

Análisis del daño genético producido en queratinocitos humanos traducidos con los oncogenes virales E5, E6, E7 del VPH-18 sometidos a un microambiente hipóxico

Jimena Hochmann,  0000-0002-0875-2333

Magdalena Millán,  0000-0002-0341-5127

Paola Hernández,  0000-0002-3515-1082

Laura Lafon,  0000-0002-4239-2802

Natali D'Aiuto,  0000-0002-4977-6972

Vanesa Pereira,  0000-0001-7747-6718

Felipe Martins,  0000-0003-1817-2604

Estefanía Sicco,  0000-0003-1137-6866

José Sotelo-Silveira,  0000-0002-4758-8556

Ronell Bologna-Molina,  0000-0001-9755-4779

Miguel Arocena,  0000-0002-7682-4028

DOI: 10.22592/ode2023nesp1e600



Resumen

Objetivos. En este estudio se evaluarán los niveles de estrés oxidativo, y daño en el ADN en un modelo celular de carcinogénesis oral temprano, sometido a un microambiente hipóxico.

Métodos. Utilizamos queratinocitos humanos (HaCaT) transducidos con oncogenes de VPH-18 (E5/E6/E7) sometidos a un microambiente hipóxico mediante el método del cubreobjeto, Se estudió mediante microscopía confocal la detección de especies reactivas de oxígeno (ROS) utilizando una sonda fluorescente. Además, se midieron los niveles de producción de óxido nítrico (NO), mediante el ensayo de Griess. Se evaluó el daño al ADN generado en las líneas celulares HaCaT parental, y HaCaT E5/E6/E7-VPH18, en normoxia, y en hipoxia mediante inmunocitoquímica de γ H2AX, y ensayo cometa. Finalmente, se evaluaron diferencias morfológicas celulares y nucleares en ambas líneas celulares, en normoxia e hipoxia, utilizando el microscopio Nanolive 3D Cell Explorer-Fluo.

Resultados. Observamos niveles de ROS intracelular significativamente más altos en células HaCaT E5/E6/E7-VPH-18 en comparación con las células HaCaT parentales. En cuanto al contenido de NO, fue significativamente mayor en HaCaT E5/E6/E7-VPH18 cultivadas en hipoxia en comparación con las células HaCaT en hipoxia. Además, las células HaCaT E5/E6/E7-VPH18 presentaron mayor daño genético medido por la intensidad de fluorescencia γ H2Ax, y por el ensayo cometa, en hipoxia en comparación con normoxia. Finalmente, observamos diferencias morfológicas nucleares, y una mayor compactación de la cromatina en ambas líneas celulares, en hipoxia, en relación a normoxia.

Conclusiones. Nuestros resultados sugieren que los oncogenes E5/E6/E7 del VPH-18 cooperan con un microambiente alterado, promoviendo estrés oxidativo, daño genético y alteraciones morfológicas que podrían facilitar la transformación maligna.

Palabras clave: Hipoxia, VPH-18, daño, ADN.

Facultad de Odontología, Universidad de la República.

Autor de correspondencia: jimehoc@gmail.com