

## Actividad de las Enzimas Reguladoras del Metabolismo de los Carbohidratos en la Placenta Preeclámptica

RAQUEL ORÉ, SILVIA SUÁREZ, INÉS ARNAO

*Centro de Investigación en Bioquímica y Nutrición. Facultad de Medicina.  
Universidad Nacional Mayor de San Marcos.*

### RESUMEN

La preeclampsia es una de las patologías más frecuentes en el embarazo. La placenta juega un papel importante en el desarrollo del cuadro. En el presente trabajo realizamos un estudio de las actividades de dos enzimas reguladoras [fosfofructoquinasa I (C.E. 2.7.1.11) y glucosa 6-P deshidrogenasa (C.E. 1.1.1.49)] en el metabolismo de los carbohidratos en el tejido placentario normal y en el preeclámptico a término. Se halla una marcada disminución de las actividades de ambas enzimas en los tejidos patológicos. Se discute los posibles mecanismos.

*Palabras clave : Placenta, preeclampsia, Intercambio materno-fetal, Fosfofructoquinasa, Glucosa deshidrogenasa.*

### PRE-ECLAMPSIA PLACENTAL CARBOHYDRATE METABOLISM REGULATING ENZYMES ACTIVITY ABSTRACT

Pre eclampsia is one of the most frequent pathologies during pregnancy. The placenta plays an important role in the development of this pathology. We studied the activities of two regulatory enzymes [ phosphofructokinase I (E.C. 2.7.1.11) and glucose 6-P-dehydrogenase (E.C. 1.1.1.49) ] of carbohydrate metabolism in both normal and pre-eclamptic term placental tissue. We found a pronounced decrease in both enzyme activities in pathological tissues. We discuss the possible mechanisms.

*Key words : Placenta, maternal-fetal exchange, pre-eclampsia, Phosphofructokinase, Glucosa Dehydrogenase.*

### INTRODUCCIÓN

La placenta es un órgano interfase entre la madre y el embrión. Es una compleja estructura eminentemente transitoria que participa en complicados fenómenos biológicos, experimentando cambios según la edad gestacional (1).

Este órgano es muy importante para la vida fetal ya que el crecimiento y desarrollo del feto está en relación directa con las características de la placenta. Un inadecuado transporte de nutrientes, produce la formación de fetos pequeños en relación a la edad gestacional.

Estudios sobre los mecanismos encargados de la regulación del transporte y captación de glucosa por la placenta, han mostrado relaciones directas entre la concentración de glucosa arterial materna y concentración de la glucosa arterial fetal. Factores como

el consumo de glucosa por la misma placenta, su permeabilidad, área superficial, espesor placentario y mecanismos de transporte (activo, facilitado y pasivo) también tienen influencia en su fisiología (2).

Experimentos realizados en placenta de oveja mostraron la utilización de glucosa por diferentes vías metabólicas, con formación de ácido láctico (aerobiosis) a un ritmo acelerado, el cual es utilizado por el feto como fuente de energía. Una pequeña fracción de esta glucosa puede almacenarse y la otra que es la más voluminosa es oxidada y proporciona energía necesaria para el transporte activo y para los procesos de síntesis proteínica exclusivo de la placenta (3).

Durante el desarrollo del embarazo puede producirse hipertensión en mujeres normotensas o agravarse en pacientes hipertensas: suele presentarse después de las 20 semanas de gestación. Los estados hipertensivos se suelen clasificar en: pre eclampsia y eclampsia los que se caracterizan por edema, proteinuria e hipertensión arterial, siendo este último signo clínico el más importante y peligroso ya que produce cambios vasculares en especial a nivel de la retina y sus efectos se observan en diversos órga-

#### Correspondencia :

*Mg. Raquel Oré  
Facultad de Medicina, UNMSM  
Av. Grau 755 Lima 1 - Perú*

nos como riñones, cerebro, útero, unidad fetoplacentaria, corazón, hígado y pulmones. La mayoría de los cambios ocurren a nivel de las arteriolas y capilares observándose daños degenerativos agudos y émbolos de material fibrinoide los cuales asociados a la hemoconcentración, disminuyen el flujo sanguíneo y la perfusión tisular, con la consiguiente producción de anoxia y alteraciones funcionales y anatómicas, localizadas más comúnmente en hígado, riñones, cerebro, placenta, corazón y pulmones (2).

La morfología de la placenta en los embarazos normales a término presentan evidencias de envejecimiento, con cierto grado de degeneración del trofoblasto y la aparición de infartos acentuándose más en estados de hipertensión, observándose infartos placentarios (zonas rojas) con más frecuencia.

El flujo sanguíneo puede disminuir en la placenta de mujeres pre eclámpicas y eclámpicas, lo cual conduciría probablemente a una hipoxia a largo plazo y anomalías vasculares placentarias las que pueden llegar a alterar la actividad de las enzimas del metabolismo intermediario de la placenta; por esta razón estudiaremos la actividad de dos enzimas marcadora del metabolismo de los carbohidratos, la fosfofructoquinasa tipo I (FFK-I) y la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH).

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Material biológico

Se empleó placentas de gestantes que cursaron con un embarazo normal y de pacientes diagnosticadas con pre eclampsia, en base al cuadro clínico, hipertensión arterial y proteinuria, del Hospital Maternidad de Lima

### Reactivos

Todos los reactivos químicos fueron de grado analítico. Se empleó: Tris-HCl, NADH, ATP, AMP, glucosa-6-fosfato, fructosa-6-fosfato, triosa-fosfato-isomerasa- $\alpha$ -glicerol-fosfato-deshidrogenasa y aldolasa.

Los reactivos fueron obtenidos de la casa comercial SIGMA (St. Louis, Missouri, USA).

### Métodos

#### 1) Preparación de la muestra:

Las placentas fueron recolectadas y colocadas rápidamente en baño de hielo, luego se procedió a la limpieza, pesado y separación de la porción periférica, intermedia y central (separación de anexos) obteniéndose una muestra de 1,5 g de ella, porción que se lavó 5 veces con el medio de homogeneización para eliminar la sangre. Se homogeneizó al 1/3, en un homogenizador de vidrio tipo Potter-Elvehjem con émbolo de teflón. El medio de homogeneización contenía buffer fosfato 0,01 mol/L, pH 7,4.

El homogenizado fue centrifugado a 750 g por 10 min. para eliminar las células intactas, núcleos y restos de membrana celular. Se realizó una segunda centrifugación del sobrenadante a 9800

g por 15 minutos para eliminar mitocondrias y una tercera ultra centrifugación a 40000 g por 60 min. para obtener el citosol.

Las dos primeras centrifugaciones fueron hechas en una centrifuga Sorvall tipo RC2-B, rotor SS34 y la última centrifugación fue realizada en una centrifuga Beckman modelo L, rotor 50Ti, se trabajó a una temperatura entre 0 a 5 °C.

#### 2) Determinación de la actividad G6PDH:

Se realizó según la técnica de Oré (6) con algunas modificaciones, mediante la medición de la reducción del NADP a 340 nm. La cubeta de reacción contenía 0,5 ml de buffer Tris-HCl 0,05 mol/L a pH 8,8; 0,4 mL de cloruro de magnesio 0,1 mol/L; 0,1 mL de NADP<sup>+</sup> 5,9 mmol/L; 0,1 mL de citosol y 1,8 mL de agua destilada. La reacción fue iniciada con 0,1 ml de Glucosa-6-Fosfato 36,3 mmol/L y se midió el cambio de absorbancia a 340 nm durante 2 minutos.

#### 3) Determinación de la actividad de la fosfofructoquinasa I:

La mezcla de reacción contenía solución Potter pH 7,4, ATP 1 mmol/L; AMP 2 mmol/L, NADH 0,17 mmol/L, CNK 0,1933  $\mu$ g; triosa fosfato isomerasa- $\alpha$  glicerol-fosfato deshidrogenasa (9,6 U - 0,16 U); aldolasa (0,9 U) llevada a pH 8,0. En una cubeta de 3 ml se colocó 1,5 ml de la mezcla anterior, 0,1 mL de citosol y 1,3 mL de agua destilada y se inició la reacción agregando 100  $\mu$ L de fructosa-6-fosfato (10,73 mg/ml). Se lee a 340 nm.

Se expresa la actividad enzimática como unidad/g de tejido, en donde Unidad es igual al número de micromoles formado por minuto a 30 °C.

Los resultados son expresados en U/g de tejido  $\pm$  error estándar.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Medimos la actividad de la fosfofructoquinasa tipo I y de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa en placenta humana del tercer trimestre de gestación y se obtuvo los resultados mostrados en la Tabla N° 1.

Tabla 1.- Actividad Enzimática de fosfofructoquinasa Tipo I (FFK - I) y Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa en placenta humana ( III Trimestre)

	FFK-I (U/g tejido)	G6PDH (U/g tejido)
Normal <sup>1</sup>	0,454 $\pm$ 0,013	0,429 $\pm$ 0,013
PE <sup>2</sup>	0,160 $\pm$ 0,012	0,149 $\pm$ 0,0125

PE = Casos con pre-eclampsia

U=  $\mu$ moles/min a 30 °C

<sup>1</sup> n = 4

<sup>2</sup> n = 6

El progreso de la gestación normalmente va acompañado de una disminución significativa en la actividad de las vías glicolíticas, gluconeogénicas y lipogénicas, probablemente como una expresión de su senescencia (<sup>2</sup>).

Estas características son más marcadas en tejido placentario proveniente de embarazos que cursan con pre eclampsia, como se observa en la Tabla Nº 1.

En el caso de la principal enzima reguladora de la vía glicolítica la FFK-I, la disminución aún más acentuada de su actividad puede ser parte de un mecanismo adaptativo para darle funcionalidad al tejido por largo periodo a pesar de un pobre aporte de nutrientes, teniendo en cuenta que la placenta en la toxemia gravídica presenta una deficiente implantación y por tanto no realiza un intercambio normal de metabolitos que afecta a la madre, al feto y al mismo tejido (<sup>7</sup>).

También la menor oxigenación del tejido en estas circunstancias puede explicar en parte esta actividad disminuida; pues, en cultivos úsulares de hepatocitos de rata sometidos a concentraciones fisiológicas y bajas de oxígeno, por largos períodos tienden a disminuir la actividad de la enzima y también su sensibilidad a la inhibición por ATP (<sup>1</sup>). No hay reportes al respecto sobre placenta, pero este razonamiento puede ser lógico y aplicable a este tejido que por otro lado conduce su metabolismo glicolítico a la formación de cantidades importantes de lactato en condiciones aeróbicas, según finos estudios realizados en placenta de oveja.

La ubicación metabólica de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa es crítica para la regulación de diversas rutas como la biosíntesis de lípidos, de ácidos nucleicos y en el sistema de defensa antioxidante de cualquier célula.

El producto NADPH formado en la reacción catalizada por esta enzima es responsable del estado redox celular dependiendo de la relación NADP/NADPH. Su participación se ve corroborada por la influencia que tienen algunos factores implicados en las rutas mencionadas sobre la actividad de esta enzima productora de NADPH (<sup>8</sup>).

La producción disminuida de equivalentes reductores en los casos patológicos de pre eclampsia, puede atribuirse también a un mecanismo de adaptación para la defensa celular a fin de disminuir la lipogénesis y evitar una mayor peroxidación de estas moléculas. Sin embargo, esto trae consigo una disminución en la provisión de equivalentes reductores necesarios para la actividad de la glutatión reductasa, enzima que permite el restablecimiento del glutatión reducido, tripéptido de papel central en los mecanismos de defensa antioxidante.

Probablemente el curso inexorable de esta situación empieza ya desde el segundo trimestre de la gestación, periodo donde se acentúan los signos y síntomas de la patología gravídica. Las placentas del presente estudio fueron de embarazos a término, de manera que desconocemos en que momento la actividad disminuye ostensiblemente, aún a riesgo de desfavorecer el mecanismo de defensa antioxidante, que también se encuentra disminuido en estos casos según estudios realizados en este Centro de Investigación (comunicación personal de Suárez y col.), resultado que se explicaría por la una relación elevada de NADP/NADPH.

Estos eventos en el metabolismo de carbohidratos de la placenta pre eclámpica pueden aportar explicación a la observación de un envejecimiento prematuro del tejido placentario. Sin embargo, aún quedan interesantes mecanismos que dilucidar, por ejemplo el papel del lactato, la producción de citrato, la sensibilidad al ATP y el comportamiento de otras enzimas reguladoras.

### CONCLUSIÓN

La placenta de embarazo con pre eclampsia presenta una marcada disminución de la actividad de FFK-I y G6PDH.

### AGRADECIMIENTOS

Al Hospital de Maternidad de Lima por la donación del material biológico.

Al Biol. Marco Antonio Núñez Fonseca, por su apoyo en el tipo de manuscrito.

### BIBLIOGRAFÍA

- 1) Bar J, Martínez-Costa O and Dragon J. Regulation of phosphofruktokinase at physiological concentration of enzyme studied by stopped flow measurement. B.B.R.C. 1990; 167 (3).
- 2) Diamant S, Kissilenta R and Diamant Y. Lipid peroxidation system in human placental tissue. Biol. Reprod., 1980; 23: 776-781.
- 3) Hay W, Sparks JW. Clínicas Norteamericanas de Gineco-Obstetricia, México, Vol 2, N1 3. 1990.
- 4) Lowry OH, Rosebrough NJ, Fan AL and Rondall RJ. Determination of proteins. J. Biol. Chem. 1951; 193: 265-267.
- 5) Niswander K. Obstetricia. 3ra edición Ed. Salvat. Barcelona, 1989; 441-450.
- 6) Ore R. Actividad de Enzimas de las Vías de Pentosas en Hígado de Alpaca. Lima 1974.
- 7) Reape T and Burnell A. Enzyme induction in response to increasing concentrations of food source. B.B.R.C., 1990; 172 (3): 1013-1021.
- 8) Reape T and Veech R The effects of chronic administration of growth hormones and stimulant growth factor on hepatic liponic enzymes in rats. B.B.R.C. 1990, 172 (2): 818-821.