

Teoría de los Radicales Libres y el Envejecimiento: Rol de la Mitocondria

Trabajo de Incorporación a la Academia Nacional de Medicina del AN DR. Carlos A. Battilana Guanilo, profesor principal de medicina de la UNMSM

El proceso de envejecimiento y la manera de manipularlo es un pensamiento que ha subyugado la mente del hombre por siglos. Si bien es cierto que la ó las causas del proceso fisiológico de envejecimiento no son bien conocidas aún, si se sabe, que los Radicales Libres son actores muy importantes en este mecanismo. (1)

La posibilidad que la generación de radicales libres consecuencia del estrés oxidativo en la mitocondria esté íntimamente ligada al proceso fisiológico del envejecimiento es una teoría que a pesar de haber sido formulada hace 45 años se mantiene aún vigente. Lo que es más, debido a los considerables progresos de la biología molecular, que permiten una mejor aproximación al estudio de los mecanismos más íntimos del funcionamiento mitocondrial y celular en la senectud (Gerontología Molecular), esta teoría emerge con mayor fuerza y claridad.(2)

La célula es la unidad anatómica y funcional de los tejidos y por lo tanto de todos los seres vivos. La célula depende para su normal funcionamiento de la producción de energía, la cual al ser utilizada le permite realizar trabajo y al mismo tiempo generar calor, para mantener la temperatura corporal. En la célula la generación de energía proviene de la actividad de las Mitocondrias, La Mitocondria es una estructura es una forma de vida primitiva endosimbiótica originada de la bacteria purpúrea hace 1,500 millones de años la cuál para evitar su extinción evolucionó, adaptándose para integrarse a una nueva estructura formada: la Célula.(3-5)

Teoría de Caos para explicar el origen de la vida.

La vida se originó en el mar primitivo formado por que la tierra al enfriarse permitió la acumulación del agua de lluvia. El mar primitivo era rico en Potasio y en él se encontraban en solución diferentes compuestos orgánicos lo que se denominó "Sopa Biótica". Según la teoría del caos (Ordenamiento al Azar) el primer ácido nucleico en formarse fue el ARN. El ARN es un ácido nucleico muy frágil y de corta vida por lo que éste tuvo que encontrar la manera de almacenarse en una forma más resistente y dio origen al DNA forma casi eterna de almacenamiento de información genética. Este maravilloso fenómeno se logró a través de la enzima transcriptasa reversa esencial para este proceso. Cuando el mar primitivo debido a la sobre saturación de sales de potasio estas se precipitan al fondo de los mares cambiando su composición de un medio rico en Potasio a uno rico en Sodio. Estas formas primitivas y elementales de vida ven amenazada su existencia ya que sus procesos biológicos requerían de altas concentraciones de potasio para actuar. En este momento se da la primera gran evolución (adaptación) que consistió en la aparición de la membrana celular impermeable al agua (Formada por esta razón por lípidos) con el objeto de

preservar un medio interno (Intracelular) rico en Potasio en el cuál tanto el material genético como las enzimas y procesos biológicos pudieran actuar.

La membrana celular por su impermeabilidad permitió mantener al nuevo mar rico en sodio en el exterior de la célula. Y es así como hoy día definimos a los fluidos corporales en Intracelulares, ricos en potasio y Extra celulares, ricos en Sodio que representan al antiguo mar cautivo en las células y al nuevo mar fuera de ellas (Teoría de Claude Bernard en su libro sobre el "Internal Milleau")

La Bacteria purpúrea, hoy mitocondria se adaptó para sobrevivir integrándose a la célula por endosimbiosis y asumió el rol de la generación de energía mediante la producción de ATP a través del proceso de respiración celular. El proceso final de la generación de ATP se realiza en las proteínas de la cadena transportadora de electrones o citocromos los cuales son codificados por el propio mt ADN (siglas que identifican al ácido desoxirribonucleico mitocondrial). La mitocondria entonces es autónoma posee su propio mt ADN que regula no solamente el funcionamiento autónomo mitocondrial y la codificación genética de sus diferentes estructuras (Genes Mitocondriales) si no también tiene la capacidad de replicarse y dar origen a la reproducción mitocondrial independiente de la reproducción celular.(6-8)

La mitocondria es una estructura clave en el funcionamiento normal de la célula y es comparable al motor del automóvil generando energía a través de la combustión de sustrato mecanismo OXPHOS fig 1. Toda combustión utiliza Oxígeno y al mismo tiempo libera radicales libres o especies reactivas de Oxígeno. El Oxígeno que representa el 20 % de la atmósfera es esencial para la vida, pero al mismo tiempo es la fuente principal de radicales libres entre ellos los más importantes(9-10):

- | | | |
|-------------------------|----------|----------------------------|
| - Superóxido | O_2^- | Radical madre |
| - Peróxido | HO_2^- | Oxida las grasas |
| - Peróxido de Hidrógeno | H_2O_2 | Origen de otros Radicales |
| - Hidroxilo | OH^- | Principalmente Daña al ADN |

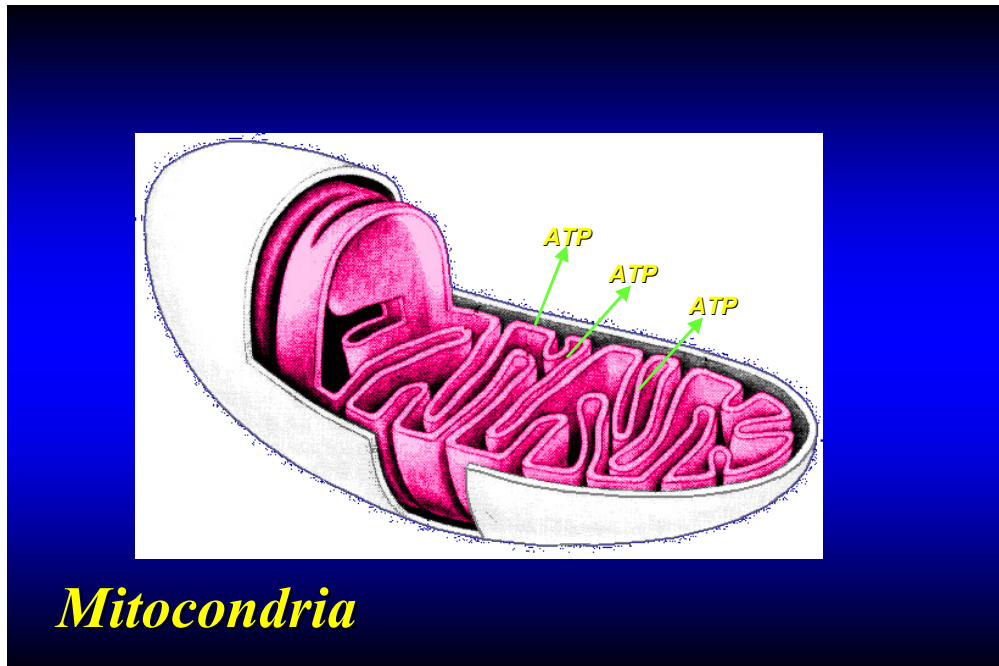


Fig 1. Mecanismo OXPHOS (fosforilación oxidativa) en la mitocondria para producir energía ATP

Las células poseen un impresionante aparato antioxidante enzimático y de moléculas antioxidantes, la mayoría derivados de vegetales y frutas para neutralizar a los Radicales libres.

Las defensas antioxidantes enzimáticas incluyen a:

- Superóxido dismutasa (SOD): enzima que neutraliza al radical Superóxido ($O_2^{\cdot -}$) en H_2O_2 . Existen 3 formas de SOD en el humano: La citosólica Cu,Zn-SOD; la mitocondrial Mn-SOD y la SOD extracelular, todas codificadas y reguladas independientemente.
- La Catalasa y la Glutathion peroxidasa (GPX) convierten al H_2O_2 en agua
- Antioxidantes hidrofílicos: Ascorbato, Uratos y Glutathión (GSH)
- Antioxidantes lipofílicos: Tocopheroles, flavonoides, carotenoides y ubiquinol
- Enzimas reconstituyentes de electrones de las formas oxidadas de los antioxidantes hidrofílicos y lipofílicos entre ellas: GSH reductasa, dehidroascorbato reductasa.
- Enzima responsable del mantenimiento del grupo thiol de las proteínas (Thioredoxina reductasa) (11-12)

Estas enzimas antioxidantes y moléculas antioxidantes neutralizan la mayor parte de los radicales libres generados. Sin embargo la neutralización no llega a

ser total quedando una fracción de estos libres y activos. Los Hidroxilos libres alcanzan a dañar la membrana mitocondrial lipídica muy rápido y al mtADN causando mutaciones en sus cadenas. El Superóxido libre daña la membrana de la mitocondria y retarda el proceso oxidativo de respiración mitocondrial, ambos fenómenos ocasionan el envejecimiento mitocondrial (13) fig 2

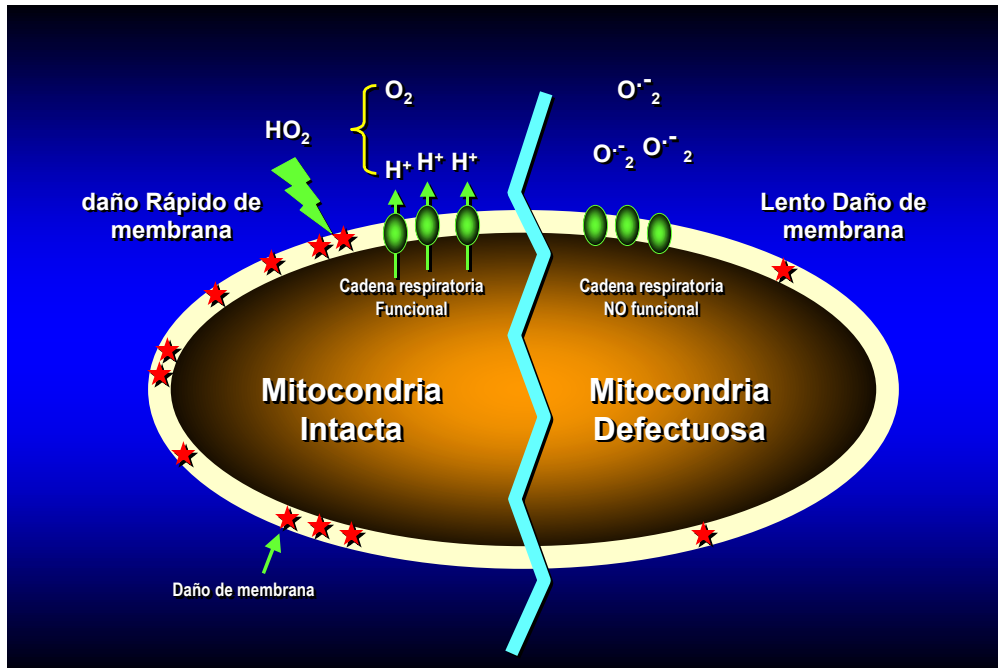


Fig. 2 Producción de radicales libres y daño mitocondrial, Ver texto para mayor explicación

Envejecimiento mitocondrial y radicales libres

Según la teoría del envejecimiento, una vez que la mitocondria se vuelve defectuosa, tiene un ritmo de respiración oxidativa menor que la mitocondria joven, produce menos radicales libres, posee una necesidad de recambio más lenta y vive más tiempo. La mitocondria joven debido al tremendo desgaste por los procesos oxidativos, requiere de un recambio mitocondrial más acelerado lo que con el tiempo conduce a la acumulación de un mayor número, de mitocondrias defectuosas con la consiguiente disminución significativa del proceso de fosforilación oxidativa, lo que conduce a una menor producción de ATP y por lo tanto menor generación de energía características del envejecimiento celular que luego termina con la apoptosis fig. 3.

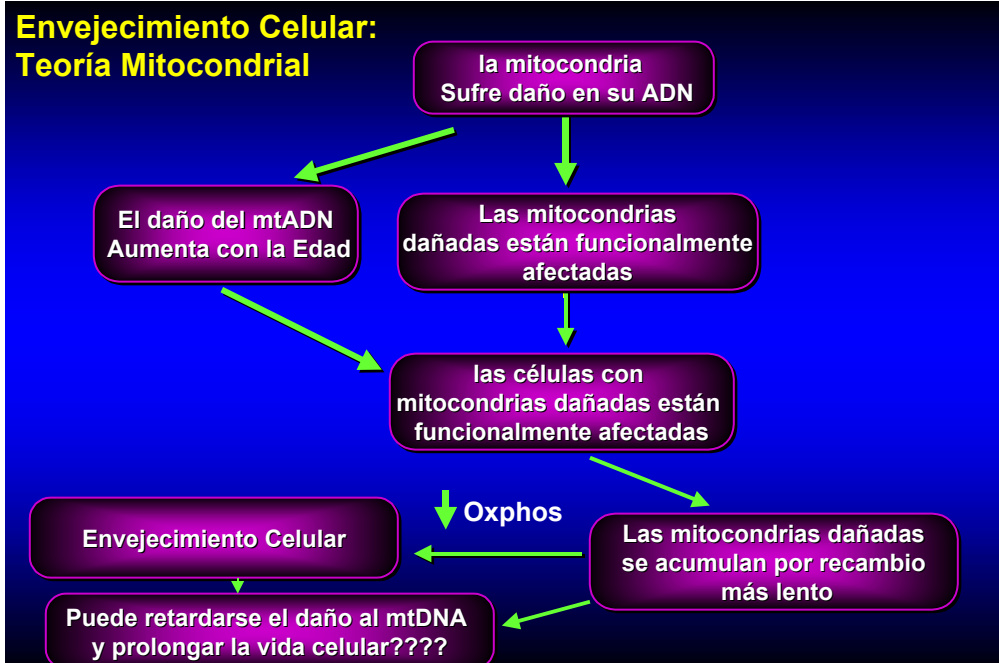


Fig. 3. Envejecimiento mitocondrial conduce a la reducción del sistema OXPHOS. Ver texto para mayor explicación, Estudios In-vitro comparando especies animales con diferentes tiempos de vida promedio: moscas caseras, ratones, ratas jóvenes y senescentes, han demostrado que en la mitocondria envejecida existe una mayor generación de oxidantes radicales libres, Superóxido y Peróxido de Hidrógeno como consecuencia de cambios en la cadena transportadora de electrones lo que conduciría a un círculo vicioso de mayor producción de oxidantes / mayor daño oxidativo (14)

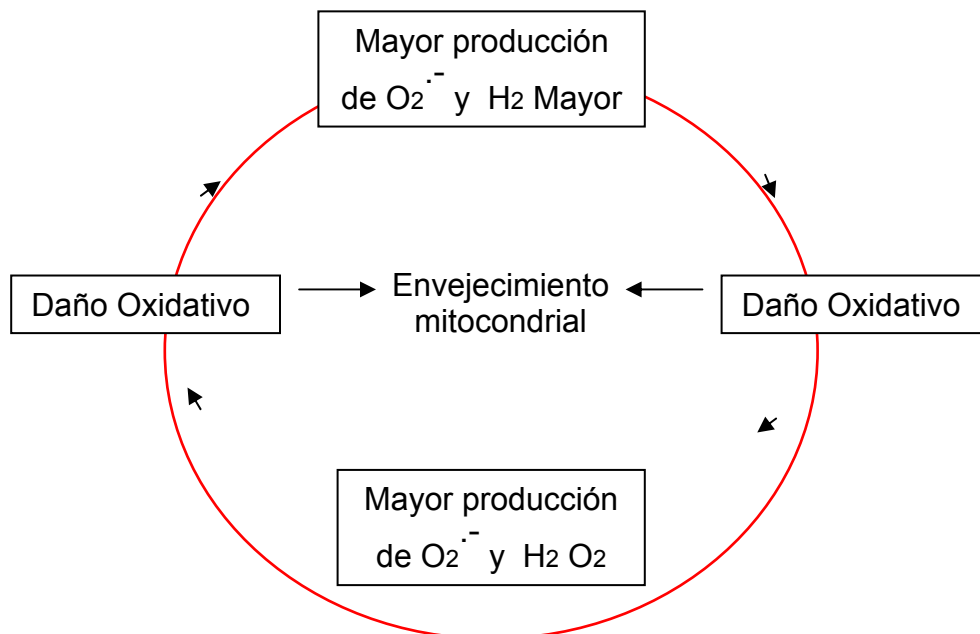


Fig. 4. La mayor producción de oxidantes genera un círculo vicioso Oxidación / Daño oxidativo, que conduce al envejecimiento mitocondrial.

Numerosos estudios epidemiológicos longitudinales entre ellos el más importante el estudio MONICA, han demostrado que poblaciones con estilos nutricionales sanos y equilibrados, caracterizados por una ingesta balanceada de micronutrientes antioxidantes (Vitamina E; Ac. Ascórbico y Carotenoides) tienen mayor expectativa de vida así como menos enfermedades cardiovasculares y neoplásicas. Los niveles plasmáticos y tisulares de la enzima antioxidante más importante la Superóxido-dismutasa (encargada de neutralizar al radical libre superóxido), se encuentran disminuidos de manera significativa en las personas con enfermedad cardiovascular o cualquier otra que acelere los procesos oxidativos y genere más radicales libres (Diabetes Mellitus, Síndrome X, Hiperinsulinemia, obesidad, Hipertensión arterial, Pre-eclampsia, Tabaquismo etc.). La disminución tanto de micronutrientes antioxidantes como del sistema enzimático protector conduciría a menor protección mitocondrial contra los radicales libres y como consecuencia el envejecimiento mitocondrial y celular acelerados. Desde este punto de vista los hábitos nutricionales son importantísimos en la preservación de la integridad mitocondrial y la vida celular(15-16).

Estudios de manipulación dietaria en animales han demostrado que una dieta restringida en calorías es una forma establecida de extender la expectativa de vida reduciendo el estrés oxidativo, incrementando las defensas antioxidantes y la capacidad de reparación del daño oxidativo (17-19).

Es interesante notar que el acúmulo Lipofuscina, compuesto formado por uniones de lípidos oxidados y residuos proteicos, se acumula en los tejidos con la edad en diferentes especies animales La lipofuscina es endofagocitada por los lisosomas, los cuales con el tiempo llegan a tener más de la mitad de su volumen ocupado por esta sustancia lo que ocasiona luego una declinación en la habilidad de los lisosomas de digerir productos de desechos celulares los que eventualmente se acumulan en diferentes estructuras celulares: lisosomas, membrana celular, membrana lisosomal lo que finalmente ocasiona que el lisosoma se rompa causando muerte celular sin tener que pasar por apoptosis. Numerosas enfermedades degenerativas como Alzheimer y la Aterosclerosis presentan cantidades anormales de lipofuscina depositada en los tejidos afectados.(20-21)

En resumen podríamos decir que numerosos estudios han dado fuerza a la teoría del daño mitocondrial por radicales libres como origen del envejecimiento mitocondrial, etapa importantísima del envejecimiento celular. Los hábitos alimentarios, los factores de riesgo que independientemente aceleran el estrés oxidativo y como consecuencia el daño mitocondrial, serían elementos claves causa del envejecimiento celular. Un punto débil en esta teoría es el hecho que si bien está demostrado que el estrés oxidativo acelerado conduce al envejecimiento mitocondrial y celular, aún queda por determinar si además de este, existen otros procesos tanto ó más importantes para determinar la

longevidad de los seres vivos más aún cuando existen diferencias marcadas entre especies zoológicas (22-25).

Bibliografía Revisada

1. ADELMAN, R., R. L. SAUL, AND B. N. AMES. Oxidative damage to DNA: relation to species metabolic rate and life span. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85: 2706-2708, 1988-
2. BAKER, G. T. D., AND R. L. SPROTT. Biomarkers of aging. *Exp. Gerontol.* 23: 223-239, 1988.
3. Beckman, Kenneth B., and Bruce N. Ames. The Free Radical Theory of Aging Matures. *Physiol. Rev.* 78: 547-581, 1998. The free radical theory
4. ARNHEIM, N., AND G. CORTOPASSI. Deleterious mitochondrial DNA mutations accumulate in aging human tissues. *Mutat. Res.* 275: 157-167, 1992
5. BANDY, B., AND A. J. DAVISON. Mitochondrial mutations may increase oxidative stress: implications for carcinogenesis and aging? *Free Radical Biol. Med.* 8: 523-539, 1990.
6. CHEN, J. J., AND B. P. YU. Alterations in mitochondrial membrane fluidity by lipid peroxidation products. *Free Radical Biol. Med.* 17: 411-418, 1994.
7. CUTLER, R. G.. Antioxidants and aging. *Am. J. Clin. Nutr.* 53, *Suppl.*: 373S-379S, 1991
8. FINCH, C. E. *Longevity, Senescence, and The Genome.* Chicago, IL: Univ. of Chicago Press, 1990.
9. EPE, B.. DNA damage profiles induced by oxidizing agents. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.* 127: 223-249, 1996
10. Gey KF, et al. Inverse correlation between plasma vitamin E and mortality from ischemic heart disease in cross-cultural epidemiology. *Am J Clin Nutr* 1991;53:326S-34S
11. ZOROV, D. B.. Mitochondrial damage as a source of diseases and aging: a strategy of how to fight these. *Biochim. Biophys. Acta* 1275: 10-15, 1996
12. HARMAN, D.. Free radical involvement in aging. Pathophysiology and therapeutic implications. *Drugs Aging* 3: 60-80, 1993
13. KOWALD, A., AND T. B. KIRKWOOD. A network theory of aging: the interactions of defective mitochondria, aberrant proteins, free radicals and scavengers in the ageing process. *Mutat. Res.* 316: 209-236, 1996
14. Bieslski, Hans K; Free Radical Theory of Aging. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2002; 5: 5-10.
15. Gey KF, et al. Inverse correlation between plasma vitamin E and mortality from ischemic heart disease in cross-cultural epidemiology. *Am J Clin Nutr* 1991;53:326S-34S
16. SCHMIDT, A. M., O. HORI, J. BRETT, S. D. YAN, J. L. WAUTIER, AND D. STERN. Cellular receptors for advanced glycation end products. Implications for induction of oxidant stress and cellular dysfunction in the pathogenesis of vascular lesions. *Arterioscler. Thromb* 1994;14: 1521-1528,

17. Masoro EJ, McCarter RJM: Aging as a consequence of fuel utilization. *Aging Clin Exp Res* 1991; 3: 117-128.
18. Yu BP: Aging and oxidative stress: modulation by dietary restriction. *Free Radic Biol Med* 1996; 21: 651-668.
19. Sohal RS, Ku HH, Agarwal S, y col.: Oxidative damage, mitochondrial oxidant generation and antioxidant defense during aging and in response to food restriction in the mouse. *Mech Ageing Dev* 1994; 74: 121-133.
20. BRUNK, U. T., C. B. JONES, AND R. S. SOHAL. A novel hypothesis of lipofuscinogenesis and cellular aging based on interactions between oxidative stress and autophagocytosis. *Mutat. Res.* 275: 395-403, 1992
21. VON ZGLINICKI, T., E. NILSSON, W. D. DOCKE, AND U. T. BRUNK. Lipofuscin accumulation and ageing of fibroblasts. *Gerontology* 41, *Suppl. 2*: 95-108, 1995
22. KOWALD, A., AND T. B. KIRKWOOD. A network theory of aging: the interactions of defective mitochondria, aberrant proteins, free radicals and scavengers in the ageing process. *Mutat. Res.* 316: 209-236, 1996
23. LIU, J., AND A. MORI. Age-associated changes in superoxide dismutase activity, thiobarbituric acid reactivity and reduced glutathione level in the brain and liver in senescence accelerated mice (SAM): a comparison with ddY mice. *Mech. Ageing Dev.* 71: 23-30, 1993
24. HARMAN, D. H.. Free radical theory of aging: effects of antioxidants on mitochondrial function. *Age* 10: 58-61, 1987.
25. MATSUO, M.. Oxygen dependency of life-span in the nematode. *Comp. Biochem. Physiol. A Physiol.* 105: 653-658, 1993.