

Radicales libres y antioxidantes, realidades y perspectivas

Free radicals and antioxidants. Realities and perspectives. Bibliographical review

Lic. Jorge Lozano Casanova; Dra. María Antonia Barrios; Dr. Andrés Pedrosa Amado

Instituto Superior de Ciencias Médicas Carlos J. Finlay. Camagüey, Cuba.

RESUMEN

Entre los mecanismos moleculares que pueden producir lesión y muerte celular el más estudiado en los años recientes es el producido por los radicales liberados en las reacciones de oxidación mediadas por el oxígeno. La producción de radicales libres del oxígeno constituye un proceso normal, considerándose que el 5 % del oxígeno que penetra en la célula es transformado en uno de los siguientes radicales: ión superóxido, peróxido de hidrógeno o radical hidróxilo. El efecto deletéreo de estos radicales sobre las membranas biológicas y el ADN, es evitado por la existencia de mecanismos moleculares de defensa como son: la enzima SOD, Glutathion Peroxidasa y Catalasa, o Vitaminas como la C, A, E y el Selenio. Los desbalances entre la generación de radicales libres y la capacidad antioxidante del organismo genera un estado que se conoce como "Estrés Oxidativo Celular" el cual es responsable de los daños celulares y tisulares asociados a diversos estados patológicos. En la presente revisión se analizan los mecanismos por los cuales actúan los diferentes antioxidantes, la relación entre el "Estrés Oxidativo" y algunas enfermedades degenerativas. Se describen algunas experiencias sobre la posibilidad de utilizar antioxidantes en el tratamiento de estas dolencias y la importancia de la nutrición como vía para prevenir los efectos de los radicales libres para el organismo.

DeCS: RADICALES LIBRES; ANTIOXIDANTES.

ABSTRACT

Among molecular mechanisms that may cause injury and cellular death, the most studied in recent years is the one produced by the free radicals released in oxidation reactions mediated by oxygen. Free radical production of oxygen constitutes a normal process, considering that the 5% of oxygen that penetrates the cell is transformed into one of the following radicals; superoxide ion, hydrogen peroxide or hydroxyl radical. The noxious effect of these radicals on the biological membranes and DNA, is prevented by the existence of defense molecular

mechanisms such as: SOD enzyme, glutathione peroxide and catalase, or vitamins such as Vitamin C, Vit. A, Vit. E, and Selenium. Unbalances among the generation of free radicals and the antioxidant capacity of the body generates a state known as "Oxidative Stress" which is responsible for the cellular and tissular damages associated with different pathological states. In this review, mechanisms are analyzed through which different antioxidants function, the relationship among the "Oxidative Stress" and some degenerative diseases. Some experiences about the possibility of using antioxidants in the treatment of these ailments and the nutrition importance as a way of preventing free radical effects for the body are described.

DeCS: FREE RADICALS, ANTIOXIDANTS.

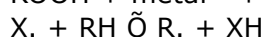
INTRODUCCIÓN

Dentro de los mecanismos de lesión y muerte celular, aquel que más atención ha recibido en los últimos años es el mediado por radicales libres, el cual está emergiendo como una vía final común de lesión celular en diversos procesos patológicos.^{1,2}

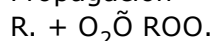
Un radical libre (RL) es una especie química que tiene un único electrón en su orbital externo. En tal estado el RL es extremadamente activo e inestable y reacciona con sustancias químicas orgánicas e inorgánicas y especialmente con moléculas que componen las membranas biológicas, como son los lípidos y las proteínas, y con el ADN que compone el material genético. De esta forma los RL pueden lesionar irreversiblemente estructuras celulares e inducir mutaciones.³ Por otro lado, los RL inician reacciones autocatalíticas donde las moléculas con las que reaccionan se convierten en otros RL produciendo de esta forma una reacción lesiva en cadena, conocida como propagación.

Cadena de reacción de los radicales libres

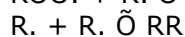
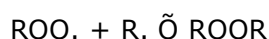
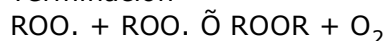
Iniciación



Propagación



Terminación

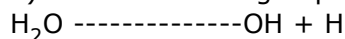


DESARROLLO

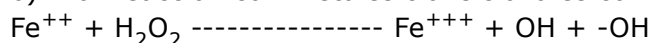
Radicales libres de Oxígeno: Los organismos aeróbicos utilizan en su provecho el poder oxidante del oxígeno para llevar a efecto una gran variedad de reacciones oxidativas de gran importancia biológica. La reducción de cuatro electrones que forman agua, reacción catalizada por la citocromo oxidasa de la membrana interna mitocondrial y que permite cerrar la cadena oxidativa que genera la energía metabólica que posteriormente emplea la célula en otros procesos vitales.^{4,5} Sin embargo, la presencia intracelular del oxígeno también permite la producción en menor cantidad de especies del oxígeno parcialmente reducidas.^{6,7} Las formas más importantes son el ion superóxido (O_2^-), el peróxido (H_2O_2) y el radical hidroxilo ($\text{OH}\cdot$). Estas

formas pueden producirse por la actividad de diversas enzimas oxidativas en diferentes localizaciones de la célula como citosol, mitocondrias, lisosomas y membrana plasmática. El superóxido se puede generar directamente durante la autooxidación en las mitocondrias, o enzimáticamente por las enzimas citoplasmáticas Xantina Oxidasa (B), Citocromo P-450^{8,9} y otras oxidasas que participan en el metabolismo de los Xenobióticos. El peróxido de hidrógeno es producido por oxidasas presentes en los peroxisomas que existen en muchos órganos. Los radicales hidroxilos pueden generarse por diversas vías:

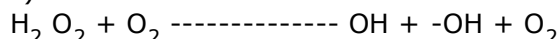
a)- Hidrólisis del agua producida por radiaciones ionizantes.



b)- Por reacción con metales transicionales como el Fe^{++} y Cu^+ (Reacción de Fenton).



c)- En la reacción de Haber Weiss.



Se considera que entre el 1 % y el 5 % del consumo total de oxígeno puede ser convertido en algunos de estos radicales, aunque esta proporción puede incrementarse en algunos tipos celulares específicos, como es el caso de los leucocitos en los cuales las enzimas ciclooxigenasas y lipoxigenasa producen radicales hidroxilos, o los neutrofilos estimulados que producen ion superóxido. Ambos casos juegan un papel importante en la destrucción de las bacterias fagocitadas, pero también son responsables de las lesiones tisulares que se producen en el curso de la inflamación.¹⁰ A pesar de que se producen en cantidades muy bajas, la elevada reactividad de estas especies, en especial del hidroxilo, los hacen muy dañinos para las estructuras celulares. Esto ha sido demostrado por las lesiones que se observan en un órgano isquémico después de la reperusión.^{11,12}

Entre los efectos destructivos ocasionados por los RL, se encuentra la peroxidación de los lípidos poliinsaturados de las membranas biológicas. Este proceso es similar en su mecanismo a la autooxidación que sufren las grasas en su almacenamiento si están expuestas al oxígeno ambiental, pero se acelera intracelularmente por la presencia de las especies reactivas del oxígeno antes mencionada o por otros RL. La cadena de propagación de este proceso se desarrolla a partir de la acción de un RL sobre el lípido polisaturado. Los radicales hidroperoxido (ROOH) y endoperoxido (ROO) pueden reaccionar con otros ácidos grasos polisaturados de las membranas provocando un daño lesivo masivo.

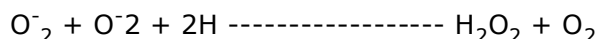
El malonaldehído (MAD) es formado solamente por ácidos grasos con tres o más dobles enlaces y es empleado como una medida de la peroxidación de los lípidos junto con el etano de los dos carbonos terminales de los ácidos grasos gamma 3 y el pentano de los ácidos grasos gamma⁶. El proceso de peroxidación de lípidos, es además, de una consecuencia de la acción de los RL, una fuente generadora de nuevos radicales como son los ROOH y ROO. Antioxidantes.

Por todo lo anteriormente expuesto es fácil inferir que los RL pueden provocar daños tales que conducirían a la muerte celular si no existiera un mecanismo intracelular de defensa contra su reacción. Este sistema de defensa es conocido como sistema antioxidante y está compuesto "in vivo" principalmente por un grupo de enzimas y vitaminas que son consideradas como antioxidantes naturales.

Existe otro grupo de sustancias capaces de inhibir la acción de los RL "in vivo" como son los fenoles y aminos aromáticas o compuestos con grupos sulfidrilos, pero que no están presentes en los organismos de forma natural. Nos referiremos en este trabajo exclusivamente a los antioxidantes naturales, los cuales, como ya señalamos pueden ser divididos en dos grupos: los enzimáticos y no enzimáticos, aunque esta división no es del todo feliz, pues su acción en el organismo es cooperativa. Los enzimáticos incluyen las enzimas Superóxido Dismutasa (SOD), Glutathion Peroxidasa (GP) y catalasa, y los no enzimáticos las vitaminas E, C, A, los B carotenos y el Selenio.

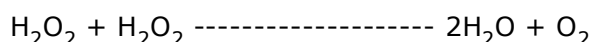
La SOD es una enzima presente en todos los organismos aeróbicos y se encuentra en la gran

mayoría de las células, tanto en el citoplasma como en la mitocondria, la SOD citoplasmática presenta en su centro activo un átomo de Cu y otro de Zn, mientras que la mitocondrial contiene Mn, independientemente de esta diferencia ambas formas catalizan la conversión de superóxido en peróxido.

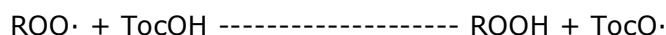


De esta manera la SOD actúa eliminando los iones superóxido en la fase acuosa de la célula. La importancia de esta enzima se ha potencializado en los últimos años por el descubrimiento de que una mutación de la misma es causa de la esclerosis lateral amiotrófica.

De este desorden neurológico debilitante, se observa una degeneración de las neuronas motoras del cerebro y la médula espinal. El peróxido formado por la acción de la SOD es convertido en agua por la catalasa



o por la GP, que cataliza la reacción entre el glutatión reducido (GSH) y el peróxido, para formar glutatión oxidado (GSSG) y agua. Esta enzima contiene Selenio en su estructura. Entre los antioxidantes no enzimáticos, la vitamina E parece ser, por su carácter liposoluble, la primera línea de defensa contra la propagación de la peroxidación de los lípidos de las membranas. Tanto de membrana plasmática, como la mitocondrial y el retículo endoplasmático poseen gran afinidad por el Tocoferol y la vitamina parece concentrarse en estas estructuras. El Alfa tocoferol como antioxidante actúa interrumpiendo la cadena de reacciones de los RL producto de su capacidad para transferir un hidrógeno fenólico al ROO formado durante el proceso de propagación.



En esta reacción se genera el radical a Tocoferoxil (TocO) que pudiera continuar la propagación de la cadena; sin embargo, es convertido nuevamente en Tocoferol cuando reacciona con la Vitamina C y el GSH presente en la superficie de la membrana. Este sistema regenerante, es al parecer esencial para una adecuada acción antioxidante de la vitamina, una evidencia de ello es que la oxidación de las LDL es mayor cuando el contenido en Vit E de las mismas es igualmente mayor y hay ausencia de Vitamina C, lo cual hace pensar que en estas condiciones el radical Toco actúa como un agente oxidante. No todo el Alfa Tocoferol consumido es regenerado por la acción de la Vitamina C, una parte de él lo hace con otros radicales de los ácidos grasos, formando un producto oxidado que es conjugado con el ácido glucurónico y excretado en la bilis, por ello es necesario una ingesta diaria que reemplace las cantidades de vitaminas consumidas por esta vía. La acción antioxidante de la Vit E es efectiva a elevadas concentraciones de oxígeno y la concentración de la vitamina es precisamente mayor en aquellas estructuras lipídicas expuestas a elevadas presiones parciales de oxígeno, como son los eritrocitos y las membranas del sistema respiratorio.

Los B-Carotenos, otro de los miembros de este grupo de antioxidantes ejerce su efecto, debido a la propiedad de poder formar una estructura conjugada estable con los ROOH. Este efecto lo realiza cuando la acción parcial de oxígeno es baja por lo que se complementa con la acción de la Vit E. El Selenio, un componente integral de la enzima GP, refuerza la acción de la Vit E, al facilitar la reducción de los hidroperóxidos que se forman por la acción de esta vitamina.

En las células debe existir un balance entre la generación de RL y la capacidad antioxidante del sistema, este balance puede romperse a favor de la generación de RL por dos causas: o bien por la ingestión de sustancias pro-oxidantes o por pérdida de la capacidad antioxidante, bien por déficit de unión de sus componentes no enzimáticos o por pérdida de actividad de alguna de las enzimas que lo integran. En estas condiciones se crea un estado que ha sido nombrado Estrés Oxidativo que es sumamente perjudicial cuando es masivo, o si se prolonga en el tiempo.

Relación entre el estrés oxidativo y la enfermedad

Los radicales libres han sido implicados en la patología de más de 50 enfermedades, aunque en la mayoría de los casos el estrés oxidativo parece ser una consecuencia de la enfermedad y no una causa, el papel que los mismos pueden desempeñar en la progresión de la enfermedad al introducir cambios degenerativos irreversibles, justifica la atención que se le brinda en estos momentos. Entre las enfermedades relacionadas con un estado de estrés oxidativo se encuentran la aterosclerosis y otras complicaciones vasculares, el cáncer, enfermedades degenerativas del sistema nervioso, pancreatitis y en los daños tisulares en los procesos inflamatorios.

En un estudio realizado con 45 pacientes con accidentes vasculares encefálicos determinaron vitamina C Y MAD el día de la admisión (tiempo 0) y a las 48 horas, comparándolos con 45 sujetos sanos como control. Al tiempo cero no observaron diferencias significativas entre ambos grupos, pero a las 48 horas en el grupo muestra se observó una disminución de la Vit C y un aumento del MAD, evidenciando un daño oxidativo en esta condición. En un estudio realizado en 95 pacientes con diabetes mellitus tipo 2, normolipémicos, encontró un aumento significativo en las concentraciones plasmáticas de peróxidos de lípidos. El aumento fue directamente proporcional a la severidad de la retinopatía.

Harris y col en un estudio realizado en nueve individuos con esclerosis sistémica difusa, encontraron una disminución significativa de las concentraciones plasmáticas de Vit C y Selenio. Varios estudios realizados apoyan la hipótesis de que los trastornos degenerativos presentes en la enfermedad del Parkinson son producto del estrés oxidativo. Jenner, en estudios realizados con muestras de sustancia nigra, obtenidas postmortem en individuos con el mal del Parkinson, hallaron concentraciones reducidas de GSH y un aumento de Fe, este metal es un catalizador de los procesos de oxidación que liberan radicales libres.

Otro trastorno degenerativo del sistema nervioso que ha sido objeto de atención es la enfermedad de Alzheimer. Zeman estudió las concentraciones plasmáticas de Vit E, A y Beta-carotenos, en 10 pacientes con esta enfermedad, encontrando disminución de las tres sustancias evaluadas con respecto al grupo control, este resultado apoya la hipótesis de que la amiloidosis característica no solo del Alzheimer, sino también, presente en el síndrome de Down y en el envejecimiento, está mediada por RL.

Quizás uno de los estudios más concluyentes realizados hasta el momento en este campo, fue el realizado por Eicholzer y col. En un estudio prospectivo que abarcó 2 974 individuos en 12 años, correlacionó la mortalidad por cáncer, infarto del miocardio y accidentes vasculares encefálicos con los niveles de las vitaminas C, A, y B-carotenos. Los resultados fueron que los niveles bajos de todos los parámetros estudiados fueron un factor de riesgo para el cáncer, mientras que en los casos del infarto y los accidentes vasculares lo eran las concentraciones disminuidas de Vit C y los B-carotenos. Obtiene como resultado que los niveles bajos de todos los parámetros estudiados fueron un factor de riesgo para el cáncer, mientras que en los casos del infarto y los accidentes vasculares lo eran las concentraciones disminuidas de Vit C y los Beta-carotenos. Se valora además que los RL estén relacionados con algunas entidades que se manifiestan durante los cuidados intensivos en neonatología. Shelezing en un estudio realizado con 45 niños pretérmino de 25-35 semanas divididos en tres grupos atendiendo al peso al nacer, encontró que las cantidades de MAD eliminadas en la orina eran inversamente proporcionales al peso al nacer, pero que dentro del mismo grupo eran mayores en aquellos que fueron sometidos a oxigenoterapia. Está demostrado además que durante la reperfusión de un órgano isquémico aumenta la peroxidación y surgen lesiones por esta causa.

Terapia antioxidante

La posibilidad de corregir los estados de estrés oxidativo y los trastornos degenerativos que el mismo ocasiona por medio de la administración de antioxidantes se está evaluando desde hace ya varios años, y si bien algunos autores consideran que los resultados hasta el momento no son realmente confiables, pues se han logrado ensayos clínicos limitados y algunos poco exigentes, sí es un criterio generalizado que este tipo de terapia constituye un campo promisorio.

Entre los antioxidantes propuestos como posibles agentes terapéuticos se incluyen los naturales como son la Vit. A, C, E y los B-carotenos, la SOD y el Glutathion y otros no naturales como es el caso de inhibidoras de la Xantina Oxidasa como el Allopurinol, agentes secuestrantes que forman quelatos con el Fe como la Deferoxamina y algunos compuestos con grupos sulfidrilos como la Dimetilthiourea. Una limitación apreciable que tienen muchos de los trabajos experimentales en este campo, es que los momentos experimentales empleados, utilizan la administración del antioxidante previo a la inducción de un estrés oxidativo masivo. Este es el caso de los trabajos de Doney y Ferrari que evaluaron la efectividad de la SOD y la N-acetilcisteína respectivamente, en la prevención de las lesiones tisulares producidas, durante el infarto del miocardio ambos experimentos emplearon corazón aislado de conejo y se administró el antioxidante previo a la inducción de la isquemia. Aunque los resultados fueron satisfactorios pues el antioxidante disminuyó el grado de lesión inducido por la reperfusión, la aplicación práctica de esta experiencia es limitada, pues no demuestran si los antioxidantes pueden tener algún efecto sobre las lesiones ya instaladas, lo que hasta el momento parece ser poco probable.

No obstante esta limitación, estas experiencias demuestran la importancia de la administración previa de antioxidantes en algunos tratamientos que pueden ser pro-oxidantes como es el caso de la oxigenoterapia o tratamientos con drogas como Cloroquina o Primaquina.

Salim y col. en una interesante experiencia demostraron la eficacia de los antioxidantes en una situación de estrés oxidativo sostenido. En un estudio a doble ciegas examinaron la influencia del Allopurinol (50mg vía rectal) cuatro veces al día y Dimetil-sulfoxido (500 mg vía rectal) cuatro veces al día, sobre el dolor pancreático tratando con clorhidrato de petidina (100 mg seguido por 50 mg cada cuatro horas, hasta la completa desaparición del dolor) en pacientes que no estuvieron siendo hidratados ni por viacutec;a oral ni intravenosa. La adición de ambos antioxidantes al régimen analgésico incrementó significativamente su eficacia. El 57 % de los pacientes sometidos al estudio se libró del dolor a las 12 horas de iniciado el mismo, mientras que solo el 17 % de los controles tuvo el mismo comportamiento. Todos los pacientes tratados habían sido dados de alta a los tres días del ingreso, mientras que de los controles, solo el 22 % había podido abandonar el Hospital al quinto día. Otros estudios han dirigido su atención hacia la búsqueda de vías que puedan evitar la aparición del estrés oxidativo crónico, en este sentido todo indica que una dieta adecuada puede ser eficaz. Hartt en un estudio realizado en roedores sometidos a una dieta reducida en un 40 % en calorías, observó una disminución de la peroxidación de lípidos y de la actividad de la citocromo P-450, mientras que la actividad de la SOD y la Catalasa, aumentaron. Otros autores sostienen que una adecuada ingestión de las vitaminas antioxidantes alarga el tiempo de vida útil al retrasar el desarrollo de enfermedades degenerativas por un lado y el proceso de envejecimiento por el otro. Harman sostiene el criterio de que una dieta adecuada, en la cual se reduzca el contenido calórico y suplementada con antioxidantes, se puede incrementar la esperanza de vida entre 5 y 10 años.

CONCLUSIONES

Los RL han sido involucrados en la génesis y progresión de numerosas enfermedades y si bien en algunas de ellas como es el caso del Parkinson o el Alzheimer su papel está aún a nivel de la hipótesis, en otras como el cáncer o la aterosclerosis, existen sólidas investigaciones epidemiológicas que los sitúan como un factor de riesgo de importancia en el desarrollo de las mismas. Es de esperar que en los próximos años surgan nuevas evidencias a favor del papel de los RL en las enfermedades degenerativas del sistema, dada la elevada actividad oxidativa de este sistema y su elevado contenido de lípidos poliinsaturados, lo que hace de él un campo idóneo para la peroxidación de lípidos. En el campo de la terapia antioxidante se están dando los primeros pasos, y se hace necesario profundizar en la selección de los modelos adecuados para el estudio de la efectividad de los antioxidantes, no obstante, constituye un campo promisorio sobre todo si se logran vías para actuar de forma preventiva, en este sentido lo más importante es sin lugar a dudas el hecho de que adecuados hábitos de vida pueden evitar el surgimiento de estrés oxidativo crónico. La ingestión excesiva de calorías y de grasa animal es un riesgo aterogénico, no solo porque aumenta el colesterol sino también porque aumenta la

peroxidación de lípidos y la oxidación de las LDL. Los aceites de soya y girasol constituyen una fuente valiosa de vitamina E, la vitamina C no está solamente en cítricos, otras frutas como la guayaba o vegetales como la col tienen cantidades apreciables de la vitamina, la Vit A y los B-carotenos igualmente están presentes en varios aceites vegetales, sin embargo, hay que tener en cuenta que tanto el almacenamiento como las altas temperaturas afectan estas vitaminas en tal grado que el contenido de éstas en un alimento disminuye en casi un 80 % durante el proceso de cocción, por ello, es importante la ingestión de alimentos frescos y preferentemente crudos para lograr una ingesta adecuada de antioxidantes.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Freeman BA. Biology of disease. Free radical and tissue injury. Lab Invest 1982; 47: 412-22.
2. Slater TF. Free radical mechanism in tissue injuries. Biochem J. 1987; 222: 1-9.
3. Halliell B. Oxidation and human disease: some new concepts. Faseb J 1987;3(5):8-65.
4. Hatefi Y. The mitochondrial electron transport and oxidative phosphorylation system. Ann Rev Biochem 1990; 54: 1015-22.
5. Capaldi RA. Structure and function of cytochrome C oxidase. Ann Rev Biochem 1990; 59: 569-96.
6. Jamieson D. Oxygen toxicity and reactive oxygen metabolites in mammals. Free Radicals Biol Med 1989; 7: 87-95.
7. Halliwell B. Reactive oxygen species in living system; source. Biochemistry and role in human disease. Am J Med 1991; 91(3): 148-228.
8. Farber SL. Biology of disease: Mechanism of cell injury by activated oxygen species. Lab Invest 1990; 62: 670-79.
9. White RE. Oxygen activation by cytochrome P-450. Ann Rev Biochem 1980; 49: 315-18.
10. Babior BM. The respiratory burst of leukocytes. J Clin Invest 1985; 69: 959-66.
11. Baly R. Demonstration of free radical in (stunned) myocardium of intact dogs. J Clin Invest 1982; 82: 476-81.
12. Richardson VJ. Therapy to reduce free radicals during early reperfusion does not limit the size of myocardial infarct caused by 90 minutes of ischemia in dogs. Circulation 1988; 78: 473-77.