



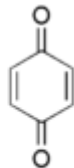
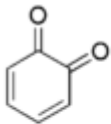
ESTRÉS OXIDATIVO

El **estrés oxidativo** es causado por un desequilibrio entre la producción de especies reactivas del oxígeno (ROS o ERO) y la capacidad de un sistema biológico de detoxificar rápidamente los reactivos intermedios o reparar el daño resultante. En términos químicos, el estrés oxidativo es un gran aumento en la reducción del potencial celular o una gran disminución en la capacidad reductora de los pares redox celulares como el glutatión. El estrés oxidativo severo puede causar la muerte celular y aún una oxidación moderada puede desencadenar la apoptosis, mientras que si es muy intensa puede provocar la necrosis.

Todas las formas de vida mantienen un entorno reductor dentro de sus células. Este entorno reductor es preservado por las enzimas que mantienen el estado reducido a través de un constante aporte de energía metabólica. Desbalances en este estado normal redox pueden causar efectos tóxicos a través de la producción de peróxidos y radicales libres que dañan a todos los componentes de la célula, incluyendo las proteínas, los lípidos y el ADN. Los radicales libres tienen una configuración electrónica de capas abiertas por lo que llevan al menos un electrón desapareado que es muy susceptible de crear un enlace con otro átomo o molécula.

Un aspecto particularmente destructivo del estrés oxidativo es la producción de especies reactivas del oxígeno, que incluyen los radicales libres y los peróxidos. La mayoría de estas especies derivadas del oxígeno se producen en un nivel bajo en condiciones normales de metabolismo aeróbico y el daño que causan a las células es reparado constantemente. Sin embargo, bajo los graves niveles de estrés oxidativo que causa la necrosis, el daño produce agotamiento de ATP impidiendo la muerte celular por apoptosis controlada, provocando que la célula simplemente se desmorone. La fuente más importante de oxígeno reactivo en condiciones normales en organismos aeróbicos es probablemente la pérdida de oxígeno activado de las mitocondrias durante el funcionamiento normal de la respiración oxidativa.

Algunas de las menos reactivas de estas especies (como el superóxido) pueden ser convertidas por una reacción redox con metales de transición en quinonas, especie radical más agresiva que puede causar extenso daño celular. Las quinonas pueden hacer un ciclo redox con sus conjugados semiquinonas e hidroquinonas, en algunos casos, catalizando la producción de superóxido desde peróxido de hidrógeno. El estrés oxidativo generado por el agente reductor ácido úrico puede estar implicado en el síndrome de Lesch-Nyhan, accidentes cerebrovasculares y el síndrome metabólico. Del mismo modo la producción de especies reactivas del oxígeno en presencia de homocisteína en homocisteinuria, así como arteriosclerosis, accidentes cerebrovasculares, y Alzheimer. Metales tales como hierro, cobre, cromo, vanadio y cobalto son capaces de hacer ciclos redox en los que un solo electrón puede ser aceptado o donado por el metal. Esta acción cataliza reacciones que producen radicales y puede producir ROS. Las reacciones más importantes son probablemente la reacción de Fenton y la reacción de Haber-Weiss, en el que se producen radicales hidroxilo de la reducción del hierro y peróxido de hidrógeno.

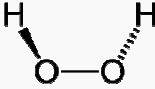
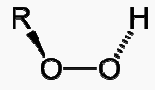
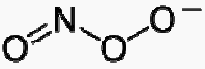


o-Benzoquinone *p*-Benzoquinone

Otros enzimas capaces de producir superóxido son la xantina oxidasa, NADPH oxidasa y citocromo P450. El peróxido de hidrógeno es producido por una amplia variedad de enzimas incluidas monooxigenasas y oxidasas.

Oxidante	Descripción
O_2^- Anión superóxido	Estado de reducción de un electrón de O_2 , formado en muchas reacciones de autooxidación y por la cadena de transporte de electrones. Es poco reactivo, pero puede liberar Fe^{2+} de proteínas ferrosulfuradas y de la ferritina. Sufre dismutación para formar H_2O_2 espontáneamente o por catálisis enzimática y es un precursor para la formación de $\bullet OH$ catalizado por metales.
H_2O_2 Peróxido de hidrógeno	Estado de reducción de dos electrones, formado por la dismutación de $\bullet O_2^-$ o por reducción directa de O_2 . Soluble en lípidos y por ende capaz de difundir por membranas.



	
<p>OH[•] Radical hidroxilo</p>	<p>Estado de reducción de tres electrones, formado por la reacción de Fenton y la descomposición de peroxinitrito. Extremadamente reactivo, ataca la mayoría de los componentes celulares.</p>
<p>ROOH Hidroperóxido orgánico</p> 	<p>Formado por reacciones de radicales con componentes celulares como lípidos y nucleobases.</p>
<p>RO[•], alcoxi- ROO[•], peroxi-</p>	<p>Radicales orgánicos centrados en oxígeno. Formas lipídicas participan en reacciones de peroxidación de lípidos. Producido en presencia de oxígeno por adición de radicales a dobles enlaces o eliminación de hidrógeno.</p>
<p>HOCl Ácido hipocloroso</p>	<p>Formado a partir de H₂O₂ por la mieloperoxidasa. Soluble en lípidos y altamente reactivo. Rápidamente oxida constituyentes de proteínas, incluyendo grupos tiol, grupos amino y metionina.</p>
<p>OONO⁻ peroxinitrito</p> 	<p>Formado en una rápida reacción entre •O₂⁻ y NO[•]. Liposoluble y similar en reactividad al ácido hipocloroso. Su protonación forma ácido peroxinitroso, que puede someterse a escisión homolítica para formar radicales de hidroxilo y de dióxido de nitrógeno.</p>

Ante el peligro que representa el daño oxidativo, las células se encuentran habilitadas con **mecanismos de protección**: preventivos, secuestradores y reparadores de este deterioro. Los antioxidantes celulares mejor estudiados son las enzimas superóxido dismutasa (SOD), catalasa y glutatión peroxidasa. Antioxidantes enzimáticos menos estudiados (pero probablemente muy importantes) son la peroxirredoxina y la sulfirredoxina. Otros enzimas que tienen propiedades antioxidantes (aunque esta no es su función primordial) incluyen la paraoxonasa, la glutatión S-transferasa, y la aldehído deshidrogenasa.

En el ser humano, el estrés oxidativo está involucrado en muchas enfermedades, como la aterosclerosis, la enfermedad de Parkinson, encefalopatía miálgica, sensibilidad química múltiple, y la enfermedad de Alzheimer y también puede ser importante en el envejecimiento. Los radicales hidroxilo pueden dar lugar a modificaciones de los aminoácidos (*e.g.* la formación de meta-tirosina y orto-tirosina a partir de fenilalanina), hidratos de carbono, iniciar la peroxidación de lípidos, y oxidar nucleobases. Sin embargo, las especies reactivas de oxígeno pueden resultar beneficiosas ya que son utilizadas por el sistema inmunitario como un medio para atacar y matar a los patógenos, a través de la fagocitosis. También son utilizadas en la señalización celular, denominada señalización redox.

Este desequilibrio y predominio de los radicales libres se debe a múltiples **causas**: las endógenas (producidas por el propio organismo en su funcionamiento) tales como la respiración mitocondrial; la activación de polimorfonucleares; el metabolismo de ácido araquidónico; las acciones enzimáticas, entre otros. Otras causas, las exógenas, se deben a factores externos: contaminación ambiental; obesidad, sedentarismo, hábitos tóxicos; estrés prolongado; desconocimiento nutricional; exposición indebida al sol o a diversas enfermedades como la diabetes, artritis, enfermedad de Crohn's, SIDA o daños sobre el sistema nervioso central, cáncer, hepatitis A, B y C; insuficiencia renal crónica, asma, enfermedades cardiovasculares y daño por isquemia-reperusión. Se ha demostrado científicamente que la presencia de este tipo de estrés oxidativo es causa o consecuencia de más de 250 enfermedades.

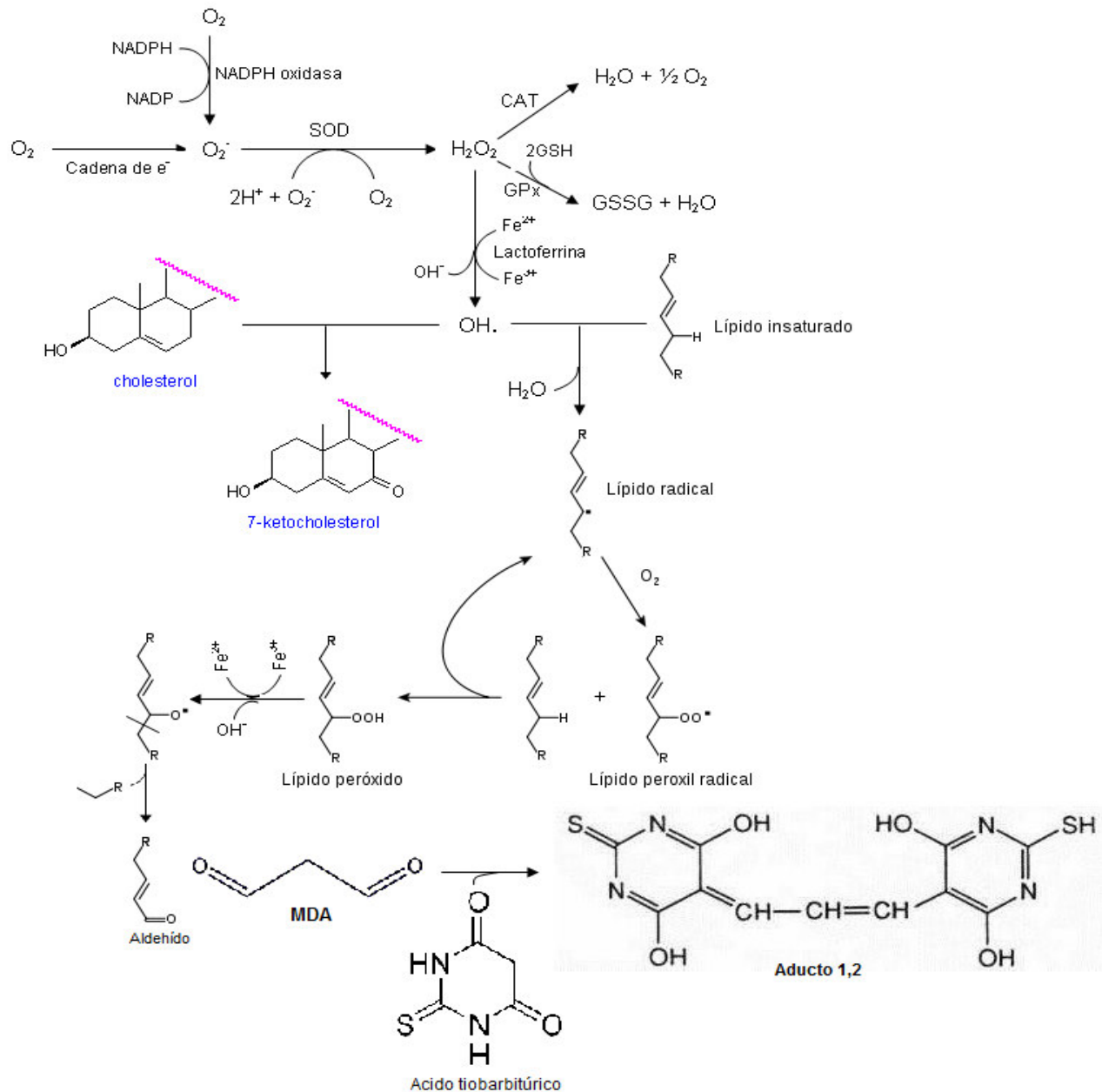
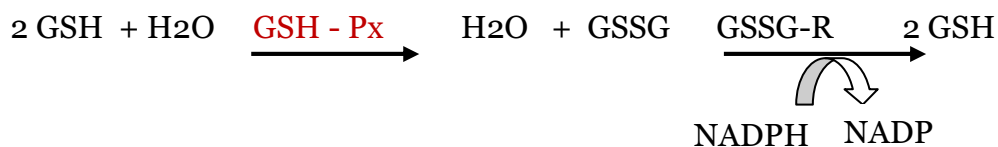


Figura 1. Esquema que muestra el efecto que producen las ROS sobre la peroxidación lipídica.

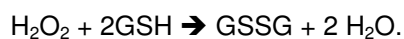
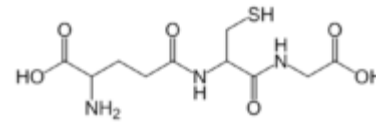
Medición de estrés oxidativo

✓ **Concentración de glutatión peroxidasa (GSH-Px):** se realizará basándose en el consumo de NADPH a 340nm, coenzima involucrada en la reacción catalizada por la glutatión reductasa (GSSG-R) (Lawrence and Burke, 1976).





✓ **Concentración de glutatión (GSH):** El glutatión es un tripéptido que contiene un enlace péptidico inusual entre el grupo amino de la cisteína y el grupo carboxilo de la cadena lateral del glutamato. El glutatión es un antioxidante que ayuda a proteger las células de especies reactivas de oxígeno. El glutatión es nucleofílico en azufre y ataca los aceptores conjugados electrofílicos. Los grupos tiol (SH-) se mantienen en un estado reducido a una concentración de aproximadamente ~ 5 mM en células animales. En efecto, el glutatión reduce cualquier enlace disulfuro (-S-S-) formado dentro de proteínas citoplasmáticas de cisteínas, al actuar como un donante de electrones. En el proceso, el glutatión se convierte en su *forma oxidada disulfuro de glutatión* (GSSG). El glutatión se encuentra casi exclusivamente en su forma reducida, ya que la enzima que vuelve de su forma oxidada, la *glutatión reductasa*, es constitutivamente activa e inducible por estrés oxidativo. De hecho, la proporción de glutatión reducido a glutatión oxidado dentro de las células a menudo se utiliza científicamente como una medida de la toxicidad celular.



La determinación de GSH se realizará en homogenados preparados en ácido tricloroacético al 5% en HCl 0.01 M (método de Ellman). Este método consiste en la reacción del ácido 5, 5-ditiobis-2-nitrobenzoico con tioles alifáticos a pH 8, para producir un mol del anión 5-tio-2-nitrobenzoico por cada mol de reaccionante. Dicho anión es un producto coloreado con absorbancia a 412 nm.

✓ **Lipoperoxidación en tejidos animales:** Los radicales libres atacan a los ácidos grasos poliinsaturados de las membranas celulares y lipoproteínas transformándolos en ácidos grasos peroxidados, los cuales sufren un acortamiento de su cadena lateral liberando **Malondialdehído (MDA)**, de tal manera que la concentración sérica de MDA, es proporcional a los ácidos grasos poliinsaturados oxidados y por lo tanto un buen indicador de peroxidación lipídica.

La determinación se basa en la reacción colorimétrica de peróxidos lipídicos con TBA (ácido tiobarbitúrico) para dar malondialdehído (MDA) a 532 nm.