

Niveles de superóxido dismutasa y catalasa en enfermedades del anciano

Angela Casado,* Rosario de la Torre,* Encarnación López-Fernández,* Diana Carrascosa,*
Doménico Venarucci,**

Recepción versión modificada 3/10/97; aceptación 29/10/97

Resumen

Se han determinado los niveles de superóxido dismutasa (SOD) y catalasa (CAT) en 420 individuos de uno y otro sexo y edades comprendidas entre 50 y 93 años. De ellos, 126 que no mostraban ninguna enfermedad relevante, se utilizaron como grupo control. Los 294 restantes mostraban diferentes trastornos: alteraciones del sistema vascular (insuficiencias coronarias, hipertensión, infarto, etc.), alteraciones del sistema osteoarticular (artritis, polialtralgias, osteoporosis, etc.), miomas, afecciones, prostáticas, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) y accidente cerebral vascular agudo (ACVA). Para valorar SOD se utilizó el método de Minami y Yoshikawa y el método de Aebi para valorar CAT. Métodos estadísticos: ANOVA y "t" de Student.

En la población control se han obtenido: 1) niveles de SOD y CAT más elevados en mujeres que en varones. 2) la actividad de CAT disminuye con la edad. En la población con patologías: 3) la actividad de SOD está elevada en cardiovascular, miomas, EPOC y ACVA. 4) la actividad de CAT desciende en cardiovascular, próstata, EPOC y ACVA. 5) en osteoarticular actividad normal de SOD y CAT, aunque SOD desciende con la edad, CAT desciende con la edad en cardiovascular y EPOC. En general el comportamiento de ambas enzimas tiende a conseguir un equilibrio en el sistema antioxidante.

Palabras clave: Superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), patologías del envejecimiento, antioxidantes.

Summary

Superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) activities were measured in blood from 420 individuals: control population 126, males and females, age between 50 to 93 years of age without any relevant pathology. Pathological population: 294 patients, males and females, age between 50 to 93 years of age, with some disease in the cardiovascular system and in the osteoarticular system, myoma, prostatic pathologies, Chronic Obstructive Pulmonary Disease (EPOC), and Acute Cerebral Vascular Accident (ACVA). The method of Minami and Yoshikawa (SOD) and the method of Aebi (CAT) were judged the techniques of choice for a population study. Statistical methods: ANOVA and Student's "t".

1) The results were that levels of activity for SOD and CAT were increased for women in control population, and 2) the level of activity for CAT decreases with aging. In the pathological population, we detected: 3) increased activity for SOD in cardiovascular diseases, myomas, EPOC and ACVA. 4) for CAT the level of activity decreases in cardiovascular and prostatic diseases, EPOC and ACVA. 5) while in osteoarticular diseases levels of activity for SOD and CAT were standard, but SOD level decreases with aging, for CAT in cardiovascular diseases and EPOC, too. Both enzymes work to balance the antioxidant system.

Key words: Superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), aging pathologies, antioxidants.

* Departamento de Fisiopatología y Genética Molecular Humana. Centro de Investigaciones Biológicas (CSIC), Madrid.

** Departamento de Bioquímica, INRCA Fermo AP, Italia.

Correspondencia y solicitud de sobretiros: Dra. Angela Casado. Centro de Investigaciones Biológicas (CSIC) Velázquez, 144 28006-MADRID.

Introducción

Desde que, en 1956, Harman¹ propuso la teoría de los radicales libres (RL) y el envejecimiento, se ha producido una coincidencia casi general al considerar que un factor que contribuye al envejecimiento de los seres vivos es la acción nociva de una forma específica de la molécula de oxígeno, el radical superóxido y de las demás especies reactivas de oxígeno generados en el interior de las células. Algunos teóricos incluso consideran que éste no es simplemente un factor más, sino el más importante del proceso degenerativo. En la teoría de los RL y el envejecimiento, se supone algún desequilibrio en el balance entre la producción y los mecanismos de control, que dan lugar a la producción continua y progresiva y la acumulación de daños deletéreos en células y tejidos, generando intensos trastornos funcionales a cada nivel de organización: ultraestructuras, células y órganos.² Por otra parte, los organismos vivos están dotados de una variedad de agentes antioxidantes, tales como los enzimas superóxido dismutasa (SOD), que transforman los radicales superóxido en peróxido de hidrógeno; catalasa (CAT) y glutatión peroxidasa (Gpx) que detoxifican el peróxido de hidrógeno. También están implicados en la protección de otras sustancias, no enzimáticas, tales como glutatión, ascorbato o vitaminas como la A y la E.

Se han realizado estudios comparativos de las defensas antioxidantes de distintos órganos (cerebro, hígado y corazón) en diferentes especies de mamíferos, se encontró que en cada órgano el máximo potencial de duración de vida (MLSP) estaba correlacionado con niveles relativamente elevados de uno o dos de los antioxidantes analizados (SOD, CAT y Gpx) y con bajos niveles de los restantes, lo que sugiere la posibilidad de un balance compensatorio entre los diversos componentes del sistema antioxidante.³

Cutler⁴ ha obtenido una correlación positiva entre la concentración en los tejidos de antioxidantes específicos y la duración de la vida de los mamíferos. Estos antioxidantes incluyen superóxido dismutasa, carotenoides, alfa-tocoferol y ácido úrico. También se encontró que la resistencia de los tejidos a la autooxidación espontánea y la cantidad de lesiones oxidativas al DNA se correlacionan inversamente con la duración de la vida de los mamíferos.

Guemori y col.⁵ ya habían indicado que la actividad de SOD, CAT y Gpx parecía disminuir con la edad. Esta disminución también la observaron Perrin y col.⁶ No obstante también se han publicado trabajos en los que esta actividad no estaba alterada.^{7,8} Los estudios realizados por Michelson y col.⁹ en ancianos, muestran que éstos presentaban una actividad de SOD normal si se encontraban en un buen estado de salud. Pero, cuando los ancianos se encontraban en malas condiciones físicas, necesitando cuidados clínicos, los valores medios de actividad, aún siendo normales, mostraban unas desviaciones 2,5 veces superiores al margen normal observándose una distribución bimodal. Por lo tanto, podría pensarse que tanto los valores altos como bajos de actividad de SOD se pueden asociar con síntomas de senilidad, algunos de los cuales podrían ser el resultado de una protección disminuida contra los procesos de envejecimiento causados por el radical superóxido y sus derivados.

El objetivo de este trabajo ha sido analizar la actividad de dos detoxificantes enzimáticos, SOD y CAT, en pacientes con edades comprendidas entre 50 y 93 años, para valorar la importancia de estas enzimas en determinadas enfermedades consideradas como propias del envejecimiento.

Material y métodos

La muestra está constituida por un total de 420 individuos de ambos sexos, y edades entre 50 y 93 años. De ellos, 126 que no mostraban ninguna enfermedad relevante fueron utilizados como grupo control. El resto estuvo integrado por 294 pacientes que mostraban diferentes padecimientos considerados como propios del envejecimiento tales como alteraciones del sistema vascular (insuficiencias coronarias, hipertensión, infarto, etc.) alteraciones del sistema osteoarticular (artritis, polialtralgias, osteoporosis, etc.) miomas, trastornos prostáticos, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) y accidentes cerebrales vasculares agudos (ACVA). El número de pacientes analizados de cada tipo de enfermedad, así como su distribución por edades figuran en los cuadros I y II.

Las muestras de sangre fueron aportadas por el Hospital Central de la Cruz Roja San José y Santa Adela de Madrid. A cada uno de los individuos que

constituyen la muestra se les extrajo 3ml. de sangre venosa que fue recogida en tubos previamente heparizados, EDTADIK, para evitar la coagulación.

La actividad de SOD ha sido medida en sangre entera utilizando el método de Minami y Yoshikawa,¹⁰ basado en la auto-oxidación del pirogallol a pH 8,2 y usando NBT como detector del radical superóxido. Se considera como unidad de actividad de SOD a la cantidad de la misma capaz de producir

50% de la máxima inhibición de la reducción del NBT, según la definición de McCord y Fridovich.¹¹

La actividad de CAT ha sido valorada en hemolizados, utilizando el método de Aebi,¹² basado en la descomposición de agua oxigenada y valorada mediante medidas espectrofotométricas a 240 nm. La actividad se expresa en kg de hemoglobina (k es el coeficiente constante de una reacción de primer orden según la definición de Aebi, expresado en s⁻¹).

Cuadro I. Actividad de SOD en la población anciana con enfermedades vinculadas al envejecimiento expresada en Unids/ml de sangre

| | Control | | Sist. Cardiovasc. | | Sist. Osteoart. | | Mioma | | Prostata | | EPOC | | ACVA | |
|------------|---------|----------|-------------------|-----------|-----------------|----------|-------|-----------|----------|---------|------|-----------|------|-----------|
| | No. | X±DS | No. | X±DS | No. | X±DS | No. | X±DS | No. | X±DS | No. | X±DS | No. | X±DS |
| Total | 126 | 4,4±1,0 | 67 | 5,0±1,0** | 106 | 4,7±1,1 | 36 | 4,8±1,0** | 50 | 4,7±1,3 | 21 | 5,1±1,2** | 14 | 5,1±1,1** |
| Mujeres | 65 | 4,6±1,1* | 45 | 5,1±0,9 | 80 | 4,7±0,9 | 36 | 4,8±1,0** | - | - | 9 | 5,4±1,5 | 13 | 5,2±1,2 |
| Varones | 61 | 4,2±0,9* | 22 | 4,9±1,1 | 26 | 4,2±1,2 | - | - | 50 | 4,7±1,3 | 12 | 4,8±0,9 | 1 | 4,2±0 |
| 50-57 años | 23 | 4,4±0,9 | 5 | 4,7±0,9 | 23 | 4,8±0,9# | 16 | 4,8±1,3 | 2 | 5,5±0,5 | 3 | 4,7±0,9 | 1 | 5,3±0 |
| 58-67 años | 48 | 4,3±0,9 | 22 | 4,8±0,7 | 48 | 4,9±1,0* | 13 | 5,0±0,8 | 19 | 4,8±1,0 | - | - | 1 | 4,3±0 |
| 68-77 años | 33 | 4,3±1,0 | 10 | 5,3±1,3 | 26 | 4,4±1,3 | 7 | 4,8±1,3 | 21 | 4,3±1,4 | 4 | 5,0±0,9** | 4 | 5,9±1,6 |
| 78-87 años | 16 | 4,4±1,2 | 20 | 4,8±1,1 | 6 | 3,9±0,9# | - | - | 8 | 5,2±1,2 | 12 | 5,3±1,4** | 6 | 4,7±0,9 |
| 88-93 años | 6 | 4,9±1,4 | 10 | 5,4±1,1 | 3 | 3,8±0,5# | - | - | - | - | 2 | 5,3±1,3** | 2 | 4,7±0,5 |

*= diferencias significativas (p<0,05) entre sexos.

**= diferencias significativas (p<0,05) frente a los controles.

#= diferencias significativas (p<0,05) entre diferentes grupos de edad.

X±DS= media ± desviación estándar.

EPOC= enfermedad pulmonar obstructiva crónica.

ACVA= accidente cerebral vascular agudo.

Cuadro II. Actividad de CAT en la población anciana con enfermedades relacionadas con el envejecimiento expresada en K/g de Hb

| | Control | | Sist. Cardiovasc. | | Sist. Osteoart. | | Mioma | | Prostata | | EPOC | | ACVA | |
|------------|---------|---------|-------------------|----------|-----------------|--------|-------|--------|----------|----------|------|----------|------|----------|
| | No. | X±DS | No. | X±DS | No. | X±DS | No. | X±DS | No. | X±DS | No. | X±DS | No. | X±DS |
| Total | 128 | 217±28 | 58 | 205±30** | 110 | 209±37 | 36 | 222±63 | 55 | 193±27** | 17 | 194±39** | 17 | 195±45** |
| Mujeres | 63 | 224±28* | 40 | 201±28** | 85 | 210±36 | 36 | 222±63 | - | - | 7 | 196±39 | 16 | 194±45** |
| Varones | 65 | 210±27* | 18 | 199±31** | 25 | 206±39 | - | - | 55 | 193±27 | 10 | 193±38 | 1 | 199±0 |
| 50-57 años | 26 | 226±26* | 3 | 204±31 | 24 | 212±38 | 16 | 237±50 | 2 | 201±30 | 1 | 207±0 | 1 | 266±0 |
| 58-67 años | 48 | 223±27 | 19 | 207±29 | 51 | 213±36 | 13 | 221±48 | 22 | 195±26 | - | - | 1 | 198±0 |
| 68-77 años | 35 | 205±27 | 9 | 204±30 | 28 | 211±37 | 7 | 187±65 | 23 | 190±27 | 4 | 237±40 | 4 | 197±42 |
| 78-87 años | 15 | 212±29 | 21 | 212±27 | 5 | 201±39 | - | - | 8 | 193±29 | 11 | 182±38 | 8 | 187±39 |
| 88-93 años | 4 | 193±30* | 6 | 171±28* | 2 | 183±40 | - | - | - | - | 1 | 143±0# | 3 | 207±46 |

*= diferencias significativas (p<0,05) entre sexos.

**= diferencias significativas (p<0,05) frente a los controles.

#= diferencias significativas (p<0,05) entre diferentes grupos de edad.

X±DS= media ± desviación estándar.

EPOC= enfermedad pulmonar obstructiva crónica.

ACVA= accidente cerebral vascular agudo.

El estudio estadístico se realizó mediante un análisis multifactorial de la varianza, considerando los factores sexo, edad y enfermedad (ANOVA). Para la comparación entre grupos de edades se ha realizado el test "t" de Student, considerando estadísticamente significativos los valores de $P=0,05$.

Resultados

Por lo que respecta a la actividad de SOD los datos obtenidos, en la población control, y en la población que presentaba enfermedades propias del envejecimiento, figuran en el cuadro I, en el que se puede observar que la población sin padecimientos, utilizada como control, mostró una actividad media de SOD de $4,4\pm 1,0$ unids/ml. de sangre,¹³ observándose diferencias significativas entre varones y mujeres ($4,2\pm 0,9$ vs. $4,6\pm 1,1$). No se observaron diferencias significativas entre los diversos grupos de edad.

La población que presentó trastornos del sistema cardiovascular mostró una actividad media de SOD de $5,1\pm 1,0$ unids/ml. de sangre, este valor es significativamente más elevado que el de población control. No se observaron diferencias significativas entre diferentes grupos de edades, ni entre sexos.

No se han reportado diferencias significativas entre varones y mujeres con padecimientos del sistema osteoarticular, ni tampoco con respecto a la población control, pero sí manifiestan un descenso en la actividad de SOD con la edad, mostrando diferencias significativas entre los grupos de edades. En la población de mujeres que presentaban miomas se observó una actividad media de SOD de $4,8\pm 1,0$ unids/ml. de sangre, que es significativamente más elevada que la obtenida en la población control. No se observaron diferencias significativas entre grupos de edades.

En los varones con patología prostática analizados no se observaron diferencias significativas con respecto a la población control ni entre los grupos de edades. En los pacientes con EPOC se ha obtenido una actividad media de SOD de $5,1\pm 1,2$ unids/ml. de sangre, que es significativamente superior a la observada en la población control. No se

han observado diferencias significativas entre sexos, ni por edades.

Los pacientes con ACVA mostraron una actividad media de SOD de $5,1\pm 1,1$ unids/ml. de sangre, que es significativamente más elevada que la de la población control. No se han encontrado diferencias significativas ni entre sexos, ni entre diferentes grupos de edad.

En el gráfico uno se representan aquellas patologías que muestran actividad de SOD alterada.

En el cuadro II figuran los datos obtenidos con respecto a la actividad de CAT, tanto en la población control, como en la población con trastornos propios del envejecimiento. Para la población control la actividad media de CAT fue de 217 ± 28 k/g de Hb,¹⁴ observándose diferencias significativas tanto entre varones y mujeres, como entre grupos de edades.

En la población con alteraciones del sistema cardiovascular se observó una actividad media de CAT de 205 ± 30 k/g de Hb., que es significativamente menor que la observada en la población control. No se reportaron diferencias significativas entre sexos y desciende significativamente en el grupo de más edad.

En varones con enfermedad prostática resultó una actividad media de CAT significativamente menor que en la población control (193 ± 27 vs. 217 ± 28). No hubo diferencias significativas entre los diferentes grupos de edades.

Los pacientes con EPOC mostraron una actividad media de CAT significativamente menor que la de la población control (194 ± 39 vs. 217 ± 28), y además esta actividad parecía disminuir en el grupo de más edad. No se observaron diferencias significativas entre varones y mujeres.

En los pacientes con ACVA se ha obtenido una actividad media de CAT de 195 ± 45 k/g de Hb. que es significativamente menor que la de la población control. No hubo diferencias significativas entre los diferentes grupos de edades.

En alteraciones del sistema osteoarticular y en miomas no se reportaron diferencias significativas con respecto a la población control en la actividad media de CAT. En la gráfica 2 se representan aquellas enfermedades que muestran actividad de CAT alterada.

Discusión

Mientras la actividad de SOD se encuentra aumentada en pacientes con alteración cardiovascular, en estos mismos pacientes la actividad de CAT está disminuida. En la mayoría de éstas se producen fases isquémicas, en las que los niveles de radicales libres disminuyen, para incrementarse tras la reperfusión. Una mayor actividad de SOD compensaría el descenso en la actividad de CAT equilibrando el sistema antioxidante, y ejercería un efecto protector en esta fase, para permitir una mejor recuperación del paciente. Por el contrario

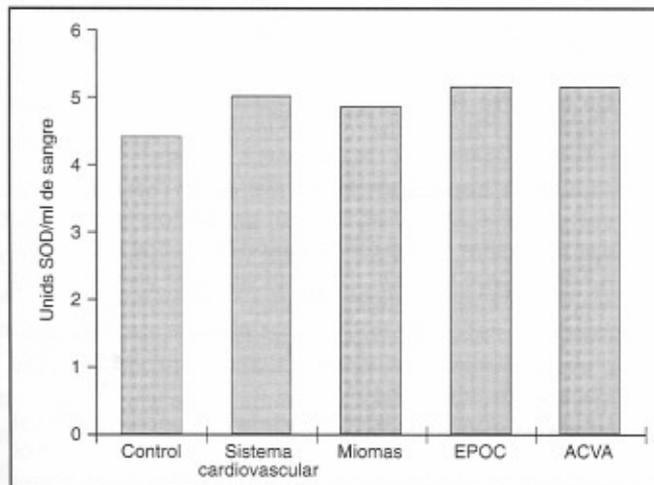
Jay y col.¹⁵ postulan que un aumento en la actividad de SOD generaría una mayor cantidad de H_2O_2 al dismutar al superóxido. Debido a que no hay suficiente CAT necesaria para descomponer el peróxido de hidrógeno, éste estaría disponible para generar (en reacciones catalizadas por metales de transición), otras especies aún más reactivas de oxígeno como el radical hidroxilo. De esta forma, la variación inversa de SOD y CAT contribuiría al establecimiento de la enfermedad en lugar de aliviar la condición. Aunque, se ha observado que la administración exógena de SOD hace disminuir el daño isquémico atenuando la mayoría de sus secuelas, como la arritmia, el área de infarto y la zona de necrosis.¹⁶

La actividad de SOD también se encuentra aumentada en pacientes con EPOC, mientras que la actividad de CAT se disminuye, debido probablemente a un reajuste en el sistema antioxidante, que tiende hacia un equilibrio entre sus componentes; además la actividad de CAT disminuye drásticamente en los grupos de mayor edad, que es precisamente en los que la SOD está más elevada. Estos datos no apoyan los obtenidos por Umeki y col,¹⁷ que observaron que la actividad de SOD estaba baja en pacientes con infecciones respiratorias. Sin embargo, puesto que en los pulmones la producción de radicales libres de oxígeno es elevada y constante, no es de extrañar que se incremente la actividad de SOD en este tipo de pacientes.

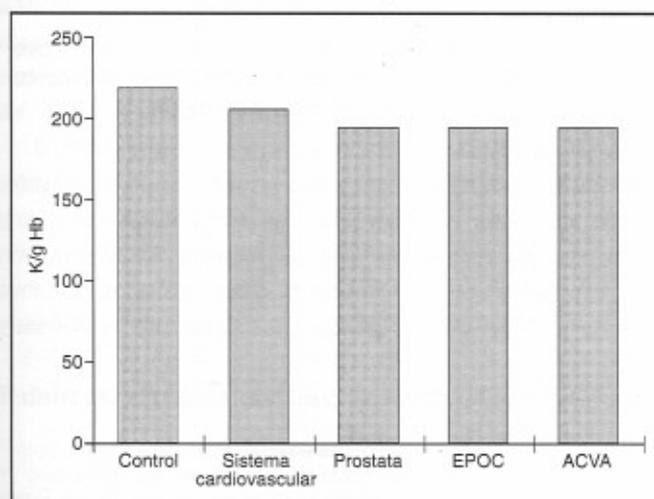
En los pacientes con ACVA se observa el mismo comportamiento (actividad de SOD aumentada y actividad de CAT disminuida) que en los pacientes con EPOC. Michowiz y col.¹⁸ observaron, en ratas, que la actividad de SOD no variaba en las áreas isquémicas ni cercanas al infarto durante las 24 primeras horas tras la lesión. Posteriormente, se produce una sobreoxigenación, que aumenta el nivel de radicales libres de oxígeno, esto explicaría que la actividad de SOD estuviera aumentada, aunque este incremento también podría deberse a una mayor liberación de SOD a la sangre tras producirse roturas celulares tras la isquemia cerebral.¹⁹

También se ha observado actividad de SOD aumentada y actividad de CAT normal en los pacientes con miomas, y actividad de SOD normal y actividad de CAT aumentada en varones con trastornos prostáticos. Ninguno de las dos enzimas

Gráfica 1
Actividad de SOD alterada en patologías asociadas al envejecimiento



Gráfica 2
Actividad de CAT alterada en patologías asociadas al envejecimiento



(SOD y CAT) presentaba diferencias, respecto a la población control, en patologías del sistema osteoarticular, a pesar de que en la mayoría de éstas alteraciones se producen procesos inflamatorios que generan gran cantidad de radicales libres.

Finalmente en ninguna de las enfermedades analizadas en este trabajo se han observado diferencias significativas en la actividad de SOD y CAT entre varones y mujeres; por el contrario, sí se encontraron diferencias significativas entre sexos en la actividad de SOD y CAT en la población control, mostrando valores más elevados las mujeres que los varones. Es posible que, junto a otros factores, sea el incremento en la actividad antioxidante (SOD y CAT), una de las causas de la mayor longevidad en las mujeres, además estos resultados apoyan la teoría del envejecimiento de Harman¹ que afirma que los procesos de envejecimiento están causados por un incremento del efecto tóxico de los radicales libres del oxígeno y una disminución de los agentes antioxidantes.

Referencias

1. **Harman D.** Aging: A theory based on free radical and radiation chemistry. *J Gerontol* 1956; 11:298-300.
2. **Crastes de Paulet A.** Radicaux libres et vieillissement (Free radicals and aging) *Ann Biol Clin* 1990;48(5):323-30.
3. **Sohal RS, Sohal BH, Brunk UT.** Relation-ship between antioxidant defenses and longevity in different mammalian species. *Mech Ageing Dev* 1990;53(3):217-27.
4. **Cutler RG.** Antioxidants and aging. *Amer J Clin Nutr* 1991;53(1Suppl):373-79.
5. **Guemouri L, Arthur Y, Herbert B, Jeandel C, Cuny G, Siest G.** Biological variability of superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase in blood *Clin Chem* 1991;37:1932-37.
6. **Perrin R, Briangon S, Jeandel C, Arthur Y, Minn A, Penin F, Siest G.** Blood activity of Cu/Zn superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase in Alzheimer's disease: A case control study. *Gerontology* 1990;36:306-13.
7. **Jeandel MB, Nicolas F, Dubois F, Nanet-Belleville F, Penin F, Cuny G.** Lipid peroxidation and free radical scavengers in Alzheimer's disease. *Gerontology* 1989;35:275-82.
8. **Liles MR, Newsome DA, Oliver PD.** Antioxidant enzymes in the aging human retinal pigment epithelium. *Arch Ophthalmol* 1991;109:1825-79.
9. **Michelson AM, Puget K, Durosay P, Bonneau JC.** Clinical aspects of the dosage of erythrocyte superoxide dismutase. In: *Superoxide and superoxide dismutases*. Michelson AM, McCord JM Fridovich Y, editors. New York Academic Press. 1977. pp 467-499
10. **Minami M, Yoshikawa H.** A simplified assay method of superoxide dismutase activity for clinical use. *Clin Chim Acta* 1979;92:337-42.
11. **McCord JM, Fridovich Y.** Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte superoxide (hemocuprein). *J Biol Chem* 1969;244:6049-55.
12. **Aebi H, Catalase.** In: Bergmeyer HU, Editor. *Methods of enzymatic analysis*. Weinheim: Verlag Chemie 1974;2:673-76.
13. **De la Torre R.** En: Determinación de la actividad de superóxido dismutasa en poblaciones humanas normales y patológicas. Tesis Doctoral 1995.
14. **Casado A, López-Fernández ME, De la Torre MR.** Red cell catalase activity in Spanish population (In press).
15. **Jay D, Cuéllar A, Jay EG, Gleason R, Muñoz E.** Study of a Fenton type reaction: Effect of captopril and chelating reagents. *Arch Biochem Biophys* 1992;298:740-46.
16. **Omar BA, Flores SC, McCord JM.** Superoxide dismutase: pharmacological developments and applications. *Adv Pharmacol* 1992;23:109-161.
17. **Umeki S, Sumi M, Niki Y, Soejima R.** Concentrations of superoxide dismutase and superoxide anion in blood of patients with respiratory infection and compromised immune systems. *Clin Chem* 1987;33:2230-33.
18. **Michowiz SD, Melamed E, Pikarsky E, Rappaport ZH.** Effect of ischemia induced by middle cerebral artery occlusion on superoxide dismutase activity in rat brain. *Stroke* 1990;21:1613-17.
19. **Strand T, Marklund SL.** Release of superoxide dismutase into cerebrospinal fluid as a marker of brain lesion in acute cerebral infarction. *Stroke* 1992;23:515-18.