
Mecanismos patogénicos en el desarrollo de la esclerosis múltiple: ambiente, genes, sistema inmune y estrés oxidativo.

Luis Javier Flores-Alvarado^{1,2}, Genaro Gabriel-Ortiz², Fermín P. Pacheco-Moisés³ y Oscar K. Bitzer-Quintero⁴.

¹Departamento de Biología Molecular y Genómica, Centro Universitario de Ciencias de la Salud, Universidad de Guadalajara. Guadalajara, Jalisco, México.

²Laboratorio de Mitocondria-Estrés Oxidativo y Patología, División de Neurociencias, Centro de Investigación Biomédica de Occidente del Instituto Mexicano del Seguro Social. Guadalajara, Jalisco, México.

³Departamento de Química, Centro Universitario de Ciencias de Ciencias Exactas e Ingenierías, Universidad de Guadalajara. Guadalajara, Jalisco, México.

⁴Laboratorio de Neuroinmunomodulación, División de Neurociencias, Centro de Investigación Biomédica de Occidente del Instituto Mexicano del Seguro Social. Guadalajara, Jalisco, México.

Palabras clave: interleucinas, esclerosis múltiple, estrés oxidativo, óxido nítrico y ácidos grasos omega-3.

Resumen. La esclerosis múltiple (EM) es la principal causa de discapacidad neurológica de origen no traumático en adultos jóvenes. EM es una enfermedad crónica inflamatoria que se caracteriza por daño a las fibras nerviosas y la cubierta de mielina. Esto produce una gran variedad de síntomas una vez que nervios específicos muestran inflamación y pérdida de su función. Estudios epidemiológicos y experimentales han identificado alteraciones genéticas, anormalidades en enzimas antioxidantes y autoinmunidad como algunos de los factores de riesgo para el desarrollo de la enfermedad. Evidencia reciente sugiere que la inflamación y el estrés oxidativo en el sistema nervioso central contribuyen al daño del tejido cerebral. Las células residentes en el sistema nervioso central así como las células inflamatorias invasivas liberan una gran cantidad de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno, las cuales causan desmielinización y destrucción de los axones: los hallazgos histopatológicos de la esclerosis múltiple. La interacción entre los procesos inflamatorios y neurodegenerativos producen perturbaciones neurológicas intermitentes seguidas por la acumulación progresiva de la discapacidad. Para tratar de limitar o disminuir la progresión de la enfermedad es necesario reducir la inflamación y el estrés oxidativo como estrategia terapéutica importante. Con la

finalidad de mejorar la sobrevivencia y la calidad de vida de los pacientes, se están desarrollando ensayos clínicos con suplementos alimenticios tales como los antioxidantes y los ácidos grasos poliinsaturados omega-3.

Pathogenic mechanisms of neuronal damage in multiple sclerosis.

Invest Clin 2015; 56(2): 201 - 214

Key words: interleukins, multiple sclerosis, oxidative stress, nitric oxide, omega-3 fatty acids.

Abstract. Multiple sclerosis is the most common cause of progressive neurological disability in young adults. This disease involves damage to the myelin sheath that normally insulates the electrical activity of nerve fibers. This leads to a wide range of symptoms as specific nerves become injured and lose their function. Epidemiological and experimental studies show that genetic alterations, antioxidant enzyme abnormalities and autoimmunity are risk factors for developing the disease. Recent evidence suggests that inflammation and oxidative stress within the central nervous system are major causes of ongoing tissue damage. Resident central nervous system cells and invading inflammatory cells release several reactive oxygen and nitrogen species which cause the histopathological features of multiple sclerosis: demyelization and axonal damage. The interplay between inflammatory and neurodegenerative processes results in an intermittent neurological disturbance followed by progressive accumulation of disability. Reductions in inflammation and oxidative stress status are important therapeutic strategies to slow or halt the disease processes. Therefore, several drugs are currently in trial in clinical practice to target this mechanism; particularly the use of supplements such as antioxidants and omega-3 polyunsaturated fatty acids, in order to improve the survival and quality of patients' lives.

Recibido: 31-03-2014 Aceptado: 25-10-2014

INTRODUCCIÓN

La esclerosis múltiple (EM) es una enfermedad inflamatoria crónica, desmielinizante del sistema nervioso central (SNC), considerada como una patología multifactorial en donde participan factores genéticos, inmunológicos y ambientales involucrados tanto en el proceso autoinmune como en los cambios patológicos propios de la enfermedad. Se ha propuesto a ciertos virus portadores de auto-antígenos que generan mi-

metismo molecular con proteínas de la mielina y ocasionan una pérdida de tolerancia contra estos, lo cual deriva en la destrucción de la mielina mediada por linfocitos T activados de la sustancia blanca del cerebro, que en ocasiones se extiende a la sustancia gris, provocando defectos en la conducción de los impulsos nerviosos, dando lugar a una amplia variedad de síntomas según el sitio afectado del cerebro o de la médula espinal (1). Dependiendo de las zonas de destrucción de mielina se presentarán

síntomas sensitivos o motores, con alteraciones del equilibrio o de la visión. Entre un “brote” o recaída (aparición de nuevos síntomas o empeoramiento de los existentes) y el siguiente, pueden pasar días o años. Las lesiones desmielinizantes (“placas”) se diseminan por el sistema nervioso central y difieren tanto en tamaño como localización. La aparición de los síntomas así como la respuesta a los tratamientos depende de cada paciente (2). La EM es la causa más frecuente de discapacidad neurológica en adultos jóvenes. Se caracteriza por la infiltración perivenosa de linfocitos y macrófagos en el parénquima cerebral con lesiones típicamente diseminadas. De acuerdo con el curso clínico la EM se clasifica en remitente-recurrente, primaria progresiva y secundaria progresiva. Su cuadro clínico puede variar desde un trastorno benigno auto limitado hasta una enfermedad grave y altamente incapacitante.

En pacientes con susceptibilidad genética, hay factores desencadenantes de la activación periférica de linfocitos que expresan en su superficie moléculas de adhesión que les permiten unirse a las células endoteliales y atravesar la barrera hematoencefálica (BHE); los linfocitos T son reclutados hacia el foco inflamatorio por un gradiente de moléculas quimiotácticas y al reconocer autoantígenos en los oligodendrocitos, experimentan expansión clonal para dar lugar a una lesión de la mielina y del axón. En todas las etapas de este proceso, las interleucinas (IL) intervienen como mediadoras de la respuesta inmunológica al ejercer un papel inmunorregulador. Por otra parte, se ha propuesto que ciertos péptidos microbianos tendrían la capacidad de estimular en gran medida a los linfocitos, incluidos clones de linfocitos autorreactivos. Estos linfocitos autorreactivos pasarían al SNC y activarían la enfermedad. Acorde con esta hipótesis, se ha demostrado que un gran número de brotes o recaídas de la EM se relacionan

con infecciones clínicas activas; además, el daño neurológico es mayor en los brotes desencadenados por infecciones que en los brotes espontáneos (3).

La familia de los herpes virus (HV), por su curso natural de fases de reactivación periódica y fases de inactividad, son candidatos interesantes en la patogénesis de la EM. En el curso de la infección vírica primaria, los HV infectan a las células del SNC, y pueden permanecer en fase latente, para posteriormente reactivarse. Otros virus involucrados en la etiopatogenia de la EM son los virus de Epstein-Barr (EBV), sarampión, citomegalovirus, así como por bacterias como *Chlamidia pneumoniae*. Sin embargo, en la actualidad no se ha demostrado un virus específico responsable de la enfermedad (4, 5).

Como tal la EM y su progresión son rasgos multifactoriales con umbral, influenciados por el efecto aditivo de factores genéticos y ambientales, lo que explica la prevalencia variable en diferentes lugares del mundo, cambios en la incidencia en periodos cortos de tiempo, los reportes en la literatura de posibles focos y las epidemias (Fig. 1).

Considerando la complejidad de la EM, el objetivo del presente trabajo fue hacer una revisión de carácter pedagógico que permita al clínico tener una visión más integral de este rasgo. Este incluye la revisión de factores ambientales como la exposición a la luz solar, la latitud, la dieta así como patrones de alimentación estrechamente relacionados con las variaciones epidemiológicas y geográficas. La influencia de los factores genéticos también es clara, aunque existen múltiples genes asociados a la EM, relacionados con diferentes vías como el estrés oxidativo o los procesos autoinmunes; en este sentido, solo citamos los más estudiados, como el antígeno mayor de histocompatibilidad. Incluimos una disección de los aspectos inmunológicos, así como del

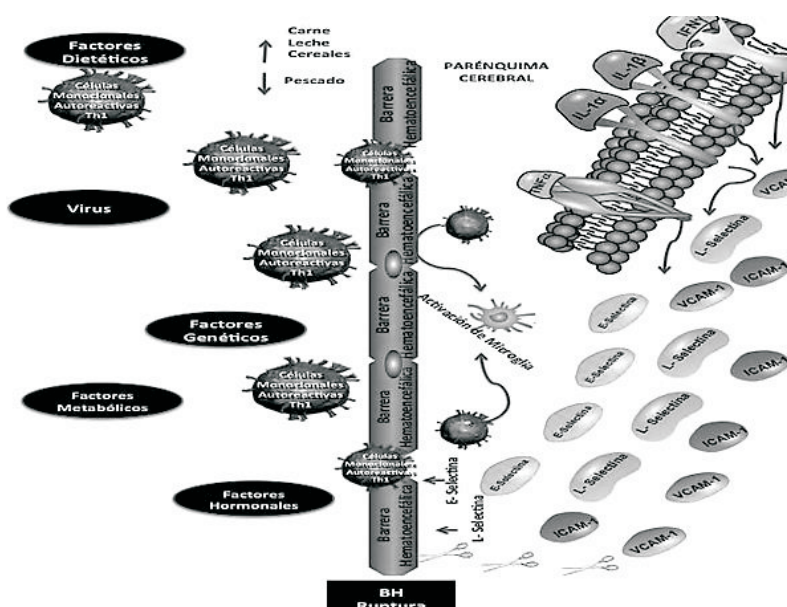


Fig. 1. Etiología de la esclerosis múltiple.

estrés oxidativo, dos de los principales mecanismos que influyen en el daño neuronal y que favorecen la génesis o progresión de la enfermedad. Finalmente presentamos un resumen de los avances terapéuticos.

FACTORES AMBIENTALES, RELACIÓN CON LA VARIACIÓN EPIDEMIOLÓGICA Y ÉTNICA

El ambiente es un factor, como se ha demostrado en otras enfermedades complejas, que determina el desarrollo. En la EM es básico analizar dos puntos en este sentido, el primero es que existe una relación entre la variación epidemiológica y étnica. El segundo es la dieta y los patrones de alimentación.

La incidencia reportada de EM es > 2 millones de pacientes a nivel mundial; predomina en el género femenino (60%) y se presenta entre los 20-45 años. En México la prevalencia es de 12 por cada 100 000 habitantes y predomina en los estados del Norte (Chihuahua), por lo que México se considera como un área de mediana frecuencia (6). Se ha demostrado que la incidencia de EM

aumenta gradualmente en países ubicados lejos del ecuador (cuyo clima progresa de templado a frío). Es más común en jóvenes caucásicos (20-45 años). La incidencia de EM en Latinoamérica es menor que en el hemisferio norte. Esto sugiere que también interviene la mezcla y diversidad genética (7-10). Un meta-análisis reciente sugiere que esta prevalencia dependiente de latitud, correlaciona importantemente con factores ambientales como una menor exposición a la radiación ultravioleta y la vitamina D, ya que la síntesis de esta última inicia en la piel con una reacción fotosensible no enzimática. La exposición reducida a la luz del sol en latitudes más altas disminuye la síntesis de Vitamina D e incrementa la síntesis de melatonina. Se ha sugerido que el déficit crónico de vitamina D provocado por una menor exposición de la luz solar en las grandes latitudes inicia la cascada de procesos inmunológicos que desencadenan la EM. El aumento de melatonina observado en las regiones altas debiera proteger contra la EM ya que la menor exposición solar, aumenta la secreción de melatonina. Sin embargo se sabe que la melatonina incide

en la expresión de los genes involucrados en la presentación de antígenos (10). Aunque hemos observado que pacientes con EM tienen niveles bajos de melatonina (datos no publicados) (Fig. 2).

Los patrones de alimentación influyen fuertemente la distribución geográfica de la EM. Existen reportes según los cuales la incidencia de EM no corresponde a la esperada debido a la localización geográfica; Japón, es una excepción notable de latitud alta e incidencia de EM extremadamente baja, lo que hace suponer que puede estar relacionada con el tipo de alimentación: japoneses que se trasladan a Hawaii, cambian sus hábitos alimenticios y aumentan el riesgo de EM. En las islas Faroe la incidencia de EM era muy baja comparada con otros países de latitud similar y ésta aumenta al doble como consecuencia de la influencia occidental en la dieta. El factor dietético común que pudiera explicar las excepciones anteriores es un mayor consumo de pescado combinado con un consumo reducido de productos cárnicos, cereales, y productos lácteos acostumbrados en regiones geográficas de mayor latitud (11). El efecto contrario, un incremento de riesgo de EM, se aprecia en los blancos no hispanos de Estados Unidos de América, que consumen menos pescado y más alimentos con alto contenido de grasas saturadas (12). En este sentido también se ha reportado que una dieta con baja proporción de grasas poliinsaturadas en relación con grasas saturadas está asociada con una mayor mortalidad en EM. Como los ácidos grasos están altamente concentrados dentro de la mielina de los astrocitos en el SNC, son más susceptibles a la peroxidación, lo cual podría ser un factor determinante en la desmielinización sobre todo en poblaciones que consumen bajos niveles de ácidos grasos poliinsaturados. En cambio los grupos étnicos acostumbrados al consumo de ácidos grasos poliinsaturados (PUFAS, del inglés polyunsaturated

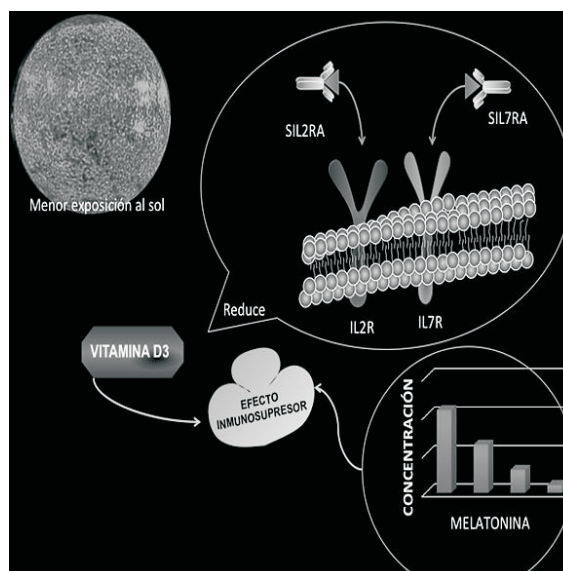


Fig. 2. Factores que incrementan el riesgo de presentar esclerosis múltiple.

fatty acids) omega-3 y omega-6 pudieran estar protegidos contra la EM por lo siguiente; son antioxidantes y neutralizan los radicales libres, inhiben la liberación de melatoproteína-9 (MMP-9) de la microglia y protegen contra la destrucción de la barrera hematoencefálica y la infiltración de linfocitos T (13). Además los PUFAS tienen efecto antiinflamatorio debido a que compiten con el ácido araquidónico. Los PUFAS favorecen la producción de prostaglandinas E1 y E2, reducen la proliferación de linfocitos T y de citoquinas proinflamatorias (IL-1 β , TNF α e IL-6) e incrementan las moléculas de la resolución de la inflamación como lipoxinas, resolvinas y protectivas (14).

ASPECTOS GENÉTICOS EN LA EM

No se han descrito todos los genes involucrados en la EM, ni sus combinaciones como factores de predisposición. El umbral para que se presente este rasgo depende del efecto aditivo de estos *loci*, así como de la interacción con otros factores ambientales (15). Considerando el componente autoinmune, las moléculas del complejo mayor de

histocompatibilidad (HLA) son los principales marcadores analizados (16). En distintos grupos étnicos se ha encontrado correlación con alelos específicos HLA clase II. El alelo HLA-DRB1*15 incrementa dos a tres veces el riesgo y se asocia con la presencia de bandas oligoclonales en el líquido cefalorraquídeo (17). La variante HLA-DRB1*17 incrementa solamente el riesgo de desarrollo. Por otra parte, existen alelos HLA protectores como HLA-DRB1*14 así como para las variantes en el gen HLA DQA1 (18). El mecanismo patogénico de los genes HLA en el desarrollo de EM sigue en estudio, recientemente en un modelo murino transgénico con expresión del HLA-DRB1*15, se demostró el desarrollo de autoanticuerpos contra dos proteínas, la proteína básica de la mielina (PBM) y la glicoproteína oligodendrocítica de la mielina (GOM), asociados con desmielinización y un síndrome clínico similar a la EM (19).

PAPEL DEL SISTEMA INMUNE EN LA EM

La EM comprende varias fases: Inicialmente existe un periodo de latencia de 10-20 años durante los cuales la activación periférica de las células T (Th1) por un antígeno externo produce una reacción cruzada con antígenos similares en la mielina. Se han propuesto como antígenos activadores de las células T y B a diversos agentes etiológicos como el virus Herpes tipo 6, Varicela, Epstein Barr, Paramixovirus como el del Sarampión y algunas bacterias como *Chlamidia pneumoniae* (20). La célula auto reactiva Th1, estimula la producción de citocinas proinflamatorias a nivel sistémico como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF α), interleucina 1 (IL-1), interferón γ (IFN- γ), capaces de inducir la expresión de moléculas de adhesión endotelial como la E selectina, L selectina, molécula de adhesión intracelular 1 (ICAM 1), así como de moléculas de adhesión vascular 1 (VCAM) que se adhieren

a la barrera hematoencefálica (BHE), favoreciendo la permeabilidad celular a través de ésta. El ingreso de las células Th1 al SNC es facilitado por la liberación de metaloproteasas (MMPs) involucradas en la ruptura proteolítica de la matriz extracelular en la BHE. Dentro del SNC, los linfocitos TH1 liberan citocinas pro-inflamatorias como el TNF α , IL-1, IL-6, IL-12, IFN- γ . La unión de la célula Th1 con la célula presentadora de antígeno de la microglía y las moléculas HLA clase II del antígeno forman el complejo trimolecular. La inflamación produce daño en las vainas de mielina de los oligodendrocitos en el cerebro y/o la médula espinal, cuya cronicidad conduce a la gliosis neuronal (21). La pérdida de oligodendrocitos mediada por citocinas se ha asociado de manera importante con pérdida de la función axonal en enfermedades desmielinizantes del SNC como la EM, lo que contribuye al debilitamiento neurológico de los pacientes. Además de las citocinas producidas por Th1 como TNF α , y la IL-17, citocina de Th17, participa también la inflamación del SNC en esta enfermedad (1, 21).

La inflamación en la EM es dependiente de la proliferación de células-Th17 versus células-Th1. Las primeras, por medio de la IL-17 activan las células gliales en el cerebro de manera similar a la observada en las células estelares hepáticas en el espacio de Disse. IL-17 es un inductor potente de IL-1 β y de TNF α implicados también en otras enfermedades autoinmunes. Las células-Th17 pueden migrar a través de la BHE, secretar IL-17 dentro del parénquima cerebral y contribuir a la inflamación y lesión del cerebro de individuos con EM. Se ha postulado que la IL-17 sola o en presencia de TNF α , puede afectar la supervivencia de oligodendrocitos y la maduración de células progenitoras de los oligodendrocitos en la EM. IL-17 exacerba la apoptosis de oligodendrocitos inducida por TNF α , además de

aumentar la citotoxicidad de N-acetil-cisteína o de los receptores activados por proliferadores de peroxisomas (PPAR) en oligodendrocitos mediada por citocinas (21).

En casos graves de EM existe una sobrerregulación de TNF α y TNFR1, correlacionada con la severidad de la enfermedad y con niveles elevados de las citocinas referidas en el líquido cefalorraquídeo. Los mecanismos de señalización a través de TNF α y el receptor 1 de TNF (TNFR1) están involucrados en la apoptosis de oligodendrocitos. La interacción TNF α /TNFR1 depende de la activación de las vías de transducción de señales como la cascada de caspasas, la activación del factor nuclear kappa B (NF κ B) y de las proteínas cinasas activadas por mitógenos (MAPKs). La activación de TNFR1 resulta del reclutamiento de la proteína TRADD con la asociación de las proteínas TRAF2 (factor 2 asociado a la proteína receptora de TNF α) o con FADD (proteína adaptadora que contiene un dominio de muerte citosólico); TRAF2 media la activación de NF κ B, mientras que FADD interactúa con pro-caspasa 8, activándola. De manera similar, en la EM, la interacción IL-17/IL-17R utiliza a TRAF6 para traducir su señal en células inmunes. TNF α produce la activación de JNK-1/2 (cinasas c-Jun N-terminal) y se relaciona con la señalización de apoptosis celular. Se ha sugerido que la activación de NF κ B protege a las células de la apoptosis vía la inhibición de JNK-1/2. Sin embargo, se ha reportado que IL-17 traduce su señal en células inmunes vía la activación de JNK-1/2. IL-17R se expresa constitutivamente en oligodendrocitos, lo cual provee evidencia de un sinergismo entre la señalización de IL-17 y TNF α participando en la apoptosis de oligodendrocitos (22).

Las citocinas pro-inflamatorias traducen sus señales intracelulares a través de las especies reactivas de oxígeno (ERO), como segundos mensajeros. Además de que

los radicales libres juegan un papel importante en la patogénesis de la EM como mediadores de desmielinización y de daño axonal.

Los PPAR son un grupo de receptores nucleares a proteínas que funcionan como factores de transcripción para regular la expresión de genes necesarios para la diferenciación celular, desarrollo y metabolismo. Se ha documentado que la activación de PPAR en células gliales mediada por IL-4 protege a los oligodendrocitos contra el daño inflamatorio en la EM. En contraste, se ha reportado que el TNF α regula negativamente la expresión de PPAR-b en oligodendrocitos, mientras que la IL-17 inhibe la expresión de PPAR-g en células no-neurales. Estos hallazgos indican que la IL-17 y TNF α median la regulación negativa de PPAR-g/-b en oligodendrocitos, lo que puede inducir a su vez la muerte celular por apoptosis. La acción sinérgica de IL-17 y TNF α induce apoptosis de oligodendrocitos vía la generación de especies reactivas de oxígeno, por disfunción mitocondrial y por inhibición en la progresión del ciclo celular en la EM (23).

El IFN- γ , producido por las células CD4+ auto-reactivas y las células asesinas (NK), parece tener un efecto antagónico en la EM. Por una parte la administración periférica de IFN- γ en modelos animales de EM reduce la gravedad de la enfermedad y los anticuerpos anti-IFN- γ la incrementan; estos hallazgos sugieren que dicha citocina puede ejercer un papel protector. Por otro lado, se ha demostrado que el IFN- γ afecta la función de oligodendrocitos y su supervivencia. En presencia de IFN- γ los oligodendrocitos incrementan la expresión de receptores de superficie que facilitan la citotoxicidad mediada por células, la apoptosis mediada por oligodendrocitos e inhiben la formación de mielina en la EM y en la EAE. Paradójicamente, bajos niveles de la citocina proveen protección a los oligodendrocitos

maduros en contra de sustancias tóxicas, daño y desmielinización. IFN- γ juega un papel crítico en la regulación del receptor de TNF α y en la expresión de la proteína Fas, así como también es capaz de potenciar directamente la señalización de receptores de muerte de oligodendrocitos. Los efectos protectores y deletéreos del IFN- γ están modulados por la actividad de la cinasa de retículo endoplásmico (ER), la cual es crítica en la respuesta del ER al estrés producido por las ERO. El IFN- γ induce estrés en los oligodendrocitos y puede participar como protector o como tóxico en la EM (21) (Fig. 3).

ESTRÉS OXIDATIVO Y ESCLEROSIS MÚLTIPLE

El estrés oxidativo (EO) altera el estado óxido-reducción celular, es decir cuando la producción de especies reactivas de oxígeno (ERO) y de nitrógeno (ERN) exceden los mecanismos de eliminación mediado por moléculas o enzimas antioxidantes. Estas especies reactivas son generadas como parte de la fisiología normal celular. Las neuronas del SNC están expuestas constantemente a bajos niveles de las especies reactivas de oxígeno y son eliminadas mediante la acción combinada de los antioxidantes (melatonina, vitamina D, vitamina E, glutatión) y las enzimas antioxidantes (superóxido dismutasa, catalasa, glutatión peroxidasa, entre otras). Sin embargo la inflamación crónica aumenta la producción de ERO y ERN por lo que las defensas antioxidantes son superadas, conduciendo a un estrés oxidativo (24).

Las ERO colectivamente son radicales libres o generadores de estos; incluyen al anión superóxido (O_2^-), peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y al radical hidroxilo ($O\bullet$). Las ERN incluyen al óxido nítrico (NO) y al peroxinitrito. Son inestables y extremadamente reactivas debido a que tienen un electrón

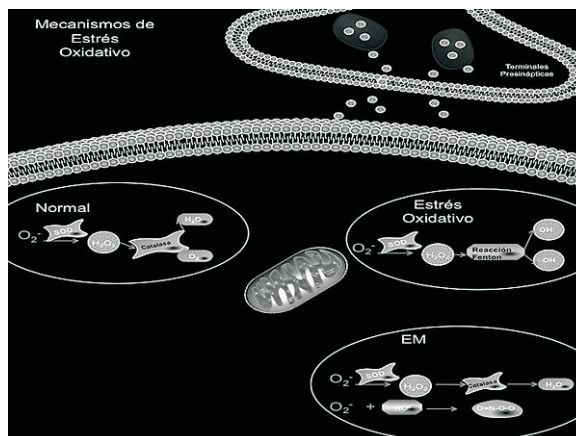


Fig. 3. Mecanismo de estrés oxidativo.

no apareado en su último orbital. Dichas especies toman electrones de las proteínas, de los lípidos y de los ácidos nucleicos. Lo anterior produce daño en las membranas biológicas, el material genético, las proteínas y los carbohidratos. El SNC es particularmente vulnerable al daño oxidativo, ya que por su activo metabolismo mitocondrial genera altos niveles de superóxido intracelular. Además los oligodendrocitos poseen bajos niveles de enzimas antioxidantes, tienen un alto contenido de hierro y una relación alta de lípido a proteína en la mielina, representando un blanco preferencial de las ERO (25).

Las ERO son generadas por un número importante de procesos celulares metabólicos oxidativos, incluyendo la actividad de las enzimas de la cadena respiratoria mitocondrial, la xantina-oxidasa, NADPH-oxidasa, monoamino-oxidasa, el metabolismo de ácido araquidónico (AA) mediado por la actividad de las lipooxigenasas (LOX) y la fuga de electrones en la cadena respiratoria (26).

Estudios realizados en nuestro laboratorio, aunado a otros reportes han corroborado un aumento de marcadores de estrés oxidativo en EM; a este respecto, hemos encontrado un incremento significativo en los niveles séricos de los catabolitos de NO (nitritos-nitratos), de los productos de oxidación lipídica (malondialdehído y 4-hidroxial-

quenos) y en la actividad de glutatión peroxidasa en pacientes con esclerosis múltiple recurrente en comparación con sujetos sanos (24, 26) (Fig. 4).

Los niveles de estrés oxidativo se relacionan directamente con el avance de la EM. Existen reportes que sugieren que la pérdida de mielina de las vainas nerviosas es posible debido a que el sistema inmunológico también participa, junto con defectos en las mitocondrias, en la generación de radicales libres de nitrógeno y de oxígeno. Los macrófagos y monocitos liberan mediadores de estrés oxidativo en la mielina y los linfocitos la atacan directamente por medio del complejo trimolecular anteriormente mencionado. De hecho, las ERO han sido implicadas como mediadores de la desmielinización axonal en la EM y en la encefalomiелitis autoinmune experimental (EAE) (27). Además el examen directo de las placas de EM ha revelado actividad creciente de los radicales libres, junto con niveles disminuidos de antioxidantes importantes tales como glutatión y alfa-tocoferol (28).

Los principales mecanismos propuestos para explicar la interacción de las ERO y el sistema inmunológico que contribuyen al daño neurológico en la EM son: 1) los niveles bajos de antioxidantes al promover la actividad creciente de la lipooxigenasa en el SNC, favorecen la producción de leucotrienos y aumentan los procesos inmunoinflamatorios en la corteza cerebral; 2) el exceso de radicales libres de oxígeno y de nitrógeno pone en marcha un aumento de la actividad de las células T vía la cascada de ácido araquidónico y producen daño directo a la mielina; 3) el estrés oxidativo proporciona información importante sobre el daño subyacente del tejido del SNC en la EM a través de marcadores de la actividad del radical hidroxilo, de los peróxidos lipídicos, del nivel de glutatión reducido, de la actividad de la superóxido dismutasa y de la glutatión peroxidasa (29).

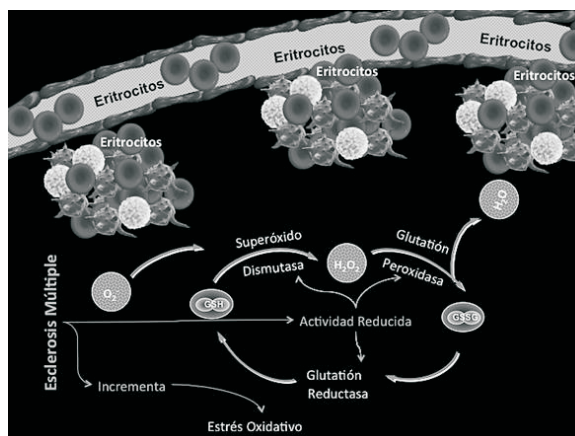


Fig. 4. Enzimas antioxidantes y esclerosis múltiple.

Otros reportes que implican a las ERO en la desmielinización en la EM lo constituyen estudios paraclínicos que han demostrado un aumento de las ERN en el suero, linfocitos y líquido cefalorraquídeo de pacientes con EM, mismos que correlacionan con los estudios anatomopatológicos. El peroxinitrito (ONOO⁻), especie reactiva de nitrógeno, está asociado íntimamente a las lesiones inflamatorias agudas pero rara vez se observa en las placas crónicas inactivas (30).

El daño a los axones está mediado por la combinación de ERO y ERN producidos por la disfunción mitocondrial y la participación inmunológica: el óxido nítrico disminuye el metabolismo energético mitocondrial e inhibe la cadena respiratoria, lo cual ocasiona; 1) disminución en la actividad de la ATPasa Na⁺/K⁺ y una alteración de los transportadores de glutamato dependientes de Na⁺; 2) sobreexpresión de los receptores de glutamato; 3) excitotoxicidad oligodendroglial; 4) entrada masiva de Ca⁺⁺ extracelular; 5) activación de proteasas; 6) alteración del citoesqueleto y del flujo axonal. De todos estos mecanismos, el NO produce estrés nitrosativo y el glutamato produce excitotoxicidad. El NO es un radical libre muy tóxico que por sí mismo a altas concentraciones produce bloqueo de

la conducción, sobre todo en los axones desmielinizados, y estimula la apoptosis. Cuando el NO reacciona con el anión superóxido genera peroxinitritos de alta capacidad pro-oxidante. El glutamato por su parte produce neurodegeneración a través de los receptores AMPA y NMDA en oligodendrocitos y astrocitos. El papel de ambos mediadores se ha demostrado en modelos experimentales como la encefalitis autoinmune experimental, considerando el papel protector frente a la enfermedad experimental observado con la administración de antagonistas de dichos receptores (31).

En condiciones fisiológicas, el NO se produce a partir de L-arginina por medio de la óxido nítrico sintetasa constitutiva (eNOS) y media una variedad de funciones biológicas importantes, como la inmunorregulación de las reacciones inflamatorias, la regulación a la baja de la producción de $TNF\alpha$, la expresión de MHC II en los macrófagos, la inducción de apoptosis en células CD4, la regulación fisiológica de la cadena respiratoria mitocondrial así como la inhibición de la presentación antigénica, la adhesión y migración leucocitaria. Sin embargo, durante las reacciones inflamatorias, la exposición de los macrófagos al IFN- γ y al $TNF\alpha$ da lugar a la activación de la forma inducible de NOS (iNOS), enzima que produce, por periodos más prolongados de tiempo, una cantidad hasta 10 veces mayor de NO y superóxido que la eNOS. El aumento de estos dos radicales facilita la formación del radical peroxinitrito. Lo anterior se logra en virtud de que ambos radicales libres interactúan a un ritmo cuya velocidad depende solo de la difusión y por lo tanto es mucho más rápido que la velocidad a la que el superóxido dismutasa capta el O_2^- (Fig. 5).

Sólo las células capaces de generar un alto flujo de NO pueden tener el potencial para causar estrés nitrosativo. El papel del NO en la EM es, por lo tanto, complejo, de

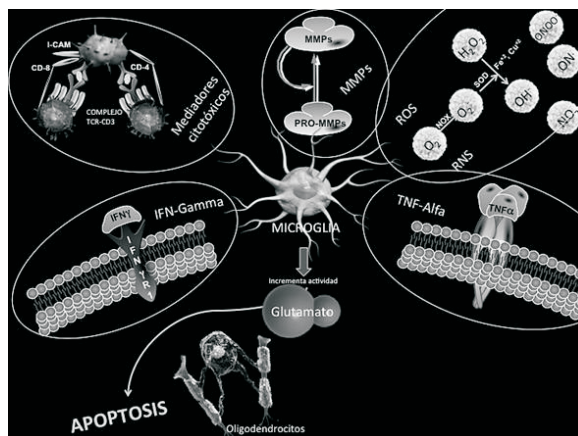


Fig. 5. Daño axonal y esclerosis múltiple.

hecho es muy probable que sus derivados, en especial el ONOO-, sean definitivamente más tóxicos. El NO y el glutamato desempeñan también un papel en la mediación del daño axonal crónico (30).

ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO, CITOCINAS Y DAÑO AXONAL EN ESCLEROSIS MÚLTIPLE

Los posibles mecanismos de daño axonal incluyen los mediadores de citotoxicidad, $TNF\alpha$, MMPs, ERO, anticuerpos y excitotoxicidad. Se ha documentado un incremento del glutamato, aspartato y excitotoxicidad en pacientes con EM. El glutamato está aumentado en pacientes con EM tanto en lesiones activas como en la sustancia blanca de apariencia normal. Cabe mencionar que los astrocitos y los oligodendrocitos maduros son sumamente sensibles al glutamato debido a la expresión de receptores AMPA y NMDA (30).

La PBM del oligodendrocito es blanco de los linfocitos CD8 α/β , citotóxicos clásicos asociados al MHC de clase I. La vaina de mielina puede ser dañada por citoquinas, autoanticuerpos, ERO, enzimas proteolíticas y fagocitosis. El aumento de las ERO, por la activación de la microglía (macrófagos especializados del SNC) durante la respuesta

inmune, genera un estado de mayor lipoperoxidación celular y el oligodendrocito es la célula más susceptible al daño por las ERO. La degradación de la mielina puede ser el resultado de la peroxidación lipídica mediada por peróxidos, pero el papel de estos factores tóxicos inespecíficos en la patogenia de la EM permaneció indeterminado hasta muy recientemente (30).

TERAPIAS EXPERIMENTALES

Se han propuesto una gran cantidad de enfoques experimentales para tratar de reparar y prevenir el daño tisular producido por el EO en la EM. Por ejemplo se está investigando el uso de células madre hematopoyéticas por su potencial regenerativo. También el uso de células mesenquimales en la protección de neuronas contra el daño oxidativo encontrado en la EM. A este respecto, las células mesenquimales tienen actividad antioxidante tanto *in vitro* como *in vivo* (32). Este efecto neuroprotector se ejerce a través de la modulación de las vías de transducción de señales involucradas en procesos antioxidantes y relacionados con el estrés, es decir, modulación de las vías de las cinasas activadas por mitógenos. Adicionalmente las células mesenquimales secretan la enzima superóxido dismutasa 3, reduciendo significativamente la formación de oxidantes neurotóxicos en el espacio extracelular. Curiosamente, la secreción de la superóxido dismutasa 3 está regulada por TNF α e IFN- γ . Por otra parte, estudios en modelos animales de EM, muestran que el trasplante de células mesenquimales reduce la desmielinización y el tamaño de las lesiones en el SNC y también reduce el número de infiltrados celulares en los cerebros de los organismos hospederos (33).

El tratamiento con antioxidantes a los pacientes con EM en teoría puede prevenir la propagación del daño tisular y mejorar tanto la supervivencia como el estado neu-

rológico. En este sentido se ha demostrado que la reducción de las enzimas glutatión peroxidasa y superóxido dismutasa aumentan el estrés oxidativo y están implicadas en múltiples enfermedades neurodegenerativas (34). Se ha demostrado experimentalmente que la ingesta de antioxidantes previene o reduce la progresión de la EAE en un modelo para EM (35, 36). Aunque algunos de los antioxidantes mostraron cierta eficacia en estos estudios, existe poca información disponible sobre el efecto de los tratamientos de estos compuestos en pacientes con EM y se necesitan estudios clínicos bien diseñados, en grandes cohortes por períodos de tiempo prolongados, para evaluar si la ingesta de antioxidantes, junto con otros tratamientos convencionales, pudiera ser benéfico en el tratamiento de la EM (37).

Los tratamientos actuales para la EM en México involucran fármacos como el IFN- β , corticosteroides, y acetato de glatirámico; sin embargo, en diversas ocasiones los pacientes manifiestan reacciones secundarias adversas. Por tal razón nuestro grupo de trabajo está interesado en investigar tratamientos concomitantes que sean capaces de reducir los daños provocados por el estrés oxidativo y por lo tanto disminuyan la progresión de la enfermedad. En este sentido, el tratamiento elegido es la suplementación en la dieta con ácidos grasos poliinsaturados omega-3 de cadena larga; particularmente con un aceite de pescado rico en ácido eicosapentaenoico (EPA) y ácido docosaenoico (DHA). La razón de emplear este suplemento radica en que ya se ha demostrado los efectos neuroprotectores de estos ácidos grasos en varias enfermedades neurodegenerativas. Por otra parte, se ha reportado que los niveles séricos de ácidos grasos omega 3 y 6 están disminuidos en pacientes con EM (38). Adicionalmente se sabe que estos ácidos grasos disminuyen las concentraciones de MMP-9 en un 58% después de haberlos consumido durante tres

meses, por lo que se les atribuye un efecto modulador en la respuesta inmunológica (14). Los datos obtenidos en nuestro laboratorio muestran que la dieta suplementada con 4g/día de ácido de pescado rico en EPA y DHA, disminuye significativamente los niveles séricos de las citocinas inflamatorias (TNF α , IL-1 β , IL-6) y de los catabolitos del NO en pacientes con esclerosis múltiple remitente recurrente.

CONCLUSIÓN

El estrés oxidativo juega un papel crucial en el desarrollo y progresión de la esclerosis múltiple como lo revelan los estudios que evidencian la participación de los factores ambientales, genéticos e inmunológicos. Está estrechamente ligado con el proceso autoinmune que se asocia principalmente con infecciones virales. El punto de enlace entre el estrés oxidativo y el proceso autoinmune parece ser a través de la conexión con NO, molécula clave para la función inmunológica, así como en la generación de ONOO- que junto con las ERO favorecen el proceso desmielinizante a través de la lipoperoxidación. En la actualidad hay tratamientos concomitantes como el uso de antioxidantes, aceite de pescado y células mesenquimales que prometen ser eficaces para disminuir el estrés oxidativo en la EM.

REFERENCIAS

1. Barnett MH, Sutton I. The pathology of multiple sclerosis: a paradigm shift. *Curr Opin Neurol* 2006; 19(3): 242-247.
2. Buljevac D, Hop WC, Reedeker W, Janssens AC, van der Meche FG, van Doorn PA, Hintzen RQ. Self reported stressful life events and exacerbations in multiple sclerosis: prospective study. *BMJ* 2003; 327(7416): 646.
3. Hoppenbrouwers IA, Liu F, Aulchenko YS, Ebers GC, Oostra BA, van Duijn CM, Hintzen RQ. Maternal transmission of multiple sclerosis in a dutch population. *Arch Neurol* 2008; 65(3): 345-348.
4. Oikonen M, Laaksonen M, Aalto V, Ilonen J, Salonen R, Eralinna JP, Panelius M, Salmi A. Temporal relationship between environmental influenza A and Epstein-Barr viral infections and high multiple sclerosis relapse occurrence. *Mult Scler* 2011; 17(6): 672-680.
5. Correale J, Farez MF. The impact of parasite infections on the course of multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 2011; 233(1-2): 6-11.
6. Velazquez-Quintana M, Macias-Islas MA, Rivera-Olmos V, Lozano-Zarate J. Multiple sclerosis in Mexico: a multicentre study. *Rev Neurol* 2003; 36(11): 1019-1022.
7. Aguirre-Cruz L, Flores-Rivera J, De La Cruz-Aguilera DL, Rangel-Lopez E, Corona T. Multiple sclerosis in Caucasians and Latino Americans. *Autoimmunity* 2011; 44(7): 571-575.
8. Risco J, Maldonado H, Luna L, Osada J, Ruiz P, Juarez A, Vizcarra D. Latitudinal prevalence gradient of multiple sclerosis in Latin America. *Mult Scler* 2011; 17(9): 1055-1059.
9. Simpson S, Jr., Blizzard L, Otahal P, Van der Mei I, Taylor B. Latitude is significantly associated with the prevalence of multiple sclerosis: a meta-analysis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2011; 82(10): 1132-1141.
10. Mehta BK. New hypotheses on sunlight and the geographic variability of multiple sclerosis prevalence. *J Neurol Sci* 2010; 292(1-2): 5-10.
11. Franklin GM, Nelson L. Environmental risk factors in multiple sclerosis: causes, triggers, and patient autonomy. *Neurology* 2003; 61(8): 1032-1034.
12. Zhang SM, Willett WC, Hernan MA, Olek MJ, Ascherio A. Dietary fat in relation to risk of multiple sclerosis among two large cohorts of women. *Am J Epidemiol* 2000; 152(11): 1056-1064.
13. Liuzzi GM, Latronico T, Rossano R, Viggiani S, Fasano A, Riccio P. Inhibitory effect of polyunsaturated fatty acids on MMP-9 release from microglial cells—im-

- plications for complementary multiple sclerosis treatment. *Neurochem Res* 2007; 32(12): 2184-2193.
14. **Mehta LR, Dworkin RH, Schwid SR.** Polyunsaturated fatty acids and their potential therapeutic role in multiple sclerosis. *Nat Clin Pract Neurol.* 2009; 5(2): 82-92.
 15. **Sawcer S.** The complex genetics of multiple sclerosis: pitfalls and prospects. *Brain* 2008; 131(Pt 12): 3118-3131.
 16. **Dyment DA, Herrera BM, Cader MZ, Willer CJ, Lincoln MR, Sadovnick AD, Risch N, Ebers GC.** Complex interactions among MHC haplotypes in multiple sclerosis: susceptibility and resistance. *Hum Mol Genet* 2005; 14(14): 2019-2026.
 17. **Barcellos LF, Sawcer S, Ramsay PP, Baranzini SE, Thomson G, Briggs F, Cree BC, Begovich AB, Villoslada P, Montalban X, Uccelli A, Savettieri G, Lincoln RR, DeLoa C, Haines JL, Pericak-Vance MA, Compston A, Hauser SL, Oksenberg JR.** Heterogeneity at the HLA-DRB1 locus and risk for multiple sclerosis. *Hum Mol Genet* 2006; 15(18): 2813-2824.
 18. **Palacio LG, Rivera D, Builes JJ, Jimenez ME, Salgar M, Anaya JM, Jiménez I, Camargo M, Arcos-Burgos M, Sánchez JL.** Multiple sclerosis in the tropics: genetic association to STR's loci spanning the HLA and TNF. *Mult Scler* 2002; 8(3): 249-255.
 19. **Madsen LS, Andersson EC, Jansson L, Krogsgaard M, Andersen CB, Engberg J, Strominger JL, Svejgaard A, Hjorth JP, Holmdahl R, Wucherpfennig KW, Fugger L.** A humanized model for multiple sclerosis using HLA-DR2 and a human T-cell receptor. *Nat Genet* 1999; 23(3): 343-347.
 20. **Ascherio A, Munger KL.** Environmental risk factors for multiple sclerosis. Part I: the role of infection. *Ann Neurol* 2007; 61(4): 288-299.
 21. **Noseworthy JH, Lucchinetti C, Rodriguez M, Weinshenker BG.** Multiple sclerosis. *New Engl J Med* 2000; 343(13): 938-952.
 22. **Caminero A, Comabella M, Montalban X.** Role of tumour necrosis factor (TNF)-alpha and TNFRSF1A R92Q mutation in the pathogenesis of TNF receptor-associated periodic syndrome and multiple sclerosis. *Clin Exp Immunol* 2011; 166(3): 338-345.
 23. **Bright JJ, Walline CC, Kanakasabai S, Chakraborty S.** Targeting PPAR as a therapy to treat multiple sclerosis. *Expert Opin Ther Targets* 2008; 12(12): 1565-1575.
 24. **Mahad D, Lassmann H, Turnbull D.** Review: Mitochondria and disease progression in multiple sclerosis. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2008; 34(6): 577-589.
 25. **Ortiz GG, Benitez-King GA, Rosales-Corral SA, Pacheco-Moises FP, Velazquez-Brizuela IE.** Cellular and biochemical actions of melatonin which protect against free radicals: role in neurodegenerative disorders. *Curr Neuropharmacol* 2008; 6(3): 203-214.
 26. **Ortiz GG, Macias-Islas MA, Pacheco-Moises FP, Cruz-Ramos JA, Sustersik S, Barba EA, Aguayo A.** Oxidative stress is increased in serum from Mexican patients with relapsing-remitting multiple sclerosis. *Dis Markers* 2009; 26(1): 35-39.
 27. **Mahad D, Ziabreva I, Lassmann H, Turnbull D.** Mitochondrial defects in acute multiple sclerosis lesions. *Brain* 2008; 131(Pt 7): 1722-1735.
 28. **van Horssen J, Schreibelt G, Drexhage J, Hazes T, Dijkstra CD, van der Valk P, de Vries HE.** Severe oxidative damage in multiple sclerosis lesions coincides with enhanced antioxidant enzyme expression. *Free Radic Biol Med* 2008; 45(12): 1729-1737.
 29. **Gonsette RE.** Oxidative stress and excitotoxicity: a therapeutic issue in multiple sclerosis? *Mult Scler* 2008; 14(1): 22-34.
 30. **Gonsette RE.** Neurodegeneration in multiple sclerosis: the role of oxidative stress and excitotoxicity. *J Neurol Sci* 2008; 274(1-2): 48-53.
 31. **Correale J, Meli F, Ysraelit C.** Neuronal injury in multiple sclerosis. *Medicina* 2006; 66(5): 472-485.
 32. **Kemp K, Hares K, Mallam E, Heesom KJ, Scolding N, Wilkins A.** Mesenchymal stem cell-secreted superoxide dismutase promotes cerebellar neuronal survival. *J Neurochem* 2010; 114(6): 1569-1580.

33. **Gordon D, Pavlovska G, Glover CP, Uney JB, Wraith D, Scolding NJ.** Human mesenchymal stem cells abrogate experimental allergic encephalomyelitis after intraperitoneal injection, and with sparse CNS infiltration. *Neurosci Lett* 2008; 448(1): 71-73.
34. **Schulz JB, Lindenau J, Seyfried J, Dichgans J.** Glutathione, oxidative stress and neurodegeneration. *Eur J Biochem* 2000; 267(16): 4904-4911.
35. **Kizelsztejn P, Ovadia H, Garbuzenko O, Sigal A, Barenholz Y.** Pegylated nanoliposomes remote-loaded with the antioxidant tempamine ameliorate experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Neuroimmunol* 2009; 213(1-2): 20-25.
36. **Liu Y, Zhu B, Wang X, Luo L, Li P, Paty DW, Cynader MS.** Bilirubin as a potent antioxidant suppresses experimental autoimmune encephalomyelitis: implications for the role of oxidative stress in the development of multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 2003; 139(1-2): 27-35.
37. **Farinotti M, Vacchi L, Simi S, Di Pietrantonj C, Brait L, Filippini G.** Dietary interventions for multiple sclerosis. *Cochrane Database Syst Rev* 2012; 12: CD004192. Available from: URL: <http://www.thecochranelibrary.com/view/0/index.html>. doi: 10.1002/14651858.CD004192.pub3.
38. **Hughes DA, Pinder AC.** N-3 polyunsaturated fatty acids modulate the expression of functionally associated molecules on human monocytes and inhibit antigen-presentation in vitro. *Clin Exp Immunol* 1997; 110(3): 516-523.