

El efecto del alcohol sobre la actividad enzimática de la catalasa hepática

Monografía de Biología

Elisa Millán Chica – (001787-0013)

Colegio de San Francisco de Paula

2014-2015

Número de palabras: 3.865

Resumen

Un reciente estudio publicado en la revista médica "The Lancet" revela que considerando de manera combinada el perjuicio que el alcohol causa a las personas y a su entorno; este es mayor que el producido por el crack y la heroína, conocidas "drogas duras". El hígado es un órgano fundamental para los seres vivos y uno de los que más sufre los efectos dañinos del alcohol. Al ser la catalasa una de las enzimas involucradas en la metabolización del alcohol en el hígado, a la vez que realiza su principal función de descomposición del peróxido de hidrógeno, sirve como indicador del efecto dañino del etanol.

El presente trabajo busca responder a la pregunta de investigación: **¿Afecta la concentración de alcohol a la actividad de la enzima catalasa hepática?** Para ello, se ha llevado a cabo un procedimiento experimental para medir la actividad catalasa bajo los efectos de distintas concentraciones de alcohol. Los experimentos realizados fueron llevados a cabo en los laboratorios del colegio donde se midió la producción del gas O₂, mediante un sensor de adquisición de datos. Este es un producto resultante de la metabolización del peróxido de hidrógeno por parte de la enzima catalasa en trozos de hígado de cerdo incubados con diferentes concentraciones de alcohol, siendo estas 0,6%; 4,8%; 6,8%; 11,5%; 14,0%; 37,0%; 40,0%; 47,00% y 89,00%.

Los datos empíricos obtenidos responden a la pregunta de investigación mostrando una correlación negativa satisfactoria entre la concentración de alcohol añadida y la menor producción de oxígeno debido a la inhibición de la enzima catalasa. De esta forma se confirma que una sobredosis de alcohol en el hígado resulta en la obstaculización de la metabolización del peróxido de hidrógeno por la catalasa, siendo este un agente tóxico para nuestro organismo. (290 palabras)

Índice de Contenido

Contenido

1. Introducción	3
2. El Experimento	6
3. Conclusión y discusión	14
4. Bibliografía:	17
5. Anexo.....	19

1. Introducción

La enzima catalasa pertenece al grupo de enzimas oxidorreductasas cuya principal función en el hígado es la descomposición del peróxido de hidrógeno. Esta reacción le confiere una propiedad antioxidante ya que si no se descompone el peróxido de hidrógeno debido a su carácter oxidante causa un detrimento en el hígado. Estos daños pueden significar un deterioro grave del órgano afectando sus funciones vitales. Por tanto su acción radica en evitar reacciones oxidativas sin inducir problemas secundarios descomponiéndola en sustancias no reactivas y por consiguiente no dañinas. Estudios recientes indican que “hay un vínculo directo entre la enzima catalasa, el daño de radicales libres y prolongar nuestra vida.” (Dr. Edward F. Group III, DC, ND, 2011)

Es tal la importancia de esta enzima que su falta se traduce en el diagnóstico de la enfermedad de Takahara (acatalasemia) de carácter autosómico recesivo. Encontrándose el gen que codifica para la producción de catalasa en el cromosoma 11p13 constando de 34kb y conteniendo 12 intrones y 13 exones. Además de la función de oxidorreductasa en el hígado, es capaz de proteger a la hemoglobina y seguramente al ADN frente a la peroxidación. Es por esto que la falta de la enzima causa daños severos como pueden ser gangrena, ulceraciones orales, *diabetes mellitus* y arterosclerosis. (*Enzimas utilizadas en la industria alimenticia*, 2004)(Galiano, 2015)(Abramov & Wells, 2011)

Un artículo en 2008 del Dr. Hitoshi Sugiyama del Centro de Enfermedades Hepáticas Crónicas y Diálisis Peritoneal en Japón, muestra que la acatalasemia agrava las lesiones oxidativas en los tejidos, además de aumentar la probabilidad de desarrollar fibrosis irreversible en el peritoneo a causa de la diálisis peritoneal. Lo demuestra el papel crucial que juega la catalasa contra el daño oxidativo peritoneal mediante la utilización de modelos de fibrosis peritoneal en ratones. (Fukuoka et al., 2008)

Por tanto, tomando la acatalasemia como ejemplo y las graves lesiones que esta genera, queda evidenciada la gran importancia que presenta la enzima catalasa en el organismo humano. En su importancia reside la necesidad de estudiar sustancias que el ser humano consume habitualmente y que puedan interferir negativamente en la actividad de esta enzima, lo que se traduciría en severos daños para el hígado, en la salud del paciente y por consiguiente en su calidad de vida. Es por esto que el presente trabajo busca cuantificar el efecto que puede tener el alcohol sobre la actividad de la catalasa.

El alcohol se categoriza como una droga de las conocidas como “blandas” siendo una de las drogas más consumidas en nuestra sociedad. Su percepción social ha acarreado

que en algunas situaciones no se produzca un consumo moderado del alcohol llegando al consumo crónico. (Infodrogas.org, 2015)

El problema consiste en que su componente principal es el etanol ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$) y que al ser un depresor del sistema nervioso central, es imprescindible su metabolización, tarea que cumple la enzima ADH (alcohol deshidrogenasa) siendo esta la principal vía de metabolización del etanol en el organismo. Sin embargo existen vías secundarias que se ponen en funcionamiento cuando la primera vía se satura debido a un exceso de alcohol. La metabolización del alcohol sigue el proceso mostrado en la Figura 1, siendo un 90% metabolizado por la vía primaria y un 10% por las vías secundarias. (Dr. Alejandro Guillermo Andersson, 2007)

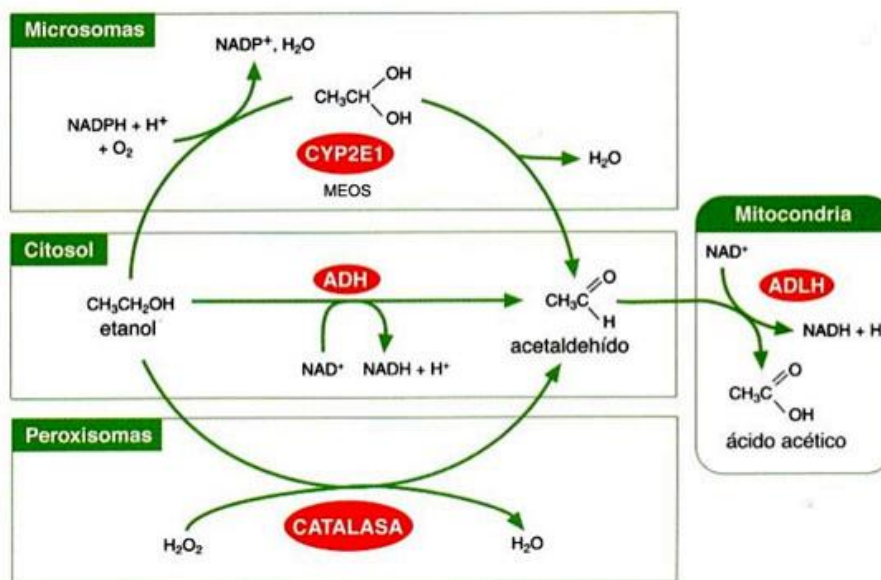
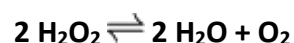


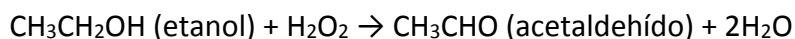
Figura 1. Esquema que muestra las posibles vías de metabolización del alcohol por el organismo humano. (Naturaleza y turismo, 2015)

Como se puede apreciar en la Figura 1 existen tres enzimas capaces de metabolizar el alcohol, pertenecientes a grupos diferenciados. La vía principal la compone el citosol, las secundarias los microsomas y peroxisomas. Las vías secundarias están precedidas por la enzima CYP2E1, perteneciente al Sistema Microsomal de Oxidación del Etanol (MEOS) y la enzima catalasa. Ambas enzimas presentan valores para la constante de Michaelis (K_m) mayores que la ADH, lo que hace necesaria una mayor cantidad de etanol para la catalasa o un exceso crónico de etanol para la activación del MEOS. (Themicalbiochemistry.org, 2015)

La enzima catalasa en sí es una oxidorreductasa encargada de llevar a cabo la siguiente reacción:



Sin embargo en el hígado tiene la capacidad de actuar como peroxidasa para metabolizar el etanol, que actúa como donador de hidrógenos. La siguiente es la expresión para esta reacción, donde es importante resaltar que a pesar de la presencia de peróxido de hidrógeno, entre sus productos no se encuentra el oxígeno:



El objetivo de este experimento es responder a la pregunta de investigación, **¿Afecta la concentración de alcohol a la actividad de la enzima catalasa hepática?** Para ello se mide la producción de O₂, lo que determina la capacidad de metabolizar el peróxido de hidrógeno de la enzima catalasa en el hígado bajo la presencia de alcohol. Por tanto este ensayo facilitará la comprensión de los efectos que el alcohol puede tener sobre nuestro organismo y proveerá de mayor información a los consumidores con objeto de concienciarles mejor sobre la toma de decisiones con respecto al consumo de alcohol. Así, pueden tomarse medidas para controlar el consumo de alcohol de forma que se disminuya el posible daño que éste pueda acarrear sobre la enzima catalasa, y por tanto, sobre el organismo humano. Es necesario resaltar el impacto social que ejerce esta sustancia sobre todo en la población adolescente siendo de gran utilidad la difusión del presente ensayo entre dicho grupo para afianzar la importancia de un consumo responsable.

Esta reacción de peroxidación del etanol ocurre en los peroxisomas y solo en presencia de peróxido de hidrógeno, lo que fue demostrado en 1945 por Keilin y Hartree y también por Raskin y Sokoloff con catalasa purificada hepática de rata *in vitro*. En investigaciones posteriores mediante la utilización de espectrofotometría se establece la existencia del compuesto 1, formado por el etanol y el peróxido de hidrógeno que sufre una reacción peroxidática formando acetaldehído (ACh) y agua. En 1968 Goodman y Telphy publican una serie de trabajos donde se establece como limitante de esta reacción el peróxido de hidrógeno, lo que se confirma en 1973 por Oshino, que demostraron a su vez que la reacción de peroxidación está determinada conjuntamente por la concentración de etanol y el grado del peróxido. (Escarbajal Arrieta, 2000)

Más recientemente, en 2009 se publicó un artículo en el "Official Journal of the European Association for the Study of the Liver" sobre el daño causado por el etanol en el hígado y los cambios provocados por éste en la metabolización de los aminoácidos de azufre en ratones con doble negativo para la enzima Glutatión Peroxidasa y la Catalasa. Los resultados indicaban que ambas enzimas tienen un rol imprescindible ante la exposición excesiva de alcohol, además de establecer que un aumento del estrés inducido por la oxidación del etanol puede significar un deterioro en las reacciones de transulfuración y agravamiento de las lesiones hepáticas agudas en estos ratones. (Kim et al., 2009)

2. El Experimento

Variables:

La variable independiente es la concentración de alcohol, medida en %, con la que es incubada cada pieza de hígado de cerdo antes de introducirlo en peróxido de hidrógeno para que se lleve a cabo la reacción de descomposición. Las concentraciones seleccionadas fueron 0,6% vol., 4,8% vol., 6,8% vol., 11,5% vol., 14% vol., 37,0% vol., 40,0% vol., 47,00% vol. y 89,00% vol. Estas han sido escogidas utilizando las correspondientes a bebidas alcohólicas reales de alta consumición, con objeto de establecer una relación entre el propósito de este experimento y la vida real sirviendo de concienciación para la población sobre los efectos perjudiciales de bebidas alcohólicas de consumo regular. Las correspondencias son las siguientes:

0,6% vol. Cerveza sin alcohol.

4,8% vol. Cerveza con alcohol

6,8% vol. Cerveza con alcohol reserva.

11,5% vol. Vino blanco.

14,0% vol. Vino tinto.

37,0% vol. Vodka.

40,0% vol. Whisky.

47,00% vol. Ginebra.

89,00% vol. Absenta.

La variable dependiente es la producción de oxígeno, uno de los productos resultantes de la reacción llevada a cabo por la catalasa de descomposición del peróxido de hidrógeno en un determinado periodo de tiempo. De esta forma se decidió tomar la pendiente obtenida de producción de oxígeno en los primeros 100 segundos de cada reacción siendo su unidad (%/s). Esta es más tarde representada como tasa de producción de oxígeno según masa de hígado en función de la concentración de alcohol (%·g·s⁻¹). Para medir estas pendientes se hizo uso del programa Logger Pro 3.6.0 y su sensor de oxígeno Vernier. Además de facilitar la toma y obtención de datos, reducimos utilizando estos materiales la posibilidad de aumentar el error en nuestros datos al presentar una precisión muy alta de $\pm 0,00005$ (%·s⁻¹).

Son varias las variables controladas en este experimento. En primer lugar para representar la producción de oxígeno se utiliza la pendiente, pero al tener todos los trozos de hígado utilizados un peso similar pero no el mismo, establecimos la tasa de producción de oxígeno según masa. Así dividimos cada pendiente recogida por la masa del hígado utilizado en este experimento, eliminando así los posibles errores debidos a la diferencia de masa/superficie de hígado en cada experimento como por ejemplo mayor cantidad de enzima catalasa. Otras variables controladas fueron el volumen de peróxido de hidrógeno al 3% utilizado para cada reacción, siendo de 20mL, y el de la disolución de alcohol en la que se incubaban los trozos de hígado, siendo esta de 15mL. Mientras no se utilizó el hígado se mantuvo completo refrigerado a una temperatura controlada. Las condiciones en las que se llevaron a cabo las reacciones del experimento fueron de 25°C (medido con termómetro) y 102.60 kPa (medido con un sensor de presión de gas). Varias pruebas fueron llevadas a cabo antes de realizar el experimento final para concretar ciertos ajustes. Tras una serie de pruebas iniciales, se determinó que el tiempo óptimo de incubación del hígado de cerdo en cada concentración de alcohol fuese de 18 minutos.

Resultados

Se obtuvieron una gran cantidad de datos sin procesar resultando en un total de 2700 diferentes porcentajes de producción de alcohol ya que el sensor utilizado recogía medidas para cada segundo. Sin embargo se sustituyen como datos brutos por las pendientes de producción de oxígeno para los primeros 100 segundos de cada reacción ya que es físicamente imposible trabajar con tal número de datos. A continuación se muestra en la Figura 2 un ejemplo de la curva obtenida en el primer experimento para la concentración 11,5% y sus primeras 24 muestras de producción de oxígeno (%).

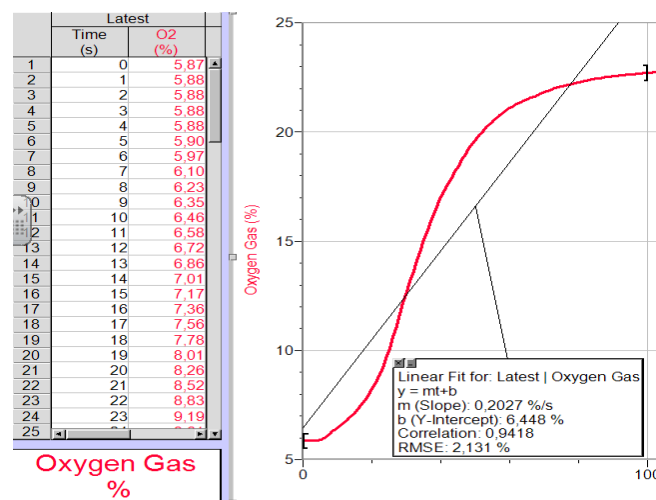


Figura 2: Ejemplo de recogida y procesamiento de datos de producción de oxígeno por el sensor de O₂ y el programa Logger Pro.

Tabla 1:

Efecto de la concentración de etanol sobre la tasa de producción de O₂ de la catalasa hepática de cerdo.

Concentración etanol 0.60 % vol.					
Tasa producción oxígeno (%/s) (±0,00005)	Masa de hígado / g, ±0,005g				
	8,290	8,070	7,960	8,650	8,720
	0,13820	0,24140	0,16590	0,18460	0,21230
Concentración etanol 4,00% vol.					
Tasa producción oxígeno (%/s) (±0,00005)	Masa de hígado / g, ±0,005g				
	8,840	8,600	8,020	8,250	8,180
	0,21270	0,21430	0,15830	0,22240	0,19050
Concentración etanol 4,80% vol.					
Tasa producción oxígeno (%/s) (±0,00005)	Masa de hígado / g, ±0,005g				
	8,140	8,350	8,390	7,870	8,760
	0,20210	0,18890	0,20830	0,15520	0,18380
Concentración etanol 6,80% vol.					
Tasa producción oxígeno (%/s) (±0,00005)	Masa de hígado / g, ±0,005g				
	8,180	8,110	7,270	8,260	8,940
	0,20650	0,22150	0,23600	0,20350	0,19060
Concentración etanol 11,50% vol.					
Tasa producción oxígeno (%/s) (±0,00005)	Masa de hígado / g, ±0,005g				
	7,420	7,690	8,330	7,200	8,130
	0,20270	0,17280	0,20530	0,18680	0,19130

Concentración 37,00% vol.					
Tasa producción oxígeno (%/s) ($\pm 0,00005$)	Masa de hígado / g, $\pm 0,005g$				
	8,420	7,070	8,110	8,300	8,000
	0,15310	0,16590	0,12990	0,15660	0,17040
Concentración 40,00% vol.					
Tasa producción oxígeno (%/s) ($\pm 0,00005$)	Masa de hígado / g, $\pm 0,005g$				
	8,180	8,440	6,860	8,080	8,290
	0,16350	0,17740	0,11900	0,15180	0,14020
Concentración 47,00% vol.					
Tasa producción oxígeno (%/s) ($\pm 0,00005$)	Masa de hígado / g, $\pm 0,005g$				
	8,420	7,570	8,310	8,770	8,870
	0,15720	0,16940	0,14440	0,15140	0,10100
Concentración 89,00% vol.					
Tasa producción oxígeno (%/s) ($\pm 0,00005$)	Masa de hígado / g, $\pm 0,005g$				
	8,410	8,630	8,730	8,000	8,680
	0,17470	0,19070	0,18130	0,17310	0,13020

Como se ha comentado anteriormente, es necesario establecer una relación entre la tasa de producción de oxígeno y la masa de cada trozo de hígado, para corregir el contenido de enzima por gramo de hígado. Para ello, se divide la tasa entre la masa del hígado de un mismo experimento obteniéndose la tasa de producción de oxígeno según la masa del hígado.

Tabla 2:

Efecto de la concentración de etanol sobre la tasa de producción de O₂ por la actividad catalasa hepática de cerdo. Se calcula el valor medio y la desviación típica para cada concentración de etanol.

Concentración etanol 0,6% vol.						Media	SD
Tasa de producción de oxígeno según masa (%·g·s ⁻¹) (±0,00005)	0,01667	0,02991	0,02084	0,02134	0,02435	0,02262	0,004627
Concentración etanol 4,00% vol.						Media	SD
Tasa de producción de oxígeno según masa (%·g·s ⁻¹) (±0,00005)	0,02406	0,02492	0,01974	0,02696	0,02329	0,02379	0,002648
Concentración etanol 6,80% vol.						Media	SD
Tasa de producción de oxígeno según masa (%·g·s ⁻¹) (±0,00005)	0,02483	0,02262	0,02483	0,01972	0,02098	0,02260	0,002284
Concentración etanol 11,50% vol.						Media	SD
Tasa de producción de oxígeno según masa (%·g·s ⁻¹) (±0,00005)	0,02524	0,02731	0,03246	0,02464	0,02129	0,02619	0,00412
Concentración etanol 37,00% vol.						Media	SD
Tasa de producción de oxígeno según masa (%·g·s ⁻¹) (±0,00005)	0,01818	0,02347	0,01602	0,01887	0,02130	0,01957	0,002882
Concentración etanol 40,00% vol.						Media	SD
Tasa de producción de oxígeno según masa (%·g·s ⁻¹) (±0,00005)	0,01999	0,02101	0,01735	0,01888	0,01691	0,01883	0,00173
Concentración etanol 47,00% vol.						Media	SD
Tasa de producción de oxígeno según masa (%·g·s ⁻¹) (±0,00005)	0,01867	0,02238	0,01738	0,01726	0,01139	0,01742	0,003954
Concentración etanol 89,00% vol.						Media	SD
Tasa de producción de oxígeno según masa (%·g·s ⁻¹) (±0,00005)	0,02077	0,02210	0,02077	0,02164	0,01500	0,02006	0,002884

A continuación con el fin de establecer una tendencia con los datos procesados se hace uso de una tabla y la representación gráfica de los datos que esta contiene determinando así si verdaderamente la concentración de alcohol en el hígado ejerce algún efecto sobre la actividad de la catalasa hepática.

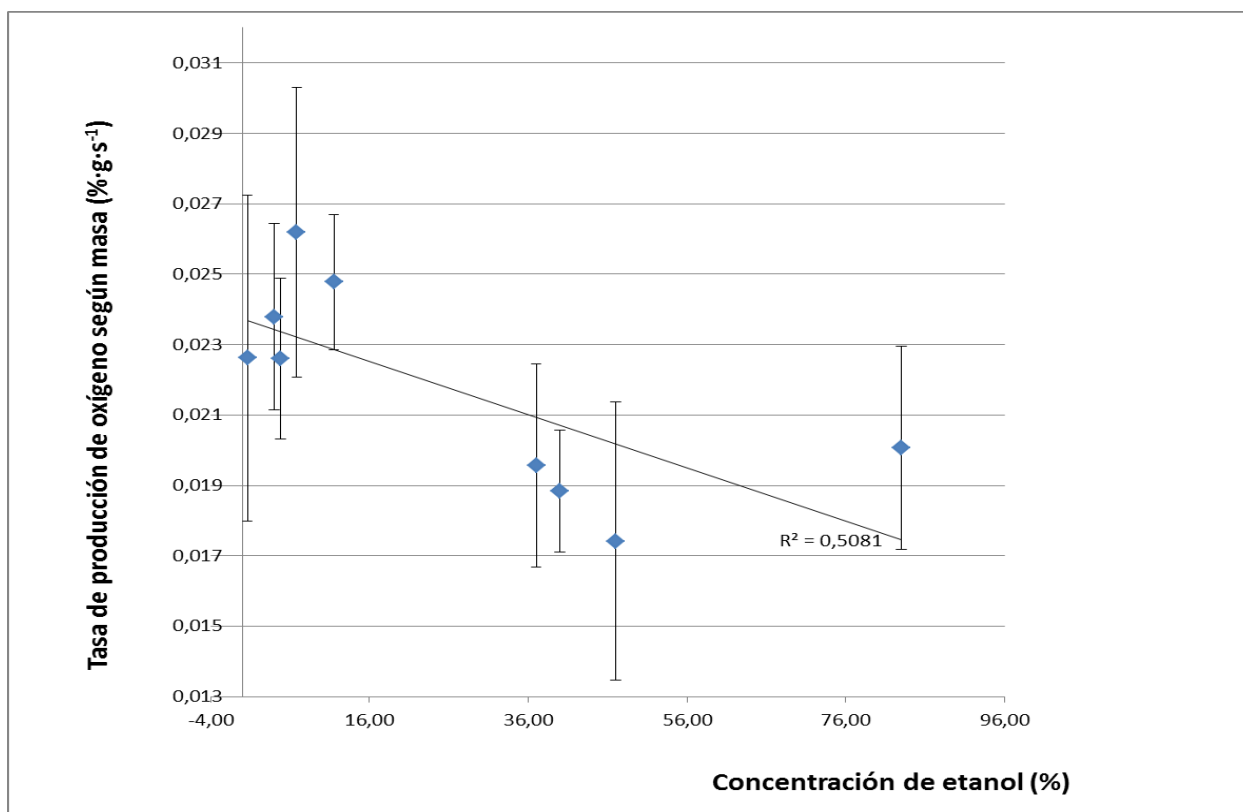
Tabla 3:

Tasa media de producción de O₂ por gramo de hígado en función de la concentración de alcohol. Se incluye la desviación estándar.

	Concentración etanol (% vol.)								
	0,60	4,00	4,80	6,80	11,50	37,00	40,00	47,00	83,00
Tasa media de producción de oxígeno según masa (%·g·s ⁻¹) (±0,00005)	0,02262	0,02379	0,02260	0,02619	0,02478	0,01957	0,01883	0,01742	0,02006
SD	0,00463	0,00265	0,00228	0,00412	0,00192	0,00288	0,00173	0,00395	0,00288

Gráfico 1:

Tasa media de producción de oxígeno según masa (%·g·s⁻¹) en función de la concentración de alcohol. Se incluye el R² y las barras de error obtenidas a partir de la calculada SD.



Se observa en el gráfico como a medida que incrementa la cantidad de alcohol al que se incubó el hígado, la capacidad de la catalasa de metabolizar el peróxido de hidrógeno es menor, reduciéndose por tanto su tasa de transformación en oxígeno y agua. Es por esto que se decreta una correlación negativa entre el contenido de alcohol con el que se incubó el hígado y la tasa de producción de oxígeno, producto de la actividad de la catalasa, lo que cumple con las expectativas marcadas desde el inicio de la investigación. Sin embargo, resalta el hecho de que para algunas concentraciones la tasa media de producción de oxígeno sea mayor que la anterior, de concentración de etanol inferior. Esto es especialmente significativo en el último valor, el cual presenta una mayor concentración de etanol, esperándose por tanto el valor más bajo de producción de oxígeno. Por tanto evidenciando notablemente la posible necesidad de llevar a cabo futuros ensayos más avanzados que corroboren la conclusión obtenida.

Test estadístico: Coeficiente de correlación de Spearman.

Con el fin de determinar si la correlación existente entre las dos variables es estadísticamente significativa, se lleva a cabo un test estadístico, en este caso se opta por el test de Spearman.

Se parte de la hipótesis nula, es decir, que no existe ningún tipo de correlación ni positiva ni negativa entre las variables investigadas en el presente trabajo, la concentración de alcohol y la actividad catalasa. A partir de esto se procede a realizar el test que deberá rechazar esta hipótesis para aceptar la hipótesis estadística alternativa, con objeto de que se pueda declarar que existe una correlación negativa entre los datos de las dos variables presentes y que esta es estadísticamente significativa.

El fin de este test estadístico es obtener el coeficiente de correlación de Spearman y para ello, en primer lugar se construye la siguiente tabla con los datos obtenidos, se establece el rango de cada conjunto de datos, se restan entre ellos para calcular la d , se elevan al cuadrado (d^2) y se suman los valores.

Tabla 4:

Datos para la realización del Test de Spearman.

Test de Spearman					
Tasa de producción de oxígeno (%·g·s-1)	Rango 1	Concentración (%)	Rango 2	d	d ²
0,02262	4,0	0,60	1,0	3,00	9,00
0,02379	3,0	4,00	2,0	1,00	1,00
0,02260	5,0	4,80	3,0	2,00	4,00
0,02619	1,0	6,80	4,0	-0,30	0,09
0,02478	2,0	11,50	5,0	-0,30	0,09
0,01957	7,0	37,00	6,0	1,00	1,00
0,01883	8,0	40,00	7,0	1,00	1,00
0,01742	9,0	47,00	8,0	1,00	1,00
0,02006	6,0	83,00	9,0	-0,30	0,09
Suma d ²					17,27

Utilizamos esta fórmula para calcular el coeficiente:

$$r_s = 1 - \frac{6 \sum d^2}{n(n^2 - 1)}$$

$$r_s = 1 - \frac{6 * 180}{9 * (9^2 - 1)} = 1 - \frac{1080}{720} = 1 - 1.5 = -0.5$$

Este coeficiente revela que existe una asociación de tipo inversa entre las dos variables estudiadas. Lo que significa que los mayores valores de una variable coinciden con los menores de la otra variable y viceversa.

Sin embargo como nuestro objetivo es rechazar la hipótesis nula, es necesario comparar este valor con un valor crítico tabulado.

Valores críticos del coeficiente de correlación de Spearman
al nivel de significancia de 0.05

n	Nivel de significancia 0.05
4	1.000
5	0.900
6	0.829
7	0.714
8	0.643
9	0.600
10	0.564
12	0.506
14	0.456
16	0.425
18	0.399
20	0.377
22	0.359
24	0.343
26	0.329
28	0.317
30	0.306

Se toma esta tabla como referencia y siendo n el número de conjuntos de datos, 9 en el presente ensayo, se observa que los valores del coeficiente de correlación de Spearman que presenten un valor menor o igual a 0.600 rechazan la hipótesis nula. Al haberse obtenido un valor de -0.5 para el coeficiente de correlación de Spearman implica que se rechaza a su vez la no existencia de una correlación estadísticamente significativa entre ambas variables. De esta forma, se establece que la conclusión obtenida del gráfico entre las dos variables estudiadas posee una probabilidad menor al 5% ($p < 0.05$) de deberse al azar, es decir, la correlación es estadísticamente significativa.

3. Conclusión y discusión

Como conclusión se establece que el aumento de la concentración de etanol en el hígado afecta de forma negativa a la actividad de metabolización del peróxido de hidrógeno de la catalasa hepática. Esto es corroborado por la información extraída tras el procesamiento de datos incluyendo tablas y gráficos y siendo estos analizados conjuntamente con los datos cualitativos observados. A su vez, gracias a que como conclusión del test de correlación de Spearman se rechaza la hipótesis nula, se puede establecer la existencia de una correlación negativa entre las variables estudiadas y que esta conclusión presenta una significancia del 95%.

Analizado detalladamente el gráfico se obtienen los siguientes argumentos. La diferencia entre el primer grupo de cinco datos no es significativa ya que no siguen una tendencia clara llegando el valor medio de producción de oxígeno para la concentración de etanol 6,80 % a superar al resto de valores medios de este grupo. Además, es observable que las barras de error se solapan, por lo que no puede asegurarse que las medias sean distintas. El siguiente grupo de tres datos sí muestra

una tendencia más afín a las conclusiones obtenidas, a pesar de esto, siguen presentando una diferencia no significativa entre ellas debido al solapamiento de sus barras de error. Sin embargo, lo más interesante para este estudio es comparar la tendencia que se presenta entre ambos grupos de datos. Puede observarse como la producción de oxígeno se ha visto reducida evidenciando la existencia de una correlación inversa. El último valor obtenido es el que más difiere con la conclusión establecida, ya que se descuadra de la tendencia general de los datos y a una significativa mayor concentración de etanol aumenta su producción de alcohol. Es recomendable por tanto, especialmente teniendo en cuenta el último valor, realizar comprobaciones futuras para establecer una correlación negativa más fuerte y significativa. Analizamos también en el gráfico la línea de mejor ajuste que toma un carácter lineal negativo, que coincide con la conclusión anteriormente establecida. Como se puede observar, la línea de mejor ajuste presenta una bondad media entre los datos representado en el gráfico al ser $R^2 = 0.5081$. Este valor de R^2 indica que el 50.81% de la variabilidad en la distancia puede atribuirse a una relación lineal con la concentración.

Distintos estudios demuestran el papel de la catalasa en la metabolización del alcohol como "Alcohol y metabolismo humano" de Aragón, c.; Miquel, m.; Correa, m. y Sanchis-segura, c. Gracias a estos se puede establecer una razón biológica para el efecto de reducción de la tasa de producción de oxígeno en presencia de alcohol. La catalasa es capaz de presentar dos comportamientos diferenciados y el hecho de que tome uno u otro se ve ejemplificado en la presencia de los productos de una u otra reacción. Es por ello que un alto índice de producción de oxígeno presente en los productos de la descomposición del peróxido de hidrógeno significa que la catalasa se ocupa de su principal función, y no participa en gran medida en la metabolización del etanol, que no presenta oxígeno entre sus productos.

Por tanto, el etanol es para la enzima catalasa un sustrato, al igual que el peróxido de hidrógeno. Si ambos sustratos comparten un mismo espacio (hígado) podemos hablar de la existencia de una inhibición competitiva por parte del etanol hacia el peróxido de hidrógeno. En el caso de un exceso crónico de etanol en el hígado, podrían ocuparse los sitios activos de la catalasa por parte de este sustrato, lo que se traduciría en que, a mayor cantidad de inhibidor (el etanol) para producir acetaldehído y agua, menor es la producción de oxígeno ya que a su vez menor es la descomposición del peróxido de hidrógeno. Esto provoca una menor actividad oxidorreductasa por parte de la catalasa, lo que significa una acumulación del peróxido de hidrógeno en mayor cantidad y tiempo en el hígado.

Esto puede tener una serie de consecuencias graves para la salud del órgano. El peróxido de hidrógeno es tóxico que frente al carácter antioxidante de la catalasa que al no poder desarrollar su función principal a la tasa normal permite el daño de este

agente sobre los tejidos. Este efecto negativo en el hígado se ha podido evidenciar claramente en el experimento de forma cualitativa. Fue observable el hecho de que al aumentar la concentración de etanol a la cual se maceraba el trozo de hígado este iba sufriendo un deterioro físico presentando menor dureza y por tanto perdiendo elasticidad en los tejidos. Además su textura variaba hacia un carácter más áspero y su color variaba desde un tono rojizo y brillante a un tono marrón mate. Para las más altas concentraciones de etanol el trozo se volvió completamente flácido llegando incluso a descomponerse. Estos síntomas son similares a los presentados en un hígado cirrótico como podemos observar en las imágenes adjuntas en el anexo, característicos en enfermos de alcoholismo. (Robertson, S, 2014)

Una de las principales enfermedades provocadas por el consumo excesivo de alcohol es la hepatopatía alcohólica que deriva en la cirrosis. Esto nos permite establecer una relación entre las conclusiones obtenidas y los efectos negativos que tienen altas concentraciones de alcohol en el hígado. La cirrosis es la etapa final de muchas enfermedades hepáticas donde el tejido del hígado pasa a ser cicatrizal provocando el funcionamiento deficiente del hígado. Sin embargo este no es el único efecto negativo que una alta concentración de alcohol en el organismo puede provocar al ser humano. Se ha investigado el efecto de altas concentraciones de alcohol sobre el feto como muestra el siguiente extracto *“El alcohol se metaboliza a través de varios sistemas, incluida la alcohol-deshidrogenasa en la fracción citosólica del hígado, el sistema microsómico hepático que oxida el etanol y el sistema catalasa peroxisómico. Algunas de estas enzimas presentan diferentes variedades genéticas y distintos individuos pueden inducir estas enzimas a diversas velocidades cuando se exponen a concentraciones equivalentes de etanol. La inducción diferencial de las enzimas podría generar una vulnerabilidad diferente a la lesión o a la alteración celular ocasionada por otros agentes. En forma alternativa, el etanol o el acetaldehído podrían interferir en el transporte placentario de nutrientes vitales como aminoácidos y generar desnutrición en el feto. La interferencia en el desarrollo celular normal o la desnutrición fetal redujeron 150g el peso al nacer de niños expuestos a una cantidad de entre uno y tres tragos por día en un estudio que reclutó a 10.539 mujeres.”* (Reece and Hobbins, 2010).

Es importante recalcar que el presente trabajo busca concienciar mediante la experimentación sobre el perjuicio del consumo crónico de alcohol. Por tanto sería importante prevenir este consumo en personas que presenten mayor predisposición hacia su ingesta. Por ello es importante considerar recientes estudios que proponen la catalasa eritrocitaria como un marcador biológico de la afinidad de un organismo a consumir alcohol (Aragón y otros, 1985b; Amit y Aragón, 1988) ya que se ha demostrado que la actividad de la catalasa en sangre presenta una correlación positiva existente con el consumo posterior de alcohol. Lo que según la investigación realizada en la Tesis Doctoral de M^a Dolores Carbajal de Arrieta (Jaén, 2000) *“Los sujetos con*

historia familiar de alcoholismo (FH) presentan mayor actividad catalasa que los sujetos que no tienen una historia familiar de alcoholismo (FH'). De este modo, la relación entre catalasa e ingesta de alcohol para el primer grupo (FH*) fue significativamente mayor comparada con los sujetos (FH')."*

Por tanto, una vez investigados y corroborados los efectos negativos que acarrea el alcohol sobre la enzima catalasa y los efectos oxidantes directos que esto presenta, es importante detectar aquellas personas con mayor tendencia al consumo de alcohol. Esto permitiría la puesta en marcha de protocolos especiales para el cuidado de estas personas evitando así la ingesta crónica de alcohol y el perjuicio a la salud que esto acarrea evidenciados en este ensayo. En este sentido, sería idóneo poder llegar a alcanzar una importante labor de prevención y concienciación en la sociedad sobre el evidente efecto negativo del alcohol en el organismo humano.

4. Bibliografía:

1. *Acción Enzimática: Actividad de la Catalasa*. Vernier. p. (2013) www.vernier.com.
2. *ACATALASEMIA*. Galiano, A. (2015). Recuperado el 6 de Marzo 2015, de http://www.iqb.es/monografia/diseases/e012_01.htm
3. *Alcohol*. Gobierno de la Rioja, (2015). Recuperado el 5 de Marzo del 2015, de <http://infodrogas.org/inf-drogas/alcohol>
4. *El alcohol y el sistema nervioso - alcohol, mente y cerebro-*. Dr. Alejandro Guillermo Andersson, (2007) Instituto de Neurología Buenos Aires (1st ed., p. 7).
5. *Alcohol y metabolismo humano*. Castelló de la Plana (2002) Área de Psicobiología. Universitat Jaume I. Castelló. (1st ed., pp. 20,30)*Estudio de los factores que influyen en la actividad enzimática de la catalasa*. Amat Marco, M. & Ivars Rodríguez, A. (2013). Valencia: IES ALCÁCER. pp. 1-6.
6. *Los Beneficios de la Catalasa para la Salud*. Dr. Edward F. Group III, DC, ND (2011). *Global Healing Center*.
7. *Cirrosis: MedlinePlus enciclopedia médica*. Nlm.nih.gov, (2015). Recuperado el 11 de Enero del 2015, de <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/article/000255.htm>

8. Embryonic catalase protects against endogenous and phenytoin-enhanced DNA oxidation and embryopathies in acatalasemic and human catalase-expressing mice. Abramov, J., & Wells, P. (2011). *The FASEB Journal*, 25(7), 2188-2200.
9. *Enzyme Action: Testing Catalase Activity > Experiment #2A from Advanced Biology with Vernier > Vernier Software & Technology*. Vernier, (2015). Recuperado el 11 de Enero de 2015, de http://www.vernier.com/experiments/bioa/2a/enzyme_action_testing_catalase_activity/
10. *Ethanol (alcohol) Metabolismo: Toxicidad Aguda y Crónica*. W King, M. (2013). Recuperado el 1 de Diciembre de 2013, de <http://themedicalbiochemistrypage.org/es/ethanol-metabolism-sp.php#enzymes>
11. Ethanol-induced liver injury and changes in sulfur amino acid metabolomics in glutathione peroxidase and catalase double knockout mice. Kim, S., Lee, J., Jung, Y., Kwon, D., Park, H., & Ryu, C. et al. (2009). *Journal Of Hepatology*, 50(6), 1184-1191.
12. *Hepatopatía alcohólica (o etílica): qué es, síntomas y tratamiento*. Clínica Universidad de Navarra, (2013). Recuperado el 11 de Enero del 2015, de <http://www.cun.es/enfermedades-tratamientos/enfermedades/hepatopatia-alcoholica>
13. Increased Susceptibility to Oxidant-Mediated Tissue Injury and Peritoneal Fibrosis in Acatalasemic Mice. Fukuoka, N., Sugiyama, H., Inoue, T., Kikumoto, Y., Takiue, K., & Morinaga, H. et al. (2008). *American Journal Of Nephrology*, 28(4), 661-668.
14. *Mecanismos implicados en las conductas inducidas por el alcohol: el papel de los enzimas cerebrales responsables de metabolismo del acetaldehído*. Escarbajal, M. (2001). Jaén: Universidad de Jaén. pp. 1-46.
15. *Obstetricia clínica*. Reece, E., & Hobbins, J. (2010). Buenos Aires: Médica Panamericana.
16. *Síntomas de la enfermedad del hígado*. Robertson, S. (2014). *News-Medical.net*. Recuperado el 11 de Enero de 2015, de <http://www.news-medical.net/health/Liver-disease-symptoms-%28Spanish%29.aspx>

5. Anexo

Materiales:

- 9 Erlenmeyer (100 ml)
- 1 probeta (50 ml)
- Etanol ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$)
- Agua destilada
- Peróxido de hidrógeno (3%)
- Pipetas (25ml)
- Micropipeta
- Sensor O_2 Vernier
- Programa Logger Pro
- Ordenador
- Hígado fresco (aprox. 360 g)
- Frigorífico
- Balanza (2 cifras decimales)
- Cuchillo y tabla para cortar
- Estufa (a 37 °C)
- Vasos de precipitado (50 ml)

Método:

1. A partir de un hígado de cerdo fresco se cortan trozos rectangulares de este de 7.00-8.00.
2. Utilizando etanol y agua destilada, se preparan las siguientes concentraciones de alcohol:
 - a. 0,6% vol. Cerveza sin alcohol.
 - b. 4,8% vol. Cerveza con alcohol.
 - c. 6,8% vol. Cerveza con alcohol reserva.
 - d. 11,5% vol. Vino blanco.
 - e. 14% vol. Vino tinto.
 - f. 37,0% vol. Vodka.
 - g. 40,0% vol. Whisky.
 - h. 47,00% vol. Ginebra.
 - i. 89,00% vol. Absenta.

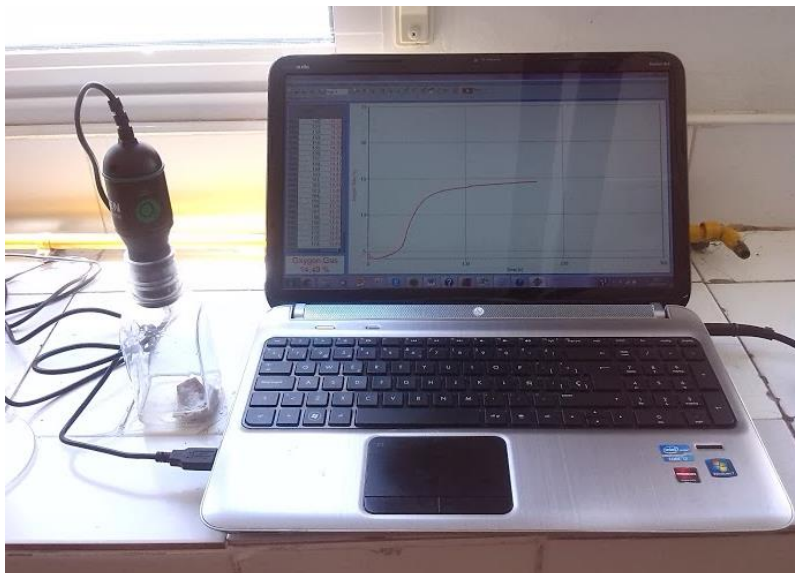
3. Preparar un dispositivo para medir la producción de oxígeno compuesto por el programa informático Logger Pro y un sensor de producción de oxígeno debidamente instalado en el ordenador.
4. Tomar las cinco medidas necesarias para la primera concentración.
5. Situar los trozos en distintos vasos y numerarlos.
6. Añadir 15 ml de la concentración del alcohol, incubar el hígado en esta disolución durante 18 minutos en una estufa a 37°C ($\pm 0.05^\circ\text{C}$)
7. Transcurrido este tiempo, sacar el hígado y retirar la disolución de alcohol.
8. Añadir 20ml de peróxido de hidrógeno al 3% en el recipiente específico para el sensor de O₂.
9. Preparado el sensor y el programa para medir la producción de oxígeno añadir el trozo de hígado previamente incubado, tapar rápidamente con el sensor y comenzar la toma de datos con el programa Logger Pro. La toma de datos se debe llevar a cabo hasta pasados los 105s y se utilizarán los 100 primeros para calcular la tasa de producción de oxígeno que se anotará bajo la masa del hígado.
10. Repetir el proceso con los siguientes 5 medidas para esta concentración y consecuentemente con las otras concentraciones de alcohol.

Imágenes:

Figura 3: Demostración del proceso de corte y peso de los trozos de hígado de cerdo que posteriormente se usan durante el experimento.



Figura 5: Dispositivo utilizado para la toma de datos brutos. Se observa el trozo de hígado de cerdo incubado llevando a cabo la descomposición del peróxido de hidrógeno, el sensor de O₂ utilizado y la recolección de datos por el programa Logger Pro. Además se aprecia una gráfica modelo de curva de producción de oxígeno según el tiempo.



Figuras 6 y 7: Materiales e instalaciones utilizados para la realización de la parte experimental del presente ensayo.



Figura 8: Estufa utilizada para la incubación, en las concentraciones de etanol indicadas, de los trozos de hígado de cerdo durante 18 minutos. Se pueden apreciar los vasos de precipitado que contienen los trozos de hígado en las disoluciones de alcohol.



Figura 9: Trozo de hígado tras la incubación donde se pueden distinguir las zonas donde el hígado ha perdido su característico color rojizo por un tono marrón, mostrando un claro deterioro de su estado normal.

