

Ensayos de citotoxicidad *in vitro*: Comparación de MTT y cristal violeta en dos líneas celulares expuestas al extracto de *Ipomoea carnea*

García D.C^{1*}, Gómez T.Y^{1,2}, Morales C; *Pistán M.E,*Cholich L

¹Laboratorio de Toxicología anexo a la Cátedra de Farmacología y Toxicología, FCV- UNNE. Sargento Cabral 2139.

*camilaga79@gmail.com

Introducción

Los ensayos de citotoxicidad se utilizan ampliamente en los estudios toxicológicos

in vitro. La planta *I. carnea* (Fig. 1) contiene swainsonina y calisteginas, ambos son alcaloides responsables de producir una enfermedad de almacenamiento lisosomal (EAL) de origen adquirido en rumiantes principalmente. El objetivo de este trabajo fue comparar dos ensayos de citotoxicidad y evaluar la sensibilidad de dos líneas celulares (glía y epitelial) expuestas al extracto alcaloidal de *I. carnea*.

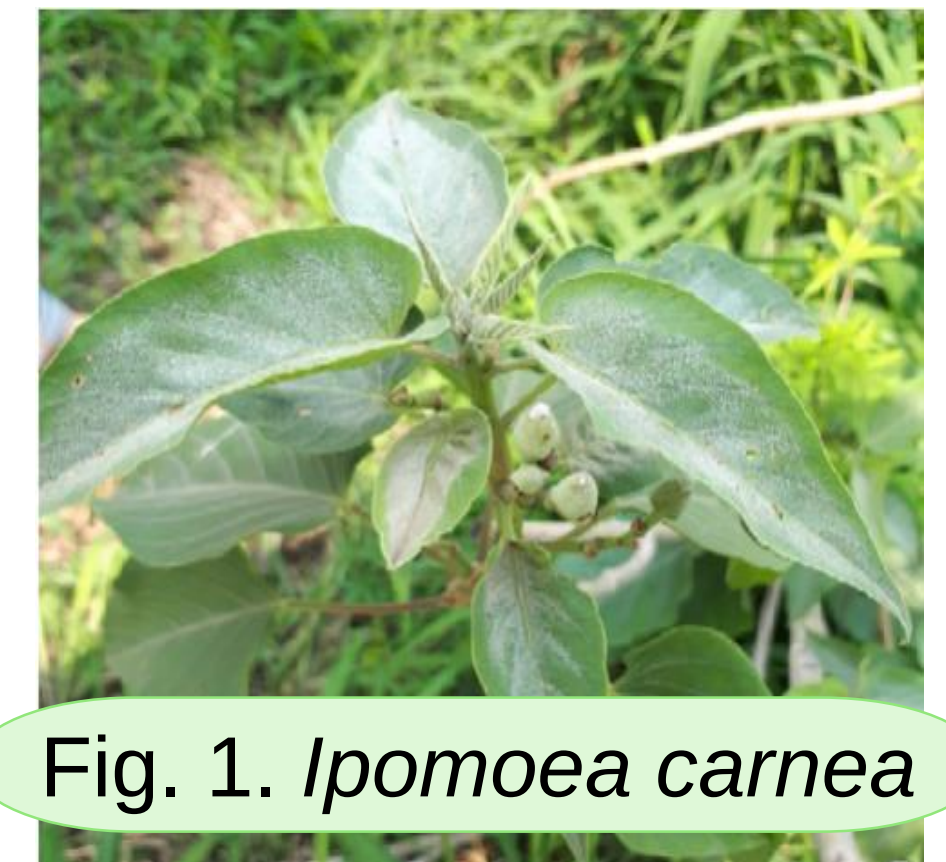


Fig. 1. *Ipomoea carnea*

Metodología

- Material vegetal: hojas de *I. carnea* (Fig. 1).
- Preparación del extracto de *I. carnea* a partir de las hojas mediante la técnica de Hueza et al., 2003.

- Ensayos de citotoxicidad: glioma C6 (ATCC:CCL-107TM) y epitelial mamaria LM3 (RRID:CVCL-D269). DMEM-SFB 10%. 100-400 μ M de SW presente en el extracto de *I. carnea*. 48h a 37°C y 5% de CO₂.
- La viabilidad fue determinada : ensayo del colorante cristal violeta (CV) y MTT (Fig 2 y 3).

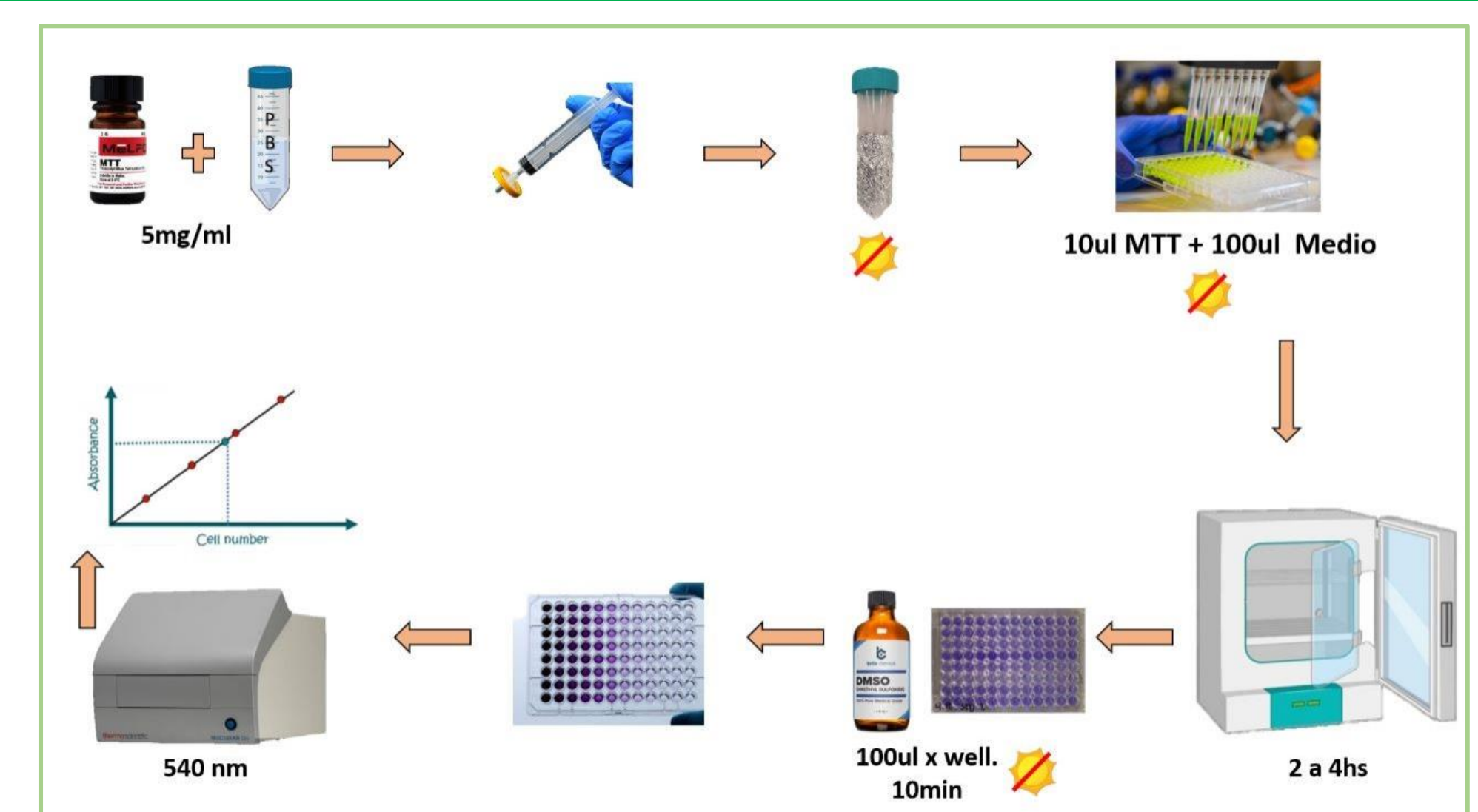


Fig. 2. MTT

Resultados

Las células de las líneas C6 y LM3 evidenciaron a partir de ambos ensayos un efecto citotóxico dosis dependiente, siendo estadísticamente significativo con respecto al control ($p \leq 0,05$). La disminución de la viabilidad fue más evidente en las células de la línea LM3 con respecto a C6 a la concentración más alta ensayada (MTT: 12% vs 47% y CV: 21% vs 40% respectivamente). Ambos ensayos reflejaron similares resultados, no siendo estadísticamente significativos ($p \leq 0,05$). (Fig. 4 A, B y C).

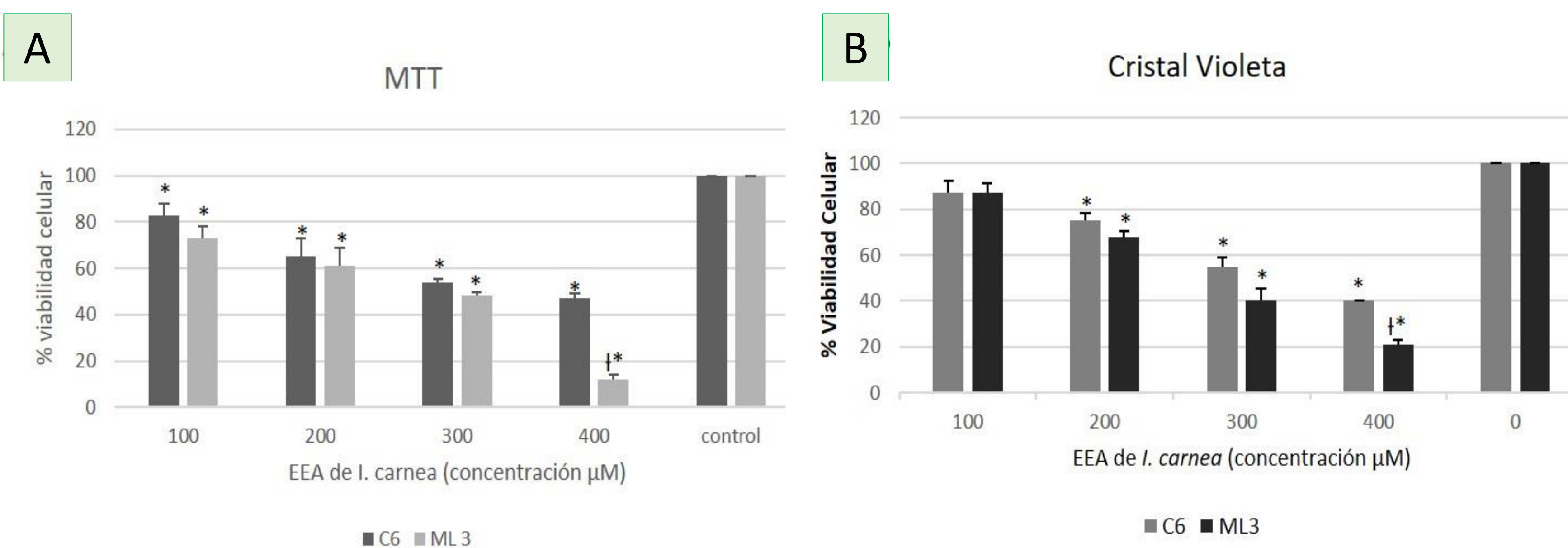


Fig. 4. Disminución de la viabilidad celular de C6 y LM3 luego de 48 hs. de incubación con los extractos vegetales (100-400 μ M). Ensayo de MTT (A) y captación con el colorante cristal violeta (B). Los valores (media $\pm$ DS) son representativos de 3 experimentos independientes. * $p < 0.05$ diferencias comparadas con el Control † $p < 0.05$ diferencias entre las líneas celulares.

(C) Microscopía de contraste de fases (40X). Células de control y células expuestas a 300 μ M de SW, muestra irregularidad en la forma y desprendimiento celular desde la superficie del pocillo.

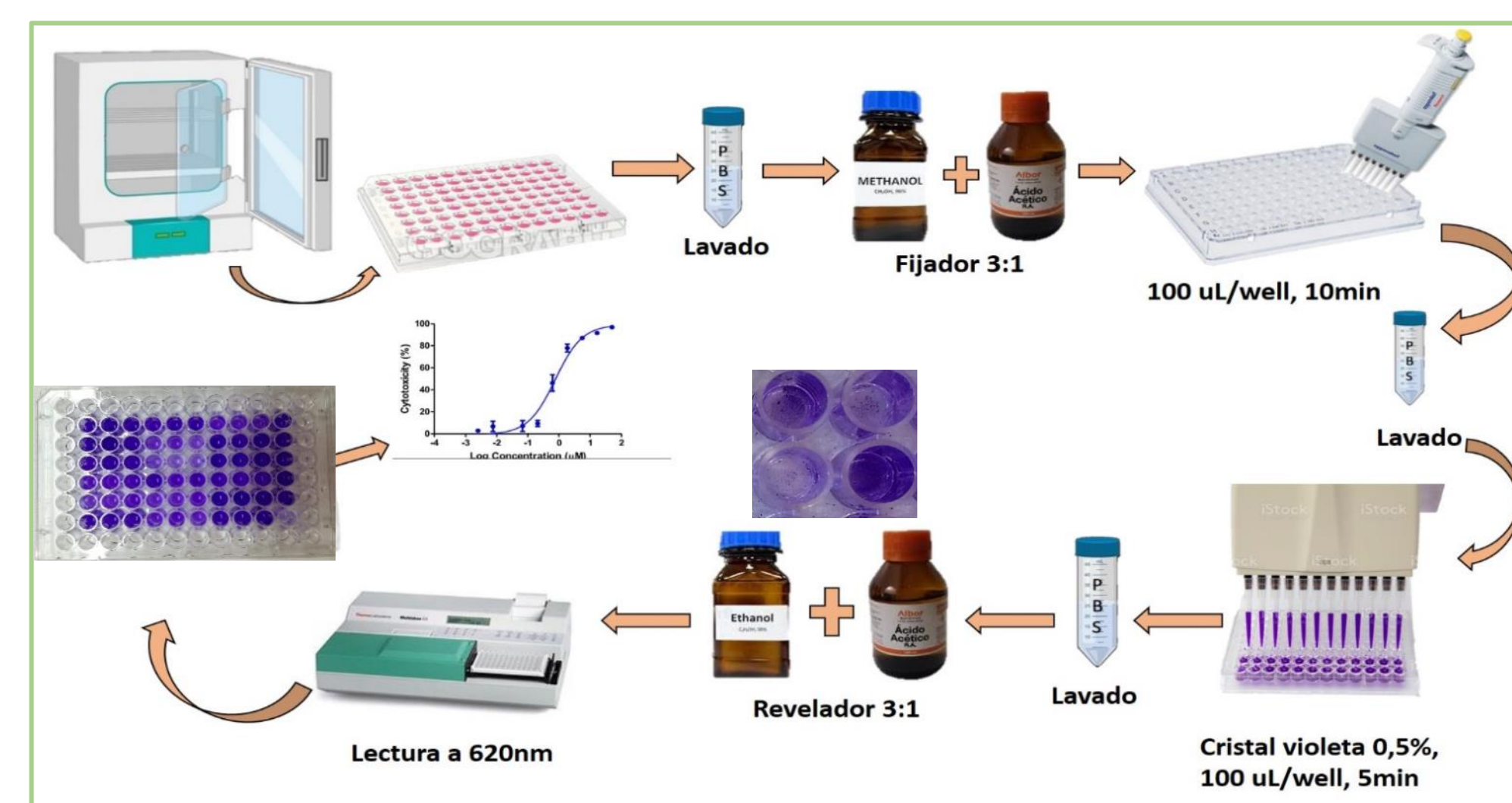
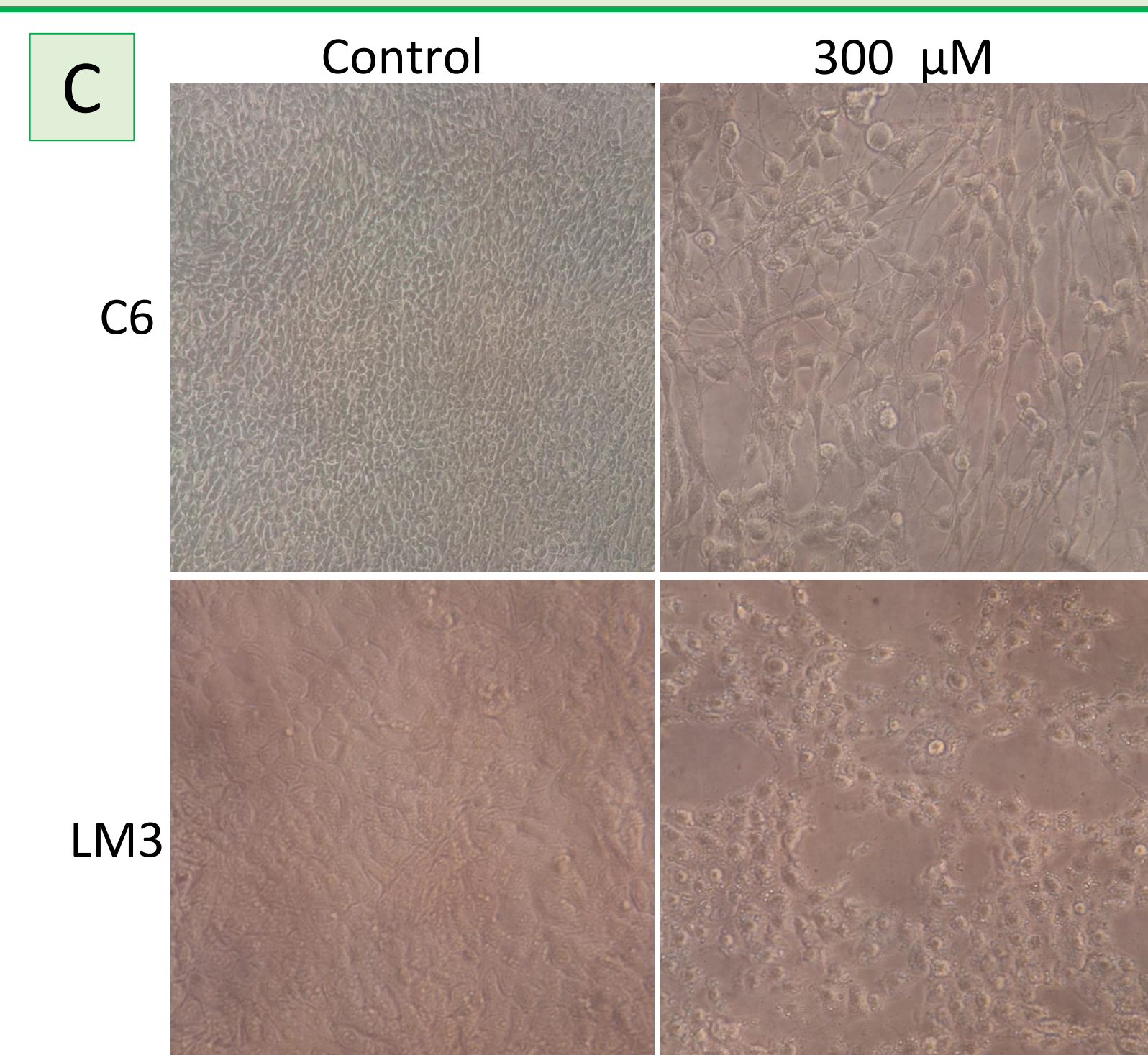


Fig. 3. Cristal Violeta



Conclusiones

A partir del análisis se sugiere que las células gliales podrían ser menos susceptibles que las células epiteliales a los efectos de los alcaloides presentes en *I. carnea*. A pesar de que ambas técnicas de citotoxicidad no arrojaron diferencias, es conveniente utilizarlas para aumentar la fiabilidad de los resultados obtenidos.

BIBLIOGRAFÍA

