

ALTERACIÓN DE LA FUNCIONALIDAD MITOCONDRIAL Y DE LOS SISTEMAS ENZIMÁTICOS ANTIOXIDANTES COMO RESPUESTA AL TRATAMIENTO POR ACETALDEHÍDO

Farfán Labonne, Blanca¹; Zentella Dehesa, Alejandro²; Kershenovich Stalnicowik, David³; Cortes Barberena, Edith⁴; Koninsberg Fainstein, Mina¹; Gutiérrez-Ruiz, Ma. Concepción¹

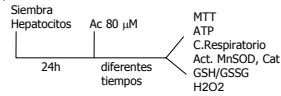
¹ Laboratorio de Fisiología Celular, C.B.S. UAM-I. ² Instituto Fisiología Celular, UNAM. ³ Departamento Gastroenterología, INNCSMZ. ⁴ Laboratorio de Fisiología de la Reproducción, C.B.S. UAM-I.

INTRODUCCION

Recientemente los avances en la comprensión de la progresión de la enfermedad hepática alcohólica señalan que la inducción del Cyp2E1 en la ingesta crónica de etanol, provocan estrés oxidativo que podría considerarse como la causa primaria de daño. El acetaldehído (Ac), principal metabolito del etanol, es un compuesto altamente tóxico, que puede contribuir a la progresión del daño hepático. Se considera que la mitocondria es el principal blanco celular del efecto tóxico de este compuesto. No se conoce si el Ac podría potenciar el estrés oxidativo producido por el metabolismo del etanol, por ello es importante estudiar el efecto del Ac en la función mitocondrial y la actividad de enzimas de la maquinaria celular antioxidante.

OBJETIVO

Estudiar si la presencia del Ac modifica algunos parámetros de funcionalidad mitocondrial en hepatocitos de rata.



METODOS

Se emplearon hepatocitos de ratas Wistar (machos, 250 gr) los cuales fueron sembrados y dejados estabilizar durante 24 h y posteriormente fueron sometidos a un tratamiento con Ac (80 µM). Además se emplearon mitocondrias de hígado de rata y fueron sometidas a diferentes concentraciones de Ac (20, 40 y 80 µM). Se evaluó la funcionalidad mitocondrial, la generación de ATP, el control respiratorio y la actividad de MnSOD y Cat, el cociente GSH/GSSG y los niveles de H2O2.

RESULTADOS

El tratamiento con Ac induce una disminución en la funcionalidad mitocondrial en un 27% con respecto al control mediante la prueba de MTT. Los resultados de control respiratorio muestran que el Ac provoca una disminución significativa en el valor de este parámetro y no muestra un efecto dosis dependiente. La producción de ATP se ve disminuida significativamente. Asimismo la actividad de la MnSOD se encuentra disminuida significativamente tanto en los hepatocitos (97%) como en las mitocondrias (35%) aisladas. La actividad de Cat se encuentra disminuida en 26% después de 1 h de tratamiento. Se realizaron ensayos para determinar el cociente GSH/GSSG encontrándose que el Ac disminuye significativamente en 39% a las 6h de tratamiento el valor de este parámetro. Finalmente nuestros datos muestran que no existe un cambio en la producción de H2O2.

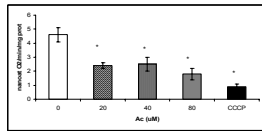


Fig. 1. Control Respiratorio. Mitocondrias aisladas de hígado de rata fueron sometidas a la presencia de Ac a diferentes concentraciones. El Ac se adicionó antes del ADP. Los resultados son el promedio de 3 experimentos independientes.* p<0.005

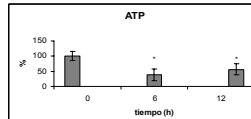


Fig. 2. Contenido de ATP. Los hepatocitos aislados fueron tratados con Ac 80 µM. Los resultados son el promedio de 3 experimentos independientes.* p<0.005

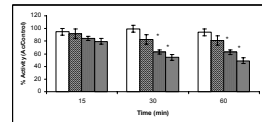


Fig. 3. Actividad de MnSOD. Se determinó la actividad de la MnSOD en mitocondrias aisladas de hígado de rata. Se emplearon varias concentraciones de Ac: 20 (Dosis) 40 (rojo) y 80 (gris) µM. Las determinaciones se realizaron a 15, 30 y 60 min. Los resultados son el promedio de 3 experimentos independientes.* p<0.005

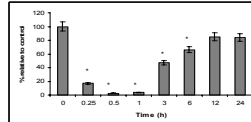


Fig. 4. Actividad de MnSOD. Se determinó la actividad de la MnSOD en hepatocitos aislados. Se empleó un tratamiento con Ac 80 µM. Los resultados son el promedio de 3 experimentos independientes.* p<0.005

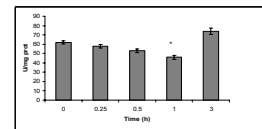


Fig. 5. Actividad de Catalasa. Se determinó la actividad de la MnSOD en hepatocitos aislados. Se empleó un 80 µM de Ac. Los resultados son el promedio de 3 experimentos independientes.* p<0.005

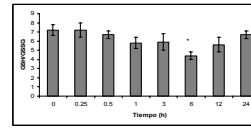


Fig. 6. Cociente GSH/GSSG. Los hepatocitos fueron sembrados y después de 24 h fueron sometidos a un tratamiento con Ac 80 µM durante el tiempo indicado. Los resultados son el promedio de 3 experimentos independientes.* p<0.005

DISCUSION Y CONCLUSIONES

Los resultados muestran que el Ac ejerce parte de su efecto tóxico sobre la mitocondria ya que induce una disminución en la funcionalidad de ésta, disminuyendo el control respiratorio y la generación de ATP. Además, reduce tanto la actividad de enzimas antioxidantes como el valor del cociente GSH/GSSG. El estrés oxidativo generado por el tratamiento con el tóxico es independiente de la formación de peróxido de hidrógeno. El Ac puede contribuir a la progresión de la enfermedad hepática alcohólica incrementando el estrés oxidativo generado por el metabolismo del etanol.

Conacyt: 400200-5-34195.