

Estrés oxidativo y neurodegeneración: ¿causa o consecuencia?

Mariana Angoa Pérez, Selva Rivas Arancibia

RESUMEN

El estado de estrés oxidativo juega un papel crucial en la fisiopatología de enfermedades neurodegenerativas, tales como: Alzheimer, Parkinson, Huntington y esclerosis lateral amiotrófica. En todas estas condiciones se han observado un incremento de marcadores de daño oxidativo, los cuales involucran oxidación de proteínas, lípidos, DNA e incluso de RNA. Una gran cantidad de evidencias indican que el incremento en la generación de especies reactivas de oxígeno, un déficit en las defensas antioxidantes, así como la disminución en la eficiencia de los mecanismos de reparación del DNA, la proteólisis, y la pérdida de regulación del sistema inmune, son factores que contribuyen primariamente al aumento de estrés oxidativo y llevan al daño cerebral progresivo. La enfermedad de Alzheimer, es un desorden de placas y marañas fibrilares, la enfermedad de Parkinson, se caracteriza por una disminución de neuronas dopaminérgicas, el mal de Huntington, en una pérdida de neuronas neocorticales, y la esclerosis lateral amiotrófica, es una enfermedad de las neuronas motoras, que difieren en las vías y estructuras involucradas. Sin embargo, dichas enfermedades también tienen características en común, que incluyen inflamación, mutaciones genéticas, agregados inapropiados de proteínas (cuerpos de

Lewy, placas amiloides), activación glial, disfunción mitocondrial y estrés oxidativo, que finalmente conducen al deterioro progresivo que presentan los pacientes con enfermedades neurodegenerativas.

En este trabajo, se discuten los factores que indican una relación entre un estado de estrés oxidativo y el proceso degenerativo que ocurre bajo condiciones neuropatológicas.

Palabras clave: radicales libres, enfermedades de Parkinson, Alzheimer, Huntington, esclerosis lateral amiotrófica.

OXIDATIVE STRESS AND NEURODEGENERATION: CAUSE OR CONSEQUENCE?

ABSTRACT

Oxidative stress plays a crucial role in the pathology of neurodegenerative diseases such as Alzheimer's Parkinson's, Huntington and amyotrophic lateral sclerosis as well. Increased markers of oxidative damage are present in such conditions. They involve protein, lipids, DNA and even RNA oxidation. Several evidences indicate that increase in reactive oxygen species, an antioxidant systems deficit, decreased repair DNA mechanisms, proteolysis and the loss of immune system regulation are contributing factors to an increased oxidative stress. All those processes ultimately lead to a progressive neuronal death and damage. Alzheimer's a neurofibrillary tangles disorder, Parkinson's disease, a decrease in dopaminergic neurons, Huntington's, a loss of neocortical neurons and Amyotrophic lateral sclerosis, a motor neuron disease, are common neurodegenerative diseases. Although these disorders differ from important pathways, they share

Recibido: 13 diciembre. Aceptado: 22 diciembre 2006.

Laboratorio de Estrés Oxidativo y Plasticidad Cerebral. Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina. Universidad Nacional Autónoma de México. Correspondencia: Mariana Angoa Pérez. Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina. Universidad Nacional Autónoma de México. Circuito Interior S/N Ciudad Universitaria. Copilco Coyoacán, 04510 México, D.F. Email: marianaangoa@gmail.com

some pathogenic features including inflammation, genetic mutations and inappropriate protein aggregates (Lewy bodies, amyloid plaques). Glial activation and dysfunction in dopaminergic, cholinergic and gabaergic systems are also common. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction that eventually lead to neuronal death play a fundamental in the progressive impairment that patients with that kind of neurodegenerative diseases show. In current review, aspects that closely associate an oxidative stress state to neurodegeneration processes occurring in some neuropathologic conditions.

Key words: free radicals, redox imbalance, Parkinson's, Alzheimer's, Huntington's, amyotrophic lateral sclerosis.

Los mecanismos de óxido-reducción desempeñan un papel importante en la fisiología de la célula, y abarcan desde renovación de membranas, fenómenos plásticos celulares, sobrevivencia de células en sistema nervioso durante etapas embrionarias, mitosis, migración celular, síntesis y liberación de hormonas, aumento en la transcripción de citocinas durante procesos inflamatorios, participación en señalización celular y mecanismos de segundos mensajeros¹. Los radicales libres (RL) y las especies reactivas de oxígeno (ROS) son normalmente generados por el metabolismo celular para la obtención de energía². Los sistemas antioxidantes eliminan las ROS para mantener un equilibrio de óxido-reducción en el organismo. En un estado de estrés oxidativo, se presenta un exceso de pro-oxidantes que no puede ser contrarrestados por los sistemas antioxidantes.

Bajo condiciones patológicas, existe un estado de estrés oxidativo donde el metabolismo celular aumenta la producción de radicales libres y ROS³ (figura 1). Las ROS producen oxidación de biomoléculas como lípidos y proteínas en la membrana celular. La oxidación de las moléculas que conforman la membrana altera su permeabilidad selectiva, lo que conduce a una pérdida del equilibrio osmótico de la célula. Todo lo anterior lleva a una entrada no controlada de sodio y agua, alterando las concentraciones de electrolitos. Cuando los propios mecanismos celulares no pueden contrarrestar estos cambios, se inicia una cadena de reacciones que involucran alteraciones de los canales iónicos, aumento en la liberación de calcio⁴ y en la producción de óxido nítrico (ON). El aumento en los niveles de calcio y ON estimula la producción de interleucinas inflamatorias causando gliosis e incrementando el estado de estrés oxidativo⁵. Las ROS también activan al factor nuclear κ beta (NF κ B), produciendo una alteración en la regulación del sistema inmune.

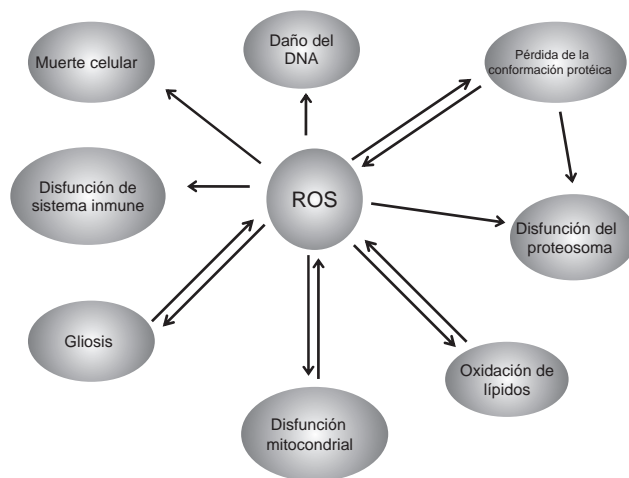


Figura 1. Efectos de las especies reactivas de oxígeno en el cerebro.

Una gran cantidad de evidencias indican que el incremento en la generación de ROS, y un déficit en las defensas antioxidantes⁶, así como la disminución en la eficiencia de los mecanismos de reparación del DNA y la proteólisis, además de pérdida de regulación del sistema inmune, son factores que contribuyen primariamente al aumento de estrés oxidativo y llevan a daño cerebral progresivo.

Las modificaciones en las proteínas, como carbonilación, nitración y unión cruzada proteína-proteína, se asocian por lo general con pérdida de función y pueden llevar por un lado al desdoblamiento y degradación de las proteínas dañadas, o por el otro, a su agregación, resultando en acumulación como inclusiones citoplásmicas, tal como se observa en las enfermedades neurodegenerativas⁷.

Las proteínas oxidadas son de alta sensibilidad a la degradación por el proteasoma⁸. Sin embargo, se ha demostrado que el incremento de proteínas oxidadas se asocia con una pérdida de actividad del proteasoma⁹, el cual representa la fuente principal de la degradación de las proteínas oxidadas. Más aún, otros estudios han sugerido que las proteínas oxidadas prolongadamente son más resistentes a la degradación por el proteasoma¹⁰.

Los productos de la oxidación de lípidos incluyen los lipoperóxidos como malondialdehído y 4-hidroxi-2-trans-nonenal (4HNE). La neurona se deshace del 4HNE es por medio de su conjugación al glutatión (GSH), reacción que es catalizada por la enzima glutatión-S-transferasa, seguida por la acción de la proteína 1, que remueve el complejo GSH-4HNE de la célula¹¹.

Las mitocondrias también son reguladores críticos de la muerte celular; existen fuertes evidencias de

que las disfunciones mitocondriales ocurren de forma temprana y actúan causalmente en la patogénesis de las enfermedades neurodegenerativas³. Las neuronas en el cerebro son bastante vulnerables a alteraciones metabólicas, por lo que una disminución en la producción de ATP por la mitocondria, pone en riesgo la viabilidad tanto de las mismas neuronas como de las células gliales, lo cual trae como consecuencia una alteración de la neurotransmisión y de las funciones normales del cerebro. El estrés oxidativo lleva a una pérdida de regulación de los niveles de calcio, por un aumento masivo de entrada de este ion a la célula, produciendo falla mitocondrial y liberación del calcio secuestrado en la mitocondria. De igual manera, una generación anormal e incrementada de ROS por la mitocondria también pone en riesgo la viabilidad celular, pues muchos mecanismos amortiguadores pueden verse sobrepasados¹².

Aunque la enfermedad de Parkinson, la esclerosis lateral amiotrófica, la enfermedad de Alzheimer, y el mal de Huntington difieren en las vías involucradas, también tienen características en común, que incluyen inflamación, mutaciones genéticas, agregados inapropiados de proteínas (cuerpos de Lewy, placas amiloides), activación glial, disfunción mitocondrial y estrés oxidativo¹³. Estos procesos finalmente conducen a la muerte neuronal y desempeñan un papel fundamental en el deterioro progresivo que presentan los pacientes con enfermedades neurodegenerativas¹⁴. En este artículo, se revisa el papel del estrés oxidativo en los mecanismos de daño progresivo que ocurren en cada una de las enfermedades antes mencionadas.

ESTRÉS OXIDATIVO E INFLAMACIÓN

El proceso inflamatorio es considerado un proceso de defensa del organismo contra la infección o el daño y tiene como finalidad restablecer la integridad tisular.

En las enfermedades neurodegenerativas la inflamación ocurre como una respuesta localizada, en la cual los astrocitos y la microglia activada desempeñan un papel fundamental. Aún no está claro, cuando en estas patologías la respuesta inflamatoria pierde su regulación y deja de ser un proceso de defensa y reparación para convertirse en un factor poderoso de destrucción neuronal. Algunos procesos clave en la activación del sistema inmune son la presencia de astrocitos reactivos, microglia y macrófagos del parénquima cerebral y de microglia activada alrededor de placas de beta-amiloideas, así como el aumento en la fagocitosis y la liberación de mediadores inflama-

torios como citocinas, interleucinas y ciclo-oxigenasa 2, una enzima clave en la formación de prostaglandinas en el cerebro¹⁵. Todas estas respuestas son y se mantienen activadas durante el estado de estrés oxidativo que lleva a las neuronas a un círculo vicioso de muerte, destrucción y estrés oxidativo, que por la pérdida de la capacidad de las defensas antioxidantes se vuelve imposible de romper.

Por otra parte, se ha demostrado que la fagocitosis de neuronas apoptóticas induce a la glia y estimula a las células microgliales a cambiar su fenotipo y a secretar factor de crecimiento nervioso, factor de crecimiento transformante β , prostaglandina E_2 e IL-10. Este proceso parece ser dependiente de la interacción de aminofosfolípidos como la fosfatidilserina, la cual se externaliza durante el proceso apoptótico. Las células de la microglia tienen receptores a fosfatidilserina, y estos receptores parecen ser uno de los factores clave en el control de la activación de la microglia¹⁶. Estudios epidemiológicos han demostrado que el uso de tratamientos con drogas anti-inflamatorias no esteroideas (NSAIDs) protegen contra las enfermedades de Alzheimer y Parkinson por inhibición de la ciclo-oxigenasa 2¹⁷, en particular de su forma inducible, sugiriendo que existen efectos de reducción del depósito de β -amiloides, que más que estar regulados por la inhibición de la COX por los NSAIDs, parecen estar mediados por la activación del receptor β activado por la proliferación de peroxisomas, la inhibición de señales de vías Ras y la interacción con presenilina 1¹⁸.

La activación del sistema inmune contribuye a limitar el proceso de daño; no obstante, la pérdida de su regulación hace que estas mismas respuestas contribuyan a una condición patológica manteniendo un proceso de destrucción celular progresivo como ocurre en las enfermedades neurodegenerativas.

ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

La enfermedad de Alzheimer (EA), es un trastorno neurodegenerativo relacionado con la edad, está caracterizada clínicamente por la pérdida progresiva de la memoria y las funciones cognitivas, lo cual resulta en una demencia severa¹⁹. La EA es la causa más común de demencia en personas mayores de 60 años. Neuropatológicamente, la EA se define por la acumulación de dos tipos de material fibroso: el péptido β -amiloide extracelular depositado en las placas seniles y las marañas neurofibrilares intracelulares compuestas de manera importante por la proteína *tau* anormal e hiperfosforilada. Las marañas neurofibrilares

están presentes en regiones correspondientes al hipocampo y la corteza cerebral. Se han propuesto varias hipótesis para explicar la patogénesis de la EA, entre las que incluyen: la cascada amiloide, excitotoxicidad, estrés oxidativo e inflamación²⁰.

Varias líneas de investigación han implicado al estrés oxidativo y daño por radicales libres en la etiología y patogénesis de la EA. Este daño incluye una asociación de defectos en el metabolismo energético y la compensación de las enzimas antioxidantes²¹.

Desde hace algunos años, las investigaciones se han centrado en los defectos de la cadena respiratoria mitocondrial para dilucidar el papel de las mutaciones en el DNA mitocondrial y de la combinación de la expresión de genes de DNA nuclear y mitocondrial²².

Hay estudios que reportan la presencia de glicosilación en las marañas neurofibrilares y en las placas seniles²³, modificaciones lipoxidativas en proteínas²⁴, modificaciones en neurofilamentos inducidas por grupos carbonilo y nitrotirosina²⁵ en neuronas hipocámpales con EA (cuadro 1). También se reportaron estudios que indican la presencia de un estado de estrés oxidativo regionalizado en cerebros con EA, sobre las bases de una cuantificación de daño en proteínas y DNA²⁶. Más aún, existen evidencias de un incremento en la oxidación de RNA²⁷ y peroxidación de lípidos²⁸ en la EA.

El peróxido de hidrógeno, una de las especies reactivas clave como mediadora de estrés oxidativo, es generada durante la agregación de las proteínas amiloides asociadas a algunas enfermedades neurodegenerativas. El peróxido de hidrógeno es catalíticamente convertido en el radical hidroxilo altamente agresivo en presencia de Fe(II) y Cu(I), el cual vuelve a las proteínas amiloidogénicas (β -amiloides y α -sinucleína) vulnerables al ataque por el radical hidroxilo.

Se han identificado blancos específicos de la oxidación de proteínas en la EA, como la modificación por 4HNE, de un transportador de glutamato (GLT1) involucrado en la regulación de los niveles de glutamato dentro de la célula. El resultado es el incremento de glutamato extraneuronal debido a la modificación oxidativa de gltl, lo cual eventualmente puede llevar a la pérdida de función del transportador y a muerte neuronal por excitotoxicidad²⁹.

Algunas preparaciones de cerebros de roedor tratadas con péptido β -amiloide también llevan a la modificación oxidativa del transportador GLT1 por 4HNE, lo cual sugiere una relación directa entre el estrés oxidativo mediado por β -amiloides y un mecanismo potencial de neurodegeneración³⁰.

Proteínas oxidadas en la enfermedad de Alzheimer	Lóbulo infoparietal	Hipocampo
Enzimas relacionadas con la producción de energía	CK, enolasa, TPI, PGM1, LDH	Enolasa, TPI, GAPDH, PGM1
Proteínas relacionadas con neurotransmisores	EAAT2, GS	
Proteínas relacionadas con el proteasoma	UCHL1, HSC71	UCHL1
Sistema colinérgico	Neuropolipéptido h3	
Proteínas relacionadas con la regulación de pH		CA2 II
Proteínas estructurales	DRP2, β -actina	
Fosforilación de <i>tau</i> y producción de β -amiloides		Pin 1
Anormalidades sinápticas y LTP		Gamma-SNAP
Anormalidades mitocondriales		ATP sintasa cadena alfa VDAC-1

Cuadro 1. Proteínas modificadas por oxidación en el cerebro con la enfermedad de Alzheimer. CK= creatina cinasa, TPI=triosa fosfato isomerasa, PGM1= fosfoglicerato mutasa, LDH= lactato deshidrogenasa, GS= glutamina sintetasa, UCHL1= ubiquitina carboxi terminal hidrolasa, HSC71=proteína de choque térmico 71, DRP2= proteína 2 relacionada a dihidropirimidinasa, Pin1=peptidil-prolil-cis-trans-isomerasa, Gamma-SNAP= gamma-proteínas solubles asociadas a NSF, VDAC= canal aniónico dependiente de voltaje, EAAT2=GLT1= transportador de aminoácido excitatorio.

En el cerebro con EA, se ha encontrado que el 4HNE está unido a la glutatión-S-transferasa y a la proteína 1, produciendo una reducción de la actividad de estas proteínas. Esta evidencia apoya la idea de que las modificaciones oxidativas llevan a una pérdida de la funcionalidad y a la acumulación de 4HNE en el cerebro con EA.

Los procesos inflamatorios también modulan la patogénesis de la EA³¹. El factor de crecimiento transformante- β (TNF- β) y el sistema del complemento participan en la modulación de procesos tales como activación de la microglia, estrechamente involucrados en la EA¹⁴.

¿Cuál es la fuente de ROS en la EA?

A pesar de la amplia documentación de daño oxidativo en la EA, las fuentes del incremento de ROS responsables de iniciar dicho daño aún permanecen poco claras.

Algunos candidatos son:

a. La microglía activada, como aquella presente alrededor de las placas seniles, ya que es una

fuelle de óxido nítrico y superóxido, los cuales reaccionan para formar peroxinitritos.

b. Los depósitos de proteínas β -amiloides, debido a que estos promueven la generación de ROS por su conjugación con metales de transición o por su interacción con receptores de superficie que participan en la respuesta inflamatoria²⁰.

c. El estrés oxidativo puede modificar proteínas por los productos finales de glicación y lipoxidación avanzada (AGEs y ALEs, respectivamente), lo cual puede activar receptores de superficie, como los RAGE³², y al receptor *scavenger* tipo A, para inducir un incremento en la producción de ROS^{33, 34}. Los AGEs y ALEs también pueden unirse a iones metálicos, lo cual da como resultado un incremento autocatalítico de ROS²⁰.

ENFERMEDAD DE PARKINSON

La enfermedad de Parkinson (EP) es un desorden neurodegenerativo muy común que se caracteriza por la pérdida progresiva de las neuronas dopaminérgicas de la sustancia negra y la concomitante pérdida de terminales nerviosas dopaminérgicas en el caudo-putamen, que es la principal área de proyección de las neuronas de la sustancia negra. Los pacientes con EP presentan tembor en reposo, movimientos lentos (bradiquinesia), rigidez, e inestabilidad postural.

Acompañando esta pérdida de neuronas se encuentra la acumulación de cuerpos de Lewy, inclusiones proteínicas intracitoplásmicas que contienen α -sinucleína, sinfilina-1, componentes de la vía proteosómica de ubiquitina y parkina. Existen anomalías bioquímicas en el cerebro con EP, tales como deficiencias en el complejo I mitocondrial, disminución extracelular de tioles, incremento del hierro oxidante (Fell) en la sustancia negra, así como daño oxidativo, que incluye oxidación de DNA, nitración e incremento en grupos carbonilos de proteínas, en especial en la sustancia negra³⁵. Los cuerpos de Lewy en la EP son inclusiones filamentosas intraneuronales que se encuentran por lo general en la sustancia negra. Estas inclusiones contienen neurofilamentos fosforilados y una proteína llamada α -sinucleína.

En la actualidad, existen evidencias de las propiedades agregatorias de la α -sinucleína y su posible asociación con un estado de estrés oxidativo presente en la EP²⁰. Una de estas evidencias es la noción de que los agregados tipo amiloide de la α -sinucleína³⁶, similares a aquellos observados *in vivo*, son inducidos por co-incubación con cobre (II), Fe/peróxido de hidrógeno, o citocromo c/peróxido de hidrógeno²⁰.

Muchas de las características motoras que definen la EP resultan primariamente de la pérdida de las neuronas de la sustancia negra. Hasta el momento, la droga más potente para el tratamiento de la EP es la L-dopa. Sin embargo, las complicaciones motoras de la administración crónica de L-dopa han emergido como una limitación mayor en el tratamiento. Es por eso que las terapias neuroprotectoras que retrasen la progresión de la enfermedad pueden retardar también la necesidad de L-dopa. No hay suficiente evidencia de que la terapia con L-dopa impida la muerte progresiva de las neuronas nigroestriales, sino que por el contrario, se especula que puede contribuir al curso progresivo de la enfermedad³⁷.

En los años pasados, se han aportado nuevos conocimientos acerca de los mecanismos de neurodegeneración presentes en la EP. Las deficiencias en la función mitocondrial, el incremento del estrés oxidativo, apoptosis, exitotoxicidad e inflamación son parte de los procesos que eventualmente resultan en neurodegeneración.

a. La dopamina como fuente de ROS en el SNC

Las ROS generadas por la oxidación de dopamina han sido implicadas en la destrucción de neuronas relacionadas con la edad y otros procesos neurodegenerativos como la EP³⁷.

A la fecha, se han propuesto dos mecanismos por medio de los cuales la DA estimula la producción de ROS. Estos dependen de la presencia o ausencia de mediadores enzimáticos. La DA de la sustancia negra y el estriado es diseminada por la enzima monoamino oxidasa (MAO), que se localiza en la membrana externa de la mitocondria. Esta reacción da como resultado la producción de radicales superóxido e hidroxilo, además de peróxido de hidrógeno^{38, 39}.

Otro derivado de la DA es el 1,2,3,4 tetrahidropapaverolin (THP), que se obtiene del catabolismo enzimático. El THP por sí mismo es capaz de inducir necrosis en células de neuroblastoma y está relacionado con la patogénesis de la enfermedad de Parkinson⁴⁰.

Los derivados del metabolismo de la DA actúan como proneurotoxinas en el desarrollo de la EP. Ciertos componentes del humo de tabaco pueden reaccionar con estas proneurotoxinas impidiendo su activación. Este hecho puede explicar el efecto benéfico del hábito de fumar en la incidencia de Parkinson⁴¹.

b. La auto-oxidación de la DA

Como se mencionó con antelación, otro mecanismo por medio del cual la DA puede contribuir a la formación de ROS es la auto-oxidación espontánea. La DA es una molécula con un grupo catecol, el cual

puede oxidarse con facilidad de manera no enzimática para formar una serie de especies electroquímicas tipo quinoides⁴¹.

El paso inicial en la oxidación de la DA involucra una reacción con el oxígeno molecular para formar DA-o-quinona y dos moléculas de anión superóxido. La formación de los aniones superóxido durante la auto-oxidación de la DA lleva a la producción de peróxido de hidrógeno por la dismutación del superóxido⁴¹.

c. Estrés oxidativo mediado por hierro en la sustancia negra con EP

Existen cantidades altas de anomalía en el hierro y estrés oxidativo en la EP²⁰. El incremento del hierro total no necesariamente implica un estado de estrés oxidativo siempre y cuando existan proteínas que almacenen al hierro en su forma inerte, tales como la ferritina. La entrada y liberación de hierro por la ferritina ocurre cuando el hierro cambia a estado más activo y entra a la reacción de fenton para generar el radical hidroxilo. El hierro se acumula en los astrocitos de la sustancia negra de ratas viejas, al mismo tiempo que existe un incremento en la tasa de Fe(III)/Fe(II) y una disminución de glutatión. Una interpretación es que el secuestro por la mitocondria del Fe(II) en la astrogliosis de la sustancia negra durante el envejecimiento, puede ser un factor que predispone el cerebro senescente a la EP²⁰.

Además, existen evidencias de que la pérdida intracelular del balance redox resulta en una oxidación aberrante de dopamina en 6-hidroxidopamina, la cual a su vez puede sufrir una auto-oxidación para formar quinonas y simultáneamente, generar superóxido. Esta reacción en cascada, ya sea por sí misma, o amplificada por la generación de ROS, puede explicar la pérdida neuronal como resultado final.

La DA-o-quinona luego sufre una ciclización intramolecular para formar 5,6-dihidroxi-quinolina, que es subsecuentemente oxidada por la DA-o-quinona para formar dopaminocromo. Este compuesto sufre un rearrreglo para formar 5,6-dihidroxi-indol, que a su vez se oxida en una quinona de indol. El siguiente proceso de polimerización lleva por último a la generación de un pigmento oscuro denominado neuromelanina. La aparición oscura de la sustancia negra se debe a la presencia de este pigmento, que contiene productos derivados de la oxidación de la cisteinil-DA⁴¹.

Cuando la auto-oxidación de la DA tiene lugar en presencia de L-cisteína, la DA-o-quinona sufre un ataque nucleofílico por el grupo tiol del aminoácido para formar cisteinil-DA. Este hecho difiere de la oxidación normal de la DA para formar neuromelanina⁴¹.

El hierro y la actividad de la MAO están incrementados en la EP. Estos están asociados con auto-oxidación de la dopamina y su desaminación por la MAO, lo cual resulta en la generación de especies reactivas de oxígeno y radicales libres que promueven el inicio de estrés oxidativo para inducir neurodegeneración. Se ha demostrado que los quelantes de hierro así como los inhibidores de la MAO resultan protectores en algunos modelos de EP, como la 6-hidroxidopamina y el MPTP³⁹.

ESCLEROSIS LATERAL AMIOTRÓFICA

La esclerosis lateral amiotrófica (ELA) es una enfermedad degenerativa de curso progresivo que afecta a las células del asta anterior y a la vía cortico-espinal, y que se manifiesta principalmente con debilidad muscular, amiotrofia e hiperreflexia²⁰.

Una de las teorías que explican la muerte selectiva de las neuronas motoras en la ELA incluye un estado de estrés oxidativo acompañado de daño mitocondrial, y daño celular mediado por microglía y glutamato¹⁴.

La ELA familiar es un desorden heredado de las neuronas motoras, que se encuentra asociado con mutaciones sin sentido en el gen de la enzima superóxido dismutasa tipo 1 (Cu, Zn-SOD)⁴². La SOD1 es bastante abundante y comprende cerca del 1% de las proteínas totales en cerebro. Se expresa ubicuamente en varios tipos celulares y en cantidades casi siempre altas. La función de la SOD1 es convertir el superóxido (oxígeno con un electrón extra) en peróxido de hidrógeno u oxígeno molecular en dos pasos, uno de los cuales requiere al cobre como catalizador.

Aunque la SOD1 mutante de ELA familiar y la enzima sin mutaciones presentan una actividad idéntica de dismutación del superóxido, se ha demostrado que la formación del radical hidroxilo está incrementada con la mutante⁴³. Los análisis estructurales de la SOD mutante revelaron alteraciones sutiles de asimetría en sus subunidades. Se sugiere una menor afinidad por el cobre, con una consecuente fuga de este ion. Existe un incremento de eventos mediados por el radical hidroxilo en presencia de SODs mutantes⁴⁴, lo cual apoya la liberación de cobre y el daño oxidativo observado *in vivo*. Esta actividad altamente generadora de radicales libres por parte de la SOD1 mutante facilita la liberación de iones de cobre de la propia enzima²⁰.

Sin embargo, algunos estudios con otras variantes de mutantes de SOD no exhiben la "ganancia de

función", puesto que no existe un incremento de radicales hidroxilo. Por lo tanto, una alternativa a la teoría de la "ganancia de función", es que el daño oxidativo *in vivo* puede reflejar la competencia entre SODs mutantes y otras enzimas de unión a Cu/Zn, lo cual resulta en una fracción disminuida de la enzima activa y por lo tanto, en un amortiguamiento insuficiente de superóxido²⁰.

La reacción de las mutantes con peróxido de hidrógeno potencia la fragmentación de DNA y el aumento en la peroxidación de lípidos. El elevado grado de estrés oxidativo de las macromoléculas está mediado en las mutantes por una combinación de actividades altamente generadoras de radicales libres y una reacción de tipo fenton con iones de cobre liberados de las SODs dañadas por oxidación⁴³.

Los astrocitos con SOD1 mutante exhiben una disfunción del transportador de glutamato, lo cual puede acelerar el desarrollo de la enfermedad. El único transportador de glutamato conocido en médula espinal es EAAT2, y está presente sólo en astrocitos. El bloqueo de los transportadores de glutamato lleva a una acumulación excesiva de glutamato en la hendidura sináptica, lo cual causa un aumento en la entrada de calcio por último, muerte de las neuronas motoras¹⁴.

El fármaco más usado hasta el momento para tratamiento de la ELA es el riluzol, un benzotiazol que se ha relacionado con la disminución de la acción excitadora que ejerce el aminoácido glutamato sobre las neuronas. En concordancia con el estado de estrés oxidativo presente en la enfermedad, algunos autores recomiendan asociar al tratamiento con riluzol, una combinación de vitaminas antioxidantes y creatina.

ENFERMEDAD DE HUNTINGTON

A diferencia de los desórdenes neurodegenerativos con antelación discutidos, la enfermedad de Huntington (EH) está completamente determinada en el ámbito genético. La condición es autosómica dominante y resulta en el deterioro de neuronas del caudado y putamen, con un inicio posterior y desarrollo progresivo de anormalidades conductuales, alteraciones cognitivas y movimientos espasmódicos involuntarios. Todas estas características clínicas son manifestaciones físicas de una mutación genética en el cromosoma 4, que produce una expansión anormal de repeticiones CAG en la región codificante del gen que codifica la proteína "huntingtina". A pesar de la identificación del defecto genético, el papel de la huntingtina mutante en la degeneración neuronal, como factor que

vuelve vulnerables las neuronas estriatales, permanece poco claro. Las evidencias apuntan a una ganancia de función de la huntingtina, la cual involucra defectos energéticos, daño oxidativo y excitotoxicidad⁴⁵.

Un rasgo característico de la EH es la producción proteolítica de fragmentos N-terminales de huntingtina que contienen repeticiones de poliglutamina, los cuales forman agregados ubiquitinados en el núcleo y el citoplasma de las neuronas afectadas.

El mecanismo por el cual la huntingtina causa neurodegeneración no está bien entendido. Sin embargo, existen evidencias de que los estímulos oxidativos pueden potenciar la agregación de huntingtina poliglutaminada e inducir muerte neuronal⁴⁶. Los estímulos oxidativos también llevan a una rápida disfunción del proteasoma, y se ha observado que la sobre expresión de enzimas antioxidantes como la SOD logra atenuar el daño. Esto sugiere que la disfunción del proteasoma inducida por estrés oxidativo puede estar ligada a la muerte neuronal inducida por la huntingtina poliglutaminada⁴⁶.

También se ha postulado que la disfunción de la mitocondria y el estrés oxidativo pueden jugar un papel significativo en la etiología de la enfermedad. En este sentido, se han detectado marcadores de daño oxidativo en cerebros de pacientes con EH y en modelos animales de EH. Estos marcadores incluyen altas concentraciones de lípidos peroxidados, nitrotirosina, malondialdehído⁴⁵ y daño oxidativo en DNA⁴⁷ y anormalidades en el metabolismo del triptofano⁴⁸.

Además, los modelos de animales transgénicos con EH exhiben muchas de las características del fenotipo humano, y se caracterizan por una producción de radicales libres.

Existen evidencias indirectas de alteraciones de agentes que potencian la producción de energía, tales como la coenzima Q₁₀ y creatina.

De los candidatos terapéuticos potenciales para el tratamiento de la EH se encuentran la miociclina y antioxidantes como la coenzima Q₁₀. En modelos animales de EH, se ha demostrado que la combinación de ambos fármacos provee mejoras significativas⁴⁹.

La activación de la caspasa-1: una vía común de neurodegeneración.

Se ha demostrado que el daño oxidativo a través de estrés oxidativo y/o disfunción mitocondrial en las enfermedades neurodegenerativas antes mencionadas culmina con muerte neuronal⁵⁰. La caspasa 1, una proteína que media procesos de muerte de tipo apoptótica, parece ser una vía común que se activa en procesos neurodegenerativos¹⁴.

Cualquier clase de estímulo estresante, tal como exposición a ROS o incremento del calcio extracelular pueden inducir un cambio en la permeabilidad de la membrana mitocondrial, lo cual lleva a edema y a una declinación del potencial de membrana mitocondrial⁵⁰. Estos cambios conducen a una liberación de factores apoptóticos como las caspasas 3, 9, y eventualmente a muerte celular. Existen evidencias que sugieren la

activación de la caspasa 1 como un factor temprano desencadenante de apoptosis neuronal. La proteína Rip2, es un activador de la caspasa 1 inducido por estrés. Una vez activada, la caspasa 1 media el colapso mitocondrial⁵⁰. A medida que el daño neuronal progresa, se incrementa la transcripción de la caspasa 1, y también se incrementan la IL-1 β , TNF α y radicales libres, los cuales afectan a las células vecinas (figura 2).

La microglía y astrositos reactivos median a su vez procesos inflamatorios y otras vías de muerte neuronal¹⁴.

CONCLUSIONES

Las neuronas son altamente sensibles al estrés oxidativo, el cual actúa a diferentes niveles activando una serie de vías relacionadas con daño oxidativo y apoptosis, además de activar un proceso inflamatorio no específico.

El grado de deterioro en las enfermedades neurodegenerativas está correlacionado con la degeneración y subsiguiente pérdida de poblaciones neuronales específicas. Esta pérdida de neuronas se correlaciona con lesiones patológicas que abarcan proteínas del citoesqueleto que son selectivamente vulnerables al estrés oxidativo, por lo que se tiende a especular que la química de los radicales libres juega un importante papel en estas condiciones neurodegenerativas.

Sin embargo, aún no está determinado cómo los efectos del estrés oxidativo se manifiestan diferencialmente en poblaciones neuronales específicas afectadas por cada enfermedad.

El estrés oxidativo parece ser la unión entre factores ambientales (pesticidas herbicidas, exposición a metales pesados), factores endógenos y factores de riesgo genético.

Aún no está claro, si el estrés oxidativo puede ser un epifenómeno o tener un papel causal. Existen evidencias en ambos sentidos que indican que los oxidantes inducen distintas consecuencias patológicas que amplifican y propagan el daño y que llevan a una degeneración irreversible. La capacidad de las especies reactivas de activar el sistema inmune a través de la activación diferentes vías metabólicas puede ser las responsables de la progresión de las enfermedades neurodegenerativas.

REFERENCIAS

1. Smythies J. Redox aspects of signaling by catecholamines and their metabolites. *Antioxid Redox Signal* 2000;2(3):575-83.
2. McCord JM. Evolution of free radicals and oxidative stress. *Am*

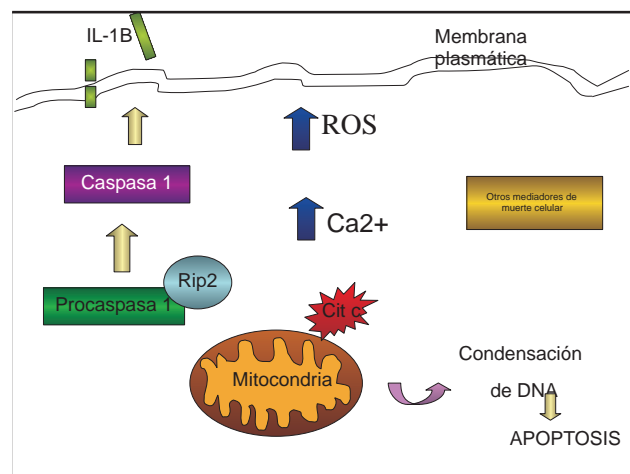


Figura 2. La activación de la caspasa 1 por incremento de las ROS es un evento común en las enfermedades neurodegenerativas que cursan con estrés oxidativo.

Cuadro 2. Factores que contribuyen al estrés oxidativo en la enfermedad de Parkinson.

Factores que pueden estimular la producción de ROS
Metabolismo de la dopamina
Auto-oxidación (no enzimática)
Desaminación oxidativa (enzimática por la MAO)
Neuromelanina
Alto contenido de hierro
Factores que pueden aumentar el estrés oxidativo
Disminución de la actividad de enzimas antioxidantes
Bajos niveles de glutatión peroxidasa
Bajos niveles de catalasa
Disminución de otras moléculas antioxidantes
Poco glutatión reducido
Bajos niveles de ubiquinona

- J Med* 2000; 108(8):652-9.
3. Lin MT, Beal MF. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Nature* 2006; 443(7113):787-95.
 4. Halliwell B. Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now?. *J Neurochem* 2006; 97(6):1634-58.
 5. Sugaya K, Chou S, Xu S, McKinney M. Indicator of glial activation and brain oxidative stress after intraventricular infusion of an endotoxin. *Mol Brain Res* 1998;58(1-2):1-9.
 6. Olanow CW, Arendash GW. Metals and free radicals in neurodegeneration. *Curr Opin Neurol* 1994;7(6):548-58.
 7. Dalle-Donne I, Scaloni A, Giustarini D, Cavarra E, Tell G, Lungarella G, et al. Proteins as biomarkers of oxidative/nitrosative stress in diseases: the contribution of redox proteomics. *Mass Spectrom Rev* 2005;24:55-99.
 8. Grune T, Reinheckel T, Davies KJ. Degradation of oxidized proteins in mammalian cells. *FASEB J* 1997;11:526-34.
 9. Szewda PA, Friguet B, Szewda LI. Proteolysis, free radicals and aging. *Free Radic Biol Med* 2002;33:29-36.
 10. Sitte N, Huber M, Grune T, Ladhoff A, Doecke WD, Von Zglinicki T, et al. Proteasome inhibition by lipofuscin/ceroid during postmitotic aging of fibroblasts. *FASEB J* 2000;14:1490-8.
 11. Paumi CM, Ledford BG, Smitherman PK, Townsend AJ, Morrow CS. Role of multidrug resistance protein 1 (MRP1) and glutathione-S-transferase A1-1 in alkylating agent resistance. Kinetics of glutathione conjugate formation and efflux govern differential cellular sensitivity to chlorambucil versus memphalan toxicity. *J Biol Chem* 2001;276:7952-6.
 12. Foster KA, Galeffi F, Gerich FJ, Turner DA, Müller M. Optical and pharmacological tools to investigate the role of mitochondria during oxidative stress and neurodegeneration. *Prog Neurobiol* 2006;79:136-71.
 13. Danyś W. Neurotoxicity as a mechanism for neurodegenerative disorders: basic and clinical aspects. *Expert Opin Investig Drugs* 2001;10(5):985-9.
 14. Dhib-Jalbut S, Arnold DL, Cleveland DW, Fisher M, Friedlander RM, Mouradian MM, et al. Neurodegeneration and neuroprotection in multiple sclerosis and other neurodegenerative diseases. *J Neuroimmunol* 2006;176(1-2):198-215.
 15. Minghetti L. Role of inflammation in neurodegenerative diseases. *Curr Opin Neurobiol* 2005;18:315-21.
 16. Zhang J, Fujii S, Wu Z, Hashioka S, Tanaka Y, Shiratsuchi A, et al. Involvement of COX-1 and up-regulated prostaglandin E synthases in phosphatidylserine liposome-induced prostaglandin E2 protection by microglia. *J Neuroimmunol* 2006; 172:112-20.
 17. Asanuma M, Miyazaki I. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs in Parkinson's disease: possible involvement of quinone formation. *Expert Rev Neurother* 2006; (9):1313-25.
 18. Asanuma M, Miyazaki I, Ogawa N. Neuroprotective effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on neurodegenerative diseases. *Curr Pharm Des* 2004;10:695-700.
 19. Salmon DP, Thomas RG, Pay MM, Both A, Hofstetter CR, Thal LJ, et al. Alzheimer's disease can be accurately diagnosed in very mildly impaired individuals. *Neurology* 2002;99:1022-8.
 20. Sayre LM, Smith MA, Perry G. Chemistry and biochemistry of oxidative stress in neurodegenerative disease. *Curr Med Chem* 2001;8:721-38.
 21. De Leo ME, Borrello S, Passantino M, Palazzotti B, Mordente A, Daniele A, et al. Oxidative stress and overexpression of manganese superoxide dismutase in patients with Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* 1998;250(3):173-6.
 22. Bonilla E, Tanji K, Hirano M, Vu TH, DiMAuro S, Schon EA. Mitochondrial involvement in Alzheimer's disease. *Biochim Biophys Acta* 1999;1410(2):171-82.
 23. Moreira PM, Smith MA, Zhu X, Nanomura A, Castellani RJ, Perry G. Oxidative stress and neurodegeneration. *Ann N Y Acad Sci* 2005;1043:545-52.
 24. Liu Z, Sayre LM. Model Studies on the modification of proteins by lipoxidation-derived 2-hydroxyaldehydes. *Chem Res Toxicol* 2003;16(2):232-41.
 25. Smith MA, Richey Harris PL, Sayre LM, Beckman JS, Perry G. Widespread peroxynitrite-mediated damage in Alzheimer's disease. *J Neurosci* 1997;17(8):2653-7.
 26. Sultana R, Perluigi M, Butterfield DA. Protein oxidation and lipid peroxidation in brain of subjects with Alzheimer's disease: insights into mechanism of neurodegeneration from redox proteomics. *Antioxid Redox Signal* 2006;8(11-12):2021-37.
 27. Shan X, Lin CL. Quantification of oxidized RNAs in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 2006; 27(5):657-62.
 28. Korolainen MA, Goldsteins G, Nyman TA, Alafuzoff I, Koistinaho J, et al. Oxidative modification of protein in the frontal cortex of Alzheimer's disease brain. *Neurobiol Aging* 2006;27(1):42-53.
 29. Butterfield DA, Perluigi M, Sultana R. Oxidative stress in Alzheimer's disease brain: New insights from redox proteomics. *Eur J Pharmacol* 2006;545:39-50.
 30. Lauderback CM, Hackett JM, Huang FF, Keller JN, Szewda LI, Markesbery WR, et al. The glial glutamate transporter GLT1, is oxidatively modified by 4-hydroxy-2-nonenal in the Alzheimer's disease brain: the role of Aβ1-42. *J Neurochem* 2001;78:413-16.
 31. Wyss-Coray T, Mucke L. Inflammation in neurodegenerative disease: a double edge sword. *Neuron* 2002;35:419-32.
 32. Ramasamy R, Vannucci SJ, Shi Du Yan S, Herold K, Fang Yang S, Schmidt AM. Advanced glycation end products and RAGE: a common thread in aging, diabetes, neurodegeneration and inflammation. *Glycobiology* 2005;15(7):16-28.
 33. El Khouri, Hickman SE, Thomas CA, Cao L, Silverstein SC, Like JD. Scavenger receptor-mediated adhesion of microglia to beta amyloid fibrils. *Nature* 1996;382:716-9.
 34. Sato T, Shimogaito N, Wu X, Kikuchi S, Yamagishi S, Takeuchi M. Toxic advanced glycation end products (TAGE) theory in Alzheimer's disease. *Am J Alzheimer Dis other Dement* 2006; 21(3):197-211.
 35. Jenner P, Olanow CW. Oxidative stress and the pathogenesis of Parkinson's disease. *Neurology* 1996;47(6 Suppl 3):S161-70.
 36. Jensen PH, Hager J, Nielsen MS, Hojrup P, Gliemann J, Jakes R. Alpha-synuclein binds to Tau and stimulates the protein kinase A-catalyzed tau phosphorylation of serine residues 262 and 356. *J Biol Chem* 1999;274:25481-89.
 37. Fahn S. A new look at levodopa based on the ELLDOPA study. *J Neural Transm Suppl* 2006;70:419-26.
 38. Graham DG. Oxidative pathways for catecholamines in the genesis of neuromelanin and cytotoxic quinones. *Mol Pharmacol* 1978;14:633-643.
 39. Gal S, Fridkin M, Amit T, Zheng H, Youdim MB. M30, a novel multifunctional protective drug with potent iron chelating and brain selective monoamine oxidase-A inhibitory activity for Parkinson's disease. *J Neural Transm Suppl* 2006;70:447-56.
 40. Soto-Otero R, Sanmartín-Suárez C, Sanchelglesiás S, Hermida-Ameijeiras A, Sánchez-Sellero I, Méndez-Alvarez E. Study on the ability of 1,2,3,4-tetrahydropapaveroline to cause oxidative stress: Mechanisms and potential implications in relation to Parkinson's disease. *J Biochem Mol Toxicol* 2006;20(5):209-20.
 41. Méndez-Alvarez E, Soto-Otero R. Dopamine: a double-edged sword for the human brain. *Recent Res Devel Life Sci* 2004; 2:217-246.
 42. Yim MB, Yim HS, Chock PB, Stadtman ER. Enhanced free radical generation of FALS-associated Cu, Zn-SOD mutants. *Neurotox Res* 1999;1(2):91-7.
 43. Kang JH, Eum WS. Enhanced oxidative damage by the familial amyotrophic lateral sclerosis-associated Cu,Zn-superoxide

- dismutase mutants. *Biochim Biophys Acta* 2000;1524(2-3):162-70.
44. Yim MB, Kang JH, Yim HS, Kwak HS, Chock PB, Stadtman ER. A gain-of-function of an amyotrophic lateral sclerosis-associated Cu,Zn-superoxide dismutase mutant: An enhancement of free radical formation due to a decrease in Km for hydrogen peroxide. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93(12): 5709-14.
45. Browne SE, Beal MF. Oxidative damage in Huntington's disease pathogenesis. *Antioxid Redox Signal* 2006;8(11-12):2061-73.
46. Goswami A, Dikshit P, Mishra A, Mulherkar S, Nukina N, Jana NR. Oxidative stress promotes mutant huntingtin aggregation and mutant huntingtin-dependent cell death by mimicking proteasomal malfunction. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 342(1):184-90.
47. Bogdanov MB, Andreassen OA, Dedeoglu A, Ferrante RJ, Beal MF. Increased oxidative damage to DNA in a transgenic mouse model of Huntington's disease. *J Neurochem* 2001;79(6):1246-9.
48. Stoy N, Mackay GM, Forrest CM, Christofides J, Egerton M, Stone TW, *et al.* Tryptophan metabolism and oxidative stress in patients with Huntington disease. *J Neurochem* 2005;93(3):611-23.
49. Stack EC, Smith KM, Ryu H, Cormier K, Chen M, Hagerty SW, *et al.* Combination therapy using myocycline and coenzyme Q10 in R6/2 transgenic Huntington's disease mice. *Biochim Biophys Acta* 2006;1762(3):373-80.
50. Waldmeier PC. Prospects for antiapoptotic drug therapy of neurodegenerative diseases. *Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiat* 2003;27:303-21.