

CONTRIBUCIÓN DE LOS MODELOS EXPERIMENTALES DE DAÑO INDUCIDO EN SISTEMAS EN DESARROLLO

Irradiación prenatal: rol del óxido nítrico y el stress oxidativo en la apoptosis radioinducida en el SNC en desarrollo

Lic. Julieta Sanjurjo
Academia Nacional de Medicina

Los efectos de la irradiación prenatal en el desarrollo del cerebro pueden ser considerados a nivel celular, estructural y funcional, de forma de integrar la información obtenida a partir de diferentes fuentes en un modelo capaz de explicar los mecanismos involucrados en el daño neuronal que permita realizar estimaciones de riesgo y mejorar la protección radiológica. El cerebro humano es especialmente sensible a la radiación ionizante durante determinadas etapas del desarrollo prenatal. A dosis tales como las recibidas por los sobrevivientes de las explosiones de las bombas atómicas de Hiroshima y Nagasaki prenatalmente expuestos, el riesgo fue máximo cuando las exposiciones se produjeron durante el período comprendido entre la 8ª y 15ª semanas de gestación, que coincide con la máxima producción de neuronas y su migración a la corteza cerebral. El efecto más importante producido sobre el crecimiento y el desarrollo cerebral fue el aumento de la incidencia de Retraso Mental Severo y la apoptosis radioinducida de los progenitores neuronales puede postularse como uno de los factores asociados a esta patología, además de los mecanismos de migración y sinaptogénesis.

La apoptosis es un proceso innato, conservado evolutivamente, por medio del cual las células producen la inactivación, desorganización y degradación de sus componentes estructurales y funcionales en forma sistemática, a fin de producir su propia muerte. La apoptosis es el mecanismo principal de muerte celular inducida por radiación ionizante de baja transferencia lineal de energía (LET) en el sistema nervioso central (SNC) en desarrollo.

Por medio de un sistema in vitro de micromasas corticales (cultivos primarios de células de corteza cerebral) a partir de cerebros de embriones de rata, se caracterizó la apoptosis radioinducida durante diferentes estadios de desarrollo, se determinó su cinética y los posibles mecanismos implicados: injuria oxidativa y óxido nítrico. Los cultivos celulares fueron expuestos a radiación gamma y recibieron una única dosis, comprendida entre los 0,2 y 2 Gy proveniente de una fuente de Co60 (Picker C4M60) a una distancia de 70 cm, con un tamaño de campo en superficie de 25 cm x 25 cm y a una tasa de dosis de 0,34 Gy/minuto. La apoptosis fue medida por citometría de flujo.

La respuesta celular frente a la injuria por radiación demostró ser claramente dependiente de la dosis, verificándose un aumento significativo de la apoptosis a partir de los 0,4 Gy a las 20 horas post-irradiación que fue incrementándose en forma lineal con la dosis total.

Además de ser dosis-dependiente, la apoptosis de células corticales resultó ser dependiente de la edad de desarrollo, o lo que es igual, de la tasa de proliferación y del nivel de diferenciación, siendo máxima a los 15 días de edad gestacional (e.g.) y disminuyendo hacia el día 19 de e.g.

El desarrollo temporal de la apoptosis reveló un incremento significativo a partir de las 4 horas p.i. para una dosis fija de 2 Gy, indicando también que a pesar de ser un fenómeno temprano, continúa a lo largo del tiempo, incrementándose la cantidad de células apoptóticas durante las 20 horas posteriores a la irradiación.

Con respecto a la etiología de la apoptosis neuronal, varios mecanismos han sido implicados. La producción de Oxido Nítrico (NO) ha sido implicada en la injuria neuronal de distintos desórdenes neurodegenerativos, el stress oxidativo también está involucrado en la inducción de muerte neuronal en estos desórdenes y también se ha comprobado que la estimulación excesiva de los receptores glutamato puede mediar la muerte neuronal a través de la producción de NO y anión

superóxido, que al combinarse, forman peroxinitrito, de gran poder neurotóxico. A pesar de esto, el tratamiento de los cultivos corticales con inhibidores de la enzima Oxido Nítrico sintetasa (NOS), L-NAME y N-Arginina y con el antagonista del receptor NMDA, MK 801, produjeron un aumento significativo de la apoptosis radioinducida a todas las concentraciones y tiempos de incubación utilizados. Por esto, el bloqueo de los receptores NMDA podría estar implicado en la disminución de la actividad de la NOS y por lo tanto, en una menor tasa de producción de NO que podría estar jugando un rol neuroprotector. A pesar de que en ciertos casos el NO puede potenciar la toxicidad producida por las especies reactivas del oxígeno (ERO), en otras circunstancias puede ejercer acciones antioxidantes directas o indirectas en sistemas biológicos sometidos a stress oxidativo debido a la producción excesiva de ERO, principalmente protegiendo a las membranas biológicas de la oxidación lipídica.

Además de los mecanismos que involucran al NO, es evidente que el stress oxidativo radioinducido tiene un rol central en la apoptosis neuronal, ya que se observó una disminución de la apoptosis inducida por radiación cuando los cultivos fueron tratados con moduladores del stress oxidativo, como el precursor del antioxidante Glutación, N-acetilcisteína (NAC), Trolox, un análogo de la vitamina E y protector de membranas biológicas y al atrapador de radicales libres, Manitol.

Estos resultados, además de identificar el tipo de daño radioinducido involucrado en la apoptosis, permitirían señalar que la peroxidación lipídica y el daño provocado a las membranas, además del daño primario al ADN, podrían ser una de las causas fundamentales de la apoptosis radioinducida de las células corticales del SNC en desarrollo.