



## ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA Y CITOTÓXICA DE LA TIONINA Thi2.1 de *Arabidopsis thaliana* PRODUCIDA POR CÉLULAS ENDOTELIALES BOVINAS

Heber Loeza Ángeles, Eduardo Sagrero Cisneros, Erik Villagómez Gómez, Alejandra Ochoa Zarzosa y Joel E. López Meza.

Centro Multidisciplinario de Estudios en Biotecnología-FMVZ, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. AP 53, Admón Chapultepec Ote, CP 58262. Morelia, Mich. Tel/FAX 443 2958029. [elmeza@zeus.umich.mx](mailto:elmeza@zeus.umich.mx)

Palabras clave: péptidos antimicrobianos, tioninas, endotelio

**Introducción.** Las plantas, al igual que la mayoría de los eucariotes estudiados producen péptidos antimicrobianos (PA) que les ofrecen protección rápida contra el ataque por microorganismos patógenos. Las tioninas fueron la primera familia de PA de plantas en la que se demostró actividad antimicrobiana. *Arabidopsis thaliana* expresa constitutivamente la tionina 2.1 (Thi2.1) y cuando se presenta una infección por *Fusarium oxysporum* se induce su expresión en tallo. Sin embargo, los efectos de este PA sobre hongos patógenos de humanos se desconocen, y tampoco se han estudiado sus propiedades citotóxicas contra células tumorales humanas. El estudio de la actividad de los PA abre la posibilidad de utilizarlos como tratamientos alternativos en diferentes tipos de enfermedades infecciosas. En un trabajo previo, reportamos que la expresión de un PA de *Capsicum chinense* por endotelio bovino presenta efectos antimicóticos y citotóxicos contra *Candida albicans* y la línea tumoral humana HeLa (1), respectivamente.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto del medio condicionado (MC) de células endoteliales bovinas que expresan Thi2.1 (CEB Thi2.1) sobre el crecimiento de distintas cepas patógenas de *C. albicans* y sobre diferentes líneas tumorales humanas.

**Metodología.** Se evaluó el efecto del MC de dos clonas de CEB productoras de Thi2.1 sobre la viabilidad de las cepas de *C. albicans*: ATCC 10231, CAI2, CAI4, ML3 y ML4. Como control negativo se utilizó el MC de CEB transfectadas con Thi2.1 clonado en antisentido (CEB Thi2.1 AS). Los MC se obtuvieron creciendo las células durante 24 h en medio sin suero (OPTIMEM). *C. albicans* se incubó con los MC durante 4 h. Los efectos citotóxicos del MC de la clona 1 CEB Thi2.1 y CEB Thi2.1 AS se evaluaron sobre la viabilidad de las líneas tumorales humanas HeLa, MCF-7 y A549. Las líneas celulares estuvieron en presencia de los MC durante 24 h. El efecto citotóxico de los MC se evaluó también sobre CEB no transformadas (NT) y sobre células de epitelio mamario bovino (EMB). Todos los ensayos de viabilidad se realizaron determinando la reducción de la sal de tetrazolio MTT.

**Resultados y Discusión.** Mediante reducción de la sal de tetrazolio MTT se evaluó la viabilidad de las cepas de *C. albicans* en presencia del MC. En la Fig. 1A se muestra que en todas las cepas evaluadas, el MC de las dos clonas de

CEB productoras de Thi2.1 inhibió el crecimiento fúngico ~75% (dependiendo de la cepa), en comparación con el MC de CEB Thi2.1 AS. Las cepas ML3 y ML4 no contienen glucosilceramidas en su membrana. Este tipo de moléculas se han descrito como receptores específicos para algunos PA de plantas. Los resultados aquí mostrados indican que Thi2.1 no interacciona con estos receptores, puesto que las cepas de *C. albicans* ML3 y ML4 no crecieron en presencia del MC que contiene Thi2.1. En la Fig. 1B se muestra la inhibición en la viabilidad de distintas líneas celulares. Se observó que el MC de la clona 1 CEB Thi2.1 inhibió ~75% la viabilidad de las CEB NT, de EMB y de la línea tumoral MCF-7, mientras que en las líneas A549 y HeLa la inhibición fue del ~30%. Las diferencias de susceptibilidad a Thi2.1 detectadas entre las líneas celulares pueden deberse a la composición de fosfolípidos de las membranas plasmáticas.

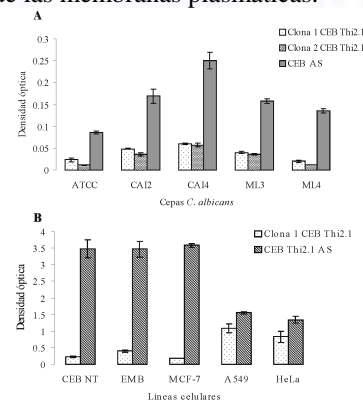


Figura 1. A) Viabilidad de distintas cepas de *C. albicans* y de B) diferentes líneas celulares en presencia de 2.5 µg de proteína de los MC.

**Conclusiones.** El MC de CEB que expresan el PA Thi2.1 presenta efectos antifúngicos en contra de *C. albicans* y efectos citotóxicos en contra de diferentes líneas celulares.

**Agradecimiento.** CONACyT proyecto J-46400 y CIC-UMSNH 14.1.

### Bibliografía

1. Anaya-López, JL, López-Meza, JL, Baizabal-Aguirre, VM, Cano-Camacho, H y Ochoa-Zarzosa, A. 2006. Fungicidal and cytotoxic activity of a *Capsicum chinense* defensin expressed by endothelial cells. *Biotech Lett.* 28:1101-1108.