

---

**Charla**

# Regulación de la Respuesta a Hipoxia y la Actividad Mitocondrial por el Óxido Nítrico en las Células Madre Embrionarias y Células de Pluripotencia Inducida



Estefanía Caballano-Infantes<sup>2</sup>, Francisco J. Bedoya<sup>1</sup> y Juan R. Tejedo<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup> Andalusian Center for Molecular Biology and Regenerative Medicine (CABIMER)-University Pablo de Olavide, CIBERDEM, RED-TERCEL, Seville, Spain

<sup>2</sup> Andalusian Center for Molecular Biology and Regenerative Medicine (CABIMER)-Fundación Progreso y Salud, CIBERDEM, RED-TERCEL, Seville, Spain

**Palabras clave:** hipoxia; óxido nítrico; pluripotencia

---

## RESUMEN

La expansión de las células pluripotentes (ESC e iPS) en condiciones que mantengan sus propiedades de autorenovación y pluripotencia es necesario en un programa de terapia celular. Previamente en nuestro laboratorio hemos observado que bajas concentraciones de óxido nítrico (NO) soportan la expansión de estos tipos celulares (Tejedo JR et al; 2010). Los mecanismos comprometidos en esta respuesta no son conocidos. En este trabajo presentamos evidencias de que cuando estas células crecen en condiciones de normoxia, el NO activa una respuesta similar a la hipoxia, consiguiendo así el mantenimiento de la pluripotencia y la autorrenovación (Catherine E Forristal et al ; 2010).

Para comprobar que el NO activa la repuesta celular a hipoxia se ha estudiado la estabilidad y localización celular de la proteína HIFs (factor inductor de hipoxia) mediante western blotting e inmunocitoquímica en las condiciones experimentales de hipoxia, normoxia y normoxia en presencia de bajas concentraciones de NO. También se ha llevado a cabo el estudio de la estabilidad de la proteína von Hippel-Lindau tumor supresor (VHL) encargada de la degradación de HIF. Por otro lado, dado la estrecha relación existente entre hipoxia y metabolismo celular ( Jin Zhang et al; 2012), hemos analizado la expresión de genes dianas de HIF mediante RT-PCR implicados en la vía glucolítica como son la hexoquinasa-2 (HK-2), lactato deshidrogenasa (LDH) y piruvato deshidrogenasa kinasa1 (PDK1), además del estudio de otros genes diana como, Nanog involucrado en el mantenimiento de la pluripotencia y VEGF cuya función está relacionada con la angiogénesis.

Los resultados obtenidos hasta el momento muestran que las células mantenidas en cultivo bajo condiciones de normoxia con bajas concentraciones de DETA-NO (2 y 10 uM) adicionadas al medio para que liberen NO consiguen estabilizar la proteína HIF-1 alpha y tras el análisis de los genes diana de HIF-1 alpha implicados en la vía glucolítica como HK-2, LDH y PDK1 se ha podido comprobar que estos se encuentran sobreexpresados tanto en condiciones de hipoxia como en las condiciones de normoxia más DETA-NO.

Tras estos estudios iniciales se puede concluir que bajas concentraciones de NO en condiciones de normoxia consiguen activar una respuesta celular biológica similar a la que ocurre en hipoxia, que se demuestra al observar niveles estables de la proteína que regula esa adaptación celular (HIF) y la sobreexpresión de sus genes diana.

## BIBLIOGRAFIA

Tejedo JR, Tapia-Limonchi R, Mora-Castilla S, Cahuana GM, Hmadcha A, Martin F, Bedoya FJ, Soria B. Low concentrations of nitric oxide delay the differentiation of embryonic stem cells and promote their survival. *Cell Death Dis.* 2010 Oct 7;1:e80. doi: 10.1038/cddis.2010.57.

Catherine E Forristal, Kate L Wright, Neil A Hanley, Richard O C Oreffo, and Francesca D Houghton . Hypoxia inducible factors regulate pluripotency and proliferation in human embryonic stem cells cultured at reduced oxygen tensions. *Reproduction* (2010) 139 85–97

Jin Zhang, Esther Nuebel, George Q. Daley, Carla M. Koehler, and Michael A. Teitel. Metabolic Regulation in Pluripotent Stem Cells during Reprogramming and Self-Renewal. *Cell Stem Cell* 11, November 2, 2012.