

La actividad de Na⁺, K⁺ ATPasa en cerebro puede ser un marcador de estrés oxidativo

David Calderón Guzmán¹, Ernestina Hernández García², Gerardo Barragán Mejía¹

RESUMEN

La enzima Na⁺, K⁺ ATPasa en cerebro es una proteína integral de la membrana celular encargada de transportar iones de sodio y potasio, es propensa a sufrir alteraciones en presencia de otros iones y moléculas de carácter endógeno y exógeno, incluyendo a los radicales libres provenientes del metabolismo de oxígeno y nitrógeno celular. Los radicales libres provocan estrés oxidativo, daño al ADN e incluso muerte celular, es posible dar seguimiento al daño de estos radicales mediante la evaluación de la enzima Na⁺, K⁺ ATPasa como importante biomarcador de estrés oxidativo en cerebro, como se muestra en el presente trabajo de revisión.

Palabras clave: Na⁺, K⁺ ATPasa, radicales libres, estrés oxidativo.

BRAIN MEMBRANE Na⁺, K⁺ ATPase ACTIVITY CAN BE A MARKER OF OXIDATIVE STRESS

ABSTRACT

Brain membrane Na⁺, K⁺ ATPase activity is a crucial enzyme responsible for the active transport of sodium and potassium ions. It is involved in neurochemical

Recibido: 11 junio 2007. Aceptado: 2 julio 2007.

¹Laboratorio de Neuroquímica. Instituto Nacional de Pediatría (INP). Secretaría de Salud (SSA). México. ²Laboratorio de Farmacología. INP. SSA. México. Correspondencia: David Calderón Guzmán. Lab. Neuroquímica. Torre de Investigación "Dr. Joaquín Cravioto" Instituto Nacional de Pediatría. Av. IMAN No.1, Col. Insurgentes Cuicuilco, Coyoacán. 04530 México, D.F. Email: solodavid2001@yahoo.com.mx

events due to internal or external ions and different molecules, including oxygen and nitrogen metabolism of free radicals. Free radicals mainly induce to oxidative stress, DNA damage and cell death, and it is possible that Na⁺, K⁺ ATPase could be a logical candidate to evaluate some of those effects as a marker of oxidative stress in brain as it is shown in the present review.

Key words: Na⁺, K⁺ ATPase, free radicals, oxidative stress.

La enzima Na⁺, K⁺ ATPasa es una proteína responsable del transporte activo de cationes monovalentes hacia ambos lados de la membrana celular, en especial en el sistema nervioso central (SNC), para mantener el gradiente iónico necesario para la excitabilidad neuronal, y su estimulación esta condicionada por la composición lipídica de la membrana¹. Los lípidos que componen la membrana son principalmente fosfolípidos y estos interactúan ampliamente con proteínas estructurales de la bicapa lipídica². Las membranas se componen de más de 100 diferentes especies de lípidos, aunque una sola especie puede formar una bicapa de lípidos por sus cualidades polimórficas, en diferentes tejidos³. Algunos estudios reportan que la peroxidación de lípidos es responsable de la inhibición de la Na⁺, K⁺ ATPasa⁴. Asimismo, otros estudios han reportado que el estrés oxidativo induce disminución por arriba del 50% en esta enzima, también como una pérdida de fluidez de la membrana⁵, en particular, inhibición de la enzima Na⁺, K⁺ ATPasa induce la liberación de aminoácidos excitadores en el SNC, entre los que se encuentran la serotonina y su metabolito 5-HIAA⁶, importantes neurotransmisores que participan activamente en el funcionamiento y metabolismo del cerebro.

Un mecanismo probable de la inhibición de la

enzima puede ser debido a la presencia de sodio, ya que el incremento en el contenido de este ion intracelular, aumenta la competencia por el sodio de la enzima, provocando un efecto negativo con respecto a los analgésicos, dado que la activación de la Na⁺, K⁺ ATPasa juega un papel muy importante en el efecto analgésico⁷.

A continuación se anexa una tabla resumida de los estudios más recientes sobre la actividad enzimática de Na⁺, K⁺ ATPasa en cerebro, bajo condiciones de estrés oxidativo, buscando hacer notar la importancia de este indicador bioquímico en presencia de diversas sustancias que participan en mecanismos aun desconocidos de estrés oxidativo (tabla 1). La tabla muestra el estímulo, inhibición o no alteración de la actividad enzimática de la enzima, y se puede observar que el comportamiento puede variar dependiendo de las características fisicoquímicas de las sustancias y de la dosis que se utiliza en los diferentes estudios experimentales, es decir, que las sustancias mencionadas pueden inducir cambios en la composición de la membrana, cambiando la actividad de las proteínas de membrana con consecuencias similares para el metabolismo⁸.

Tabla 1. Comportamiento de la actividad enzimática de Na⁺, K⁺ ATPasa en cerebro bajo condiciones de estrés oxidativo.

Nombre del compuesto	Incremento	Disminución	Sin cambio	Referencia
Vitamina E		X		9
Tetrasulfuro de dialilo	X			10
Diselenido de difenilo		X		11
L-Arginina		X		12
Ozono	X			13
Leptinas	X			14
Azul de metileno		X		15
Trifluoroperazina		X		16
Guanidinoacetato		X		17
Morfina	X			18
Homocisteína		X		19
Metionina		X		20
Cisteína	X			21
Hipoxantina		X		22
Bilirrubina		X		23
Sacarosa		X		24
Ácido lipico	X			25
Sulfato de cadmio	X			26
Prolina		X		27
Hierro/ascorbato		X		28
Arginina		X		29
Hidroperóxido de terbutilo		X		30
Herbicida organofosforado		X		31
Lipopolisacaridos			X	32
Hierro+EDTA+H ₂ O ₂		X		33
4-Hidroxinonenal		X		34

Por otra parte, la actividad enzimática de Na⁺, K⁺ ATPasa se incrementa en el cerebro de ratas adul-

tas tratadas con nuevos esteroides sintéticos, entre ellos el 4-cloro-17 \pm -acetoxi-4-pregnen-3,20-diona³⁵, como consecuencia de una alteración de la fluidez de la membrana. Este incremento podría tener un efecto protector contra el daño neuronal, tal como lo sugieren algunos estudios³⁶, al proponer que el uso de esteroides en el sistema nervioso central (SNC) impide la inhibición de la enzima Na⁺, K⁺ ATPasa, cuyo efecto esta asociado a enfermedades isquémicas y a la deficiencia de ATP en el cerebro. Diversos estudios sugieren que los estrógenos pueden ser una útil herramienta en la terapia o prevención de enfermedades neurodegenerativas³⁷, las cuales son inducidas principalmente por la presencia de radicales libres (RL) en el SNC, el cual, debido a su elevado consumo de oxígeno y enriquecimiento de ácidos grasos poliinsaturados en sus membranas, las células en el SNC son susceptibles al daño oxidativo, inducido por excesiva producción de especies reactivas del oxígeno, implicados en procesos patológicos³⁸. Los RL son especies reactivas que poseen un electrón desapareado, provenientes de nitrógeno y oxígeno principalmente, este último ha sido implicado en mecanismos de disfunción del cerebro con desórdenes neurodegenerativos relacionados con la edad³⁹. Una alternativa para combatir la presencia de estos radicales libres endógenos inducidos por el envejecimiento y la patogénesis de enfermedades neurodegenerativas, requiere de la presencia de glutatión (GSH), cuya deficiencia ocasiona estrés oxidativo (EO)⁴⁰.

Un mecanismo de acción propuesto para el GSH, es cuando el óxido nítrico (NO) interacciona con GSH reducido, formando S-nitrosoglutathión (GNSO), cuyo proceso depende de la presencia de oxígeno endógeno⁶. Esta interacción se explica como consecuencia del catabolismo del NO, el cual necesita de GSH para su difusión celular. El GSH es el principal regulador del equilibrio redox, y colabora en la protección de los tejidos que están expuestos a los agentes oxidantes, debido a que los radicales libres tienen como principal objetivo el daño sobre los lípidos de la membrana celular⁴¹. A pesar de que se desconoce el mecanismo de acción de algunos esteroides, algunos estudios sugieren que los estrógenos son antioxidantes naturales contra la peroxidación de lípidos en la membrana⁴², haciendo hincapié en que sus modificaciones estructurales son básicas para su función como antioxidantes.

Los estudios mencionados en el presente trabajo y algunos realizados en nuestro laboratorio, coinciden en que la enzima Na⁺, K⁺ ATPasa es una herramienta útil para evaluar el estrés oxidativo en cerebro.

REFERENCIA

1. Aricioglu A, Aydin S, Turkozkan N, Durmus O. The effect of allopurinol on Na⁺,K⁺-ATPase related lipid peroxidation in ischemic and reperfused rabbit kidney. *Gen Pharmacol* 1994; 25, 341-4.
2. Gutteridge MC, Halliwell B. The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems. *TIBS* 1990; 1122-6.
3. Ben de Kruijff. Polymorphic regulation of membrane lipid composition. *Nature* 1987; 329, 587-8.
4. Arkhipenko Y, Meerson FZ, Sazontova TG, Kagan VE. Mode of lipid peroxidation-induced inhibition of Na, K-ATPase. *Acta Physiol Pharmacol Bulg* 1985; 11,70-8.
5. Levin G, Cogan U, Levy Y, Mokady S. Riboflavin deficiency and the function and fluidity of rat erythrocyte membranes. *J Nutr* 1990; 120, 857-61.
6. Benuck M, Banay-Schwartz M, DeGuzman T, Lajtha A. Effect of food deprivation on glutathione and amino acid levels in brain and liver of young and aged rats. *Brain Research* 1995; 678: 259-64.
7. Masocha W, González LG, Baeyens JM, Agil A. Mechanisms involved in morphine-induced activation of synaptosomal Na⁺,K⁺-ATPase. *Brain Res* 2002; 957: 311-9.
8. Else LP, Wu JB, Storlien HL, Hulbert JA. Molecular activity of Na⁺, K⁺-ATPase relates to the packing of membrane lipids; *Ann NY Acad Sci* 2003; 986:525-6.
9. Sridevi N, Venkataraman P, Senthilkumar K, Krishnamoorthy G, Arunakaran J. Oxidative stress modulates membrane bound ATPases in brain regions of PCB (Aroclor 1254) exposed rats: Protective role of alpha-tocopherol. *Biomed Pharmacother* 2007; 3.
10. Pari L, Murugavel P. Diallyl tetrasulfide improves cadmium induced alterations of acetylcholinesterase, ATPases and oxidative stress in brain of rats. *Toxicol* 2007; 234(1-2):44-50.
11. Prigol M, Wilhelm EA, Schneider CC, Rocha JB, Nogueira CW, Zeni G. Involvement of oxidative stress in seizures induced by diphenyl diselenide in rat pups. *Brain Res* 2007; 1147:226-32.
12. Royes LF, Figuera MR, Furian AF, Oliveira MS, Fiorenza NG, Petry JC, et al. The role of nitric oxide on the convulsive behavior and oxidative stress induced by methylmalonate: an electroencephalographic and neurochemical study. *Epilepsy Res* 2007; 73(3):228-37.
13. Calderon Guzman D, Barragán Mejía G, Hernández García E, Juárez Olguín H. Effect of nutritional status and ozone exposure on some biomarkers of oxidative stress in rat brain regions. *Nutr Cancer* 2006; 55(2): 195-200.
14. Balasubramanian V, Nalini N. Leptin alters brain adenosine triphosphatase activity in ethanol-mediated neurotoxicity in mice. *Singapore Med J* 2006; 47(10):864-8.
15. Ramirez A, Heimbach A, Grundemann J, Stiller B, Hampshire D, Cid LP, Goebel I, Mubaidin AF, Wriekat AL, Roeper J, Al-Din A, Hillmer AM, Karsak M, et al. Hereditary parkinsonism with dementia is caused by mutations in ATP13A2, encoding a lysosomal type 5 P-type ATPase. *Nat Genet* 2006; 38(10):1184-91.
16. Santos PS, Saraiva DF, Costa DC, Scofano HM, de Carvalho-Alves PC. Trifluoperazine protects brain plasma membrane Ca(2+)-ATPase from oxidative damaging. *Exp Brain Res* 2006;6.
17. Zugno AI, Scherer EB, Schuck PF, Oliveira DL, Wofchuk S, Wannmacher CM, et al. Intrastratial administration of guanidinoacetate inhibits Na⁺, K⁺-ATPase and creatine kinase activities in rat striatum. *Metab Brain Dis* 2006; 21(1):41-5.
18. Guzman DC, Vazquez IE, Brizuela NO, Alvarez RG, Mejia GB, Garcia EH, et al. Assessment of oxidative damage induced by acute doses of morphine sulfate in postnatal and adult rat brain. *Neurochem Res* 2006; 31(4):549-54.
19. Matte C, Durigon E, Stefanello FM, Cipriani F, Wajner M, Wyse AT. Folic acid pretreatment prevents the reduction of Na(+),K(+)-ATPase and butyrylcholinesterase activities in rats subjected to acute hyperhomocysteinemia. *Int J Dev Neurosci* 2006; 24(1):3-8.
20. Stefanello FM, Chiarani F, Kurek AG, Wannmacher CM, Wajner M, Wyse AT. Methionine alters Na⁺,K⁺-ATPase activity, lipid peroxidation and nonenzymatic antioxidant defenses in rat hippocampus. *Int J Dev Neurosci* 2005; 23(7):651-6.
21. Tsakiris S, Carageorgiou H, Schulpis KH. The protective effect of L-cysteine and glutathione on the adult and aged rat brain (Na⁺,K⁺)-ATPase and Mg2+-ATPase activities in galactosemia *in vitro*. *Metab Brain Dis* 2005; 20(1):87-95.
22. Bavaresco CS, Chiarani F, Matte C, Wajner M, Netto CA, de Souza Wyse AT. Effect of hypoxanthine on Na⁺,K⁺-ATPase activity and some parameters of oxidative stress in rat striatum. *Brain Res* 2005; 1041(2):198-204.
23. Brito MA, Brites D, Butterfield DA. A link between hyperbilirubinemia, oxidative stress and injury to neocortical synaptosomes. *Brain Res* 2004; 1026(1):33-43.
24. Folmer V, Santos FW, Savegnago L, Brito VB, Nogueira CW, Rocha JB. High sucrose consumption potentiates the subacute cadmium effect on Na⁺/K⁺-ATPase but not on delta-aminolevulinatase dehydratase in mice. *Toxicol Lett* 2004; 153(3):333-41.
25. Arivazhagan P, Panneerselvam C. Alpha-lipoic acid increases Na⁺K⁺ATPase activity and reduces lipofuscin accumulation in discrete brain regions of aged rats. *Ann Acad NY Sci* 2004; 1019:350-4.
26. Carageorgiou H, Tzotzes V, Pantos C, Mourouzis C, Zarros A, Tsakiris S. In vivo and in vitro effects of cadmium on adult rat brain total antioxidant status, acetylcholinesterase, (Na⁺, K⁺)-ATPase and Mg2+-ATPase activities: protection by L-cysteine. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2004; 94(3):112-8.
27. Franzon R, Lamers ML, Stefanello FM, Wannmacher CM, Wajner M, Wyse AT. Evidence that oxidative stress is involved in the inhibitory effect of proline on Na(+), K(+)-ATPase activity in synaptic plasma membrane of rat hippocampus. *Int J Dev Neurosci* 2003; 21(6):303-7.
28. Chakraborty H, Sen P, Sur A, Chatterjee U, Chakrabarti S. Age-related oxidative inactivation of Na⁺, K⁺-ATPase in rat brain crude synaptosomes. *Exp Gerontol* 2003; 38(6):705-10.
29. Bavaresco CS, Calcagnotto T, Tagliari B, Delwing D, Lamers ML, Wannmacher CM, et al. Brain Na⁺,K(+)-ATPase inhibition induced by arginine administration is prevented by vitamins E and C. *Neurochem Res* 2003; 28(6):825-9.
30. Slyshenkov VS, Shevalye AA, Liopo AV, Wojtczak L. Protective role of L-methionine against free radical damage of rat brain synaptosomes. *Acta Biochim Pol* 2002; 49(4):97-916.
31. Hazarika A, Sarkar SN, Kataria M. Subacute toxicity of anilofos, a new organophosphorus herbicide in male rats: effect on lipid peroxidation and ATPase activity. *Indian J Exp Biol* 2001; 39(11):1113-7.
32. Kheir-Eldin AA, Motawi TK, Gad MZ, Abd-ElGawad HM. Protective effect of vitamin E, beta-carotene and N-acetylcysteine from the brain oxidative stress induced in rats by lipopolysaccharide. *Int J Biochem Cell Biol* 2001; 33(5): 475-82.
33. Lehotsky J, Kaplan P, Racay P, Matejovicova M, Drgova A, Mezesova V. Membrane ion transport systems during oxidative stress in rodent brain: protective effect of stobadine and other antioxidants. *Life Sci* 1999; 65(18-19):1951-8.
34. Morel P, Tallineau C, Pontcharraud R, Piriou A, Huguet F. Effects of 4-hydroxynonenal, a lipid peroxidation product, on dopamine

- transport and Na⁺/K⁺ ATPase in rat striatal synaptosomes. *Neurochem* 1998; 33(6):531-40.
35. Calderón GD, Bratoeff E, Ramírez LE, Hosnaya BN, Alvarez GR, Cabeza SM, Hernández GE. Efecto antioxidante de nuevo esteroide sintético (4-cloro-17 \pm -acetoxi-4-pregnen-3,20-diona) en cerebro de ratas adultas. *Arch Neurocienc (Mex)* 2007; 12(2):95-9.
36. Sato T, Tanaka K, Ohnishi Y, Teramoto T, Irifune M, Nishikawa T. Effects of steroid hormones on (Na⁺, K⁺)-ATPase activity inhibition-induced amnesia on the step-through passive avoidance task in gonadectomized mice. *Pharmacological Research* 2004; 49:151-9.
37. Tang MX, Jacobs D, Stern Y. Effect of oestrogen during menopause on risk and age at onset of Alzheimer disease. *Lancet* 1996; 348:429-32.
38. Coyle JT, Puttfarcken P. Oxidative stress, glutamate, and neurodegenerative disorders. *Science* 1993; 262:689-95.
39. Driver AS, Kodavanti PR, Mundy WR. Age-related changes in reactive oxygen species production in rat brain homogenates. *Neurotoxicology and Teratology* 2000; 22:175-81.
40. Wu F, Fang YZ, Yang S, Lupton JR, Turner ND. Glutathione metabolism and its implications for health. *J Nutr* 2004; 134(3): 489-92.
41. Beckman JS, Beckman TW, Chen J, Marshall PA, Freeman BA. Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: Implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxides. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87:1629-4.
42. Sugioka K, Shimosegawa Y, Nakano M. Estrogens as natural antioxidants of membrane phospholipid peroxidation. *Febs Letters* 1987; 210(1):37-9.