

P8

Análisis de la posible citotoxicidad asociada a las nanopartículas de selenio mediante herramientas de proteómica cuantitativa

Isabel López-Heras¹, Raquel Sánchez¹, Daniela Santos-Anuniação^{1,2}, Yolanda Madrid¹, Pilar Martín³, Jose Luis Luque-García¹, Carmen Cámara¹

¹ Dpto Química Analítica. Universidad Complutense de Madrid. Ciudad Universitaria s/n, 28040, Madrid; ² Dpto Química Analítica. Universidad Federal de Bahía. Brasil; ³ Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares

mailopez@quim.ucm.es

El Selenio (Se) es un micronutriente esencial con importantes funciones biológicas y bioquímicas. Sus efectos beneficiosos han sido estudiados en numerosas ocasiones, sin embargo se sabe muy poco acerca de los efectos que presenta el selenio elemental en forma de nanopartículas (nano-Se) [1]. En estudios anteriores se ha demostrado la capacidad antioxidante de las nano-Se presentando una menor toxicidad que otros selenocompuestos orgánicos, como la selenometionina y selenometilselenocisteína [2].

El presente estudio se ha centrado en evaluar la posible toxicidad asociada a las nano-Se mediante el desarrollo de un estudio *in-vitro*. Para ello, se ha estudiado la influencia de las nano-Se en la proliferación celular empleando células de hepatocarcinoma humano (HepG2), así como las diferencias encontradas en la expresión de proteínas tras la exposición de dichas células a las nano-Se.

En primer lugar, se optimizó un método de síntesis de nano-Se basado empleando el polisacárido chitosan como agente estabilizante. La presencia de un 0.1% de chitosan en el medio de síntesis fue esencial para obtener nano-Se estables de 40-50 nm. Con el fin de evaluar la proliferación celular, se emplearon diferentes concentraciones de nano-Se (0.1, 0.5, 1, 10 and 20 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) y diferentes tiempos de exposición (24 y 48 horas). Las diferencias encontradas en la expresión proteica fueron estudiadas, tras el tratamiento de las células con 0.1 $\mu\text{g nano-Se}\cdot\text{mL}^{-1}$ y 48 horas de incubación, mediante la estrategia SILAC seguida de SDS-PAGE y nano-LC-MS. Con objeto de complementar la estrategia proteómica, se han empleado otras técnicas tales como la citometría de flujo, la microscopía electrónica de transmisión y la inmunofluorescencia que han permitido por una parte validar los resultados obtenidos y por otra profundizar en los mecanismos biomoleculares involucrados en la interacción existente entre las nano-Se y dichas células.

[1] Zeng H. Selenite and Selenomethionine promote HL-60 cell cycle progression. *The Journal of Nutrition* 2002:674-79.

[2] Zhang J, Wang X y Xu T. Elemental Selenium at Nano size (Nano-Se) as a potencial chemopreventive agent with reduced risk of selenium toxicity: comparison with Se-Methylselenocysteine in mice. *Toxicological Sciences* 2008:101:22-31.