

Instituto Superior de Medicina Militar "Dr. Luis Díaz Soto"

DAÑO OXIDATIVO, RADICALES LIBRES Y ANTIOXIDANTES

Cap. Justo R. Venereo Gutiérrez¹

RESUMEN

Se realizó una revisión bibliográfica sobre el tema de los radicales libres del oxígeno, las especies reactivas del oxígeno y el estrés oxidativo, con el objetivo de acercar a los diferentes especialistas de las ciencias médicas al interesante y cada vez más importante mundo de los radicales libres, tema que en la actualidad es de gran interés para bioquímicos, fisiólogos y otros especialistas de las ciencias básicas de la medicina. En este trabajo se presenta una visión general de los principales aspectos del tema, se mencionan conceptos, clasificaciones y características de los radicales libres y de los diferentes sistemas de defensa antioxidante; se explican brevemente los mecanismos por los cuales se producen los daños de estas especies químicas sobre el organismo y se brindan recomendaciones desde el punto de vista higiénico-dietético para mantener un adecuado equilibrio prooxidante/antioxidante.

DeCS: RADICALES LIBRES/análisis; RADICALES LIBRES/efectos adversos; ESTRES OXIDATIVO; ANTIOXIDANTES.

Los adelantos científicos y específicamente en la medicina son realmente sorprendentes tanto en el conocimiento de las enfermedades, su tratamiento, así como sus complicaciones, no obstante quedan aún muchas dudas que aclarar con respecto al origen de estas. En los últimos 30 años viene desarrollándose cada día un interés mayor por los problemas relacionados con el estrés oxidativo, los radicales libres, las especies reactivas del oxígeno y los antioxidantes, todo esto dado por la importancia que poseen en la

bioquímica, la biología y la medicina¹. Las ciencias médicas están dando un paso de avance significativo en el conocimiento de muy variadas enfermedades, en su fisiopatología, su tratamiento y más importante aun en su prevención.

Ya en 1981 Berg,² al recibir el Premio Nobel, dijo... "Tendremos que tener médicos que dominen la anatomía molecular y la fisiología de los cromosomas y los genes, de la misma forma que el cirujano cardíaco domina la lectura y funcionamiento del árbol coronario".

¹ Especialista de I Grado en Medicina Interna.

Existen varios trabajos en los cuales se expone la relación existente entre el estrés oxidativo y algunas enfermedades, *N.F. Boyd* y *V.Mc Guire* realizaron un estudio en 37 450 mujeres que tenían el diagnóstico de displasia mamaria, y encontraron elevación de los niveles de lípidos peroxidados. El *Linxian General Population Study* realizado en una población china de 30 000 personas mostró una reducción significativa del cáncer de estómago en aquellos que ingirieron suplementos de antioxidantes. El estudio MONICA de la OMS mostró una correlación inversa entre los niveles de vitamina E y la mortalidad por infarto del miocardio en 16 ciudades europeas. El *Cambridge Heart Antioxidant Study* (CHAOS) agrupó a 2 000 pacientes con enfermedad coronaria comprobada por coronariografía, que fueron divididos en 2 grupos: a uno se le administró un placebo y al otro 800 UI de vitamina E; después de un seguimiento de 510 d se observó una disminución de la mortalidad por infarto del miocardio en el grupo tratado.³

Cuba da sus primeros pasos en este campo de la investigación, varios son los logros obtenidos por los científicos, y se destaca la obtención del VIMANG, un producto terapéutico con propiedades antioxidantes comprobadas. Ya en 1999 se celebró en Cuba el Simposio Internacional Estrés Oxidativo en Biomedicina, que estuvo caracterizado por un gran nivel científico y de actualidad.

Hoy día en todo el mundo este tema ha dejado de ser solo interés de bioquímicos y fisiológicos para convertirse en un arma más en la comprensión y origen de las enfermedades que afectan actualmente a la humanidad.⁴

Todos los elementos señalados hasta aquí han motivado la realización de esta revisión.

DAÑO O ESTRÉS OXIDATIVO

De manera habitual, el oxígeno se encuentra en su forma más estable (O_2), con los electrones que forman el enlace (p), antienlazante con el mismo espín, es decir, en lo que se conoce como estado triplete, así el oxígeno es poco reactivo con una velocidad de reacción a temperatura fisiológica baja; sin embargo por reacciones puramente químicas, por acciones enzimáticas o por efecto de las radiaciones ionizantes, se pueden producir una serie de especies químicas o sustancias prooxidantes (moléculas o radicales libres altamente reactivos) que son capaces de dar lugar a múltiples reacciones con otros compuestos presentes en el organismo, que llegan a producir daño celular. Por lo anteriormente expuesto se comprende que si bien el oxígeno es imprescindible para el metabolismo y las funciones del organismo, no se deben olvidar los muchos efectos tóxicos que posee.⁵⁻⁷

El daño o estrés oxidativo se ha definido como la exposición de la materia viva a diversas fuentes que producen una ruptura del equilibrio que debe existir entre las sustancias o factores prooxidantes y los mecanismos antioxidantes encargados de eliminar dichas especies químicas, ya sea por un déficit de estas defensas o por un incremento exagerado de la producción de especies reactivas del oxígeno. Todo esto trae como consecuencia alteraciones de la relación estructura-función en cualquier órgano, sistema o grupo celular especializado; por lo tanto se reconoce como mecanismo general de daño celular, asociado con la fisiopatología primaria o la evolución de un número creciente de entidades y síndromes de interés médico-social, involucrado en la génesis y en las consecuencias de dichos eventos.⁸

RADICALES LIBRES

Desde el punto de vista químico los radicales libres son todas aquellas especies químicas, cargadas o no, que en su estructura atómica presentan un electrón desapareado o impar en el orbital externo, dándole una configuración espacial que genera gran inestabilidad, señalizado por el punto situado a la derecha del símbolo. Poseen una estructura birradicálica, son muy reactivos, tienen una vida media corta, por lo que actúan cercano al sitio en que se forman y son difíciles de dosificar.⁹⁻¹¹ Desde el punto de vista molecular son pequeñas moléculas ubicuarias y difusibles que se producen por diferentes mecanismos entre los que se encuentran la cadena respiratoria mitocondrial, la cadena de transporte de electrones a nivel microsomal y en los cloroplastos, y las reacciones de oxidación, por lo que producen daño celular (oxidativo), al interactuar con las principales biomoléculas del organismo.

No obstante lo expresado anteriormente, los radicales libres del oxígeno tienen una función fisiológica en el organismo como la de que participan en la fagocitosis, favorecen la síntesis de colágeno, favorecen la síntesis de prostaglandinas, activan enzimas de la membrana celular, disminuyen la síntesis de catecolaminas por las glándulas suprarrenales, modifican la biomembrana y favorecen la quimiotaxis.

Existe un término que incluye a los radicales libres y a otras especies no radicálicas, pero que pueden participar en reacciones que llevan a la elevación de los agentes prooxidantes y son las especies reactivas del oxígeno (EROS).^{12,13}

Las principales especies reactivas del oxígeno o sustancias prooxidantes son:

- Radical hidroxilo (HO) +
- Peróxido de hidrógeno (H₂O₂)
- Anión superóxido (O₂⁻)
- Oxígeno singlete (¹O₂)
- Oxígeno nítrico (NO)
- Peróxido (ROO)
- Semiquinona (Q)
- Ozono

Los radicales libres del oxígeno se clasifican de la forma siguiente:

1. *Radicales libres inorgánicos o primarios.* Se originan por transferencia de electrones sobre el átomo de oxígeno, representan por tanto distintos estados en la reducción de este y se caracterizan por tener una vida media muy corta; estos son el anión superóxido, el radical hidroxilo y el óxido nítrico.
2. *Radicales libres orgánicos o secundarios.* Se pueden originar por la transferencia de un electrón de un radical primario a un átomo de una molécula orgánica o por la reacción de 2 radicales primarios entre sí, poseen una vida media un tanto más larga que los primarios; los principales átomos de las biomoléculas son: carbono, nitrógeno, oxígeno y azufre.
3. *Intermediarios estables relacionados con los radicales libres del oxígeno.* Aquí se incluye un grupo de especies químicas que sin ser radicales libres, son generadoras de estas sustancias o resultan de la reducción o metabolismo de ellas, entre las que están el oxígeno singlete, el peróxido de hidrógeno, el ácido hipocloroso, el peroxinitrito, el hidroperóxidos orgánicos.¹⁴

Los radicales libres se generan a nivel intracelular y extracelular. Entre las

células relacionadas con la producción de radicales libres del oxígeno tenemos los neutrófilos, monocitos, macrófagos, eosinófilos y las células endoteliales. Las enzimas oxidantes involucradas son la xantina-oxidasa, la indolamindioxigenasa, la triptofano-dioxigenasa, la mieloperoxidasa, la galactosa oxidasa, la ciclooxigenasa, la lipoxigenasa, la monoamino-oxidasa y la NADPH oxidasa.^{15,16} Y entre las sustancias y agentes es conocida ampliamente la relación de los productos cíclicos de naturaleza redox como son el paraquat, diquat, alloxano, estreptozozina y doxorubicina, con los radicales libres. También se producen radicales libres por la administración de paracetamol, tetracloruro de carbono y furosemida; por último no se puede olvidar agentes como el humo de cigarrillos, las radiaciones ionizantes, la luz solar, el *shock* térmico y las sustancias que oxidan el glutatión (GSH) como fuentes de radicales libres.¹⁷⁻¹⁹

Existen algunas circunstancias en que también se producen radicales libres como son:

- Dieta hipercalórica.
- Dieta insuficiente en antioxidantes.
- Procesos inflamatorios y traumatismos.
- Fenómenos de isquemia y reperfusión.
- Ejercicio extenuante.

EFEECTO NOCIVO DE LOS RADICALES LIBRES

El daño celular producido por las especies reactivas del oxígeno ocurre sobre diferentes macromoléculas:

1. *Lípidos*. Es aquí donde se produce el daño mayor en un proceso que se conoce como peroxidación lipídica, afecta a las estruc-

turas ricas en ácidos grasos poliinsaturados, ya que se altera la permeabilidad de la membrana celular produciéndose edema y muerte celular. La peroxidación lipídica o enranciamiento oxidativo representa una forma de daño hístico que puede ser desencadenado por el oxígeno, el oxígeno singlete, el peróxido de hidrógeno y el radical hidroxilo. Los ácidos grasos insaturados son componentes esenciales de las membranas celulares, por lo que se cree son importantes para su funcionamiento normal, sin embargo, son vulnerables al ataque oxidativo iniciado por los radicales libres del oxígeno.²⁰⁻²²

Los factores que influyen en la magnitud de la peroxidación lipídica son:

- a) La naturaleza cualitativa y cuantitativa del agente inicializador.
- b) Los contenidos de la membrana en ácidos grasos poliinsaturados y su accesibilidad.
- c) La tensión de oxígeno.
- d) La presencia de hierro.
- e) El contenido celular de antioxidantes (betacarotenos, alfatocoferoles, glutatión).
- f) La activación de enzimas que pueden hacer terminar la cadena de reacción como es el caso de la glutatión peroxidasa (GSH-Prx).

Una vez que se inicia, el proceso toma forma de "cascada", con producción de radicales libres que lleva a la formación de peróxidos orgánicos y otros productos, a partir de los ácidos grasos insaturados; una vez formados, estos radicales libres son los responsables de los efectos citotóxicos.²³

2. *Proteínas*. Hay oxidación de un grupo de aminoácidos como fenilalanina, tirosina, histidina y metionina; además se forman entrecruzamientos de cadenas peptídicas, y por último hay formación de grupos carbonilos.

3. *Ácido desoxirribonucleico (ADN)*. Ocurren fenómenos de mutaciones y carcinogénesis, hay pérdida de expresión o síntesis de una proteína por daño a un gen específico, modificaciones oxidativas de las bases, deleciones, fragmentaciones, interacciones estables ADN-proteínas, reordenamientos cromosómicos y desmetilación de citosinas del ADN que activan genes. El daño se puede realizar por la alteración (inactivación/pérdida de algunos genes supresores de tumores que pueden conducir a la iniciación, progresión, o ambas de la carcinogénesis). Los genes supresores de tumores pueden ser modificados por un simple cambio en una base crítica de la secuencia del ADN.²⁴⁻²⁸

SISTEMAS DE DEFENSA ANTIOXIDANTE

El sistema de defensa antioxidante está constituido por un grupo de sustancias que al estar presente en concentraciones bajas con respecto al sustrato oxidable, retrasan o previenen significativamente la oxidación de este. Como sustrato oxidable se pueden considerar casi todas las moléculas orgánicas o inorgánicas que se encuentran en las células vivas, como proteínas, lípidos, hidratos de carbono y las moléculas de ADN.²⁹ Los antioxidantes impiden que otras moléculas se unan al oxígeno, al reaccionar-interactuar más rápido con los radicales libres del oxígeno y las especies reactivas del oxígeno que con el resto de las moléculas presentes, en un determinado microambiente -membrana plasmática, citosol, núcleo o líquido extracelular (tabla 1). La acción del antioxidante es de sacrificio de su propia integridad molecular para evitar alteraciones de moléculas -lípidos, proteínas, ADN, etc.- funcionalmente vitales o más importantes.³⁰ Su acción la realizan tanto en medios hidrofílicos como hidrofóbicos.³¹

Actúan como eliminadoras (Scavengers), con el objetivo de mantener el equilibrio prooxidante/antioxidante a favor de estos últimos (tabla 2). Los antioxidantes exógenos actúan como moléculas suicidas, ya que se oxidan al neutralizar al radical libre, por lo que la reposición de ellos debe ser continua, mediante la ingestión de los nutrientes que los contienen.

TABLA 1. Clasificación de los antioxidantes según el sitio donde ejercen su acción

Intracelular	Membrana	Extracelular
Superóxido dismutasa	Vitamina E	Ceruloplasmina
Catalasa	Betacarotenos	Transferinas
Peroxidasa	Ubiquinol-10	Lactoferinas
DT-deafarasa		Albúminas
GSH		Haptoglobinas
Proteínas que ligan metales		Vitamina C
Sistemas proteolíticos		Ácido úrico
Vitamina C		Vitamina E

CARACTERÍSTICAS DE LAS ENZIMAS ANTIOXIDANTES³²

1. Catalasa (CAT). Tiene una amplia distribución en el organismo humano, alta concentración en hígado y riñón, baja concentración en tejido conectivo y epitelios, prácticamente nula en tejido nervioso y se localiza a nivel celular: mitocondrias, peroxisomas, citosol (eritrocitos); presenta 2 funciones fundamentales: catalítica y peroxidativa y forma parte del sistema antioxidante CAT/SOD que actúa en presencia de altas concentraciones de peróxido de hidrógeno.
2. Glutatión peroxidasa (GPx). Es una enzima selenio dependiente, cataliza la reducción de peróxido de hidrógeno a lipoperóxido (L-OOH), usa como agente reductor el glutatión reducido (GSH) y

TABLA 2. Clasificación de los antioxidantes, según origen

Origen	Acción
1. Exógenos	
Vitamina E	- Neutraliza el oxígeno singlete - Captura radicales libres hidroxilo - Captura O ₂ - Neutraliza peróxidos
Vitamina C	- Neutraliza el oxígeno singlete - Captura radicales libres de hidroxilo - Captura O ₂ - Regenera la forma oxidada de la vitamina E
Betacarotenos Flavonoides, Licopenos	Neutraliza el oxígeno singlete
2. Endógenos	
Enzimáticos	Cofactor
Superóxido dismutasa (SOD)	Cobre, sodio, manganeso
Catalasa (CAT)	Hierro
Glutatión peroxidasa (GPx)	Selenio
3. No enzimáticos	
Glutatión	Barreras fisiológicas que enfrenta el oxígeno a su paso desde el aire hasta las células
Coenzima Q	Transportadores de metales (transferrina y ceruloplasmina)
Ácido Tiocico	

se localiza en: citosol (eritrocitos), lisosomas (neutrófilos, macrófagos y otras células del sistema inmune). Existen 3 formas de GPx: GPx-c o forma celular: tiene mayor afinidad por el peróxido de hidrógeno que por el lipoperóxido; GPx -p o forma extracelular: presenta afinidad semejante para ambos sustratos; GPx-PH: Tiene afinidad específica para los lipoperóxidos. Las formas GPx-c y GPx-p no son capaces de utilizar los lipoperóxidos.

3. *Superóxido dismutasa*. Su distribución es amplia en el organismo, está formada por un grupo de enzimas metaloides: Cu-SOD y Zn-SOD: contienen cobre y cinc en su sitio activo y se encuentran en el citosol y en el espacio inter-membranoso mitocondrial; Mn-SOD: contiene manganeso y se localiza en la matriz

mitocondrial; Fe-SOD: contiene hierro y se localiza en el espacio periplasmático de la *E. Coli*. Estas enzimas dismutan el oxígeno para formar peróxido de hidrógeno y su principal función es la protección contra el anión superóxido.

Indicaciones de los antioxidantes

- Antecedentes hereditarios de enfermedad aterosclerótica o tumoral.
- Tabaquismo.
- Hipertensión arterial.
- Prevención primaria de dislipidemia, diabetes, obesidad, sedentarismo, estrés y menopausia.
- Prevención secundaria de angina de pecho, afección vascular periférica, enfermedad cerebrovascular, antecedentes de infarto, técnicas de revascularización previas (*bypass*, angioplastia, terapias trombolíticas), cataratas incipientes, displasias mamarias, trasplante de órganos, cáncer, infertilidad masculina y enfermedades neurodegenerativas.³³ Existen algunas recomendaciones que mejoran la capacidad antioxidante como son:³⁴
 - Ejercicio regular no extenuante.
 - Supresión del mal hábito de fumar.
 - Evitar dietas hiperproteicas e hipercalóricas.
 - Priorizar la ingestión de vegetales en las comidas.
 - Evitar el estrés.
 - Suplementación con antioxidantes y oligoelementos.^{35,36}
 - Vitamina E: 100-400 mg.
 - Vitamina C: 200-2 000 mg.
 - Betacarotenos: 2-10 mg.
 - Selenio: 50-100 mg.
 - Manganeso: 1,5 mg.
 - Cobre: 1 mg.

SUMMARY

A literature review was made on the topic of free oxygen radicals, reactive oxygen species and oxidative stress to bring medical science specialists closer to the interesting and ever increasingly important world of free radicals, a topic of interest at present not only for biochemists, physiologists and other specialists in basic medical sciences but for other experts as well. This paper provides a general view of the main aspects of this topic, concepts, classifications and characteristics of free radicals, and of the various systems of antioxidant defense. Also, it briefly explains the mechanisms by which these chemical species damage the body, and finally makes recommendations from the hygiene-dietary viewpoint in order to keep an adequate prooxidant-antioxidant balance.

Subject headings: FREE RADICALS/analysis; FREE RADICALS/adverse effects; OXIDATIVE STRESS; ANTIOXIDANTS.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Romero Alvira D, Bueno Gómez J. Radicales libres del oxígeno y antioxidantes en medicina (Editorial). *Rev Clin Española* 1998;184(7):345-6.
2. Berg P. Dissections and reconstructions of genes and chromosomes, (Nobel lecture). *Science* 1981;213:296-303.
3. Ferreira R. Estrés oxidativo y antioxidantes. De las Ciencias Básicas a la Medicina Aplicada. Buenos Aires:Laboratorios Bagó 1996:24.
4. Halliwell B. Antioxidants in human health and disease. *Annu Rev Nutrition* 1996;16:33-50.
5. Fridovich I. The Biology of oxygen radicals. *Science* 1978;201:875-88.
6. Alberts B, Bray D, Lewis J. *Molecular Biology of the cell*, 3 ed. New York: Garland. Pub Inc 1994:1161-75.
7. Halliwell B. The antioxidant paradox. *The Lancet* 2000;355:1179-84.
8. Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. Oxidants, antioxidants, and the degenerative disease of aging. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90:7915-22.
9. Cheesman KH, Slater TF. Free Radicals in Medicine. *Br Med Bull* 1998;49:118-21.
10. Cheesman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull* 1998;49:481-93.
11. Basaga HS. Biomedical aspects of free radicals. *Biochem Cell Biol* 1989;68:989-98.
12. Naqui A, Britton C, Cadenas E. Reactive oxygen intermediates in biochemistry. *Annu Rev Biochem* 1996;55:137-66.
13. Beckman JS, Koppenal WH. Nitric oxide superoxide, and peroxynitrite- the good, the bad, and the ugly- *Am J Physiol* 1996;40:C1424-37.
14. Diplock A. Antioxidant nutrients and disease prevention: an overview. *Am J Clin Nutr* 1991;53:S189-93.
15. Expósito LA, Kokoszka JE, Waymire KG. Mitochondrial oxidative stress in mice lacking the glutathione peroxidase-1 gene. *Free Radic Biol Med* 2000;28(5):754-66.
16. Turrens J. Fuentes intracelulares de especies oxidativas en condiciones normales y patológicas. *Antioxidantes y Calidad de Vida* 1994;1:16-9.
17. Sun Y, Oberly LW. Redox regulation of transcriptional activator. *Free Rad Biol Med* 1996;21:335-48.
18. Jones DP, Carlson JL, Mody VC, Cal J. Redox state of glutathione in human plasma. *Free Radic Biol Med* 2000;28(4):625-35.
19. Mc Cord Jm, Ormar BA. Sources of free radicals. *Toxicol Indust Health* 1993;9:23-37.
20. Jerlick A, Pitt AR, Schaur RJ, Spickett CM. Pathway of phospholipid oxidation by HOC1 in human LDL, detected by LC-MS. *Free Radic Biol Med* 2000;28(5):673-82.
21. Cadenas E. Biochemistry of oxygen toxicity. *Annu Rev Biochem* 1997;58:79-110.
22. Reylli PM, Burkley GB. Tissue injury by free radicals and other toxic oxygen metabolites. *Br J Surg* 1990;77:1324-5.
23. Rangon V, Bulkley GB. Prospects for treatment of free radicals-mediated tissue injury. *Br Med Bull* 1993;49:700-18.
24. Roche E. Estrés oxidativo y degradación de proteínas. *Med Clin* 1994;103:189-96.
25. Fraga CG, Shigenaga MK, Park JW, Degan P. Oxidative damage to DNA during aging. *Proc Natl Acad Sci* 1990;87:4533-7.

26. Wiseman H, Halliwell B. Damage to DNA by reactive oxygen and nitrogen species: role in inflammatory disease and progression to cancer. *Biochem J* 1996;S13:17-29.
27. Cadet J, Berger M, Dauky T. Oxidative damage to DNA: formation, measurement, and biological significance. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 1997;131:1-87.
28. Oteiza PA. Modificación oxidativa de proteínas. *Antioxidantes y calidad de vida* 1995;2:12-20.
29. Thomas JA. Oxidative stress, oxidant defense and dietary constituents. *Modern nutrition in health and disease*. 8 ed. Willians and Wilkins; Philadelphia:1994:501-12.
30. Reitter RJ. Oxidative processes and antioxidative mechanisms. *FASEB J* 1995;9:526-33.
31. Jakoky WB, Ziegler DM. The enzymes of detoxication. *J Biol Chem* 1990;265:20715-8.
32. Céspedes M, Ela M. Enzimas que participan como barreras fisiológicas para eliminar radicales libres. *Rev Cubana Inv Biomed* 1996;15(2):75-8.
33. Giugliano D. Dietary antioxidant for cardiovascular prevention. *Nutr Metab Cardiovasc* 2000;10(1):38-44.
34. Yu BP. Aging and oxidative stress: modulation by dietary restriction. *Free Rad Biol Med* 1996;21:651-68.
35. Willete WC. Diet and health: What should we eat? *Science* 1994;264:532-7.
36. Halliwell B. Antioxidant nutrients-Efficacy in disease prevention and safety. *Biochemistry* 1995;feb/Mar:16-8.

Recibido: 17 de enero del 2002. Aprobado: 21 de febrero del 2002.

Cap. *Justo R. Venereo Gutiérrez*. Instituto Superior de Medicina Militar "Dr. Luis Díaz Soto". Avenida Monumental, Habana del Este, Ciudad de La Habana, Cuba.