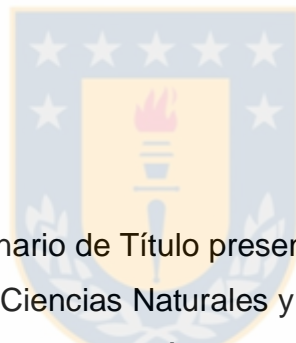




Universidad de Concepción  
Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas



Efecto protector del glutatión en un modelo in vitro de estrés oxidativo hepático  
inducido por tetracloruro de carbono



Seminario de Título presentado a la  
Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas  
Para optar al título de Biólogo

Esteban Caamaño Molina

Concepción, Marzo 2013

### 3. RESUMEN

El tetracloruro de carbono es el prototipo de una sustancia hepatotóxica ampliamente utilizada en modelos *in vivo* e *in vitro*. Su metabolización en los hepatocitos por el citocromo P450 2E1, genera metabolitos intermediarios capaces de producir estrés oxidativo. Las células presentan dos sistemas de defensa contra el estrés oxidativo; antioxidantes celulares enzimáticos y antioxidantes no enzimáticos. El glutatión, es un importante antioxidante no enzimático sintetizado en todas las células de mamíferos, siendo el hígado el sitio principal de síntesis. La alteración en el contenido del glutatión hepático, afecta a múltiples vías de señalización que participan en el metabolismo, la sobrevivencia y la proliferación de los hepatocitos, además contribuye a la patogénesis de varias enfermedades hepáticas. Debido a esto, el estudio del glutatión, en modelos tanto *in vivo* como *in vitro*, adquiere relevancia para generar terapias que mejoren el estado antioxidante en patologías que tienen como mecanismo el estrés oxidativo. El uso de líneas celulares hepáticas inmortalizadas, como las células HepG2, son de utilidad en el estudio de los mecanismos del estrés oxidativo, así como, del papel de los antioxidantes en el daño hepático. Consistente con esto, nosotros proponemos desarrollar un sistema biológico, constituido por células HepG2, tratadas con tetracloruro de carbono, con el propósito de de la identificación del glutatión como agente antioxidante y en la acumulación de vesículas de lípidos. Nuestra hipótesis de trabajo es que, los antioxidantes disminuyen el estrés oxidativo inducido por tetracloruro de carbono en células HepG2.

Nuestros resultados evidencian que las células HepG2, crecidas en presencia de  $\text{CCl}_4$  (0,1, 1, 3 mM), son resistentes al tratamiento, observándose que la viabilidad celular decae hasta a un 20% con respecto al control. Por su parte las concentraciones de  $\text{CCl}_4$  de 5, 7 y 10 mM disminuyeron la viabilidad presentando valores inferiores en un 70%. Con respecto al contenido de glutatión, solo se observó una disminución en los tratamientos con  $\text{CCl}_4$  de 7 y 10 mM  $\text{CCl}_4$ . Esto sugiere que a altas concentraciones de  $\text{CCl}_4$  hay estrés oxidativo. Además, los ensayos realizados para la evaluación de lípidos intracelulares no se observó acumulación de vesículas de lípidos en células crecidas con RPMI, ni tampoco en células tratadas con  $\text{CCl}_4$ .

En células deprimidas, mediante el tratamiento con BSO+DEM, la viabilidad disminuyó un 80% de glutatión, tanto en células controles como tratadas con  $\text{CCl}_4$ . Por su parte, los ensayos de acumulación evidenciaron la presencia de vesículas lipídicas intracelulares afectando principalmente al tamaño celular.

Nuestros resultados sugieren que la disponibilidad de glutatión es fundamental en la sobrevivencia de estas células, así como en la acumulación de lípidos intracelulares. Debido a que éste podría neutralizar la generación de radicales libres producidos como consecuencia de la metabolización del tetracloruro de carbono. Además este antioxidante podría estar favoreciendo la resistencia de las HepG2 a compuestos tóxicos como el tetracloruro de carbono