

Antioxidantes en poblaciones adultas del nivel del mar y de grandes alturas: Actividad de la superóxido dismutasa.

Antioxidants use in adult populations from sea level vs high altitude: Superoxide dismutase activity.

SECLÉN SANTISTEBAN Segundo¹, BARACCO MAGGI Rossana, MOHANNA BARRENECHEA Salim.

SUMMARY

Free radicals constitute an important threat to the organism, in defense, cells have developed several antioxidant enzymes, superoxide dismutase (SOD), catalase and glutathione peroxidase. SOD is in charge of the removal of superoxide radicals produced in the mitochondrial electron transport chain. *Objective:* To determine and compare SOD levels of a high altitude and sea level population. *Materials and Methods:* This was a descriptive study. Blood samples were taken from blood donors of blood banks of Hospital Nacional Cayetano Heredia in Lima and Hospital Victor Ramos Guardia in Huaraz (3 052 meters above sea level). Ninety seven samples were analyzed using the Minami and Yoshikawa method to determine SOD activity. *Results:* The means for SOD values were 1 834 U/gr.Hb for Lima and 926.5 U/gr.Hb for Huaraz ($p < 0.05$). In every age group the high altitude natives had lower levels of SOD than the ones at sea level. There was a significant difference between women from Lima and Huaraz (1 929 U/gr.Hb vs. 941.89 U/gr.Hb; $p < 0.05$). The same was observed when comparing means of men from Lima and Huaraz (1 754 U/gr.Hb vs. 907.78 U/gr.Hb; $p < 0.05$). *Conclusions:* High altitude natives have lower levels of SOD. (*Rev Med Hered* 2006;17:4-7).

KEYWORDS: Free radicals, superoxide dismutase, high altitude, Peru.

RESUMEN

Los radicales libres son una amenaza importante para el organismo, en defensa a éstos, las células han desarrollado enzimas antioxidantes como la superóxido dismutasa (SOD), la catalasa y la glutatión peroxidasa. La SOD se encarga de la remoción de radicales superóxido producidos en la cadena de transporte mitocondrial. *Objetivo:* Determinar y comparar los niveles de SOD en población de grandes alturas y a nivel del mar. *Materiales y Métodos:* Fue un estudio descriptivo. Se tomaron muestras de donantes de sangre de los bancos de sangre de Lima (a nivel del mar) y Huaraz (3 052 metros sobre el nivel del mar). Se analizaron 97 muestras utilizando el método de Minami y Yoshikawa para determinar la actividad de la SOD. *Resultados:* Las medias de los valores de SOD fueron 1 834 U/gr.Hb para Lima y 926,5 U/gr.Hb para Huaraz ($p < 0.05$). En todos los grupos etáreos el grupo de altura presentó menores niveles de SOD que el grupo a nivel del mar. Existe una diferencia significativa entre mujeres de Lima y Huaraz (1 929 U/gr.Hb vs. 941,89 U/gr.Hb; $p < 0,05$), y entre varones de Lima y Huaraz (1 754 U/gr.Hb vs. 907,78 U/gr.Hb; $p < 0,05$). *Conclusiones:* Los nativos de altura tienen menores niveles de SOD. (*Rev Med Hered* 2006;17:4-7).

PALABRAS CLAVE: Radicales libres, superóxido dismutasa, altura, Perú.

¹ Profesor Principal. Facultad de Medicina. Universidad Peruana Cayetano Heredia Lima, Perú

INTRODUCCIÓN

En 1956, Harman propuso la teoría de los radicales libres en el envejecimiento, sugiriendo que los radicales libres producidos durante la respiración aerobia causan daño oxidativo que se acumula y resulta en una pérdida gradual de los mecanismos celulares, lo que conduce al envejecimiento y finalmente a la muerte (1). Aproximadamente 2 a 3% del oxígeno consumido por una célula es convertido en radicales libres (2). Esta reactividad es sumamente tóxica para la célula, ya que altera moléculas importantes para la función celular como el ADN, proteínas e hidratos de carbono. La amenaza de los radicales libres para el organismo es tan importante que una serie de defensas antioxidantes y sistemas de reparo genético han sido desarrollados en las células con fines de protección. Estas defensas incluyen las enzimas superóxido dismutasa (SOD), catalasa y glutatión peroxidasa (3).

La SOD se encarga de la remoción de los radicales superóxido producidos en la cadena de transporte electrónico mitocondrial, convirtiéndolos en peróxido de hidrógeno (4,5). La velocidad de producción del superóxido y la actividad de la SOD definen una concentración estable de este radical libre, de tal manera que la velocidad de producción debe ser igual a la velocidad de utilización.

Tanto el envejecimiento como el cáncer, dos procesos biológicos de etiología compleja, guardan relación con el daño producido al ADN por los radicales libres. A medida que un individuo avanza en edad, aumenta la producción de radicales libres en su organismo, llevándolo a un deterioro progresivo, lo cual se traduce en envejecimiento. Asimismo, a pesar de los procesos de reparación, el continuo daño al ADN altera progresivamente la secuencia del genoma. A los radicales libres también se les implica en la génesis de numerosas enfermedades como el Alzheimer, la aterosclerosis, las enfermedades autoinmunes, el Parkinson y la artritis.

La finalidad del presente estudio fue describir y comparar las diferencias en uno de los sistemas antioxidantes, la superóxido dismutasa (SOD) en nativos de grandes alturas y habitantes del nivel del mar.

MATERIALES Y MÉTODOS

Población de estudio y muestra:

Este fue un estudio descriptivo, realizado en mujeres y hombres sanos mayores de 18 años. Se formaron 2

grupos: el primero con la población de Lima (ciudad ubicada a nivel del mar), y el segundo con la de Huaraz (ciudad ubicada a 3 052 metros sobre el nivel del mar). Se analizaron un total de 97 muestras de donantes de sangre (46 de Lima y 51 de Huaraz). Estas muestras se obtuvieron de manera aleatoria de los Bancos de sangre del Hospital Nacional Cayetano Heredia (Lima), y del Hospital Víctor Ramos Guardia (Huaraz). Las muestras se obtuvieron en el momento en que los pacientes donaron la sangre.

Determinación de la actividad de SOD:

Para determinar la actividad de la SOD se utilizó el método de Minami y Yoshikawa (6), en el que la generación del radical superóxido está producida por la auto oxidación del pirogalol (pH: 8,2). El detector de éste radical es el azul de tetrazolium (NBT), el cual en presencia del radical superóxido se reduce dando un compuesto de intenso color azul, el azul de formazan. En este método se mide la inhibición de la reducción del NBT. Se considera como una unidad de actividad de SOD a la actividad de esta enzima que produciría un 50% de la máxima inhibición causada por esta enzima sobre la reducción del NBT.

Las muestras fueron recogidas con K_3 EDTA para evitar su coagulación. A 0,1 ml de sangre se le añadió 0,9 ml de agua destilada fría para producir hemólisis. Se desnaturalizó la hemoglobina añadiendo 1,25 ml de cloroformo y 0,5 ml de etanol y se agitó durante 2,5 minutos. Esta mezcla se centrifugó durante 1 hora, retirándose el sobrenadante para la determinación de la actividad de SOD.

Análisis Estadístico:

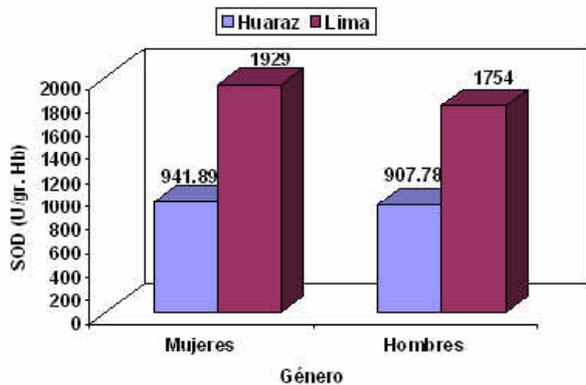
Se corroboró la normalidad de las variables usando el Test de Kolmogorov-Smirnov. Se usaron medias para variables cuantitativas y porcentajes en el caso de variables cualitativas. Para comparar las medias se utilizó la T de Student. Los resultados fueron procesados en el SPSS 9.0 (Copyright® SPSS Inc., 1989-1999).

RESULTADOS

Las medias de los valores de SOD fueron $1\ 834 \pm 259,07$ U/gr.Hb para Lima y $926,5 \pm 153,91$ U/gr.Hb para Huaraz ($p < 0,05$). En la Tabla N°1 observamos las medias en los pacientes de Lima y Huaraz según grupos etéreos. En todos los grupos etéreos, el grupo de altura presentó menores niveles de SOD que el grupo a nivel del mar. Asimismo se puede apreciar que hubo un incremento progresivo de la SOD con la edad en ambas poblaciones, con niveles máximos en el grupo

Tabla N°1. SOD por grupos etáreos de Lima y Huaraz.

Edad (años)	Población		P
	Lima	Huaraz	
20 a 30	1 705,15 ±284,26	894,07 ±129,38	< 0,05
31 a 40	1 755,36 ±315,84	881,77 ±129,38	< 0,05
41 a 50	1 976,00 ±152,14	943,58 ±177,04	< 0,05
> 50	1 927,00 ±152,89	991,64 ±166,68	< 0,05

Gráfico N° 1. SOD por género de Lima y Huaraz.

de mayores de 50 años.

En el gráfico N°1 se aprecian las medias de ambas poblaciones divididas según género; se observa que en ambas poblaciones el género femenino tiene niveles ligeramente mayores que el masculino. Existe una diferencia significativa al comparar las medias de las mujeres de Lima y Huaraz ($1\ 929 \pm 166,45$ U/gr.Hb vs. $941,89 \pm 142,25$ U/gr.Hb; $p < 0,05$), y de los varones de Lima y Huaraz ($1\ 754 \pm 297,12$ U/gr.Hb vs. $907,78 \pm 168,34$ U/gr.Hb; $p < 0,05$).

DISCUSIÓN

En los últimos años se ha puesto mucho interés en la investigación de los radicales libres y antioxidantes debido a su rol en el proceso de envejecimiento y el cáncer. Los bajos niveles de estrés oxidativo tienen un rol fisiológico en el organismo, como en la fagocitosis, síntesis de colágeno, síntesis de prostaglandinas y la activación de enzimas. Sin embargo, la exposición de la célula a altos niveles de estrés oxidativo resulta en depleción de ATP, daño extenso del ADN (especialmente ADN mitocondrial) y muerte celular (3). Se ha demostrado que las mitocondrias de especies que tienen una baja expectativa de vida generan cantidades mayores de radicales libres, comparado a especies más longevas (7). Asimismo, se ha demostrado que los niveles y la

actividad de SOD son mayores en especies longevas (8). Tolmasoff y col (10), midieron la actividad de la SOD en el hígado, cerebro y corazón de 14 especies de mamíferos, encontrando una correlación entre la actividad de la SOD y la expectativa de vida. Estos resultados indicarían que las especies longevas tienen un metabolismo lento o menor uso de oxígeno, acompañado de una elevada protección por la SOD. Sin embargo, no todas las comparaciones entre especies han apoyado esta relación (11). Actualmente se considera que la SOD tiene un rol parcial para determinar la longevidad. Debido a esto, se debe interpretar los resultados obtenidos al medir SOD con mucha precaución, ya que también se sabe que diferencias en la actividad de SOD pueden ocurrir vía respuestas adaptativas al estrés oxidativo y administración de antioxidantes (2).

El nivel de estrés oxidativo depende de la velocidad de generación de oxidantes y de los niveles de defensa antioxidante, los cuales están genéticamente controlados, pero están influenciados también por factores epigenéticos (1). Esto sugiere la existencia de determinados factores en el medio ambiente que influirían en la elevación de la actividad de la SOD.

Nuestros resultados muestran que los habitantes de zonas urbanas en grandes alturas tienen menores niveles de SOD frente a los habitantes de zonas urbanas a nivel del mar, cumpliéndose en todos los grupos etáreos y en ambos géneros. Esta diferencia podría deberse a que en la ciudad de Lima existe mayor cantidad de radiaciones, un elevado índice de contaminación por hidrocarburos, presencia de metales pesados y óxido nítrico, que en la ciudad de Huaraz. Todos estos factores aumentan los niveles del radical superóxido, por lo que el incremento de SOD sería el resultado de la necesidad de una mayor protección frente a elevadas concentraciones del radical superóxido, que de otro modo serían tóxicos. Asimismo, las personas que viven en altura tienen un estilo de vida distinto al habitante del nivel del mar; menor consumo de tabaco y alcohol, mayor actividad física y un menor nivel de estrés. Estos factores condicionarían un menor nivel de oxidación en el sujeto de altura. Otro factor importante que debemos considerar es la hipoxia crónica a la que está sometido el nativo de altura. La hipoxia genera una serie de respuestas adaptativas a nivel tisular, celular y molecular. Durante la hipoxia, una disminución en la disponibilidad del oxígeno podría llevar a un menor transporte de electrones, resultando en menor producción de superóxido (12), lo que condicionaría menores niveles de antioxidantes en estas poblaciones.

Pocos estudios han examinado los niveles de

antioxidantes en exposición a la altura y la mayoría de ellos han sido en exposición aguda, mas no en nativos de altura. Estos estudios han encontrado niveles altos de enzimas antioxidantes (13,14). Por el contrario, un estudio examinó los efectos de exposición intermitente a una altura de 4 000 metros durante 6 meses en los sistemas antioxidantes de los músculos de ratas, encontrando un incremento marcado en niveles de radicales libres y disminución de la actividad de SOD (15). Nuestro estudio ha sido realizado en nativos de altura, personas que han nacido y vivido toda su vida en altura, mientras que los estudios mencionados han sido realizados en personas con exposición aguda o de sólo meses; en este sentido, los factores genéticos podrían tener un rol importante. Con respecto a los niveles de SOD en los distintos grupos etáreos, observamos que a medida que aumenta la edad, hay una tendencia a aumentar los niveles de ésta enzima; a mayor edad hay mayores niveles de oxidación, por lo tanto, los niveles de las enzimas antioxidantes deben aumentar para contrarrestar los efectos tóxicos de los radicales libres. Este aumento conforme aumenta la edad se observa tanto a nivel del mar como en habitantes de altura.

El proceso de envejecimiento es un proceso multifactorial, complejo, en el que el daño de los radicales libres provee un importante pero no exclusivo mecanismo de deterioro fisiológico. Se requieren estudios que complementen esta información en el nativo de altura.

En conclusión, el presente estudio demuestra que los nativos de altura tienen menores niveles de SOD que los habitantes del nivel del mar.

Correspondencia:

Dr. Segundo Seclén
Hospital Nacional Cayetano Heredia
Av. Honorio Delgado S/N
San Martín de Porras - Lima, Perú
Correo electrónico: sseclen@upch.edu.pe

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Céspedes E, Rodríguez K, Llopiz N, Cruz N. Un acercamiento a la teoría de los radicales libres y el estrés oxidativo en el envejecimiento. *Rev Cubana Invest Biomed* 2000; 19(3):186-90.
2. Wickens A.P. Ageing and the free radical theory. *Respir Physiol* 2001; 128:379-91.
3. Venereo JR. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Rev Cubana Med Milit* 2002; 31(2):126-33.
4. García B, García O, Clapes S, Rodes L, García JC. Enzimas que participan como barreras fisiológicas para eliminar los radicales libres: I. Superóxido dismutasas. *Trabajos de Revisión. Instituto de Ciencias Básicas y Preclínicas "Victoria de Girón". Rev Cubana Invest Biomed* 1997;14(1):10-15.
5. Céspedes E, Hernández I, Llopiz N. Enzimas que participan como barreras fisiológicas para eliminar los radicales libres: II. Catalasa. *Trabajos de Revisión. Instituto de Ciencias Básicas y Preclínicas "Victoria de Girón". Rev Cubana Invest Biomed* 1997;15(1):23-28.
6. Minami M, Yoshikawa H. A simplified method of superoxide dismutase activity for clinical use. *Clin Chim Acta* 1979; 92:337-42.
7. Ashok BT, Ali R. The aging paradox: free radical theory of aging. *Exp Gerontol* 1999; 34:293-303.
8. Cutler RG. Antioxidants and aging. *Am J Clin Nutr* 1991; 53:373-9.
9. Cutler RG. Free radicals in molecular biology, aging and disease. 1era edición. Nueva York: Raven Press; 1984: 235-66.
10. Tolmasoff JM, Ono T, Cutler R.G. Superoxide dismutase: correlation with life span and specific metabolic rate in primate species. *Proc Natl Acad Sci* 1980; 77:2777-81.
11. Barja G. Free radicals and aging. *Trends Neurosci* 2004; 27(10):595-600.
12. Chandel NS, Schumaker PT. Cellular oxygen sensing by mitochondria: old questions, new insight. *J Appl Physiol* 2000; 88(5):1880-9.
13. Magalhaes J, Ascensao A, Marques F, et al. Effect of a high-altitude expedition to a Himalayan peak (Pumori, 7,161 m) on plasma and erythrocyte antioxidant profile. *Eur J Appl Physiol* 2005; 93(5-6):726-32.
14. Wozniak A, Drewa G, Chesy G, Rakowski A, Rozwodowska M, Olszewska D. Effect of altitude training on the peroxidation and antioxidant enzymes in sportsmen. *Med Sci Sports Exerc* 2001; 33(7):1109-13.
15. Radak Z, Lee K, Choi W, et al. Oxidative stress induced by intermittent exposure at a simulated altitude of 4000 m decreases mitochondrial superoxide dismutase content in soleus muscle of rats. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1994; 69(5):392-5.

Recibido: 24/11/05
Aceptado para publicación: 23/02/06