

Original

Marcadores de estrés oxidativo en el síndrome de Down*

Ángela Casado, M^a Encarnación López-Fernández, Rocío Ruíz
Departamento de Fisiopatología y Genética Molecular Humana
Centro de Investigaciones Biológicas (CSIC)

Correspondencia:

Dra. Ángela Casado
Departamento de Fisiopatología y Genética Molecular Humana
Centro de Investigaciones Biológicas (CSIC).
Ramiro de Maeztu, 9
28040 Madrid

E-mail: acasado@cib.csic.es

Artículo recibido: 21/04/05

Resumen

Introducción: El estrés oxidativo, generado por un desequilibrio celular entre agentes oxidantes y antioxidantes, puede originar alteraciones celulares, causantes de diversas patologías, y conducir a un envejecimiento prematuro.

Objetivo: Analizar la actividad de Cu/Zn superóxido dismutasa (Cu/ZnSOD), catalasa (CAT), glutatión peroxidasa (GPx) y glutatión reductasa (GR) (principal mecanismo de defensa enzimática frente a la acción nociva de radicales libres y especies reactivas de oxígeno) y los niveles de malondialdehído (MDA), producto final de la peroxidación lipídica, en individuos con síndrome de Down (SD), con la finalidad de contribuir al conocimiento de un nuevo aspecto de la patología de este síndrome.

Pacientes y métodos: Se analizaron 100 individuos con SD (34 varones, 66 mujeres), con edades desde recién nacidos a 29 años: 90 presentaban trisomía regular del cromosoma 21, 6 presentaban un mosaicismo y 4 presentaban una translocación robertsoniana. El estudio incluyó también un grupo de 100 individuos sin patologías, (40 varones, 60 mujeres) con edades similares a los individuos con SD. En todos se determinó: 1) la ac-

tividad de los enzimas antioxidantes: Cu/ZnSOD, CAT, GPx, y GR, y 2) los niveles de MDA.

Resultados: Se observó: a) aumento del estrés oxidativo en individuos con SD, causado por exceso de Cu/ZnSOD, que tienden a compensar incrementando la actividad de GPx y CAT; b) altos niveles de peroxidación lipídica; c) no existen diferencias entre varones y mujeres con SD; d) menor estrés oxidativo en individuos con SD por mosaicismo.

Conclusión: Las células trisómicas son más sensibles al estrés oxidativo, sensibilidad que podría deberse al desequilibrio del metabolismo del peróxido de hidrógeno.

Palabras clave: Estrés oxidativo. Peroxidación lipídica. Enzimas antioxidantes. Malondialdehído. Síndrome de Down.

Oxidative stress markers in Down syndrome

Abstract

Introduction: Oxidative stress results from an imbalance between formation and neutralization of

* Presentado en la «III Internacional Conference on Chromosome 21 and Medical Research on Down Syndrome».

Ha recibido el Premio Ramon Trias Fargas de Investigación sobre Síndrome de Down (IX Edición), concedido por la Fundació Catalana Síndrome de Down.

Financiado por la Fundación Inocente, Inocente.

pro-oxidants. Oxidation of biomolecules can damage them, disturbing normal functions and may contribute to a variety of disease states and aging.

Objective: We analysed activities of Cu/Zn superoxide dismutase (Cu/ZnSOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx) and glutathione reductase (GR), which form the main enzyme protection mechanism against harmful effects of reactive oxygen species, and the levels of malondialdehyde (MDA), an end product of lipid peroxidation, in order to develop a better knowledge of a new aspect in this syndrome's pathology.

Material and Methods: 100 individuals with Down syndrome, aged from newborns to 29 years (34 males and 66 females) were analysed: 90 individuals with regular trisomy 21, 6 with mosaic trisomy 21 and 4 with trisomy 21 by Robertsonian translocation. A group of individuals without pathology was also included (40 males, 60 females) with similar ages to the DS individuals. In all cases we determined: 1) antioxidant enzymes activity: Cu/ZnSOD, CAT, GPx and GR, 2) levels of MDA.

Results: We observed: a) an increase in the oxidative stress in DS individuals caused by an excess in Cu/Zn SOD, which they try to compensate mainly by increasing the activity of GPx and CAT; b) high levels of lipid peroxidation; c) no significant differences between male and female in DS individuals; d) lower oxidative stress in individuals with DS mosaic.

Conclusions: Trisomic cells are more sensitive to oxidative stress. This sensitivity could be caused by an imbalance in the hydrogen peroxide metabolism.

Keywords: Oxidative stress. Lipid peroxidation. Antioxidant enzymes. Malondialdehyde. Down syndrome.

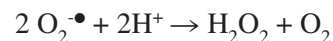
Introducción

La mayor parte del daño oxidativo en los sistemas biológicos se debe a que la utilización del oxígeno por las células da lugar a la generación de radicales libres y especies reactivas de oxígeno, que reaccionan con facilidad con biomoléculas causando principalmente oxidación de proteínas, daños en el DNA y peroxidación de lípidos que produce cambios en la permeabilidad de las membranas celulares, disminución de su fluidez, mayor rigidez y, en última instancia, pérdida de la integridad y funcionalidad de las mismas, de ahí que se considere un factor esencial en el envejecimiento de las células aeróbicas.

Las células producen continuamente radicales libres y especies reactivas de oxígeno durante el metabolismo aeróbico, pero también producen antioxidantes en

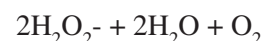
forma continua para combatirlos, evitando o disminuyendo el estrés oxidativo. A lo largo de la evolución han surgido sistemas enzimáticos que aparecen distribuidos de forma estratégica en diferentes orgánulos subcelulares, con objeto de minimizar el daño que se produciría por un exceso de radicales libres y especies reactivas de oxígeno.

La superóxido dismutasa descubierta por McCord y Fridovich [1], constituye la primera defensa del organismo frente a los radicales libres y especies reactivas de oxígeno. Actúa por remoción del radical $O_2^{\cdot-}$ a través de la conversión del mismo en la especie no radical H_2O_2



En las células de mamíferos la enzima SOD mitocondrial es dependiente de Mn (MnSOD) y el gen que la codifica en el hombre se encuentra en el cromosoma 6 (6q21), mientras que la citosólica es dependiente de Cu y Zn (CuZnSOD) y el gen que la codifica en el hombre [2] se encuentra en el cromosoma 21 (21q22.1). En individuos con síndrome de Down (trisomía del cromosoma 21) se produce un exceso, aproximadamente del 40-50% de Cu/ZnSOD, lo que genera un incremento en la producción de peróxido de hidrógeno.

Debido a que la acción de la enzima SOD genera como producto final H_2O_2 , la eficiencia de su acción depende de la colaboración de otras enzimas como catalasa (CAT) y glutatión peroxidasa (GPx) para remover dicho producto



Glutatión reductasa (GR) es una enzima de vital importancia para el funcionamiento de la eliminación de H_2O_2 por la vía de la GPx, así como para el mantenimiento del nivel de glutatión intracelular en forma reducida (GSH).

En ausencia de catalasa y glutatión peroxidasa se acumula el H_2O_2 , que, en presencia de metales de transición como el hierro o el cobre, genera el radical hidroxilo que posee elevada reactividad para reaccionar con macromoléculas.

El término de «estrés oxidativo» fue definido por Sies [3] como una alteración del balance entre agentes oxidantes y antioxidantes en la célula, a favor de los primeros. El estrés oxidativo depende no sólo de la agresividad química del propio oxidante, sino también de la cantidad de aquellos y del tiempo de exposición, así como del tipo de tejido que sufra el efecto y de la eficacia de las defensas antioxidantes disponibles. En células aerobias, existe una cierta generación de radicales libres y especies reactivas de oxígeno como consecuencia de los procesos oxidativos de la respiración. Pero también

puede ocurrir por una disminución de la capacidad antioxidante de las células debida a cambios fisiológicos o nutricionales. Por otro lado, la ocurrencia de un estrés oxidativo moderado puede inducir la síntesis de proteínas que permiten a la célula adaptarse a concentraciones relativamente altas de oxidantes. Sin embargo, en células de mamíferos sólo unos pocos genes tienen la capacidad de generar respuestas adaptativas.

Se ha observado que las personas con síndrome de Down (SD) presentan un estrés oxidativo inusual. Este estrés oxidativo resulta de un exceso de la enzima Cu/Zn superóxido dismutasa (Cu/ZnSOD), que está codificada en el cromosoma 21, región 21q22-1 [2,3]. Esta sobreexpresión del gen Cu/ZnSOD, debida a un efecto de dosis, puede perturbar el equilibrio de las especies reactivas de oxígeno en las células causando daño oxidativo en moléculas biológicas importantes, tales como DNA, proteínas y lípidos.

Los objetivos de este trabajo fueron: 1) analizar la actividad enzimática de Cu/Zn superóxido dismutasa (Cu/ZnSOD), catalasa (CAT), glutatión peroxidasa (GPx) y glutatión reductasa (GR), (que constituyen el principal mecanismo de defensa enzimática frente a la acción nociva de radicales libres y especies reactivas de oxígeno), y 2) determinar los niveles de malondialdehído (MDA), producto resultante de la fragmentación que sufren los ácidos grasos poliinsaturados de las membranas por la peroxidación lipídica, en individuos con síndrome de Down (SD), con la finalidad de contribuir al conocimiento de un nuevo aspecto de la patología de este síndrome.

Pacientes y métodos

Descripción de la muestra

Se ha analizado un grupo de 100 personas con SD, de ambos sexos: 34 varones y 66 mujeres, con edades comprendidas entre recién nacidos y 29 años. De ellos, 90 presentaban trisomía regular del cromosoma 21, 6 presentaban mosaicismo con diferentes porcentajes entre la línea celular normal y la línea celular con trisomía 21 regular, y 4 presentaban translocación (3 translocaciones robertsonianas entre los cromosomas 14 y 21, y 21-21, originadas por fusión centromérica (q10;q10) entre dichos cromosomas y una translocación recíproca entre los cromosomas 10 y 21). Como control, se incluyó en el estudio un grupo de 100 individuos sin ninguna patología, de ambos sexos: 40 varones y 60 mujeres, y con edades similares a las del grupo con SD.

A cada uno de ellos se le extrajo 3 mL de sangre venosa, que fue recogida en tubos previamente heparinizados, para evitar la coagulación. Tanto el grupo de individuos con SD, como el grupo control presentaban

valores hematológicos normales. Todos los integrantes de este estudio, o sus representantes legales, firmaron su conformidad para ser incluidos en este estudio.

1. Determinaciones enzimáticas

Determinación de la actividad de Cu/ZnSOD

La actividad de SOD ha sido medida en sangre entera. El método utilizado [4] está basado en la autooxidación de pirogalol a pH 8,2 y usando NBT («Nitro Blue Tetrazolium») como detector de radical superóxido. El NBT por efecto del radical superóxido se reduce a azul de formazan. La presencia de superóxido dismutasa inhibe esta reducción al capturar al radical superóxido. Se considera como una unidad de actividad de SOD a la cantidad de la misma capaz de producir el 50% de la máxima inhibición de la reducción del NBT, según la definición de McCord y Fridovich [1].

Determinación de la actividad de CAT

La actividad de CAT ha sido valorada en hemolizados. Para determinar la actividad de CAT se ha utilizado el método de Aebi [5], basado en la descomposición de agua oxigenada y valorada mediante medidas espectrofotométricas a 240 nm. La actividad se expresa en k por gramo de hemoglobina (k es el coeficiente constante de una reacción de primer orden según la definición de Aebi, expresado en segundos⁻¹).

Determinación de la actividad de GPx

La actividad de GPx se determinó en eritrocitos (GPx-dependiente de selenio). El ensayo se ha llevado a cabo utilizando hidróperóxido de cumeno que valora la actividad GPx total, y se ha utilizado el método de Paglia y Valentine [6], que valora la actividad de GPx midiendo el descenso de absorbancia a 340 nm, debido a la oxidación del NADPH en presencia de un exceso de GR. La actividad se expresa en Unidades de GPx/g de hemoglobina.

Determinación de la actividad de GR

La actividad de GR se determinó en eritrocitos. Se ha utilizado el método de Calberg and Mannervik [7], en el que se mide espectrofotométricamente el descenso de absorbancia a 340 nm debido a la oxidación del NADPH. La actividad se expresa en Unidades de GR/g de hemoglobina.

2. Valoración de la peroxidación lipídica

Determinación de los niveles de MDA

La valoración de MDA se realizó en hemolizados mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). El método utilizado es una modificación del descrito por Bull y Marnett [8]. La detección se realiza

mediante la absorción del malondialdehído a 268 nm. Los niveles de MDA se expresan como nM de MDA/mg de hemoglobina.

Análisis estadístico

El estudio estadístico se realizó con el programa SPSS, versión 10,0. La actividad de los enzimas antioxidantes se ha expresado como media (desviación estándar de la media). Para la comparación entre grupos se ha realizado una *t* de Student, considerando estadísticamente significativos los valores de $p < 0,05$. También fue utilizado un análisis de la varianza (ANOVA).

Resultados

SD debido a trisomía primaria del cromosoma 21

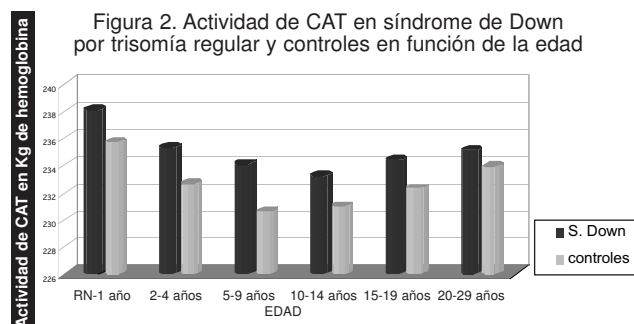
Actividad de Cu/Zn SOD

No se han observado diferencias estadísticamente significativas ni entre varones y mujeres con SD, ni entre varones y mujeres del grupo control, en la actividad de Cu/ZnSOD, expresada como unidades/mL de sangre, en ninguno de los diferentes grupos de edad. La figura 1 muestra la actividad de Cu/ZnSOD, expresada como unidades/mL de sangre, en el grupo de personas con SD por trisomía primaria y en el grupo control, distribuidos por grupos de edad desde recién nacidos hasta los 29 años. La actividad de Cu/ZnSOD es significativamente más elevada en el nacimiento y en los primeros años de vida del individuo, para posteriormente, ir disminuyendo gradualmente hasta alcanzar los niveles del adulto. Este hecho se observa tanto en el grupo con SD por trisomía regular, como en el grupo control. La actividad de Cu/ZnSOD es más elevada en las personas con SD que en el grupo control, siendo las diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) para todos los grupos de edad.

Actividad de CAT

No se han observado diferencias estadísticamente significativas ni entre varones y mujeres con SD, ni entre varones y mujeres del grupo control, en la actividad

Figura 2. Actividad de CAT en síndrome de Down por trisomía regular y controles en función de la edad



de CAT, expresada como k/g de hemoglobina, en ninguno de los diferentes grupos de edad. En la figura 2 se observa la actividad de CAT, expresada como k/g de hemoglobina, en el grupo de individuos con SD por trisomía primaria y en el grupo control, distribuidos por grupos de edad desde recién nacidos hasta los 29 años. Los recién nacidos muestran la actividad más alta de CAT, ésta descende durante la infancia y se incrementa en la adolescencia, tanto en el grupo de SD por trisomía regular como en el grupo control. El grupo de personas con SD presenta una actividad de CAT ligeramente superior a la obtenida para el grupo control, en todos los grupos de edad, pero las diferencias observadas no son estadísticamente significativas.

Actividad de GPx

No se han observado diferencias estadísticamente significativas ni entre varones y mujeres con SD, ni entre varones y mujeres del grupo control en la actividad de GPx, expresada como unidades/g de hemoglobina, en ninguno de los diferentes grupos de edad. La figura 3 ilustra la actividad de GPx, expresada como unidades/g de hemoglobina, en el grupo de personas con SD por trisomía regular y en el grupo control, distribuidos por grupos de edad desde recién nacidos hasta los 29 años. La actividad de GPx es más elevada en los individuos con SD que en el grupo control, siendo las diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) para todos los grupos de edad.

Actividad de GR

No se han observado diferencias estadísticamente significativas ni entre varones y mujeres con SD, ni entre varones y mujeres del grupo control, en la actividad

Figura 1. Actividad de Cu/ZnSOD en síndrome de Down por trisomía regular y controles en función de la edad

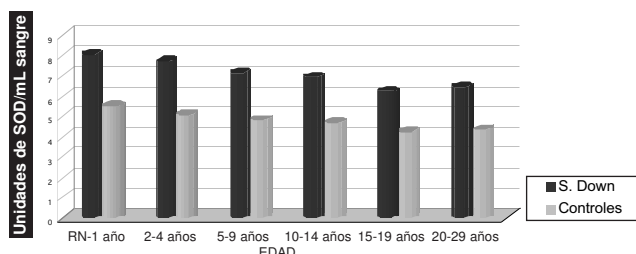


Figura 3. Actividad de GPx en síndrome de Down por trisomía regular y controles en función de la edad

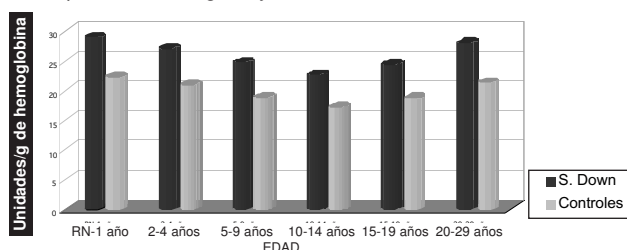


Figura 4. Actividad de GR en síndrome de Down por trisomía regular y controles en función de la edad

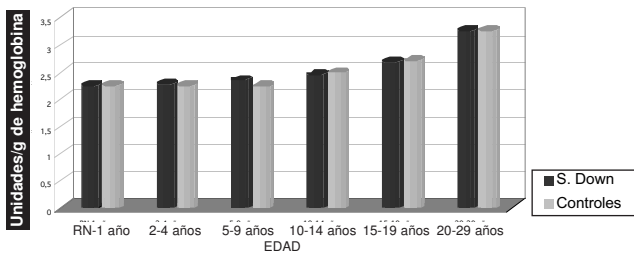
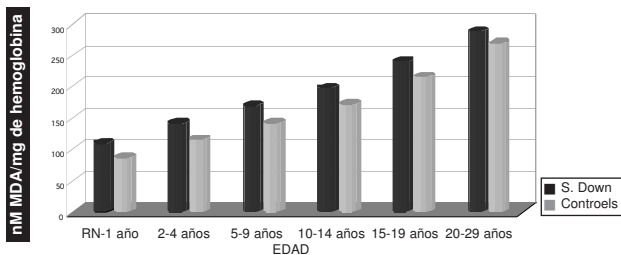


Figura 5. Niveles de MDA en síndrome de Down por trisomía regular y controles en función de la edad



de GR, expresada como unidades/g de hemoglobina, en ninguno de los diferentes grupos de edad. En la figura 4 se expresa la actividad de GR, en unidades/g de hemoglobina, en el grupo de individuos con SD por trisomía regular y en el grupo control, distribuidos por grupos de edad desde recién nacidos hasta los 29 años. El grupo de personas con SD presenta una actividad de GR similar a la obtenida para el grupo control, en todos los grupos de edad, sin observarse diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos.

Niveles de MDA

No se han observado diferencias estadísticamente significativas ni entre varones y mujeres con SD, ni entre varones y mujeres del grupo control, en los niveles de MDA en ninguno de los diferentes grupos de edad, expresados como nM MDA/mg de hemoglobina. En la figura 5 se aprecian los niveles de MDA, expresados como nM MDA/mg de hemoglobina, en el grupo de personas con SD por trisomía regular y en el grupo control, distribuidos por grupos de edad desde recién nacidos hasta los 29 años. Los niveles de MDA son inferiores en el nacimiento, tanto en los individuos con SD como en el grupo control, y van incrementándose con el paso de los años. Los niveles de MDA son más elevados en los individuos con SD que en el grupo control, siendo las diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) para todos los grupos de edad.

SD debido a mosaicismo

Se observó que tanto la actividad de los enzimas antioxidantes Cu/ZnSOD, CAT, GPx y GR como los niveles de peroxidación lipídica variaban en función del porcentaje de la línea celular normal y de la línea celu-

lar con trisomía. El estrés oxidativo era menor cuanto mayor era el porcentaje de la línea celular normal.

SD debido a translocaciones

En los 4 individuos con síndrome de Down debido a translocaciones entre los cromosomas 14-21, 21-21 y 10-21, la actividad de los enzimas antioxidantes Cu/ZnSOD, CAT, GPx y GR y los niveles de MDA eran similares a los obtenidos en individuos de la misma edad con síndrome de Down debido a trisomía regular.

Discusión

SD por trisomía primaria

Por lo que respecta a la actividad de los enzimas Cu/ZnSOD, CAT, GPx y GR, los datos obtenidos en este trabajo muestran un incremento de aproximadamente el 50% en la actividad de Cu/ZnSOD, en todos los grupos de edad con respecto a la actividad de Cu/ZnSOD obtenida en el grupo control. Este exceso en la producción de Cu/ZnSOD estaría causado por un efecto de dosis génica, originado por la presencia, en cada uno de estos individuos, de 3 cromosomas 21, cromosoma donde está localizado el gen que codifica la Cu/ZnSOD (21q22.1). Estudios anteriores realizados por nuestro grupo de investigación [9] mostraron un incremento del 42% en la actividad de Cu/ZnSOD en personas con SD debido a trisomía regular y edades de 2 a 45 años.

La cuestión sería cómo un incremento en la producción de un gen normal podría ser la causa del desarrollo de anomalías con un amplio espectro de retraso mental desde grave hasta moderado que se observa en personas con SD. Se ha sugerido que el exceso de producción de Cu/ZnSOD podría estar implicado en algunos síntomas clínicos de pacientes con manifestaciones neuropsiquiátricas a causa de una excepcionalmente rápida eliminación de radicales de oxígeno, que puede afectar la síntesis de neuromedadores dependientes de ellos. Un incremento en la actividad de Cu/ZnSOD ha sido consignado en pacientes con esquizofrenia, autismo y otros desórdenes mentales [10,11].

Por otra parte, Björkstén et al, [12] y Mallet et al, [13] han encontrado en eritrocitos de individuos con SD, incrementos significativos en los niveles de cobre y zinc. Björkstén explica esta situación como un metabolismo deficiente en las células trisómicas, mientras que Mallet ha correlacionado el incremento del cobre eritrocitario total, especialmente la fracción estable, con el incremento en la actividad de Cu/ZnSOD, de igual forma que un descenso de cobre en eritrocitos se ha relacionado con una baja actividad de Cu/ZnSOD.

No hemos observado diferencias estadísticamente significativas entre varones y mujeres ni en el grupo

con SD por trisomía regular ni en el grupo control. Guemori et al, [14] y de la Torre [15] han encontrado que la actividad de Cu/ZnSOD disminuye significativamente en las mujeres tras la menarquia. Con respecto a la edad hemos observado que la actividad de Cu/ZnSOD es significativamente más elevada en el nacimiento y en los primeros años de vida del individuo para, posteriormente, ir disminuyendo gradualmente hasta alcanzar niveles propios del adulto. Este hecho se observa tanto en el grupo con SD por trisomía primaria, como en el grupo control.

La actividad de CAT, enzima que junto con GPx descompone el peróxido de hidrógeno generado por la dismutación del radical superóxido, aparece discretamente más elevada en el grupo con SD por trisomía regular que en el grupo control, pero las diferencias obtenidas no son estadísticamente significativas. Muchová et al., [16] analizando 37 individuos (de 1 a 20 años) con SD, tampoco han encontrado diferencias significativas entre el grupo con SD y el grupo control en la actividad de CAT. Percy et al., [17] no han encontrado diferencias entre la actividad de CAT en personas con SD y un grupo control. Cabría pensar que en la descomposición del peróxido de hidrógeno la CAT desempeña un papel secundario. No hemos observado diferencias significativas entre varones y mujeres ni en el grupo con SD por trisomía primaria, ni en el grupo control. Con respecto a la edad, los recién nacidos muestran la actividad más alta de CAT, debido a que la CAT es el único enzima que aumenta su actividad a medida que progresa la edad gestacional. Desciende durante la infancia y se incrementa en la adolescencia, tanto en el grupo de SD por trisomía primaria como en el grupo control y estos datos son acordes con los obtenidos en una amplia muestra de la población española sin patologías [18].

La actividad de GPx está significativamente incrementada en el grupo de individuos con SD por trisomía regular, siendo el incremento de aproximadamente un 30% respecto a la actividad del grupo control. Este incremento en la actividad de GPx (enzima codificada por un gen situado en el cromosoma 3) en el SD por trisomía regular podría deberse a un mecanismo metabólico adaptativo. La actividad incrementada de GPx es, más probablemente, inducida por el incremento en los niveles de peróxido de hidrógeno que es el sustrato para GPx y en cuya descomposición, a diferencia de CAT, juega un papel clave, y facilita conjuntamente con la vitamina E el bloqueo de la peroxidación lipídica. Debido a que el selenio es una parte esencial de la enzima, directamente responsable de su actividad, cabría esperar un aumento de selenio en el SD, al igual que ocurre con el cobre y el cinc, sin embargo, Nève et al. [19] encontraron, en 29 personas con SD actividad de GPx incrementada, pero niveles normales de selenio.

Sinet et al., [20] han encontrado una correlación positiva entre coeficiente intelectual y actividad de GPx en el SD. Al igual que en otras enzimas no se han observado diferencias significativas entre varones y mujeres, ni en el grupo con SD por trisomía regular, ni en el grupo control. Tampoco se han obtenido diferencias significativas en la actividad de GPx entre los diferentes grupos de edad.

La sensibilidad de las células a los RL depende, aparentemente, de la relación entre Cu/ZnSOD y (CAT+GPx) más que de las cantidades absolutas de antioxidantes individuales. En individuos con SD la proporción entre Cu/ZnSOD y enzimas que inactivan el peróxido de hidrógeno es más elevada que en individuos sin SD, y este desequilibrio podría causar la acumulación de peróxido de hidrógeno que, por una parte, estimula la autooxidación de hidroquinonas, y por otra permite la producción de OH[•] (radical hidroxilo) especialmente en presencia de metales de transición. El OH[•] daña varias estructuras celulares (proteínas, lípidos, DNA y RNA) y altera las bases heterocíclicas que contienen nitrógeno e induce enlaces cruzados y roturas en las cadenas de DNA.

La actividad de GR, enzima encargada de mantener el glutatión en su forma reducida y por tanto, de vital importancia para el funcionamiento de la eliminación de H₂O₂ por la vía de la GPx, en los individuos con SD por trisomía regular analizados en este trabajo mostraba valores normales, no habiéndose observado diferencias estadísticamente significativas con respecto al grupo control, en ninguno de los grupos de edad. Muchová et al., [16] encontraron un descenso significativo en la actividad de GR, en personas con SD, lo cual puede conducir a un desequilibrio en el metabolismo del glutatión reducido en individuos con SD. No hemos obtenido diferencias significativas, entre varones y mujeres, ni en los individuos con SD ni en el grupo control. Tampoco hemos observado diferencias significativas entre los distintos grupos de edad, ni en los individuos con SD, ni en el grupo control.

La determinación de MDA, uno de los productos resultantes de la fragmentación que sufren los ácidos grasos poliinsaturados, puede constituir un indicador válido del estrés oxidativo a que son sometidas las estructuras de membrana de la célula como consecuencia tanto de la acción de los radicales libres y especies reactivas de oxígeno, como del paso del tiempo. Los datos obtenidos en este trabajo muestran niveles más elevados de MDA en individuos con SD por trisomía regular (causados por la presencia de un mayor estrés oxidativo), que en el grupo control. Jovanovic et al., [21] también han encontrado niveles de MDA elevados en orina de 81 personas con SD, mientras que Muchová et al., [16] encuentran niveles elevados de MDA en suero de 37 individuos con SD, pero no encuentran diferencias en eritrocitos con

respecto al grupo control. Esta discrepancia en los niveles de MDA en eritrocitos obtenida en nuestro trabajo y la obtenida por Muchová et al., podría estar causada por el número de casos analizados (100 frente a 37) y por la metodología utilizada: mientras en nuestro estudio determinamos MDA por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), ellos valoraron el MDA con la técnica del TBARS (sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico), de menor precisión y exactitud que la HPLC. Al igual que en la población española sin patologías [22] no hemos obtenido diferencias estadísticamente significativas entre varones y mujeres, ni en el grupo con SD, ni en el grupo control. Los niveles de MDA se incrementan con el paso de los años tanto en el grupo con SD como en el grupo control, comportándose como en la población española [22], en la que determinamos que el MDA es un buen marcador tanto del estrés oxidativo como del envejecimiento.

SD por mosaicismo

La actividad de Cu/ZnSOD, CAT, GPx y GR y los niveles de MDA en los casos de SD por mosaicismo analizados, dependen de los porcentajes de la línea celular normal y de la línea celular con trisomía. Los resultados obtenidos muestran que el estrés oxidativo es menor cuanto mayor es el porcentaje de la línea celular normal.

SD por translocación

En los casos de SD por translocación analizados en este trabajo, la actividad de las enzimas antioxidantes (Cu/ZnSOD, CAT, GPx y GR), y los valores de la peroxidación lipídica (niveles de MDA) han sido similares a los obtenidos en los casos de SD por trisomía primaria.

Conclusiones

De acuerdo con los datos obtenidos en este trabajo, que constituye una buena representación, tanto en número (100), como en manifestación del SD (trisomías primarias, mosaicismos y translocaciones), podemos llegar a las siguientes conclusiones:

Los individuos con SD manifiestan:

1. Aumento del estrés oxidativo, causado por exceso de Cu/Zn SOD, que tienden a compensar mediante un
2. Incremento de la actividad de enzimas antioxidantes, principalmente GPx y catalasa.
3. Altos niveles de peroxidación lipídica, causados por aumento del estrés oxidativo.
4. No existen diferencias entre varones y mujeres con SD, en la actividad de los enzimas antioxidantes, ni en los niveles de MDA.
5. Menor estrés oxidativo en casos de SD por mosaicismo, y el estrés oxidativo es menor cuanto mayor es el porcentaje de la línea celular normal.

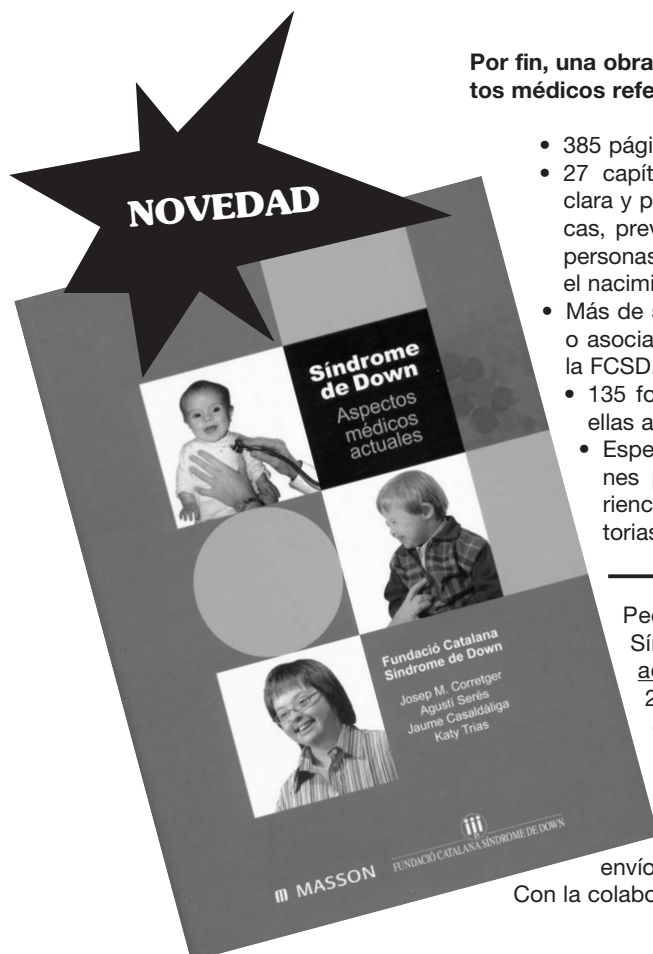
Agradecimientos

Queremos expresar nuestro agradecimiento a todos los integrantes de este estudio por su generosa colaboración. A los Drs. José Antonio Abrisqueta, Vitalino Aller y Juan Menaya, del Departamento de Citogenética Humana del Centro del Investigaciones Biológicas (CSIC) por sus análisis citogenéticos. A los Drs. Jesús García y Julián Lirio, del Servicio de Pediatría Social del Hospital Niño Jesús de Madrid, y a los Drs. Cañete y Romero del Servicio de Pediatría del Hospital San Rafael de Madrid por su valiosa colaboración en este trabajo. A la Fundación Inocente, Inocente, sin cuya ayuda no se habría podido llevar a cabo este trabajo.

Bibliografía

1. McCord JM, Fridovich I. Superoxide dismutase: an enzymic function for erythrocyte hemoglobin. *J Biol Chem* 1969; 244: 6049-55.
2. Sherman L, Dafni N, Lieman-Hurwitz J, Groner Y. Nucleotide sequence and expression of human chromosome 21-encoded superoxide dismutase mRNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 1983; 80: 5465-9.
3. Sies H. Biochemistry of oxidative stress. *Angewandte Chemie* 1986; 25: 1058-71.
4. Minami M, Yoshikawa H. A simplified assay method of superoxide dismutase activity for clinical use. *Clin Chem Acta* 1979; 92: 337-42.
5. Aebi H. Catalase. In Bergmeyer H.U, (eds.) *Methods of Enzymatic Analysis*. Weinheim Verlag Chemie 1974; 673-6.
6. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 1967; 70: 158.
7. Calberg I, Mannervick B. Glutathione reductase. *Methods in Enzymology*. 1985; 113: 484-90.
8. Bull AW, Marnett LJ. Determination of malonaldehyde by ion-pairing high-performance liquid chromatography. *Anal Biochem* 1985; 149: 284-90.
9. De la Torre R, Casado A, López-Fernández E, Carrascosa D, Ramirez V, Sáez J. Overexpression of copper-zinc superoxide dismutase in trisomy 21. *Experientia* 1996; 52: 871-3.
10. Cohen MR, Sailer V, McAmis B, Jenkis P. Superoxide dismutase in fibroblasts from patients with schizophrenia. *Biol Psychiat* 1986; 21: 322-4.
11. De la Torre R, Casado A, Carrascosa D, López-Fernández ME. Cu/Zn superoxide dismutase overproduction in mentally retarded (non Down) patients. *Clin Chim Acta* 1996; 252: 205-7.

12. Björkstén B, Back O, Gustavson KH, Hallmans G, Hegflop B, Tarnvik A. Zinc and immune function in Down's syndrome. *Acta Paediatr Scand* 1980; 69: 183-7.
13. Mellet B, Pouillet P, Ayme S, Mattei M, Mattei J, Rebuffel P. Erythrocyte copper levels in children with trisomy 21. *J Ment Defic Res* 1979; 23: 219-25.
14. Guemouri L, Artur Y, Herberth B, Jeandel C, Cuny G, Siest G. Biological variability of superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase in blood. *Clin Chem* 1991; 37: 1932-7.
15. De la Torre R. Determinación de la actividad de superóxido dismutasa en poblaciones humanas normales y patológicas. 1995. Tesis Doctoral. Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid.
16. Muchová J, Sustrová M, Garaiová I, Liptaková A, Blazicek P, Kvasnicka P, Pueschel S, Duracková Z. Influence of age on activities of antioxidant enzymes and lipid peroxidation products in erythrocytes and neutrophils of Down syndrome. *Free Rad Biol and Medic* 2001; 31: 499-508.
17. Percy ME, Dalton AJ, Markovic VD, Crapper McLachlan DR, Hummel JT, Russk ACM, Andrews DF. Red cell superoxide dismutase and catalase in Down syndrome patients with and without manifestations of Alzheimer disease. *Am J Med Genet* 1990; 35: 459-67.
18. Casado A, López-Fernández ME. Age-correlated changes of the erythrocyte catalase activity in the Spanish population *Gerontology* 2003; 49: 251-4.
19. Nève J, Sinet PM, Molle L, Nicole A. Selenium, zinc and copper in Down's syndrome (trisomy 21): blood levels and relations with glutathione peroxidase and superoxide dismutase. *Clin Chim Acta* 1983; 133: 209-14.
20. Sinet PM, Lejeune J, Jérôme H. Trisomy 21 (Down's syndrome) glutathione peroxidase, hexose monophosphate shunt and I.Q. *Life Sci* 1979; 24: 29-33.
21. Jovanovic SV, Clements D, MacLeod K. Biomarkers of oxidative stress are significantly elevated in Down syndrome. *Free Rad Biol Medic* 1998; 25: 1044-8.
22. Gil P, Fariñas F, Casado A, López-Fernández ME. Malondialdehyde: a possible marker of ageing. *Gerontology* 2002; 48: 209-14.



Por fin, una obra que actualiza todos los aspectos médicos referentes al síndrome de Down:

- 385 páginas de esmerada impresión.
- 27 capítulos de exposición sistemática, clara y práctica de las medidas diagnósticas, preventivas y de seguimiento de las personas con síndrome de Down, desde el nacimiento hasta la edad adulta.
- Más de 50 autores, especialistas titulares o asociados del Centro Médico Down de la FCSD.
- 135 fotografías e ilustraciones, 114 de ellas a todo color.
- Especial énfasis en las consideraciones prácticas derivadas de la experiencia aportada por más de 1.600 historias clínicas.

Pedidos a Fundació Catalana Síndrome de Down por e-mail: administracio@fcsd.org, fax: 93 215 76 99, o correo ordinario: c/ Comte Borrell 201-203, entl., 08029 Barcelona; o a través de nuestra web: www.fcsd.org.

Precio: 46 € iva incluido (más gastos de envío). Todos los envíos son contra reembolso.

Con la colaboración de Banco Urquijo.