

Efecto del clorpirifós en la expresión *in vitro* de Bax y Bcl-2 en cultivos celulares de origen bovino

Escoriza, M.¹; Romeo, F.^{3,4}; Verna, A.^{3,4}; Delgado S.²; Pereyra, S.⁴; González Altamiranda, E.³; Poo, J.⁵; Gerpe, M.⁶

1.Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Mar del Plata, Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina. 2.Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata, Balcarce, Buenos Aires, Argentina. 3.Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y técnicas (CONICET), Buenos Aires, Argentina. 4.Laboratorio de Virología Veterinaria, Grupo de Sanidad Animal, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Balcarce, Buenos Aires, Argentina. 5.Laboratorio de Toxicología y Bioquímica Veterinaria, Grupo de Sanidad Animal, INTA, Balcarce, Buenos Aires, Argentina. 6.Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras (IIMYC) - CONICET, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Mar del Plata, Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina

Introducción

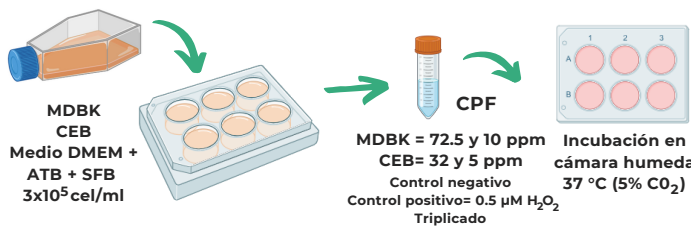
El uso veterinario de plaguicidas organofosforados está ampliamente extendido, siendo el clorpirifós (CPF) el de mayor aplicación para prevenir y controlar enfermedades parasitarias en bovinos. Su uso indiscriminado se lo ha asociado a diversos efectos toxicológicos clasificándolo principalmente como nefrotóxico, mutagénico y teratogénico. La muerte celular programada (MCP) es un mecanismo inducido y regulado por factores externos. La proteína Bax (proapoptótica) y Bcl-2 (antiapoptótica) son los miembros principales de la familia Bcl-2 y su equilibrio juega un papel importante y central en la regulación de la vía intrínseca de la apoptosis. La expresión de éstas proteínas podría ser un determinante importante de la susceptibilidad celular a la apoptosis.

Objetivo

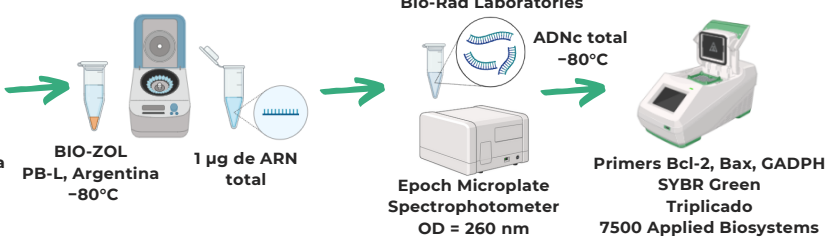
Determinar la expresión génica de Bax y Bcl-2 en células Madin-Derby Bovine Kidney (MDBK) y en cultivo primario de Células Endometriales Bovinas (CEB), expuestas a CPF para evaluar su efecto en la regulación de la apoptosis.

Materiales y Métodos

Cultivo celular y tratamiento con CPF



Expresión de los genes Bcl-2 y Bax



Cultivo celular Monocapa (95% confluencia) Tratamiento Exposición (24 hs y 48 hs) Extracción de ARNm Síntesis de ADNc y cuantificación Real Time PCR

Resultados

MDBK: Expresión de Bcl-2 (1.844±0.3644) fue 4 veces superior a Bax (0.472±0.0531); independientemente de la concentración de CPF y el tiempo de exposición

CEB: No se detectó expresión de Bax

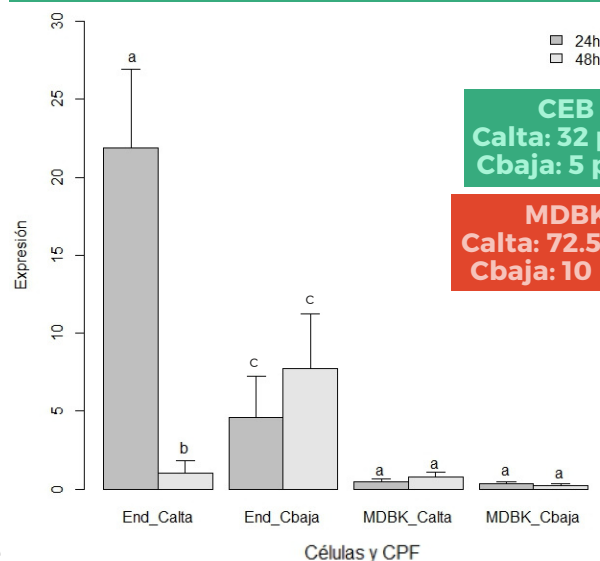
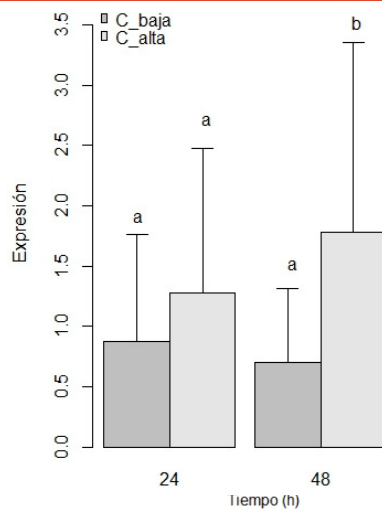
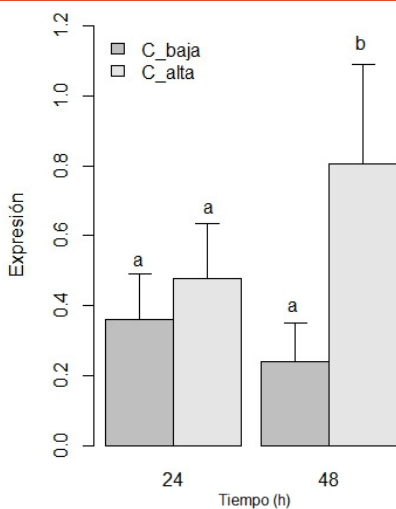


Gráfico 1.- Expresión (URC) de Bcl-2 con respecto Bax en células MDBK vs tiempo. a y b indican diferencia significativas (p<0.01).

Gráfico 2.- Expresión (URC) de Bcl-2 y Bax en células MDBK vs tiempo. a y b indican diferencia significativas (p<0.01).

Gráfico 3.- Expresión (URC) de Bcl-2 vs células MDBK y CEB expuestas a distintas concentraciones de CPF. a, b y c indican diferencias significativas (p<0.01).

Conclusión

Las CEB expuestas a CPF mostraron una respuesta antiapoptótica mas temprana (aumento de la expresión de Bcl-2), relacionándose con la necesidad de la célula de protegerse contra el daño inducido por CPF. Las células MDBK, mostraron una respuesta antiapoptótica más tardía, siendo más tolerantes al CPF, al tratarse de una línea celular inmortalizada.