

EVALUACIÓN DE LA CITOTOXICIDAD DE AFB1, FB1, Y AFB1/FB1 EN CÉLULAS INTESTINALES PORCINAS

*Moreno, R. C.¹, Del Río, G. J. C.¹, Pinton, P.³, Oswald, I. P.³ y Mendoza, E. S.²

¹UNIGRAS y ²Posgrado, FES-Cuautitlán, de la UNAM. ³Pharmacology, INRA, Toulouse, France.

INTRODUCCIÓN

Las fumonisinas (FB) son una familia de micotoxinas producidas por *Fusarium verticillioides* (sin *F. moniliforme*), uno de los hongos más comunes encontrados en el maíz y otros cereales. En cerdos es responsable del edema pulmonar porcino, falla hepática y toxicidad cardiovascular (1). La fumonisina B1 (FB1) es citotóxica para diferentes líneas celulares, incluyendo células epiteliales (2). Las aflatoxinas son sintetizadas principalmente por *Aspergillus flavus* Link y *Aspergillus parasiticus* Speare (3). Se conocen aproximadamente 18 tipos de aflatoxinas. Las aflatoxina B1, B2, G1 y G2 son las 4 principales micotoxinas (4).

MATERIAL Y MÉTODOS

Cultivo celular. Se utilizó la línea celular denominada IPEC-Italie, con medio modificado Dulbecco's Eagle's completo y suplementado. **Toxinas:** Fumonisina B₁ se prepararon diferentes concentraciones (0, 3.7, 5, 10, 20, 50, 100 y 500 µM). Aflatoxina B₁ se diluyó en medio de cultivo a la concentración requerida (0, 1.3, 2, 5, 10, 50 y 100 µM). Combinación de AFB₁/FB₁ se diluyó en medio de cultivo a la concentración requerida (0/0, 1.3/3.7, 2/3.7 y 5/10 µM). **Morfología celular:** Se utilizaron a razón de 300,000 células (3x10⁵) por pozo en un 1 ml de DMEM completo. Una vez que las células fueron confluentes, se adicionó AFB₁, FB₁, y la combinación de AFB₁/FB₁. **Prueba de viabilidad celular (MTS):** Se utilizó el Kit CellTiter 96^R Aqueous Non-Radiative Cell Proliferation Assay (Laboratorio Promega). Se utilizaron diferentes concentraciones de AFB₁ y de FB₁ y combinación de AFB₁/FB₁. **Prueba de citotoxicidad y Determinación de Interleucina-8 (IL-8):** Se empleó el kit Cytotox 96^R. Cuantifica la cantidad de lactato deshidrogenasa (LDH) presente en el medio de cultivo. Para evaluar la concentración de IL-8 se utilizó el kit Porcine IL-8 (Laboratorio R&D System, Inc. **Análisis estadístico:** Los datos fueron analizados con un análisis de varianza (ANOVA) y la comparación de medias se llevó a cabo con una prueba de Diferencia mínima significativa, utilizando el paquete estadístico STARTGRAPHICS versión 5.1 Plus, utilizando un valor de significancia del 95% (α=0.05).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados indican un efecto tóxico sinérgico sobre células diferenciadas y no diferenciadas a

concentraciones de 1.3 µM AFB₁/3.7 µM FB₁ y 2 µM AFB₁/3.7 µM FB₁, en comparación con las mismas concentraciones al administrar una sola micotoxina. Podemos observar que estas concentraciones estimulan la síntesis de IL-8 y de otros mediadores que participan en la respuesta inflamatoria (5), además de favorecer el aumento de la permeabilidad y lesión celular, que se manifiesta en la disminución de la viabilidad e incremento en la liberación de LDH. Al utilizar la combinación de AFB₁/FB₁ la proliferación y la viabilidad celular se vieron afectadas de forma más severa que aquellas células que solo recibieron una sola micotoxina. Esto también concuerda por lo observado por McKean, *et al.* (6). Sin embargo, diversos investigadores mencionan que las micotoxinas son capaces de modular la producción de citocinas en órganos y/o tipos celulares diferentes (7). También es cierto que son pocos los trabajos de investigación encaminados a observar el efecto de las micotoxinas en forma individual o en combinación, sobre la modulación de la expresión de citocinas por células intestinales. Con respecto a la baja en la síntesis de IL-8 por acción de FB₁ puede explicarse, a que debido a que la FB₁ presenta una estructura análoga con los esfingolípidos, interfiere con la síntesis de todo el complejo, recientes investigaciones indican que la FB₁ tiene acción sobre globosidos y gangliosidos, se sabe que éstos últimos modulan la producción de inmunoglobulinas y citocinas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Haschek, W. M. *et al.* (2001). *Env. Health. Perspect.* **109**: 251–257.
2. Caloni, F., *et al.* (2002). *Toxicol.* **40**: 1181–1188.
3. Ellis, *et al.* (1991). *CRFSN.* **30**: 403–439.
4. Smith, J. E. and Ross, K. (1991). CRC Press. Pp. 101–118.
5. Oswald, I. P. *et al.* (2003). *Appl. Environ. Microbiol.* **69**: 5870–5874.
6. McKean, *et al.* (2006). *Food and Chemical Tox.* In Press.
7. Bouhet, S. *et al.* (2004). *Toxicol. Sci.* **77**: 165–171.