



Estudios de degradación de glutatión peroxidasa en órganos de rata a diferentes intervalos *post-mortem* empleando ICP-MS.

Paul, Hasuoka^{1*}; Leonardo, Mariño-Repizo¹; Franco Tonelli²; Nicolas, Vallejo-Azar¹; Pablo Pacheco¹

¹Instituto de Química de San Luis – CONICET – Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia Universidad Nacional de San Luis, Ciudad de San Luis, San Luis, Argentina.

²Universidad Nacional de San Luis, Facultad de Ingeniería y Ciencias Agropecuarias, Ruta Prov. N.º 55 (Ex. 148) Extremo Norte, 5730, Villa Mercedes, San Luis, Argentina.

* phasuoka@gmail.com

Introducción

La glutatión peroxidasa (GPx) es una selenoenzima con función antioxidante que contrarresta las especies reactivas de oxígeno (ROS) generadas durante la lesión por irrigación-reperfusión en órganos trasplantados. La actividad de GPx aumenta *post mortem* mediante la administración de seleno-metionina (SeMet) *in vivo*. Sin embargo, al incrementarse el intervalo *post mortem* (PMI), la actividad disminuye. Las proteínas del organismo *post mortem* sufren hidrólisis enzimática en un proceso denominado autolisis.

Objetivos

Evaluar la degradación de GPx *post mortem* en órganos de ratas suplementadas con SeMet. Determinar la concentración de la enzima y sus productos de degradación mediante la cuantificación de Se a diferentes PMI utilizando cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS). Realizar un análisis cinético de velocidad de degradación de GPx1.

Método Experimental

Se administró a ratas Wistar con 75 µg/kg/día de selenio-metionina (SeMet) durante 7, 14 y 21 días. Al final de la administración, se sacrificaron las ratas y se recogieron muestras de hígado, corazón y riñón a diferentes intervalos post mortem (PMI). Se realizó una extracción del tejido con 2 mL de buffer fosfato, una vez centrifugado, se tomó el sobrenadante y se pasó por un filtro de corte de peso molecular de 10 kDa. GPx1 se extrajo y se determinó mediante cromatografía de exclusión por tamaño (SEC) y cromatografía de afinidad (AC) acoplada a ICP-MS. La velocidad de degradación de GPx1 (V_{GPx1}) en los diferentes órganos se evaluó mediante un método numérico de diferencias finitas para obtener la derivada de la concentración de GPx1 en función del tiempo del intervalo post mortem. El cálculo se realizó con el software GNU Octave (octave.org).

Resultados.

GPx1 se determinó en concentraciones que oscilaron entre 0,19-0,76 mg kg⁻¹ en los órganos ablacionados en un PMI de 12 hs. La administración de SeMet aumentó la concentración de GPx1, especialmente en el hígado. La velocidad de degradación de GPx1 (V_{GPx1}) fue mayor en el hígado, seguido por riñones y el corazón. Los productos de degradación de Se se encontraron en el rango de 0,1 a 0,4 µg g⁻¹, siendo más elevados en el hígado. En los riñones, no se observaron diferencias en la degradación de GPx1 en ratas control y ratas administradas con SeMet.

Conclusiones y Perspectivas.

La administración de SeMet aumentó la concentración de GPx1 y disminuyó su degradación *post mortem* en los órganos de ratas. La variación en la concentración de productos de degradación de selenio (Se) estableció que la enzima sigue un proceso de degradación, más que de desnaturalización, lo que justifica la disminución de su actividad *post mortem*. GPx se degrada rápidamente en riñón, comparado con hígado y corazón. Esta información es importante, considerando la posible mejora en la supervivencia de órganos para trasplante a través del rol antioxidante de GPx, administrando SeMet a donantes vivos.