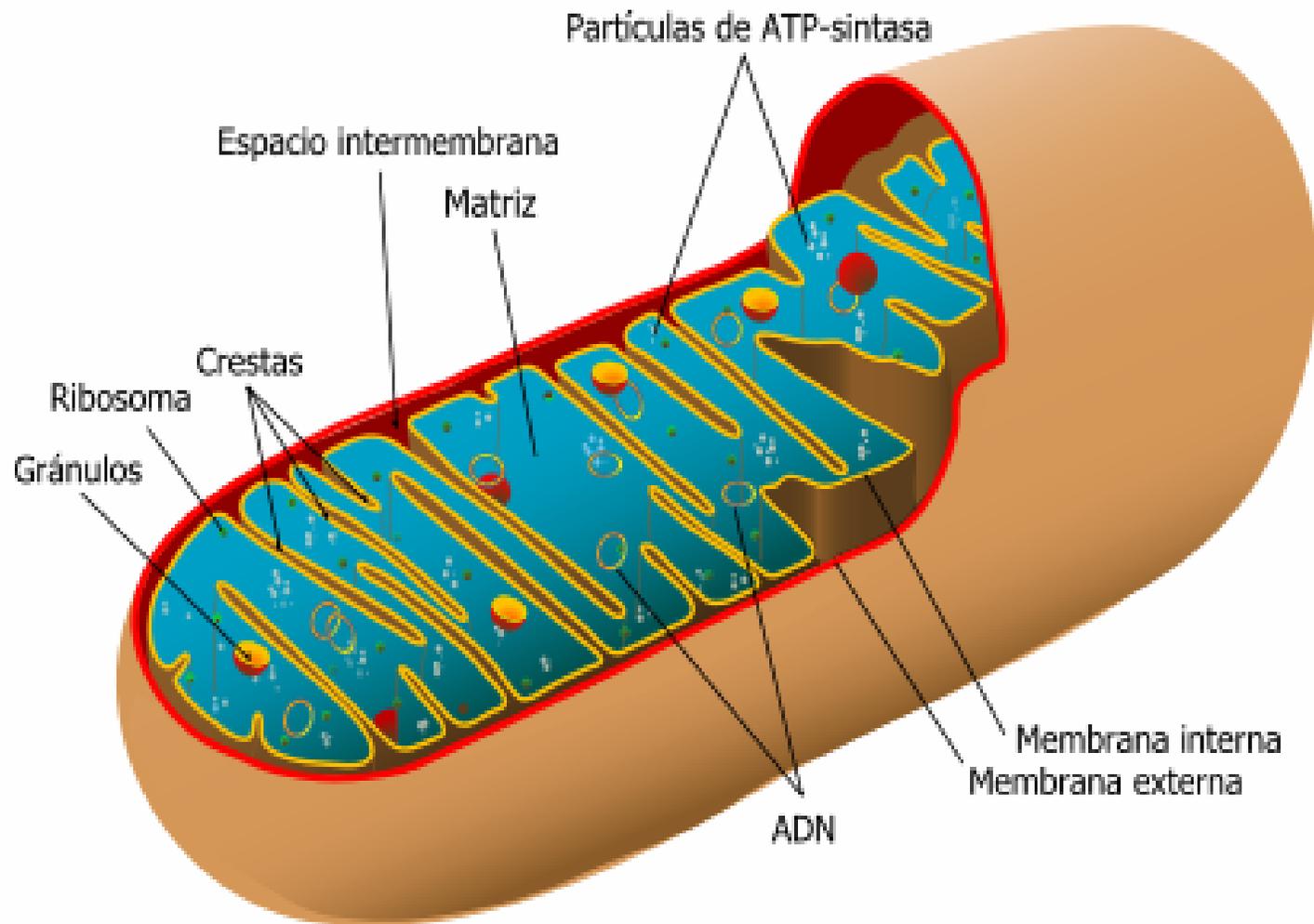


# **Oxidaciones Biológicas y Estrés Oxidativo. Generalidades**

**MC. Celia A. Alonso  
Rodríguez**

# Paradoja del Oxígeno

# Estructura y composición





ATP



Dioxígeno



# **Radical Libre**

Concepto: *Cualquier especie química provista de un electrón impar en su orbital más externo.*

## Características.-

- \* *Momento magnético que se compara a los elementos de Trans.*
- \* *Reactividad química elevadísima.*
- \* *Tiempo de vida media muy corto.*
- \* *Extremadamente difícil su dosificación.*



■ *Anión Superóxido (  $O_2^-$  )*

■ *Radical Hidroxilo (  $\cdot OH$  )*



■ *Peróxido de Hidrógeno (  $H_2O_2$  )*



■ *Oxígeno singlete (  $O^1 \downarrow 2$  )*



■ *Radical perhidroxilo (  $OH^-2$  )*



■ *Peroxilo ( ROO- )*

■ *Oxido nítrico ( NO )*

■ *Semiquinona ( Q . )*

■ *Peroxinitrato ( ONOO - )*

■ *Ozono ( O3 )*



# *Anión Superóxido (O<sub>2</sub><sup>-</sup>)*



- Cadena respiratoria: Autoxidación de la ubisemiquinona (UQH.) y la autoxidación de la semiquinona de la flavoproteína de la NADH deshidrogenasa (FMNH.)
- La flavo proteína NADPH-citocromo P-450 del retículo endoplásmico.
- La enzima xantino oxidasa del citosol.



## *Anión Superóxido (O<sub>2</sub><sup>-</sup>)*

- Mitocondrias: alrededor de  $10^{-10}$  M por efecto de la superóxido dismutasa-Mn
- Citosol:  $10^{-11}$  M por la acción de las superóxido dismutasa Cu-Zn-SOD .

## ↓ *Anión Superóxido* ( $O_2^-$ )

- Reduce al  $Fe^{3+}$ , libre en solución, acompañado con aniones orgánicos o ligado a la ferritina.
- El  $Fe^{2+}$  formado produce la ruptura homolítica del peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) generando radical hidróxilo ( $HO\cdot$ )



# ***Radical Hidróxilo ( .OH )***



- El .HO es capaz de sustraer un átomo de hidrógeno de los carbonos alílicos (=CH-) de:
- Ácidos grasos insaturados de las membranas celulares
- Bases púricas y pirimídicas de los AN, formando radicales libres alquilo (R.)

- Los (R.) de las bases de los ácidos nucleicos frecuentemente se dimerizan, como es el caso de los dímeros de timina.
- Los radicales alquilo derivados de los ácidos grasos insaturados en reacciones de adición con oxígeno molecular generan radicales peroxilo (ROO.)



- La peroxidación lipídica o lipoperoxidación es el proceso químico donde las reacciones ocurren sobre ácidos grasos insaturados.
- Los grupos-OOH de los hidroperóxidos (ROOH, llevan a una distorsión de su espacio hidrofóbico y a una pérdida de su función biológica.

- La acumulación de grupos hidroperóxido en carbonos alílicos lleva a su vez a la ruptura de la cadena carbonada y a la formación de malonaldehído (COH-CH<sub>2</sub>-CHO) que es un indicador de la ocurrencia de lipoperoxidación.

- Los daños al ADN pueden causar **mutaciones** y posiblemente **cáncer** si no son revertidos por los mecanismos de **reparación de AN**, mientras que los daños a las proteínas causan la **inhibición de enzimas**, la **desnaturalización** y la **degradación de proteínas**.

# Oxígeno singlete ( $O^1\Delta_g$ )



- El estado electrónico excitado del oxígeno molecular, es producto secundario marcador del proceso de lipoperoxidación.
- Es quimioluminiscente y la emisión espontánea de luz roja de órganos de mamíferos *in situ* constituye una evidencia de que la lipoperoxidación ocurre en forma significativa en condiciones fisiológicas.

# La Fortaleza Celular

**Primera Línea de Defensa**

**Enzimas y antioxidantes**

# ***Mecanismos de Defensa***

- Barreras fisiológicas al paso del oxígeno.
- Enzimas y sistemas generadores de NADPH.
- Antioxidantes directos como la vitamina A, E, C, selenio, aminoácidos sulfurados y la coenzima Q10.
- Transportadores de metales de transición como la transferrina y la ceruloplasmina.

# ***Enzimas antioxidantes***

- Superóxido dismutasas
- Catalasa
- Sistemas Tiorredoxina y Glutación
- Peroxirredoxinas y Peroxidasas
- La acción conjunta de estas enzimas mantiene mínimas concentraciones de  $O_2^-$  y de  $H_2O_2$  con el fin de disminuir la velocidad de las reacciones que generan el reactivo radical  $HO\cdot$ .

# ***Antioxidantes***

- Vitaminas: E y C.
- Provitaminas:  $\beta$ -caroteno
- Antioxidantes alimentarios, como los flavononoides: las antocianinas, las catequinas y las antocianinidinas.
- Otros: la ubiquinona y el ácido lipoico.

- Exógenos: Vitamina E (VE), Vitamina C (VC), Betacaroteno (BC), Flavonoides, Licopeno
- Endógenos: Glutación, Coenzima Q, Acido tióctico,
- Enzimas: Superóxido dismutasa (SOD), Catalasa, Glutación peroxidasa,  
Cofactores: Cobre, Zinc, Manganeso, Hierro, Selenio.

<b>Metabolito antioxidante</b>	<b>Solubilidad</b>
<u>Ácido ascórbico</u> (vitamina C)	Agua
<u>Glutación</u>	Agua
<u>Ácido lipoico</u>	Agua
<u>Ácido úrico</u>	Agua
<u>Carotenos</u>	Lípido
<u>α-tocoferol</u> (vitamina E)	Lípido
<u>Ubiquinol</u> (coenzima Q)	Lípido

- El glutathión es un péptido que contiene cisteína y es encontrado en la mayoría de las formas de vida aerobia.
- La melatonina es un poderoso antioxidante que puede cruzar fácilmente las membranas celulares y la barrera hematoencefálica.
- El completar un ciclo redox permite a otros antioxidantes (tales como la vitamina C) actuar como pro-oxidantes y promover la formación de radicales libre.

- La vitamina E es el nombre colectivo para un sistema de ocho tocoferoles y tocotrienoles relacionados, que son vitaminas antioxidantes liposolubles.
- Dos carotenoides dietarios importantes son el licopeno y el  $\beta$ -caroteno. Están involucrados en la eliminación de dos de las especies reactivas del oxígeno, el oxígeno singlete y el radical peroxilo.

- Los polifenoles son fitoquímicos de bajo peso molecular, esenciales para el ser humano. Pueden ser moléculas simples (ácido fenólico, fenilpropanoides, flavonoides), hasta compuestos altamente polimerizados (ligninas, taninos).

- Los antioxidantes que son agentes de reducción pueden también actuar como pro-oxidantes.
- La vitamina C tiene actividad antioxidante cuando reduce sustancias oxidantes tales como el peróxido de hidrógeno, pero puede también reducir iones de metales lo que conduce a la generación de radicales libres a través de la reacción de Fenton

- La importancia relativa de las actividades de los antioxidantes como pro-oxidantes y antioxidantes es un área de investigación actual, pero la vitamina C, por ejemplo, parece tener una acción mayormente antioxidante en el cuerpo.
- Hay menos datos disponibles para otros antioxidantes de la dieta, como los polifenoles antioxidantes, el zinc, y la vitamina E.

# *Segunda Línea de Defensa*

- DT-diofrasa.
- Enzimas que reparan los daños oxidativos: reparación de ácidos nucleicos y las que separan los ácidos grasos y los amino ácidos hidroxilados o modificados, como la fosfolipasa A, y las proteasas especializadas.

# *Qué hacen los Antioxidantes?*

- Reaccionar con gran eficiencia con los radicales libres convirtiéndose el antioxidante en un radical libre.
- Disminuyen las concentraciones en estado estacionario de R. y ROO. en el sistema, y retardan la velocidad de la cadena de reacciones de radicales libres y la formación de productos.

- **Vitamina C:** Neutraliza el oxígeno singlete. Captura radicales hidroxilos. Captura aniones superoxidados. Regenera la forma oxidada de VE.
- **Vitamina E:** Neutraliza el oxígeno singlete. Captura radicales libres hidroxilo. Captura anión superóxido. Neutraliza peróxidos.
- **Beta caroteno:** Neutraliza el oxígeno singlete

# ***ESTRÉS OXIDATIVO***

- El desbalance entre radicales libres oxidantes y contenido de antioxidantes .
- Actualmente el concepto de la de condición de estrés oxidativo, se define como un aumento de las concentraciones intracelulares de radicales libres oxidantes.

# ***Cuándo se produce EO?***

- En una serie de situaciones patológicas como isquemia/reperfusión asociada a la revascularización coronaria (by pass), el trasplante de Órganos y el shock séptico se ha reconocido una situación de estrés oxidativo en los pacientes.

# Fuentes de estrés oxidativo en fisiopatología humana

## *Fuente*

## *Mecanismo*

- Transporte de elect. mitocondriales
- Metales de transición
- Enzimas, ej. xantina oxidasa
- Metabol. de drogas (AINE)
- Humo de cigarro
- Radiaciones

- escape de superóxido por ins.red. de O<sub>2</sub>
- Fe y Co forman "O<sub>2</sub>
- Isquemia - reperfusión
- Intermediarios de los radicales libres
- Gas rico en RL
- Rayos X y UV

# *Fuentes de estrés oxidativo en fisiopatología humana (2)*

## *Fuente*

## *Mecanismo*

- Productos químicos de uso industrial.
  - Aditivos de los alimentos.
  - Intermediarios de la glicosilación química de las proteínas y de la autoxidación de las catecolaminas.
  - Agentes de polución ambiental.
- Intermediarios de los radicales libres

# Homocisteína

- Durante su autooxidación se generan como productos derivados, potentes especies reactivas de oxígeno, tales como el anión superóxido, el peróxido de hidrógeno y el anión hidroxilo.
- Estas especies de oxígeno reactivo pueden provocar disfunción endotelial

## Daño de la pared vascular :

- Regulación vasomotora alterada.
- Cambio del fenotipo antitrombótico.
- Activación y agregación plaquetaria.
- Activación de la elastasa.
- Aumento de la deposición de Ca<sup>2+</sup> en la íntima.
- -Peroxidación de los lípidos
- Degradación de ácidos grasos polinsaturados.
- Formación de lisolecitina y modificación aldehídica de los restos de lisina de la Apo B100, con los consiguientes efectos citotóxicos y aterogénicos.

# Efectos directos de la homocisteína y de la homocistina

- Efecto estimulante de la homocisteína sobre la síntesis de ADN en células musculares lisas (CMLs) en cultivo, obtenidas de vasos sanguíneos de humanos con un efecto bifásico: al aumentar la concentración, se produce un incremento de la intensidad de la biosíntesis de ADN, pero a concentraciones mucho mayores, que sobrepasan los límites patofisiológicos, se observa una marcada inhibición en la síntesis de ADN.

# Efectos directos de la homocisteína y de la homocistina

- También se ha observado un efecto bifásico en la actividad colagenasa medida por zimografía en la matriz extracelular de la pared vascular; causado por la concentración de homocisteína.
- Se ha reportado la inhibición que ejerce la forma reducida de este aminoácido sobre la interacción del activador tisular de plasminógeno con la anexina.

# Efectos directos de la homocisteína y de la homocistina

- Altos niveles de homocisteína disminuyen el diámetro del vaso, promoviendo la vasoconstricción.
- Existen reportes que demuestran que también puede ocurrir un incremento en la actividad del factor tisular, (una de las proteínas que inician la cascada de coagulación) y en consecuencia desencadenar la coagulación, favoreciendo la formación de trombos.

# Efectos sobre el metabolismo del óxido nitroso (NO)

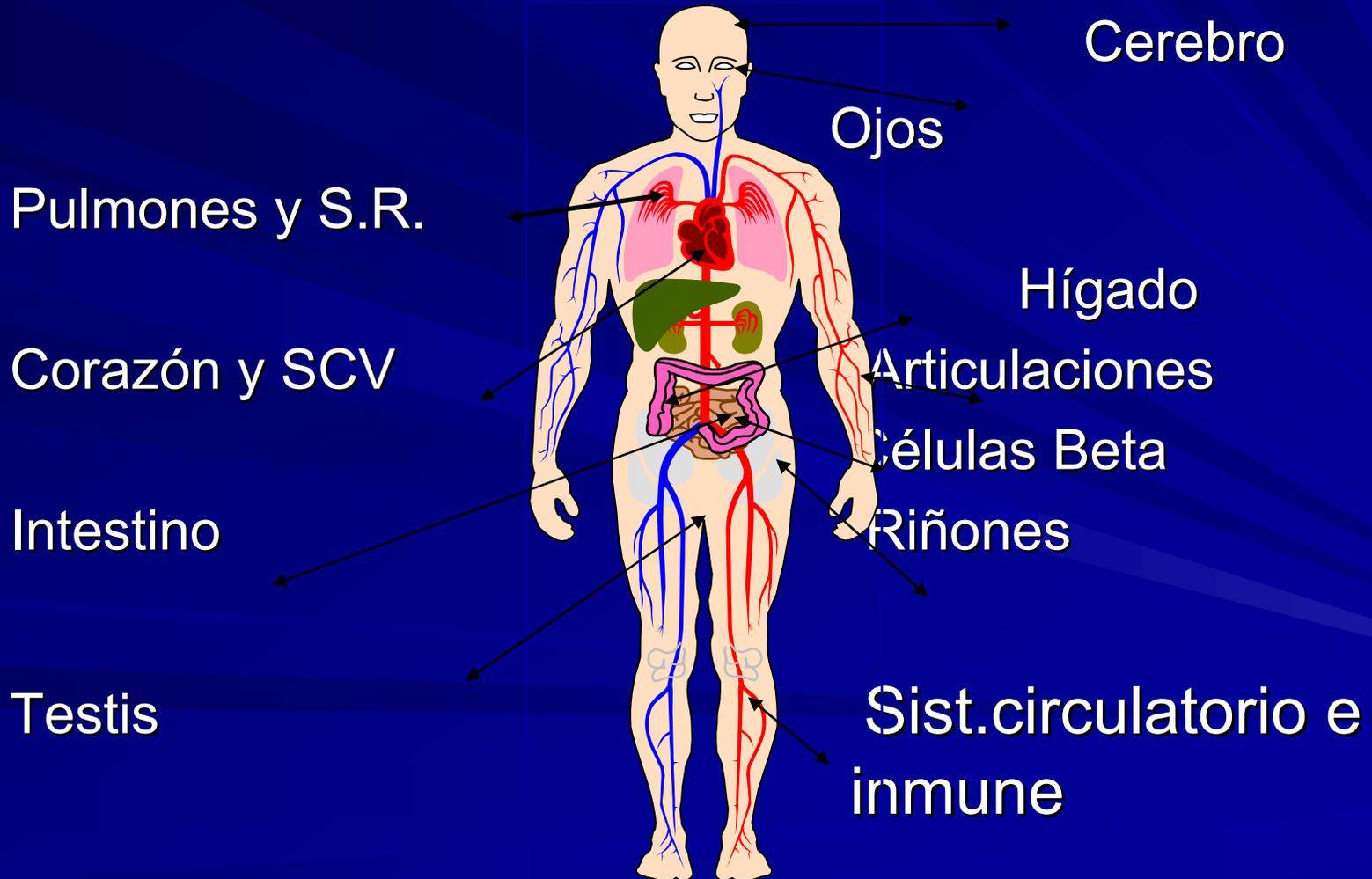
- La incapacidad del endotelio para sintetizar NO provoca una incapacidad del vaso sanguíneo para controlar su tono muscular, lo cual recibe el nombre de "disfunción endotelial"
- La exposición por largo tiempo de las células endoteliales a la homocisteína puede producir una disminución de la disponibilidad de NO por 2 vías:
  - -a) por afectación de su síntesis;
  - -b) por agotamiento del gas ya formado,

- En las células musculares lisas la homocisteína promueve, ya sea directamente o mediada por especies reactivas del oxígeno, el aumento de la producción de NO en estas células, debido a una inducción de la sintetasa de óxido nítrico 2 (NOS 2) medida por el NFkB, lo cual habla a favor de la acción mitogénica de la homocisteína, pues se ha demostrado el papel del mencionado factor de transcripción para la proliferación de células musculares lisas en cultivo.

# Causas conductuales y ambientales de hiperhomocisteinemia

- **Nutricionales:** ingesta baja de vitaminas B6, B12 y ácido fólico.
- **Edad y sexo:** Aumenta con la edad y es mayor en hombres que en mujeres, se asocia a la masa muscular.
- **Drogas y medicamentos**

# Dianas del ataque de Radicales Libres



### Aparato cardiovascular:

Aterosclerosis

Infarto de miocardio

Trasplante de organos

Cirugía cardiaca

Toxicidad por adriamicina

Cardiomiopatía alcohólica

Diabetes

### Sistema nervioso:

Enfermedad de Parkinson

Alzheimer

Neuropatía alcohólica

Hiperoxia

Isquemia o infarto cerebral

Traumatismo cerebral

### Aparato ocular:

Cataratas

Daño degenerativo de la retina

Fibroplasia retrolental

### Aparato respiratorio:

Hiperoxia

Displasia broncopulmonar

Enfisema

Cáncer de pulmón

Tabaquismo

Síndrome distres respiratorio de adulto

### Sistema osteoarticular:

Artritis reumatoidea

### Tubo digestivo:

Úlcera gastroduodenal

Daño hepático por endotoxinas, xenobiotico y metales pesados

Hepatopatía alcohólica

Cáncer (ciertas variedades)

### Riñón:

Síndromes autoinmunes

Nefrotoxicidad por metales

### Glándula mamaria y útero:

Displasias y Tumores

# Cuadros donde intervienen

## Especies Reactivas del Oxígeno

### ■ PLURIORGANICO

■ LESIONES

■ INFLAMACIONES

■ ISQ-REPERFUSION.

■ SOBREC. DE FE

■ IRRADIACIONES

■ CANCER

■ ENVEJECIMIENTO

### ■ MONORGANICO

■ PULMONAR

■ CARDIOVASCULAR

■ RENAL

■ GASTROINTEST.

■ CEREBRO Y SNC

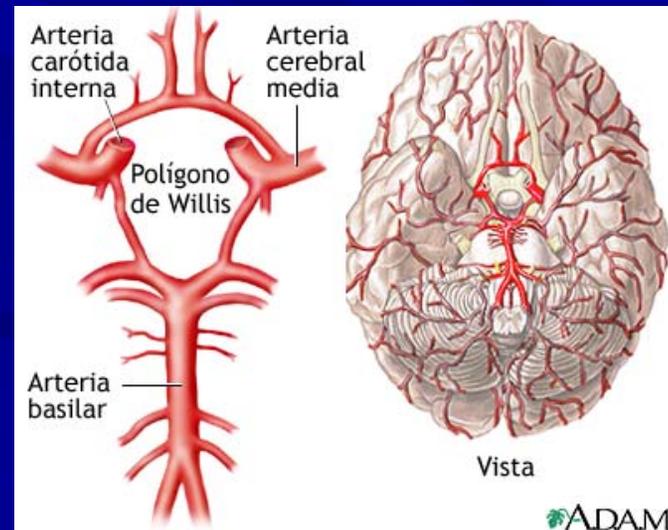
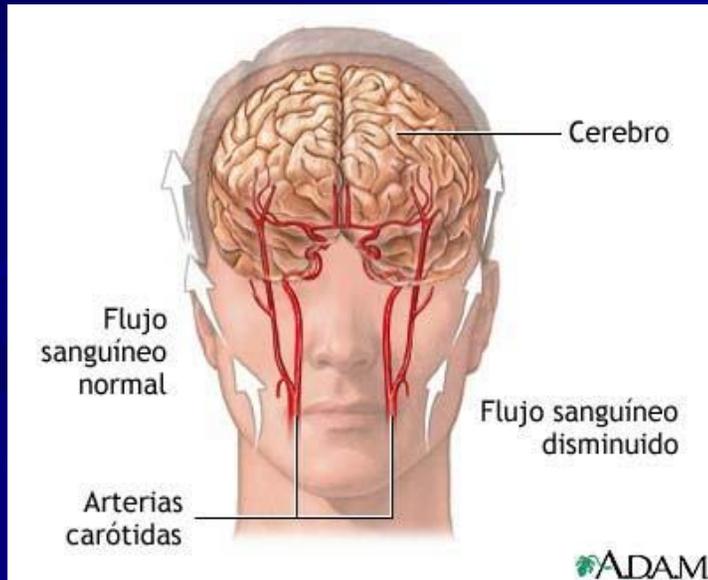
■ OJOS

■ PIEL

HTA predispone a la aterosclerosis, CI, ictus, nefropatía isquémica y E. arterial periférica. Estos se expresan 2-3 veces más en hipertensos que en normotensos.

Afectación secundaria → cardiopatía hipertensiva y nefropatía hipertensiva, causan insuficiencia cardiaca y renal respectivamente.

HTA → Ateroescclerosis → Obstrucción de flujo sanguíneo isquemia y/o hemorragia



# ENFERMEDAD CEREBROVASCULAR

*Enfermedades Neuroinflamatorias degenerativas*



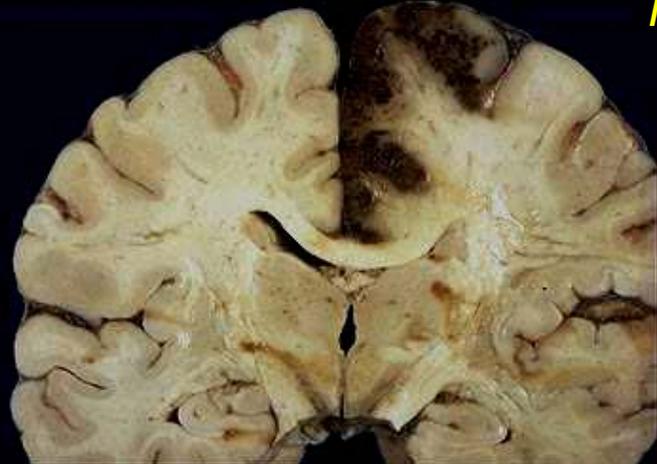
*FISIOPATOLOGÍA DE LA CIRCULACIÓN*

**ISQUEMIA CEREBRAL**

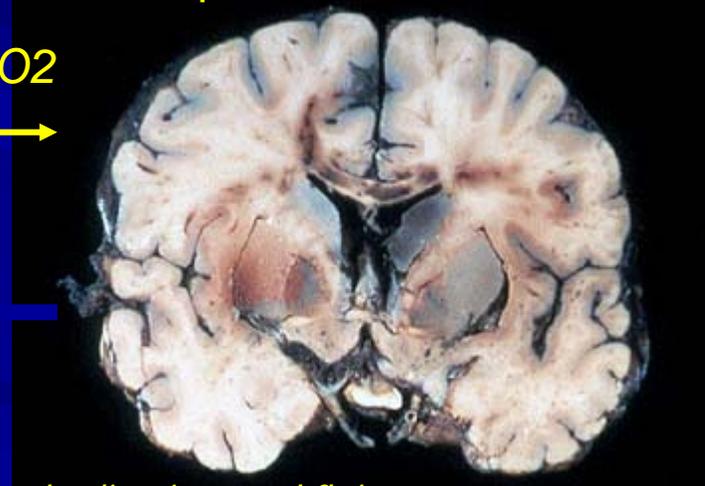
**HEMORRAGIAS**

Infarto cerebral

Isquemia cerebral



*Reperfusion de O2*



*Cuando disminuye el flujo sanguíneo se produce hipoxia e isquemia cerebral transitoria*

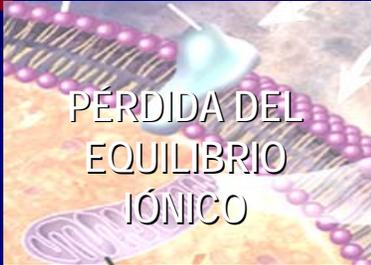
# ISQUEMIA-REPERFUSION CEREBRAL

Desacopla  
Fosforilación  
oxidativa



**↓ PO<sub>2</sub>**

**↓ SÍNTESIS ATP**



**PÉRDIDA DEL  
EQUILIBRIO  
IÓNICO**

**DEPOLARIZACIÓN**

**↑ LIBERACIÓN  
GLUTAMATO**

**APERTURA  
CANALES  
CALCIO**

**EDEMA  
CELULAR**

**ACTIVACIÓN  
DE LA FLA<sub>2</sub>**

**PAF**

**EXCITOTOXICIDAD**

**LIBERACIÓN  
DE AA**

**LOX**

**COX-2**

**EROs**

**CALCIO  
INTRACELULAR**

**LTs**

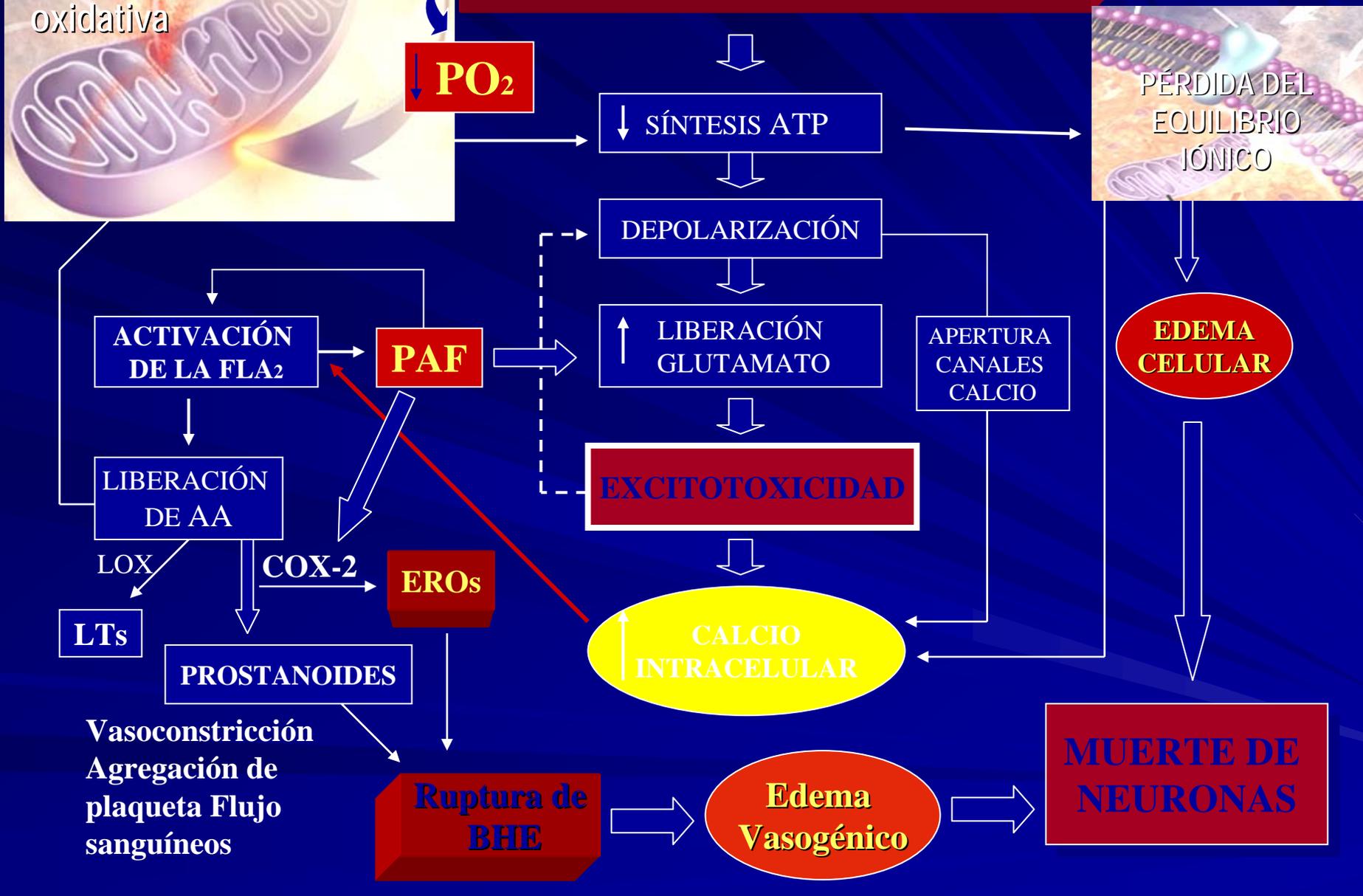
**PROSTANOIDES**

**Vasoconstricción  
Agregación de  
plaqueta Flujo  
sanguíneos**

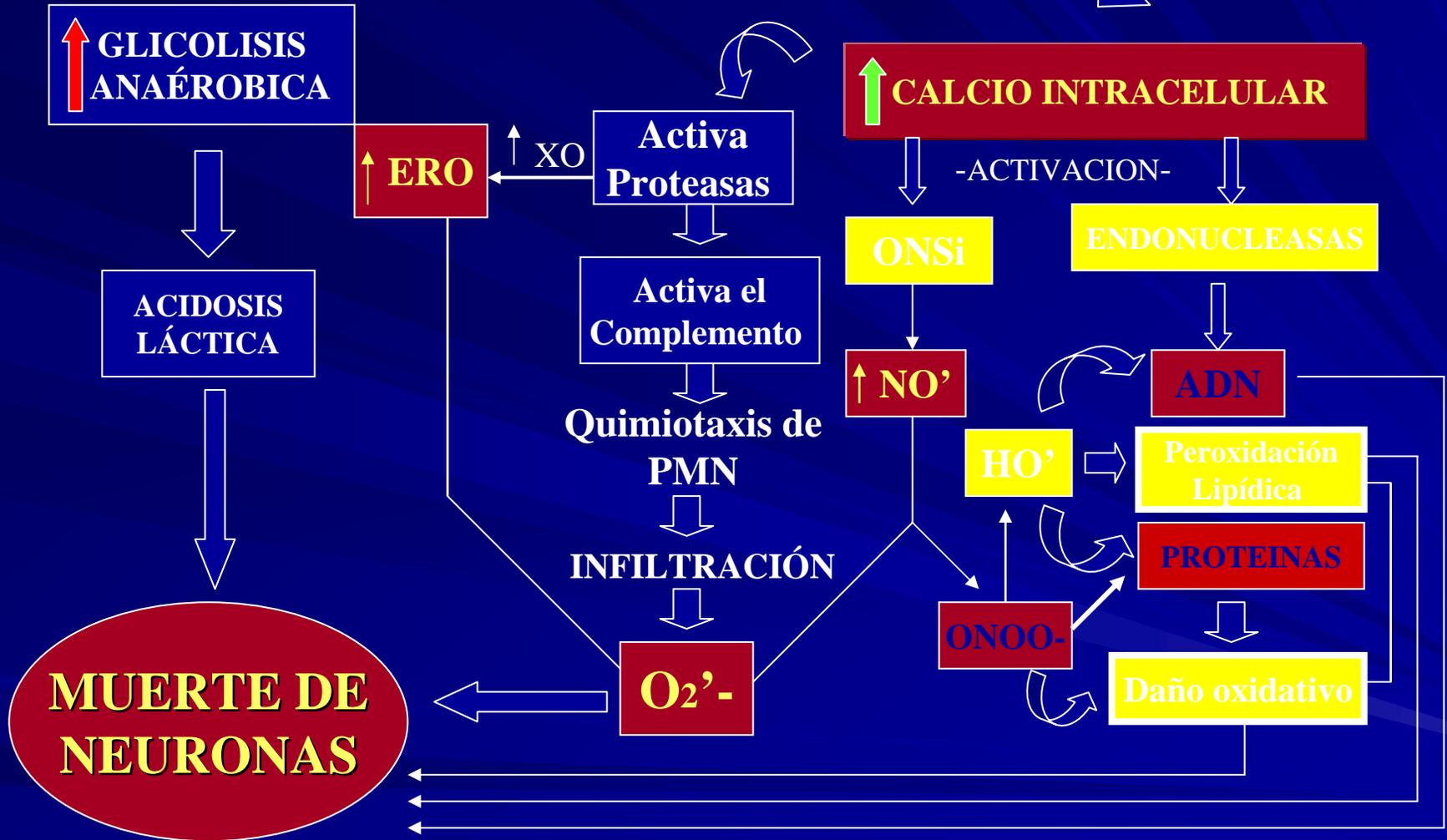
**Ruptura de  
BHE**

**Edema  
Vasogénico**

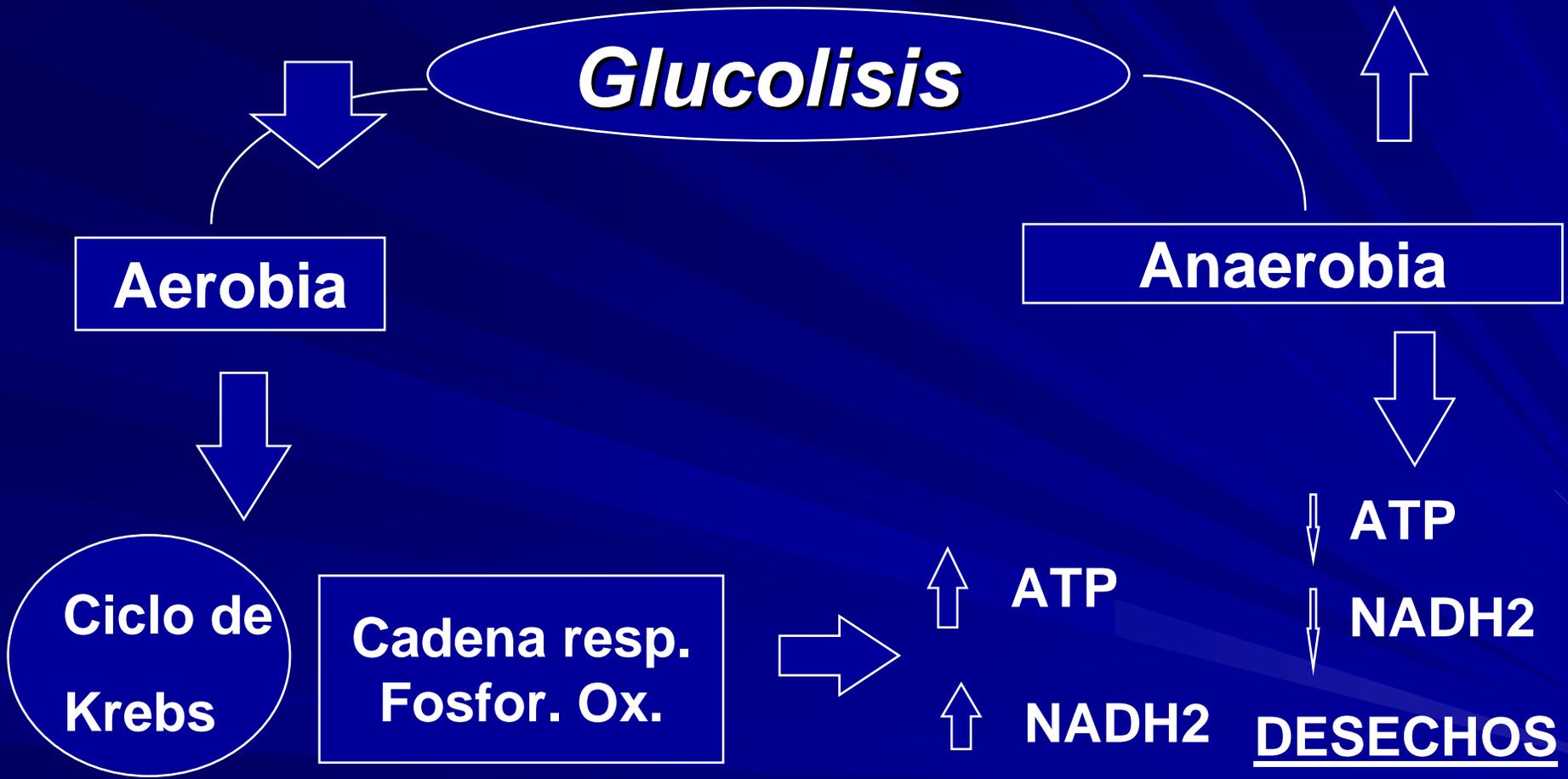
**MUERTE DE  
NEURONAS**



# ISQUEMIA-REPERFUSION CEREBRAL

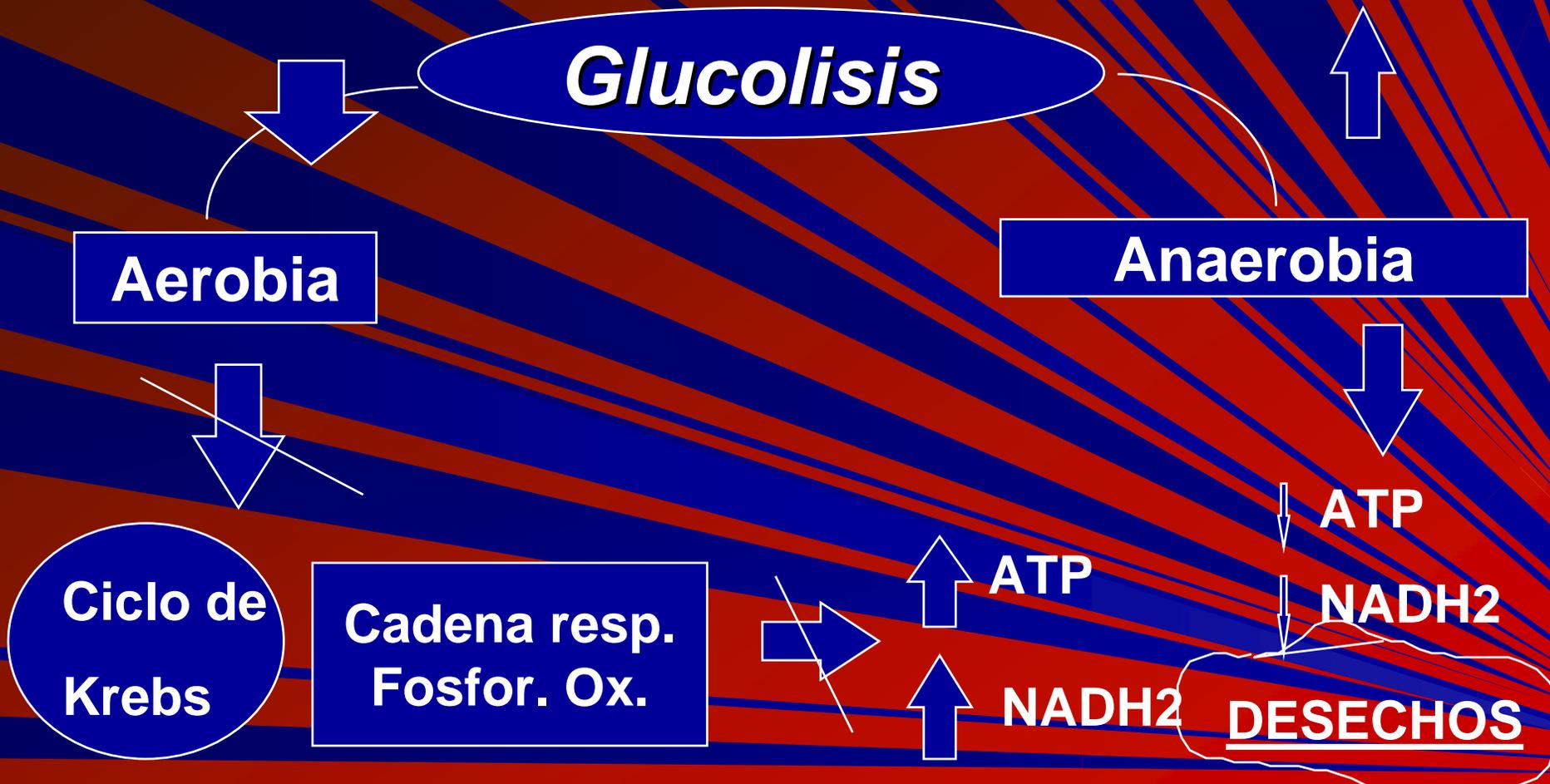


# ISQUEMIA FRIA

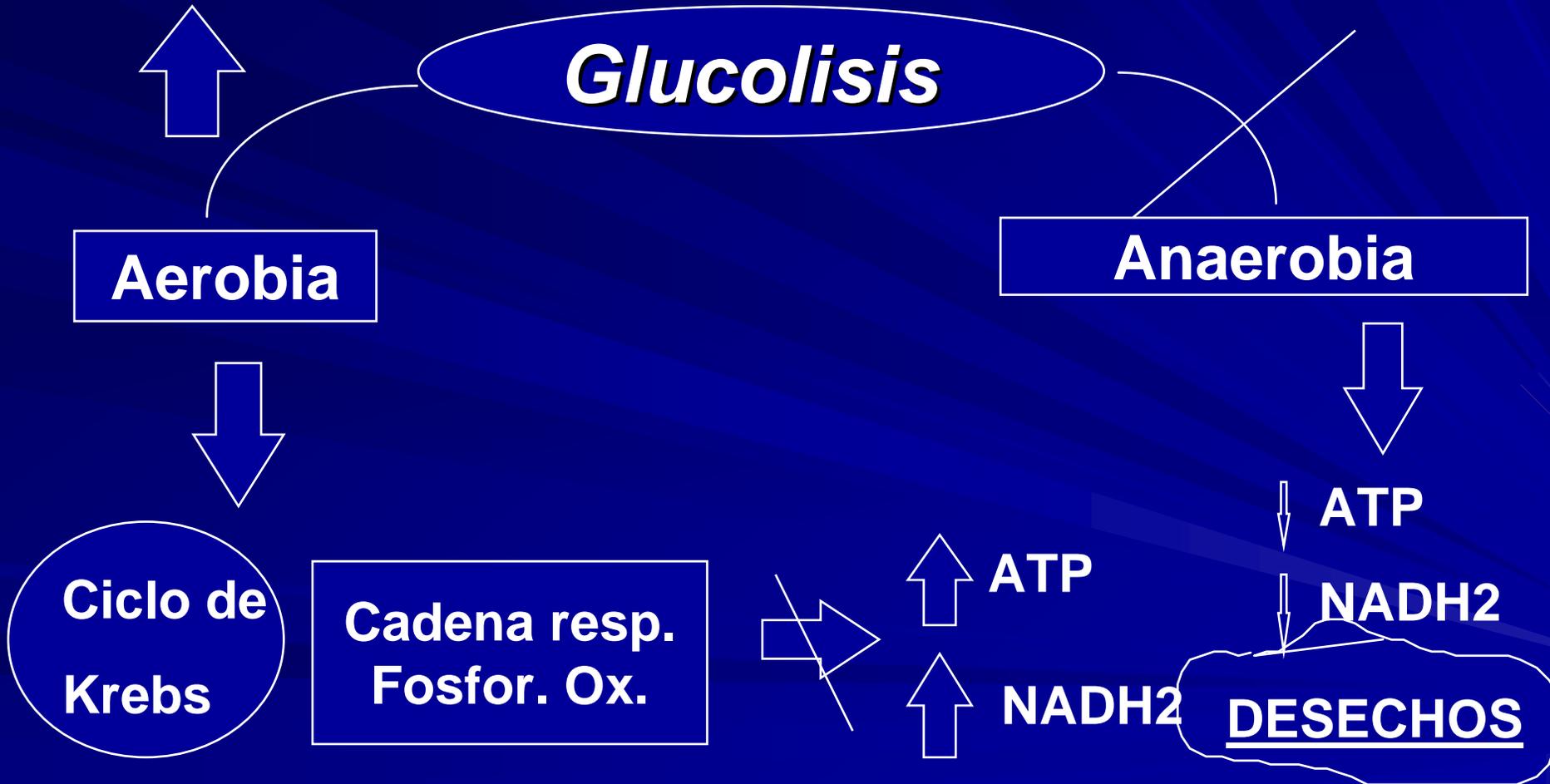


**RETARDO DE MANIF. ISQUEMICAS**

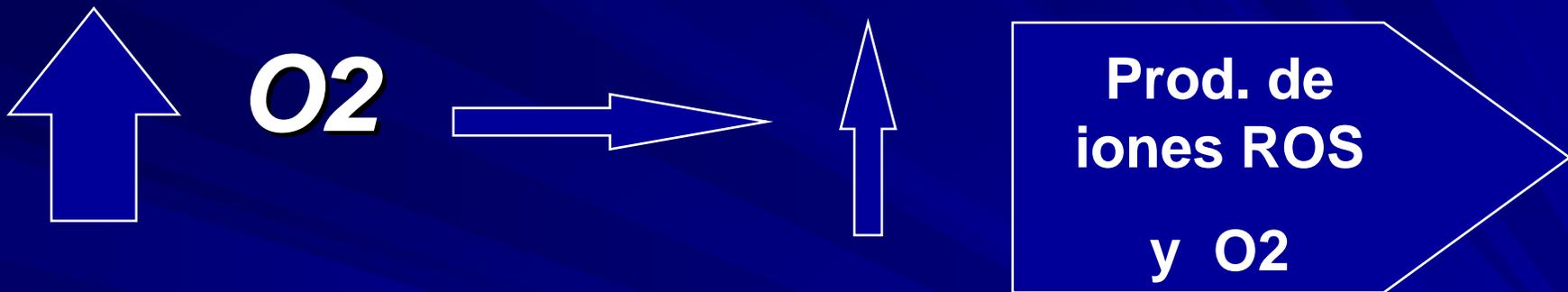
# ISQUEMIA CALIENTE



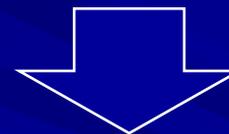
# REPERFUSION



# REPERFUSION

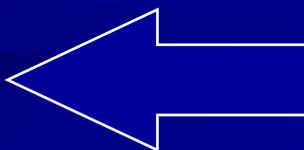


Muy por encima del nivel de eliminación fisiológico



*Afec. de P. Rec. y de Transporte*

Act. sobre fosfolíp. memb.  
↓  
*Pierde la est. membranal*



# ***ISQUEMIA-REPERFUSION***



# *Efectos Bioquímicos*

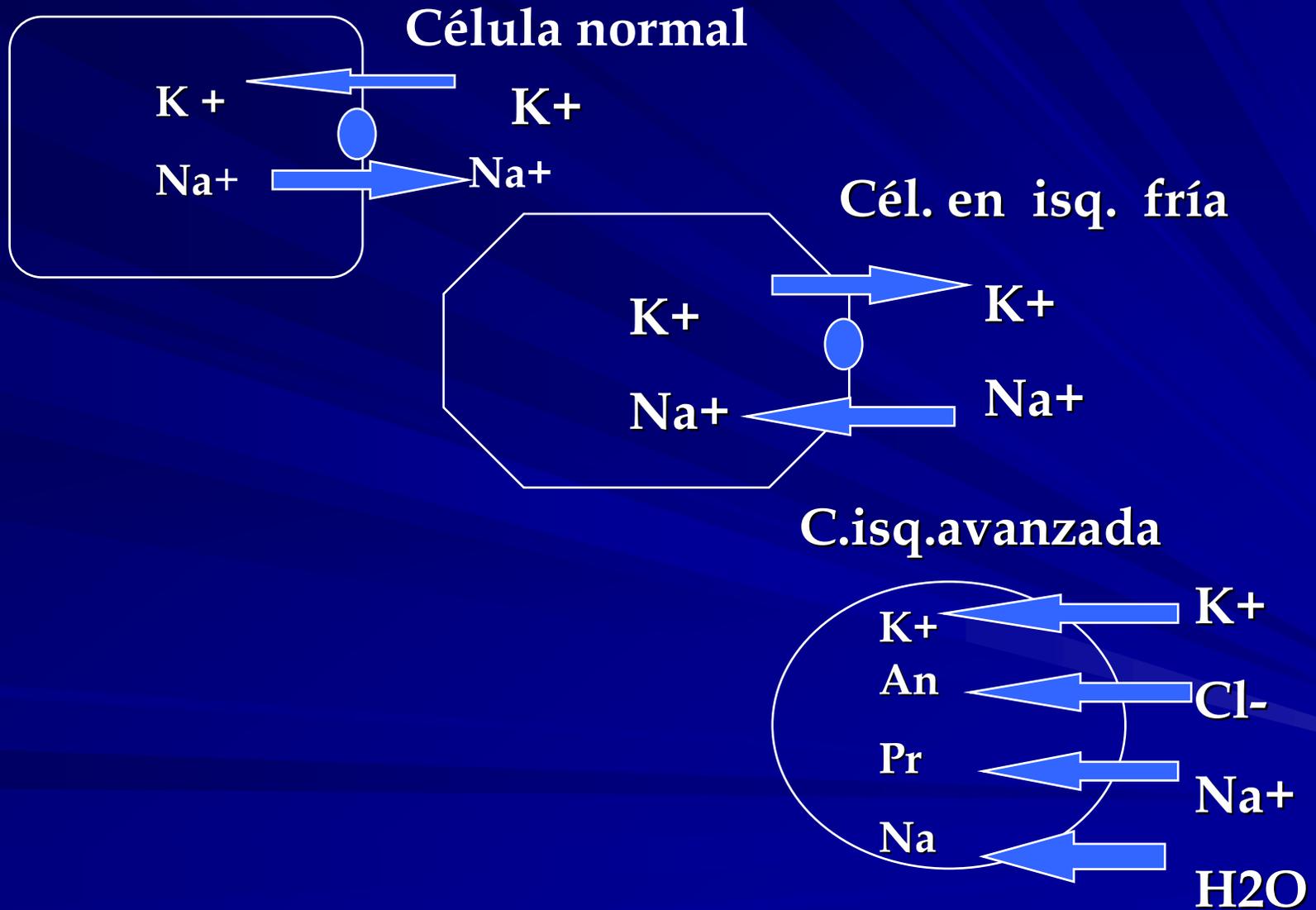
## **DURANTE LA ISQUEMIA:**

- Aumento de donadores de electrones (como Cat, Lactato, Leucotrienos, hay Hemólisis, y fagocitosis )
- Alteraciones de la citocromo oxidasa
- Act. del sistema Xantina-Oxidasa por acción del Calcio.

*RL*

*Peroxidación de las membranas*

# BOMBA DE SODIO

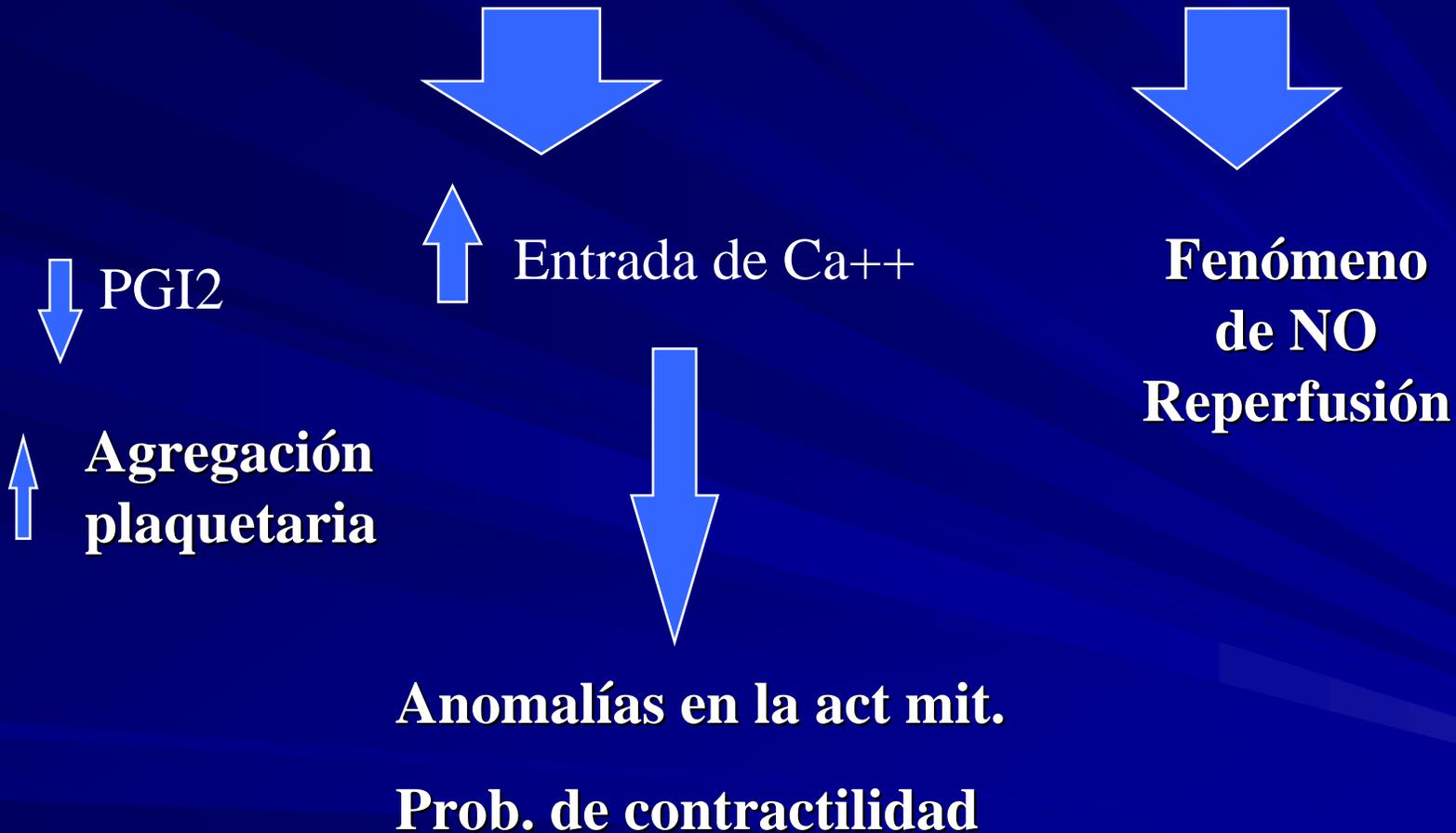


# CONSECUENCIAS DE LA I-R

- Disminuye la permeabilidad membranal.
- Disminuye el rendimiento energético de las mitocondrias.
- Existen problemas de conducción eléctrica en células contráctiles.
- Disminuye liberación de Prostaciclina.

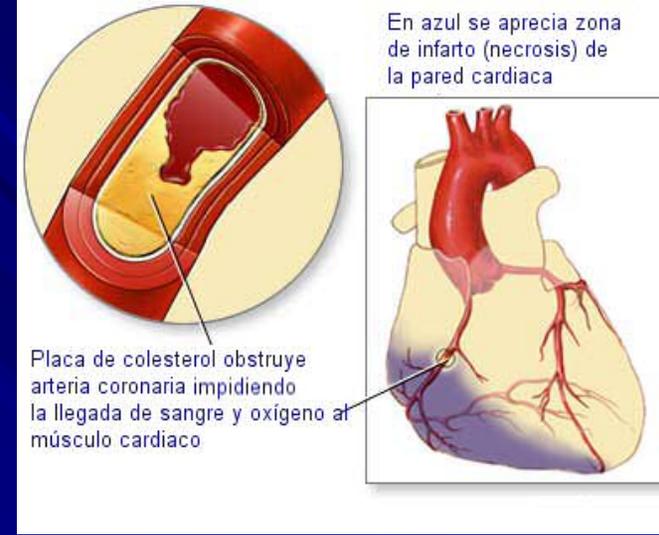
***TODO ESTO PRODUCE UN CIRCULO VICIOSO LOCAL***

# ISQUEMIA - REPERFUSION



## *HTA puede ser lesiva por efectos primarios:*

- ❑ Aumento del trabajo del corazón.
- ❑ Lesión de las propias arterias por presión excesiva.

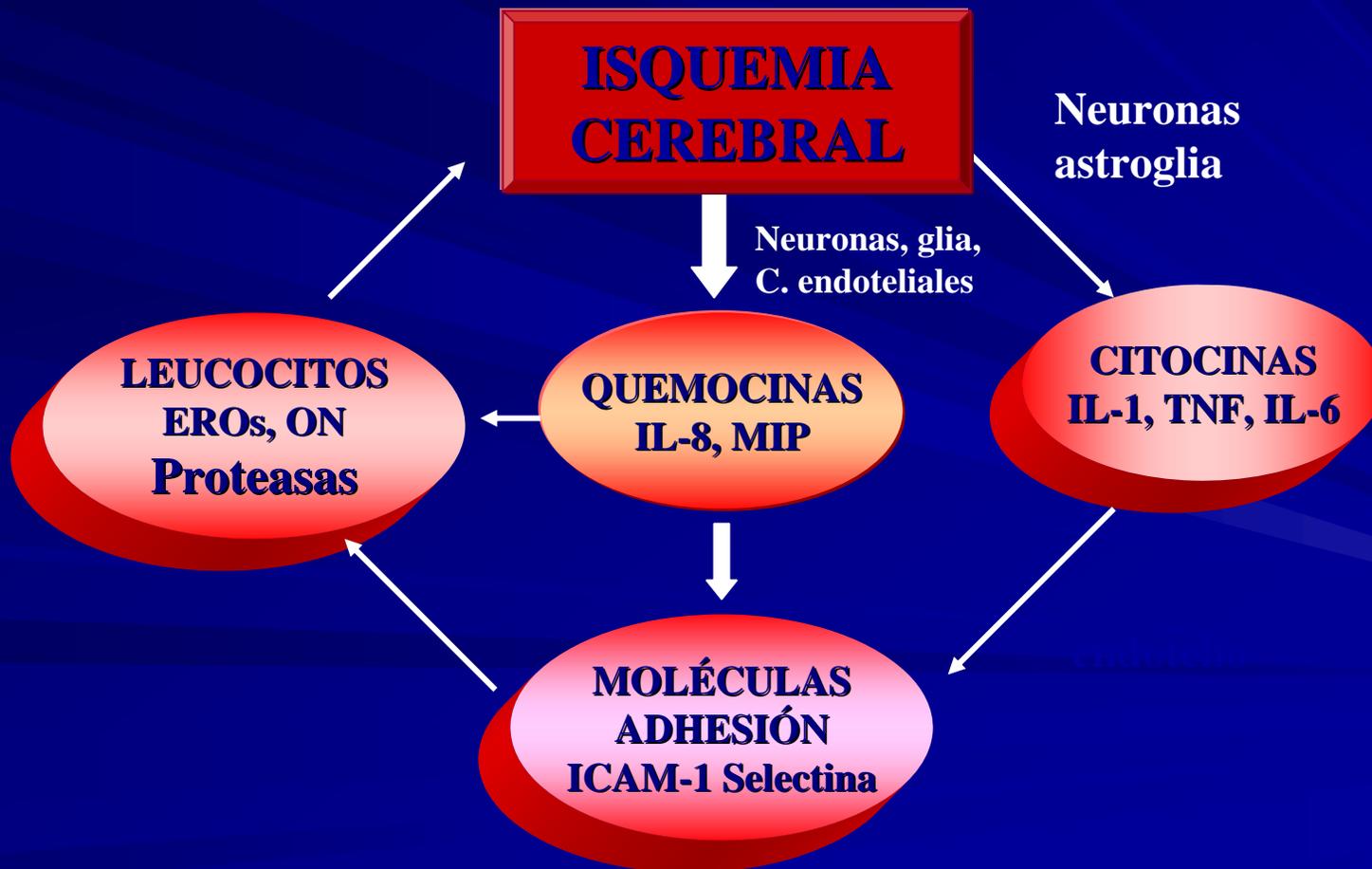


## **Efectos del aumento del trabajo cardíaco:**

- Obesidad (2-3 veces) incrementa el riesgo coronario de IVI, el aumento de HTA, es factor de riesgo de angina de pecho.
- PA muy elevada en coronarias facilita la arterioesclerosis e incrementa la morbimortalidad por oclusión coronaria

# CASCADA INFLAMATORIA EN ICA

EROs, inflamación y LDLox favorecen la ateromatosis y lesiones tisulares en la cascada isquemia-reperfusión de: ECV, ACV e insuficiencia vascular periférica, La densidad mitocondrial convierte las neuronas en blanco de daños asociados a EROs, dañan el ADN mitocondrial, amplificando la extensión y tiempo del proceso neuroinflamatorio



# *Fisiopatología de isquemia cerebral aguda*

ICA provoca fallo de intercambio iónico en membrana neuronal por depleción de la bomba Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> y aumento de Ca<sup>++</sup> intracelular que activa la FLA<sub>2</sub> y COX-2, aumenta la producción de prostanoïdes e inducen expresión citocinas proinflamatorias:

IL-1, IL-6 TNF $\alpha$  en neuroglia  
y quimiotaxis leucocitaria

# ESTRÉS OXIDATIVO: PROMOTOR DEL ENVEJECIMIENTO Y SUS PATOLOGIAS.

- En 1954 Harman postuló la teoría de los RL en el envejecimiento, basada en la premisa de un proceso único y común (toxicidad de los RL), modificable por factores genéticos y ambientales era responsable del envejecimiento y muerte de todos los seres vivos.

# *Qué podemos hacer?*

- En números casos se ha comprobado una acción protectora y beneficiosa de los antioxidantes clásicos (vitamina E, ácido ascórbico y  $\beta$ -caroteno) y de los de síntesis (ubiquinona, ácido lipoico y N-acetileisteína).
- La expectativa y la calidad de vida puede ser aumentada disminuyendo el grado de los fenómenos oxidantes. Esto se lograría mejorando los hábitos higiénicos – dietéticos y aumentando las defensas antioxidantes.