

GERIATRIA

RADICALES LIBRES CANCER Y ENVEJECIMIENTO

Victor Ml. Morales Matus*

SUMARY:

A bibliographic account of 26 original articles and monographic contributions in relation to the link between radicals, cancer and aging is presented. the work initiates with an introduction where basic items are referred, mainly in relation to inflammation, cancer and cellular aging. Relevant findings and discussions are scoped in a second part, and the main conclusions of today research on the topic is presented in the last section, with the real implications for future societies.

KEY WORDS: Free radicals, biological antioxidants, inoenzymes, oxidate fosforilation, redox potential, lipofuscin.

INTRODUCCION

*"Notae vero inflammationis
sunt quatuor rubor et tumor,
cum calore et dolores."*

{Celse, De re medica, Vol. III, Cap. X}

Se dice que la inflamación, en sentido lato, constituye la primerísima manifestación de defensa de los organismos pluricelulares. Hoy sabemos que está condicionada por la proliferación de líneas celulares más o menos específicas, mediante las cuales se producen mediadores de distinta naturaleza y funciones. Desde 1956, el Dr. Denham Harman de la Universidad de Nebraska, propuso su teoría sobre la existencia de los radicales libres, los cuales permiten explicar casi la totalidad del "lado catastrófico" de la vida (14). Es interesante que estas moléculas, algunas pequeñas como el mismo oxígeno pero siempre con un electrón no pareado (de ahí su nombre) también han estado implicadas en el mismo origen de los seres vivos, arreglando y desarreglando otras

* Laboratorio Clínico Hospital Nacional de Geriatria

moléculas y procesos. Se ha situado su origen evolutivo en mecanismos de ionización mediante la luz del sol, los que han ocurrido desde las más remotas épocas (1). Sólo hasta los últimos años se han invocado los radicales libres como una causa mayor de patología, lo cual es quizá explicable por la naturaleza de estas moléculas, pequeñas, inestables, de reacción rápida (p.ej. Nanosegundos). No obstante, a partir de 1969, McCord y Fridovich descubren la superóxido dismutasa (SOD) y sientan las bases de la actual investigación molecular sobre radicales libres (20). Este descubrimiento ha permitido la realización de experimentos valiosos sobre fisiología normal y patológica. Lo que interesa mayormente hoy día, no obstante, es la hipótesis del Dr. Harman y otros sobre la posible relación de los radicales libres con las neoplasias y el fenómeno del envejecimiento.

METODOLOGIA

Se realizó una revisión de la literatura científica relacionada con radicales libres, cáncer y envejecimiento, partiendo de un acumulo de 26 fotocopias de artículos originales de investigación. El material fue producto de diferentes consultas realizadas en el Index Medicus, el cual sirvió como fuente principal. Las fechas comprendidas en los estudios corresponden a los últimos quince años, predominantemente, aunque se hacen referencias a trabajos clásicos sobre los temas citados. Asimismo se hicieron consultas en la Unidad de Posgrado en Geriatria y Gerontología, en el Hospital Nacional de Geriatria Dr. Raúl Blanco Cervantes, CCSS.

RESULTADOS Y DISCUSION:

Existe un sistema antioxidante, basado en componentes de naturaleza enzimática y no enzimática. Entre los primeros tenemos una conocida tripleta de géneros enzimáticos: la superóxido dismutasa (SOD), las catalasas (CAT) y las peroxidasas, predominantemente la glutathion peroxidasa (GPX), todas ellas muy

activas en casi todas las células de mamíferos, pero con una tendencia a la compartimentalización. Sirva como ejemplo el caso de la superóxido dismutasa -cobre- zinc (Cu-ZnSOD), que abunda en el citosol, mientras que la superóxido dismutasa -manganeso (MnSOD) es hallada generalmente en la mitocondria. Del mismo modo, la GPX se presenta como dos isoenzimas diferentes: una se halla en citoplasma y otra en mitocondrias. También se han probado diversas isoenzimas de catalasa, enzima que abunda en los peroxisomas. Se sabe que estas enzimas limpian el organismo de radicales libres superóxidos, como oxígeno radical (O_2^-), peróxido de hidrógeno (H_2O_2) e Hidroxilo (OH $^-$). De estos tres el más letal es el OH $^-$. Por otro lado, tenemos también antioxidantes no enzimáticos, generalmente moléculas pequeñas, como por ejemplo: beta-caroteno, ácido retinoico, queladores de hierro, vitaminas A, C y E, y otros componentes de bajo peso molecular (22). Se han efectuado numerosos estudios sobre la cuantificación de antioxidantes en células malignas (23,24). En general, se ha encontrado que estas células casi siempre presentan baja concentración en actividad de MnSOD, así como Cu-ZnSOD y CAT. No obstante, la actividad de GPX es muy variable. Algunos autores creen que estos hallazgos son consistentes con la obvia pérdida de resistencia a agentes infecciosos que exhiben las células de tumor (26). Debido a que el fenómeno de carcinogénesis se realiza al menos en dos etapas, que son la diferenciación con adquisición de inmortalidad y la pérdida de control mitótico, existe la sospecha de que las enzimas antioxidantes juegan un importante papel en la primera etapa, quizá en virtud de que controlan la producción de radicales libres y el potencial redox celular, y además se encuentran aumentadas (25). En un experimento que ya es clásico, Fernández - Pol et al. (12) examinaron el efecto de paraquat, que se sabe es un gran productor de radical O_2^- , en células renales de rata transformadas por virus Kirsten,

versus controles normales sin inducción viral. Encontraron que las células transformadas tenían muy bajos niveles de SOD. Al aplicar distintas dosis de paraquat encontraron que las células controles exhibían un incremento de actividad de SOD, no así las células transformadas por el virus, las cuales no expresaban el fenotipo de la enzima. Por tanto, esto ha dado pie a la idea de que existe una relación causal entre las superóxido dismutasas y la transformación celular (6, 11, 12, 24, 25). Otros experimentos han apuntado hacia una relación entre los radicales libres y el envejecimiento, principalmente bajo el argumento del probado efecto deletéreo de esas pequeñas moléculas sobre el metabolismo celular (4, 5, 9, 13, 14, 18). Debido a que la célula es un centro de utilización de oxígeno, la producción de radicales libres es un fenómeno continuo. Se sabe que las células viejas producen en sus mitocondrias una mayor cantidad de radicales libres, al ser comparadas con las células jóvenes. Pese a que se han realizado pocos estudios sobre este particular, existen, no obstante, abundantes trabajos sobre productos de las reacciones de radicales libres (2, 6, 11). Uno de los productos más comunes en las células senescentes son los gránulos de lipofuscina (7, 10, 16), que se considera son lisosomas secundarios que contienen gran cantidad de lípidos peroxidados, los cuales se cree derivan de la acción deletérea de los radicales libres sobre las membranas de la célula. Algunos estudios (3, 8, 17) han sugerido la existencia de correlación positiva entre los antioxidantes del tipo SOD, CAT, uratos, alfa-tocoferol y carotenoides y la duración promedio de la vida, sobre todo basándose en modelos de murinos. De hecho, Miquel & Fleming (21) han propuesto al envejecimiento como un fenómeno en dos estadios principales: el primero una diferenciación y el segundo una mutagénesis aleatoria de las mitocondrias, ambos causados por radicales libres del oxígeno. Debido a que las mitocondrias poseen baja capacidad de reparación de su ADN, la información codificante que este ADN posee se

perderá una vez que el mismo es dañado por los radicales superóxido. De este modo, es obvio que fallará el aparato mitocondrial y muchas células sufrirán episodios de anoxia hasta que mueran. Un detalle importante es que las células diferenciadas o postmitóticas, p.e. de corazón, vasos sanguíneos y cerebro son los blancos primordiales del envejecimiento en mamíferos, y prueba de ello es el aumento notorio de lipofuscina, la deplección del número de ribosomas, así como en el número y tamaño de las mitocondrias. También se ha encontrado en insectos adultos, con una mayoría de células postmitóticas, así como en el músculo cardíaco y esquelético de mamíferos, una cantidad considerable de cambios bioquímicos en las mitocondrias con la edad. Por ejemplo, Massie y cols. (19) han encontrado una pérdida importantes de ADN mitocondrial en *Drosophila melanogaster* en tanto que el ADN nuclear ha permanecido constante. Otros autores han encontrado igualmente un bajo número de mitocondrias en tejidos postmitóticos de animales y humanos viejos. Y como corolario esperado, también se ha demostrado, en modelos animales, tasas disminuídas de fosforilación oxidativa y síntesis de APT, conforme avanza la duración de vida.

CONCLUSIONES

La teoría de Harman, enunciada por vez primera en la década de los 50's, relativa a la acción de los radicales libres en los fenómenos deletéreos como en cáncer y el envejecimiento, como hemos visto, tiende hoy día a ser retomada. En cuanto al cáncer, se cree que las células blanco de la transformación maligna son las células totipotenciales (en inglés "stem cells") u otras intermedias en la diferenciación de los respectivos tejidos. Asimismo, se concluye que la noxa que inicia la malignidad, o "iniciador", debe provocar una claudicación irreversible de la diferenciación normal, dañando los genes reguladores para los antioxidantes MnSOD y/o CAT. Por supuesto que este daño incita la selección y expansión de líneas celulares resistentes

a los radicales libres tipo superóxido. Por el contrario, se menciona que el envejecimiento ocurre por una acción similar, pero que afecta a las células postmitóticas o terminales. A pesar de que el envejecimiento ocurre en todas las células del soma, es notorio que este proceso es más pausado en las células en división, y prueba de ello es que el fenómeno de vejez tiene como tejidos de mayor frecuencia patológica el corazón, el cerebro y los vasos sanguíneos, tejidos que son predominantemente postmitóticos. Y, por otro lado, es interesante el hecho de que la senectud de células mitóticas, p.e. médula ósea, sólo reviste importancia patológica en el contexto del aumento en la frecuencia de cáncer. De capital importancia es la conclusión de que el sitio de daño celular en el cáncer es el ADN nuclear en las secuencias correspondientes al código de las enzimas MnSOD y/o CAT, mientras que el sitio blanco en el envejecimiento lo constituye el ADN mitocondrial. De hecho las membranas de las mitocondrias van acumulando cantidades crecientes de radical superóxido, en contraste con las membranas nucleares, lo cual explica la claudicación del aparato mitocondrial y finalmente de la célula, por crecientes episodios de hipoxia. Estas conclusiones permiten explicar por qué las tasas metabólicas altas están asociadas con menor longevidad en los mamíferos, pues de hecho al haber una tasa metabólica alta debe haber mayor consumo de oxígeno, y asimismo una mayor producción de especies oxigenadas activas, con el consecuente daño aumentado al aparato mitocondrial característico de la edad. Cabe mencionar finalmente que, si en un futuro se logra bloquear el daño al ADN, particularmente el mitocondrial, se podrá en efecto alargar la duración de la vida. Esto lo decidirá el manejo que se logre de los genes reguladores de antioxidantes, o bien del aparato mitocondrial como un todo. Muchos investigadores lo creen un hecho del futuro cercano. Si esto sucede, habrá muchos problemas sociales que resolver, como el papel que habrán de desempeñar otras "escalas generacionales", ya que la

adolescencia podría alargarse, muy probablemente, hasta los cincuenta años.

RESUMEN

Se realiza un recopilación bibliográfica consistente de 26 separatas de estudios originales y monografías sobre la cuestión que liga a los radicales libres, el cáncer y el fenómeno del envejecimiento. El trabajo inicia con una introducción en donde se refieren nociones generales sobre el papel de los radicales libres en los fenómenos de la inflamación, cáncer y envejecimiento celular. En un segundo plano se esbozan resultados y conclusiones actuales sobre este particular, para presentar en tercer plano conclusiones de importancia que pretenden demostrar las causas más íntimas de los fenómenos antedichos, así como sus implicaciones para las sociedades futuras.

Palabras claves: Radicales libres, antioxidantes biológicos, isoenzimas, fosforilación oxidativa, potencial redox, lipofuscina.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Altman, K.I.; Gerber, G.B.; Okada, S. 1970. Radiation biochemistry. New York: Academic Press. Vols. I, II.
- 2.- Altman, opus cit.
- 3.- Anderson, R. 1984. The immunostimulatory, anti-inflammatory and anti-allergic properties of ascorbate. *Adv. Nutr. Res.* 6: 19-45.
- 4.- Barrows, Jr CH, Kokkonen G. 1978a. The effect of various dietary restricted regimes on biochemical variables in the mouse. *Growth* 42: 71-85.
- 5.- Barrows, Jr Ch, Kokkonen, G. C. 1981. Effect of age on the DNA, RNA and protein content of tissues. In Florini JR. E.: *CRC hand book of biochemistry in aging*. Boca Raton, FL: CRC Press, pp. 115 - 134.
- 6.- Bize, I.B., Oberley, L.W. y H.P. Morris. 1980. Superoxide dismutase and superoxide radical in the Morris hepatomas. *Cancer Res.* 40: 3686 - 3693.
- 7.- Bjorkerud, S. 1964. Isolated lipofuscin granules. A survey of a new field. *Adv. Gerontol. Res.* 1: 257 -289.
- 8.- Burton, G.W., Ingold, K.U. 1984. Beta carotene: an unusual type of lipid antioxidant. *Science*. 224; 569 -573.
- 9.- Chance, B., Sies H., Boveris A. 1979. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiol. Rev.* 59: 527-605.
- 10.- Desai, I.D., Fletcher, B.L., Tappel, A.L. 1975. Fluorescent pigments from uterus of vitamin E deficient rats. *Lipids* 10: 307 -309.
- 11.- Erkeff, L.J. 1980. Differentiation of mouse neuroblastoma cells under increased oxygen tension. *Exp. Cell Biol.* 48: 374 - 380.
- 12.- Fernandez-Pol, J.A.; Hamilton, P.D.; Kloe, D.J. 1982. Correlation between the loss of the transformed phenotype and an increase in superoxide dismutase activity in a revertant subclone of sarcoma virus- infected mammalian cells. *Cancer Res.* 42: 609 -617.
- 13.- Gensler, G.L.; Berstein, H. 1981. DNA damage as the primary cause of aging. *Q. Rev. Bios.* 56: 279 - 303.
- 14.- Harman, D. 1956. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J. Gerontol.* 11: 298 -300.
- 15.- Harman, D. 1972b. Free radical theory of aging: effect of vitamin E on tumor incidence. *Gerontologist* 12 (3) (parte II): 33.
- 16.- Katz, M.L.; Robinson, W.G.; Herrman, R.K.; Groome, A. B., Biere, J.G. 1984. Lipofuscin accumulation resulting from senescence and vitamin e deficiency: special properties and tissue distribution. *Mech Ageing Dev.* 25: 149 - 159.
- 17.- Kunert, K.; Tappel, A.L. 1983. The affect of vitamin C on in vivo lipid peroxidation la guinea pigs as measured by pentane and ethane production. *Lipids*

18: 271 -274.

18.- Marcus, D.L.; Ibrahim, N.G.; Freedman, M.L. 1982. Agerelated decline in the biosynthesis of mitochondrial inner mebrane proteins. *Exp. Gerontol.* 17: 333-341.

19.- Massie, H.R.; Baird, M.B.; McMahon, M.M. 1985. Deficiencies of mitochondrial DNA with aing. *Gerontol.* 21: 231 -238.

20.- McCord, J.M.; Fridovich, I. 1969. Superoxide dismutase, an enzymic function for erythrocyuprein. *J. Biol. Chemistry* 244: 6049- 6055.

21.- Mique, J.; Fleming, J.E. 1984. A two-step hypothesis on the mechanisms of in vitro cell aging: Cell differentiation followed by intrinsic mitochondrial mutagenesis. *Exp. Gerontol* 19:31-36.

22.- Munkres, K.D. 1985. Role of genes, antioxidants and antioxygenic enzymes

in ageing of Neurospora. A review. In Oberley L.W. (ed) : "Superoxide Dismutase." Boca Raton, FL: CRC Press, Inc, Vol 3, pp. 237 -248.

23.- Oberley, L.W. 1982. Superoxide dismutase and cancer. In Oberley L.W. (ed): "Superoxide Dismutase". Boca Raton, FL: CRC Press, Vol 2, pp. 127 -165.

24.- Solanki, V.; Rana, R.S.; Slaga, T.J. 1981. Diminution of mouse epidermal superoxide dismutase and catalase activities by tumor promoters. *Carcinogenesis* 2: 1141-1146.

25.- Yamanaka, N.T.; Deamer, D. 1974. Superoxide dismutase activity in WI-38 cell cultures. Effects of age, trypsinization, and SV-40 transformation. *Physiol. Chem Phys.* 6: 95- 106.

26.- Yunis, J.J.; Soreng, A.L. 1984. Constitutive fragile sites and cancer. *Science.* 226: 1199 - 1204.