

IMPORTANCIA DE LAS ESPECIES REACTIVAS AL OXIGENO (RADICALES LIBRES) Y LOS ANTIOXIDANTES EN CLINICA.

THE IMPORTANCE OF REACTIVE OXYGEN SPECIES (FREE RADICALS) AND ANTIOXIDANTS IN CLINIC

OXIGENO ESPEZIE ERREAKTIBOEK (ERRADIKAL LIBREAK) ETA ANTIOXIDATZAILEEK KLINIKAN DUTEN GARRANTZIA

A. San-Miguel, F.J. Martin-Gil.

Servicio de Análisis Clínicos. Hospital Universitario Río Hortega. Valladolid. Castilla y León. España UE.

RESUMEN

Las reacciones de óxido reducción tienen una amplia distribución en la naturaleza, y las células de nuestro organismo no están ajenas a estos procesos; muy por el contrario la transformación de los alimentos en sustratos más simples, de los cuales es posible obtener energía, involucra reacciones químicas de óxido reducción. Durante el proceso de respiración celular se consume oxígeno, y se genera ATP (adenosin trifosfato), quedando como productos dióxido de carbono y agua. Sin embargo, durante esta normal transformación se producen también otras moléculas residuales, las especies reactivas del oxígeno o radicales libres.

Los radicales libres (RL) son átomos o moléculas inestables, altamente reactivas que atacan los enlaces de proteínas de los tejidos, los fosfolípidos poliinsaturados de las membranas celulares, carbohidratos, y los ácidos nucleicos de las células. Al actuar, se activa una reacción en cadena que podría incluso llevar a la muerte de la célula. La producción de radicales libre es un fenómeno natural, dinámico y continuo, el daño que estos compuestos puedan provocar depende de un delicado equilibrio con los sistemas antioxidantes que protegen a las células de nuestro organismo. Los mecanismos de defensa para neutralizar a los radicales libres son múltiples y variados y pueden dividirse en dos grupos.

El estrés oxidativo se produce al romperse el equilibrio entre la producción de especies reactivas del oxígeno y los mecanismos de defensa antioxidante, lo que lleva a una variedad de cambios fisiológicos y bioquímicos que provocan el deterioro y muerte celular. Este tipo de daño puede ser medido mediante métodos directos e indirectos.

Palabras clave: Estrés oxidativo, especies reactivas al oxígeno, antioxidantes.

Correspondencia:
Dr. A. San-Miguel
Servicio de Análisis Clínicos.
Hospital Universitario Río Hortega.
Rondilla de Santa Teresa 9.
47001. Valladolid. Castilla y León. España UE.
Correo electrónico: asanmiguel@hurh.sacyl.es

SUMMARY

Oxide reduction reactions are well spread out in nature, and the cells of our organism are not so far away from these processes; on the contrary, the transformation of foods into more single strata, from which it is possible to obtain energy, involves chemical oxide reduction reactions. Oxygen is consumed during the cellular respiration process and ATP (adenosine triphosphate) is generated, ending up as carbon dioxide and water products. However, other residual molecules, reactive oxygen species or free radicals are also produced in the course of this normal transformation. Free radicals (FR) are unstable atoms or molecules which are highly reactive and attack the links maintained by proteins with tissues, polyunsaturated phospholipids of cellular membranes, carbohydrates and nucleic acids in cells. When they act, a chain reaction is triggered off that can even lead to the death of the cell. The production of free radicals is a natural, dynamic and continuous phenomenon; the damage these compounds can cause depends on a delicate balance with the antioxidant systems that protects the cells of our organism. There are many different defence mechanisms available for neutralising free radicals, and these can be divided into two groups. Oxidative stress occurs when the balance between the production of reactive oxygen species and antioxidant defence mechanisms is broken, which leads to a variety of physiological and biochemical changes that in turn cause damage and cellular death. This type of damage can be measured using both direct and indirect methods.

Key words: oxidative stress, reactive oxygen species, antioxidants.

LABURPENA

Erredukziozko oxido erreakzioak naturan oso barreiatuta daude, eta gure organismoko zelulek ere ezin diete ihes egin prozesu horiei. Bestalde, elikagaiak substratu sinpleagoetan eraldatzeak (horietatik energia eskuratzeko) erredukziozko oxido erreakzio kimikoak eragiten ditu. Arnasketa zelularra prozesuan, oxigenoa kontsumitu eta ATP (adenosin trifosfatoa) sortzen da; beraz, karbono dioxidoa eta ura geratzen zaizkigu produktu moduan. Alabaina, eraldaketa arrunt honetan, bestelako hondakin molekula batzuk ere sortzen dira: oxigeno espezie erreaktiboak edo erradikal libreak, alegia. Erradikal Libreak (EL) atomo edo molekula ezegonkorak dira, oso-oso erreaktiboak, eta ehunen proteina loturei, zelula mintzen fosfolipido poliinsaturatuei, karbohidratoei eta zelulen azido nukleikoei erasotzen diete. Lanean hastean, kate erreakzioa aktibatzen da, eta zelula hiltzera ere irits liteke. Erradikal libreen produkzioa gertakari natural, dinamiko eta etengabekoa da; konposatu horiek eragin dezaketen kaltea, ordea, gure organismoko zelulak babesten dituzten antioxidatzaile sistemekiko oreka zail baten araberakoa izango da. Ezin konta ahala defentsa modu daude erradikal libreak neutralizatzeko; askotarikoak dira gainera, eta bi multzotan bana daitezke. Oxidazio estresa, hain zuzen, oxigeno espezie erreaktiboen produkzioaren eta defentsa modu antioxidatzaileen arteko oreka hausten denean gertatzen da. Horrek aldaketa fisiologiko eta biokimiko ugari dakartza, eta ondorioz, zelula hondatzea eta baita hiltzea ere gerta liteke. Era honetako kalteak metodo zuzen eta zeharkakoekin neur daitezke.

Hitz gakoak: oxidazio estresa, oxigeno espezie erreaktiboak, antioxidatzaileak.

INTRODUCCION

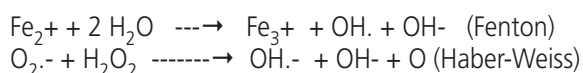
El oxígeno está asociado a las condiciones de vida aerobia y representa la fuerza motriz para el mantenimiento del metabolismo y viabilidad celular, al mismo tiempo que entraña un peligro potencial debido a las especiales características paramagnéticas de este gas, responsable de la formación de intermediarios parcialmente reducidos y dotados de una alta reactividad, conocidos como especies reactivas al oxígeno (ROS).

Entre las especies oxigénicas reactivas cabe destacar los radicales libres como el ion superóxido (O_2^-), radical hidroxilo ($\cdot OH$), alcoxilo ($ROO\cdot$) y óxido de nitrógeno. Un segundo grupo de ROS lo constituyen los no radicales como el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), oxígeno singlete (1O_2) y peroxinitrito ($ONOO^-$). Estos compuestos por sí no son reactivos pero en presencia de metales de transición como el Fe o Cu u otros ROS generan RL.

Los radicales libres (RL) son especies químicas que contienen en su estructura uno o más electrones desapareados, lo que los convierte en compuestos altamente inestables y de gran actividad asociada a la necesidad de ceder o tomar un electrón de una estructura molecular adyacente con la finalidad de estabilizarse (1).

La toxicidad de cada radical o especie oxigénica reactiva viene determinada, desde el punto de vista químico, por cuatro características básicas, como son reactividad, especificidad, selectividad y difusibilidad. Los tres componentes con mayor capacidad de difusión son: $O_2^- < H_2O_2 < OH\cdot$. Capaces de reaccionar con moléculas que se encuentran alejadas del lugar de origen incluso con capacidad de atravesar membranas celulares.

- El radical superóxido, carece de reactividad suficiente para atacar directamente a las macromoléculas aunque puede actuar como oxidante débil o como agente reductor.
- El peróxido de hidrógeno (H_2O_2), no es un radical libre pero si se le considera el principal intermediario en el metabolismo de las especies reactivas del oxígeno. En presencia de trazas de catalizadores metálicos como el hierro, el cobre o de otros RL puede dar lugar a la formación de $\cdot OH$. A través de las reacciones de Fenton o Haber-Weiss (2).



- El radical hidroxilo ($\cdot OH$) es una de las especies oxigénicas más reactivas presentes en el organismo. De vida extremadamente corta y alta reactividad, su electrón desapareado puede reaccionar inespecíficamente con casi cualquier tipo de molécula, DNA, proteínas, enzimas. Además es el responsable de la propagación del daño oxidativo entre fracciones subcelulares, ya que

puede atravesar membranas celulares y producir reacciones en cadena.

Diferentes procesos bioquímicos pueden generar estas ROS. Pueden originarse endógenamente dentro de las células como intermediarios metabólicos o exógenamente.

Procesos Endógenos. Endógenamente los RL se pueden generar a través de la cadena de transporte de electrones mitocondrial o por las células fagocitarias (neutrófilos, monolitos o macrófagos), que utilizan el sistema de la NADPH oxidada generando directamente O_2^- . Por otra parte, también generan óxido nítrico (NO), que con O_2^- dan lugar a la formación del $ONOO^-$ capaz de inducir peroxidación lipídica de las lipoproteínas. La autooxidación de compuestos de carbono reducido como los aminoácidos, proteínas, lípidos, glúcidos y ácidos nucleicos, da lugar también a la formación de estos compuestos. Otra vía de generación de RL endógena, es a través de la activación catalítica de diversas enzimas del metabolismo intermediario celular, como la hipoxantina y xantina oxidasa, aldehído oxidasa, monoaminooxidasa, ciclooxygenasa, lipoxigenasa, originan también RL.

Los agentes exógenos, también pueden contribuir a un incremento de los RL. Por ejemplo, el humo del tabaco, radiación electromagnética, luz solar, ozono, xenobioticos que producen RL durante su detoxificación por el citocromo p450, agentes contaminantes, aditivos, etc (3).

ANTIOXIDANTES

La contribución de los antioxidantes presentes en los alimentos juega un papel muy importante en la defensa frente al estrés oxidativo, implicado en distintos procesos fisiológicos y fisiopatológicos. Sin embargo, durante el procesamiento de los alimentos y con la finalidad de mejorar sus características sensoriales en función de las demandas de los consumidores, se puede inducir cambios que afecten a la capacidad antioxidante de los mismos y por lo tanto a su potencial efecto beneficioso para la salud.

Debido a la potencial toxicidad de las ROS los organismos aeróbicos han desarrollado numerosos mecanismos de defensa son los denominados genéricamente antioxidantes que permiten la eliminación o transformación de los RL en moléculas estables (4). El mantenimiento de la homeostasis redox del tejido solo es posible mediante un equilibrio entre la intensidad de generación y la intensidad de eliminación de RL.

Se ha definido el término antioxidante como "cualquier sustancia que estando presente a bajas concentraciones, en relación a las del sustrato oxidable, retrasa considerablemente o inhibe la oxidación de dicho sustrato". Así, un buen antioxidante se caracteriza por su alta efectividad, versatilidad y variabilidad operativa para poder combinarse con una importante variedad de RL. Estos sistemas

antioxidantes se encuentran prácticamente en la totalidad de las células aeróbicas, en mayor o menor cantidad, y su finalidad es disminuir al máximo la producción de especies reactivas. La inducción adecuada de estos mecanismos defensivos ha permitido el crecimiento y desarrollo de las distintas especies en un medio aeróbico (5).

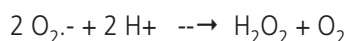
Antioxidantes preventivos

Previenen la formación de RL y su finalidad o estrategia corre a cargo de mecanismos de tipo enzimático, capaces de metabolizar las especies reactivas oxigénicas a estructuras más estables, o de tipo no enzimático como agentes quelantes capaces de secuestrar metales que participen en la formación de RL.

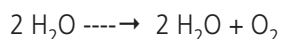
1.- Enzimáticos

Constituyen la primera defensa de las células frente a la agresión por RL y radica principalmente en la acción conjunta de tres enzimas, superóxido dismutasa, catalasa y glutatión peroxidasa.

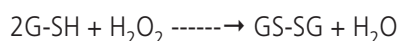
- Superóxido dismutasa (SOD). Fue la primera enzima metabolizante de ROS descubierta (6). En las células se encuentra como una familia de metaloenzimas de muy alta eficiencia catalítica que eliminan el $O_2^{\cdot-}$. Cataliza una reacción de dismutación donde una molécula de $O_2^{\cdot-}$ se oxida hasta O_2 molecular, mientras que la otra se reduce a H_2O_2 .



- Catalasa: Cataliza la reducción del H_2O_2 a H_2O , se encuentra difundida en todos los órganos especialmente en el hígado y en eritrocitos, localizada principalmente en los peroxisomas. Es una hemoproteína tetramérica en la que el átomo de hierro realiza el intercambio redox, con una alta eficacia catalítica.



- Glutatión peroxidasa (GPX): Cataliza la reducción de una gran variedad de peróxidos (incluido el H_2O_2) con ayuda de un sustrato aceptor de hidrógeno, en este caso el glutatión reducido GSH, que actúa como reductor y que posteriormente es regenerado por la glutatión reductasa. Posee un grupo prostético de selenio-cisteína y una alta afinidad por sus sustratos aunque su actividad molecular es muy inferior a la de la catalasa. Se distribuye en el citosol y en las mitocondrias; su actividad está modulada principalmente por la relación GSH/GSSG que responde al "estado redox" celular (7).



La eficacia de esta triada enzimática (**Figura 1**) reside en una triple acción defensiva al disminuir la producción de

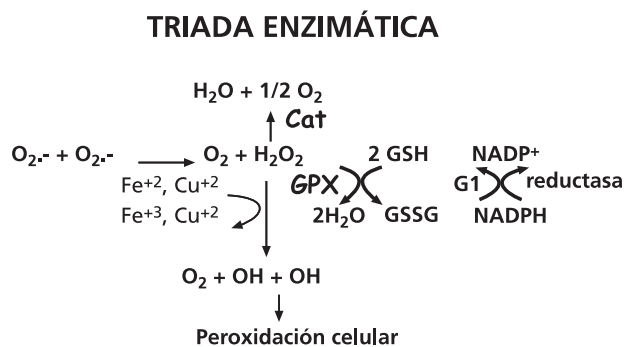


Figura 1.- Mecanismo de acción de las enzimas superóxido dismutasa (SOD), catalasa (Cat) y de la glutatión peroxidasa (GPX).

estas especies oxigénicas e impedir la interacción de estas entre sí o con metales de transición para dar lugar a especies de mayor reactividad. Sus concentraciones están sujetas a regulación génica, de forma que aumentan rápidamente a factores de transcripción que detectan cambios a nivel de estrés oxidativo (8). La acción de estas tres enzimas es vital para el funcionamiento normal de la célula y para el estatus antioxidante de los mamíferos. Aquello que interfiere con el balance de estas tres enzimas trabajando cooperativamente, resulta en un equilibrio prooxidante/antioxidante que favorece la producción de ROS y el daño celular. El mantenimiento de estas actividades enzimáticas será por lo tanto imprescindible para el desarrollo de los organismos y su lucha contra el estrés oxidativo.

En la tabla aparece recogida esquemáticamente los antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos.

1.1. Quelantes de metales

La ceruloplasmina y la ferritina representan un papel importante como antioxidantes in vivo al unir metales de transición y evitar autooxidaciones y reacciones que conllevan a la formación de radicales hidroxilo. La ceruloplasmina transporta y almacena Cu, posee actividad ferrosidasa, actividad ascorbato-oxidasa. La ferritina, proteína que une hierro y buen indicador de la cantidad de hierro disponible, como antioxidante además de impedir la reacción de Fenton, elimina el radical superóxido e inhibe la peroxidación lipídica. En la misma línea se encuentran otras moléculas como la haptoglobina, que secuestra Hb o la albúmina, que secuestra cobre.

- Antioxidantes captadores de radicales libres

Antioxidantes que captan RL inhibiendo la cadena de inicio y rompiendo la de propagación. Dentro de este grupo se encuentran tanto antioxidantes de origen endógeno como los exógenos que se obtienen a partir de la dieta.

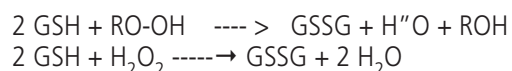
1. Endógenos

El glutatión (GSH), tripéptido de gamma-glutamyl-cisteinil-glicina constituye el principal tiol celular no proteico más abundante y ampliamente distribuido.

TABLA I. ANTIOXIDANTES ENZIMATICOS Y NO ENZIMATICOS (POWERS Y LENNON, 1999)

Antioxidantes enzimáticos	Ubicación celular	Propiedades antioxidantes
Mn superóxido dismutasa	Mitocondria	Dismuta radicales peróxido
Cu-Zn superóxido dismutasa	Citosol	Dismutasa radicales superóxido
GHS peroxidasa	Citosol y mitocondria	Remueve H ₂ O ₂ y hidroperóxidos orgánicos
Catalasa	Citosol y mitocondria	Remueve H ₂ O ₂
Antioxidantes no enzimáticos		
Vitamina E	Compuestos fenólicos solubles en lípidos; localizada en membranas.	Principal antioxidante que disrumpe la cadena de peroxidación lipídica.
Vitamina C (ácido ascórbico)	Soluble en agua; localizada en citosol.	Neutraliza una amplia variedad de ROS en fase acuosa; regenera vitamina E.
GSH	Citosol y mitocondria.	
Ácido lipoico	Tiol endógeno; localizado tanto en la fase acuosa como en la lipídica	Interviene en el reciclado de vitamina C; puede ser buen sustituto de GSH.
Ubiquinosas	Derivados de quinosa soluble en lípidos; localizadas en membrana.	Las formas reducidas son antioxidantes eficientes.
Carotenoides	SOLuble en lípidos; localizados principalmente en membranas.	Antioxidantes; reducen la peroxidación lipídica.

Esta presente en las células a elevadas concentraciones (5-10 mM) principalmente en su forma reducida (GSH) y gran parte de sus funciones se deben a la presencia del grupo tiolico reducido que le confiere la cisterna y promueve su estabilidad intracelular. Puede actuar como antioxidante en reacciones enzimáticas (sustrato de la glutatión peroxidasa) o no enzimáticas protegiendo de la oxidación a grupos -SH esenciales de las proteínas, reaccionado con radicales libres como el O₂·-, OH·, H₂O₂ y peróxidos lipídicos o actuando en la regeneración de otros antioxidantes como el alfa-tocoferol, o ácido ascórbico. Al reaccionar con oxidantes, el GSH se oxida a GSSG, que presenta un puente disulfuro entre dos moléculas de glutatión (9).



El GSSG es muy tóxico para las células, motivo por el cual estas tienden a mantener una razón GSSG/GSH baja mediante la acción de la enzima glutatión reductasa, o exportando activamente el GSSG al exterior celular. Además de ser un antioxidante endógeno también es exógeno ya que puede ser obtenido a partir de la dieta, donde puede ser parcialmente absorbido desde el intestino delgado y puede ser sintetizado de novo.

2. Exogenos

Ya que los antioxidantes endógenos no previenen completamente el daño provocado por las ROS, juegan un papel muy importante los antioxidantes obtenidos a partir de la dieta como las vitaminas o los compuestos fenólicos.

- Vitamina C o ácido ascórbico, antioxidante hidrofílico que puede existir en tres estados redox: ascorbato (reducido), radical semidehidroascorbato (oxidación monoelectrónica del ascorbato) y dehidroascorbato (oxidación bielectrónica del ascorbato). Es una vitamina hidrosoluble que se encuentra en una concentración muy elevada en numerosos tejidos y plasma. Reacciona con diferentes especies oxigénicas reactivas como el O₂·-, OH·, H₂O₂, y ROO· y 1O₂. Se sabe que niveles apropiados de vitamina C en la dieta reducen drásticamente el daño oxidativo in vivo a lípidos y proteinuria en animales (10,116). Actúa sinérgicamente con otros scavengers como la vitamina E o el urato para regenerarlos volviéndolos a su estado activo. Distintos estudios muestran el papel protector de la vitamina C procedente de la dieta frente al desarrollo de cánceres (12), enfermedades cardiovasculares (13), cataratas (14) y otras enfermedades degenerativas. También puede actuar de prooxidante en presencia de metales de transición (Cu, Fe), generándose el radical hidroxilo. Este efecto prooxidante del ácido ascórbico no tiene lugar, normalmente, in vivo dado que en situaciones no patológicas no hay cobre ni hierro libre en los fluidos extracelulares (15,16).

- La vitamina E o alfa-tocoferol, esta considerada como el principal antioxidante secuestrador de radicales lipofílicos in vivo. Se conocen 8 homólogos de d-alfa, d-beta, d-gamma, y d-delta tocoferol y los correspondientes tocotrienoles. De ellos el d-alfa-tocoferol es el que muestra más actividad biológica. Su actividad antioxidante se debe al carácter reductor del grupo hidroxilo de su anillo cromanol. Previamente el daño oxidativo a las membranas, impidiendo las reacciones de propagación, que es la principal causante de la peroxidación

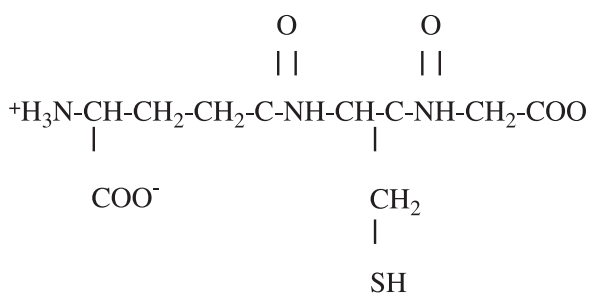


Figura 2.- Formula molecular del GSH.

lipídica, amortigua los efectos peroxidantes del ión superóxido, modula la cascada metabólica del ácido araquidónico y control la fluidez de la membrana, ordenando su estructura. Se utiliza como fármaco selectivo en enfermedades coronarias.

- Los carotenoides, junto con la vitamina E son los antioxidantes principales de las membranas biológicas, y en los animales se obtienen también a partir de la dieta. Tiene una gran capacidad para dar lugar a reacciones de extinción como la del oxígeno singlete y también puede interaccionar con RL a presiones parciales bajas de oxígeno como las existentes en los tejidos.
- Los compuestos fenólicos, cuya actividad antioxidante resulta de una combinación de sus propiedades quelantes de metales de transición y secuestradoras de RL. Además actúan en la inhibición de enzimas como oxidasas, lipooxigenasa, mieloperoxidasa, NADPH oxidasa y xantina oxidasa, evitando la generación de ROS in vivo, así como de hidroperóxidos orgánicos (Cao y cols 1997). Por otra parte, se ha podido conocer que también inhiben enzimas involucradas indirectamente en los procesos oxidativos, como la fosfolipasa A2, al mismo tiempo que estimulan otras con reconocidas propiedades antioxidantes, la catalasa y la superóxido dismutasa. De esta forma los flavonoides interfieren en las reacciones de propagación de RL y en la formación del radical en sí.

3.- Sistemas reparadores

En este grupo se encuentran los mecanismos defensivos enzimáticos coadyuvantes o de soporte de los anteriores, son los sistemas reparadores de moléculas previamente afectadas. Un importante grupo de enzimas reparadoras que catalizan la reducción de grupos -SH oxidados de proteínas en el interior de las células son las reductasas disulfuro. Otro grupo de enzimas reparadoras son las proteasas y las fosfolipasas que actúan sobre las proteínas y fosfolípidos, respectivamente una vez se produce el daño en la molécula y que deben ser reemplazadas via síntesis de novo. Los ácidos nucleicos que han sido identificados por estrés oxidativo son reparados principalmente por el sistema VER (reparación por escisión de base) donde

intervienen un grupo de enzimas como glicosilasas y endonucleasas AP, el nucleótido dañado es repuesto por polimerasas.

ESTRÉS OXIDATIVO

De acuerdo con Sies (18) los sistemas biológicos están en un estado de equilibrio aproximado entre fuerzas prooxidantes y la capacidad antioxidante de los sistemas biológicos. El desequilibrio a favor de la acción prooxidante es lo que se conoce como el estrés oxidativo. De hecho, el daño oxidativo solamente se produce cuando los mecanismos oxidantes superan la capacidad de los sistemas de defensa. Por lo tanto, la supervivencia de las células aeróbicas precisa de mecanismos que contrarresten los efectos negativos de los RL donde los sistemas antioxidantes permitan mantener un balance favorable entre los productos deletéreos y antioxidantes celulares.

A bajas concentraciones estos RL son necesarios para el buen funcionamiento celular pudiendo actuar como segundos mensajeros, estimulando la proliferación celular y/o actuando como mediadores para la activación de las células (19). Sin embargo, un exceso de RL durante procesos como fagocitosis, infección, inflamación o sobreexpresión a un ambiente estresante pueden provocar su acumulación hasta niveles tóxicos donde como resultados se producen diversas acciones sobre el metabolismo de principios inmediatos, que puede ser el origen del daño celular. El exceso de RL puede provocar cambios estructurales y funcionales en las células que llevan a la proliferación celular más que a la apoptosis.

Para contrarrestar los efectos oxidantes y restaurar la homeostasis, las células pueden activar genes que codifiquen factores de transcripción reguladores de enzimas antioxidantes y de proteínas estructurales (8).

1.- Efectos bioquímicos y fisiológicos del estrés oxidativo

Las ROS son capaces de dañar de forma reversible o irreversible todo tipo de biomoléculas, incluyendo lípidos, proteínas, carbohidratos, ácidos nucleicos, macromoléculas del tejido conectivo, etc. En términos generales un RL puede reaccionar con cualquier tipo de biomolécula, si bien son los lípidos los puntos de acción con mayor trascendencia fisiopatológica.

Las lesiones producidas por los RL son de muy diversa naturaleza, pero en general actúan por uno de los siguientes mecanismos: a) captando un hidrogenión de una molécula; b) introduciéndose como tal en una molécula diana; c) transfiriendo un electrón. En cualquiera de los tres casos, la reacción de un radical libre con otra molécula origina la formación de un nuevo radical que puede o no ser tan reactivo como la especie original.

Estas acciones afectan a las distintas biomoléculas por los siguientes mecanismos:

1.- Oxidación proteica

La oxidación proteica se define como una modificación covalente en una proteína inducida por especies reactivas. Los cambios oxidativos en proteínas pueden comportar diversas consecuencias en su función, como la inhibición de la actividad enzimática, un incremento de la susceptibilidad a la agregación y proteólisis, un aumento o disminución de la captación celular y una alteración de la inmunogenénesis. Esta oxidación origina la oxidación de los grupos sulfidril, y de proteínas con aminoácidos metionina y cisteína que ven totalmente anulada su actividad biológica. Los carbonilos proteicos son los marcadores de la modificación oxidativa más ampliamente utilizados (20). La oxidación de proteínas ha sido asociada con el envejecimiento y la severidad de algunas patologías.

2.- Oxidación de ácidos nucleicos

El DNA en las células vivas sufre constantemente lesiones a nivel molecular como consecuencia del metabolismo celular. Fundamentalmente en la estructura del DNA, los RL alteran la secuencia de azúcares-fosfatos que forman la cadena del ácido desoxirribonucleico directamente o por unión a las bases púricas o pirimidínicas convirtiéndolas en inestables y altamente reactivas (21). Este es el caso del radical hidroxilo responsable de la desoxiguanosina (dG) en 8-hidroxi-desoxiguanosina (8-OHdG). La relación de concentraciones entre 8-OHdG/dG, se considera un marcador por excelencia del daño oxidativo causado por los RL sobre el DNA (22). Los RL de las bases púricas y pirimidínicas formados pueden perpetuar la reacción en cadena produciendo la aparición de mutaciones o de muerte celular.

3.-Peroxidación lipídica

Los RL inician y causan la peroxidación de lípidos particularmente aquellos que componen la membrana celular. Esta peroxidación lipídica, que es la destrucción de la porción hidrofóbica o interna de la membrana de los ácidos grasos poliinsaturados resulta en la formación de hidroperóxidos lipídicos en un sistema de propagación en cadena. Las organelas que se afectan con mayor intensidad son los lisosomas y las mitocondrias en donde se perturba el metabolismo energético celular. La peroxidación es un proceso radicalario autocatalítico que transcurre en tres etapas. La etapa de iniciación cuando los RL captan un átomo de hidrógeno de un carbono metileno de los ácidos grasos dejando un electrón no apareado en el carbono. Los ácidos grasos poliinsaturados son particularmente susceptibles al ataque por RL, debido a que la presencia de dobles enlaces debilita el enlace carbono-hidrógeno en el átomo de carbono adyacente. El radical generado sobre el carbono sufre un reajuste molecular para formar un dieno conjugado que es capaz de

combinarse con el oxígeno para formar un radical peroxilo que puede abstraer un nuevo átomo de hidrógeno y empezar una reacción en cadenas que continúa hasta el agotamiento del sustrato o la interrupción del proceso por antioxidantes. Los peróxidos lipídicos resultantes son compuestos bastante estables pero su descomposición puede ser catalizada por metales de transición y complejos de metales dando lugar a nuevos radicales capaces de estimular más la peroxidación lipídica o a la formación de productos terminales de oxidación de toxicidad diversa como el malondialdehído, hidroxinonenal y hexanal (1,23).

La peroxidación lipídica puede tener efectos profundos sobre las funciones celulares pues afecta a las membranas produciendo cambios en fluidez, aumento de permeabilidad, disminución del potencial de membrana, etc. Especialmente susceptibles a la peroxidación lipídica son las del SNC y la oxidación de las partículas LDL que tienen un papel trascendental en la fisiopatología de la aterosclerosis.

4.- A nivel de la matriz extracelular

Provocan la fragmentación de los polipéptidos proteoglicanos e impiden la formación de las hélices de colágeno. Este daño oxidativo a macromoléculas ha sido implicado en distintas enfermedades y aún no siendo el factor que inicia la enfermedad su progresión puede verse influida significativamente como consecuencia del estrés oxidativo. Entre los procesos fisiológicos y fisiopatológicos en los que está implicado el estrés oxidativo están la mutagénesis, transformación celular y cáncer (24) procesos cardiovasculares, aterosclerosis, infarto, isquemia/reperfusión (6); envejecimiento (11,25); lesiones pulmonares por tabaquismo; diabetes; glomerulopatías crónicas; enfermedades inflamatorias: AR, enfermedad del neonato como retinopatía neonatal; trastornos del SNC como Parkinson y Alzheimer. Un 70% de estas enfermedades crónicas se puede prevenir a través del control de los RL asegurando los niveles óptimos de antioxidantes y "scavengers" de RL a través del aporte de antioxidantes naturales presentes en la dieta (verduras, legumbres, bebidas, etc) y evitando la exposición innecesaria a agentes contaminantes ambientales y xenobióticos.

CONCLUSIONES

El estrés oxidativo ha sido señalado como un fenómeno importante en la patogénesis de diversas enfermedades con una elevada prevalencia, tales como el cáncer, diabetes, aterosclerosis, artritis o Parkinson, etc (26-41). Con una nutrición adecuada, podemos aportar al organismo vitaminas y minerales, que juegan un rol importante en la prevención de estas enfermedades, lo cual es apoyado por la evidencia epidemiológica que sugiere que

el consumo de frutas y verduras, pueden reducir el riesgo de contraer dichas enfermedades, debido posiblemente a que estos alimentos son una rica fuente de antioxidantes dietarios (39-42).

BIBLIOGRAFIA

- Halliwell B, Gutteridge JMC. (2000) Free radicals in biology and medicine (3rd. ed.)
- Hageman JJ, Bast A, Vermeulen VB. (1992) Monitoring of oxidative free radical damage in vivo analytical aspects. *Chem. Biol. Interactions* 82, 243-293.
- Lachance PA, Nakat Z, Jeong W. (2001) Antioxidants: an integrative approach. *Nutrition* 17: 835-838.
- Davies, K. J. A. (1995) Oxidative stress: The paradox of aerobic life. *Biochem Soc Symp.* 61:1-31.
- Borja G (1996). Los radicales libres mitocondriales como factores principales determinantes de la velocidad de envejecimiento. *Rev Esp Geront Geriatr* 31: 153-161.
- McCord JM and Fridovich I, (1969) Superoxide Dismutase: an enzymic function for erythrocuprein (hemocuprein). *J. Biol. Chem.*, 244, 6049-6055
- Reed DJ, Fariss MW. (1984) Glutathione Depletion and susceptibility. *Pharmacol Rev.* 2:255-335.
- Harris, ED (1992). Regulation of antioxidant enzymes. *FASEB J* 6: 2675-2683.
- Céspedes T., Sanchez D (2000). Algunos aspectos sobre el estrés oxidativo, el estado antioxidante y la terapia de suplementación. *Rev Cubana Cardiol* 14(1):55-60
- Dhremar E, Valls V, Muñoz P, Cabo J, Sáez, GT. (2001). 8-Hydroxydeoxyguanosine and antioxidant status in rat liver fed with olive and corn oil diets. Effect of ascorbic acid supplementation. *J Food Lipids*, 8:281-294.
- Borja, G (1996). Ascorbic acid and aging. En: (J.R. Harris ed.), *Ascorbic Acid: Biochemistry and Biomedical Cell Biology*. Plenum Press, New York, USA. Vol. 25, pp. 157-188.
- Blot WJ, Li J.Y, Taylor P.R, et al. (1993). Nutrition intervention trials in Linxian, China: supplementation with specified vitamin/mineral combinations, cancer incidence, and disease-specified mortality in the general. *Nat. Cancer* 85:1483-1491.
- Gey KF, Moser UK, Jordán P, Stahelin HB, Eichholzer M, Luedin E. (1993). Increased risk of cardiovascular disease at suboptimal plasma concentrations of essential antioxidants: an epidemiological update with special attention to carotene and vitamin C. *Am J Clin Nutr.* 57: 787S-797S.
- Vitale West S, Hallfrisch J, Alston C, Wang, F, Moorman C, Muller D, Singh Vy Taylor, HR (1993). Plasma antioxidants and risk of cortical and nuclear cataract. *Epidemiol* 4: 195-203.
- Chen, K., Suh, J., Carr, A. C., Morrow, J. D., Zeind, J. and Frei, B. (2000) Vitamin C suppresses oxidative lipid damage in vivo, even in the presence of iron overload. *Am. J. Physiol. Endocrin. Metab.*, 279 (6): E1406-12.
- Ames BN, Signage MK. Oxidants are a major contributor to cancer and aging. En: *DNA and Free radicals*. Ellis Horwood, Chichester, England, 1993: 1-15.
- Cao, G., Sofic, E., Prior, R.L. (1997) Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: Structure-activity relationships. *Free Radic. Biol. Med.*, 22, 749-760
- Sies H, Stahl, W, Sundquist AR. (1992) Antioxidant functions of vitamins. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 669, 7-20.
- Herrera B, Alvarez AM, Sánchez A. Active oxygen species mediate the mitochondrial-dependent apoptosis induced by transforming growth factor in fetal hepatocytes. *FASEB J.* 2001 115:741-749
- Levine RL, Garland Oliver CN, Amici A, Climent I, Lenz AG, Ahn, B.W., Shaltiel S, Stadman ER. (1990) Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol* 186, 464-478.
- Halliwell B, Aruoma OI (1991). DNA damage by oxygen derived species. *FEBS Letter* 281: 9-19.
- Muñoz P, Valls V, Perez-Broxeta C, Iradi A, Climent J.V., Oliva, M., Sáez GT. (1995). The role of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in Rifamycin-induced DNA damage. *Free Radic. Biol. Med.* 18:747-755
- Halliwell B. (2001) Vitamin C and genomic stability. *Mutation Research*, 475, 29-35.
- Ames BN, Signage MK (1993). Oxidants are a major contributor to cancer and aging. En: *DNA and Free Radicals*. Ellis Horwood, Chichester. England, 1-15.
- Borja G. (1996). Los radicales libres mitocondriales como factores principales determinantes de la velocidad del envejecimiento. *Rev. Esp. Geront. Geriatr.* 31: 153-161.
- Ajmani RS et al. Oxidative stress and hemorheological changes induced by acute treadmill exercise. *Clin Hemorheol Microcirc* 2003;28(1):29-40.
- Chevon S et al. Plasma antioxidant status and cell injury after severe physical exercise. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100(9):5119-23.
- Cooper EC et al. Exercise, free radicals and oxidative stress. *Biochem Soc Trans.* 2002;30(2):280-5.
- Dillard CJ et al. Effects of exercise, vitamin E, and ozone on pulmonary function and lipid peroxidation. *J.Appl.Physiol* (1978);45: 927-932.
- Evans WJ. Vitamin E, vitamin C, and exercise. *Am J Clin Nutr* 2000;72(suppl):647S-52S.
- De Oliveira SL et al. Carbohydrate-energy restriction may protect the rat brain against oxidative damage and improve physical performance. *Br J Nutr* 2003;89(1):89-96.
- Finkel T & Holbrook N. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature* (2000); 408:239-247.
- Groussard C et al. Physical fitness and plasma non-enzymatic antioxidant status at rest and after a wingate test. *Can J Appl Physiol* 2003; 28(1):79-92.
- Henriksen EJ, Saengsirisuwan V. Exercise training and antioxidants: relief from oxidative stress and insulin resistance. *Exerc Sport Sci Rev* 2003; 31(2):79-84.
- Sacheck JM, Blumberg JB. Role of vitamin E and oxidative stress in exercise. *Nutrition.* 2001;17(10):809-14.
- Hoppeler H, Vogt M. Muscle tissue adaptations to hypoxia. *J Exp Biol* 2001 Sep; 204(Pt 18):3133-9.
- Johnson P. Antioxidant enzyme expression in health and disease: effects of exercise and hypertension. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 2002; 133(4):493-505.
- Ji LL Exercise-induced modulation of antioxidant defense. *Ann N Y Acad Sci* 2002;959:82-92.
- Powers S, Lennon S. Analysis of cellular responses to free radicals: focus on exercise and skeletal muscle. *Proceed Nutr Soc* 1999; 58:1025-1033.
- Vassilakopoulos T et al. Antioxidants attenuate the plasma cytokine response to exercise in humans. *J Appl Physiol* 2003; 94(3):1025-32.
- Sen CK. Antioxidants in exercise nutrition. *Sports Med* 2001; 31(13):891-908.