

Antioxidante para enfermedades neurológicas y enfoques de Neurotrauma y bioingeniería

Nasera Rizwana,¹ Vipul Agarwal,^{2,*} y Manasa Nune^{*}

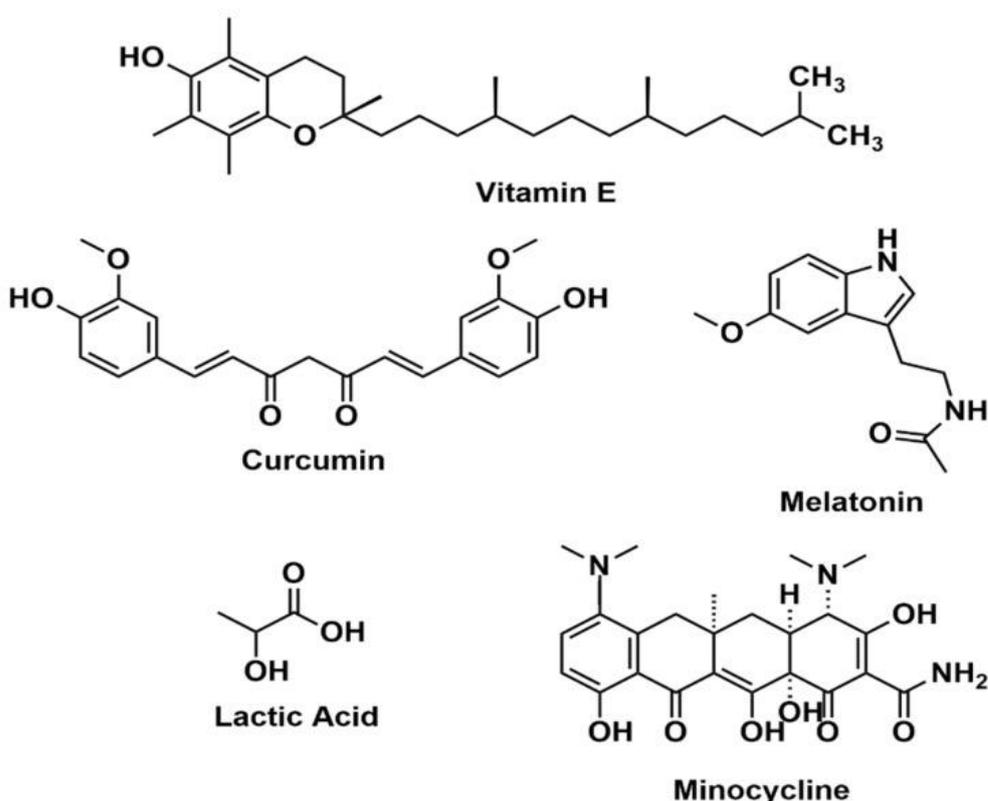
Alessandra Napolitano, editora académica, Maria Cristina Albertini, editora académica, y Seeram Ramakrishna, editora académica

Antioxidantes (Basel). 2022 Ene; 11(1): 72.

Publicado en línea 2021 Dec 29. doi: PMID: [35052576](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35052576/)

Antioxidantes en el SNC y PNS

Los antioxidantes ayudan a reducir la acumulación radical libre y reducir así el estrés oxidativo. Estos antioxidantes se pueden administrar como un fármaco o al incorporarlos con otros biomateriales para formar hidrogeles o nanofibra. La administración directa del fármaco se puede realizar por vía oral, intraperitoneal o a través de la vía intragástrica. A continuación se han descrito varios compuestos utilizados como administración directa. [La Figura 2](#) muestra estructuras de algunos de los antioxidantes utilizados en el SNC y PNS, discutidos en esta sección.



[Figura 2](#)

Estructuras químicas de antioxidantes exógenos utilizados en PNS y SNC.

Vitamina E

La vitamina E es una familia de ocho miembros naturales de compuestos [70](#)solubles en grasa compuestos compuestos de tocoferoles y tocotrienols [70]. De los ocho miembros, el "tocoferol" es el compuesto más activo biológicamente, ya que tiene una mayor afinidad de la proteína de transferencia de tocoferol.

Consiste en un grupo hidroxilo electrofílico en el anillo cromán para escarbar a los radicales libres de oxígeno. Se informa que es un antioxidante lipídico-soluble que ayuda a mantener la integridad de la membrana celular que puede cambiar debido a los radicales libres de oxígeno generados por PUFA [71](#)[71].

Se sabe que el tocoferol es un nutriente esencial para los seres humanos, no está presente naturalmente en el cuerpo y tiene que ser complementado a través de fuentes de nutrientes como [297273](#)cacahuets [29], almendras [72], y aceite de girasol [73]. El tocoferol es transportado desde el hígado por proteínas de casete de unión ATP, como el transportador de casetes de unión ATP A1 y el transportador de casetes de unión ATP G en dos tipos de lipoproteínas, a saber, lipoproteína de muy baja densidad y partículas de lipoproteína de baja densidad que circulan en los fluidos extracelulares. Luego se intercambia enzimáticamente mediante la transferencia de proteínas a la lipoproteína de alta densidad (HDL). Este HDL unido al tocoferol es transportado por tocoferol proteína de transporte al SNC penetrando a través de la barrera hebra (BBB). Se informa que en enfermedades neurodegenerativas como la EA, la DPD y el síndrome de Down, donde la concentración de ROS es intrínsecamente alta, también se aumenta [74](#)la concentración de proteínas de transporte de tocoferol, lo que a su vez aumenta el transporte de tocoferol en el SNC [74]. Por lo tanto, el tocofero se puede utilizar para mejorar la producción de ROS en enfermedades neurodegenerativas a través de la suplementación con vitamina E. Liu et al. [75](#)[75] estudió el efecto de la vitamina E sobre el daño cerebral causado por los contaminantes ambientales principalmente partículas (PM), gases, compuestos orgánicos y metales. Entre estos, el contaminante más comúnmente encontrado en el aire interior y exterior es PM 2.5 y formaldehído (FA), que resultó en déficits cognitivos, alteraciones cerebrales patológicas, acumulación de amamiloide, activación de glia y estrés oxidativo. Los autores estudiaron los efectos de la coexposición de FA y PM 2.5 en ratones C57BL/6 masculinos SPF. Los ratones fueron expuestos a la mezcla de FA y PM 2.5 por instilación intranasal y vitamina E fue administrada por administración intragástrica de dosis 50 mg/kg/día durante 7 días y estudiada para daño cerebral. Se observó en estudios histológicos que después de la coexposición, las células piramidales en la región de cornu amones de la hipocampo se suelta y desordenadas con la inflamación y deforme su forma y con la administración de vitamina E, la mayoría de las células piramidal permanecieron intactas. La administración de vitamina E aumentó el número celular en la corteza cerebral y prefrontal en comparación con el grupo de control de la coexposición. La expresión de proteínas como A, Tau-P y GFAP se redujo con la administración de vitamina E en comparación con el grupo de la comparación. También se observó que los niveles de ROS y COX-2 disminuyeron y los niveles de glutathione y la actividad de superóxido dismutasa fueron más altos en el grupo administrado por vitamina E que el grupo de coexposición que indica la propiedad antioxidante de la vitamina E. La eficacia antioxidante de la vitamina E también se mostró en la dieta alta en grasas (HFD) asociada con el estrés oxidativo. El consumo de HFD libera una cantidad excesiva de radicales libres [76.77778.78](#), que se demostró que causaba enfermedades [79](#)cardiovasculares y metabólicas y aumentaba el riesgo de déficits neurológicos en diferentes regiones del cerebro [79]. El papel de la dieta suplementada de vitamina E en la reducción de las convulsiones epilépticas en ratas Wistar macho fue estudiado por Alzoubi et al. [80](#). En este estudio, las ratas fueron alimentadas con HFD en combinación con 100 mg/kg de suplemento de vitamina E una vez al día durante 6 semanas usando gavage oral. Los resultados concluyeron que la vitamina E prevenía el daño oxidativo mediante el fortalecimiento del mecanismo antioxidante en el hipocampo y la corteza de ratas sometidas a un HFD, reduciendo así el umbral de convulsión. Esta reducción se debió al mecanismo de protección de la vitamina E contra la reducción de los niveles de glutatión/glutatión de glutatión y catalasa en el hipocampo. Además, la actividad de la vitamina E contra las especies reactivas de nitrógeno y los radicales lipoperoxilos, que inhibe los eicosanoides de ciclooxinaasa y 5-lipooxigenasa-catalyzed conducen a una reducción del estrés oxidativo.

Curcumina

La curcumina es un componente de polifenol natural obtenido de *Curcuma longa*. Consiste en dos anillos aromáticos que contienen grupos fenólicos vinculados por siete espaciadores de carbono que consisten en fracción de dicete [81](#). Se informa que el grupo fenólico presente en la curcumina tiene la capacidad de reaccionar con radicales libres para reducir el estrés oxidativo. También se sabe que aumenta la expresión de enzimas antioxidantes como superóxido dismutasa, catalasa, un glutatión reductasa. Samarghandian et al. [82](#) estudió el efecto del estrés de la restricción en el cerebro. Cuando el cuerpo experimenta estrés fisiológico, las células requieren alta energía para adaptarse al ambiente anormal que aumenta la tasa metabólica causando una generación excesiva de radicales libres que conducen al estrés oxidativo. Los autores utilizaron un freno de roedores hecho de plexglass que se ajusta estrechamente al cuerpo de la rata para inducir estrés de retención en ratas albinas Wistar para evaluar la propiedad antioxidante de la

curcumina. La curcumina se administró intraperitonealmente a dosis de 10 mg/kg, 20 mg/kg y 30 mg/kg durante 21 días. Se observó que, tras el estrés por la contención, se redujo el nivel de glutatión, superóxido dismutasa, peroxidasa de glutatión, reductasa de glutatión y catalasa. Durante las dos primeras semanas después del tratamiento con dosis de cuatricina de 30 mg/kg, los parámetros de estrés oxidativo como los niveles de glutatión, superóxido desmutasa, peroxidasa de glutatión, glutatión reductasa y catalase reducida y después de 3 semanas después del tratamiento post-tratamiento a la misma dosis los parámetros aumentaron indicando la capacidad antioxidante de la curcumina.

Rocha-Ferreira et al. [83] estudió la fisiopatología de la encefalopatía hipópica isquémica neonatal (HIE). Se estima que la lesión cerebral de la HIE causa alrededor de 1 millón de muertes en todo el mundo, y también puede resultar en discapacidades de por vida como parálisis cerebral y convulsiones [84,85]. El daño cerebral de la HIE causa pérdida de energía inicial causando la reducción del suministro de oxígeno y glucosa a las células que conduce a una reducción de la fosforilación mitocondrial oxidativa, reducción del nivel de trifosfato de adenosina desencadenando la excitotoxicidad, la neurotoxicidad y el estrés oxidativo [84,86,87,88]. Se sabe que el estrés oxidativo inducido por la lesión cerebral de la HIE causa un aumento de una enzima llamada sintasa de óxido nítrico inducible [89,90,91]. El óxido nítrico inducible (iNOS) es una de las isoformas de óxido nítrico sintasa, que es responsable de la síntesis de óxido nítrico del aminoácido, L-arginina [89,92,93]. Se expresa cuando las células están expuestas a citocinas inflamatorias. En la lesión cerebral de la HIE, la expresión inducible de óxido nítrico sintasa aumenta en el cerebro causando un aumento de la producción de óxido nítrico [94,95]. El óxido nítrico que es una molécula diatómica lipofílica interactúa con los radicales libres de oxígeno que resulta en la formación y acumulación de peroxinitrito causando daño oxidativo [90,93]. En el estudio de Rocha-Ferreira et al. [83], el daño cerebral moderado a severo fue inducido en ratones P7 al exponerlos a una cámara hipóxica. Los ratones heridos fueron tratados con curcumina mediante inyección intraperitoneal a dosis de 20, 44, 100, 200 y 400 g/oL en DMSO después de un retraso de 60 min después de un insulto de 60 min hipoxiémico. Estudios histológicos revelaron que el tratamiento con 48 h post curcumina causó una reducción significativa en la pérdida de tejido cerebral de fibrosis ipsilateral, pérdida de volumen cerebral en corteza piriforme y estriatum, astrogliosis reactiva ipsilateral y activación microglial. Los autores informaron una disminución de la expresión de óxido nítrico inducible sintasa en el hipocampo después de la administración de la curcumina, indicando una reducción del estrés oxidativo.

El efecto de la curcumina y el propóleo fue comparativamente analizado por Yéce et al. [96] en ratas albino hembra adultas Wistar con lesión nerviosa ciática. Las ratas fueron tratadas con 100 mg/kg de curcumina y 200 mg/kg de propóleo a través de un tubo nasogástrico durante 28 días. El estudio concluyó que la curcumina y el propóleo mostraron mejores resultados en la pista de caminar y análisis electrofisiológicos en comparación con el control de la metilprednisolona. Esto se debió a que la curcumina tiene propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, neuroprotectores y angiogénicas. Los resultados positivos mostrados después de la administración del propóleo se atribuyeron a la presencia de éster fenilico de ácido cafeicoico (CAPE) como componente activo. CAPE proporciona protección contra el peróxido de lípidos, disminuye los niveles de malondialdehído y óxido nítrico, y aumenta los niveles de glutatión y superóxido dismutasa y reduciendo así el efecto isquémico en el cerebro y aumentando las propiedades neuroprotectoras.

Melatonina

La melatonina, químicamente conocida como *N*-acetil-5-metoxiptina, es un antioxidante eficaz que previene lesiones peroxidativas. También reduce los efectos dañinos de los radicales libres al reducir la actividad de óxido nítrico sintasa. Estimula la superóxido dismutasa, la glutatión peroxidasa y la glutatión reductasa, que son enzimas que ayudan en la descomposición de los radicales libres [97]. En un estudio realizado por Gul et al. [98], dosis bajas y altas de melatonina se administraron después de un trauma nervioso ciático contundente en ratas albinas macho jóvenes. Los grupos de tratamiento recibieron 30 mg/kg, 50 mg/kg y 100 mg/kg de melatonina. Cuando se administró melatonina intraperitonealmente inmediatamente después de 24 h de compresión neurtrauma espinal de médula, se observó un edema intracelular mínimo en materia blanca, infiltración de neutrófilos y desprendimiento lamelar axonal. Esto se debió a la muy fuerte propiedad lipofílica e hidrofílica de la melatonina que promueve su penetración en la membrana celular y nuclear protegiendo los componentes nucleares y los orgánulos celulares contra los radicales libres.

Baydas et al. [99] estudió los efectos neurotóxicos de los delpabellinos industriales (con tolueno como componente principal) en ratas Wistar masculinas adultas. El abuso crónico de tolueno causa daños estructurales y funcionales a los órganos [100,101,102]. Puede causar encefalopatía y puede conducir a daños irreversibles en la estructura cerebral que conducen a la disfunción neuronal. La inhalación de tolueno mejora la activación de los astrocitos y cuando hay un traumatismo en el cerebro, conduce a daño neuronal [103][103,104,105]. Un aumento en el número de astrocitos activados se caracterizó por la sobreexpresión de la proteína ácida fibrilar de la proteína ácida glial. Este aumento en el número de astrocitos se conoce como gliosis reactiva que conduce a la formación de la cicatriz glial. Baydas et al. [99] administró melatonina a ratas Wistar masculinas adultas que estaban expuestas a más delgadas en cámaras de inhalación de todo el cuerpo. Las ratas expuestas más delgadas se dividieron en dos grupos. Uno de los grupos expuestos más delgados recibió melatonina a una dosis de 10 mg/kg al día intraperitonealmente durante 45 días. Se concluyó que después del tratamiento con melatonina, los niveles de productos de peroxidación de lípidos como malondialdehído y 4-hidroxi-alcanos se redujeron y los niveles de glutatión fueron elevados en comparación con el control y el grupo expuesto más delgado sin tratamiento con melatonina que sugiere la propiedad antioxidante de la melatonina.

Nanoceria

Las nanopartículas de óxido de cerio o nanoceria han encontrado la aplicación como agente farmacológico, en la entrega de medicamentos, y andarmitas debido a sus propiedades únicas como la actividad antioxidante y la capacidad de auto-regenerar su superficie para la carroñería de ROS [106][106]. Estas propiedades únicas se deben al cambio azul exhibido por la nanoceria en el espectro de absorción ultravioleta, el cambio y la ampliación de los modos permitidos de Raman y la expansión de la celosía. Su propiedad antioxidante se debe a la presencia de dos estados de oxidación Ce^{3+} y Ce^{4+} que aumentan las vacantes de oxígeno actuando así como un catalizador para las reacciones de oxidación y reducción. Das et al. [107] sintetizó nanoceria de diámetro de 2 x 5 nm usando un proceso de microemulsión e investigó la eficacia neuroprotector en las células neuronales primarias y gliales extraídas de las médulas espinales de ratas. Las neuronas en el cultivo tratado de nanoceria exhibieron actividad eléctrica normal en comparación con el cultivo de control que demuestra la retención de la función normal. Además, las neuronas pretratadas de nanoceria presentaron una supervivencia celular significativamente más alta cuando se expuso a H_2O_2 indujo lesión oxidativa en comparación con células no tratadas. Se observó que la capacidad de desintoxicación de peróxido de las células se realizó al tratamiento con nanoceria, proporcionando protección contra el insulto isquémico, aumentando así la supervivencia neuronal. La población celular de gliales pretratada no mostró ninguna diferencia en comparación con el grupo de control.

Ácido láctico

El ácido láctico es un ácido débil formado como un subproducto de la respiración anaeróbica. Se disocia en condiciones fisiológicas en iones de hidrógeno y leones lactatos [108][108]. Tanto el ácido láctico como los iones lactatos entran en las células y penetran a través de la membrana lipídica. El ácido láctico funciona como un antioxidante mediante la recolección de especies reactivas de oxígeno como el superóxido y los radicales hidroxilo, e inhibir la peroxidación lipídica [109][109]. Lampe et al. [110] estudió la propiedad antioxidante del ácido láctico ya que se degrada cuando se expone al agua en metabolitos naturales. La oxidización del ácido láctico produce subproductos como el piruvato, que también tiene la propiedad antioxidante de peróxido de hidrógeno y radicales de superóxido de hidrólisis [111]. La actividad carroñera del ácido láctico se demostró preparando una solución que contenía ácido láctico, fotoiniciador y luminol. Esta solución se añadió entonces a los cultivos celulares de células neurales primarias obtenidas del día embrionario 14-15 (E14-E15) Sprague-Dawley rat embriónica fetal forebrain. El fotoiniciador, irgacure 2959 (1-[4-(2-hidroxietoxi)-fenil]-2-hidroxi-2-propano-1-propano-1-ol), estuvo expuesto a la luz UV de longitud de onda de 365nm para generar radicales libres. El efecto del ácido láctico sobre los radicales libres se examinó añadiendo luminol a la solución que se oxida en presencia de radicales libres y produce 3-aminofalato que es una especie emisora de luz. El número de radicales libres es proporcional a las especies emisoras de luz que fueron cuantificadas mediante luminómetro. La adición de ácido láctico en los cultivos primarios de células neuronales resultó en un menor número de radicales libres en comparación con las células cultivadas en ausencia de ácido láctico. Los autores también observaron que cuando el ácido láctico se añadía a los cultivos de células neuronales en ausencia de radicales libres, no hubo influencia en la producción de ATP en las células. La adición de ácido láctico en presencia de radicales libres aumentó el contenido de ATP de las células mejorando así la viabilidad celular. Esto se debió probablemente al efecto de la

recolección radical libre del ácido láctico. La exposición de células al ácido láctico durante 5 días aumentó el contenido total de ADN y la expresión génica nestin que indica su propiedad antioxidante.

Extracto hidroalcohólico del propolis rojo (HERP)

El propóleo se obtiene de las abejas y el propóleo rojo es su variante brasileña con diversas propiedades tales como antiinflamatorio, antioxidante, antimicrobiano y anticarcinógeno [96,112,113]. Los constituyentes del propóleo rojo incluyen isoflavonas como formononetina, pinocembrin, vestitol y biochanin A [112,113,114,115,116]. Barbosa y otros. [117] extrajo HERP usando propópolis y etanol a temperatura ambiente y estudió su composición usando espectrometría de masas de alta resolución. HERP se administró en ratas Wistar machos con una lesión nerviosa ciática izquierda para analizar sus propiedades antioxidantes. En el grupo farsante, las ratas fueron anestesiadas y el nervio ciático izquierdo quedó expuesto sin una lesión en el aplastamiento nervioso. HERP se administró por vía oral al grupo de tratamiento a dosis de 1 mg/kg y 10 mg/kg una vez al día durante 28 días consecutivos. Los dos grupos de control se administraron y se administraron con vehículo (2% / vv Tween 80 en solución salina) o la dosis más alta de HERP (10 mg/kg). La evaluación conductual se llevó a cabo en diferentes momentos y los resultados demostraron que Basso, Beattie y Bresnahan prueba, prueba de función ciática y rendimiento de la caminata de haz se mejoraron en el grupo de tratamiento de dosis de 10 mg/kg que indica el efecto neuroprotector de HERP. El examen histológico del nervio ciático concluyó que el número medio de axón aumentó, y el infiltrado inflamatorio celular disminuyó en el grupo de tratamiento administrado con 10 mg/kg de HERP en comparación con el grupo de control tratado con el vehículo. Se concluyó que los compuestos presentes en el HERP, como la formononetina y la biochanina A, eran responsables de las propiedades neuroprotectoras y antioxidantes. Las propiedades neuroprotectoras observadas y antioxidantes pueden explicarse por la capacidad de (a) formononetina para aumentar la transcripción de genes pro-neurales a través de la actividad promotora de la neurogenina-2 [118], y (b) la biochanina A para inhibir la activación microglial y la generación de factores proinflamatorios en la reducción del estrés oxidativo [119].

Minociclina

Minocycline es un antibiótico y antiinflamatorio de uso clínico [120]. Se trata de un fármaco tetraciclina semisintético de segunda generación, altamente lipofílica que puede cruzar el BBB [121] que conduce a su acumulación en células del líquido cefalorraquídeo y el SNC [120,122]. Además, es un antioxidante con una propiedad antiapoptótica. La minociclina está clínicamente disponible como clorhidrato de minociclina (MH), que es un fármaco de molécula pequeña soluble en agua que se degrada en una solución acuosa a temperatura ambiente y 37 °C en presencia de suero bovino fetal [123]. La naturaleza soluble en agua de MH y su baja eficacia cuando se coentregan como nanopartículas incorporadas en polímeros como polis (ácido co-clíclico) [124,125] y policaprolactona [126,127] dieron lugar a la liberación de fármacos que duró sólo 24 h. Obtener una liberación lenta y sostenida de MH durante un período de tiempo y mejorar la propiedad antioxidante de MH, Wang et al. [128] complejo de sulfato de dextran sintetizado (DS)-MH. El DS es un polisacárido biocompatible cargado negativamente con una alta afinidad a los iones metálicos como Ca^{2+} y Mg^{2+} . Estos iones pueden inducir la formación de un complejo insoluble de DS-MH que se sintetizó en este estudio al complementar el disolvente con $MgCl_2$. Este complejo fue encapsulado en hidrogel de agarosa inyectable para mantener la liberación sostenida y localizada de la droga en el espacio intratecal en el lugar de la lesión. La liberación in vitro de HM se evaluó cada 24 h inyectando el hidrogel de agarosa en un plato de cultivo y observando su liberación bajo la absorción UV a 245 nm. El MH liberado el día 44 se añadió a las neuronas corticales de ratas aisladas de embriones de ratas E17. A una dosis de 1 mg de hidrogel de RM/ml, se observó que la liberación del fármaco fue lenta durante 37 días. Cuando la carga de HM se aumentó a 3 mg/ml, la tasa de liberación del fármaco se aceleró durante la etapa aguda. Se realizó un estudio in vivo para evaluar los efectos neuroprotectores del hidrogel DS-MH en ratas de esprago Dawley con lesión unilateral de contusión cervical en el nivel C5. Se observó que una dosis de 1,3 mg/kg durante 21 días resultó en una disminución de la inflamación crónica, retraso en la apoptosis y una neuroprotección mejorada. La supervivencia de la neurona se multiplicó por 3 veces y se conservaron más axones mielinados en comparación con el grupo control. Minociclina apuntaba a la microglia residente en la médula espinal herida que conduce a la inhibición selectiva de la polarización de la microglia de activación clásica (M1).

Nitrones

Los nitrones son antioxidantes sintéticos, que atrapan y estrapan radicales libres mediante la formación de interacciones covalentes. Se han hecho esfuerzos considerables para preparar análogos del agente de tirantes alfa-fenil-tert-butil nitrono (PBN), que demostró ser altamente eficaz en la reducción de los daños inducidos por oxidativo en modelos in vivo de accidente cerebrovascular (ischemia/reperfusión insultos). Sin embargo, después del fracaso de PBN analógico, NXY-059 de AstraZeneca en ensayos clínicos avanzados de accidente cerebrovascular, la investigación en el dominio se volvió latente. La débil actividad radical de captura, la baja penetración de BBB y el diseño inadecuado de los ensayos fueron citados como las razones detrás del fracaso de NXY-059 en los ensayos clínicos de fase III. Recientemente, ha habido un renovado interés en desarrollar análogos de PBN como carroñeros radicales en aplicaciones neuroprotectoras (incluyendo enfermedades neurodegenerativas) [44,129,130,131]. Sin embargo, a pesar de algunos resultados prometedores en modelos de roedores in vitro e in vivo, se necesita una investigación considerable para establecer su eficacia para la traducción clínica, en particular, su biodisponibilidad en el cerebro. Este tema ha sido central en múltiples revisiones recientes y, por lo tanto, nos gustaría llamar la atención de los lectores sobre estas revisiones [130,132,133,134].

Bioingeniería se acerca a la regeneración del SNC y PNS

La regeneración y reparación del SNC y el PNS presentan muchos desafíos, ya que ambos sistemas tienen una capacidad de regeneración limitada después de traumas. La lesión del PNS causa deterioro en el flujo axoplasmático debido a la degeneración Walleriana que se produce en el extremo distal de la lesión [135,136]. La parte proximal del axón se regenera formando conexiones sinápticas con los tejidos adyacentes. Esta respuesta inmune está mediada por células Schwann y macrófagos que juegan un papel importante en la limpieza de los escombros causados por la lesión [135,137]. Las células de Schwann también secretan factores neurotróficos, citocinas, moléculas de adhesión celular y componentes de la matriz extracelular para que el proceso de regeneración ocurra [137,138,139]. La reparación después de la lesión constituye la preservación de las células sobrevivientes, la regeneración de los axones y la rehabilitación de las funciones neuronales. Se utilizaron terapia celular y andamios bioingenieros para mejorar la regeneración y reparación de las neuronas [140,141,142,143,144]. El campo de la ingeniería de tejidos neuronales se centra en mejorar el ambiente que forma un puente entre las células y el andamio biomimético con el fin de reparar y restablecer la función del tejido neuronal. Se utilizaron andamios tridimensionales y otros materiales similares a los [149](#) andamios para proporcionar soporte físico para la regeneración nerviosa [145,146,147,148,149,150,151]. Dado el papel activo de ROS en neurotrauma y en enfermedades neurodegenerativas, se han desarrollado diferentes estrategias de bioingeniería para ofrecer antioxidantes para neutralizar modelos in vitro e in vivo. Los enfoques comunes de bioingeniería incluyen andamios biológicos bidimensionales para promover el ambiente de crecimiento celular y al mismo tiempo entregar antioxidantes para mitigar los ROS. En esta sección se discuten diferentes enfoques de bioingeniería desarrollados hasta la fecha.

Antioxidantes derivados de fuentes naturales

Chitosan (CS) es un biomaterial natural que ha sido ampliamente utilizado para la reparación del nervio. Se obtiene de la deacetilación de la quitina que es un polisacárido natural derivado de exoesqueletos de crustáceos [152,153]. Es biocompatible, apoya la regeneración de axón, reduce la formación de cicatrices y tiene propiedades antiinflamatorias y antioxidantes. Sus productos de degradación también son conocidos por afectar positivamente el proceso de regeneración de los nervios [154]. Boido y otros. [155] Utilizado hidrogeles a base de quitosano como portadores celulares para células madre mesenquimales (MSC) para el tratamiento de SCI. El hidrogel a base de quitosano se sintetizó añadiendo el hidrato de sal disódica de glucófosfodoso (-GP) a la solución quitosana-HCl. La adición de .GP redujo el tiempo de gelación hasta 5 min y aumentó los valores de pH del hidrogel hasta 7.11 x 0,03. El análisis in vitro se llevó a cabo utilizando MSCs obtenidos de ratones BCF1 que expresan una proteína fluorescente verde mejorada (EGFP) bajo promotor de la promolinación de actina. La línea celular SH-SY5Y neuroblastoma se disparó dentro o cerca de una gota de 100 L del hidrogel, mientras que las MS transfectadas de proteína fluorescente verde mejorada se cultivaron dentro de una gota de 100 L de hidrogel de quitosán/oGP para evaluar la viabilidad celular. Se observó que las células SH-SY5Y eran viables a los 7 días in vitro y también se sometieron a mitosis que indicaba que el hidrogel era citocompatible con las células. La proteína fluorescente verde mejorada transfectó MSCs mostró morfología similar a fibroblasta dentro del hidrogel que indica una buena biocompatibilidad hidrogel. Las células SH-SY5Y también fueron cultivadas bajo estrés oxidativo y el ensayo de diclorodihidrofluoresceína diacetato se utilizó para medir el nivel de estrés. Se observó que el hidrogel quitosano/o-GP junto con las MSCs mostró una reducción del estrés oxidativo celular. El estudio in vivo se llevó a cabo en ratones C57BL/6J con lesión completa

de la médula espinal. El sitio de la lesión se inyectó con MSCs de proteína fluorescente verde mejorada incrustada en el hidrogel quitosano/o-GP. Después de 1 semana, el sitio de la lesión mostró la presencia de MSCs tanto dentro como alrededor de la lesión reduciendo el volumen de la lesión y mejorando la recuperación funcional. El quitosano también fue cargado con nanopartículas de óxido de cerio para ser utilizada en el tratamiento de SCI por Fang et al. [156]. Se sabe que las nanopartículas inorgánicas, como el óxido de cerio cuando se cargan en biopolímeros naturales, tienen propiedades autocatalíticas, biocompatibilidad, antioxidantes y antiinflamatorias [106,157,158]. Las nanopartículas de óxido de cerio protegen contra el daño celular causado por los radicales libres debido a la presencia de electrones blindados 4f [159]. Cuando se utiliza en combinación con CS, se reduce la toxicidad de las nanopartículas y se aumenta su solubilidad. Fang et al. [156] células aisladas de la médula espinal de ratas adultas e cultivadas in vitro, en presencia de nanopartículas de óxido de cerio llenas de CS. Se observó un aumento de la viabilidad celular y disminución de la muerte celular debido a la presencia de los estados de valencia de Ce^{3+} y Ce^{4+} , lo que dio lugar a la propiedad de nanopartículas de cerio radicales que reducen así el estrés oxidativo. Azizi et al. [160] también informó del uso de CS, vitamina E y quinona de piroloquinolina (PQQ) para tratar lesiones nerviosas periféricas en ratas Wistar blancas masculinas. El nervio ciático izquierdo se transeccionó en estas ratas dejando un hueco de 10 mm. El grupo de control fue implantado con un conducto CS. Los grupos de tratamiento consistieron en ratas implantadas con conducto CS relleno de 20 L de vitamina E, 20 L PQQQ y una combinación de 10 oC. de vitamina E 10 L PQQQ. El análisis se realizó a las cuatro, 8 y 12 semanas después de la implantación. Se observó que la recuperación de la función nerviosa ciática en el grupo de tratamiento tenía un mejor valor medio que el grupo control. La recuperación funcional fue mayor en conducciones con vitamina E y PQQ. El grupo de tratamiento con vitamina E y PQQ también mostró una mayor velocidad de conducción de nervio regenerado, masa muscular gastrocnemius, fibras nerviosas, diámetro de axón y grosor de vaina de mielina en comparación con el grupo de control, así como el grupo de tratamiento que consiste sólo en vitamina E y PQQ. Los autores observaron que el SC tiene la capacidad de adherirse y proliferar en CS, estimulando así la reparación de tejidos y la angiogénesis. También se observó que la vitamina E, que es antioxidante lipófila, protege las células contra la peroxidación lipídica y la mejora de la función nerviosa que se vio afectada debido al estrés oxidativo. PQQ oxidó el sitio modulador redox de los receptores N de metil D-aspartato que induce la lesión celular por vías polisinápticas. PQQ también aumentó la síntesis del factor de crecimiento del nervio para acelerar la regeneración nerviosa. Se concluyó que la combinación de vitamina E y PQQ resultó en un efecto sinérgico en la regeneración nerviosa. Singh y otros. [37] informó del uso de un conducto de poliuretano (PUAO) lleno de relleno de criogel criogel CS-gelatin (CG). PUAO es un elastómero biodegradable formado por la combinación de policaprolactona y poli (glicol de etileno). Es un material flexible y biocompatible con propiedades antioxidantes [161,162]. Era electrospun para fabricar un conducto de guía de nervios hueco (NGC). CG criogel se llenó unidireccionalmente en el conducto hueco. CG cryogel se sintetizó mediante tecnología de criogelación modificada que permitió que el disolvente se congelara en una dirección que conducía a la formación de poros en una sola dirección con tamaño óptimo para la regeneración axonal. Cryogel estaba enlazado cruzado usando glutaraldehído. La prueba de biocompatibilidad in vitro para las fibras de electrospun PUAO y NGC se llevó a cabo utilizando células neuro 2a (línea celular derivada de cresta neural de ratón) que mostraron una mayor proliferación de estas células en el conducto durante un período de 7 días sin citotoxicidad. Además de evaluar la eficiencia del conducto, las células madre de médula ósea de rata se aislaron in vitro y se cultivaron sobre el conducto. La adherencia celular y la tasa de proliferación era máxima al final de 10 días. Se observó que el conducto podría servir como matriz adecuada para el trasplante de células madre para la regeneración nerviosa in vivo y los autores concluyeron que debido a la presencia de PUAO y CS en un solo conducto, se mejoró la proliferación celular y mostró potencial para ser utilizado en la regeneración del nervio periférico. Moattari y otros. [163] informó del uso de curcumina y membrana de quitosano para lesiones nerviosas periféricas. La curcumina se obtiene de una planta llamada *Curcuma* que se sabe que tiene propiedades antiinflamatorias y antioxidantes. También se informó de que la curcumina mejoraría la recuperación funcional del motor y promover la regeneración nerviosa. La membrana de quitosano se preparó como películas delgadas y se cortaron parches de 1 x 1 cm. Estos parches fueron implantados en ratas Wistar adultas masculinas con el nervio ciático transecado. Los grupos de tratamiento consistieron en la administración intraperitoneal de 100 mg/kg/camin diaria durante 4 semanas, parches de quitosanos implantados y combinación de parche quitosano con administración intraperitoneal de 100 mg/kg/día de curcumina durante 4 semanas. Se observó que el índice funcional cático y la reflexión de la retirada se mejoraron en los animales con el tratamiento combinado durante un período de 8 semanas después de la cirugía. El examen histológico del nervio ciático también concluyó que el aumento en el número de fibras nerviosas mielinadas, el tamaño de la fibra nerviosa y el grosor de la mielina en comparación con el tratamiento con sólo curcumina o parche de quitosano. Se concluyó que el estrés oxidativo seguido de lesión nerviosa se redujo por la administración de la curcumina que llevó a

la inhibición de la apoptosis y a la reducción de la pérdida de neuronas. El quitosano mejora la producción de factor de crecimiento b1, factor de crecimiento derivado de plaquetas y macrófagos simulantes de interleucina 1. Estos macrófagos regulan las citocinas pro-inflamatorias y citocinas antiinflamatorias de reciente regulación, evitando así la formación de cicatrices y proporcionaron un microambiente adecuado para la regeneración de axón.

Otro biomaterial natural, la lignina también fue explorado por los investigadores para su propiedad antioxidante [164,165,166,167,168]. Es un tipo de polímero orgánico presente en los tejidos de la mayoría de las plantas. Desempeñan un papel importante en la formación de las paredes celulares, especialmente en madera y corteza [169,170,171]. Llena los espacios en la pared celular entre la celulosa y la pectina. En un estudio realizado por Amini et al. [172], las nanopartículas de lignina se incorporaron en nanofibras electrospun PCL para su aplicación en la ingeniería de tejidos nerviosos. Las nanofibras PCL-lignin se fabricaron con concentración de 0, 5, 10 y 15% de lignina, y las células PC12 y las células madre adiposadas humanas fueron cultivadas in vitro sobre el andamio. Se observó que con el aumento de la concentración de lignina, la viabilidad celular de ambas líneas celulares aumentó en comparación con las muestras de control. También se observó que la concentración de lignina del 10% promovía la viabilidad celular y el 15% de concentración de lignina disminuía la viabilidad celular. Las células también mostraron un crecimiento de neurona gradualmente con el aumento de la concentración de lignina. El conducto hueco PCL-lignin se preparó rodándolo alrededor del alambre de acero de las dimensiones deseadas. Este conducto fue implantado en ratas Wistar masculinas adultas con un defecto del nervio ciático izquierdo de 10 mm de longitud. A las 6 semanas después de la implantación, no hubo diferencia en el índice funcional ciático y el índice funcional motor en el autoinjerto y el conducto nervioso con un grupo de 15% lignina. Se observó un aumento del área de fibra de colágeno, disminución del diámetro de la fibra muscular y menor peso muscular en los grupos de conductos con una concentración de lignina de 10 y 15% que indica un efecto positivo de lignina. La presencia de S100, III-tubulina y marcadores Map-2 en la tinción inmunohistoquímica del conducto indica el efecto positivo de la lignina en las células Schwann. Los autores concluyeron que el efecto positivo de la lignina se debió a la presencia de grupos funcionales metoxilos e hidroxilos que inhibe la reacción oxidativa mediante la donación de hidrógeno. Las nanofibras PCL/lignin también fueron estudiadas por Wang et al. [173] Las células de Schwann se sembraron en las nanofibras electrospunidas y se expusieron al insulto oxidativo H_2O_2 durante 20 min, lo que aumenta los niveles intracelulares de ROS que conducen al estrés oxidativo. Se observó mayor viabilidad y proliferación celular, aumento de la densidad celular y forma de husillo con extensión bipolar en el grupo de nanofibra PCL/lignina que el grupo de PCL puro en el día 1 y día 3 sugiriendo que la lignina ejerció un efecto protector contra la toxicidad de H_2O_2 al proporcionar grupos funcionales hidroxilos y metoxilos al hidrógeno para poner fin a la reacción de propagación de la oxidación e inhibir la muerte celular causada por el estrés oxidativo. Las neuronas DRG también fueron aisladas del embrión de ratas embarazadas de 14 días y sembraron en las nanofibras para observar el crecimiento de la neurita. La longitud media de la neurita en el grupo de PCL fue de 46,75 y 15,63 y 108,83 de 21,45 .m en el grupo de nanofibra PCL/lignin que indica que la lignina mejoró la biocompatibilidad y las propiedades antioxidantes de las nanofibras que promovían la adhesión neuronal, la proliferación y el crecimiento.

Samadian y otros. [174] utilizó dos biomateriales naturales, a saber, colágeno y naringina para preparar el hidrogel para ser utilizado como andamio para la regeneración del nervio ciático. Los estudios in vitro se realizaron colocando hidrogel en una placa de 96 pozos y semillas con SC que resultaron en la proliferación de células y aumento de la citocompatibilidad. El hidrogel se inyectó en el sitio de lesión nerviosa ciática izquierda de ratas Wistar masculinas adultas que resultaron en una alta eficacia de la cicatrización, mejoría la sensibilidad al dolor térmico y una pérdida de peso húmedo muscular gastrocnemio. En el examen histológico de las fibras musculares, se observó que las fibras de colágeno y algún grado de desorganización estaban presentes en grupos inyectados con colágeno solamente, mientras que los grupos inyectados con hidrogel de colágeno/naringina exhibió la fibrosis más baja, menos contracción muscular y mejor curación del músculo gastrocnemio. Se observó que la incorporación de la naringina mejoró eficientemente el proceso de curación del nervio herido. La naringina es un extracto de glucósido obtenido de frutas como pomelo, tomate y cítricos que tiene propiedades antiinflamatorias, anti-apoptóticas, antiosteoporóticas, anticarcinógenas y neuroprotectivas. Los autores concluyeron que el efecto neuroprotector de la naringina se debe a su capacidad para inhibir la apoptosis neural y realzar la expresión de factores de crecimiento endotelial vascular y factores neurotróficos derivados del cerebro.

La melanina, un pigmento de origen biológico conocido por su propiedad antioxidante, propiedad eléctrica y fotoconductividad [175,176,177,178,179,180,181,182] fue incorporada en fibroína de

seda para fabricar nanofibras electrospun por Nune et al. [183]. Las nanofibras con fibras alineadas y aleatorias se sintetizaron y cortaron en pequeñas dimensiones para colocarlas en una placa de 96 pozos. El cultivo celular in vitro se realizó utilizando células SH-SY5Y y se observó que la viabilidad, la adherencia y la proliferación celular aumentaron gradualmente a lo largo de 7 días tanto en nanofibras alineadas como aleatorias. También se observó que la actividad de la cría radical era mayor en los anddillos nanofibrosos de seda/melanina en comparación con los anddillos de fibroína de seda, que confirmaban el papel positivo de la melanina en la reducción del estrés oxidativo.

La melatonina, potente antioxidante como se mencionó anteriormente, promueve la expresión de enzimas antioxidantes como superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa, glutatión reductasa y catalasa [39184,184,185], fue estudiada por Qian et al. [186]. El conducto de guía nerviosa usando melatonina (MLT) y PCL fue sintetizado rociando PCL y MLT en un molde tubular. Se realizaron estudios de cultivo celular en el conducto utilizando células Schwann de rata. Las células fueron sometidas a insultos oxidativos usando H_2O_2 . Se observó que la proliferación celular aumentaba, y las células exhibían protuberancias en el conducto MLT/PCL que en el conducto de PCL. También se señaló que hubo un aumento significativo en la expresión de marcadores de estrés antioxidantes como superóxido dismutasa de manganeso, catalítica de la ligasa cisteína glutamato, y heme oxygenasa-1 en el conducto MLT/PCL que en el PCL. Se realizaron estudios in vivo en ratas macho Sprague Dawley con un defecto del nervio ciático derecho de 15 mm de largo. El conducto fue suturado hasta los dos extremos del nervio. Se observó que el índice funcional ciático, la velocidad de conducción nerviosa, el área de axón regenerada, número de axones mielinados, el diámetro de axón minizado promedio y el grosor de la vaina de micel se incrementaron en conducto MLT/PCL en comparación con los autoinjertos a las 6 y 12 semanas postoperatoria. La expresión de la ligasa de superóxido de manganeso y la expresión de la ligasa de glutamato se incrementó en conductos MLT/PCL que los grupos de autoinjertos y PCL a las 12 semanas postoperatoria sugiriendo que la reducción del estrés oxidativo se debió a la presencia de melatonina.

Salles y otros. [187] sintetizó un compuesto biodegradable que consiste en un compuesto antioxidante y sales minerales. El compuesto antioxidante consistía en "caroteno", tocoferol, complejo de vitamina B, sales de selenio, sales de zinc, sales de magnesio, sales de fosforado, ácido glutámico, lecitina de soja, colábido hidrolizado, sulfato de glucosaminoglián y sulfato de condroitina. La consistencia final del compuesto fue similar a la resina epoxi que facilitaba la aplicación local. El estudio in vivo se realizó en ratas Wistar con lesión nerviosa ciática derecha. Los segmentos lesionados fueron aproximados y suturados y el compuesto antioxidante fue colocado en el lugar de la lesión. Se observó macroscópicamente que 30 días después de la aplicación del compuesto, estaba presente la integridad de la hebra nerviosa y la neoformación nerviosa bajo el alambre de sutura. También se observó que existía la ausencia de degeneración nerviosa, la formación de tejidos conectivos y tejido fibrótico bajo el alambre de sutura en comparación con el grupo de control que consistía en la aproximación de sutura sin la aplicación del compuesto antioxidante. Se concluyó que el compuesto antioxidante redujo el estrés oxidativo que se produjo durante la lesión y promovió la regeneración nerviosa.

Antioxidantes obetos obtenidos sintéticamente

Una nueva generación de biomateriales sintéticos se está desarrollando y ampliamente utilizando, ya que su composición, propiedades y forma pueden ser controladas y por lo tanto pueden ser fácilmente reproducibles. Nanocería como se mencionó anteriormente en la revisión tiene propiedades antioxidantes que se combinaron con gelatina para preparar nanocompuestos para sintetizar un conducto nervioso de Marino et al. [188]. Gelatin-nanocería nanofgrous se fabricó usando el método electrospinning para obtener fibras orientadas aleatorias y alineadas. Los anddados fueron cortados en pedazos sobre los que se cultivaron in vitro las células SH-SY5Y. Los ROS producidos por las células se midieron utilizando 20, 70-diclorofluoresceína diacetato en Dulbecco-s medio modificado de águila modificada durante 30 min a 37 oC en presencia y ausencia de los andalocianes. Se observó que los niveles de ROS en las células sembradas en las fibras de gelatina/nanocería eran menores que las células sembradas en fibras de gelatina simples que indicaban la actividad carroñeña de la nanocería. El examen histológico de las células sembradas en las fibras alineadas de gelatina/nanocería mostró la presencia de una forma nuclear alargada en la dirección de las fibras y también un mayor crecimiento celular, adhesión y proliferación. Nanocería también fue estudiada por Qian et al. [189] mediante la fabricación de PCL/collagen/nanocería (PCL/COL/NC) conducto de nervios por capa de fabricación 3D. Se utilizó un molde de tubo de rodadura en el que se rociaron tres capas. La capa interna consiste en NC/PCL, la capa media consistía en sólo PCL y la capa más externa consistía en sólo colágeno. El cultivo celular in vitro en el conducto nervioso se realizó utilizando células Schwann de rata. Se observó que la expresión de los marcadores S100, III-

tubulin (Tuj1), la proteína básica de mielina y los marcadores de proteína ácida fibrilar glial (GFAP) eran más altas, células exhibían protuberancias, mejorada adhesión celular y el alargamiento en células tratadas PCL/COL/NC que en el conducto PCL. Las células Schwann de rata cultivadas en el conducto PCL/COL/NC fueron sometidas a insultos oxidantes H_2O_2 y se observó que los marcadores antioxidantes como la superóxido dismutasa dependiente del manganeso, la ligasa de césbica de glutamato-cisteína se aumentaron en comparación con el conducto PCL. Se informó que esto se debe a la presencia de nanocería que escurre intracelular ROS y reduce el daño del ADN. El conducto nervioso PCL/COL/NC fue implantado en ratas Sprague Dawley macho con defectos nerviosos ciáticos largos de 15 mm y su rendimiento fue evaluado a 6-, 12 y 18 semanas después de la cirugía. Se observó que el índice de función ciática era alto, mejoría la cicatrización de heridas, alto peso gastrocemius, y ausencia de úlceras a las 12 y 18 semanas después de la cirugía en comparación con las autoinjertas. El conducto nervioso mostró una mayor expresión de factores nucleares similar a 2 (Nrf2), heme-oxigenasa-1 (HMOX1), factor de necrosis tumoral (TNF) e interleucina 6 (IL6) en comparación con autoinjertos y conductos de PCL. Se concluyó que el conducto PCL/COL/NC reduce significativamente el estrés oxidativo y la inflamación después de un trauma del nervio periférico.

Otro biomaterial sintético que fue diseñado por Wang et al. [190] era un gel de bajo costo que consistía en ácido tánico y F-127 plúrmico (gel T/PF). El gel preparado se colocó in vivo en dos modelos animales diferentes. El primer modelo fue el modelo de lesión de dura duración del conejo en el que se realizó craneotomía para exponer la dura cerebral y fue suturada, la fascia implantada y sellada con el gel TA/PF. En el segundo modelo, se utilizó un ratón con una médula espinal torácica expuesta que fue suturado y sellado con gel TA/PF. Se observó que en ambos modelos no se detectaron fuga de líquido cefalorraquídeo en comparación con el grupo de control suturado. En el examen histológico de la dura, dos meses después del tratamiento, la conexión de tejido fibroso estuvo presente entre la dura y la fascia implantada en el grupo de gel TA/PF en comparación con el grupo de control suturado. Para evaluar el efecto antioxidante del gel, se realizó un ensayo de detección de ROS. El aumento de los niveles de malondialdehído y la disminución de los niveles de Superóxido dismutasa indicaron un aumento de la producción de ROS en el sitio de lesiones que se invirtió en 7 días desde la implantación del gel. El gel también redujo la apoptosis de las células neuronales locales y la inflamación regulada al inhibir la activación microglial y la infiltración de células inmunes en comparación con el grupo control. También se observó que se formó una barrera cicatricial compacta a lo largo del borde de la lesión para contener la propagación de la inflamación y mantener la viabilidad de las neuronas y promover la recuperación funcional neurológica.

Qi et al. [191] película sintetizada que constituye óxido de grafeno (GO) y L-teanina (TH) con poli(ácido còglicòlico) (PLGA). Para evaluar las propiedades de cada componente, se cultivaron células madre neuronales en las películas de vidrio, PLGA, PLGA/GO y PLGA/GO/TH. Después del tratamiento con H_2O_2 , se observó que hubo una tasa de supervivencia significativamente mayor de células en el grupo PLGA/GO/TH que en otros grupos. La proliferación y diferenciación celulares fueron más altas en el grupo PLGA/GO/TH en comparación con otros grupos a los 7 días. Se concluyó que la TH aumentó la expresión de la proteína anti-apoptotic Bcl-2 y disminuyó el nivel de caspasa-3 por inhibición de la cinasa de la partida extracelular (ERK) y las vías c-Jun N-terminal Kinase (JNK) que inhibieron la producción de especies reactivas de oxígeno.