VOLUMEN 48
XXXI Verano De la Ciencia
ISSN 2395-9797
www.jovenesenlaciencia.ugto.mx

Evaluación del efecto de antioxidantes en la exposición a metales pesados en *S. Cerevisiae.*

Evaluation of the Effects of Antioxidants on Heavy Metal-Induced Toxicity in *Saccharomyces cerevisiae*

Ana Valeria Ramírez García[1]; Michelle Romero Hernández[1]; Missael Antonio Arroyo Negrete[1]; Eunice Yáñez Barrientos[1]
[1]Departamento de Química, División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato. Cerro de la Venada s/n, Col. Pueblito de Rocha, CP 36040. Guanajuato, Gto., México. avramirezgarcia@ugto.mx

Resumen

La contaminación ambiental por metales pesados representa uno de los principales problemas de salud pública y ecológica a nivel global, por la generación de estrés oxidativo celular mediante la sobreproducción de especies reactivas de oxígeno (ROS), comprometiendo la viabilidad y el metabolismo de los organismos expuestos. En este contexto, los antioxidantes de baja masa molecular de origen vegetal, como los flavonoides y los ácidos fenólicos, representan una estrategia prometedora para mitigar el daño oxidativo inducido por metales. El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar el efecto de la quercetina (10 µM) y el ácido gálico (5 µM) frente a la exposición a Cd (II) (0.025 y 0.05 mM) y Pb (II) (0.025 y 0.05 mM) en cultivos de *Saccharomyces cerevisiae*, con el fin de contribuir a la comprensión de los mecanismos antioxidantes de estos compuestos. El estudio se llevó a cabo en cultivos de *S. cerevisiae* crecidos en medio YPD líquido (30 °C, 200 rpm), inoculados a una densidad óptica inicial de 0.1 (DO_{600}). Los metales se adicionaron al medio de cultivo a partir de sales de acetato de cadmio y acetato de plomo. Para evaluar el efecto de los tratamientos se determinaron el consumo de azúcares reductores mediante el método colorimétrico del ácido 3,5-dinitrosalicílico, la capacidad antioxidante total mediante el ensayo de decoloración del radical $ABTS^{\bullet+}$ y la viabilidad celular mediante el método de gota en placa con diluciones seriadas, todos evaluados a los tiempos 0, 3 y 6 h de exposición.

Los resultados indicaron que la exposición a Pb(II) en ambas concentraciones no afectó significativamente el crecimiento celular ni el consumo de azúcares respecto al control. Por otro lado, Cd(II) mostró un efecto inhibitorio dosis-dependiente sobre el metabolismo y el crecimiento de *S. cerevisiae*, siendo más significativo a 0.05 mM. En cuanto al efecto de los antioxidantes, la quercetina (10 µM) incrementó significativamente la capacidad antioxidante tanto a 0.025 mM de Cd(II) (0.749 ± 0.054 vs. 0.518 ± 0.096 mol L^{-1}/DO_{600}) como a 0.05 mM (0.849 ± 0.058 vs. 0.695 ± 0.024 mol L^{-1}/DO_{600}). Adicionalmente, la quercetina con 0.025 mM de Cd(II) favoreció una recuperación parcial del consumo de azúcares, sugiriendo un efecto protector sobre la actividad metabólica. En contraste, el ácido gálico (5 µM) no modificó significativamente la capacidad antioxidante ni el consumo de azúcares en ninguna de las condiciones de exposición evaluadas. Estos resultados demuestran que la respuesta protectora frente al posible estrés provocado por Cd(II) en *S. cerevisiae* depende del tipo de antioxidante y de la concentración del metal, y sugieren que la quercetina actúa como modulador de la respuesta antioxidante endógena de la levadura, mientras que el ácido gálico, a la concentración ensayada, resultó insuficiente para ejercer un efecto protector detectable.

Palabras clave: *Saccharomyces cerevisiae*; cadmio (II); plomo (II); quercetina; ácido gálico; estrés oxidativo; capacidad antioxidante; metales pesados.

Introducción

Los metales pesados y metaloides constituyen un grupo de contaminantes ambientales de elevada toxicidad que, en virtud de sus propiedades fisicoquímicas, tienden a acumularse en los organismos vivos y a persistir en los ecosistemas durante períodos prolongados (Bhavya et al., 2022; Korotkov, 2023). Entre los más frecuentemente estudiados por sus efectos adversos en sistemas biológicos se encuentran cadmio (Cd^{2+}),

cobre (Cu^{2+}), plomo (Pb^{2+}), cromo (Cr^{6+}), arsénico (As^{3+}) y mercurio (Hg^{2+}), cuya toxicidad deriva de mecanismos múltiples, entre los que destaca su capacidad para inducir desequilibrios en el estado redox celular (Bhavya et al., 2022; Wysocki & Tamás, 2010). Independientemente de su potencial redox intrínseco, tanto los metales redox-activos como los redox-inactivos promueven la sobreproducción de especies reactivas de oxígeno (ROS, del inglés *Reactive Oxygen Species*), fenómeno central en la patofisiología de la toxicidad por metales pesados (Wysocki & Tamás, 2010). Las ROS comprenden un conjunto de moléculas altamente reactivas derivadas del metabolismo del oxígeno molecular, entre las que se incluyen el radical superóxido ($O^{2\bullet-}$), el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y el radical hidroxilo ($HO^{\bullet}$), este último de particular peligrosidad por su elevada reactividad con macromoléculas biológicas. Cuando la tasa de generación de ROS supera la capacidad de los sistemas antioxidantes celulares, se establece una condición de estrés oxidativo, que conlleva daño oxidativo a proteínas —evidenciado por la formación de grupos carbonilo—, lipoperoxidación de membranas y lesión del ADN, con consecuencias deletéreas sobre la viabilidad y funcionalidad celular (Li et al., 2021; Sies et al., 2022). En este contexto, las mitocondrias desempeñan un papel central: constituyen tanto la principal fuente de ROS a través de la cadena de transporte de electrones, como un blanco prioritario del daño oxidativo inducido por metales. La alteración de la homeostasis mitocondrial se manifiesta mediante la apertura del poro de transición de permeabilidad mitocondrial (mPTP), la disminución del potencial de membrana interna ($\Delta\Psi m$), la liberación de citocromo *c* al citoplasma y la activación de cascadas apoptóticas dependientes de caspasas (Korotkov, 2023).

Frente a este escenario, la búsqueda de compuestos capaces de mitigar el estrés oxidativo inducido por metales ha cobrado notable relevancia en la investigación bioquímica y toxicológica. Los antioxidantes de baja masa molecular (BMM), que incluyen el glutatión (GSH), el ácido ascórbico, los tocoferoles y, en particular, los compuestos fenólicos de origen vegetal como los flavonoides, han demostrado capacidad para neutralizar ROS de forma directa, quelar iones metálicos prooxidantes y modular la expresión de genes implicados en la respuesta antioxidante (Jomova et al., 2024; Ruta & Farcasanu, 2020). Los flavonoides —un grupo de polifenoles estructuralmente caracterizados por un esqueleto de difenilpropano (C_6-C_3-C_6)— exhiben propiedades antioxidantes dependientes de su grado de hidroxilación, lo cual determina tanto su reactividad frente a radicales libres como su afinidad quelante por iones divalentes como Cu^{2+}, Cd^{2+} y Zn^{2+} (Ruta & Farcasanu, 2020). Adicionalmente, evidencia reciente sugiere que estos compuestos pueden ejercer efectos prooxidantes a concentraciones subletales, generando cantidades mínimas de H_2O_2 intracelular capaces de activar reguladores transcripcionales de la respuesta adaptativa al estrés (Bayliak et al., 2016).

Saccharomyces cerevisiae constituye uno de los sistemas modelo eucariotas más ampliamente empleados en biología celular y toxicología experimental para el estudio de la respuesta al estrés oxidativo inducido por metales pesados (Dani et al., 2008; Vilaça et al., 2012). Su genoma completamente secuenciado, la disponibilidad de colecciones de mutantes de deleción génica y la conservación evolutiva de los principales mecanismos de regulación oxidativa —incluyendo los factores de transcripción Yap1p y Msn2/Msn4p, homólogos funcionales de Nrf2 en células de mamífero— hacen de este organismo una herramienta de gran poder analítico para estudiar los mecanismos de acción de antioxidantes BMM (Vilaça et al., 2012). Estudios previos han demostrado que flavonoides como la quercetina, la catequina y el resveratrol ejercen efectos citoprotectores frente a la toxicidad de Cu^{2+}, Cd^{2+} y otros metales en levaduras, tanto mediante la neutralización directa de ROS como a través de la activación de rutas de señalización vinculadas a la biosíntesis de trehalosa, la integridad de la pared celular y la regulación del balance tiol-disulfuro intracelular (Assalve et al., 2024; Bayliak et al., 2016; Dani et al., 2008). El conjunto de estos hallazgos fundamenta el empleo de *S. cerevisiae* como plataforma experimental idónea para evaluar la eficacia y los mecanismos de acción de antioxidantes BMM en condiciones de toxicidad por metales pesados, con proyección hacia aplicaciones en biotecnología ambiental y salud. Por lo anterior es que, este trabajo tuvo como objetivo estudiar los efectos de la quercetina y el ácido gálico frente a la exposición a Cd^{2+} y Pb^{2+} en cultivos de *S. cerevisiae* y contribuir en la comprensión de los mecanismos antioxidantes de estos compuestos y evaluar sus posibles funciones protectoras frente al daño oxidativo.

Objetivo

Evaluar el efecto de la quercetina y el ácido gálico sobre la respuesta antioxidante, el crecimiento celular y el metabolismo de Saccharomyces cerevisiae expuesta a cadmio (II) y plomo (II), con el fin de determinar su posible papel protector frente al estrés oxidativo inducido por metales pesados.

Metodología

Crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae*

Se seleccionó una colonia aislada de *Saccharomyces cerevisiae*, y se incubó en medio líquido YPD a 30 °C y 200 rpm, después de 24 horas, se realizó una dilución del cultivo de levadura para medir la densidad óptica a 600 nm (OD_{600}) con el fin de obtener un inóculo con una densidad óptica de 0.1.

Preparación de medio experimental

Se prepararon medios líquidos YPD (extracto de levadura 0.2 g L^{-1}, peptona 20 g L^{-1}, dextrosa 10 g L^{-1}) con 0.025 mM y 0.05 mM de cadmio (II) y plomo (II), utilizando como fuente la sal de acetato de cadmio $Cd(CH_3COO)_2$ y la sal de acetato de plomo $Pb(CH_3COO)_2{\cdot}3H_2O$, respectivamente. Adicionalmente, se prepararon los medios líquidos YPD con 5 µM de ácido gálico y10 µM de quercetina. Las soluciones stock se esterilizaron mediante filtración con membranas de PTFE de 0.22 µm.

Determinación de azúcares reductores por el método DNS

El consumo de azúcares reductores durante la exposición de *S. cerevisiae* a los metales y los compuestos antioxidantes se evaluó mediante la reacción colorimétrica del complejo redox del ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS). Se tomaron alícuotas del medio de cultivo en los tiempos de 0, 1, 3, 6 y 24 h y se centrifugaron para eliminar las células de levadura disueltas.

La reacción colorimétrica redox se llevó a cabo mezclando la muestra y el reactivo DNS en una relación 1:3 (v/v). La mezcla se calentó a 97 °C durante 15 min para favorecer la reducción del DNS por los grupos aldehídos y las cetonas de la glucosa; posteriormente, se ajustó el volumen final con agua desionizada. La absorbancia del producto de color rojo-anaranjado (ácido 3-amino-5-nitrosalicílico) se midió por espectrofotometría UV-Visible a 540 nm, en un rango lineal con intervalo de concentración de 0.2 a 5 g L^{-1}. La cuantificación se realizó mediante una curva de calibración externa en el mismo medio de cultivo (YPD sin glucosa) para minimizar efectos de matriz. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado (n = 3), y los resultados se expresaron como g L^{-1} de azúcares reductores totales.

Determinación de la capacidad antioxidante por el método ABTS

Para evaluar la capacidad antioxidante durante la exposición a los metales y los compuestos antioxidantes, se aplicó el método ABTS, el cual se basa en la cuantificación de la decoloración del radical ABTS debido a su reducción por acción antioxidante. El radical ABTS es un cromóforo verde azulado que absorbe a una longitud de onda de 734 nm y se genera mediante una reacción de oxidación de ABTS (2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolín-6-sulfonato) de amonio) con persulfato de potasio. El grado de decoloración del radical, y por tanto de inhibición, está determinado en función de la concentración antioxidante.

La solución de ABTS con persulfato de potasio se preparó en agua desionizada y se incubó durante 16 h en oscuridad a 4ºC, pasado el tiempo de incubación se ajustó la absorbancia a 0.7. Para el análisis de la reacción colorimétrica se realizó una dilución del medio de crecimiento con buffer de fosfatos 0.1 M (pH 7.4), y se hizo reaccionar con la solución de ABTS. Se midió la absorbancia de la reacción a una longitud de onda de 734 nm a los 8 min de incubación en oscuridad a temperatura ambiente, utilizando un espectrofotómetro UV-Vis. La cuantificación se realizó mediante una curva de calibración externa de siete puntos en el medio de cultivo para minimizar efectos de matriz, en un intervalo de concentración de 0.5 a 4.8 mM. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado (n = 3), y los resultados se expresaron en mol L^{-1} de capacidad antioxidante.

Método de gota en placa

Para la preparación del inóculo, ajustó la densidad óptica a 0.1 DO (equivalente a 10^{-1}) de la levadura crecida en medio líquido YPD a 30 °C y 200 rpm, durante 24 horas, utilizando un espectrofotómetro UV-Vis a una longitud de onda de 600 nm. A partir de esta suspensión se prepararon diluciones en serie 1:10 hasta 10^{-4} con buffer PBS 1× estéril. De cada dilución se sembraron 4 µL en placas Petri. Las placas se inocularon de manera ordenada, iniciando por la dilución más baja (10^{-4}) en el extremo derecho, avanzando hacia la dilución más concentrada, las placas se incubaron invertidas durante 48 h a 30 °C. Se adquirieron imágenes del crecimiento a las 48 h para un análisis cualitativo del crecimiento.

VOLUMEN 48
XXXI Verano De la Ciencia
ISSN 2395-9797
www.jovenesenlaciencia.ugto.mx

Resultados

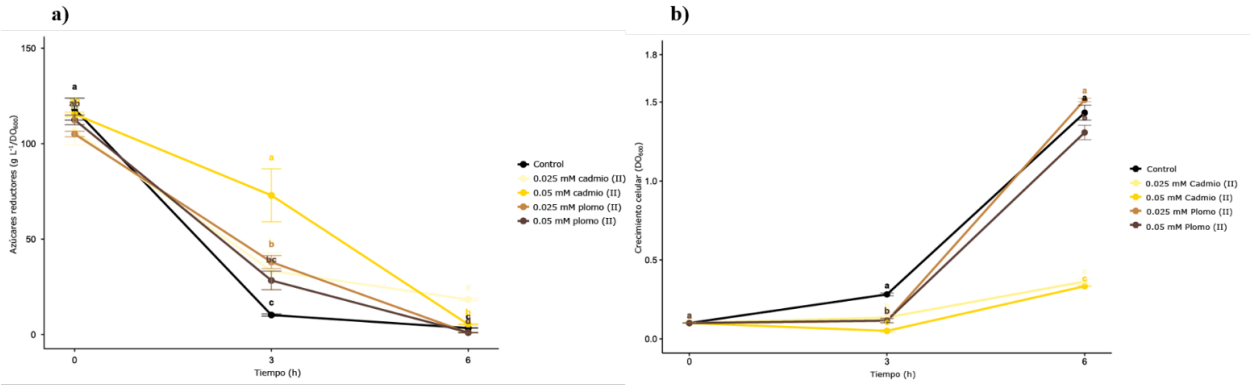


Figura 1. Efecto de 0.025 y 0.05 mM de cadmio (II) y plomo (II) sobre el crecimiento de S. cerevisiae durante 6 h de incubación en medio YPD con baja disponibilidad de nutrientes. a) Consumo de azúcares reductores normalizada con el crecimiento celular (g L-1/DO600) y b) crecimiento celular (DO600) en función del tiempo (0, 3 y 6 h). Los datos representan la media ± desviación estándar (n = 3). Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos (p < 0.05).

La Figura 1a muestra la disminución de la concentración de azúcares reductores normalizada con el crecimiento celular, mientras que la Figura 1b presenta el crecimiento celular (OD_{600}) de *S. cerevisiae* durante las primeras 6 h de exposición a 0.025 y 0.05 mM de cadmio (II) y plomo (II). En general, ambos metales modificaron el consumo de azúcares y el crecimiento celular; sin embargo, el efecto es más evidente en los tratamientos con cadmio (II).

A las 3 h, la condición con 0.05 mM de cadmio (II) presentó la mayor concentración de azucares reductores normalizados (72.93± 13.88), significativamente superior a la observada en los tratamientos con 0.025 mM de cadmio (II) (33.31 ± 9.46), 0.025 mM de plomo (II) (37.97 ± 3.38), y 0.05 mM de plomo (II) (28.32 ± 4.90). Este comportamiento coincidió con un menor crecimiento celular, lo que sugiere que la exposición a 0.05 mM de cadmio (II) afecta la utilización de los nutrientes disponibles en el medio durante las primeras horas de exposición.

A las 6 h, los tratamientos con plomo (II) presentaron las menores concentraciones de azúcares reductores normalizados en el medio (0.93 ± 0.05 y 1.08 ± 0.08 para 0.025 y 0.05 mM, respectivamente), sin diferencias significativas entre ellos y el control. En cuanto a las condiciones con cadmio (II) la condición con 0.025 mM presentó la mayor concentración de azúcares reductores normalizados (18.31 ± 0.62), significativamente mayor a la condición con 0.05 mM de cadmio (II) (5.34± 0.26). En conjunto, estos resultados sugieren que *S. cerevisiae* mantuvo una mayor actividad metabólica en presencia de plomo (II) respecto al control, mientras que la exposición a cadmio (II), en especial la concentración de 0.05 mM, mostró un efecto inhibitorio sobre el metabolismo celular.

Debido a que las condiciones de exposición 0.025 y 0.05 mM de plomo (II) mostraron un crecimiento celular y una disminución de la concentración de azúcares similar al control, en los experimentos posteriores se decidió estudiar únicamente el efecto de la exposición de la levadura al cadmio (II); en conjunto, estos resultados sugieren que, la exposición a cadmio (II) tuvo un efecto inhibitorio en el metabolismo y el crecimiento celular de *S. cerevisiae*.

ISSN 2395-9797
www.jovenesenlaciencia.ugto.mx

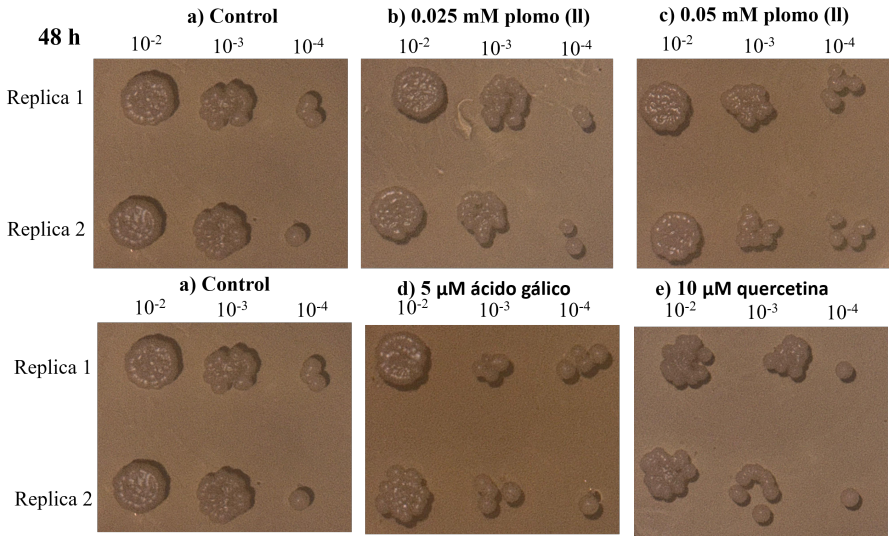


Figura 2. Crecimiento de Saccharomyces cerevisiae mediante el método de gota en placa en medio YPD sólido en la exposición a diferentes condiciones: a) control; b) 0.025 mM de plomo (II), c) 0.05 mM de plomo (II), y los tratamientos con d) 5 µM de ácido gálico y e)10 µM de quercetina. Se inocularon diluciones seriadas (10^{-2}, 10^{-3} y 10^{-4}, de izquierda a derecha). Las placas se incubaron durante 48 h a 30°C y cada condición se evaluó por duplicado.

Los resultados obtenidos mediante el experimento en placa corroboran las observaciones realizadas en los experimentos medio YPD líquido (Figuras 3 y 4). Para el control y las condiciones con 5 µM acido gálico y 10 µM de quercetina, presentaron un crecimiento similar en todas las diluciones evaluadas, indicando que ninguno de los antioxidantes afectó el crecimiento de *S. cerevisiae*. De manera similar, las condiciones expuestas a 0.025 mM y 0.05 mM de plomo (II) mostraron crecimiento visible en todas las diluciones evaluadas, consistente al control, lo indica que estas concentraciones de plomo no afectaron el crecimiento de *S. cerevisiae.* Esto coincide con el crecimiento observado en medio liquido (Figura 1) donde las condiciones con plomo (II), en ambas concentraciones, no mostraron una disminución observable en el crecimiento celular, ni en el consumo de azúcares reductores.

Por otro lado, las condiciones a cadmio (II), tanto en ausencia y presencia de compuestos antioxidantes (5µ M ácido gálico y 10µM quercetina), no presentaron crecimiento de colonias en las placas. Esto sugiere que la exposición al cadmio (II) comprometió el crecimiento de *S. cerevisiae* en medio YPD sólido, sin embargo, el crecimiento de la levadura en medio YPD líquido con 10µM de quercetina y 0.025 mM de cadmio (II) se observó una recuperación parcial en el metabolismo. En conjunto estos resultados confirman la mayor toxicidad de cadmio (II) respecto al plomo (II) sobre *S. cerevisiae*, y sugieren que, aunque la quercetina mostro un efecto protector en el experimento con 0.025 mM de cadmio, el efecto podría no ser suficiente para recuperar el crecimiento de la levadura en medio YPD sólido; también, el crecimiento observado únicamente con los compuestos antioxidantes indica que no presentan un efecto tóxico sobre *S. cerevisiae*.

VOLUMEN 48
XXXI Verano De la Ciencia
ISSN 2395-9797
www.jovenesenlaciencia.ugto.mx

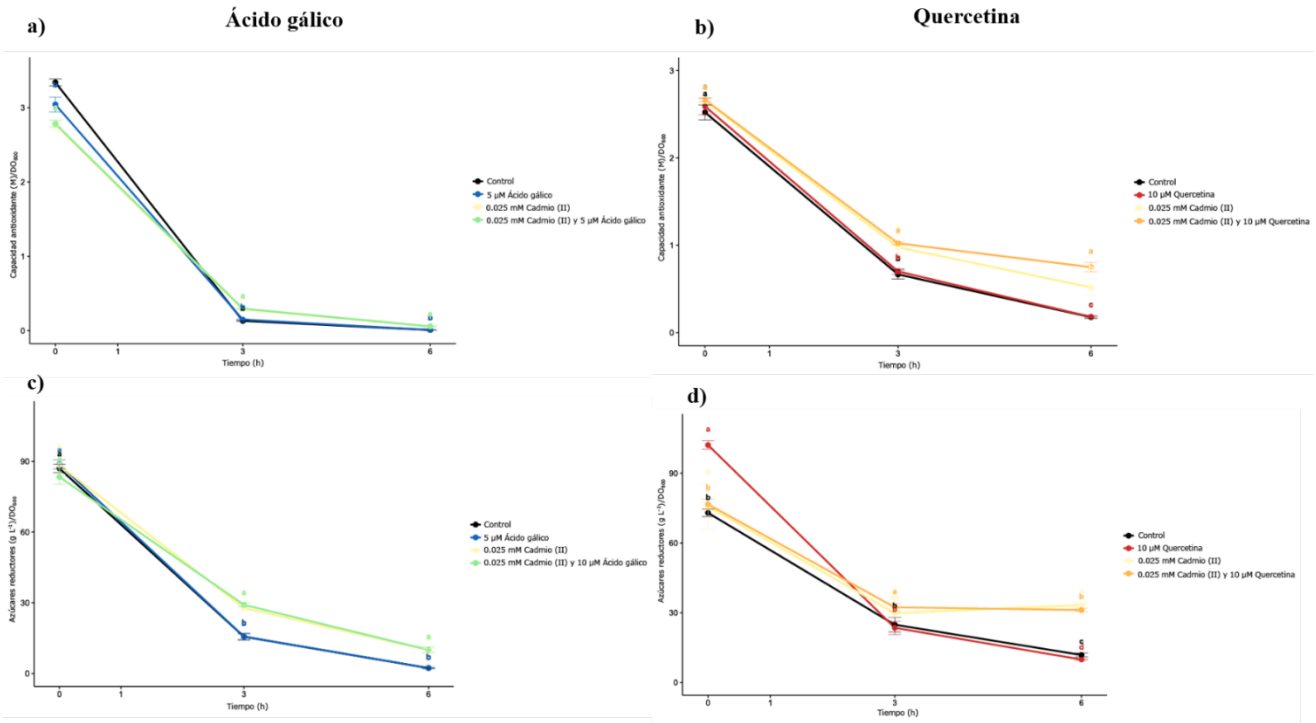


Figura 3. Efecto de 5 µM ácido gálico y 10 µM quercetina al estrés por 0.025 mM de cadmio (II) sobre S. cerevisiae en medio YPD a) capacidad antioxidante normalizada (mol L-1/DO600) con ácido gálico y b) con quercetina; c) azúcares reductores normalizada (g L-1/DO600) con ácido gálico y d) con quercetina, evaluados a las 0, 3 y 6 h. Los datos representan la media ± desviación estándar (n = 3). Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos (p < 0.05).

En la Figura 3a y 3b, se muestra la capacidad antioxidante normalizada (mol L^{-1}/DO_{600}), y la Figura 3c y 3d muestran la concentración de azúcares reductores normalizada (g L^{-1}/DO_{600}) durante las primeras 6 h de exposición de *S. cerevisiae* a 0.025 mM de cadmio (II) en presencia de 5 µM de ácido gálico o 10 µM de quercetina.

En general, se observa que la concentración de compuestos antioxidantes disminuyó progresivamente a lo largo del tiempo de exposición, lo que podría sugerir el consumo de compuestos antioxidantes del medio, pero a pesar de esta disminución, los valores en la condición de exposición a cadmio (II) se mantuvieron superiores a los del control durante todo el período de crecimiento, indicando posiblemente que el estrés continuó estimulando la producción de compuestos antioxidantes por las levaduras.

En la figura 3a y 3b se muestra la determinación de la capacidad antioxidante normalizada de las levaduras durante un periodo total de exposición de 6 h, la condición de exposición a 5 µM ácido gálico y 0.025 mM de cadmio (II) (0.0570±0.00396) y la condición de crecimiento únicamente con 0.025 mM de cadmio (II) (0.05550±0.00441) no mostró diferencias significativas respecto al resto de las condiciones evaluadas durante el tiempo de exposición. En cambio, la condición de 0.025 mM de cadmio (II) con 10 µM de quercetina presentó una capacidad antioxidante significativamente mayor (0.7491±0.0543) que la exposición únicamente con cadmio (II) (0.5175±0.0961), lo que sugiere que la quercetina incrementó la respuesta antioxidante de la levadura durante la exposición al metal.

En cuanto a la determinación de concentración de azúcares reductores normalizados, la condición de exposición con ácido gálico y cadmio (II) (10.01±1.24) tampoco mostró diferencias significativas respecto al cadmio (II) solo (10.00±0.538) en ninguno de los tiempos evaluados. Por su parte, la quercetina con cadmio (II) disminuyó significativamente la concentración de azúcares reductores a las 6 h (31.15±0.724) con respecto a únicamente el cadmio (II) (33.32±0.782), lo que indica una menor utilización de los azúcares disponibles en el medio y sugiere un efecto protector parcial de la actividad metabólica de *S. cerevisiae* al exponerse a 0.025 mM de cadmio y 10 µM de quercetina.

En conjunto, estos resultados indican que, a una concentración de 0.025 mM de cadmio (II) y 5 µM de ácido gálico no modificó significativamente la respuesta antioxidante ni el consumo de azúcares de *S. cerevisiae*. En cambio, 10 µM de quercetina con 0.025 mM de cadmio (II), incrementó la capacidad antioxidante y

aumento el consumo de azúcares reductores en las 6 h de exposición, lo que sugiere un efecto protector parcial de 10 µM de quercetina al estrés inducido por 0.025 mM de cadmio (II).

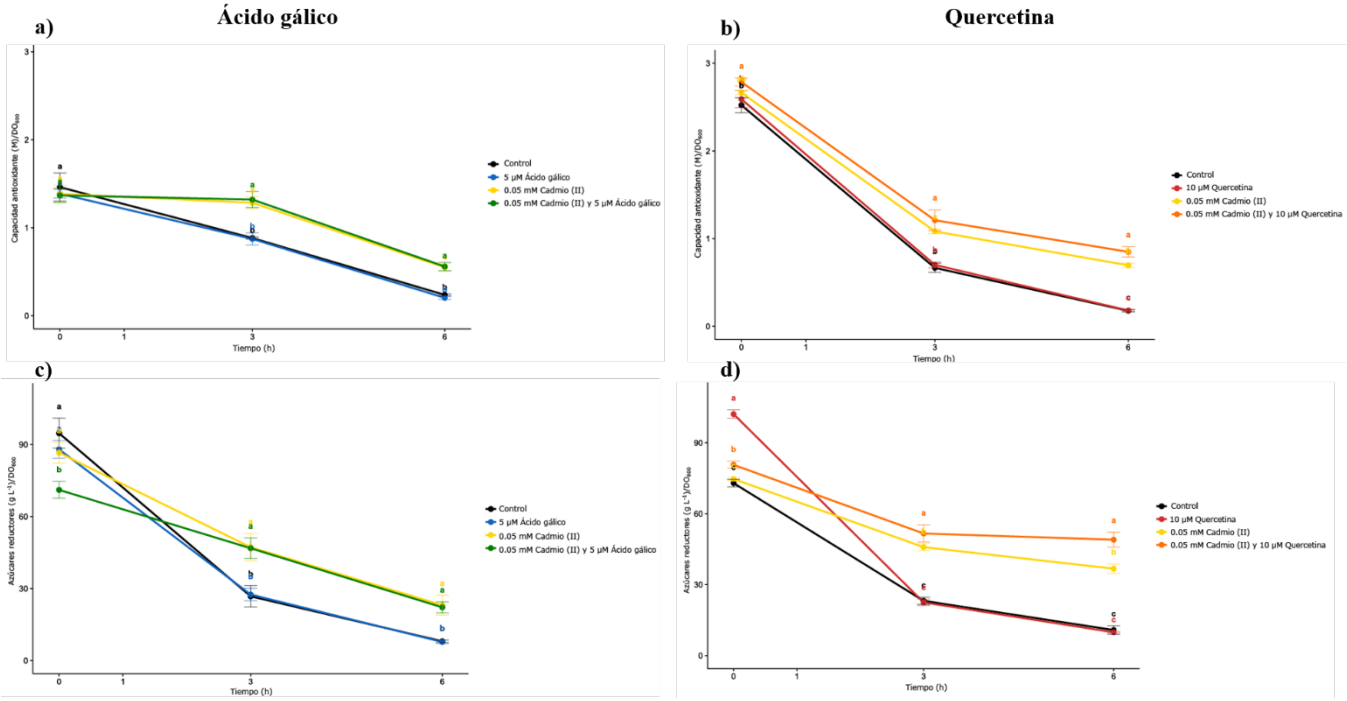


Figura 4. Efecto de 5 µM ácido gálico y 10 µM quercetina al estrés por 0.05 mM de cadmio (II) sobre S. cerevisiae en medio líquido YPD a) capacidad antioxidante normalizada (mol L-1/DO600) con ácido gálico y b) con quercetina; c) azúcares reductores normalizada (g L-1/DO600) con 5µM de ácido gálico y d) con 10 µM de quercetina, evaluados a las 0, 3 y 6 h. Los datos representan la media ± desviación estándar (n = 3). Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos (p < 0.05).

La Figura 4a y 4b presentan la capacidad antioxidante normalizada (mol L^{-1}/OD_{600}) y la Figura 4c y 4d muestran la concentración de azúcares reductores normalizada (g L^{-1}/ OD600) con el crecimiento celular durante las primeras 6 h de exposición de *S. cerevisiae* a 0.05 mM de cadmio (II) en presencia de 5 µM de ácido gálico o 10 µM de quercetina. En general, se observa que la quercetina modificó la respuesta de la levadura frente al cadmio (II) en la capacidad antioxidante y el consumo de azúcares reductores normalizados.

A las 6 h de exposición, la mayor capacidad antioxidante normalizada (Figura 4a y 4b) se observó en la condición con 0.05 mM de cadmio (II) con quercetina, siendo significativamente mayor (0.8491±0.0581) que la condición únicamente con cadmio (II) (0.6952±0.0239). Este resultado sugiere que la quercetina con el metal incrementó la concentración de compuestos antioxidantes sintetizados por la levadura, asociado al estrés generado por la exposición a 0.05 mM de cadmio (II). En contraste, a las 6 h de exposición a cadmio (II) con ácido gálico no mostró diferencias significativas respecto a la condición únicamente con cadmio (II) (0.559 ± 0.048 y 0.550 ± 0.044, respectivamente).

Con relación a la concentración de azúcares reductores normalizada (Figura 4c y 4d), a las 6 h el tratamiento con quercetina y cadmio (II) presentó valores significativamente mayores (49.01±3.11) que la condición de exposición únicamente al cadmio (II) (36.77±1.96), esto indica una menor utilización de los azúcares disponibles en el medio durante el periodo de exposición a cadmio y el compuesto antioxidante. Por su parte, la condición de exposición de ácido gálico con cadmio no mostró diferencias significativas (22.18± 2.32) respecto a crecimiento de la levadura con 0.05 mM de cadmio (23.07±4.16)

En conjunto, los resultados muestran que la 10 µM quercetina modificó la respuesta de *S. cerevisiae* al estrés por 0.05 mM de cadmio (II), incrementando la capacidad antioxidante, y disminuyendo el consumo de azúcares durante el tiempo de exposición, y sugiere una perdida parcial de la actividad metabólica de *S. cerevisiae*. Así la producción de compuestos antioxidantes fue mayor durante las etapas iniciales del crecimiento (0 y 3 h). Conforme transcurrió el tiempo de crecimiento, la capacidad antioxidante disminuyó, lo que sugiere que estos compuestos fueron consumidos por la levadura. Sin embargo, las condiciones de

estrés por la exposición a cadmio (II) indujeron una respuesta antioxidante superior a la observada en el control, lo que sugiere una posible producción de compuestos antioxidantes por la levadura para contrarrestar los efectos del metal. Estos resultados se relacionan con el consumo de azúcares reductores, ya que durante el crecimiento celular las levaduras requieren una mayor cantidad nutrientes para su crecimiento y para activar mecanismos de defensa frente al estrés. En consecuencia, a medida que aumenta la concentración de cadmio (II) se observa un menor consumo de azúcares y mayor concentración de compuestos antioxidantes normalizada con el crecimiento celular, lo que sugiere un cambio el metabolismo celular por el efecto tóxico del metal.

Conclusiones

En conjunto, los resultados obtenidos demuestran que la exposición a cadmio (II) modifica el metabolismo de *S. cerevisiae*, disminuyendo el consumo de azúcares reductores y el crecimiento celular, siendo más evidente la condición de exposición de 0.05 mM que a 0.025 mM. La adición de 10 µM de quercetina incrementó significativamente la capacidad antioxidante en la exposición con ambas concentraciones de cadmio (II) y, además, la exposición de 10 µM de quercetina con 0.025 mM de cadmio (II) aumentó significativamente el consumo de azúcares reductores respecto a la condición de exposición únicamente a cadmio (II), lo que sugiere un efecto protector parcial en la actividad metabólica de *S. cerevisiae,* por otro lado la exposición de 10 µM de quercetina con 0.05 mM de cadmio (II) disminuyó significativamente el consumo de azúcares reductores respecto a la condición de exposición a cadmio (II), sugiere un efecto de estrés en la actividad metabólica de *S. cerevisiae.*

En cambio, el ácido gálico a una concentración de 5 µM con ambas concentraciones de exposición a cadmio no produjo cambios significativos en la capacidad antioxidante ni en la determinación de azúcares reductores respecto la condición de exposición únicamente a cadmio (II). Estos resultados indican que la respuesta antioxidante de *S. cerevisiae* frente a la exposición por cadmio depende de la concentración del metal y del tipo de antioxidante.

Los resultados obtenidos son consistentes con lo reportado por (Bayliak et al., 2015), quienes observaron que la 10 µM de quercetina promueve la síntesis de compuestos antioxidantes de *Saccharomyces cerevisiae* y mejora su tolerancia al estrés oxidativo. Las concentraciones evaluadas de 0.025 y 0.05 mM de cadmio (II) concuerdan con estudios previos que indican que el cadmio induce estrés oxidativo y activa mecanismos de defensa antioxidante en *Saccharomyces cerevisiae(Wang et al., 2016)*. A bajas concentraciones, las levaduras incrementan su respuesta antioxidante para mantener el equilibrio redox(Zhao et al., 2021); sin embargo, conforme aumenta el tiempo de exposición, estos compuestos son consumidos y la capacidad antioxidante disminuye(Jin et al., 2008). Asimismo, se ha reportado que el incremento en la concentración de cadmio (II) afecta el crecimiento y el metabolismo celular debido a la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS)(Soares et al., 2003), lo que explica los resultados obtenidos en este trabajo en relación con los cambios observados en el consumo de azúcares y en la respuesta antioxidante en las condiciones de crecimiento evaluadas.

Como perspectiva, sería conveniente evaluar concentraciones más altas de ácido gálico, ya que la concentración utilizada en este trabajo podría no haber sido suficiente para ejercer un efecto protector significativo frente al estrés inducido por 0.025 y 0.05 mM de cadmio (II). Asimismo, se sugiere continuar con el estudio de la evaluación a de 10 µM de quercetina con 0.025 mM de cadmio (II) con el fin de evaluar el efecto protector del compuesto antioxidante al estrés generado por el metal.

Referencias

Assalve, G., Lunetti, P., Zara, V., & Ferramosca, A. (2024). In Vivo Antioxidant Activity of Common Dietary Flavonoids: Insights from the Yeast Model Saccharomyces cerevisiae. Antioxidants, 13(9), 1103. https://doi.org/10.3390/antiox13091103

Bayliak, M. M., Burdylyuk, N. I., & Lushchak, V. I. (2015). Quercetin increases stress resistance in the yeast Saccharomyces cerevisiae not only as an antioxidant. Annals of Microbiology 2015 66:2, 66(2), 569–576. https://doi.org/10.1007/S13213-015-1136-8

Bayliak, M. M., Burdylyuk, N. I., & Lushchak, V. I. (2016). Quercetin increases stress resistance in the yeast Saccharomyces cerevisiae not only as an antioxidant. Annals of Microbiology, 66(2), 569–576. https://doi.org/10.1007/s13213-015-1136-8

Bhavya, G., Hiremath, K. Y., Jogaiah, S., & Geetha, N. (2022). Heavy metal-induced oxidative stress and alteration in secretory proteins in yeast isolates. Archives of Microbiology, 204(3), 172. https://doi.org/10.1007/s00203-022-02756-6

Dani, C., Bonatto, D., Salvador, M., Pereira, M. D., Henriques, J. A. P., & Eleutherio, E. (2008). Antioxidant Protection of Resveratrol and Catechin in Saccharomyces cerevisiae. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 56(11), 4268–4272. https://doi.org/10.1021/jf800752s

Jin, X., Yang, X., Islam, E., Liu, D., & Mahmood, Q. (2008). Effects of cadmium on ultrastructure and antioxidative defense system in hyperaccumulator and non-hyperaccumulator ecotypes of Sedum alfredii Hance. Journal of Hazardous Materials, 156(1–3), 387–397. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.12.064

Jomova, K., Alomar, S. Y., Alwasel, S. H., Nepovimova, E., Kuca, K., & Valko, M. (2024). Several lines of antioxidant defense against oxidative stress: antioxidant enzymes, nanomaterials with multiple enzyme-mimicking activities, and low-molecular-weight antioxidants. Archives of Toxicology, 98(5), 1323–1367. https://doi.org/10.1007/s00204-024-03696-4

Korotkov, S. M. (2023). Mitochondrial Oxidative Stress Is the General Reason for Apoptosis Induced by Different-Valence Heavy Metals in Cells and Mitochondria. International Journal of Molecular Sciences, 24(19), 14459. https://doi.org/10.3390/ijms241914459

Li, D., Ding, Z., Du, K., Ye, X., & Cheng, S. (2021). Reactive Oxygen Species as a Link between Antioxidant Pathways and Autophagy. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2021(1). https://doi.org/10.1155/2021/5583215

Ruta, L. L., & Farcasanu, I. C. (2020). Interaction between Polyphenolic Antioxidants and Saccharomyces cerevisiae Cells Defective in Heavy Metal Transport across the Plasma Membrane. Biomolecules, 10(11), 1512. https://doi.org/10.3390/biom10111512

Sies, H., Belousov, V. V., Chandel, N. S., Davies, M. J., Jones, D. P., Mann, G. E., Murphy, M. P., Yamamoto, M., & Winterbourn, C. (2022). Defining roles of specific reactive oxygen species (ROS) in cell biology and physiology. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 23(7), 499–515. https://doi.org/10.1038/s41580-022-00456-z

Soares, E. V., Hebbelinck, K., & Soares, H. M. V. M. (2003). Toxic effects caused by heavy metals in the yeast Saccharomyces cerevisiae: a comparative study. Canadian Journal of Microbiology, 49(5), 336–343. https://doi.org/10.1139/W03-044

Vilaça, R., Mendes, V., Mendes, M. V., Carreto, L., Amorim, M. A., de Freitas, V., Moradas-Ferreira, P., Mateus, N., & Costa, V. (2012). Quercetin Protects Saccharomyces cerevisiae against Oxidative Stress by Inducing Trehalose Biosynthesis and the Cell Wall Integrity Pathway. PLoS ONE, 7(9), e45494. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0045494

Wang, X., Yi, M., Liu, H., Han, Y., & Yi, H. (2016). Reactive oxygen species and Ca2+ are involved in cadmium-induced cell killing in yeast cells. Https://Doi.Org/10.1139/Cjm-2016-0258, 63(2), 153–159. https://doi.org/10.1139/CJM-2016-0258

Wysocki, R., & Tamás, M. J. (2010). How Saccharomyces cerevisiae copes with toxic metals and metalloids. FEMS Microbiology Reviews, 34(6), 925–951. https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2010.00217.x

Zhao, Y., Su, R., Li, S., & Mao, Y. (2021). Mechanistic analysis of cadmium toxicity in Saccharomyces cerevisiae. FEMS Microbiology Letters, 368(15), 95. https://doi.org/10.1093/FEMSLE/FNAB095