

Deficit de testosterona y estrés en pulmón

Piguillem SN, Ciminari ME, Gómez NN

Departamento de Bioquímica y Ciencias Biológicas. Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia - Universidad Nacional de San Luis (UNSL). San Luis- Argentina

Correo electrónico: ngomez@unsl.edu.ar/ gomez.nidia@gmail.com

Recibido 1 de abril de 2013; Aceptado el 19 de abril de 2013.

Resumen

Si se pierde el equilibrio entre los sistemas que generan oxidantes y aquellos que generan antioxidantes se produce un estado denominado estrés oxidativo. Los pulmones están expuestos continuamente a agentes oxidantes generados tanto a nivel endógeno, como a nivel exógeno. Se han identificado diferencias sexuales considerables tanto en la fisiología respiratoria, como en la respuesta del pulmón a agentes ambientales. Estas diferencias estarían moduladas en parte por las hormonas sexuales y sus receptores nucleares. La supresión de andrógenos provocaría alteraciones significativas en el pulmón, que pueden estar relacionadas a alteraciones en la composición química de las membranas celulares y del surfactante pulmonar. Estos cambios pueden ser reversibles si se administran andrógenos luego del déficit de testosterona, aunque la reversibilidad depende del tiempo y la duración de la administración posterior de andrógenos. Es interesante explorar el efecto que causa el estrés oxidativo producto de la falta de andrógenos en la fisiología pulmonar y buscar la posibilidad de revertir los síntomas del cuadro inflamatorio que genera.

Palabras clave: estrés oxidativo, pulmón, castración, testosterona, inflamación.

Testosterone deficiency and stress in lung

Abstract

If the balance between the systems that generate oxidants and antioxidants agents is lost, a condition called oxidative stress appears. Lungs are continuously exposed to oxidants generated both, at the endogenous and exogenous level. Considerable sexual differences in the respiratory physiology as long as in the lung response to environmental agents have been identified. This deprivation would cause significant alterations in the lung, which may be related to alterations in the chemical composition of cell membranes and lung surfactant. These changes may be reversible if androgen is administered after the testosterone deficiency, although the reversibility depends on the time and duration of the subsequent administration of androgens. It is interesting to explore the effect of the oxidative stress induced by the lack of androgens in lung physiology and to seek the possibility of reversing the inflammatory symptoms that it generates.

Key words: oxidative stress, lung, castration, testosterone, inflammation

Introducción

En las últimas décadas, se ha modificado el punto de vista con respecto al papel del oxígeno necesario para la vida de los organismos aeróbicos. La paradoja de la esencialidad del oxígeno para la vida y la toxicidad inherente a sus derivados hace que las especies reactivas del oxígeno (EROS) sean factores que determinan la etiología de algunas patologías en las cuales se ven involucradas, así como también su participación en el avance de muchos aspectos de la medicina. Sumado a ello, la enfermedad de la membrana hialina (distrés respiratorio del recién nacido) es prevalente en el sexo masculino, por lo que podríamos generalizar que la síntesis de surfactante es afectada por el sexo (Hallman y col, 1982; Jobe, 1988). De hecho, la síntesis de surfactante es normalmente retrasada en el desarrollo del pulmón del hombre, en comparación con la mujer. Por lo que a partir de numerosas evidencias en animales de laboratorio, sobre la relación que existe entre pulmón – estrés oxidativo y niveles de andrógenos se realiza esta revisión y actualización.

Los radicales libres (RL) son compuestos altamente reactivos e inestables, que actúan sobre lípidos, aminoácidos y carbohidratos y pueden causar mutaciones en el ADN, debido a que las bases y las cadenas fosfodiéster de este último son muy susceptibles a la peroxidación. Estos metabolitos, cuando son producidos en concentraciones fisiológicas, pueden actuar como segundos mensajeros en numerosas vías de transducción de señales (Quinlan y col., 2001).

Las especies reactivas del oxígeno (EROS) son un conjunto de moléculas reactivas producidas en algunos procesos metabólicos en los que participa el oxígeno. Las EROs son moléculas muy reactivas entre las que se encuentran los iones del oxígeno, algunos radicales libres y los peróxidos; los sistemas de transporte de electrones (mitocondrial y microsomal), la xantina oxidasa y peroxidasas.

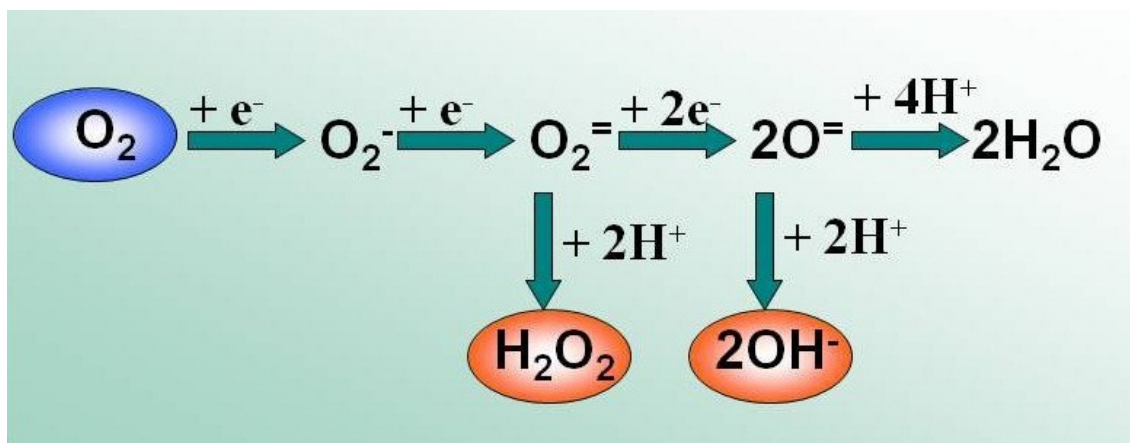


Figura 1: Metabolitos derivados del oxígeno, luego de ganar electrones y combinarse con protones. O₂: oxígeno molecular, O₂⁻: radical oxígeno, O₂⁼: oxígeno molecular, O⁻: anión de oxígeno atómico, O: átomo de oxígeno, O⁼: oxígeno atómico, e⁻: electrones, H⁺: protones, H₂O₂: peróxido de hidrógeno, HO⁻: hidroxilo, H₂O: agua.

En la década de 1990 diversos investigadores establecieron que las EROS en concentraciones muy bajas, producidas en el momento de la activación celular, desempeñan el papel de segundos mensajeros y por lo tanto tienen un rol de señal positivo en las cascadas de transducción (Dröge, W; 2001; Sheppard y col.; 2005).

Las especies reactivas del oxígeno son reconocidas por sus efectos nocivos sobre casi todos los tejidos y las células del organismo; se les atribuye causas asociadas con el cáncer, fibrosis pulmonar, problemas vasculares, el envejecimiento, la diabetes, neuropatía, etc. (Filomeni y col., 2005). Por ejemplo, la NADPH oxidasa de los neutrófilos que es una de las oxidasas mejor estudiadas, juega un papel importante en la defensa contra patógenos (Qi y col.; 2008). Ahora se reconoce que la mayoría de las células tienen NAD(P)H oxidasas (familia NOX), enzimas que se encuentran en la membrana plasmática y controlan los procesos de activación fisiológicos (Sumimoto y col.; 2005).

Además, se presentan en el organismo especies reactivas del nitrógeno (ERN), que son un conjunto de moléculas reactivas derivadas del óxido nítrico. Las ERNs son moléculas muy reactivas entre las que se encuentran el óxido nítrico, el peroxinitrito y el ácido nitroso.

Los organismos aeróbicos han desarrollado numerosos sistemas de defensas para regular los niveles de EROS y / o mantener los niveles de las mismas ya que son indispensables para la actividad fisiológica. Algunas de estas enzimas son: superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), glutatión peroxidasa (GPx) y tioredoxina (para facilitar el intercambio sulfhídrico / disulfuro) y otras que son pequeñas moléculas como (vitaminas C y E, glutatión, entre otras).

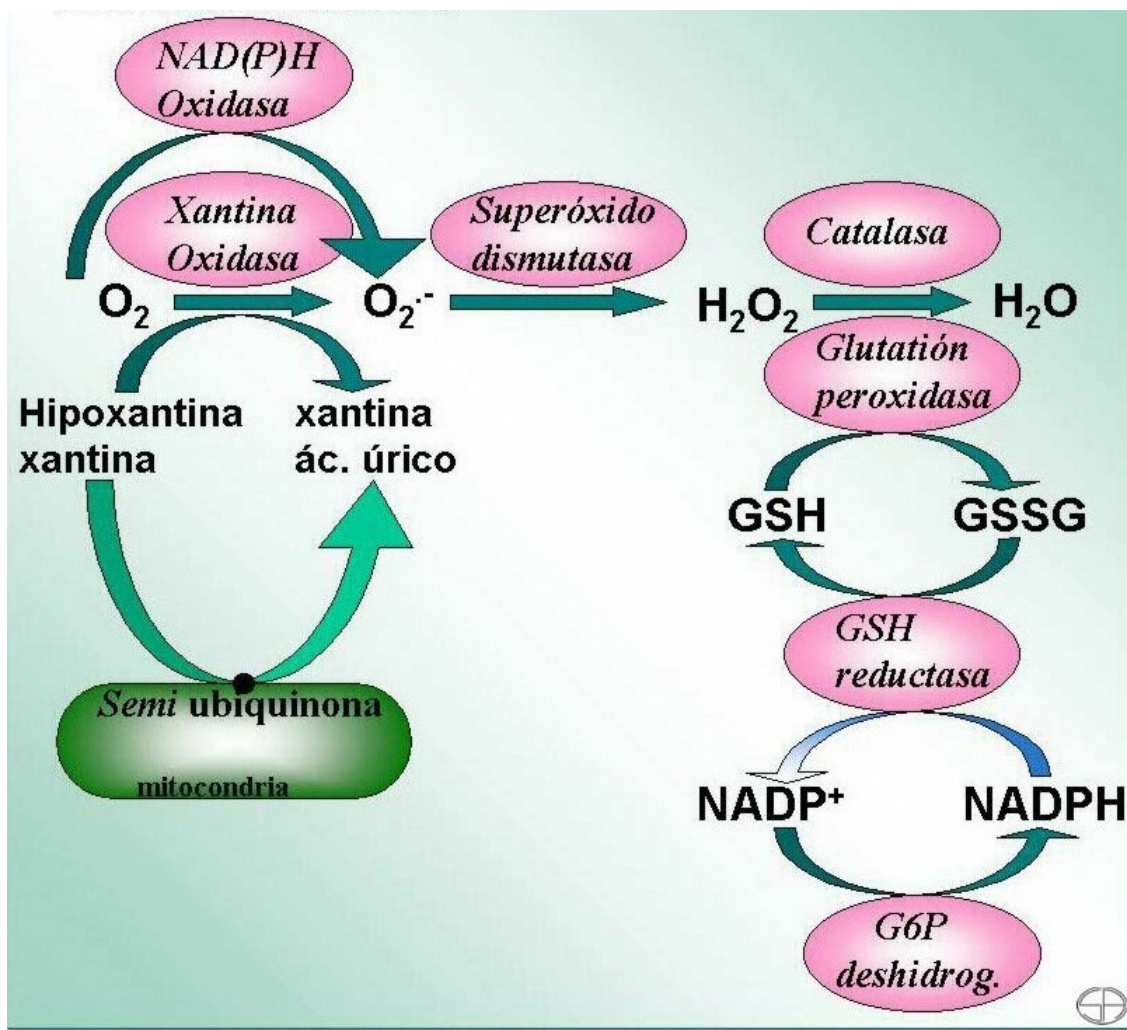


Figura 2: Mecanismo de acción conjunta del sistema de defensa antioxidante. O_2 : oxígeno molecular, $O_2^{\cdot -}$: radical oxígeno, H_2O_2 : peróxido de hidrógeno, H_2O : agua GSH: glutatión reducido, GSSG: glutatión oxidado, G6P deshidrogenasa: glucosa 6 fosfato deshidrogenasa, $NADP^+$: nicotinamida adenina difosfato oxidado, NADPH: nicotinamida adenina difosfato reducido.

Sin embargo, los radicales libres no sólo regulan la actividad de proteínas pre-existentes sino que también son responsables de la inducción de la expresión de numerosos genes (Saran y Bors, 1989) y de la perturbación de circuitos de transducción de señales responsables del mantenimiento de patrones establecidos de expresión génica (Grether-Beck y col., 1997).

En condiciones fisiológicas, en la mayoría de las células existe un equilibrio entre los sistemas que generan oxidantes y aquellos que constituyen las defensas antioxidantes del organismo. Por lo tanto, cuando existe un desequilibrio entre la velocidad de producción de oxidantes y la actividad de los sistemas antioxidantes se produce un estado denominado estrés oxidativo (Rauma y Mykkanen, 2000). Los sistemas de defensa antioxidante están constituidos

por antioxidantes endógenos y exógenos que operan juntos a nivel molecular para proteger las membranas celulares, lipoproteínas, ADN, etc. del daño oxidativo que ocasionan los radicales libres.

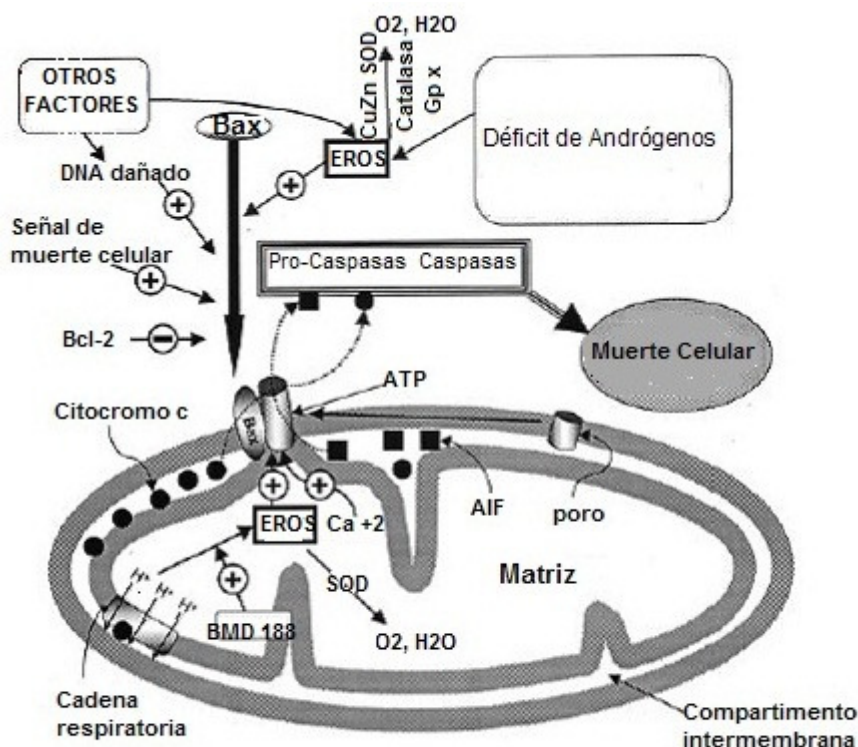


Figura 3: Esquema simplificado de la secuencia de reacciones mitocondriales que conducen a la apoptosis producida por EROS. Otros factores, como por ejemplo las radiación γ y luz UV provocan señales de muerte celular mediante la formación de EROS y/o por daño en el ADN promoviendo el ensamble de la proteína pro-apoptótica Bax con la membrana externa mitocondrial, más probablemente en los sitios de contacto entre las dos membranas y su asociación con el ATP. Esto permite la liberación de citocromo c y la inducción de apoptosis (AIF). La activación es indicada como (+) y la inhibición como (-).

Los antioxidantes endógenos son compuestos de naturaleza proteica y no proteica sintetizados por la célula. Mientras que los antioxidantes exógenos incluyen oligoelementos y vitaminas incorporados a través de la dieta. Dentro de cada grupo, los antioxidantes pueden ser enzimas que aumentan la velocidad de ruptura de los radicales libres, otros que previenen la participación de metales de transición en la generación de radicales libres y los scavengers (inactivadores o barredores) y de esa manera protegerían de las infecciones, del deterioro celular, del envejecimiento prematuro y probablemente, del cáncer.

Una importante función protectora antioxidante es ejercida in vivo por compuestos naturales como: tocoferol o vitamina E, β carotenos o provitamina A, ácido ascórbico o vitamina

C y vitamina K, los que son provistos por la alimentación normal (El-Demerdash y col., 2004). Estos antioxidantes tienen distintos mecanismos de acción y podríamos agruparlos en:

- Vitaminas y provitaminas: como las vitaminas A, E y C, Selenio, Zinc, Beta caroteno (provitamina A), entre otros.
- Vitaminas que son coenzimas (generalmente de enzimas antioxidantes que actúan en la regeneración enzimática). Coenzima Q 10 (ubiquinona), ácido gamma linoleico (GLA), etc.
- Minerales, como componentes estructurales de enzimas antioxidantes. Entre ellos: Cu, Mn, Zn, Se y Fe. Además o sumado a ello, Zn por sí mismo es un antioxidante (Tabla N°1) A su vez, la dieta proporciona un gran grupo de no-nutrientes que tienen actividad antioxidante como; los bioflavonoides (incluyendo flavonas, isoflavonas, flavononas, antocianinas) que son fuentes antioxidantes que contribuyen significativamente a la capacidad antioxidante total (Steinmetz y Potter, 1996; Jackson, 1994).

Tabla 1: Clasificación de antioxidantes según el sitio donde ejercen su acción.

CLASIFICACION DE ANTIOXIDANTES		
INTRACELULAR	MEMBRANA	EXTRACELULAR
Superóxido dismutasa	Vitamina E	Ceruloplasma
Catalasa	Beta-carotenos	Transferrina
Glutación Peroxidasa	Ubiquinol-10	Lactoferrina
DT-diaforasa		Albúmina
Glutación		Haptoglobina
Proteínas que ligan metales		Vitamina C
Sistemas proteolíticos		Ácido úrico
Vitamina C		Vitamina E

Estrés oxidativo en pulmón. Efecto de los andrógenos

Los pulmones están expuestos continuamente a agentes oxidantes generados a nivel endógeno en los macrófagos o fagocitos, entre otros tipos celulares y a nivel exógeno como consecuencia de los contaminantes del aire, como el humo del cigarrillo. Además, los oxidantes intracelulares como los derivados del transporte electrónico de la mitocondria, los cuales están involucrados en muchas vías de señalización. Las células pulmonares están protegidas contra esta batería oxidativa por sistemas antioxidantes bien desarrollados, tanto enzimáticos, como no enzimáticos (Halliwell, 1999). Cuando los sistemas de defensa antioxidante no pueden controlar los niveles de EROS se produce estrés oxidativo, éste no sólo tiene efectos perjudiciales directos sobre los pulmones, sino también activa mecanismos moleculares que pueden iniciar un proceso inflamatorio a nivel pulmonar (Rahman y MacNee, 1998).

En los procesos inflamatorios se incrementa la expresión de moléculas de adhesión de superficie, como la liberación de citoquinas pro-inflamatorias y de quimoquinas. Como resultado se produce un alto reclutamiento de neutrófilos y macrófagos, los que pueden desencadenar la liberación de especies reactivas del oxígeno, del nitrógeno y citoquinas que pueden conducir a la inflamación del tejido.

Por otro lado, numerosos estudios en animales de experimentación y en el hombre han identificado diferencias sexuales considerables en la fisiología respiratoria y en la respuesta del pulmón a agentes ambientales. Estas diferencias estarían mediadas, al menos en parte, por las hormonas sexuales y sus receptores nucleares (Card y Zeldin, 2009).

La testosterona (T) constituye el andrógeno circulante más abundante en el hombre y puede actuar directamente sobre las células blanco o ser reducida a Dihidrotestosterona (DHT), que es un andrógeno mucho más potente por tener mayor afinidad por el receptor de andrógenos. Asimismo en el pulmón se expresan los receptores de andrógenos (receptores nucleares), por lo que este órgano sufre los efectos directos de esta hormona.

Los receptores nucleares (RsN) son una superfamilia de proteínas que funcionan como factores de transcripción activados por ligandos, regulan la expresión de genes específicos y están implicados en funciones biológicas de desarrollo, diferenciación, reproducción y homeostasis metabólica de organismos eucariotas (Wu y col.; 2007). Estos RsN se han conservado durante la evolución y son clasificados en subfamilias: Los clase I, son receptores de esteroides y se incluyen en este grupo; al receptor de progesterona (RP), receptor de estrógenos (RE), receptor de andrógenos (RA), receptor de mineralocorticoides (RM) y el receptor de glucocorticoides (RG). Los mismos son clásicamente definidos como ligando-dependientes y se homodimerizan para ejercer su función.

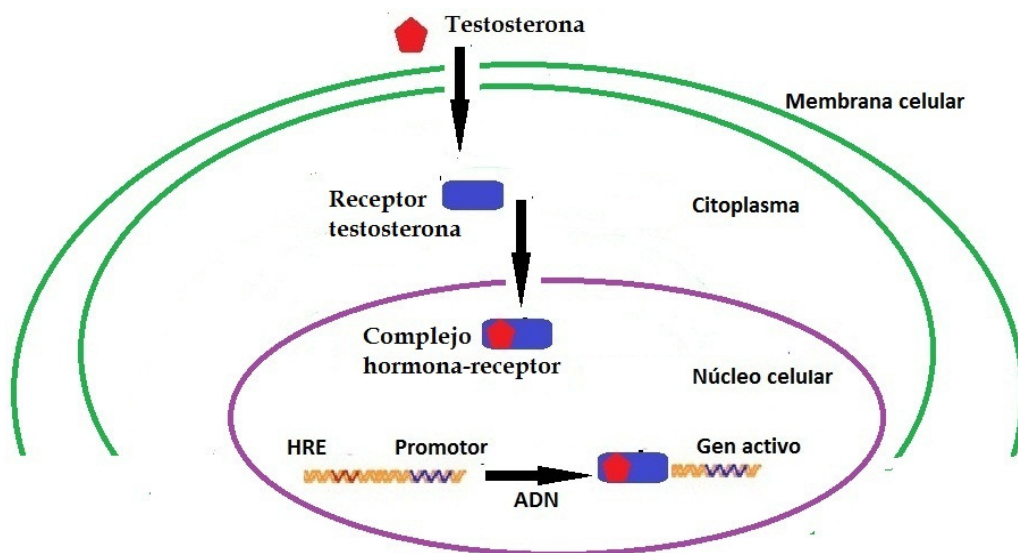


Figura 4. Receptor nuclear de testosterona: la testosterona ingresa a la célula, se une al receptor y forman el complejo hormona-receptor que ingresa al núcleo. (HRE) elemento de respuesta hormonal, (ADN) ácido desoxirribonucleico.

Los clase II, son conocidos como familia retinoidea – tiroidea. Los mismos son ligando independientes y tienen potencial tanto para homodimerizarse, como para heterodimerizarse (Bain, 2006).

En pulmón, la síntesis de lípidos (que cuenta entre su principal representante a los fosfolípidos) y proteínas del surfactante pulmonar se encuentran bajo control multifactorial y son reguladas por: estrógenos, andrógenos, hormonas tiroideas y catecolaminas; éstas últimas actúan a través de receptores beta-adrenérgicos y AMPc. La acción de los andrógenos en el pulmón ha sido estudiada principalmente durante el desarrollo (Mendelson y Boggaram, 1991). La dihidrotestosterona (DHT) inhibe la producción de surfactante pulmonar en fetos de conejo y la administración de flutamida a conejas preñadas elimina las diferencias sexuales en la proporción de fosfatidilcolina/esfingosina o esfingomielina en los lavados broncoalveolares, incrementando la concentración de estos compuestos en los machos, hasta el valor observado en las hembras (Nielsen y col., 1982; Nielsen 1985 y Klain y Nielsen, 1993).

En relación al efecto de los andrógenos sobre el pulmón, numerosos trabajos aportan información sobre las consecuencias de la castración quirúrgica y farmacológica en el pulmón de ratas macho. Se ha observado que la castración farmacológica, como consecuencia de la aplicación de flutamida (antiandrógeno), modifica la composición de los fosfolípidos en el surfactante pulmonar (Ojeda y col., 2000). El mismo comportamiento se había encontrado en ratas con privación de andrógenos en forma quirúrgica (Ojeda 1995). La falta de andrógenos en ambos casos (castración quirúrgica o farmacológica), luego de 21 días produjo un daño significativo en el parénquima pulmonar (Ojeda y col., 2000). Así mismo, se ha observado que

los andrógenos participan en la regulación de la síntesis de lípidos en el pulmón, modificando la actividad de las principales enzimas de estas vías, en rata macho adulta (Gómez y col., 1999).

Por lo tanto la supresión de andrógenos, ya sea por métodos quirúrgicos o farmacológicos, provocaría alteraciones significativas en el pulmón. Estos cambios degenerativos pueden estar relacionados, al menos en parte, a alteraciones en la composición química de las membranas celulares y del surfactante pulmonar (Ojeda y col., 2000).

En relación al efecto de la castración en el sistema antioxidante del pulmón, la supresión de andrógenos se puede cuantificar a través del aumento significativo de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS), como también en la modificación de la expresión como de la actividad de enzimas tales como: superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), entre otras en ratas macho adultas, a los 60 días post-castración (Perez Chaca y col., 2010).

Estos cambios, tanto en el sistema antioxidante, como en la histoarquitectura del pulmón pueden ser reversibles si se les administra testosterona a las ratas castradas, aunque la reversibilidad parece depender del tiempo que transcurre desde la castración hasta la administración de testosterona. Cuando la administración de testosterona a ratas macho se realiza a los dos días post-castración, los efectos de ésta última no se observaron en el parénquima pulmonar, en cambio cuando la testosterona se administrada a los 15 días post-castración, ésta no anulo los efectos que la castración produjo en el pulmón y el daño fue similar al de las ratas castradas (Ojeda y col., 2000; Pérez Chaca y col., 2010).

Conclusiones y direcciones futuras

Existen evidencias de una relación entre el estrés oxidativo, el daño pulmonar e inclusive la activación de mecanismos moleculares que desencadenan un cuadro de inflamación pulmonar. Una de las causas de esta situación sería el estrés oxidativo como consecuencia de la ausencia de testosterona, que induciría el daño pulmonar, el cual se manifiesta a través del aumento en la producción de enzimas antioxidantes y un marcado daño histológico. Así mismo este daño puede ser reversible si se administran andrógenos luego de la deficiencia, aunque la reversibilidad depende del tiempo y la duración de la administración post-castración. Sería interesante explorar la administración de testosterona a diferentes tiempos y con diferentes duraciones para llegar a conclusiones más certeras, ya que hasta el momento no son abundantes los estudios de este tipo, Además, el desbalance entre oxidantes y antioxidantes es una situación fisiopatológica común que se presenta en numerosas patologías pulmonares, lo que permite avanzar sobre el conocimiento de los mecanismos fisiopatológicos de las mismas.

Agradecimientos

Agradecemos a la Dra. Silvina Álvarez por su asistencia técnica en el diseño de los esquemas y en la redacción del resumen en inglés. Este trabajo se realizó en el marco del Proyecto de Investigación de SeCyT de la UNSL, PROIPRO 2-1012.

Referencias

- Bain, DL., A. F. Heneghan, K. D. Connaghan-Jones, M. T. Miura. (2006). Nuclear Receptor Structure: Implications for Function. *Annual Review of Physiology* Vol. 69: 201-220
- Card J.W., D.C. Zeldin. (2009) Hormonal influences on lung function and response to environmental agents. Lessons from animal models on respiratory disease. *Proc. Am. Thorac. Soc.* 6: 588-595.
- Dröge, W. (2001). Free radicals in the physiological control of cell function, *Physiol. Rev.* 82: 47–95.
- El-Demerdash FM, Yousef MI, Kedwany FS, Baghdadi HH. Cadmium-induced changes in lipid peroxidation, blood hematology, biochemical parameters and semen quality of male rats: protective role of vitamin E and β -carotene. *Food and Chemical Toxicology* 2004; 42: 1563-1571.
- Filomeni, G., G. Rotilio, M.R. Ciriolo, (2005). Disulfide relays and phosphorylative cascades: partners in redox-mediated signaling pathways, *Cell. Death Diff.* 12 1555–1563.
- Gómez N.N., M.S. Ojeda y M.S. Gimenez. (1999). *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* 240 (2): 455-456.
- Grether-Beck S, Buettner R, Krutmann J. Ultraviolet A radiation-induced expression of human genes: molecular and photobiological mechanisms. *Biol. Chem.* 1997; 378: 1231-1236.
- Halliwell, B. (1996). Antioxidants in human health and disease. *Annu. Rev. Nutr.* 16 33-50.
- Hallman M., R. Spragg., J.H Harrell y K.M. Moser 1982. Evidence of lung surfactant abnormality in respiratory failure. *J. Clin. Invest.* 70: 673-683.
- Jackson MJ. Symposium on "antioxidants". Can dietary micronutrients influence tissue antioxidant capacity? *Proc. Nutr. Soc.* 1994; 53: 53.
- Jobe A. (1988). The role of surfactant in neonatal adaptation. *Perinatology* 12: 123-133.
- Klain J.M., H.C. Nielsen. (1993). Androgen regulation of epidermal growth factor receptor binding activity during fetal rabbit lung development. *J. Clin. Invest.* 91 425-431.
- Mendelson C., Boggaram V. (1991). Hormonal control of the surfactant system in fetal lung. *Annu. Rev. Physiol.* 53: 41-40.
- Nielsen H.C., H.M. Zinman, J.S. Torday. (1982). Dihydrotestosterone inhibits fetal rabbit pulmonary surfactant production. *J. Clin. Invest.* 69 611-616.
- Nielsen H.C. (1985). Androgen receptors influence the production of pulmonary surfactant in the testicular feminization mouse fetus. *J. Clin. Invest.* 76 177-181.
- Ojeda M.S. (1995). Lípidos en el pulmón de rata macho. Efectos de la supresión de andrógenos. Tesis Doctoral, Universidad Nacional de San Luis.

Ojeda M.S., N.N. Gómez, E. Gil, L. Scardapane, M.S. Gimenez. (2000). Morphologic and biochemical changes in male rat lung after surgical and pharmacological castration. Brazilian Journal of Medical and Biological Research. 33: 279-285.

Qi W, Gao S, Wang Z. Transcriptional regulation of the TGF- β 1 promoter by androgen receptor. Biochem J 2008;416: 453–462.

Quinlan GJ, Chen Y, Evans TW, Gutteridge JM. Iron signalling regulated directly and through oxygen: implications for sepsis and the acute respiratory distress syndrome. Clin. Sci. (Colch). 2001; 100: 169-182.

Perez Chaca M.V., Biaggio V., Piguillem S.N., Nollac V., Gimenez M.S. Gómez N.N. (2011). Effects of castration and testosterone replacement on the major antioxidant transcription factor in lung. Biocell 35 (1) 67, Pág. A25.

Rauma AL, Mykkanen H. Antioxidant Status in vegetarians versus Omnivores. Nutrition 2000; 16: 111-119.

Rahman I., MacNee W. (1998). Role of transcriptions factors in inflammatory lung diseases. Thorax. 53: 601-612.

Saran M, Bors W. Oxygen radicals acting as a chemical messengers: a hypothesis. FreeRad. Res. Comun. 1989; 7: 213-220.

Sheppard, F.R., M.R. Kelher, E.E. Moore, N.J.D. McLaughlin, A. Banerjee, C.C. Silliman, (2005). Structural organization of the neutrophil NADPH oxidase: phosphorylation and translocation during priming and activation, J. Leukoc. Biol. 78: 1025–1042.

Steinmetz KA, Potter JD. Vegetables, fruit and cancer prevention: a review. J. Am. Diet. Assoc. 1996; 96: 1027-1039.

Sumimoto, H., K. Miyano, R. Takeya, (2005). Molecular composition and regulation of the Nox family NAD(P)H oxidases, Biochem. Biophys. Res. Comm. 338 677–686.

Wu Y, Zhao W, Zhao J, Pan J, Wu Q, Zhang Y, Bauman WA, Cardozo CP. Identification of androgen response elements in the insulin-like growth factor I upstream promoter. Endocrinology 2007;148:2984–2993.



ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista QuímicaViva

Número 1, año 12, Abril 2013

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar