

INSTITUTO SUPERIOR DE CIENCIAS MÉDICAS

SERAFÍN RUÍZ DE ZÁRATE RUÍZ

**TÍTULO: PAPEL DEL ESTRÉS OXIDATIVO EN LA
PATOGÉNESIS DE LAS ENFERMEDADES
NEURODEGENERATIVAS.**

AUTORES:

LESTER MANUEL SANTANA DÍAZ*

ROMMEL GUIRADO CRUZ*

GILBERTO RAÚL CASANOVA MASS*

YASSER AL HUSSAINI MORALES*

TUTOR:

MSC JESÚS ALFONSO RODRÍGUEZ. **

***.ESTUDIANTES DE CUARTO AÑO DE MEDICINA.**

**** .PROFESOR AUXILIAR DE BIOQUÍMICA MÉDICA.**

2006

RESUMEN

El estrés oxidativo constituye un factor objetivo en la patogénesis de las enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer, Enfermedad de Parkinson y la Esclerosis Lateral Amiotrófica. El Sistema Nervioso Central debido a su alto metabolismo aeróbico, la gran cantidad de ácidos grasos de compleja estructura química, el déficit de sistemas antioxidantes y los altos niveles de hierro hacen al mismo muy vulnerable al estrés oxidativo. Los radicales libres con su potente actividad oxidativa afectan importantes macromoléculas como lípidos, proteínas y en especial el ADN neuronal trayendo consigo el daño y muerte celular.

OBJETIVO GENERAL

- Argumentar el papel del estrés oxidativo en la patogénesis de las enfermedades neurodegenerativas.

OBJETIVO ESPECÍFICO

- Definir la actividad pro-oxidante del péptido b-amiloide en la Enfermedad de Alzheimer.
- Relacionar los cambios metabólicos-enzimáticos consecuentes al estrés oxidativo con el patrón neurodegenerativo de la Enfermedad de Parkinson.
- Plantear el papel del hierro como elemento clave en el daño neuronal.
- Argumentar la actividad de los radicales libres en el daño oxidativo de las principales macromoléculas y organelos neuronales.

INTRODUCCIÓN

En las enfermedades neurodegenerativas se encuentran alteraciones frecuentes y debilitantes como la Enfermedad del Parkinson (EP), Enfermedad de Alzheimer (EA), Huntington y la Esclerosis Lateral Amiotrófica (ELA). Aunque estas entidades difieren en sus características clínicas y neuropatológicas, un aspecto unificador consiste en que cada trastorno tiene un patrón específico de degeneración neuronal en las regiones relacionadas desde los puntos de vista anatómico o funcional. Son trastornos relativamente frecuentes y constituyen un problema médico y social importante. Se trata ante todo de trastornos de la parte final de la vida que se desarrollan en individuos neurológicamente normales, aunque se han reconocido formas de cada uno de ellos que se inician en la infancia. La característica más sobresaliente de este grupo de trastornos es la especificidad que muestran los procesos patológicos por tipos particulares de neuronas. La predisposición genética desempeña una función importante en la causa de los trastornos neurodegenerativos, se han propuesto también agentes infecciosos y toxinas ambientales como causa de los procesos neurodegenerativos.

En la actualidad se ha visto el papel del estrés oxidativo (EO) en la fisiopatología de las enfermedades neurodegenerativas. Como consecuencia de estos procesos, es la producción excesiva en áreas del Sistema Nervioso Central (SNC) de especies reactivas del oxígeno (ERO) y del nitrógeno que trae consigo el daño y muerte neuronal. (1)(2)

DESARROLLO

La Enfermedad de Alzheimer (EA) se caracteriza por trastornos de la capacidad cognoscitiva que es de inicio gradual pero de progreso irrefrenable. La primera manifestación clínica suele ser la alteración de la memoria de los acontecimientos recientes, en tanto que se preservan bien los recuerdos más antiguos durante la evolución de la enfermedad. La EA se caracteriza por atrofia notable de la corteza cerebral y pérdida de las neuronas subcorticales, existiendo además una deficiencia en la cantidad del neurotransmisor Acetil Colina. La base anatómica del déficit colinérgico es la atrofia y degeneración de las neuronas subcorticales, en especial las del núcleo basal de Meynert, que brindan inervación colinérgica a toda la corteza cerebral. La presencia de agregados b-amiloides es un dato constante de la EA los cuales no son más que el resultado de la segmentación proteolítica anormal de las proteínas precursoras de amiloides.(2) (3)

En especial el estrés oxidativo (EO) juega un rol clave en la fisiopatología de esta entidad neurodegenerativa. Existen varias causas por las cuales el cerebro humano esta expuesto a daños oxidativos como:

- Intenso metabolismo aerobio.
- Las membranas lipídicas de las neuronas están enriquecidas en ácidos grasos de compleja estructura química muy susceptible a la oxidación.
- El cerebro presenta bajos niveles de enzimas antioxidantes y glutatión.
- Alta concentración de hierro.(4)

Hay evidencias que apuntan hacia el incremento del estrés oxidativo en la enfermedad que nos ocupa, entre de ellas debe citarse: incremento de Fe, Al y Hg (metales de transición) en el cerebro, incremento de la peroxidación lipídica, oxidación de proteínas y ADN, incremento de productos finales de la glicosilación de avanzada, concentraciones elevadas de peroxinitritos, hemo-oxigenasa-1 y superóxido dismutasa (SOD-1) en los nudos neurofibrilares o en las placas seniles, decrecimiento de ácidos grasos polinsaturados, y capacidad del péptido b-amiloide (PBA) de generar efectos oxidativos.(5) (6) (7)

Los péptidos b-amiloides provocan la generación de ERO en especial peróxido de hidrógeno, y produce daños oxidativos en las células, lo que favorece la disfunción y muerte celular. Los PBA se insertan en la membrana plasmática de las neuronas, la inserción del PBA no es tóxica, pero de una forma inespecífica afecta la homeostasis de sustancias químicas en especial del calcio y es una fuente proveedora de radicales libres (RL). Estos últimos provocan múltiples cambios en la función de la membrana que incluyen la oxidación de lípidos, alteración estructural de proteínas, cambios en las funciones de los canales y alteración en la actividad de enzimas. Lo antes descrito favorece la entrada de calcio hacia dentro de las neuronas, por lo que aumenta la concentración intracelular del mismo y por tanto conlleva a la generación de RL y con ello a la destrucción y disfunción de organelos celulares como es el caso de las mitocondria, y trae por consecuencia la disminución en la producción de energía y la muerte celular.

En los dos mecanismos analizados se observa un denominador común y es la alteración de la homeostasis, lo cual implica la generación de radicales libres, probablemente mediado por la exitotoxicidad del neurotransmisor glutamato. (8) (9)

PAPEL DEL GLUTAMATO

El glutamato es el aminoácido más abundante y potente neurotransmisor excitatorio en el SNC. Sus efectos neurotóxicos y su función en la neurodegeneración se señalan por estimulación de los receptores en el extremo final post-sináptico, especialmente el de N-metil-D-aspartato (NMDA). La unión del glutamato a este receptor inicia la entrada de calcio a las neuronas a través de sus canales, lo que favorece una sobrecarga de calcio intracelular debido a una estimulación prolongada de los receptores de NMDA. La pérdida de la homeostasis del calcio trae como resultado la activación de una compleja cascada de enzimas, mensajeros y ERO intracelulares lo que conlleva a la muerte celular.

El flujo de calcio dentro de la neurona favorece la formación del anión peroxinitrito potente agente oxidante que favorece la oxidación de proteínas y lípidos (el 4-hidroxinonenal (HNE) mediador del estrés oxidativo e inductor de la muerte neuronal), pero además provoca daños en el ADN por corte y rompimiento de sus cadenas, que a su vez provoca la activación de la enzima reparadora sintetasa de poli (ADP-ribosa) y con ello el consumo de NAD. Simultáneamente a lo referido antes, la reposición de este último por su utilización consume energía, la cadena transportadora de electrones mitocondrial es inhibida por el peroxinitrito lo cual causa una disminución de la energía y con ello la muerte neuronal. Otra alteración que produce el aumento del calcio intracelular es que provoca la despolarización de la membrana mitocondrial, que altera la cadena transportadora de electrones y la producción de ATP. Debido al déficit de ATP, se comprometa la función de la ATPasa calcio dependiente en la membrana plasmática, ello mantiene elevada la concentración de calcio dentro de la célula y por tanto se continúa favoreciendo las transformaciones moleculares que conllevan al daño celular y de mantenerse, a la muerte celular.

Especial interés sobre el HNE en la injuria neuronal. El HNE altera el transporte de glucosa conduciendo a una falla energética, además provoca una mayor sensibilidad a la excitotoxicidad del glutamato, ya que inhibe la actividad de la ATPasa de la bomba Na-K, la cual es necesaria para mantener la polarización neuronal y por lo tanto el bloqueo de los canales de los receptores del NMDA. (10) (11) (12)

HIERRO Y ESTRÉS OXIDATIVO

Se ha comprobado que el PBA, reduce el Fe (III) a Fe (II) y al Cu (II) a Cu (I) lo que puede provocar la formación de radicales peptidil. Conociendo de la presencia de un incremento de hierro (Fe) en el cerebro pudiera pensarse que los radicales peptidil están involucrados en la toxicidad del PBA.

Existe una estrecha relación entre las altas concentraciones de Fe (ion ferroso) y la producción de especies reactivas del oxígeno, lo cual es un factor

proclive en el desarrollo de enfermedades neurodegenerativas. El Fe contiene electrones desapareados y puede ser considerado como un radical. La oxidación de Fe (II) conduce, a través de la pérdida de un electrón que es recibido por el oxígeno, a la formación de O_2^- la generación de O_2^- da origen a H_2O_2 que puede reaccionar con Fe (II) y producir OH de esta manera el Fe resulta un catalizador adecuado de la producción de intermediarios de la reducción parcial del oxígeno de alta reactividad.

Entre las reacciones químicas-Fe dependientes relacionadas con la peroxidación de lípidos, han sido ampliamente estudiadas. Como especies responsables de la iniciación de las reacciones en cadena se han propuesto tanto al OH como a Fe-oxo -especies, tales como el ión perferrilo, el ión ferrilo FeO_2 o el complejo $Fe(II)-O_2-Fe(III)$. En la etapa de propagación, el Fe interviene incrementando la velocidad de oxidación de lípidos a través de la conversión de los hidroperóxidos lipídicos (ROOH) en radicales alcoxilos($RO\cdot$) o peroxilos ($ROO\cdot$) (16) (17)

ENFERMEDAD DE PARKINSON

El parkinsonismo es un síndrome clínico que abarca cuatro aspectos cardinales:

- Bradicinesia
- Rigidez muscular
- Temblor en reposo
- Trastorno del equilibrio postural

El déficit primario en caso de la EP es la pérdida de las neuronas de la parte compacta de la sustancia negra que brindan inervación dopaminérgica al cuerpo estriado (núcleo caudado y putamen), teniendo como resultado neto la inversión del coeficiente dopaminérgico/colinérgico.

Al igual que en la EA el EO constituye un eslabón clave en la fisiopatología de la EP. Estudios epidemiológicos han encontrado un mayor riesgo de padecer EP con la exposición ambiental a factores tales como sustancias

derivadas de los procesos industriales, utilizaron de productos agroquímicos o vivir en un medio rural. Se ha demostrado que la sustancia química 1-metil-4-fenil-1.2,3,6-tetrahidropiridina(MPTP) es selectivamente tóxica frente a las neuronas dopaminérgicas nigroestriadas.

El MPTP a través de su metabolito el 1-metil-4-fenilpiridina (MPP+), produce una disfunción mitocondrial por inhibición directa del complejo I mitocondrial. Esta disfunción mitocondrial puede por sí misma dar lugar a una formación excesiva de RL. Pero también se ha descrito que la interacción con el MPP+, con la enzima NADH deshidrogenasa mitocondrial, provoca un aumento del peróxido de hidrógeno y radicales hidroxilo.(18)

METABOLISMO DE LA DOPAMINA

La dopamina, y las aminas en general, son la fuente más importante de radicales libres en el organismo. Por cada mol de amina oxidado, se forma un mol de peróxido de hidrógeno. En la EP llama la atención la posibilidad de que el estrés oxidativo inducido por la dopamina sea un aspecto básico de la vulnerabilidad selectiva de las neuronas dopaminérgicas. La autooxidación de la dopamina conduce a la producción de semiquinonas que son por sí mismas tóxicas y pueden además generar RL. Pero es aun más decisivo el metabolismo enzimático de la Dopamina, que conduce no sólo a la producción de metabolitos como el ácido homovalínico o el 3,4-dihidrofenilacético (DOPAC), sino también la formación de potentes oxidantes celulares como el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), y el $OH\cdot$. En condiciones normales, el H_2O_2 es inactivado por el glutatión (GSH) en una reacción catalizada por la enzima glutatión peroxidasa. Pero si el sistema del GSH no funciona bien, el H_2O_2 puede transformarse en el radical $OH\cdot$, desencadenándose así la peroxidación lipídica de la membrana y la muerte celular. (19) (20)

Hallazgos indicativos del estrés oxidativo en la enfermedad de Parkinson.

- Disminución del glutatión reducido en la sustancia negra.
- Aumento del hierro en la sustancia negra
- Disminución de la actividad de la enzima glutatión peroxidasa
- Aumento de la actividad de la Superóxido Dismutasa (SOD)
- Aumento de los productos derivados de la peroxidación de lípidos.
- Disminución de los ácidos grasos polinsaturados en la sustancia negra.
- Alteración del complejo I mitocondrial

En la EP se ha constatado que los niveles de hierro en la sustancia negra (SN) están elevados en una proporción FE (II) / FE (III) de 2:1, frente a un cociente 1:2 en cerebros de individuos normales de edad similar. En otros núcleos de los ganglios basales como el caudado y el putamen, en cambio, los valores son normales. El déficit de GSH puede reducir el aclaramiento de H_2O_2 y promover la formación de radicales OH, en una reacción catalizada por el hierro. El estrés oxidativo junto a las anomalías mitocondriales produce una depleción irreversible del glutatión.

La glutatión peroxidasa es una enzima encargada de eliminar el peróxido de hidrógeno del organismo, y se encuentra localizada exclusivamente en los astrocitos. Por tanto, las neuronas dopaminérgicas rodeadas de una baja densidad de células gliales estarán menos protegidas frente a la producción de peróxido de hidrógeno.

Los niveles de RNAm para la superóxido dismutasa (SOD-CuZn) son muy elevados en la SN, y se expresan fundamentalmente en las neuronas que contienen neuromelanina. Podría pensarse que las neuronas que contienen neuromelanina precisan mayor cantidad SOD CuZn para eliminar los radicales superóxido. Por otro lado, una actividad elevada de SOD en estas células podría

contribuir a una mayor vulnerabilidad de las mismas al daño oxidativo, dado el aumento en la producción de peróxido de hidrógeno.

Se han descrito alteraciones del Complejo I mitocondrial en la sustancia negra del paciente con EP. Este déficit es exactamente el mismo que ocurre en la toxicidad por MPP+, en la que existe una inhibición de la NADH-ubiquinona reductasa de la cadena transportadora de electrones mitocondrial. No se conocen los motivos por los que existe este trastorno del complejo I mitocondrial. Se plantea el aumento de los radicales libres, la depleción del glutatión, así como los altos niveles de hierro como los factores desencadenantes. El deterioro del complejo I mitocondrial se relaciona con el paso final de la muerte neuronal. El óxido nítrico (NO) ha cobrado gran interés en la lesión neuronal. El NO se produce a través de la oxidación de la L-arginina, reacción que esta catalizada por la monooxigenasa denominada óxido nítrico sintasa (NOS). La acción tóxica del NO está mediada por la formación del peroxinitrito (ONOO-) que deriva de la interacción del NO con radicales superóxido. El anión peroxinitrito además de potente molécula oxidante, al protonarse se descompone en radical hidroxilo y dióxido de nitrógeno que a su vez son potentes activadores de la peroxidación lipídica. El NO puede también inhibir la cadena respiratoria mitocondrial, fundamentalmente el complejo IV. Se ha encontrado además aumentado la expresión de NOS inducible en las células gliales de la SN de pacientes parkinsonianos. (21)

CONCLUSIONES

- El péptido b-amiloide constituye una fuente proveedora de radicales libres que afectan la homeostasis neuronal.
- Los cambios metabólicos-enzimáticos de las neuronas del área nigroestriada constituye un factor decisivo en su neurodegeneración, característico de la Enfermedad de Parkinson.
- Los altos niveles de hierro en el Sistema Nervioso Central favorecen su actividad pro-oxidante facilitando la producción acelerada de especies reactivas del oxígeno y por tanto la injuria neuronal.
- La conjugación de los altos niveles de radicales libres con el déficit de sistemas antioxidantes en el SNC es el elemento clave en el daño estructural y funcional de importantes macromoléculas que permiten el normal funcionamiento de su unidad estructural y funcional.

BIBLIOGRAFIA

1. Roca R. (2001) Medicina Interna: enfermedades del Sistema Nervioso Central 3:353-359.
2. Goodman. (1996) Las bases farmacológicas de la Terapéutica: Tratamiento de los trastornos degenerativos del Sistema Nervioso. McGraw-Hill Internacional 22:491-510.
3. Sayre LH, Smith MA, Pery G. (2001) Chemistry and Biochemistry of oxidative stress in neurodegenerative disease. Current Medicinal Chemistry 8:721-738.
4. Rotilio G, Carri MT, Rossi L, Ciriolo MR. (2004) Cooper-dependent oxidative stress and neurodegeneration. IUBMB Life 50:309-314.
5. Nourhashemi F, Gillette-Guyonnet S, Andrieu S, Ghisolfi A, Ousset PJ, Grandjean H, Pous I and et al. (2000) Alzheimer Disease: protective factors. Clin Nutr 19:643s-649s.
6. Christen Y. (2002) Oxidative stress and Alzheimer disease. Am J Clin Nutr 75:621S-629S.
7. Yatin SM, Varadajaran S, Link CD, Butterfield A. (2003) In vitro and in vivo oxidative stress associated with Alzheimer amyloid beta-peptide (1-42). Neurobiology of Aging 24:325-330.
8. Huang X, Cuajungco MP, Atwood CS, Moir RD, Tanzi RE, Bush AL. (2000) Alzheimer Disease, beta amyloid protein and Zinc. J Nutr 130:1488S-1492S.
9. Stadtman ER, Levine RL. (2002) Oxidation of cellular proteins by beta amyloid peptide. Neurobiology of Aging 23:331-333.
10. Bush IB, Huang X, Fairlie DP. (1999) The possible origin of free radicals from amyloid beta peptide in Alzheimer disease. Neurobiology of Aging 20:335-337.
11. Lauderback CM, Harris-White ME, Wang Y, Pedigo NW, Carney JM, Butterfield DA. (1999) Amyloid beta-peptide inhibits Na-dependent glutamate uptake. Life Sciences 65: 1977-1981.
12. Simmons LK, May PC, Tomaselli KJ, Fuson KY, Brigham EF, Wright S, Lieberburg W and et al. (2002) Mol Pharmacol 62:373-379.

13. Fontyecave M, Pierre JL: Iron. Metabolism, toxicity and therapy, *Bochimie* (2001); 75:767.
14. Fairweather-Tait S: Minerals. Iron. *Int J Vit Nutr Res* (2005); 63:25.
15. Searle JW, Kerr, JFR, Halliday, JW, Powell LW: Iron storage disease. *En Pathology of the Liver* (2004).
16. Halliwell B, Gutteridge JMC: Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Meth Enzymol* (1999);186:1.
17. Levine RL, Garland D, Oliver CN, Amici A, Climent I, Lenz AG, Ahn B, Shaltiel S, Stadman ER; Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Meth Enzymol* (2002); 186;464.
18. Mc Intyre RL, Roland B: Free radicals in the chronic disease (2005) 42:225. new
19. Gibb, W.R. Neuropathology of Parkinson disease and related syndromes. *Neurol. Clin.*(2004), 10:361-376.
20. Gotees, CG. Dopaminergic Agonist in the treatment of Parkinson disease. *Neurol* (2003), 13:50-54.
21. Ferrante L.I. The genetics of Parkinson disease. *Neurol* (2003); 3:7-14.