

# Proponiendo biomarcadores para evaluar las alteraciones en la homeostasis cerebral de hierro y su relación con la fisiopatología de la Enfermedad de Alzheimer

## Proposing biomarkers to evaluate the alterations in the brain iron homeostasis and their relation with the physiopathology of Alzheimer's disease

Alexis Tapia-Saavedra<sup>1</sup>

*Multiple lines of evidence have implicated oxidative stress and free radical damage to the pathogenesis and etiology of Alzheimer's disease (AD). Amyloid-beta peptide contributes to oxidative damage in AD by inducing lipid peroxidation. In addition, iron might contribute to the increased susceptibility of the brain to iron-induced oxidative damage, due to its ability to catalyze the generation of free radicals in biological systems. There are several points in the iron regulation pathway in which alterations may occur, affecting iron metabolism. Altered expression and altered cellular distribution of melanotransferrin, lactotransferrin, and neuromelanin have been reported in the brain tissue of patients suffering AD. In addition, disruptions in lactotransferrin, ceruloplasmin, neuromelanin, and hemo oxygenase may result in oxidative stress. In conclusion, in AD it appears to be an excessive accumulation of iron in the brain and oxidative damage, suggesting a loss of the homeostatic mechanisms that are responsible for regulating iron in the brain.*

**Key words:** Alzheimer's disease, iron, oxidative stress, melanotransferrin, lactotransferrin, neuromelanin, ceruloplasmin, hemo oxygenase.

*Rev Chil Neuro-Psiquiat 2007; 45 (1): 29-41*

### Introducción

**D**urante la vida, debido a las características propias de su metabolismo, el cerebro está expuesto constantemente a las noxas producidas por el estrés oxidativo. Ciertas enfermedades de

este órgano y del sistema nervioso central (SNC) se encuentran involucradas con los procesos de producción de radicales libres y daño oxidativo. Una de estas patologías es la Enfermedad de Alzheimer (EA), la causa de demencia más frecuente de la población envejecida<sup>1</sup>. Aunque ac-

Recibido: 24 de abril de 2006

Aceptado: 7 de diciembre de 2006

<sup>1</sup> Médico-Cirujano. Alumno Programa Doctorado en Nutrición y Alimentos de la Universidad de Chile. Laboratorio de Química de Alimentos y Materias Grasas. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile.

Sin conflictos de interés.

tualmente su etiología y fisiopatología no se comprenden claramente, existe evidencia que involucra por un lado depósitos aumentados de hierro (Fe) en cerebros de pacientes afectados por la enfermedad<sup>2-5</sup>, y por otro lado, hay un incremento de marcadores de estrés oxidativo en el mismo tipo de pacientes<sup>6</sup>. Debido a que el Fe es uno de los metales, parte normal de la dieta, con mayor potencial prooxidante, es decir, puede producir daño oxidativo, se consideró conveniente revisar cuáles alteraciones de proteínas involucradas en los procesos de internalización y depósito a nivel de cerebro y SNC podrían relacionarse con la fisiopatología de la EA.

## Enfermedad de Alzheimer

Esta patología, denominada así en honor al psiquiatra bávaro Alois Alzheimer, constituye un síndrome con características clínicas y marcadores biológicos bien definidos. Actualmente, se sugiere que una cascada patogénica común y estereotipada aparece como causa de alteraciones genéticas y de factores ambientales, incluidos los nutricionales, aún no bien establecidos. Entre otras asociaciones, componentes de la dieta como las grasas y calorías ingeridas totales han sido relacionados como factores de riesgo significativos para su desarrollo; mientras que el consumo de pescado sería un factor significativo para la disminución del riesgo. Altos niveles de ingestión de aluminio en alimentos y agua también elevan el riesgo<sup>7</sup>.

Los marcadores microscópicos de la EA incluyen la presencia extracelular de ovillos neurofibrilares y los depósitos de filamentos de amiloide, llamados placas seniles. Estas últimas no son exclusivas de la enfermedad, sino que también pueden observarse en individuos normales<sup>8</sup>. El péptido que se acumula en las placas seniles es denominado Amiloide-beta ( $A\beta$ ), y se origina de la escisión de la proteína llamada precursor  $\beta$  Amiloide ( $\beta$ -APP). Este precursor se expresa ampliamente en el SNC, es transportado a través de los axones y se acumula en los terminales

presinápticos y en los conos en crecimiento. Una forma secretada de  $\beta$ -APP (sAPP alfa) es liberada desde las neuronas en respuesta a la actividad eléctrica y puede tener funciones moduladoras en eventos tan primordiales como la excitabilidad neuronal, plasticidad sináptica, crecimiento de neuritas, sinaptogénesis y supervivencia celular. A nivel molecular modula la activación de canales de potasio ( $K^+$ ), receptores NMDA y del factor de transcripción NF kappa  $\beta$  (9).

En cuanto a los hallazgos macroscópicos que caracterizan a este desorden, estudios con técnicas de imágenes in vivo y ex vivo han encontrado diversos cambios morfológicos, principalmente relacionados a la disminución de la masa cerebral<sup>10-16</sup>. Estas alteraciones se mencionan en la Tabla 1.

Respecto al curso de la EA es posible distinguir una progresión rápida o lenta. La sobrevida fluctúa entre 7 y 9 años. Varios factores influyen en ella. Uno es la severidad de la demencia al momento de consultar. Otros indicadores de sobre-

**Tabla 1. Hallazgos macroscópicos encontrados en cerebros de pacientes afectados por la Enfermedad de Alzheimer**

1. 35- 50% de reducción en el número de neuronas en hipocampo de pacientes con Alzheimer preclínico<sup>11</sup>.
2. Evidencias de atrofia de hipocampo en pacientes presintomáticos y moderadamente afectados por la patología; la que posteriormente afecta al lóbulo temporal con la progresión de la enfermedad<sup>12</sup>.
3. En todos los estadios se ha observado atrofia de la zona medial del lóbulo parietal y de la mielina<sup>13</sup>.
4. 15% de reducción anual de células de la zona medial del lóbulo temporal. (La velocidad de la reducción fue un décimo en los controles)<sup>14</sup>.
5. La velocidad de la disminución global del volumen cerebral se correlaciona fuertemente con el deterioro cognitivo del paciente<sup>15</sup>.
6. La disminución de volumen de la corteza entorrinal ha resultado ser un factor asociado al riesgo de aparición de la enfermedad<sup>16</sup>.
7. La velocidad de la disminución de volumen del hipocampo se asocia con el nivel del deterioro cognitivo<sup>17</sup>.

vida breve son la pérdida de 5 puntos o más en el "Minimental test" de Folstein durante el primer año de control, la aparición precoz de signos extrapiramidales o frontales, alteraciones de la marcha y caídas; también influye la edad de inicio. Aunque existen formas preseniles de evolución rápida, por razones médicas generales en un paciente de 65 años se espera una sobrevida de 8,3 años; en cambio en otro de 90, sólo de 3,4 años. Al parecer la mujer sobrevive más que el hombre. La existencia de comorbilidades como cardiopatías y diabetes mellitus disminuyen la sobrevida<sup>17</sup>.

### **Enfermedad de Alzheimer, estrés oxidativo y hierro**

Con la edad aumenta la producción de especies reactivas de oxígeno (EROs) a las que el SNC parece ser especialmente vulnerable. Variados factores contribuyen a dicha susceptibilidad, entre estos se incluyen los bajos niveles del antioxidante natural glutatión (GSH) en las neuronas, el alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados en las membranas celulares y el aumento relativo de los requerimientos de oxígeno debido a las elevadas necesidades metabólicas del cerebro<sup>18</sup>. Como se señaló previamente, la fisiopatología de la EA no es comprendida completamente; sin embargo, diversos hallazgos relacionan dicho proceso con el estrés oxidativo. Se propone que la neurotoxicidad del péptido A $\beta$  radica en su capacidad de contribuir al daño oxidativo al inducir lipoperoxidación, la cual a su vez genera una cascada citosólica de radicales libres y de EROs, lo que conduce a un compromiso mitocondrial y citoesquelético, depleción de ATP y apoptosis<sup>19-29</sup>. Efectivamente se ha demostrado el aumento de la peroxidación lipídica en distintas áreas cerebrales y el incremento en las actividades de las enzimas antioxidantes catalasa, superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa y glutatión reductasa en el hipocampo y en la amígdala en cerebros de pacientes con la enfermedad<sup>30-32</sup>. Por otra parte, se ha demostrado un aumento del Fe en

cerebros de pacientes con Alzheimer<sup>2-5</sup>. Si consideramos el gran potencial prooxidante de este metal, es posible darse cuenta que debe existir alguna relación entre el aumento del Fe en el cerebro y el daño oxidativo encontrado en el mismo. Las reacciones de oxidación-reducción del Fe son esenciales para sus funciones como cofactor de varias reacciones enzimáticas, sin embargo, estas mismas propiedades hacen del hierro libre (Fe<sup>2+</sup>) un elemento altamente tóxico por su capacidad de generar radicales libres, por esta razón en la sangre los iones Fe circulan fuertemente unidos a la transferrina (Tf), lo que disminuye la probabilidad de su potencial reducción y de este modo se evita su interacción con el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, que produce la formación del peligroso radical hidróxilo OH<sup>•</sup> (reacción de Fenton), el que en su corta vida media, estimada en 10<sup>-9</sup> segundos, puede dañar lípidos, proteínas, DNA y azúcares.

### **Hierro, dos circuitos homeostáticos**

La homeostasis del Fe se encuentra finamente regulada en el cuerpo humano a nivel de su absorción, transporte y almacenamiento, pero no de su excreción, ya que no existen vías fisiológicas para ello<sup>33</sup>. A nivel del SNC existen mecanismos específicos para las mismas funciones (internalización, transporte y depósito), los que involucran a diversas proteínas, algunas exclusivas de dicho sistema y otras también presentes en distintos compartimentos del organismo. La presencia exclusiva en el SNC de proteínas involucradas en el transporte y depósito de Fe hacen posible proponer la existencia de dos circuitos homeostáticos de este metal en el cuerpo humano, uno a nivel general y otro a nivel propio del sistema nervioso.

#### ***Homeostasis de Fe a nivel general del cuerpo humano***

##### ***Ingestión, absorción, distribución***

Los alimentos de la dieta contienen normalmente alrededor de 13 a 18 mg de Fe al día<sup>34</sup>, el

que se encuentra presente en dos formas, el inorgánico proveniente de vegetales y sales minerales y el hemínico derivado de carnes y sangre, los que son absorbidos por mecanismos distintos<sup>35</sup>. El metal no es excretado, sino que se pierde a través de células descamadas de las vías digestiva, urinaria y aérea, estimándose en una cantidad de 14 µg/kg peso corporal/día<sup>36</sup>. Del Fe aportado por la dieta sólo se absorbe alrededor de 1 mg<sup>34</sup>. Al enterocito los iones del Fe no heme ingresan a través del Transportador de metales divalentes 1 (DMT1/DCT1), mientras que el mecanismo de la internalización del Fe heme aún permanece desconocido. Dentro del enterocito puede ser almacenado en la ferritina, o cruza su membrana basolateral y llega al plasma a través del transportador MTP1, también llamado ferroportina<sup>37</sup>.

Más de dos tercios del Fe contenido en el cuerpo se encuentran en la hemoglobina. Cada eritrocito contiene un billón de átomos de Fe, lo que corresponde a la incorporación de  $2 \times 10^{20}$  átomos de Fe por día. La mayor parte del Fe sobrante se encuentra en hepatocitos y en macrófagos del sistema reticuloendotelial, los cuales sirven como depósitos. En la mioglobina, presente en el músculo estriado se encuentran alrededor de 300 mg; otros 300 mg en la médula ósea; 1.800 mg en los eritrocitos circulantes y 1.000 mg en el parénquima hepático<sup>33</sup>. En el plasma, en cantidad cercana a 3-4 mg es transportado unido a la Tf, la que lo distribuye a las células presentes en los restantes tejidos del organismo, ya que es reconocida por receptores presentes en la superficies celulares<sup>38</sup>.

### ***Homeostasis de Fe a nivel de Cerebro***

#### ***Fe en el funcionamiento cerebral***

El Fe es el metal de transición más abundante en el cerebro, pero a la vez es considerado como el agente tóxico con más potencial oxidante en el mismo órgano. Como ya se mencionó, es un metal esencial para el funcionamiento de los organismos biológicos dadas todas las reacciones en que participa. Estos procesos metabólicos tam-

bién se llevan a cabo en el cerebro, órgano que a pesar de corresponder al 2% del peso corporal, da cuenta del 25% del consumo de oxígeno, convirtiéndose así en el órgano que más oxígeno consume en el organismo. El alto consumo y transporte de oxígeno es la causa de su elevado contenido de Fe, pues el metal es necesario para la utilización y transporte del oxígeno. Demandas adicionales de altos niveles de Fe en el cerebro provienen de la formación de la mielina y de su mantención. Los oligodendrocitos, responsables de la producción de mielina, se encuentran enriquecidos con Fe en contraste a las demás células del sistema nervioso. Estados carenciales de Fe causan hipomielinización en roedores, y en niños provocan alteraciones en los potenciales evocados auditivos. La síntesis de neurotransmisores también es dependiente de Fe, el que es necesario como cofactor para la producción de dopamina, norepinefrina, serotonina y posiblemente GABA<sup>18</sup>.

#### ***Ingreso de Fe hacia el cerebro***

En ratas se demostró que el Fe es capaz de ingresar al Sistema Nervioso por secuestro de los capilares y de los plexos coroideos, y posteriormente es liberado desde estas estructuras vasculares hacia el intersticio cerebral y al líquido cefalorraquídeo<sup>39</sup>. Se han identificado proteínas encargadas de la internalización del Fe hacia el SNC, algunas de las cuales también se encuentran presentes en otros órganos. Mutaciones que afectan la expresión y/o estructura de estas proteínas se relacionan con la EA y otras patologías sistémicas. Las proteínas encargadas de la internalización del Fe hacia el SNC y que se han encontrado alteradas en la EA son la melanotransferrina y lactotransferrina (Lf).

#### **Melanotransferrina:**

La Melanotransferrina, también denominada p97, es una proteína glicosilada inicialmente identificada en células de melanoma<sup>40,41</sup>. Su secuencia posee un 37-39% de homología con la Tf y lactoferrina<sup>42,43</sup>. Es capaz de unir Fe en forma reversible, y existe en dos formas, anclada a las

membranas celulares y soluble<sup>44-45</sup>. Unida a Fe puede atravesar la barrera hematoencefálica (BHE) en forma más eficiente que la Tf, lo que ha apoyado la idea de que p97 es un importante transportador de Fe a través de la BHE en la fisiología normal, y posiblemente en las enfermedades neurodegenerativas<sup>46</sup>. Efectivamente se ha encontrado mRNA de melanotransferrina en células de la microglía asociadas a las placas seniles en pacientes con EA, lo que sugiere que su expresión se asocia con la fisiopatología de la enfermedad<sup>47</sup>. Su elevación plasmática de 3-4 veces en pacientes con EA comparado a otras demencias y sujetos controles ha permitido proponer a la p97 como un potencial marcador bioquímico de la EA<sup>48</sup>, sin embargo, dicha posibilidad no ha sido confirmada<sup>49</sup>.

#### Lactotransferrina (Lf):

Se localiza en el cerebro humano en distintos tipos celulares: neuronas, células de la glía y de la microvasculatura. Es capaz de cruzar la BHE en una forma nativa y en otra saturada con átomos de Fe, además es sintetizada en el cerebro. Lf no solamente se encarga del ingreso de Fe hacia el SNC, sino que tiene un papel antioxidante, ya que inhibe la formación de radicales hidroxilos y reduce la autooxidación de membranas<sup>50</sup>. Estudios postmortem en cerebros de pacientes afectados por Alzheimer encontraron muy aumentada su expresión en neuronas y células gliales, además su presencia se asoció a los depósitos de amiloide y ovillos neurofibrilares. Ya que Lf es un secuestrador de Fe, se propone que su aumento en la EA puede ser un mecanismo de defensa<sup>51</sup>.

Otras proteínas que permiten el paso de Fe a través de la BHE y cuyas alteraciones producen enfermedades sistémicas y daño en el SNC o pudieran inducirlo, pero que no han sido específicamente identificadas en la EA son ferroportina, hepcidina, DMT1, Tf y ceruloplasmina (Cp).

#### Ferroportina y hepcidina:

Respecto a ferroportina, estudios con técnicas de hibridización *in situ* e histoquímicas evidenciaron su expresión en células de la BHE, neu-

ronas, oligodendrocitos, astrocitos, células de los plexos coroideos y ependimales<sup>52</sup>. Hay que recordar que la ferroportina también se encuentra en la membrana basolateral de los enterocitos, en macrófagos, hepatocitos y placenta<sup>53</sup>. Mutaciones de la molécula se relacionan con la hemocromatosis hereditaria<sup>54,55</sup>. Los pacientes con este desorden poseen una absorción de Fe excesiva combinada con una disminución de la retención del mismo elemento en los macrófagos, lo que conduce a su acumulación parenquimal progresiva, con aparición de síntomas en la quinta década de la vida<sup>56</sup>. Además la alteración de su expresión se ha observado en ratones con policitemia<sup>57</sup>, la que se caracteriza por un aumento de los eritrocitos circulantes. Por otro lado, en afroamericanos su polimorfismo se relaciona con anemia moderada<sup>58</sup>. La Hepcidina, una hormona peptídica secretada por el hígado en respuestas a la carga de Fe y a la inflamación, regula postranscripcionalmente a la ferroportina. La disminución de este péptido conduce a la sobrecarga de Fe en los tejidos, mientras que el aumento de su síntesis lleva a hipoferremia y a la anemia de las inflamaciones, es decir, los cambios en la expresión de Hepcidina son acompañados por cambios inversos en la absorción intestinal de Fe<sup>53</sup>.

#### DMT1:

Respecto a DMT1 (DCT1), transportador de Fe involucrado a nivel intestinal y recientemente en riñones<sup>59</sup>, se ha encontrado la presencia de su mRNA en neuronas, células endoteliales de los plexos coroideos y en la sustancia nigra. La localización celular de este transportador y su caracterización funcional sugieren que juega un papel en el transporte de Fe dentro del cerebro<sup>60,61</sup>. Mutaciones del transportador se asocian con escasa viabilidad de ratones debido a la deficiencia de Fe y anemia<sup>62,63</sup>. Aunque DMT1 solamente ha sido encontrado en las neuronas en cantidades moderadas, a causa de su rol fisiológico en el transporte de Fe, se sugiere que defectos en esta proteína de membrana juegan un rol crucial en el desbalance del Fe en el cerebro y en la muerte neuronal en las enfermedades neurodegene-



rativas. Sin embargo, no existen hallazgos específicos en Alzheimer.

### Transferrina (Tf) y su receptor:

Estudios con técnicas de perfusión en ratas demuestran la internalización en capilares cerebrales de Tf libre y unida a Fe, lo que necesita de la presencia del receptor de transferrina (TfR)<sup>39</sup>, el que se encuentra en células endoteliales de capilares cerebrales, células epiteliales de los plexos coroideos, neuronas y probablemente en células de la glía<sup>64</sup>. Sin embargo, estudios en cultivos evidenciaron que la transcitosis de Fe por la BHE es mediada sólo en parte por la acción de la Tf<sup>65,66</sup> lo que coincide con que el Fe es capaz de ingresar al cerebro unido a otras proteínas transportadoras, como las señaladas previamente. Dietas deficientes en Fe causan la disminución del metal en el cerebro, y un aumento de los niveles de Tf y TfR en el tálamo y la corteza. Paradójicamente los niveles del mRNA de Tf disminuyen y el mRNA del TfR no se altera<sup>67</sup>. A pesar de que mutaciones en el TfR se asocian con la aparición de hemocromatosis<sup>68-72</sup>, y saturaciones elevadas de Tf, con un mayor riesgo de mortalidad respecto a todas las causas<sup>73-75</sup>, estos elementos no se han descrito en la EA.

### Ceruloplasmina (Cp):

Transporta más del 95% del cobre plasmático, actúa como ferroxidasa dependiente de cobre, oxidando iones de Fe de forma ferrosa (Fe<sup>2+</sup>) a férrica (Fe<sup>3+</sup>), lo que acelera la incorporación de Fe a la apotransferrina. La ausencia de Cp en la aceruloplasminemia resulta en la acumulación de Fe en los ganglios basales y en la retina, lo que se asocia a degeneración neuronal en estos tejidos. El estado redox de la célula es afectado por esta proteína ya que Cp tiene propiedades antioxidantes referidas a su actividad ferroxidasa, y contribuye a la defensa antioxidante al secuestrar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Sin embargo, en ausencia de apoferritina, Cp puede actuar como prooxidante. A pesar de la gran importancia de esta proteína en el transporte del Cu, no es capaz de cruzar la BHE, pero es expresada en las células gliales adya-

centes a la microvasculatura del cerebro y en las neuronas pigmentadas dopaminérgicas. La síntesis de Cp es transcripcionalmente regulada por el Fe y puede aumentar en estados de inflamación y por el estrés oxidativo<sup>76</sup>. Estudios en animales demostraron que la expresión de Cp en el cerebro es dependiente de la edad, de manera que es escasa al momento del nacimiento, pero se incrementa en la adultez<sup>77</sup>. La importancia de Cp in vivo es más claramente ilustrada por estudios en pacientes con aceruloplasminemia, quienes poseen un masivo depósito de Fe en varios órganos, entre los que se incluye el cerebro, lo que conduce a neurodegeneración y síntomas neurológicos tales como descoordinación motora, y otros déficits a edades entre 45 y 55 años. La severa acumulación de Fe en estos pacientes sugiere que Cp previene esta acumulación in vivo. En ratones Cp -/- se demostró que junto a la acumulación de Fe se produjo un aumento del daño por radicales libres en el SNC, medidos como un aumento de peroxidación lipídica en el bulbo olfatorio y en la médula espinal a nivel cervical; también hubo alteraciones motoras<sup>76</sup>. Si bien en pacientes con Alzheimer se ha encontrado niveles plasmáticos aumentados de cobre<sup>78</sup>, esto no se asocia con variaciones de la ceruloplasmina<sup>79</sup>.

### Almacenamiento de Fe en el cerebro

El conocimiento respecto a la distribución subcelular de Fe dentro del cerebro es escaso. Se sabe que este mineral se encuentra unido a varias proteínas. A continuación se describe la acción de una serie de proteínas que participan en sus depósitos.

#### Ferritina:

Tiene dos formas moleculares la L-ferritina y la H-ferritina. En contraste a la Tf, los niveles de ferritina en el cerebro humano son más altos en los núcleos de células no neuronales del sistema extrapiramidal. Actualmente no hay hallazgos que la relacionen con la fisiopatología de la EA.

#### Neuromelanina:

La molécula llamada neuromelanina (NM),

presente en las neuronas dopaminérgicas de la pars compacta, una muy bien iones de metales, especialmente Fe. Por lo tanto, el incremento del contenido de metales pesados en regiones que poseen melanina puede resultar en alteraciones de la distribución local y reactividad de tales metales. De todos los componentes inorgánicos el Fe ha demostrado estar en más altas concentraciones dentro de las moléculas de NM. Más aun, su contenido en NM de sujetos normales de edades entre 70 a 90 años da cuenta del 10-20% del Fe total contenido en el Sistema Nervioso. Al parecer la cantidad de Fe unido a la NM determina si esta molécula actúa como un agente citoprotector que secuestra iones metálicos con actividad redox dentro de la célula, o si en presencia de exceso de Fe promueve la formación de radicales libres, es decir, la NM puede actuar como antioxidante o prooxidante dependiendo de la disponibilidad de Fe<sup>77</sup>. Respecto a la EA se encontró una disminución de NM en cerebros de pacientes afectados<sup>80</sup>. Esto hace suponer que su ausencia permite que el Fe no se encuentre depositado, sino libre para participar en la generación de EROs.

### *Hemo oxigenasa:*

La proteína hemo oxigenasa 1 (HO-1) media el catabolismo del grupo heme a biliverdina en el cerebro y otros tejidos. Su expresión es inducida por la dopamina, el estrés oxidativo y los iones metálicos. En el cerebro es expresada principalmente en los astrocitos, y cuando es up regulada promueve el depósito de Fe en las mitocondrias. Por otra parte, HO-1 protege a las células, ya que degrada metaloporfirinas prooxidantes y parece facilitar la salida de Fe desde las células. En modelos animales y en niños con ausencia de HO-1 o con mutaciones, se ha observado que se produce una acumulación de hierro celular. En otras circunstancias HO-1 puede exacerbar el estrés oxidativo al liberar iones ferrosos durante la degradación del grupo heme. Interesantemente la transfección del cDNA humano de OH-1 a astrocitos de rata induce la expresión de la enzi-

ma mitocondrial antioxidante MnSOD. De otra forma la inducción MnSOD es abolida al administrar antioxidantes, esto indica que HO-1 puede promover estrés oxidativo dentro de los astrocitos<sup>77</sup>.

## **Discusión**

El cerebro es un órgano que debido a sus funciones metabólicas requiere un gran consumo de oxígeno y de la presencia de Fe. Esta asociación lo hace muy susceptible al daño oxidativo, el cual se involucra en las fisiopatologías de diversos trastornos neurodegenerativos, entre los cuales se encuentra la EA. La fisiopatología de la enfermedad se asocia fuertemente por un lado con el estrés oxidativo, pues a través de este mecanismo el péptido A $\beta$  produce daño en neuronas y células de la glía. Por otra parte, también se relaciona con una alteración cerebral de la homeostasis del Fe, lo que se refleja en los elevados depósitos del metal tanto intra como extracelulares que se han evidenciado en pacientes afectados por la patología. Estos dos aspectos permiten suponer que si bien la alteración de la homeostasis cerebral de Fe no es la causa inicial de la EA, puede contribuir fuertemente potenciando su desarrollo al favorecer la existencia de un ambiente favorable al estrés oxidativo, debilitando las defensas antioxidante naturales como el GSH, lo que haría más fácil que el péptido A $\beta$  ejerza su neurotoxicidad.

El SNC se encuentra protegido del ingreso de moléculas "extrañas" por medio de la BHE, y es esta separación la que deben traspasar los iones de Fe para poder acumularse en el cerebro. Los procesos de internalización del metal hacia este órgano y su posterior almacenamiento o depósito se encuentran mediados por múltiples proteínas con funciones específicas, las que se resumen en la Tabla 2. Las disfunciones de estas proteínas debido a mutaciones, se encuentran relacionadas con desórdenes bien caracterizados a nivel sistémico. Además las expresiones de melano-transferina, lactotransferrina, y neuromelanina

**Tabla 2. Proteínas involucradas en el Transporte y Almacenamiento de Fe a nivel general y del SNC**

Proteína	Función	Ubicación a nivel general	Ubicación en el SNC	Desorden asociado
<b>Melanotransferrina (p97)</b>	Transporte	Células de Melanoma Plasma	Células de la Microglia	Enfermedad de Alzheimer Melanoma
<b>Lactotransferrina (Lf)</b>	Transporte Antioxidante	Plasma	Neuronas Células de la Glía Microvasculatura Depósitos de Amiloide Ovillos neurofibrilares	Enfermedades de Alzheimer, Parkinson
<b>Ferroportina (MTP1)</b>	Transporte	Membrana basolateral del enterocito Macrófagos Hepatocitos Placenta	BHE Neuronas Oligodendrocitos Astrositos Células de los plexos coroideos y endodimales	Hemocromatosis hereditaria Policitemia Anemia
<b>Hepcidina</b>	Regula transcripción de ferroportina	Hígado		Sobrecarga de Fe Hipofefermia
<b>DMT1 (DCT1)</b>	Transporte	Membrana apical de enterocitos. Riñón	Neuronas Células de Plexos coroideos Sustancia Nigra	Anemia Hemocromatosis
<b>Transferrina (Tf)</b>	Transporte	Plasma	Capilares del cerebro	Aumento de mortalidad general
<b>Receptor de Transferrina (TfR)</b>	Transporte Importador	Diversos Tejidos	Endotelio de capilares de cerebro	Hemocromatosis
<b>Ceruloplasmina</b>	Ferroxidasa Antioxidante Prooxidante	Plasma	Neuronas Células de la Glía	Aceruloplasminemia Degeneración neuronal.
<b>Ferritina</b>	Almacenamiento	Diversos órganos	Neuronas Células de la Glía	Hemocromatosis
<b>Neuromelanina (NM)</b>	Almacenamiento Antioxidante Prooxidante		Neuronas Dopaminérgicas del cerebro medio	Enfermedades Alzheimer, Parkinson.
<b>Hemo oxigenasa 1 (HO-1)</b>	Depósito de Fe en mitocondrias Antioxidante Prooxidante	Diversos tipos celulares	Astrocitos	Respuesta Inflamatoria



se han encontrado alteradas en forma específica en la EA. Del resto no existe evidencia actual, sin embargo, por su función se sugiere ampliamente que también podrían verse afectadas en el Alzheimer. Además la lactotransferrina, ceruloplasmina, neuromelanina y hemo oxigenasa poseen actividades implicadas en el metabolismo oxidativo, y cuya desregulación podría coadyuvar al desarrollo de la patología.

Por lo tanto, se puede hipotetizar que la alteración de la homeostasis del Fe cerebral, se puede producir por disfunciones de las proteínas en-

cargadas de su regulación, como consecuencia de polimorfismos naturales o como sumatoria de pequeñas mutaciones acumuladas en el tiempo. Estos defectos en las proteínas, aunque no son suficientes para generar una patología por sí solas, bien pueden en conjunto potenciar el desarrollo de algún desorden neurdegenerativo. Es decir, en un cerebro susceptible a la enfermedad, en el que además exista un exceso de Fe se puede crear un ambiente de estrés oxidativo facilitador de la acción neurotóxica del péptido A $\beta$ , lo que a su vez permite la progresión de la EA.

### **Resumen**

*En la fisiopatología de la enfermedad de Alzheimer es conocido que el péptido amiloide-beta produce daño neuronal a través del estrés oxidativo. El desarrollo de este último podría también ser favorecido por un exceso de hierro en el cerebro, observado en algunos pacientes afectados, estado al que es posible llegar por la alteración en la funcionalidad de las múltiples proteínas encargadas de la internalización y depósito del metal en el cerebro. Actualmente las proteínas melanotrasferrina, lactotransferrina, y neuromelanina se han encontrado alteradas en forma específica en la enfermedad. De las otras proteínas involucradas no existe evidencia, sin embargo, por su función se sugiere ampliamente que también podrían estar implicadas. Además lactotransferrina, ceruloplasmina, neuromelanina y hemo oxigenasa poseen actividades en el metabolismo oxidativo, cuya desregulación podría coadyuvar al desarrollo de la patología. En este trabajo se revisan los conceptos de estrés oxidativo, hierro y proteínas encargadas de la homeostasis cerebral de hierro en relación a la fisiopatología de la enfermedad de Alzheimer.*

**Palabras clave:** *Enfermedad de Alzheimer, hierro, estrés oxidativo, melanotrasferrina, lactotransferrina, neuromelanina, ceruloplasmina, hemo oxigenasa.*

### **Referencias**

1. Small G W, Rabins P V, Barry P P, Buckholtz N S, DeKosky S T, Ferris S H, *et al.* Diagnosis and treatment of Alzheimer disease and related disorders. Consensus statement of the American Association for Geriatric Psychiatry, the Alzheimer's Association, and the American Geriatrics Society. *JAMA* 1997; 278: 1363-71.
2. Loeffler D A, Connor J R, Juneau P L, Snyder B S, Kanaley L, DeMaggio A J, *et al.* Transferrin and iron in normal, Alzheimer's disease, and Parkinson's disease brain regions. *J Neurochem* 1995; 65: 710-24.
3. Deibel M A, Ehmann W D, Markesbery W R. Copper, iron, and zinc imbalances in severely degenerated brain regions in Alzheimer's disease: possible relation to oxidative stress. *J Neurol Sci* 1996; 143: 137-42.
4. Beauchemin D, Kisilevsky R. A method based on

- ICP-MS for the analysis of Alzheimer's amyloid plaques. *Anal Chem* 1998; 70: 1026-9.
5. Bartzokis G, Tishler T A. MRI evaluation of basal ganglia ferritin iron and neurotoxicity in Alzheimer's and Huntington's disease. *Cell Mol Biol* 2000; 46: 821-33.
  6. Perry G, Cash A D, Smith M A. Alzheimer Disease and Oxidative Stress. *J Biomed Biotechnol* 2002; 2: 120-3.
  7. Grant W B, Campbell A, Itzhaki R F, Savory J. The significance of environmental factors in the etiology of Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 2002; 4: 179-89.
  8. Selkoe D J. Alzheimer disease: mechanistic understanding predicts novel therapies. *Ann Intern Med* 2004; 140: 627-38.
  9. Mattson M P. Cellular actions of beta-amyloid precursor protein and its soluble and fibrillogenic derivatives. *Physiol. Rev* 1997; 77: 1081-132.
  10. Price J L, Ko A I, Wade M J, Tsou S K, McKeel D W, Morris J C. Neuron number in the entorhinal cortex and CA1 in preclinical Alzheimer disease. *Arch Neurol* 2001; 58: 1395-402.
  11. Scahill R I, Schott J M, Stevens J M, Rossor M N, Fox N C. Mapping the evolution of regional atrophy in alzheimer's disease: unbiased analysis of fluid-registered serial MRI. *Pnas* 2002; 99: 4703-7.
  12. Bartzokis G, Cummings J L, Sultzer D, Henderson V W, Nuechterlein K H, Mintz J. White matter structural integrity in healthy aging adults and patients with Alzheimer disease. *Arch Neurol* 2003; 60: 393-8.
  13. Smith A D. Imaging the progression of Alzheimer pathology through the brain. *Proc Nat Acad Sci Usa* 2002; 99: 4135-7.
  14. Fox N, Scahill R, Crum W, Rossor M. Correlation between rates of brain atrophy and cognitive decline in AD. *Neurology* 1999; 52: 1687-9.
  15. Stoub T R, Bulgakova M, Leurgans S, Bennett D A, Fleischman D, Turner D A, *et al.* MRI predictors of risk of incident Alzheimer disease: a longitudinal study. *Neurology* 2005; 64: 1520-4.
  16. Jack C R Jr, Petersen R C, Xu Y, O'Brien P C, Smith G E, Ivnik R J, *et al.* Rates of hippocampal atrophy correlate with change in clinical status in aging and AD. *Neurology* 2000; 55: 484-9.
  17. Donoso A, Behrens M. Variabilidad y variantes de la enfermedad de Alzheimer. *Rev Méd Chile* 2005; 133: 477-82.
  18. Thompson K J, Shoham S, Connor JR. Iron and neurodegenerative disorders. *Brain Res Bull* 2001; 55: 155-64.
  19. Dhitavat S, Ortiz D, Rogers E, Rivera E, Shea T B. Folate, vitamin E, and acetyl-l-carnitine provide synergistic protection against oxidative stress resulting from exposure of human neuroblastoma cells to amyloid-beta. *Brain Res.* 2005; 1061: 114-7.
  20. Echeverria V, Clerman A, Dore S. Stimulation of PGE receptors EP2 and EP4 protects cultured neurons against oxidative stress and cell death following beta-amyloid exposure. *Eur J Neurosci.* 2005; 22: 2199-206.
  21. Liang X, Wang Q, Hand T, Wu L, Breyer R M, Montine T J, *et al.* Deletion of the prostaglandin E2 EP2 receptor reduces oxidative damage and amyloid burden in a model of Alzheimer's disease. *J Neurosci.* 2005; 25: 10180-7.
  22. Murakami K, Irie K, Ohigashi H, Hara H, Nagao M, Shimizu T, *et al.* Formation and stabilization model of the 42-mer A-beta radical: implications for the long-lasting oxidative stress in Alzheimer's disease. *J Am Chem Soc* 2005; 127: 15168-74.
  23. Qi X L, Xiu J, Shan K R, Xiao Y, Gu R, Liu R Y, *et al.* Oxidative stress induced by beta-amyloid peptide(1-42) is involved in the altered composition of cellular membrane lipids and the decreased expression of nicotinic receptors in human SH-SY5Y neuroblastoma cells. *Neurochem Int.* 2005; 46: 613-21.
  24. Sultana R, Ravagna A, Mohammad-Abdul H, Calabrese V, Butterfield D A. Ferulic acid ethyl ester protects neurons against amyloid beta- peptide (1-42)-induced oxidative stress and neurotoxicity: relationship to antioxidant activity. *J Neurochem.* 2005; 92: 749-58.
  25. Butterfield D A, Boyd-Kimball D. The critical role of methionine 35 in Alzheimer's amyloid beta-peptide (1-42)-induced oxidative stress and neurotoxicity. *Biochim Biophys Acta* 2005; 1703: 149-56.
  26. Boyd-Kimball D, Mohammad Abdul H, Reed T,

- Sultana R, Butterfield D A. Role of phenylalanine 20 in Alzheimer's amyloid beta-peptide (1-42)-induced oxidative stress and neurotoxicity. *Chem Res Toxicol* 2004; 17: 1743-9.
27. Gibson G L, Allsop D, Austen B M. Induction of cellular oxidative stress by the beta-amyloid peptide involved in Alzheimer's disease. *Protein Pept Lett* 2004; 11: 257-70.
  28. Pérez-Severiano F, Salvatierra-Sánchez R, Rodríguez-Pérez M, Cuevas-Martínez E Y, Guevara J, Limon D, *et al.* S-Allylcysteine prevents amyloid-beta peptide-induced oxidative stress in rat hippocampus and ameliorates learning deficits. *Eur J Pharmacol* 2004; 489: 197-202.
  29. Abramov A Y, Canevari L, Duchen M R. Beta-amyloid peptides induce mitochondrial dysfunction and oxidative stress in astrocytes and death of neurons through activation of NADPH oxidase. *J Neurosci* 2004; 24: 565-75.
  30. Lovell M A, Ehmann W D, Butler S M, Markesbery W R. Elevated thiobarbituric acid-reactive substances and antioxidant enzyme activity in the brain in Alzheimer's disease. *Neurology* 1995; 45: 1594-601.
  31. Zemlan F P, Thienhaus O J, Bosmann H B. Superoxide dismutase activity in Alzheimer's disease: possible mechanism for paired helical filament formation. *Brain Res.* 1989; 476: 160-162
  32. Pappolla M A, Omar R A, Kim K S, Robakis N K. Immunohistochemical evidence of oxidative stress in Alzheimer's disease. *Am J Pathol* 1992; 140: 621-8.
  33. Andrews N. Disorders of iron metabolism. *N Engl J Med* 1999; 341: 1986-95.
  34. Miret S, Simpson R. Physiology and molecular biology of dietary iron absorption. *Ann Rev Nutr* 2003; 23: 283-301.
  35. Pizarro F, Olivares M, Kain J. Hierro y zinc en la dieta de la población de Santiago. *Rev Chil Nutr* 2005; 32: 19-27.
  36. Green R. Body iron excretion in man. A collaborative study. *Am J Med* 1968; 45: 336-53.
  37. Abboud S, Haile D J. A novel mammalian iron-regulated protein involved in intracellular iron metabolism. *J Biol Chem* 2000; 275: 19906-12.
  38. Knutson M, Wessling-Resnick M. Iron metabolism in the reticuloendothelial system. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 2003; 38: 61-88.
  39. Deane R, Zheng W, Zlokovic B V. Brain capillary endothelium and choroid plexus epithelium regulate transport of transferrin-bound and free iron into the rat brain. *J Neurochem* 2004; 88: 813-20.
  40. Brown J P, Woodbury R G, Hart C E, Hellstrom I, Hellstrom K E. Quantitative analysis of melanoma-associated antigen p97 in normal and neoplastic tissues. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1981; 78: 539-43.
  41. Brown J P, Hewick R M, Hellstrom I, Hellstrom K E, Doolittle R F, Dreyer W J. Human melanoma-associated antigen p97 is structurally and functionally related to transferrin. *Nature* 1982; 296: 171-3.
  42. Rose T M, Plowman G D, Teplow D B, Dreyer W J, Hellstrom K E, Brown J P. Primary structure of the human melanoma-associated antigen p97 (melanotransferrin) deduced from the mRNA sequence. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1986; 83: 1261-5.
  43. Baker EN, Baker H M, Smith C A, Stebbins M R, Kahn M, Hellstrom KE, *et al.* Human melanotransferrin (p97) has only one functional iron-binding site. *FEBS Lett* 1992; 298: 215-8.
  44. Alemany R, Vila M R, Franci C, Egea G, Real F X, Thomson T M. Glycosyl phosphatidylinositol membrane anchoring of melanotransferrin (p97): apical compartmentalization in intestinal epithelial cells. *J Cell Sci* 1993; 104: 1155-62.
  45. Food M R, Rothenberger S, Gabathuler R, Haidl I D, Reid G, Jefferies W. A. Transport and expression in human melanomas of a transferrin-like glycosylphosphatidylinositol-anchored protein. *J Biol Chem* 1994; 269: 3034-40
  46. Moroo I, Ujiie M, Walker B L, Tiong J W, Vitalis T Z, Karkan D, *et al.* Identification of a novel route of iron transcytosis across the mammalian blood-brain barrier. *Microcirculation* 2003; 10: 457-62.
  47. Yamada T, Tsujioka Y, Taguchi J, Takahashi M, Tsuboi Y, Moroo I, *et al.* Melanotransferrin is produced by senile plaque-associated reactive Microglia in Alzheimer's disease. *Brain Res* 1999; 845: 1-5.

48. Kim D K, Seo M Y, Lim S W, Kim S, Kim J W, Carroll B J, *et al.* Serum melanotransferrin, p97 as a biochemical marker of Alzheimer's disease. *Neuropsychopharmacology* 2001; 25: 84-90.
49. Desrosiers R R, Bertrand Y, Nguyen Q T, Demeule M, Gabathuler R, Kennard M L, *et al.* Expression of melanotransferrin isoforms in human serum: relevance to Alzheimer's disease. *Biochem J* 2003; 374: 463-71.
50. Berg D, Gerlach M, Youdim M B, Double K L, Zecca L, Riederer P, *et al.* Brain iron pathways and their relevance to Parkinson's disease. *J Neurochem* 2001; 79: 225-36.
51. Kawamata T, Tooyama I, Yamada T, Walker D G, McGeer P L. Lactotransferrin immunocytochemistry in Alzheimer and normal human brain. *Am J Pathol* 1993; 142: 1574-1585
52. Wu L J, Leenders A G, Cooperman S, Meyron-Holtz E, Smith S, Land W, *et al.* Expression of the iron transporter ferroportin in synaptic vesicles and the blood-brain barrier. *Brain Res* 2004; 1001: 108-17.
53. Nemeth E, Tuttle M S, Powelson J, Vaughn M B, Donovan A, Ward D M, *et al.* Heparin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. *Science* 2004; 306: 2090-3.
54. Kohgo Y. A novel ferroportin disease in a Japanese patient. *Internal Medicine* 2005; 44: 393-4.
55. Roetto A, Merryweather-Clarke A T, Daraio F, Livesey K, Pointon J J, Barbabietola G, *et al.* A valine deletion of ferroportin 1: a common mutation in hemochromatosis type 4. *Blood* 2002; 100: 733-4.
56. Cazzola M. Genetic disorders of iron overload and the novel "ferroportin disease". *Haematologica* 2003; 88: 721-4.
57. Mok H, Jelinek J, Pai S, Cattanaach B M, Prchal J T, Youssoufian H, *et al.* Disruption of ferroportin 1 regulation causes dynamic alterations in iron homeostasis and erythropoiesis in polycythaemia mice. *Development* 2004; 131: 1859-68.
58. Gordeuk V R, Caleffi A, Corradini E, Ferrara F, Jones R A, Castro O, *et al.* Iron overload in Africans and African-Americans and a common mutation in the *scl40a1* (ferroportin 1) gene. *Blood Cells Mol Dis* 2003; 31: 299-304.
59. Canonne-Hergaux F, Gros P. Expression of the iron transporter *dmt1* in kidney from normal and anemic *mk* mice. *Kidney Int* 2002; 62: 147-56.
60. Gunshin H, Mackenzie B, Berger U V, Gunshin Y, Romero M F, Boron W F, *et al.* Cloning and characterization of a mammalian proton-coupled metal-ion transporter. *Nature* 1997; 388: 482-8.
61. Andrews N. Iron transport across biological membranes. *Nutr Rev* 1999; 57: 114-23
62. Fleming M, Trenor C, Su M. Microcytic anemia mice have a mutation in *Nramp2*, a candidate iron transporter gene. *Nat Genet* 1997; 16: 383-6.
63. Canonne-Hergaux F, Fleming MD, Levy JE, Gauthier S, Ralph T, Picard V, *et al.* The *Nramp2/DMT1* iron transporter is induced in the duodenum of microcytic anemia *mk* mice but is not properly targeted to the intestinal brush border. *Blood* 2000; 96: 3964-3970
64. Moos T, Morgan E H. Transferrin and transferrin receptor function in brain barrier systems. *Cell Mol Neurobiol* 2000; 20: 77-95.
65. Burdo J R, Antonetti D A, Wolpert E B, Connor J R. Mechanisms and regulation of transferrin and iron transport in a model blood-brain barrier system. *Neuroscience* 2003; 121: 883-90.
66. Beard J L, Wiesinger J A, Li N, Connor J R. Brain iron uptake in hypotransferrinemic mice: influence of systemic iron status. *J Neurosci Res* 2005; 79: 254-61.
67. Han J, Day J R, Connor J R, Beard J L. Gene expression of transferrin and transferrin receptor in brains of control vs iron-deficient rats. *Nutr Neurosci* 2003; 6: 1-10.
68. Roetto A, Totaro A, Piperno A, Piga A, Longo F, Garozzo G, *et al.* New mutation inactivating transferrin receptor 2 in hemochromatosis type 3. *Blood* 2001; 97: 2555-60.
69. Mattman A, Huntsman D, Lockitch G, Langlois S, Buskard N, Ralston D, *et al.* Transferrin receptor 2 (*TfR2*) and HFE mutational analysis in non-C282Y iron overload: identification of a novel *TfR2* mutation. *Blood* 2002; 100: 1075-7.
70. Girelli D, Bozzini C, Roetto A, Alberti F, Daraio F, Colombari R, *et al.* Clinical and histopathological findings in a family with hemochromatosis type 3,

- carrying a new mutation in transferrin receptor 2 gene. *Gastroenterology* 2002; 122: 1295-1302
71. Barton E H, West P A, Rivers C A, Barton J C, Acton R T. Transferrin receptor-2 (TFR2) mutation Y250X in Alabama Caucasian and African American subjects with and without primary iron overload. *Blood Cells Mol Dis* 2001; 27: 279-84.
  72. Koyama C, Wakusawa S, Hayashi H, Suzuki R, Yano M, Yoshioka K, *et al.* Two novel mutations, L490R and V561X, of the transferrin receptor 2 gene in Japanese patients with hemochromatosis. *Haematologica*. 2005; 90: 302-7.
  73. Mainous A G 3rd, Gill J M, Carek P J. Elevated serum transferrin saturation and mortality. *Ann Fam Med* 2004; 2: 133-8.
  74. Wells B J, Mainous A G 3rd, King D E, Gill J M, Carek P J, Geesey M E. The combined effect of transferrin saturation and low density lipoprotein on mortality. *Fam Med* 2004; 36: 324-329.
  75. Mainous A G 3rd, Wells B, Carek P J, Gill J M, Geesey M E. The mortality risk of elevated serum transferrin saturation and consumption of dietary iron. *Ann Fam Med* 2004; 2: 139-44.
  76. Patel B N, Dunn R J, Jeong S Y, Zhu Q, Julien J P, David S. Ceruloplasmin regulates iron levels in the CNS and prevents free radical injury. *J Neurosci* 2002; 22: 6578-86.
  77. Chang Y Z, Qian Z M, Wang K, Zhu L, Yang X D, Du J R, *et al.* Effects of development and iron status on ceruloplasmin expression in rat brain. *J Cell Physiol* 2005; 204: 623-31.
  78. Squitti R, Lupoi D, Pasqualetti P, Dal Forno G, Vernieri F, Chiovenda P, *et al.* Elevation of serum copper levels in Alzheimer's disease. *Neurology* 2002; 59: 1153-61.
  79. Squitti R, Pasqualetti P, Dal Forno G, Moffa F, Cassetta E. Excess of serum copper not related to ceruloplasmin in alzheimer disease *Neurology* 2005; 64: 1040-6.
  80. Reyes M G, Faraldi F, Rydman R, Wang C C. Decreased nigral neuromelanin in Alzheimer's disease. *Neurol Res* 2003; 25: 179-82.

---

**Correspondencia:**

Alexis Tapia-Saavedra

Dirección: Puquios 4134. Ñuñoa. Santiago. Chile.

Código Postal: 6852995

Teléfono: 09-8734512

Fax: (56-2) 2716436

E-mail: alexist@ciq.uchile.cl