

## CARACTERIZACIÓN CINÉTICA DE LAS ALDEHÍDO DESHIDROGENASAS HUMANAS CLASE 1 y 2, CON EL PRODUCTO DE LA LIPOPEROXIDACIÓN OXIDATIVA ACROLEÍNA.

Rodríguez Zavala JS.

Departamento de Bioquímica, Instituto Nacional de Cardiología. Juan Badiano No. 1, Col. Secc. XVI, Tlalpan 14080, México D.F. Tel: 55 55732911. e-mail: rzjs@yahoo.com

Las aldehído deshidrogenasas (ALDHs) se encargan de la oxidación de los aldehídos a sus correspondientes ácidos mediante la utilización de NAD(P)<sup>+</sup>. Se ha propuesto que el papel fisiológico de estas enzimas se relaciona con la detoxificación inespecífica de aldehídos en el organismo (1). Sin embargo, existen ALDHs que participan en vías metabólicas específicas (2).

Se ha determinado que el estrés oxidativo es parte importante de la etiología y la patogénesis de padecimientos como Alzheimer, enfermedad de Parkinson, diabetes y aterosclerosis (3). El estrés oxidativo promueve la lipoperoxidación oxidativa, en la cual se generan aldehídos altamente reactivos. La acroleína y el 4-hydroxy-2-nonenal (4-HNE), son dos de los compuestos más tóxicos generados en este proceso. Por otro lado, el estrés oxidativo es muy elevado en los ojos debido a la alta incidencia de luz en estos órganos, por lo que existe una alta generación de productos de la lipoperoxidación oxidativa (4). En este órgano, se ha demostrado la importancia de la ALDH1 en la detoxificación de aldehídos reactivos utilizando ratones knock out de esta enzima, en los cuales se observó opalescencia en el cristalino en los primeros días de vida y se generaron cataratas a las pocas semanas (4). Aunque las ALDHs detoxifican a estos compuestos, en ocasiones su actividad es rebasada y ocurre el daño a las proteínas y los ácidos nucleicos. El objetivo de este trabajo es investigar la actividad de ALDH1 y ALDH2 humanas con acroleína como sustrato.

Se realizaron estudios de docking de la acroleína y el 4-HNE en el sitio activo de ALDH1. Este análisis indicó la interacción de la cadena lateral de estos compuestos con los residuos Phe292 y Phe459 en el sitio activo de ALDH2. En ALDH1 los residuos en estas posiciones son His y Val. Esta diferencia en el sitio activo podría explicar la mayor afinidad de ALDH2 por 4-HNE con respecto a ALDH1 (5). Los estudios cinéticos de ALDH1 con acroleína indicaron una *K<sub>m</sub>* de 7  $\mu$ M y una *V<sub>m</sub>* de 250 nmol/min\*mg. Inesperadamente, la acroleína inhibió a la enzima a concentraciones mayores de 60  $\mu$ M. Los datos experimentales se ajustaron a la ecuación de Michaelis-Menten con inhibición por sustrato y se determinó una *K<sub>i</sub>* de 120  $\mu$ M. Sin embargo, se observó que la acroleína se puede unir a la enzima en ausencia de NAD<sup>+</sup> (el primer sustrato en el mecanismo de reacción), indicando que la inactivación por acroleína puede deberse a que este compuesto también se une a la enzima en un sitio diferente al sitio activo. Esta observación fue confirmada posteriormente con estudios de protección por sustrato, donde se determinó que la acroleína inhibe a la ALDH1 aún en presencia de 1 mM de propionaldehído.

1. Perozich et al. (1999) Adv. Exp. Med. Biol. 463: 5-52.
2. Rodríguez-Zavala et al. (2006) Protein sci. 15: 1387-1396
3. Picklo et al. (2007) J. Alzheimers Dic. 12: 185-193.
4. Choudhary et al. (2005). Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 46: 259-267.
5. Brichac J et al. (2007). Chem. Res. Toxicol. 20: 887-895.