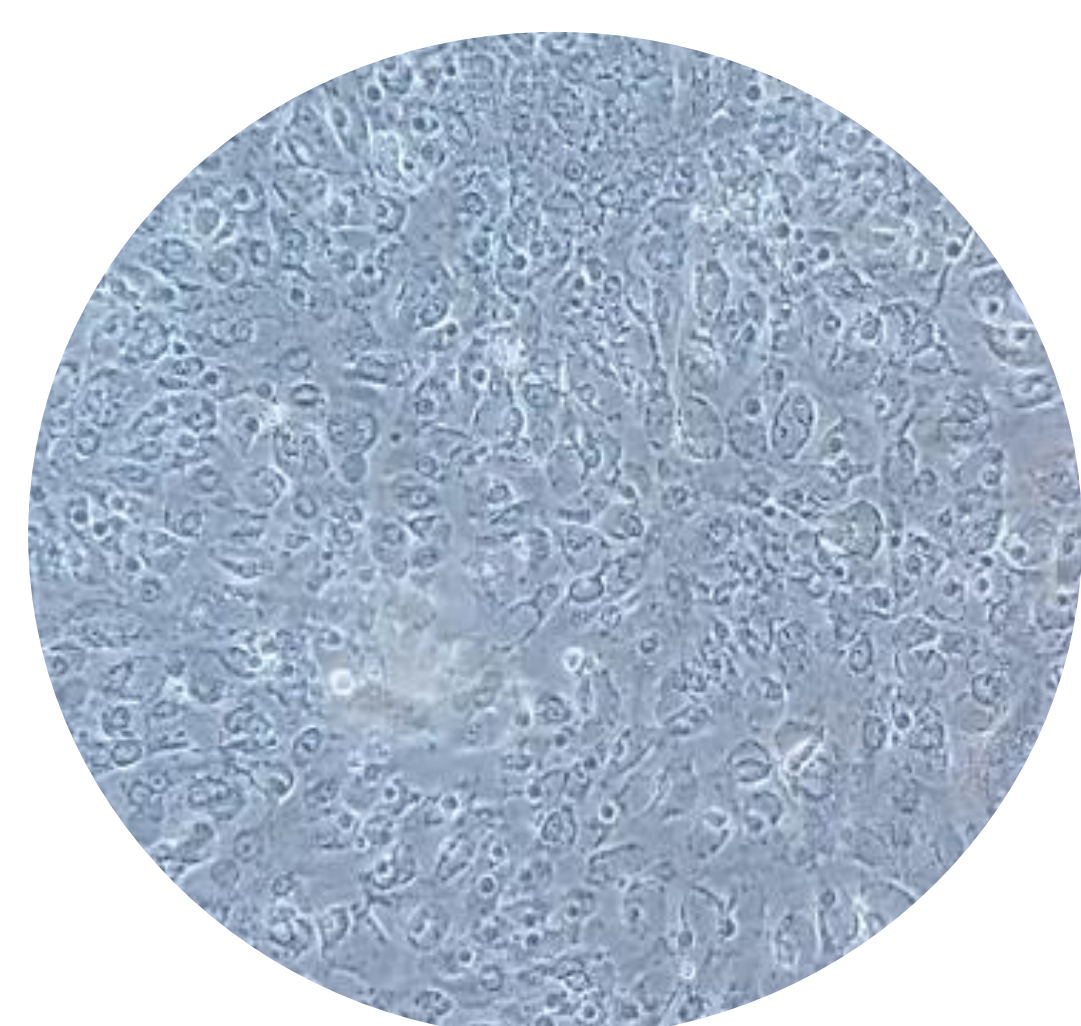


Figura 1. Células renales de túbulo distal a 7 días de cultivo.

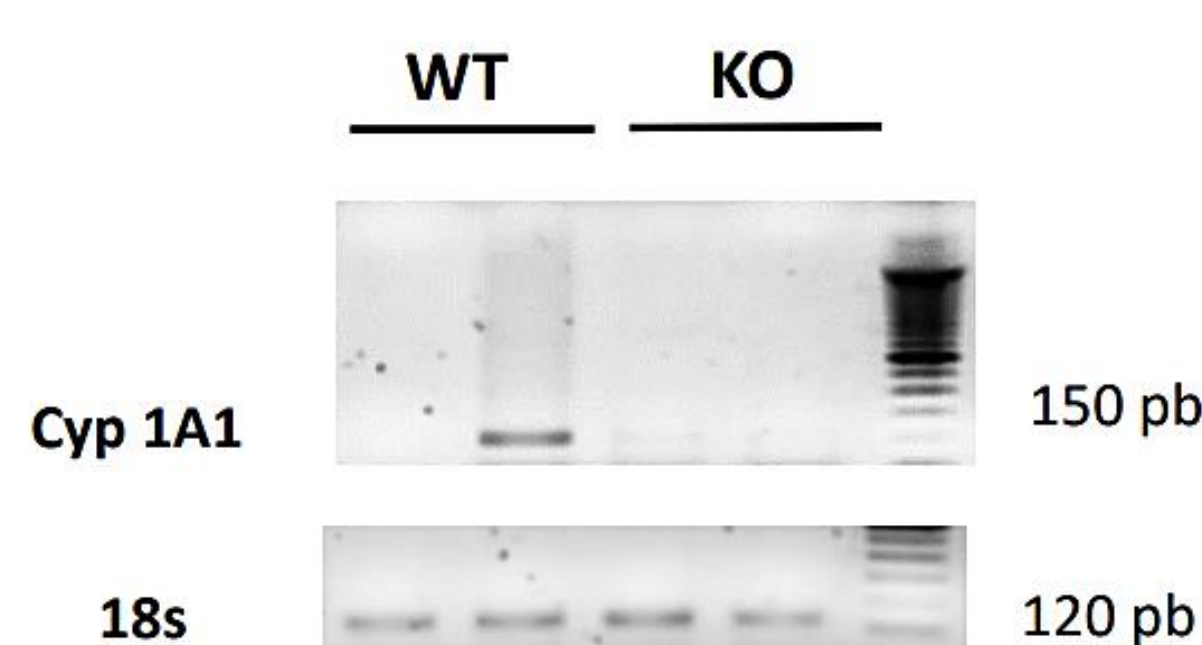


Figura 2. Expresión de Cyp1a1 en cultivos celulares WT y KO del AhR. Los cultivos primarios de células renales se expusieron a TCDD 10 nM por 12 h. La expresión de Cyp1a1 se determinó por RT-PCR, se utilizó ARNm 18s como control de carga. (n=2).

RESULTADOS

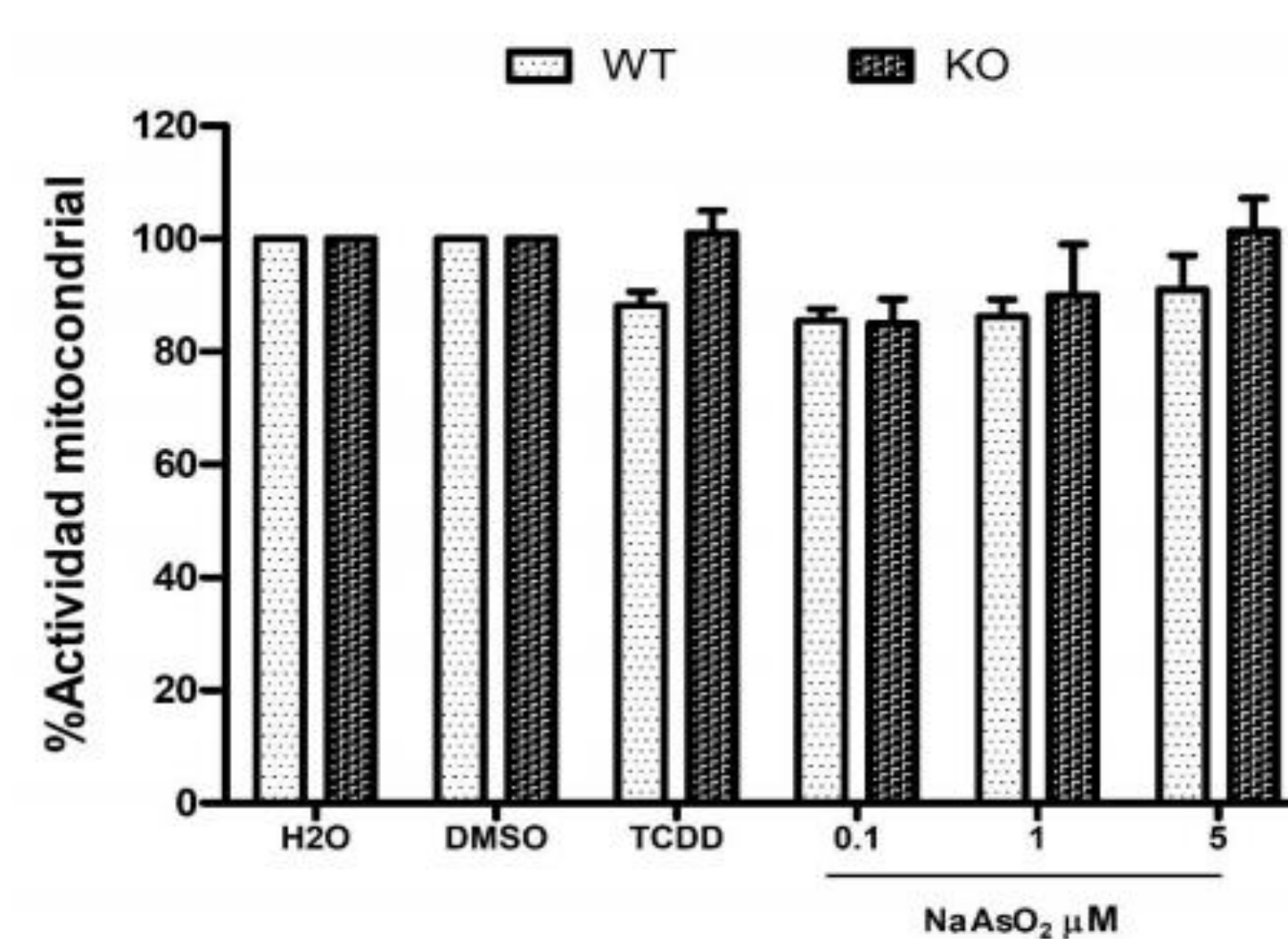


Figura 3. Viabilidad de cultivos primarios de células renales de ratones WT y KO del AhR tratados con TCDD 10 nM, y NaAsO₂ 0.1, 1, 5 μM. Ensayo de MTT a 24 h. Media ± DE (n=3). ANOVA post-hoc Bonferroni *p

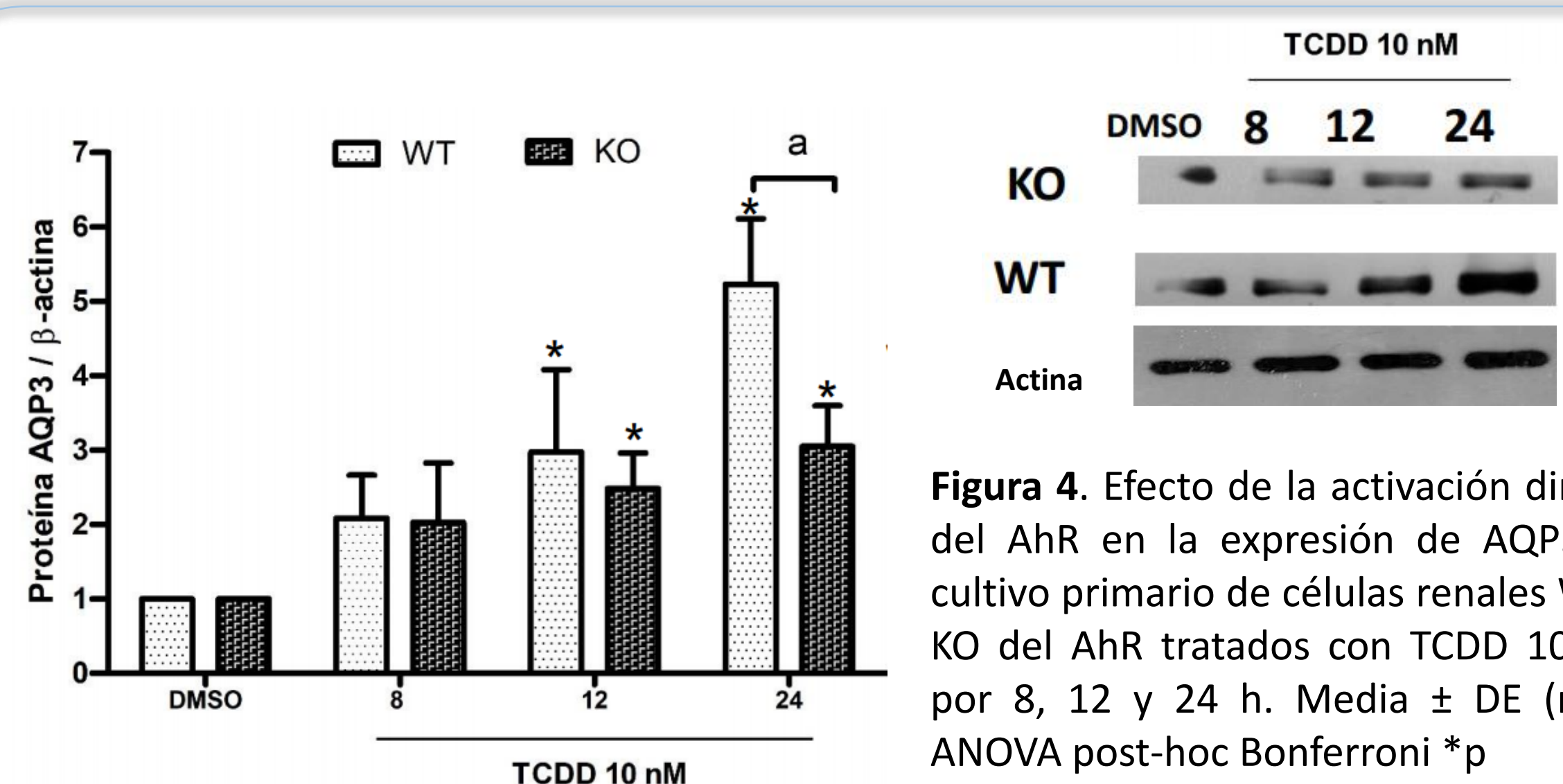


Figura 4. Efecto de la activación directa del AhR en la expresión de AQP3 en cultivo primario de células renales WT y KO del AhR tratados con TCDD 10 nM por 8, 12 y 24 h. Media ± DE (n=4), ANOVA post-hoc Bonferroni *p

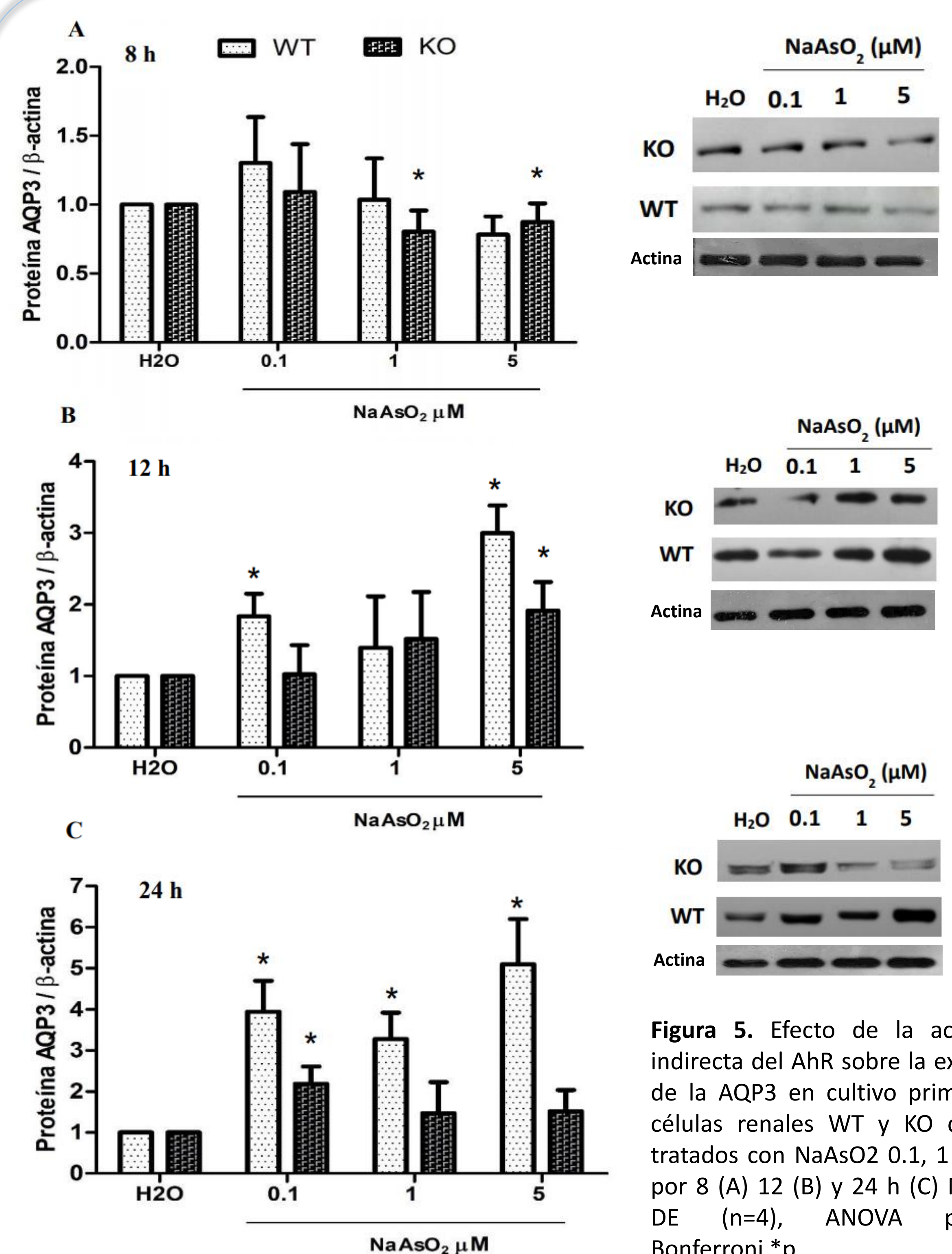


Figura 5. Efecto de la activación indirecta del AhR sobre la expresión de la AQP3 en cultivo primario de células renales WT y KO del AhR tratados con NaAsO₂ 0.1, 1 y 5 μM por 8 (A) 12 (B) y 24 h (C) Media ± DE (n=4), ANOVA post-hoc Bonferroni *p

CONCLUSIÓN

- ✓ El AhR participa en la regulación de AQP3.
- ✓ El NaAsO₂ a través de un mecanismo indirecto desconocido, incrementa la expresión de AQP3. Este mecanismo no es totalmente dependiente de la presencia del AhR ya que otros factores de transcripción podrían estar participando en la modulación de esta proteína.

REFERENCIAS

- Anwar-Mohamed, A., Abdelhamid, G., Amara, I. E. A., & El-Kadi, A. O. S. (2013). Differential modulation of cytochrome P450 1a1 by arsenite in vivo and in vitro in C57BL/6 mice. *Free Radical Biology and Medicine*, 58, 52–63.
- Wu, J. P., Chang, L. W., Yao, H. T., Chang, H., Tsai, H. T., Tsai, M. H., Lin, P. (2009). Involvement of oxidative stress and activation of aryl hydrocarbon receptor in elevation of CYP1A1 expression and activity in lung cells and tissues by arsenic: an in vitro and in vivo study. *Toxicol Sci*, 107(2), 385–393.
- Verkman, A.S., Anderson, M.O., and Papadopoulos, M.C. (2014) Aquaporins: important but elusive drug targets. *Nat. Rev. Drug Discov.* 13, 259–277.