

10. Estrés oxidativo en las enfermedades neurodegenerativas

DRA. CONCHA CERDÁ MICÓ

Unidad de Endocrinología. Servicio de Análisis Clínicos. CDB Hospital General Universitario de Valencia

DRA. SILVIA BORREGO OLIVA

Médico Residente de Análisis Clínicos. Servicio de Análisis Clínicos. CDB Hospital General Universitario de Valencia.

DR. GUILLERMO SÁEZ TORMO

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Facultad de Medicina. Servicio de Análisis Clínicos. CDB, Hospital General Universitario de Valencia

RESUMEN

El sistema nervioso central juega un papel de gran importancia para el mantenimiento de la homeostasis y funciones fisiológicas de los animales. Sin embargo, sus características bioquímicas y citológicas lo convierten en un tejido vulnerable a la acción de numerosos agentes citotóxicos. Entre los mecanismos desencadenantes de neurodegeneración y muerte cerebral se encuentra el estrés oxidativo producido por la generación de especies reactivas derivadas del oxígeno molecular. Existe una estrecha relación entre el estrés oxidativo y la patogenia de las enfermedades neurodegenerativas. La acción de las hormonas contribuye y es esencial en la modulación de los efectos citotóxicos inducidos por el estrés oxidativo. En este capítulo se revisan aspectos relevantes sobre las implicaciones fisiopatológicas de este fenómeno citotóxico en las enfermedades más representativas de carácter neurodegenerativo.

ABSTRACT

The central nervous system plays a very important role in the maintenance of homeostasis and physiological functions in animals. However, its biochemical and cytological characteristics make it vulnerable to the action of different cytotoxic agents. Among the mechanisms leading to neurodegeneration and cell death, reactive oxygen species-induced oxidative stress plays a pivotal role. There is a close relation between oxidative stress and the pathogenesis of neurodegenerative diseases. Hormonal action on neuronal cells is also essential for the modulation of oxidative stress-induced cytotoxicity. In the present chapter, the pathophysiological implications of oxidative stress in most representative neurodegenerative diseases is reviewed and discussed.

1. INTRODUCCIÓN

Los seres vivos, que dependen del oxígeno para la obtención de energía metabólica en forma de ATP, producen además especies moleculares oxidantes cuya reactividad y potencial citotóxico debe ser estrictamente controlada. Dicho control se lleva a cabo por moléculas conocidas como antioxidantes. Una porción del oxígeno que respiramos se reduce, por una vía alternativa de la citocromo oxidasa, dando lugar a formas moleculares parcialmente reducidas de oxígeno (ROS, de Reactive Oxygen Species) responsables del fenómeno conocido como “Estrés Oxidativo” (EO) (figura 1)(1).

Existen numerosas situaciones en las que la formación de ROS aumenta, como ocurre en alteraciones nutricionales y metabólicas, en la exposición a contaminantes ambientales, durante procesos de sobrecarga física, o bien, en esta-

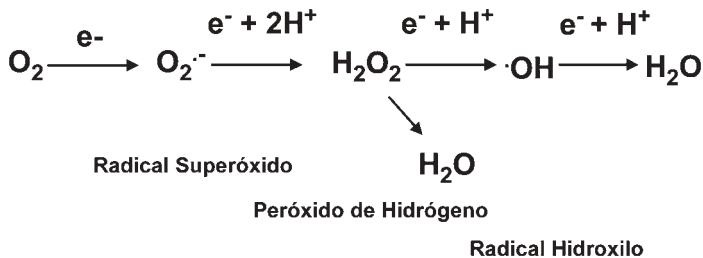


FIGURA 1. Reducción monoivalente del oxígeno molecular. El oxígeno se reduce por la vía alternativa de citocromo oxidasa por un mecanismo secuencial, monoivalente, por el que capta electrones de forma progresiva y da lugar a las especies reactivas superóxido, peróxido de hidrógeno y radical hidroxilo.

dos carenciales de las funciones orgánicas como el cáncer y el envejecimiento (2). La reactividad de los ROS les permite interactuar con macromoléculas de diversa naturaleza, entre las que se incluyen los lípidos, las proteínas y los ácidos nucleicos, modificando su estructura y su función (figura 2). Diversos procesos fisiológicos y fisiopatológicos y, especialmente aquellos de carácter degenerativo, se han visto implicados en su mecanismo patogénico con la formación de especies reactivas (3). En la actualidad, el estudio de los productos de oxidación molecular y su posible utilidad como marcadores clínicos, se presente como un aspecto prometedor de la investigación biomédica (4,5).

Para contrarrestar los efectos deletéreos del EO las células han desarrollado a lo largo de su evolución mecanismos moleculares muy efectivos conocidos como antioxidantes de los cuales existe una gama muy variada que proporciona al organismo una cobertura defensiva muy eficaz. Un antioxidante es aquella molécula capaz de prevenir y/o evitar la oxidación de otra molécula, bien por interacción y estabilización de especies reactivas, bien por la transformación de éstas en configuraciones más estables y de reactividad reducida (1,6).

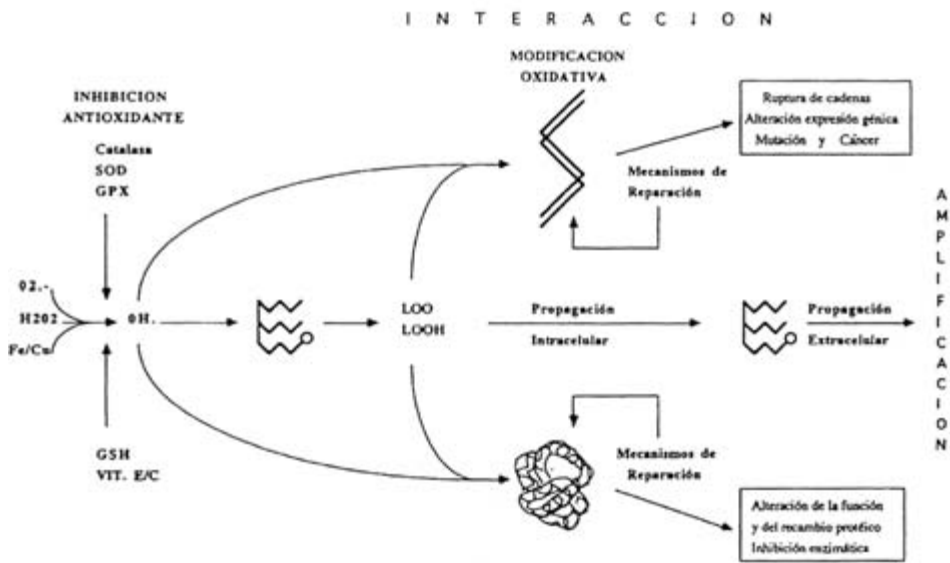


FIGURA 2. Interacción de radicales libres hidroxilo con las biomoléculas celulares y sus efectos citotóxicos. Los radicales libres hidroxilo ($\cdot OH$) atacan e inducen modificaciones oxidativas a estructuras fosfolipídicas, ácidos nucleicos y proteínas. Las consecuencias de esta interacción son muy variadas y conducen a diversas formas de distorsión metabólica. Algunos de los productos de degradación son los encargados de propagar el efecto citotóxico.

Su función homeostática es de gran importancia, ya que mantienen a las especies reactivas por debajo de sus umbrales citotóxicos. No debemos olvidar que la formación de ROS es el resultado del consumo de oxígeno, incluso en condiciones fisiológicas o controladas y se dice que, en estas condiciones, ejercen efectos reguladores de gran importancia fisiológica (1).

En términos generales, los antioxidantes biológicos pueden dividirse en dos grandes grupos de moléculas. Aquellas de estructura compleja y elevado peso molecular que constituye el grupo de las enzimas antioxidantes, y los de menor tamaño y peso molecular entre los que se encuentran las vitaminas E, C, el glutatión reducido (GSH), el ácido úrico, los carotenos, los compuestos fenólicos, etc (1,6,7). La protección antioxidante, para ser eficaz, requiere la actuación sincronizada de tres enzimas, la superóxido dismutasa (SOD), la catalasa (Cat.) y la glutatión peroxidasa (GPx). Se trata de reducir a las especies reactivas superóxido y peróxido de hidrógeno a moléculas más estables, evitando así, la formación de la especie oxigenada más reactiva, el radical hidroxilo (OH) (figura 3) (3,5). Estudios epide-

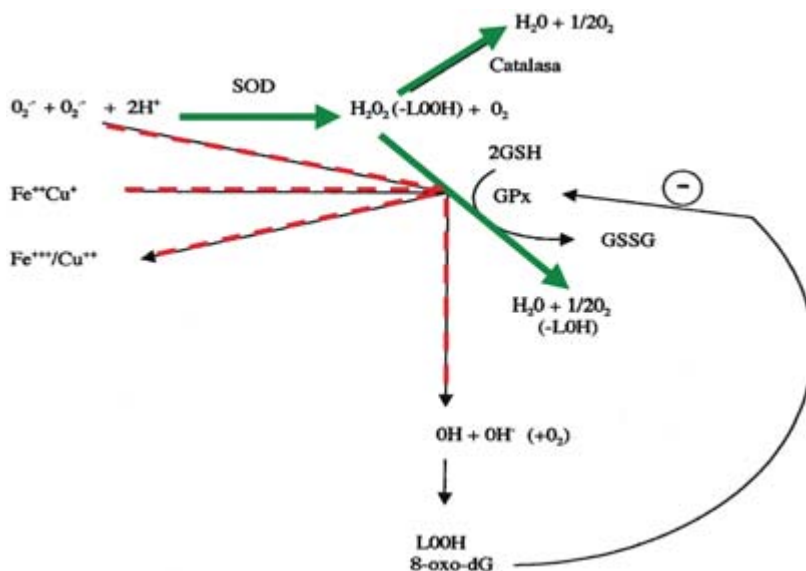


FIGURA 3. Actividad sincronizada de enzimas antioxidantes en la metabolización de radicales superóxido y peróxido de hidrógeno e inhibición de la formación de radicales hidroxilo. La actuación de la SOD junto a las actividades catalasa y Gpx de forma sincronizada (líneas continuas) es la forma más eficaz de reducir las concentraciones de superóxido y peróxido de hidrógeno. Este mecanismo defensivo tiene como principal objetivo evitar la interacción entre ambos o bien del peróxido de hidrógeno con metales de transición (líneas discontinuas) impidiendo así la formación de radicales hidroxilo a través de las reacciones de Haber-Weiss of Fenton respectivamente.

miológicos señalan que las personas que consumen antioxidantes padecen menos de enfermedades cardiovasculares (8,9), de cáncer (10) y de procesos neurodegenerativos (11,12), si bien los resultados obtenidos no están exentos de evidencias contrapuestas, lo que sugiere que para alcanzar conclusiones sólidas al respecto es necesario un mayor número de ensayos y estudios epidemiológicos (13,14).

2. ESTRÉS OXIDATIVO EN EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

Si bien la totalidad de las células aeróbicas son susceptibles de sufrir los efectos del EO, el cerebro de los mamíferos es todavía más vulnerable a la acción nociva de los ROS. Una de las razones es su alto consumo de oxígeno. En los humanos el cerebro representa una fracción reducida del peso corporal, sin embargo, su consumo de oxígeno es aproximadamente el 20% del total. El contenido de oxígeno por unidad de masa tisular es, por lo tanto, muy alta.

El cerebro adulto contiene entre 10^{11} a 10^{12} células nerviosas (neuronas), mantenidas y protegidas por un número muy superior de otras células conocidas como glía. Estas últimas desempeñan funciones de gran importancia como soporte a las funciones de las neuronas y a la fisiología en el sistema nervioso. Entre ellas se diferencian tres grupos principales de células que son, la microglía, los astrocitos y los oligodendrocitos. Los astrocitos son los encargados de colaborar con el metabolismo de las neuronas y proteger a éstas, además de estar implicados en la función de la barrera hemato-encefálica. Están presentes en las terminaciones sinápticas y en los nódulos de Ranvier (15). Los oligodendrocitos, por su parte, se encargan de la síntesis y formación de las vainas miélicas que aíslan a la mayoría de los axones. Si bien es generalmente asumida la idea de que el número de neuronas permanece constante y que éstas no se dividen, la identificación y aislamiento de células adultas regeneradoras parece abrir un nuevo concepto sobre la neurogénesis. En términos generales se asume que las neuronas están más expuestas que la glía al EO y que este fenómeno también afecta a las células de la barrera hematoencefálica.

Como se deduce del alto consumo de oxígeno del cerebro, su metabolismo energético es muy activo. La mayor parte del oxígeno que llega a las células neuronales se utiliza para su reducción tetravalente y síntesis de moléculas de ATP necesarias para mantener el gradiente iónico (concentración elevada de K^+ , baja de Na^+ y muy reducida de Ca^{++}). La bomba de Na^+/K^+ -ATPasa, es la encargada de captar y bombear posteriormente los iones Na^+ para el correcto mantenimiento de la transmisión nerviosa.

La producción de energía metabólica del cerebro depende, casi exclusivamente de la utilización de glucosa a través de la vía glucolítica y ciclo de Krebs y el requerimiento energético se estima alrededor de 4×10^{21} moléculas de ATP/minuto. El ácido láctico, que toma de la circulación o suministrado por la glucólisis anaerobia de los astrositos, puede ser utilizado como sustrato alternativo previamente convertido por la lactado deshidrogenasa NAD-dependiente. Sin embargo, como bien es sabido, el sistema nervioso es muy susceptible a la hipoglucemia ya que su contenido en glucógeno es muy reducido. De la misma forma que, al depender metabólicamente de la fosforilación oxidativa, se convierte en un órgano muy vulnerable a la hipoxia. De hecho, los inhibidores de síntesis mitocondrial de ATP, como la rotenona o el ácido 3-nitropropiónico, producido por algunos hongos, inducen neurotoxicidad y causan la muerte neuronal de animales y humanos. (16).

Las neuronas también utilizan energía para la secreción de neurotransmisores por mecanismo de exocitosis. Entre los neurotransmisores más conocidos se encuentran la dopamina, la serotonina, la noradrenalina, el gamma-aminobutirato (GABA), la glicina y el ácido glutámico. La acetilcolina es otro neurotransmisor que también se libera en las terminaciones nerviosas que inervan los músculos de contracción voluntaria. La inhabilidad de la mayoría de las neuronas para dividirse conduce a la pérdida de las funciones cerebrales cuando éstas mueren. Afortunadamente, muchas áreas cerebrales presentan cierta plasticidad cerebral. Las neuronas en cultivo son susceptibles a padecer injurias previas a la necrosis o apoptosis si se exponen a diversas toxinas que interfieren con el metabolismo energético, la presencia de especies reactivas como el peroxinitrito (ONOO^-) o el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) o bien, si se retiran del medio los factores neurotróficos. Durante el desarrollo cerebral, es crucial la regulación ejercida por diversos factores de crecimiento. Son especialmente importantes el factor de crecimiento nervioso (NGF), el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF), el factor neurotrófico ciliar, las neurotrofinas 3, 4 y 5 así como el factor de crecimiento fibroblástico (FGF). Por ejemplo, el BDNF parece estar implicado en el mantenimiento de la memoria dependiente del hipocampo. Algunos humanos poseen una mutación de este factor consistente en el cambio de valina por metionina en posición 66 que se ha sugerido ser responsable de la falta de memoria (17). Todos estos factores son capaces de proteger a las neuronas en cultivo frente a diversos tipos de lesiones o efectos citotóxicos y se sabe que, junto a esta función de soporte neuronal, actúan induciendo la síntesis de antioxidantes. En definitiva, las causas y mecanismos que hacen del cerebro un tejido especialmente susceptible a la impronta de las especies reactivas son numerosos y variados, tanto desde el punto de vista bioquímico, molecular como fisiológico (Figura 4).

1. Aumento facilitado de calcio intracelular, activación de nNOS, fosfolipasa A2 y calpains.
2. Presencia de aminoácidos excitotóxicos, incremento de especies reactivas, O₂·-, NO y liberación de glutamato.
3. Actividad mitocondrial incrementada y formación de ROS.
4. Autooxidación de neurotransmisores (Dopamina, Serotonina, L-Dopa) y depleción de antioxidantes (GSH)
5. Tasas elevadas de metales de transición en estado libre (Fe/Cu) y catálisis de la reacción de Fenton.
6. Contenido elevado de ácidos grasos polidesaturados (PUFA) en las membranas neuronales.
7. Enzimas cerebrales generadoras de H₂O₂ (Monoamino oxidasas)
8. Contenido reducido de enzimas antioxidantes, especialmente de Catalasa.
9. Efecto de las citoquinas inductores de ROS sobre la microglía y astrocitos.
10. Actividad del sistema Citocromo P450 en la biotransformación de agentes neurotóxicos.

FIGURA 4. *Implicaciones del estrés oxidativo en las enfermedades neurodegenerativas.*

3. HORMONAS Y ESTRÉS OXIDATIVO A NIVEL CEREBRAL

El efecto y las consecuencias de la administración hormonal es un aspecto de gran importancia en la respuesta de las neuronas al EO. También se sabe que las alteraciones o efectos citotóxicos que acontecen en estadios tempranos del desarrollo tienen su repercusión patológica en la edad adulta. Existe evidencia sólida sobre el efecto que induce la administración de hormonas como **los glucocorticoides (GC)** sobre el desarrollo de las distintas especies animales. Los corticoides pueden producir disfunciones cerebrales, pérdida del número de neuronas, e incremento de la densidad glial, lo que sugiere un acelerado paso hacia los cambios patogénicos que suceden durante el envejecimiento (18,19). En un estudio reciente se demuestra que las mujeres sometidas a estrés presentan telómeros acortados y mayor grado de EO, lo que apoya la idea de que los GC pueden ser la causa de un envejecimiento prematuro (20). Por otra parte, la exposición de ratas preñadas a dosis elevadas de GC (0.1mg/Kg de dexametasona) produce en las células cerebelosas de los animales recién nacidos un aumento de la apoptosis inducida por EO en comparación con las células de los nacidos de madres no tratadas hormonalmente. Este efecto se acompaña de una disminución de los niveles de catalasa del 40% en estas células cerebelosas afectadas por el EO bajo el efecto de los GC (21) Otros factores hormonales implicados en la regulación de la producción de EO y actividad de sistemas antioxidantes son **la hormona de crecimiento (GH) y el IGF-I**, si bien su papel es todavía controvertido y no exento de cierta polémica. Por un lado se ha demostrado que la administración de GH e IGF-1 ejerce un efecto protector en varios modelos experimentales de daño hepático inducido por radicales libres (22). También se ha demostrado que la cepa de ratas Mini, de-

ficitarias en GH, es más sensible a la acción de diferentes agentes hepatotóxicos (23). Sin embargo, existen otros datos experimentales que indican que las hormonas del eje somatotropo podrían ejercer un efecto pernicioso sobre la expectativa de vida y las defensas antioxidantes. Los ratones transgénicos que sobreexpresan GH presentan una expectativa de vida disminuida, una expresión fenotípica de un envejecimiento prematuro y niveles más elevados de EO, mientras que los ratones enanos Ames, que son deficitarios en GH, Prolactina y TSH, viven mucho más que los ratones normales de la misma cepa (24). Es posible que las diferencias encontradas en relación a esta disparidad de efectos por parte de la GH se deban o tengan que ver con las distintas etapas de desarrollo de los animales utilizados, ya que no es lo mismo tener niveles elevados de esta hormona desde el nacimiento que actuar con dosis fisiológicas en edades avanzadas, donde los niveles hormonales están más bajos (25).

A los **estrógenos**, sin embargo, se les atribuye funciones protectoras contra el EO con bastante unanimidad en este sentido. Por ejemplo, se ha comprobado que las mitocondrias aisladas de macho o hembras ovariectomizadas presentan mayor tasa de producción de peróxidos, mayor daño oxidativo en el DNA y menor concentración de glutatión (GSH) que las hembras intactas (26). Aunque en muchos trabajos se apunta hacia un efecto directo de estos compuestos de estructura cíclica y a sus análogos como la gínesteína como antioxidantes, las evidencias experimentales más recientes señalan, además un efecto inductor de señalizaciones moleculares que actúan induciendo la expresión de enzimas antioxidantes. La terapia hormonal sustitutiva ha demostrado tener efectos positivos sobre la reducción de la oxidación de las LDL y proteínas en mujeres postmenopáusicas (27,28). No cabe duda de que los estrógenos tienen efectos beneficiosos sobre el tejido nervioso a distintos niveles y que ejercen acciones neuroprotectoras en distintos modelos de daño neuronal como el EO, la excitotoxicidad, la hipoxia, etc. (29).

En lo que respecta al papel antioxidante de las hormonas, **la melatonina** es quizá la de acción más experimentada y reconocida. Su función más conocida es la regulación de los ciclos biológicos. Está considerada como uno de los sincronizadores internos más importantes, al modular la actividad del núcleo supraquiasmático, por que parece ser el “marcapasos central” también conocido como “reloj biológico”(30). El efecto antioxidante de la melatonina depende tanto de su acción directa sobre las especies reactivas de oxígeno y nitrógeno, como de su capacidad para inducir la síntesis de enzimas antioxidantes. La melatonina neutraliza la acción de especies reactivas como el radical. $\cdot\text{OH}$, el H_2O_2 , el $\cdot\text{O}_2$, el ión ONOO^- , el radical $\text{LOO}\cdot$, e incluso el NO a través de mecanismos

independientes del receptor. Sus propiedades lipofílicas le permiten atravesar las barreras biológicas y las membranas celulares con facilidad, difundiendo a todos los compartimentos intracelulares y llegar hasta el mismo lugar donde se generan los radicales libres para su neutralización. Además de esta acción antioxidante directa, esta hormona procedente de la glándula pineal, interviene en la síntesis y reciclaje del GSH, y en la expresión de SOD y de catalasa. Estos efectos son mediados a través de su receptor. También se ha descrito su efecto protector contra la acción de distintas toxinas bacterianas y contra la acción neurotóxica de la proteína amiloide, implicada en la fisiopatología de la enfermedad de Alzheimer (31).

4. IMPLICACIONES DEL ESTRÉS OXIDATIVO EN LAS ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS

Las enfermedades neurodegenerativas se caracterizan morfológicamente por la pérdida progresiva de células en poblaciones neuronales vulnerables específicas del sistema nervioso central asociadas, a menudo, a los agregados de proteínas que forman inclusiones intracitoplásmicas e intranucleares en neuronas y células de la glía.

Para clasificar a la mayoría de los desordenes neurodegenerativos nos basaremos en los mecanismos genéticos hasta ahora conocidos o bien nos referiremos a los componentes principales de las inclusiones de proteínas celulares, fenómenos directa o indirectamente relacionados con la formación de ROS y estrés oxidativo.

Los procesos básicos que inducen neurodegeneración se consideran multifactoriales, entre los que podemos incluir factores genéticos, ambientales y, de otro lado, se encuentran los considerados endógenos que incluyen dinámicas anormales de las proteínas como degradación y agregaciones defectuosas de las proteínas (base histopatológica principal de estas enfermedades), muchas de ellas relacionadas con el sistema ubiquitina-proteosoma, encargado de la señalización para su degradación por el componente 26S del proteosoma influyen además otros factores como el estrés oxidativo y formación de radicales libres funciones bioenergéticas y mitocondriales alteraciones de las funciones y los procesos neuroinflamatorios. Estos mecanismos que se correlacionan generalmente con los sistemas complejos que conducen a las cascadas programadas de la muerte celular tienen su papel en la patogénesis de muchas enfermedades neurodegenerativas. Los estudios de patología molecular han permitido identificar de forma específica algunas de las alte-

raciones proteicas características de cada uno de los procesos neurodegenerativos y así se asocia a la enfermedad de Alzheimer con la producción del péptido de 42 aminoácidos, amiloide, a la enfermedad de Parkinson con los depósitos de α -sinucleína, componente importante de los cuerpos de Lewy, a la proteína Tau y tauopatías y producción de ovillos neurofibrilares con la demencia frontotemporal y los desordenes de las poliglutaminas con la enfermedad de Huntington (32).

Existen estudios que relacionan la patogénesis de las enfermedades neurodegenerativas mencionadas, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, esclerosis múltiple, etc con la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y especies reactivas de nitrógeno (RNS) asociadas con disfunción mitocondrial.

El genoma mitocondrial tiene una participación esencial en la patogénesis de estas enfermedades basado en la observación del descenso en la actividad del complejo de la cadena respiratoria, defectos asociados al desequilibrio oxidante-antioxidante en los que se supone subyacen alteraciones en el metabolismo energético que inducen degeneración celular (33).

El DNA mitocondrial se localiza cerca de la membrana interna donde los ROS se producen como consecuencia de la respiración mitocondrial, y así se convierte en una de las dianas inmediatas de los ROS que llevarán al daño oxidativo y las consiguientes mutaciones. Se ha comprobado que la disfunción mitocondrial y la apoptosis intervienen de una forma muy importante en el desarrollo y progresión de las enfermedades mitocondriales y degenerativas. El DNA mitocondrial (DNAMit) al acumular mutaciones repercute en la expresión y la actividad anómala de proteínas implicadas en la síntesis de ATP desacoplando la cadena de transporte electrónico con la fosforilación oxidativa y generando más ROS. La sobreproducción de ROS por las mitocondrias disfuncionales puede causar daño oxidativo en las células produciendo alteraciones en sus funciones bioquímicas y fisiológicas y alterar los perfiles de la expresión genética llevando a las células a la apoptosis. Además el déficit de histonas protectoras en el DNAMit tiene como consecuencia la mutación y el daño oxidativo a esta molécula (34).

Los oligodendrocitos son células maduras de la glia que mielinizan axones en el cerebro y la médula espinal. Tanto en el sistema nervioso central como en el periférico, los oligodendrocitos y sus precursores son vulnerables a la inflamación, estrés oxidativo y a la elevada concentración de glutamato que puede derivar en excitotoxicidad. La excitotoxicidad está relacionada con la muerte neuronal producida por la activación de receptores de los aminoácidos excitadores

—glutamato— que provoca la entrada de calcio a la célula, a la mitocondria, disfunción metabólica y la producción de radicales libres que interfieren en una de las funciones más importantes de las mitocondrias que es el control de las vías específicas de la apoptosis. Así estas células comienzan a ser disfuncionales o mueren en múltiples patologías que incluyen enfermedad de Alzheimer, lesiones de la médula espinal, enfermedad de Parkinson, hipoxia e isquemia cerebral (35).

El estrés oxidativo (EO) es, como se ha señalado, uno de los factores predisponentes en las alteraciones neurobiológicas. La peroxidación lipídica puede causar la alteración de la membrana celular hasta llegar a su destrucción; los marcadores precoces y tardíos de la peroxidación lipídica incluyen los aductos de hexanonil —lisina (HEL), acroleína— lisina (ACR) y 4-8 hidroxinonal (4-HNE). El daño oxidativo del DNA y RNA produce 8-oxo-7,8-dihidro-2-desoxiguanosina (8-oxo-dG) y 8-hidroxiguanina (8-oxo-dGo), respectivamente, los cuales son considerados como marcadores de elección en la valoración EO y su poder mutagénico es muy elevado (1, 2, 36).

El daño oxidativo de estas biomoléculas puede contribuir a la pérdida de función o a la exacerbación del daño. El cerebro, como hemos apuntado, es particularmente susceptible al daño oxidativo por su elevado ratio de consumo de oxígeno, por su alta demanda de energía, gran abundancia de ácidos grasos poliinsaturados y lípidos y su relativa capacidad antioxidante respecto a otros órganos. Generalmente, el 2% del oxígeno consumido por las células durante la fosforilación oxidativa se convierte en ROS, sin embargo este debe ser mayor en los sujetos con deficiente fosforilación oxidativa como es el caso de la enfermedad de Alzheimer sugiriendo que el daño oxidativo puede ser un hecho precoz en la patogenia de esta enfermedad.

El ataque oxidativo del DNA por los ROS, particularmente los radicales hidroxilo, pueden conducir a fragmentaciones de las hebras, mutaciones y alteraciones del intercambio de las cromátidas y translocaciones.

Ciertas características hacen a los oligodendrocitos más susceptibles al daño oxidativo—elementos indispensables para sintetizar cantidades grandes de mielina, capa aislante que rodea a los axones y acelera la conducción del impulso nervioso. Se ha especulado que un OLD puede formar unas tres veces su peso en membrana de mielina al día durante la mielinización. Para producir y mantener este volumen, se estima que los OLDs poseen el índice metabólico más alto que cualquier célula en el cerebro. Dado que la producción de mielina es energía dependiente, grandes cantidades de ATP se consumen en el proceso que se traduce en la producción creciente de ATP y el consumo significativo de oxí-

geno. Un subproducto tóxico de la síntesis del ATP es el peróxido de hidrógeno. El peróxido de hidrógeno también es producido por los peroxisomas, que son abundantes en los OLDs debido a su necesidad de producir cantidades grandes de lípidos. Otra razón de la susceptibilidad del OLD a la oxidación es que muchas enzimas metabólicas y de síntesis de mielina requieren el hierro como cofactor (OLDs y sus progenitores tienen los almacenes intracelulares más grandes de hierro en el cerebro del adulto) mientras que el hierro es necesario para la producción de mielina, es también altamente reactivo y puede provocar peroxidación, formación de radicales libres y de lípidos. Por ejemplo, el hierro cataliza la conversión del peróxido de hidrógeno a radicales hidroxilo, que dañan directamente los compartimentos intracelulares. Paradójicamente, los OLDs tienen concentraciones bajas de glutatión (GSH), un sustrato antioxidante muy potente. Esta concentración baja de GSH permitiría que los niveles intracelulares del peróxido llegaran a ser peligrosamente elevados si se elevan también los niveles intracelulares del hierro. Así, la función del OLD pone estas células en riesgo de daño bien sea por los efectos oxidativos o por el aumento intracelular del hierro. Estas condiciones se han observado en varias entidades patológicas asociadas a pérdida de OLDs, incluyendo Esclerosis Múltiple, Enfermedad de Alzheimer, lesión de la médula espinal, hipoxia del Sistema Nervioso Central y la isquemia. (37)

4.1. La enfermedad de Alzheimer

La degeneración sináptica y la muerte de neuronas en las regiones límbica y cortical del cerebro son los procesos fundamentales responsables de la manifestación de la disfunción cognitiva y otras facultades psíquicas en la enfermedad de Alzheimer (EA). A pesar de que los factores genéticos y ambientales y el proceso de envejecimiento pueden conducir por sí mismos a las manifestaciones de EA, múltiples evidencias de estudios en modelos experimentales y en tejido cerebral de pacientes con EA demuestran que la neurodegeneración subyacente está asociada a las características morfológicas y bioquímicas de la apoptosis. A nivel celular, la apoptosis neuronal en EA se puede iniciar por el estrés oxidativo y el daño relacionado del DNA, interrupción de la homeostasis celular del calcio, o estrés del retículo endoplásmico. Los mecanismos moleculares de las cascadas bioquímicas de la apoptosis implican efectores tales como PAR4, p53, y pro-apoptóticos miembros de la familia Bcl-2, mediadores de la disfunción mitocondrial y lanzamiento subsecuente de sustratos y proteínas pro-apoptóticas, tales como Citocromo c o Factor Inductor de apoptosis (FIA), y vías

caspasa-dependiente e independientes que finalmente dan lugar a la degradación de proteínas y del DNA nuclear. La regulación de las cascadas apoptóticas es compleja e implica control transcripcional así como modificaciones post-transcripcionales de la proteína (33).

Como en la mayoría de enfermedades degenerativas, la etiología mitocondrial se puede aplicar a la etiología de la EA. La primera indicación de que la disfunción mitocondrial puede causar EA proviene del descubrimiento de que la exposición de humanos y roedores al 1-miryl-4fenil-1,2,3,4-tetrahidropiridina induce la muerte de la sustancia negra en las neuronas dopaminérgicas. Esto ha sido correlacionado con la inhibición del complejo de la fosforilación oxidativa mitocondrial y el incremento de la producción de ROS (37, 38, 39).

La EA es una alteración neurodegenerativa de aparición tardía, progresiva, relacionada con la edad, caracterizada por un deterioro progresivo cognitivo y la presencia de una sustancia llamada, amiloide, placas seniles y ovillos neurofibrilares de tau.

En la patogénia de la enfermedad está ampliamente implicada la disfunción mitocondrial que viene demostrada por la disfunción de la actividad de tres enzimas como son piruvato deshidrogenasa, isocitrato deshidrogenasa y cetoglutarato deshidrogenasa observada en cerebros y fibroblastos analizados postmortem. Recientemente se han observado defectos en procesos autofágicos de degradación de la mitocondria. (40).

4.2. La enfermedad de Parkinson

Tanto las formas familiar como la esporádica de la enfermedad de Parkinson (EP) son indistinguibles y comparten la misma característica bioquímica que es el déficit de dopamina cerebral, una reducción en la transmisión dopaminérgica dentro de los ganglios basales. En el examen microscópico hay degeneración de las células dopaminérgicas y presencia de cuerpos de Lewy en las neuronas de la sustancia negra mesencefálica que se proyectan hasta el cuerpo estriado (vía nigroestriada) pero la extensión de la pérdida neuronal no sólo se centra en el sistema dopaminérgico sino que afecta a otros neurotransmisores clásicos como el catecolaminérgico (acetilcolina) y los núcleos no catecolaminérgicos. De esta manera, los síntomas motores de la enfermedad están relacionados con los sistemas dopaminérgicos y las manifestaciones no motoras están relacionadas con las vías no dopaminérgicas

En un estudio reciente sobre la relación de la EP con el estrés oxidativo se ha procedido a establecer los siguientes mecanismos causales entre ambas entidades.

El cerebro es rico en fosfolípidos y ácidos grasos libres poliinsaturados (PUFAS) y ambos son muy susceptibles a los oxidantes.

A consecuencia del daño oxidativo a los fosfolípidos y PUFAS, la doble membrana lipídica puede resultar afectada en la EP en la que la concentración de sustancia negra está disminuida y la concentración de malonildialdehído, un producto de la oxidación lipídica, está incrementada. Otra evidencia de la oxidación lipídica en esta enfermedad es el incremento de 4-hidroxi-2-nonenal, producto lipofílico de la peroxidación de la membrana unido al ácido araquidónico. Los tipos de variante de sinucleína, la mutante y la natural, forman fibrillas de amiloide semejantes a las observadas en los cuerpos de Lewy así como oligómeros no fibrilares denominados protofibrillas a las que se ha propuesto como formas tóxicas de sinucleína. Los productos como 8-oxo-dG se han encontrado aumentados en muestras postmortem de sustancia negra procedentes de cerebros con EP.

En las neuronas es necesario un equilibrio entre la cantidad producida y la eliminada de oxidantes y este equilibrio es el que mantendrá con niveles constantes a las especies ROS y RNS en concentraciones no tóxicas. Entre los enzimas captadores de ROS, la superóxido dismutasa (SOD), considerada como la más importante, en la isoforma citosólica SOD1 no se han encontrado cambios pero sí en la isoforma mitocondrial SOD2 que muestra actividad aumentada al parecer en respuesta al exceso de ROS en la Enfermedad de Parkinson. En relación al resto de enzimas antioxidantes, catalasa, glutatión peroxidasa, muestran actividad reducida en cerebros con EP.

En una situación fisiológica, en las mitocondrias se produce el mayor consumo de oxígeno y como resultado una mayor producción de radicales superóxido al ser reducido el oxígeno a ROS; los enzimas antioxidantes como SOD2 disminuyen los niveles de ROS al mínimo, pero en el caso de defectos en la mitocondria, como se supone en el caso de la EP, este equilibrio se rompe y la cantidad de ROS generado por la cadena de transporte de electrones, cuya actividad está disminuida, se incrementa (41).

4.3. La enfermedad de Huntington

La enfermedad de Huntington (EH) es una alteración neurodegenerativa heredada con carácter autosómico dominante que se caracteriza por disfunción mo-

tora, emocional, demencia y alteración cognitiva progresiva. Se debe a mutaciones en el gen de Huntington por una expansión repetitiva de DNA (trinucleótido CAG) en el gen que codifica la proteína huntinina en su secuencia de codificación en el brazo corto del cromosoma 4. El gen normal tiene menos de 36 repeticiones mientras que el mutado tiene 40 o más repeticiones CAG. Dado que CAG es el codón para la glutamina, esta enfermedad se considera un desorden de la poliglutamina (42).

Existe una gran evidencia sobre el estrés oxidativo junto con la disfunción mitocondrial que pueden llevar a un déficit de energético de la misma. En el estudio al que nos referimos se identifican roturas de ADN en núcleos apoptóticos o necróticos en neuronas de las zonas corticales y estriadas comparadas con las encontradas en los grupos control. La oxidación del DNA tanto nuclear como mitocondrial produce el metabolito 8-oxo-dG. Los aumentos significativos en 8-oxo-dG del DNA nuclear provienen del núcleo caudado de las muestras procedentes de tejido post-mortem de pacientes afectados de EH y el proveniente del ADN mitocondrial del cortex parietal. Otros marcadores de daño oxidativo como hemo oxigenasa, 3-nitrotirosina y malonildialdehído se encuentran elevados en el córtex y núcleo estriado en pacientes que sufren la enfermedad comparados con muestras de personas sanas (43).

La disfunción mitocondrial está involucrada en la enfermedad de EH. El metabolismo de la glucosa está reducido en los ganglios basales y el córtex cerebral en pacientes sintomáticos e incluso en portadores asintomáticos como se ha visto en pruebas de imagen como PET (tomografía de emisión de positrones). Estudios bioquímicos han demostrado actividad disminuida de componentes importantes de fosforilación oxidativa y del ciclo del ácido tricarbóxílico, incluidos los complejos II-III y la aconitasa.

Otros estudios han demostrado que mutaciones en el DNA mitocondrial pueden estar relacionadas con la patogenia de la enfermedad y que estas mutaciones pueden, a su vez ser consecuencia del daño oxidativo sobre el DNA mitocondrial. La proteína mutante se localiza en la membrana externa mitocondrial neuronal, incrementa la susceptibilidad de la mitocondria al calcio y libera citocromo-c. Se observa también un aumento de la permeabilidad de la membrana y descenso de la función mitocondrial normal. Los enzimas que controlan las especies reactivas de oxígeno quedan afectados al serlo los genes que codifican SOD1, SOD2, y GPx que dan como resultado un aumento del daño oxidativo y la muerte neuronal (40).

4.4. La Esclerosis Lateral Amiotrófica

Esta enfermedad neurodegenerativa es la forma más frecuente de enfermedad progresiva de la neurona motora que comienza generalmente en la edad adulta aunque existen algunas formas de comienzo juvenil, 5-10% de los casos son familiares con una herencia autosómica dominante.

La esclerosis lateral amiotrófica (ELA) se caracteriza por la instauración de un daño progresivo celular y muerte de neuronas motoras de la médula espinal y del cerebro. La histopatología de las células muestra la presencia de inclusiones proteicas en los cuerpos neuronales y en los axones acumulos de neurofilamentos. Los pacientes desarrollan debilidad muscular, pérdida de fuerza asimétrica de desarrollo gradual, atrofia muscular e hiperreflexia.

La patogénia de la enfermedad parece ser multifactorial (44) en la que se interconexionan factores genéticos, estrés oxidativo, excitotoxicidad, agregación proteica y daño en los procesos celulares como los producidos en las mitocondrias.

La relación del estrés oxidativo se ha establecido al comparar muestras de tejido cerebral y de líquido cefalorraquídeo en muestras post-mortem que mostraron la presencia de cambios bioquímicos que, relacionados con los efectos dañinos de los radicales libres o con su metabolismo anormal, están más aumentados en los enfermos que en los controles. La hipótesis principal de estos estudios se basó en que las mutaciones alterarían la estructura de la proteína SOD1, lo que permitiría el acceso de substratos anormales en los sitios de acción del cobre que dan como resultado radicales libres, peroxinitritos y radicales hidroxilos. La nitración de los residuos de tirosina por los peroxinitritos tiene consecuencias muy dañinas para las proteínas celulares. Algunas mutaciones en SOD1 favorecen que se produzcan variantes deficientes en zinc las cuales también hacen más accesible a los lugares de fijación del cobre a substratos anormales lo cual favorece más la muerte celular (45).

El estudio del EO en las enfermedades neurodegenerativas ha arrojado datos muy importantes sobre su mecanismo patogénico. Los productos de la modificación oxidativa de moléculas orgánicas están contribuyendo al diagnóstico y seguimiento clínico de estas enfermedades. No obstante las investigaciones futuras en esta rama de la biomedicina serán de gran ayuda para la consolidación de estos conceptos y la validación definitiva de su utilidad en la praxis médica.

5. BIBLIOGRAFÍA

- (1) Halliwell, B., and Gutteridge, JMC. (2007) Free Radicals in biology and medicine. 4th Edition. Oxford University Press.
- (2) Cerdá Mico, C., Salvador Verdú, A., Ocete Mochón, M.D., Torregrosa Sánchez, R., Fandos-Sánchez, M., Sáez Tormo, G. (2009) Estrés oxidativo, envejecimiento y cáncer. En: Biogerontología médica. Coordinado por: Sastre, J. Ramón, R., Pamplona, R. Madrid. Editorial: ERGON. Depósito legal: M-22035-2009 pp. 71-85.
- (3) Sáez, G.T. (2005) Biopatología de los radicales libres. En: Mecanismos moleculares y neuroendocrinos del balance energético: Patologías. (Ana María Pascual Leone ed.) Real Academia de Farmacia de Madrid 201-224.
- (4) Salvador, A., Donderis, S., Olivares, C., Guaita, M., Espinosa, O., Rodríguez, J., Fondos, M., y Guillermo, T. Sáez. (2003) El estrés oxidativo en la patología degenerativa. Mecanismos de acción y marcadores de lesión molecular. *Revista Química Clínica*. 25: 49-57
- (5) Blankenberg, S., Rupprecht, H.J., Bickel, Ch., Torzewski, M., Hafner, G., Tiret, L. *et al.* (2003) Glutathione peroxidase 1 activity and cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *N. Engl. J. Med.* 349: 1605-1613.
- (6) Sies, H. (1986) Biochemistry of oxidative stress. *Angewandte Chem.* 25: 1058-1071.
- (7) Bors, W., Michel, C. Antioxidant capacity of flavonols and gallate esters: pulse radiolysis studies. *Free Radic Biol Med.* 1999; 27: 1413-1426.
- (8) Estruch, R., Martínez-González, M.A., Corella, D., Salas-Salvadó, J., Rúiz Gutiérrez, V., Covas, M.I., Fiol M., Gómez Gracia, E., López Sabater, M.C., Vinyoles, E., Arós F., Conde, M., Lahoz, C., Lapetra, J., Sáez, G., Ros, E. (2006) Effects of a Mediterranean-Style Diet on Classical and Novel Risk Factors for Coronary Heart Disease. THE PREDIMED Study, a Randomized Controlled Feeding Trial. *Ann Intern Med* 145:1-11.
- (9) Graf, B.A., Milbury, P.E., Blumberg, J.B. (2005) Flavonols, flavones, flavanones, and human health: epidemiological evidence. *J. Med. Food* 8: 281-290.
- (10) Sobratec, M.A., Bahorum, T., Auroma, O.I. (2006) Chemopreventive activities of polyphenolic compounds in cancer. *Biofactors* 27: 19-35.
- (11) Joseph, J., Schukitt-Hale, B., Lau, F.C. (2007) Fruit polyphenols and their effects on neuronal signaling and behaviour in senescence. *Ann NY Acad Science* 1100: 470-485.

- (12) Joseph, J., Cole, G., Head, E., Ingram, D. (2009) Nutrition, brain aging, and neurodegeneration. *J. Neurosci* 29: 12795-12801.
- (13) Bjelakovic, G., Nikolova, D., Gluud, L.L., Simonetti, R.G., Gluud, C. (2007) Mortality in randomized trials of antioxidant supplements for primary and secondary prevention: systematic review and meta-analysis. *JAMA* 297: 842-857.
- (14) Brunner, E.J., Rees, K., Ward, K., Burke, M., Thorogood, M. (2007) Dietary advice for reducing cardiovascular risk. *Cochrane Database Syst. Rev* 17: CD002128.
- (15) Fields, R.K. and Stevens-Graham, B. (2002) New insights into neuron-glia communication. *Science* 298: 556.
- (16) Zeevalk, G.D., Bernard, L.P., Song, C., Gluck, M., Ehrhart, J. (2005) Mitochondrial inhibition and oxidative stress; reciprocating players in neurodegeneration. *Antiox. Redox. Signal* 7: 1117-1139.
- (17) Egan, M.F., Kojima, M., Callicot, J.H., Goldberg, T.E., Klachana, B.S., Bertolino, A., Zaitser, D., Goldman, D., Dean, M., Lu, B., Weinberger, D.R. (2003) The BDNF val66met polymorphism affects activity-dependent secretion of BDNF and human memory and hippocampal function. *Cell* 112: 257-269.
- (18) Ceccatelli, S., Tamm, G., Zhang, Q., Chen, M. (2007) Mechanisms and modulation of neural cell damage induced by oxidative stress. *Physiology and Behavior* 92: 87-92.
- (19) Sapolski, R.M. (1996) Why stress is bad for your brain. *Science* 273: 749-750.
- (20) Epel, E.S., Blackburn, E.H., Lin, J., Dhabhar, F.S., Adler, N.E., Morrow, J.D. *et al.* (2004) Accelerated telomere shortening in response to life stress. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101: 17312-1735.
- (21) Ahlbom, E., Ggvadze, V., Chen, M., Celsi, G., Coccatelli, S. (2000) Postnatal exposure to high levels of glucocorticoids increase the susceptibility of cerebellar granule cells to oxidative stress-induced cell death. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97: 14726-14730.
- (22) Castilla-Costanza, I., García, M., Muguera, B., Quiroga, J., Pérez, R., Santidrián, S., *et al.* (1997) Hepatoprotective effects of insulin-like growth factor I in rats with carbon tetrachloride-induced cirrhosis. *Gastroenterology* 113: 1682-1691.
- (23) Shimizu, H., Uetsuka, K., Nakayama, H., Doi, K. (2001) Carbon tetrachloride-induced acute liver injury in Mini and Wistar rats. *Exp. Toxicol Pathol* 53: 11-17.
- (24) Barke, A. Is growth hormone deficiency a beneficial adaptation to aging? Evidence from experimental animals. (2003) *Trends Endocrinol Metab.* 1: 340-344.

- (25) Corpas, A.P., Harman, S.M., Blackman, M.R. (1993) Human growth hormone and human aging. *Endocr. Rev.* 14: 20-39.
- (26) Borrás, C., Sastre, J., García-Sala, D., Lloret, A., Pallardó, F.V., Viña, J. (2003) Mitochondria from females exhibit higher antioxidant gene expression and lower oxidative damage than males. *Free Radic Biol Med.* 34: 546-552.
- (27) Sack, M.N., Rader, D.J., Cannon, R.O. (2002) Oestrogen and inhibition of oxidation of low-density lipoproteins in postmenopausal women. *Arterioscler Thromb Vasc. Biol.* 22: 438-442.
- (28) Telci, A., Cakatay, U., Akhan, S.E., Bilgin, M.E., Turfanda, A., Sirvas, A. (2002) Postmenopausal hormone replacement therapy use decreases oxidative protein damage. *Gynecol. Obstet. Invest.* 54: 88-93.
- (29) Green, P.S., Simpkins, J.W. (2000) Neuroprotective effects of estrogens: potential mechanisms of action. *Int. J. Dev. Neurosci.* 18: 347-358.
- (30) Reiter, R.J. (2003) Melatonin: clinical relevance. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* 17: 273-285.
- (31) Ianas, O., Olinesku, R., Badescu, I. (1991) Melatonin involvement in oxidative processes. *Endocrinology* 29: 147-153.
- (32) Jellinger, K.A. (2003) General aspects of neurodegeneration. *J. Neural. Transm Suppl.* 65: 101-114.
- (33) Cumsee, C., Landshamer, S. (2006) Molecular insights into mechanisms of cell death program: role in the progression of neurodegenerative disorders. *Curr. Alzheimer Res.* 3: 269-283.
- (34) Liu, C.Y., Lee, C.F., Wei, Y.H. (2009) Role of reactive oxygen species-elicited apoptosis in the pathophysiology of mitochondrial and neurodegenerative diseases associate with mitochondrial DNA mutations. *J. Formos Med. Assoc.* 108: 599-611.
- (35) McTigue, D.M., Tripathi, R.B. (1008) The life, death, and replacement of oligodendrocytes in the adult CNS. *J. Neurochem.* 107: 1-19.
- (36) Hayashi (2009) Oxidative stress in developmental brain disorders. *Neuropathology* 29: 1-8.
- (37) Wallace, D.C. (1997) Mitochondrial DNA mutations and bioenergetic defects in aging and degenerative diseases. In *The Molecular and Genetic Basis of Neurological Disease*. R.N. Rosenberg *et al.*, Eds.: 237-269. Butterworth-Heinemann. Boston.

- (38) Wallace, D.C.(2005). A mitochondrial paradigm of metabolic and degenerative diseases, aging, and cancer: A dawn for evolutionary medicine. *Annu. Rev. Genet.* 39 : 359–407.
- (39) Khusnutdinova, E., Giyazova, I., Ruiz-Pesini, E., Wallace, D.C. *et. al.* (2008) A mitochondrial etiology of neurodegenerative diseases: Evidence from Parkinson's disease. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1147: 1-20.
- (40) Rajnish, K., Chaturvedi, M., Flint, B. (2008) Mitochondrial approaches for neuroprotection. *Ann. NY. Acad. Sci.* 1147: 395-412.
- (41) Zhou, Ch., Huang, Y., Przedborski, S. (2008) Oxidative stress in Parkinson's disease. A mechanism of pathogenic and therapeutic significance. *Ann. NY. Acad. Sci.* 1147,1: 93–104.
- (42) Mariani, E., Polidori, M.C., Cherubini, A., Mecocci, P. (2005) Oxidative stress in brain aging, neurodegenerative and vascular diseases: An overview. *J. Chromatog. B.*; 827: 65–75.
- (43) Stack, E.C., Matson, W.R., Ferrante, R.J. (2008) Evidence of Oxidant Damage in Huntington's Disease: Translational Strategies Using Antioxidants. *Ann. NY. Acad. Sci.* 1147: 79-92.
- (44) Shaw, P. (2005) Molecular and cellular pathways of neurodegeneration in motor neurone disease. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.* 76: 1046-1057.
- (45) Hervias, I., Beal, M.F., Mandredi, G. (2006) Mitochondrial disfunción and amyotrophic lateral Celorio. *Mucsle. Nerve* 33: 598-608.