

UNIVERSIDAD DE CONCEPCION



**PAPEL ESENCIAL DEL GLUTATION EN LA DEFENSA  
AL ESTRES OXIDATIVO INDUCIDO POR EL HUMO DE  
TABACO EN CELULAS ENDOTELIALES HUMANAS**

Tesis de Magíster presentada a la Dirección de Postgrado de la Universidad de Concepción como parte de los requisitos para optar al grado de Magíster en Ciencias, mención Fisiología

Por

Gloria Alejandra Oñate Mardones

2009

## RESUMEN

El endotelio humano está constantemente expuesto a oxidantes intra y extracelulares como los presentes en el humo de tabaco; sin embargo, el endotelio se encuentra protegido por la acción de moléculas antioxidantes tanto enzimáticas como no enzimáticas, de las cuales la vitamina C y el glutatión constituyen los componentes no enzimáticos más importantes. La vitamina C debe ser adquirida desde la dieta y es transportada al interior de la célula tanto en su forma reducida (ácido ascórbico) como en su forma oxidada (ácido deshidroascórbico), siendo acumulada intracelularmente como ácido ascórbico, alcanzando concentraciones de 0,1- 5 mM. A diferencia de la vitamina C, el tripéptido glutatión (GSH,  $\gamma$ -glutamyl-cistein-glicina) es sintetizado por todas las células, alcanzando concentraciones intracelulares de 0,5- 10 mM y se ha comprobado que es fundamental en los procesos de detoxificación celular.

En esta tesis estudiamos la sobrevida celular, el metabolismo del glutatión y la vitamina C y su papel en la defensa antioxidante en cultivos primarios de células endoteliales de vena umbilical humana (HUVEC) y en una línea de células endoteliales humanas inmortalizadas (ECV-304) expuestas a un medio condicionado con humo de tabaco y a un tratamiento con peróxido de hidrógeno. Estudiando el efecto del tratamiento sobre la viabilidad celular y los niveles de glutatión intracelular, para establecer la respuesta de las células endoteliales frente al estrés oxidativo. Además, realizamos experimentos de transporte de ácido ascórbico y ácido deshidroascórbico, para determinar si el metabolismo de la vitamina C se veía modificado por la exposición al medio condicionado con humo de tabaco.

Los objetivos desarrollados fueron: i) Estudiar el efecto del tratamiento con medio condicionado con humo de tabaco sobre la viabilidad celular y el contenido de glutatión de las células endoteliales, ii) Estudiar el efecto antioxidante de la vitamina C y el glutatión en células endoteliales tratadas con medio condicionado con humo de tabaco y sometidas a estrés oxidativo agudo con  $H_2O_2$ , iii) Estudiar el transporte y la acumulación de vitamina C en células endoteliales humana tratadas con medio condicionado con humo de tabaco.

Al estudiar el efecto del medio condicionado con humo de tabaco, encontramos que: i) El tratamiento de las células endoteliales con medio condicionado con humo de tabaco disminuye la sobrevida celular y produce un efecto bifásico en el contenido de glutatión intracelular. En una fase inicial, el GSH disminuye drásticamente, independiente a la concentración de medio condicionado utilizado, mientras que en una segunda etapa los niveles de GSH se recuperan, en aquellas células que sobreviven al tratamiento, ii) La suplementación con vitamina C no modifica la sobrevida celular ni el metabolismo de glutatión. iii) Las células sin glutatión por tratamiento con el inhibidor L-butionina-(S,R)-sulfoximina presentan un marcado aumento de la muerte celular inducida por el medio condicionado con humo de tabaco, efecto que no fue revertido por la suplementación con vitamina C. iv) El tratamiento con medio condicionado con humo de tabaco no afecta la capacidad de las células endoteliales para transportar vitamina C, pero aumenta la capacidad para acumular vitamina C en el caso de las ECV-304.

Al estudiar el efecto conjunto de peróxido de hidrógeno y medio condicionado con humo de tabaco, encontramos que: i) El tratamiento con  $H_2O_2$ , disminuye la