

2016 Diciembre, 6(5): 1-1

EFFECTOS DE LOS ÁCIDOS GRASOS SOBRE LA ACTIVIDAD DE LA ENZIMA GLUCOQUINASA EN CÉLULAS HepG2

Castro, M.C.; Villagarcía, H.; Massa, M.L., Francini, F.

Centro de Endocrinología Experimental y Aplicada CENEXA (CCTLa Plata-CONICET-UNLP)

mccastro05@yahoo.com.ar

Introducción

El efecto deletéreo de dietas ricas en grasa y del estrés oxidativo (EO) sobre la función hepática está profundamente estudiado, sin embargo, es escasa la evidencia de alteraciones inducidas directamente por un ambiente lipotóxico pro-oxidante sobre la actividad de glucoquinasa (GQ, sensor hepático de glucosa).

Objetivo

Evaluar *in vitro* el posible efecto de los ácidos grasos saturados e insaturados sobre el EO y la expresión y actividad de GQ en células HepG2.

Materiales y métodos

Se cultivaron células HepG2 en DMEM con glucosa 5,5 o 25 mM, y el agregado de ácido palmítico (PA) u oleico (OA) 500 μ M, durante 24 horas. Se evaluó: a) viabilidad celular (MTT); b) proliferación celular (Kit-BrdU); c) EO (DCF-DA 480/520 nm y HPF 485/520 nm excitación/emisión, fluorescencia); d) contenido de triglicéridos (TG) (Oil RedO/ADN), e) niveles proteicos (Western blot) y actividad enzimática de GQ (enzimático acoplado).

Resultados

El ensayo de HPF y DCF mostró un incremento significativo de las especies reactivas de oxígeno en los grupos PA, efecto que fue menor en las células incubadas con OA. Aunque no se encontraron diferencias en el ensayo de MTT, la proliferación celular fue significativamente inferior en células cultivadas en presencia de PA y en menor grado, en presencia de OA. El contenido de TG aumentó en células incubadas con ambos ácidos grasos. La actividad de GQ fue significativamente mayor en células incubadas con G25 vs. G5,5; mientras que ambos ácidos grasos no produjeron cambios en dicha actividad a G5,5, pero la inhibieron a G25, sin registrarse cambios significativos en los niveles proteicos de la enzima.

	HPF/MTT	DCF/MTT	Proliferación (BrdU/MTT)	TG (Abs OilRedO/Abs ADN)	Actividad de GQ (U/mg de proteína)
G 5,5 mM	33 \pm 13	44 \pm 2	1,2 \pm 0,02	100 \pm 3	4 \pm 0,7
G 5,5 mM + PA 500 μM	337 \pm 22*	620 \pm 58*	0,26 \pm 0,02*	126 \pm 9*	3 \pm 0,5
G 5,5 mM + OA 500 μM	91 \pm 4*	135 \pm 8*	0,76 \pm 0,06*	146 \pm 8*	4,3 \pm 0,9
G 25 mM	11 \pm 6	23 \pm 2	1,1 \pm 0,03	103 \pm 5	7,8 \pm 1,6*
G 25 mM + PA 500 μM	183 \pm 21 [#]	857 \pm 16 [#]	0,24 \pm 0,02 [#]	125 \pm 11 [#]	3,3 \pm 0,3 [#]
G 25 mM + OA 500 μM	43 \pm 3 [#]	435 \pm 9 [#]	0,81 \pm 0,11 [#]	169 \pm 2 [#]	3,4 \pm 0,7 [#]

* p < 0,05 vs G 5,5 mM. # p < 0,05 vs G 25 mM

Conclusiones

El PA tiene un efecto deletéreo mayor que el OA sobre la proliferación celular y el EO; mientras que ambos inhiben significativamente la actividad de GQ en presencia de G25. En consecuencia, este último efecto no estaría mediado únicamente por el EO, si no por algún otro mecanismo inhibitorio. Dado que los niveles proteicos de GQ no se modificaron, dicha inhibición ocurriría a nivel de la enzima propiamente dicha o sobre los mecanismos de regulación postraduccional de su actividad.