

# **Efecto del Ambiente Social sobre las Defensas Antioxidantes en Ratones Hemizigotos para la Tirosina Hidroxilasa**

## **Social Environment Effect over the Antioxidant Defenses in Hemizygote Mice for Tyrosine Hydroxylase**

Ana González Manteiga y Estefanía Díaz del Cerro

Universidad Complutense de Madrid

Tutoras:

Noemí Ceprián y Mónica De la Fuente

Universidad Complutense de Madrid

### *Resumen*

La comunicación neuroinmunoendocrina se ve afectada en el proceso de envejecimiento, deteriorándose la capacidad homeostática y, por tanto, aumentando el riesgo de morbilidad y mortalidad. Los ratones hemizigotos para la tirosina hidroxilasa (HZ-TH) presentan un déficit en la síntesis de catecolaminas y la comunicación neuroinmunoendocrina está alterada, conllevando un envejecimiento prematuro. Aunque la base del envejecimiento es un estrés oxidativo, el estado redox de los HZ-TH se desconoce. Por otro lado, el proceso de envejecimiento se ve afectado por factores ambientales, como el ambiente social (AS). El objetivo del presente trabajo fue estudiar la actividad de enzimas antioxidantes (glutación peroxidasa y reductasa) en órganos de ratones HZ-TH y en los silvestres (WT), así como el efecto que tendría sobre ellas la convivencia (AS) de ambos tipos de ratones en dos proporciones: mayor del 50% y menor del 50%. Los resultados mostraron menor actividad peroxidasa en hígado de los HZ-TH que en WT. En cambio, en los grupos de AS-HZ-TH se observó una mayor actividad de las enzimas antioxidantes a medida que aumenta el número de WT en la jaula. Se puede concluir que la deficiencia en la síntesis de catecolaminas genera un peor estado redox en el hígado, mientras que el ambiente social lo mejora

*Palabras clave: envejecimiento, defensas antioxidantes, tirosina hidroxilasa, ambiente social.*

### *Abstract*

The neuro-immuno-endocrine communication is affected by the aging process, deteriorating homeostasis ability and, therefore, increasing the morbidity and mortality rate. Tyrosine hydroxylase hemizygote mice (HZ-TH) present a shortage on the catecholamines synthesis and their neuro-immune-endocrine communication is altered, leading to a premature aging. Although the basis of aging is an oxidative stress, the HZ-TH redox state is unknown. In other hand, the aging process is affected by environmental factors, such as social environment (SE). The aim of this project was to study the activities of two antioxidant enzymes (glutathione peroxidase and reductase) in HZ-TH and wildtype mice organs, as well as the effect that it would have on them the connivance of both type of mice in two different proportions: above 50% and below 50%. Results showed less peroxidase activity in HZ-TH liver. In return, in the SE-HZTH groups, there was a greatest antioxidant enzymes activity as far as the number of WT was increased in the cage. As a conclusion, a deficiency on the catecholamines synthesis produces a worst redox state in liver, while the social environment improves it.

*Keywords: ageing, antioxidant defenses, tyrosine hydroxylase, social environment.*

**Introducción**

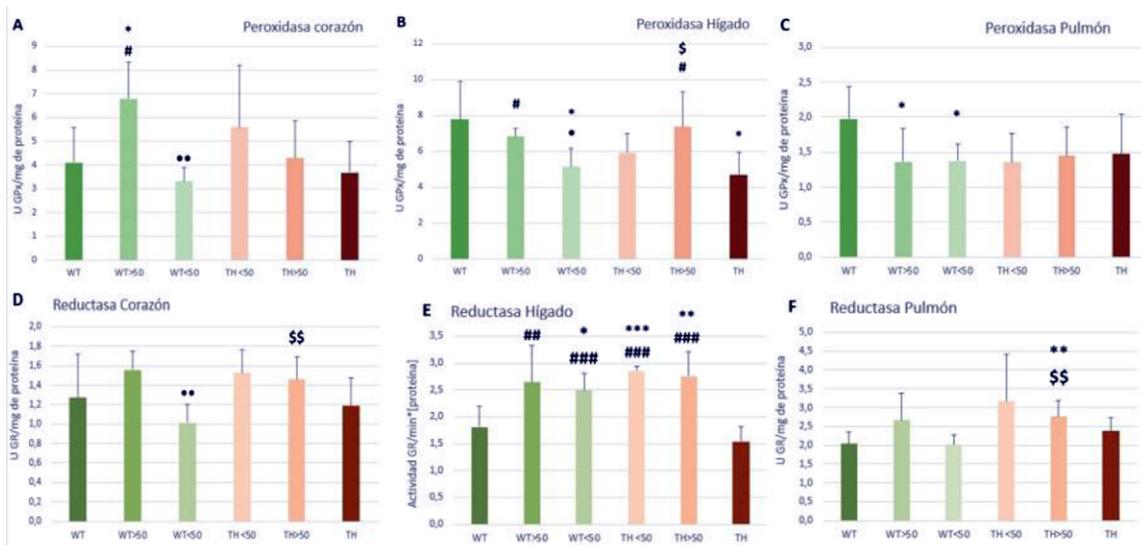
La Teoría del envejecimiento más aceptada es la Teoría de la Oxidación (Harman, 1956), que explicaría este proceso debido a la acumulación de daño oxidativo causado por las especies reactivas de oxígeno, producidas durante el metabolismo celular. En el proceso de envejecimiento se afectan especialmente los sistemas homeostáticos (nervioso, endocrino e inmunológico), así como la comunicación entre ellos, fundamental para el mantenimiento de la salud, teniendo como causa principal el estrés oxidativo (aumento de oxidantes y disminución de antioxidantes) que ocurre al envejecer (De la Fuente y Miquel, 2009). La alteración del eje simpático-adrenomedular, como la sufrida en ratones deficientes para la tiroxina hidroxilasa (HZ-TH), enzima limitante en la síntesis de catecolaminas, parece provocar un deterioro de los sistemas homeostáticos, afectando a la respuesta inmunitaria, lo que conlleva a una peor homeostasis y, por tanto, a un envejecimiento prematuro (Garrido *et al.*, 2017).

Por otra parte, la velocidad de envejecimiento está condicionada por factores genéticos, pero fundamentalmente por los ambientales (De la Fuente y Miquel, 2009). En este sentido, el ambiente social (AS), entendido como el ambiente en el que un individuo se desarrolla, podría incidir en la salud y el envejecimiento (Seeman & Crimmins, 2001). La mayoría de los escasos trabajos sobre los efectos del ambiente social se han centrado en los efectos negativos sobre los sistemas homeostáticos de la convivencia con individuos enfermos (Hamamoto *et al.*, 2014). Los posibles efectos positivos de un adecuado AS, no han sido investigados, aunque recientemente se ha descubierto que el ambiente social podría tenerlos (De la Fuente *et al.*, 2016; Garrido *et al.*, 2017).

Por tanto, el **objetivo** de este trabajo fue estudiar las actividades de dos enzimas antioxidantes, glutatión peroxidasa (GPx) y glutatión reductasa (GR), en ratones HZ-TH y en los correspondientes wild type (WT) en distintos órganos, así como comprobar el efecto del AS (convivencia de una proporción diferente de HZ-TH y WT) sobre ambos grupos de animales.

**Material y métodos**

Se emplearon 32 ratones hembras ICR-CD1 maduras (13±1mes) dispuestos en 6 grupos distribuidos en 6 jaulas distintas 1) Conviven sólo wild type (controles WT); 2) Conviven sólo hemizigotos para la tiroxina hidroxilasa (controles HZ-TH); 3) WT que conviven con más del 50% de WT (WT>50); 4) WT que conviven con menos del 50% de WT (WT<50%); 5) TH que conviven con menos de un 50% de TH (TH<50); 6) TH que conviven con más de un 50% de TH (TH>50). Los ratones fueron sacrificados mediante dislocación cervical y los órganos (corazón, hígado y pulmón) fueron extraídos. En toda la experimentación se siguió la legislación vigente (Real Decreto 53/2013) al respecto. En estos órganos se midió la actividad de la enzima glutatión peroxidasa (GPx) y reductasa (GR), según los métodos previamente descritos por Lawrence y Burk (1976) y Massey y Williams (1965), respectivamente. Posteriormente, se determinó la cantidad de proteínas totales según el kit del ácido bicinconínico. El análisis estadístico se realizó mediante el programa estadístico SPSS 21.0. Se comprobó la normalidad (Test *Kolmogorov-Smirnov*) y homocedasticidad (test de *Levene*) de las variables y se compararon las medias mediante



**Figura 1.** Actividad de la Glutatión peroxidasa y Glutatión reductasa en corazón, hígado y pulmón. \* p<0,05, \*\* p<0,01 y \*\*\* p<0,001 con respecto a los animales WT; # p<0,05, ## p<0,01 y ### p<0,001 con respecto a los animales HZ-TH; • p<0,05, •• p<0,01 representa diferencias entre el ambiente social de los animales WT; y \$ p<0,05, \$\$ p<0,01 con respecto al WT dentro de la misma jaula.

la prueba *t de Student*. En todos los casos la significación estadística se consideró a partir de un valor  $p < 0,05$ .

### Resultados

Los resultados de la actividad de la GPx mostraron que, en **corazón**, los animales WT>50 mostraron niveles significativamente más elevados que los ratones WT, HZ-TH y WT<50 (Figura 1A). En el caso del **hígado**, los ratones WT presentaron valores significativamente más elevados que los animales HZ-TH. Además, en los grupos de ambiente social, destacan los WT > 50 frente a HZ-TH; los WT y WT>50 frente a WT<50; y los TH > 50 frente a TH y WT < 50 (Figura 1B). Por último, en **pulmón** (Figura 1C) se mostraron únicamente diferencias significativas entre los animales WT y los grupos AS WT, siendo en éstos últimos inferiores.

En cuanto a la actividad de la GR, los animales WT<50 presentan medias inferiores a los grupos WT>50 y TH>50 en **corazón** (Figura 1D). En el **hígado** (Figura 1E), se observaron valores inferiores en los animales WT frente a WT<50, TH>50 y TH<50; y más elevados en los animales WT>50, WT<50, TH<50 y TH>50 respecto a los TH. Finalmente, en **pulmón** (Figura 1F) sólo se encontraron medias superiores en los animales TH>50 frente a los WT y TH>50.

### Discusión

Los resultados mostraron sólo diferencias significativas entre los grupos WT y TH en hígado, órgano central en el metabolismo y detoxificación corporal, donde una menor actividad GPx observada en los HZ-TH apunta a un peor estado redox y más envejecimiento en estos animales.

En cuanto a los grupos de ambiente social, los ratones HZ-TH mejoran sus niveles de enzimas antioxidantes al convivir con los WT. Incluso en algunos casos pueden llegar a superar los valores de los animales WT. Estos efectos positivos corroboran los indicados en el estudio piloto previo llevado a cabo con estos animales (Garrido et al., 2017) con trabajos anteriores<sup>3</sup> sugiriendo que una mejora del ambiente social podría ser una estrategia para ralentizar el envejecimiento y conseguir una longevidad más saludable. En el caso de los WT, se muestran dos situaciones diferentes. Por un lado, observamos un efecto de hormesis en aquellos ratones sanos que conviven con enfermos, al contemplar actividades superiores a los propios ratones salvajes control.

Sin embargo, si se aumenta en exceso la proporción de enfermos con la que conviven, los sanos comienzan a empeorar notablemente, comprobando los efectos negativos del ambiente social en los animales sanos.

### Conclusión

La deficiencia en catecolaminas afecta al estado de las defensas antioxidantes en el hígado de los ratones HZ-TH. Además, se ha comprobado que el AS ejerce, en los órganos estudiados, un efecto beneficioso sobre los ratones HZ-TH, mientras que los ratones WT presentan, mayoritariamente, un deterioro de las actividades enzimáticas estudiadas, aunque en los WT > 50 se puede producir un efecto beneficioso.

### Referencias

- De la Fuente, M., Cruces, J., & Garrido, A. (2016). Los individuos viejos al convivir con adultos “rejuvenecen” su función inmunitaria y estado antioxidante. *Revista Española de Geriatría y Gerontología*, 51, 55.
- De la Fuente, M., & Miquel, J. (2009). An update of the oxidation-inflammation theory of aging: The involvement of the immune system in oxi-inflamm-aging. *Current Pharmaceutical Design*, 15, 3003-3026.
- Garrido, A., Cruces, J., Iriarte, I., Hernández-Sánchez, C., de Pablo, F., & de la Fuente, M. (2017). Inmunosenescencia prematura en ratones con una deficiencia en la síntesis de catecolaminas. Efecto del ambiente social. *Revista Española de Geriatría y Gerontología*, 52(1), 20-26. <https://doi.org/10.1016/j.regg.2016.01.002>
- Hamasato, E. K., de Lima, A. P. N., de Oliveira, A. P. L., Franco, A. L. d. S., de Lima, W. T., & Palermo-Neto, J. (2014). Cohabitation with a sick partner increases allergic lung inflammatory response in mice. *Brain, Behavior, and Immunity*, 42, 109-117. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2014.06.001>
- Harman, D. (1956). Aging: A theory based on free radical and radiation chemistry. *Journal of Gerontology*, 11, 298-300. <https://doi.org/10.1093/geronj/11.3.298>
- Iriarte Arce, I., Garrido Tardío, A., & Cruces González, J. (2014). El deterioro conductual e inmunológico de ratones hemizigotos para la tirosina hidroxilasa depende del ambiente social. *Reduca (Recursos Educativos). Serie Congresos Alumnos*, 6(4), 111-117.
- Lawrence, R. A., & Burk, R. F. (1976). Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 71, 952-958. [https://doi.org/10.1016/0006-291X\(76\)90747-6](https://doi.org/10.1016/0006-291X(76)90747-6)
- Massey, V., & Williams, C., Jr. (1965). On the reaction mechanism of yeast glutathione reductase. *Journal Biological Chemistry*, 240, 4470-4480.
- Seeman, T. E., & Crimmins, E. (2001). Social environment effects on health and aging: Integrating epidemiologic and demographic approaches and perspectives. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 954, 88-117.