

Janari lasterra neuronen etsai

*Jon Zarate¹, Juan Manuel Rodríguez¹, Jesus Pascual¹,
Encarni Goikoetxea², Enrique Echevarría¹ eta Maria Dolores Guillen²*

Fisiologia Saila¹ eta Elikagaien Teknologia Saila², Farmazia Fakultatea,
Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV-EHU), Vitoria-Gasteiz.

Laburpena: Frijituak eguneroko energia-ingestaren zati handia osatzera iritsi dira gaur egungo gizarte garatuetan. Bestalde, osasunerako kaltegarriak diren produktu ugari antzeman dira jatetxeetako olio berrerabilien konposizioan. 4-hidroxi-trans-2-nonenala (4-HNEa) dago produktu horien artean.

4-HNEa da oxidazio-estresaren eraginez zelularen egiturako lipidoen peroxidaziotik eratzen den molekula garrantzitsuena eta frogatua dago molekula hau neurotoxikoa dela; badirudi gainera harremanetan egon daitekeela Alzheimerre bezalako gaixotasun neurodegeneratiboen garapenarekin.

Abstract: In advanced societies the fried food it is an important part of the daily energy intake. Moreover, oils reused by the restaurants have numerous compounds harmful to health, including 4-hydroxy-trans-2-nonenal (4-HNE).

4-HNE is the main product of oxidation of lipids in the cell structure generated by the oxidative stress. Besides, it is demonstrated that 4-HNE is a neurotoxic molecule, and perhaps it could be related to neurodegenerative diseases such as Alzheimer.

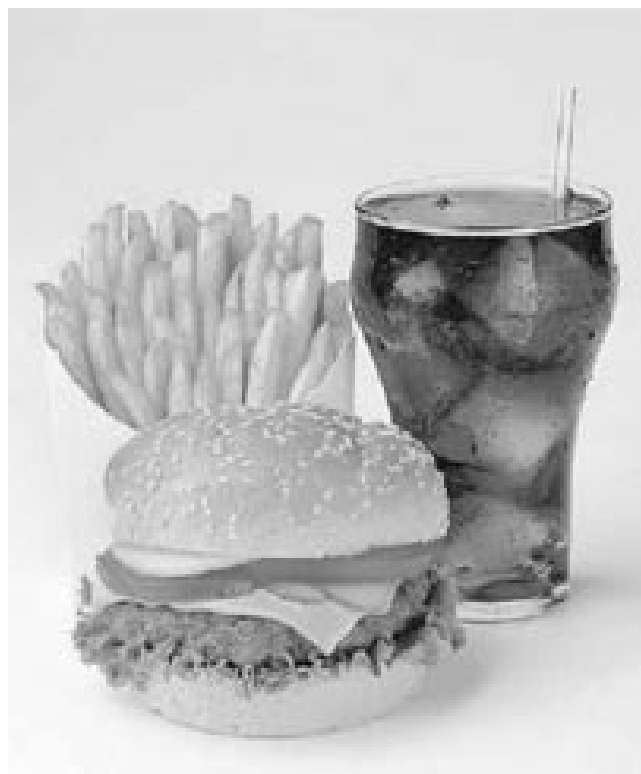
TESTU NAGUSIA

Gaur egungo gizarte garatuetan garrantzi handiagoa ematen zaio modaren arabera bizitzeari osasuntsu bizitzeari baino. Azken belaunaldiko saketako telefonoa, goi mailako autoak, etxebizitza propioa, eta abarrekoak eduki beharrak itsu-itsuan behartzen gaitu izugarritzko erritmoko bizi-modua eramatera, bai eta ondo elikatze beharrezkoak diren egitekoak ez egitera ere.

Elikatzeari zor zaion denbora ematea da egiteko horien arteko garrantzitsuena baina hala izanik ere, Institutu Nazionalak plazaratu dituen xehetasunen arabera, espainiarrek egunean ordu bat eta 46 minutu eskaintzen dizki-

ote elikatzeari. Orduak minutu eta minutuak segundo bilakatzen diren garai honetan hanburgesek tokia kendu diete aitona-amonen porrusaldei, eta fast food esapidea, euskaraz janari lasterra dei dezakeguna, jada barneratuta dago gure gizartean.

Ahalik eta denbora gutxien galtzeko moduko janaria prestatzeko nahia zibilizazio zaharretan ere antzeman dezakegu; Erroma zaharrean adibidez, ogia eta oliba-olioa saltzeko tokiak zituzten. Janari lasterraren historia modernoak aldiz, Ameriketako Estatu Batuetan eman zituen lehen urratsak, 1912ko uztailaren 7an Automat izeneko jatetxearen irekierarekin batera. Orduz geroztik hainbat izan dira negozio honetara atxiki diren enpresak, adibidez White Castle 1921ean eta Mc Donald´s multinazionala 1940an [2]. Gaur egun munduko gizarte moderno guztietara hedatu da kultura hau, eta gero eta indartsuagoa bilakatzen ari da egunetik egunera. (1. irudia).



1. irudia. janari lasterraren adibide paradigmaticoa

Aurretiaz izoztutako janari frijituen kontsumoa oso handia da mundu osoan, horrelakoak kozinatzeke denbora gutxi behar delako batik bat. Horrela, frijituak eguneroko energia-ingestaren zati handia izatera iritsi dira

[3]. 2007ko urriaren 9ko Berria egunkariko Cristina Perezen artikuluak ondokoa zioen: «Presa, estresa eta kontsumo-ohiturak direla-eta, elikadura desorekatua eta oparoa gailendu da. Ohitura-aldaketa horiek direla-eta, gora egin dute nutrizioari lotutako arazoek. Zoritxarrez, gero eta ezagunagoak dira guztiontzat diabetea, kolesterola, azido urikoa, giltzurruneko gaixotasunak, obesitatea, alergiak, gehiegizko pisua, anorexia eta bulimia» [4].

Baina Cristina Pérez-ek ez zigun gauza berririk eskaini, aspalditik uztartzen baitira aipaturiko patologiak eta elikadura desorekatua. Ezinbestez gogorazi behar zaio gizarteari frijitu gehiegi jateak obesitatea edo diabetea sor dezakeela, baina gaur egungo zientzia-ikerketak urrunago doaz. Izan ere, zientzialariek uste dute frijituek osasun fisikoari ez ezik osasun psikikoari ere eragin diezaioketela.

Beraz, posible al da hanburgesen gehiegizko ingestak Alzheimerra bezalako gaisotasun neurodegeneratiboen intzidentzian eragina izatea?

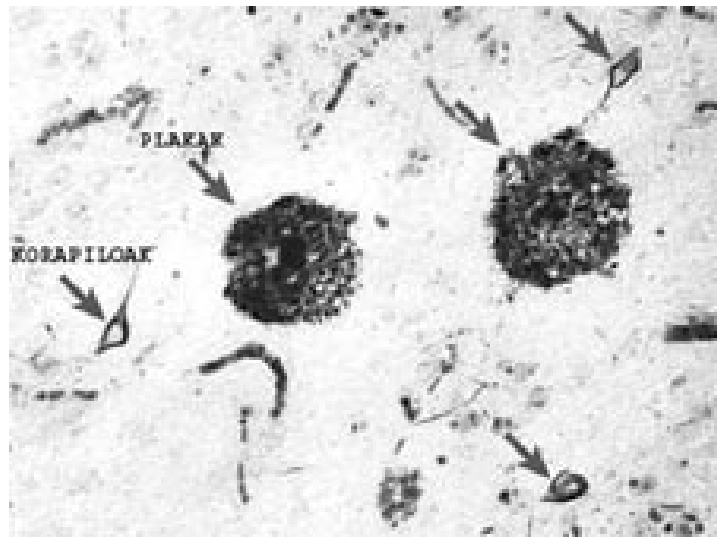
Batzuek hori galdetzearekin batera frijituren aurkakotasuna muturrera eramanez, baina zientziaren historian baditugu beren garaian aintzindariak izateagatik kondenatuak izan ziren jakintsuak, inkisizioak erre zuen Miguel Servet bera adibidez. Hala ere zientziak aurrera egin dezan hipotesiak ezinbestekoak dira, beti ere zientziaren oinarria eta babesaldea batera utzi gabe (2. irudia).



2. irudia. Miguel Serveten erretratua

Alzheimerra da dementzia mota arruntena. Hainbat faktore fisiopatologikoren artean, prozentzefaloaren oinarriko neurona kolinerjikoaren eta glutamaterjikoaren endekapena da gaisotasunaren ezaugarri garrantzitsuenetakoa. Neurona horiek garunazala, amigdala eta hipokanpoa inerbatzen dituzte eta oroimena eta ikasteko gaitasuna bezalako funtzio kognitibo aurreratuak, mugimendu psikomotoareak eta arreta-ahalmena kontrolatzen dituzte [5].

Neuronen zitoeskeletoko osagaien pilaketagatik, Alzheimerrean gerta daitezke alterazio anatomopatologiko deigarriak, hala nola neurozuntzetako korapiloak (neurofibrillary tangles) eta zahartzaroko plakak (senile plaques) ize-nekoak [6]. Gauregun zientzialari askok dihardute agregazio horien mekanismo eragilean parte hartzen duten molekulen identifikazio lanetan; izan ere korapilo eta plaka horiek neuronen endekapena eragiten baitute. (3. irudia).



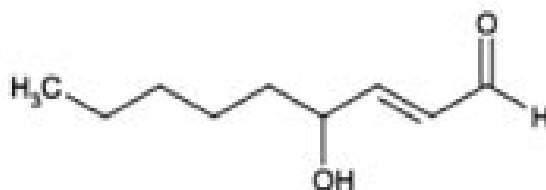
3. irudia. plakak eta korapiloak alzheimerrak kaltetutako neuronetan

Guztiok dakigun bezala, zelulek oxidazio-estresa jasaten dute, balantzesoreka bat gertatzen baita gorputzaren oxidazio kontrolgabeen aurkako defentsen eta zelulak sortutako erradikal askeen artean. Badirudi neuronen funtzionamendurako ezinbestekoa den zitoeskeletoko proteinei lotzen zaizkiela oxidazio-estreseko produktuak, eta era horretara zelularen jarduera egokia eragozten dutela. Oxidazio-estresean sortutako erradikal askeen artean karbonilo toxikoak ditugu; frogatuta dago karboniloek zitoeskeletoko proteinek in lotura kobalenteak eratzen dituztelarik, aipaturiko neurozuntzen korapiloak eta plakak sortzen dituztela.

Aldaketa kimiko horiei proteinen karbonilazioa deritze eta prozesu garrantzitsuak dira Alzheimerraren fisiopatologiaren azalpenean [7]. Dena den, karboniloak ez dira oxidazio-estresean sortzen diren produktu toxiko bakarrak, besteak beste, 4-hidroxi-trans-2-nonenala (4-HNE) deritzon molekula ere sortzen baita. 4-HNEa da, hain zuzen ere, oxidazio-estresaren eraginez zelularen egiturako lipidoen peroxidazioaren ondorioz eratzen den molekula garrantzitsuena eta, karboniloak bezala, alzheimerraren fisiopatologiarekin uztartu izan da [8].

Nahiz eta Mediterraneo aldeko herrietan frijitzeko oliba-olioa erabiltzeko ohitura egon, azken hamarkadan, salneurri-desberdintasuna dela-eta, ekilore-olioak eta azido oleikoaren kontzentrazio handiak dituzten olioek olibazkoari nagusitu zaizkio. Horrez gain, frogatuta dago olioak behin baino gehiagotan erabiltzen dela espainiar estatuan ikerturiko hainbat kafetegi eta jatetxe txikitik [9]. Olio horiek frijitzean, oxidazio, polimerizazio, ziklazio eta hidrolisi prozesuen eraginez, produktu toxikoak sintetizatzen dira. Gainera, kalitate baxuko olioak oliba-olioa baino ezegonkorragoak dira eta frijitzean alterazio handiak jasaten dituzte [3].

Osasunerako kaltegarriak diren produktu ugari antzeman dira jatetxeetako olio berrerabilien konposizioan. 4-hidroxi-trans-2-nonenala (4-HNEa) dago produktu horien artean. Besteak beste, aldehido α,β -intsaturatuen presentzia azpimarratu behar da [10]. Oxidazio-estresaren eraginagatik zelulen mintzetan eratzen den 4-HNEa da aldehido talde horretako molekula nagusia. Argi dago beraz jatetxe horietan elikagaiak frijitzeko erabiltzen diren olioetan neuronetarako zitotoxikoak diren produktuak ager daitezkeela, 4-HNEa adibidez. Beraz pentsatzen has gaitezke orain jaten ditugun frijituak harremanetan egon daitezkeela etorkizunean jasan genezakeen Alzheimerrarekin.



4. irudia. 4-hidroxi-trans-2-nonenala

4-HNEa biologikoki oso molekula aktiboa da eta DNA, RNA eta molekula proteikoen sintesia inhibitzeko gai da. Era horretan, dituen efektu zitotoxikoen eta genotoxikoen eraginez, 4-HNEak, blokea dezake *in vitro* kulti-batutako zelula mota askoren garapena [11].

Oxidatutako olioekin prestatutako elikagaiak askotan jateak, baina, kaltetu al ditzake neuronak? Egia esan, galdera honi egokiro erantzuteko eragile ugari aztertu beharko liriateke. Hasteko, jakin beharko litzateke olio horietako produktuek eragin zitotoxikorik ba ote duten laborategian kultibatutako nerbio-zeluletan; hori da, hain zuzen ere, duela hamar urte Karlhuber eta kideek beraien Salzburgoko Unibertsitateko laborategian frogatu zutena. Entsegu hartan, garuneko endotelio-zelulen fenotipo ezberdin bi kultibatu zituzten eta 4-HNEaren kontzentrazio ezberdinen eraginpean jarri zituzten. Esperimentuak argi eta garbi erakutsi zuen 4-HNEa zitotoxikoa zela, kontzentrazio txikietan kultibatutako garuneko endotelio zeluletarako ere [12]; harrez gero, argi ikusi da hipokanpoko neurona primarioen kulturetan eta PC12 zelulen kulturetan apoptosia ere, hau da, zelulen heriotza, eragiten duela [13, 14].

Baina zer gertatzen da in vivo? Zergatik uztartzen da 4-HNEa Alzheimerren fisiopatologiarekin? Horri erantzutea eragin zitotoxikoei azalpena ematea baino zailagoa da, baina azken hamarkadan horretara zuzendutako ikerketa ugari egin dira.

4-HNEa erreaktibitate handiko molekula elektrofiloa da eta axoien mintzeko egitura-proteinekin konplexuak eratzen ditu; konplexu horiei Michaelen konplexuak deritze. 4-HNEa lisina, histidina eta zisteina aminoazidoekin lotzen da eta beraien artean lisinarekiko erakusten du afinitaterik handiena [15]. Aminoazidoekin lotzearen ondorioz, berehala eratzen dituzte Alzheimerren ezaugarri diren plakak eta korapiloak, neuronan aktibitate egokirako oztopo direnak. Bestalde, behatu da neurozuntzetan eratzen diren plakek lisina kantitate handia dutela Alzheimerren jotako gaixoetan. Horrek iradokitzen du aukera handiak daudela plaka horiek lisinek 4-HNEarekin eraturiko konplexuen ondorio izateko [7].

Erabat frogatuta dago 4-HNEa dela Alzheimerrean ageri diren plaka eta korapiloen eragile garrantzitsuenetakoa. Horrez gain, Alzheimerrean ikus daitezkeen anatomia-patologia horiek, neuronan funtzionamendu egokia eragozten dute eta horren ondorioz, denborarekin nerbio-zelulak heriotzera bideratzen dituzte; hau da, neuronan apoptosia eragiten dute. Neuronan Hazkuntza-Faktorea (NGF, Nerve Growth Factor) bezalako molekulen seinaleez baliatzen dira bizirauteko. Antza denez, horretarako beharrezkoak diren prozesuan abian jartzeko eta apoptositik babesteko, beharrezkoa da NGF neuronan mintzean dagoen proteina hartzaile batekin (TrkAekin) lotzea [16]. Badirudi NGFaren eta TrkA proteinaren arteko loturen egokitasuna ezinbestekoa dela gaixotasun neurodegeneratiborik ez gertatzeko. Esate ba-

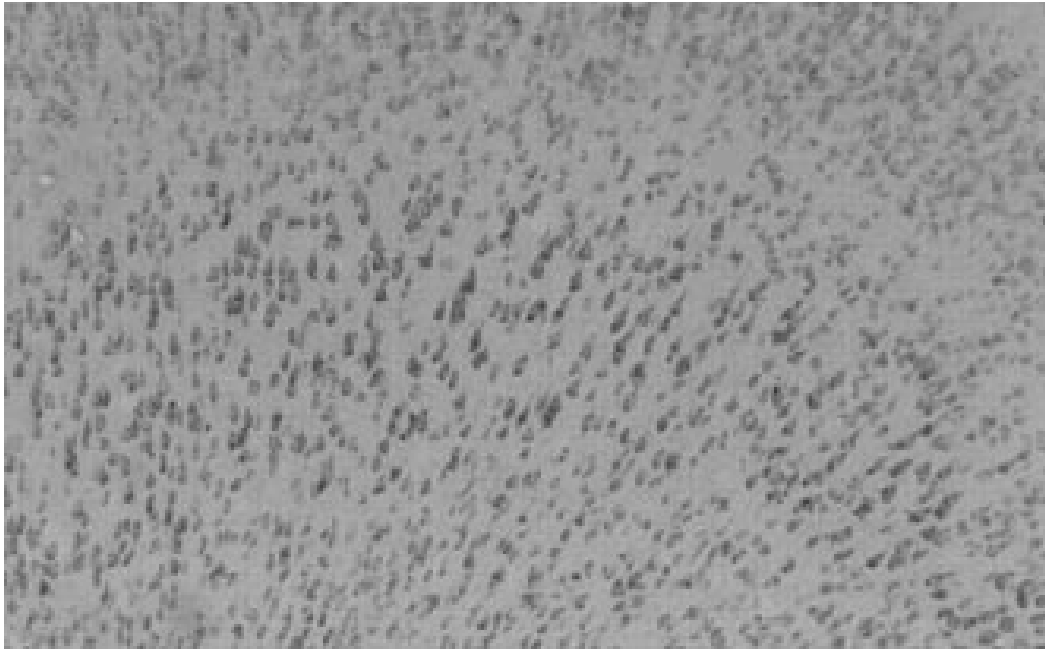
terako, Alzheimerraren lehen faseak pairatzen ari diren gaixoetan, TrkAren adierazpena murriztuta dago eta, ondorioz, askoz ere txikiagoa da neuronak heriotzetik babesteko beharrezko duten mekanismoaren eraginkortasuna [17]. Gorago esan den moduan, kontuan hartu behar dugu prozentzefaloaren neurona kolinergikoen degenerazioa dela garrantzitsuenetakoa eta beraz, azpimarratzekoa da garunazaleko neurona kolinergikoen biziraupenerako ezinbestekoa dela TrkAren aktibitatea [18].

Frogatuta dago 4-HNEak efektu apoptotikoak dituela Neurona-kulturetan, baina gertatzen al da hori *in vivo*? Galdera horri erantzun nahian, edo erantzunera heltzeko pausotxo bat eman nahian behintzat, ondoren azaltzen den saio konparatiboa diseinatu genuen gure laborategian. Denbora luzez kalitate baxuko olio oxidatuekin eginiko janaria jaten den kasua simulatu nahian, *Rattus norvegicus* espezieko arratoi talde bati 4-HNEa zeukan olio eman genien 21 egunean; kontrol-arratoiei aldiz, oxidatu gabeko olio eman zitzaion. Ondoren, arratoi horien garunak aztertu genituen eta, hain zuzen ere, garunazal frontalean TrkA hartzaile proteikoa duten zelulak zenbatu genituen. TrkA hartzaile proteikoa duten neuronak zenbatu ahal izateko, TrkA hartzaile proteikoa zelula-mintzean dituzten neuronak tindatu genituen teknika immunoizitokimikoaren bitartez. Hurrenez hurren tindaketa prozesuan erabilitako produktuak ondorengoak dira: TrkA hartzaile proteikoaren aurkako antigorputz primarioa, antigorputz sekundario biotinilizatua, biotinari lotzen zaion abidina-peroxidasa konplexua eta diaminobenzidina kromogenoa.

Azkenik, kolorezko bideokamara egokituta daukan ikerkuntzarako Olympus BX 50 mikroskopia optikoaren eta Quantimet 500 MC programa informatikoaren laguntzarekin irudi-analisia egin genuen. 4-HNEa jaten eman genien arratoien garunak arratoi kontrolenekin erkatuta lorturiko emaitzek iradokitzen dutenez, badirudi lehenek TrkA adierazten duten neurona gutxiago dituztela (5. irudia).

Emaitza horien arabera, pentsa genezake gure laborategi-saioko arratoien prozentzefaloetako neuronetan murriztuta egon litezkeela heriotzetik babesteko mekanismoak. Hala ere, ezin ziurta genezake ikusten dugun desberdintasun hori soilik eta zuzenean 4-HNEak eragindakoa denentz, ez baitakigu, adibidez, 4-HNEak hesi hematoentzefalikoa zein neurritan zeharkatzen duen eta garunera zein kantitatetan heltzen den; izan ere, baliteke aipaturiko hesi hori ez zeharkatzea.

Dena den, gaur egun *in vivo* egindako ikerketa hauek gutxi izan arren eta oraindik askoz ere ikerketa gehiago behar izango diren arren, zientzia-datu askok iradokitzen dute loturaren bat egon daitekeela kalitate eskaseko olio



5. irudia. teknika immunozitokimikoarekin tindatutako arratoiaren garunazaleko neuronen argazkia

berrerabiliekin eginiko janari-ingesta kronikoaren eta Alzheimerren artean. Etorkizunari begira, eginkizun daude beste hainbat ikerketa, gertaera bien arteko balizko loturaren hipotesi hau baieztatuko edo ezeztatuko dutenak. Bien bitartean, gizakiek behar baino frijitu gehiago jaten jarraituko dute eta Alzheimer ez da desagertuko... Edo agian bai... Batek daki.

BIBLIOGRAFIA

- [1] <http://www.elgranchef.com/2007/09/24/el-tiempo-en-que-comemos/>
- [2] http://en.wikipedia.org/wiki/Fast_food
- [3] SÁNCHEZ-MUÑIZ F.J. eta BASTIDA S. 2006. *Olive oil and human health* liburuan. CAB International Publishing, Oxfordshire.
- [4] PÉREZ C. 2007. *Berria*. Euskal Editorea S.L., Andoain.
- [5] BOURIN M., RIPOLL N. eta DAILLY E. 2003. «Nicotinic receptors and Alzheimer's disease». *Current Medical Research and Opinion*, **19**, 169-177.
- [6] SMITH M.A. 1998. *International Review of Neurobiology*. Academic Press Inc, San Diego.
- [7] LIU Q., RAINA A.K., SMITH M.A., SAYRE L.M. eta PERRY G. 2003. «Hydroxynonenal, toxic carbonyls, and Alzheimer disease». *Molecular Aspects of Medicine*, **24**, 305-313.

- [8] ESTERBAUER H., SCHAUR R.J. eta ZOLLNER H. 1991. «Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes». *Free Radical Biology and Medicine*, **11**, 81-128.
- [9] ROMERO A., CUESTA C. eta SÁNCHEZ-MUÑIZ F.J. 1999. «Does frequent replenishment with fresh monoenoic oils permit the frying of potatoes indefinitely?». *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **47**, 1168-1173.
- [10] GUILLEN M.D., CABO N., IBARGOITIA M.L. eta RUIZ A. 2005. «Study of both sunflower oil and its headspace throughout the oxidation process. Occurrence in the headspace of toxic oxygenated aldehydes». *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53**, 1093-1101.
- [11] ECKL P.M., ORTNER A. eta ESTERBAUER H. 1993. «Genotoxic properties of 4-hydroxyalkenals and analogous aldehydes». *Mutation Research*, **290**, 183-192.
- [12] KARLHUBER G.M., BAUER H.C. eta ECKL P.M. 1997. «Cytotoxic and genotoxic effects of 4-hydroxynonenal in cerebral endothelial cells». *Mutation Research*, **381**, 209-216.
- [13] SONG B.J., SOH Y., BAE M., PIE J., WAN J. eta JEONG K. 2001. «Apoptosis of PC12 cells by 4-hydroxy-2-nonenal is mediated through selective activation of the c-Jun N-terminal protein kinase pathway». *Chemico-Biological Interactions*, **130**, 943-954.
- [14] BRUCKNER S.R. eta ESTUS S. 2002 «JNK3 contributes to c-jun induction and apoptosis in 4-hydroxynonenal-treated sympathetic neurons». *Journal of Neuroscience Research*, **70**, 665-70.
- [15] WATAYA T., NUNOMURA A., SMITH M.A., SIEDLAK S.L., HARRIS P.L.R., SHIMOHAMA S., SZWEDA L.I., KAMINSKI M.A., PRICE D.L., CLEVELAND D.W., SAYRE L.M. eta PERRY G. 2002. «High molecular weight neurofilament proteins are physiological substrates of adduction by the lipid peroxidation product hydroxynonenal». *Journal of Biological Chemistry*, **277**, 4644-4648.
- [16] MILLER F.D. eta KAPLAN D.R. 2001. «Neurotrophin signalling pathways regulating neuronal apoptosis». *Cellular and Molecular Life Science*, **58**, 1045-1053.
- [17] ALLEN S.J. eta DAWBARN D. 2006. «Clinical relevance of the neurotrophins and their receptors». *Clinical Science*, **110**, 175-191.
- [18] ZAMPIERI N. eta CHAO M.V. 2006. «Mechanisms of neurotrophin receptor signalling». *Biochemical Society Transactions*, **34**, 607-611.