

# Radicales libres y nutrientes antioxidantes

David A. Bender, PhD

## IMPORTANCIA BIOMÉDICA

Los radicales libres se forman en el organismo en condiciones normales. Dan por resultado daño de ácidos nucleicos, proteínas y lípidos en membranas celulares y lipoproteínas plasmáticas. Esto puede originar **cáncer**, **aterosclerosis** y **enfermedad de arteria coronaria**, y **enfermedades autoinmunitarias**. En estudios epidemiológicos y de laboratorio se han identificado varios **nutrientes antioxidantes** protectores: selenio, vitaminas C y E,  $\beta$ -caroteno, y varios compuestos polifenólicos derivados de alimentos de origen vegetal. Muchas personas toman complementos de uno o más nutrientes antioxidantes. Sin embargo, estudios de intervención muestran poco beneficio de los complementos de antioxidantes excepto entre personas que al principio tenían deficiencia, y muchos estudios sobre el  $\beta$ -caroteno y la vitamina E han mostrado aumento de la mortalidad entre quienes recibieron los complementos.

## Las reacciones de radicales libres son reacciones en cadena que se perpetúan por sí mismas

Los radicales libres son especies moleculares muy reactivas con un electrón no apareado; sólo persisten durante un tiempo muy breve (del orden de  $10^{-9}$  –  $10^{-12}$  s) antes de colisionar con otra molécula y sustraer o donar un electrón para alcanzar estabilidad. Al hacerlo, generan un nuevo radical a partir de la molécula con la cual colisionaron. El único modo en el cual se puede desactivar un radical libre, y así poner fin a esta reacción en cadena, es si dos radicales reaccionan juntos, cuando los electrones no apareados pueden formar par en una u otra de las moléculas originales. Este suceso es raro, debido a la vida media muy breve de un radical individual y las concentraciones muy bajas de radicales en los tejidos.

Los radicales más perjudiciales en sistemas biológicos son los radicales de oxígeno (a veces denominados especies de oxígeno reactivas), en especial superóxido,  $\text{O}_2^-$ , hidroxilo,  $\text{OH}$ , y perhidroxilo,  $\text{O}_2\text{H}$ . El daño de tejido causado por radicales de oxígeno suele llamarse daño oxidativo, y los factores que protegen contra daño por radical de oxígeno se conocen como antioxidantes.

## Los radicales pueden dañar DNA, lípidos y proteínas

La interacción de radicales con bases en el DNA puede llevar a cambios químicos que, si no se reparan (cap. 35), pueden heredarse en las células hijas. El daño por radical de ácidos grasos insaturados

en membranas celulares y proteínas plasmáticas conduce a la formación de peróxidos de lípidos, y después a dialdehídos muy reactivos que pueden modificar químicamente proteínas y bases de ácidos nucleicos. Las proteínas también están sujetas a modificación química directa por interacción con radicales. El daño oxidativo de residuos tirosina en proteínas puede llevar a la formación de dihidroxifenilalanina que puede pasar por reacciones no enzimáticas que dan pie a formación adicional de radicales de oxígeno.

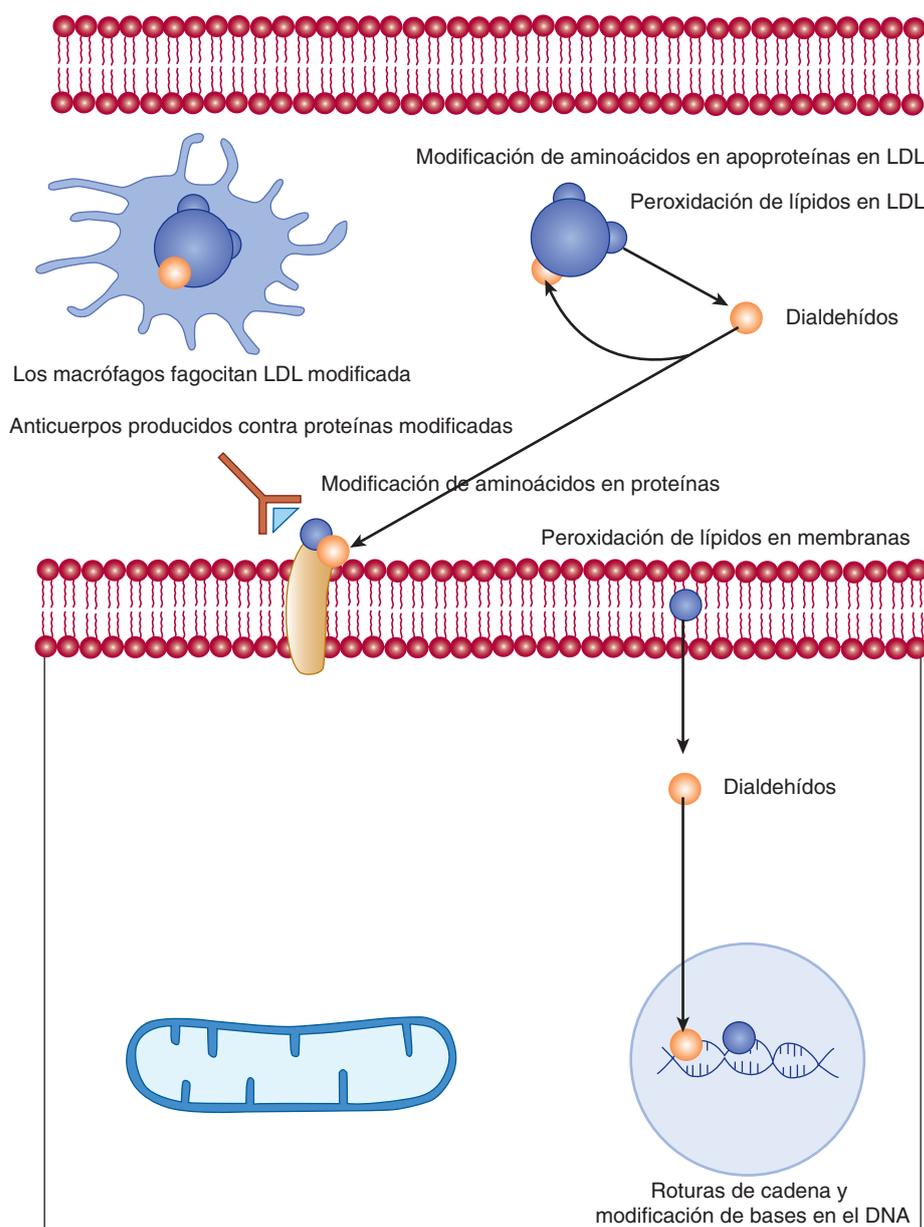
La carga corporal total de radical puede estimarse al medir los productos de la peroxidación de lípidos. Los peróxidos de lípidos pueden medirse por medio de la oxidación ferrosa en valoración con naranja de xilenol (FOX). En condiciones ácidas, oxidan  $\text{Fe}^{2+}$  hacia  $\text{Fe}^{3+}$ , que forma un cromóforo con el naranja de xilenol. Los dialdehídos formados a partir de peróxidos de lípidos pueden medirse por medio de reacción con ácido tiobarbitúrico, cuando forman un aducto fluorescente de color rojo; los resultados de esta reacción por lo general se reportan como sustancias reactivas a ácido barbitúrico totales (TBARS). La peroxidación de ácidos grasos poliinsaturados n-6 lleva a la formación de pentano, y la de ácidos grasos poliinsaturados n-3 a la formación de etano; ambos pueden medirse en el aire espirado.

## El daño por radicales puede suscitar mutaciones, cáncer, enfermedad autoinmunitaria y aterosclerosis

El daño del DNA por radical en células de la línea germinal en los ovarios y los testículos puede llevar a mutaciones hereditarias; en las células somáticas el resultado puede ser el inicio de cáncer. Los dialdehídos que se forman como resultado de peroxidación de lípidos inducida por radical en membranas celulares también pueden modificar bases en el DNA.

La modificación química de aminoácidos en proteínas, sea por acción directa de radical o como resultado de reacción con los productos de peroxidación de lípidos inducida por radical, conduce a proteínas que el sistema inmunitario reconoce como extrañas. Los anticuerpos resultantes también tendrán reacción cruzada con proteínas hísticas normales, de manera que se inicia enfermedad autoinmunitaria.

La modificación química de las proteínas o los lípidos en lipoproteína de baja densidad (LDL) plasmática da pie a LDL anormal que no es reconocida por los receptores de LDL del hígado y, así, no se depura en dicho órgano. La LDL modificada es captada por los receptores recolectores de los macrófagos. Los macrófagos ingurgitados con lípido se infiltran bajo el endotelio de los vasos sanguí-



**FIGURA 45-1** Daño de tejido por radicales.

neos (en particular cuando ya hay cierto daño del endotelio), y son muertos por el alto contenido de colesterol no esterificado que han acumulado. Esto ocurre en la aparición de placas ateroscleróticas que, en casos extremos, pueden ocluir de modo más o menos completo un vaso sanguíneo.

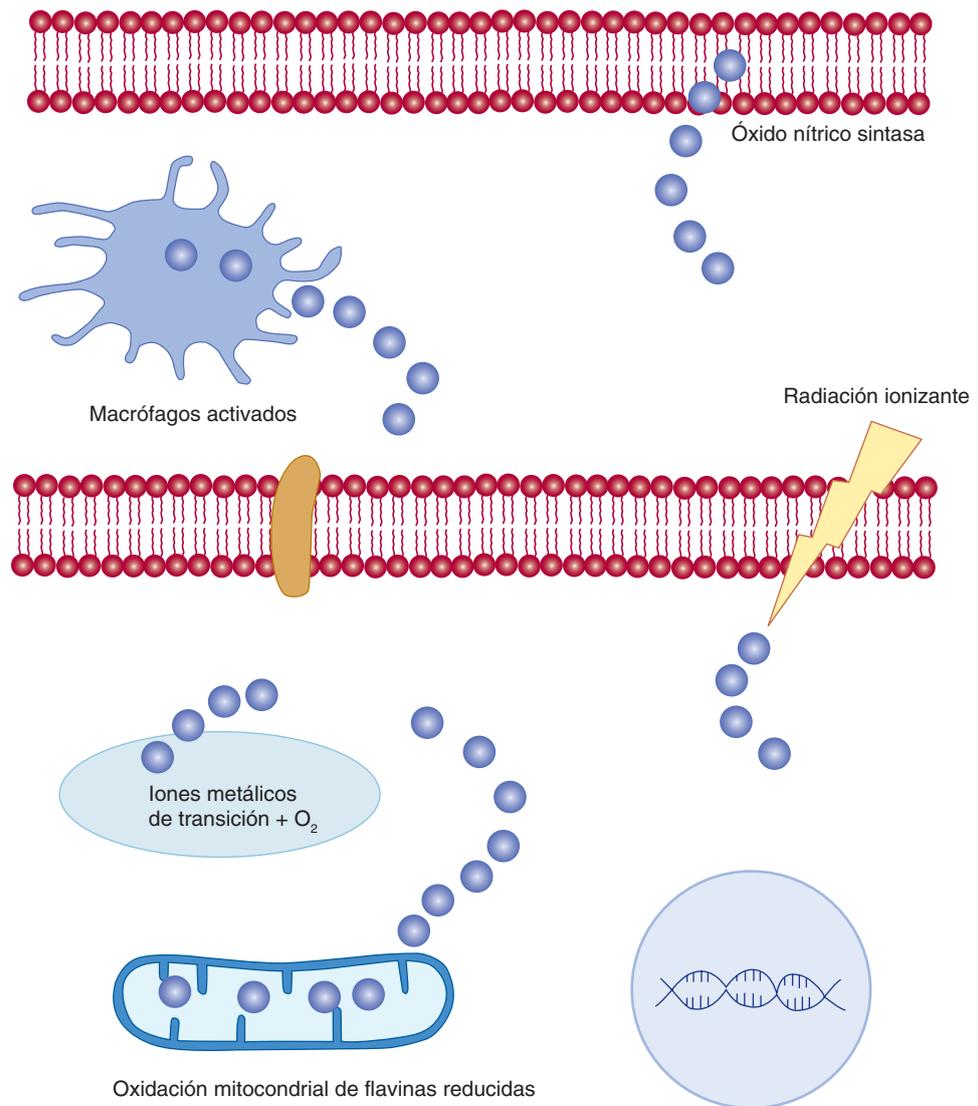
### Hay múltiples fuentes de radicales de oxígeno en el cuerpo

Las radiaciones ionizantes (rayos X y UV) pueden lisar el agua, lo que lleva a la formación de radicales hidroxilo. Los iones metálicos de transición, entre ellos  $\text{Cu}^+$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$  y  $\text{Fe}^{2+}$ , pueden reaccionar de manera no enzimática con oxígeno o peróxido de hidrógeno, lo que de nuevo conduce a la formación de radicales hidroxilo. El óxido nítrico (el factor de relajación derivado del endotelio) en sí es un radical y, lo que es más importante, puede reaccionar con el

superóxido para dar peroxinitrito, que se desintegra para formar radicales hidroxilo.

La explosión respiratoria de macrófagos activados (cap. 52) es la utilización incrementada de glucosa por medio de la vía de la pentosa fosfato (cap. 21) para reducir  $\text{NADP}^+$  a  $\text{NADPH}$ , y utilización aumentada de oxígeno para oxidar  $\text{NADPH}$  para producir radicales de oxígeno (y halógeno) como agentes citotóxicos para matar microorganismos fagocitados. La oxidasa de la explosión respiratoria ( $\text{NADPH}$  oxidasa) es una flavoproteína que reduce el oxígeno hacia superóxido:  $\text{NADPH} + 2\text{O}_2 \rightarrow \text{NADP}^+ + 2\text{O}_2^- + 2\text{H}^+$ . Los marcadores plasmáticos de daño de lípidos por radical se incrementan de modo considerable en respuesta a incluso una infección leve.

La oxidación de coenzimas flavina reducidas en las cadenas de transporte de electrones mitocondrial (cap. 13) y microsómica procede por una serie de pasos en los cuales el radical flavina semi-



**FIGURA 45-2** Fuentes de radicales.

quinona es estabilizado por la proteína a la cual está unido, y forma radicales de oxígeno como intermediarios transitorios. Aunque los productos finales no son radicales, debido a la naturaleza impredecible de los radicales hay considerable “escape” de éstos, y alrededor de 3 a 5% del consumo diario de 30 mol de oxígeno por un ser humano adulto se convierte en oxígeno singlete, peróxido de hidrógeno, y radicales superóxido, perhidroxilo e hidroxilo, en lugar de pasar por reducción completa hacia agua. Esto da por resultado la producción diaria de aproximadamente 1.5 mol de especies de oxígeno reactivas.

### Hay varios mecanismos de protección contra daño por radical

Los iones metálicos que pasan por reacción no enzimática para formar radicales de oxígeno normalmente no se encuentran libres en solución, sino que están unidos a las proteínas para las cuales proporcionan el grupo prostético, o a proteínas de transporte y almacenamiento específicas, de manera que son no reactivos. El hierro está

unido a la transferrina, ferritina y hemosiderina, el cobre a la ceruloplasmina, y otros iones metálicos están unidos a metalotioneína. Esta unión a proteínas de transporte que son demasiado grandes como para que se filtren en los riñones también evita la pérdida de iones metálicos en la orina.

El superóxido se produce de modo accidental, y también como especies de oxígeno reactivas requeridas para diversas reacciones catalizadas por enzima. Una familia de superóxido dismutasas cataliza la reacción entre superóxido y agua para dar oxígeno y peróxido de hidrógeno:  $O_2^- + H_2O \rightarrow O_2 + H_2O_2$ . El peróxido de hidrógeno a continuación es eliminado por la catalasa y por diversas peroxidasa:  $2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$ . Casi todas las enzimas que producen y requieren superóxido están en los peroxisomas, junto con las superóxido dismutasa, catalasa y peroxidasa.

Los peróxidos que se forman por daño por radical de lipoides en membranas y lipoproteínas plasmáticas son reducidos hacia ácidos grasos por la glutatión peroxidasa, una enzima dependiente de selenio (de ahí la importancia de la ingestión adecuada de selenio para maximizar la actividad antioxidante), y el glutatión oxidado es

reducido por la glutatión reductasa dependiente de NADPH (fig. 21-3). Los peróxidos de lípidos también se reducen hacia ácidos grasos mediante reacción con vitamina E, lo que forma el radical tocoferoxilo relativamente estable, que persiste suficiente tiempo como para pasar por reducción de regreso hacia tocoferol por medio de reacción con vitamina C en la superficie de la célula o la lipoproteína (fig. 44-6). El radical monodehidroascorbato resultante luego pasa por reducción enzimática de regreso hacia ascorbato o una reacción no enzimática de 2 mol de monodehidroascorbato para dar 1 mol, cada uno, de ascorbato y dehidroascorbato.

El ascorbato, el ácido úrico y diversos polifenoles derivados de alimentos de origen vegetal actúan como antioxidantes hidrosolubles que atrapan radical, lo que forma radicales relativamente estables que persisten suficiente tiempo como para pasar por reacción hacia productos no radicales. De manera similar, la ubiquinona y los carotenos actúan como antioxidantes liposolubles que atrapan radical en membranas y lipoproteínas plasmáticas.

## Los antioxidantes también pueden ser prooxidantes

Si bien el ascorbato es un antioxidante que reacciona con superóxido e hidroxilo para dar monodehidroascorbato y peróxido de hidrógeno o agua, también puede ser una fuente de radicales superóxido mediante reacción con oxígeno, y de radicales hidroxilo por medio de reacción con iones de  $\text{Cu}^{2+}$  (cuadro 45-1). Empero, estas acciones prooxidantes necesitan cifras relativamente altas de ascorbato que es poco probable que se alcancen en los tejidos, porque una vez que la concentración plasmática de ascorbato alcanza alrededor de 30 mmol/L, se llega al umbral renal, y a ingestiones por arriba de aproximadamente 100 a 120 mg/día la vitamina se excreta en la orina de modo cuantitativo con la ingestión.

Una cantidad considerable de evidencia epidemiológica sugiere que el caroteno protege contra cánceres pulmonar y de otros tipos. Con todo, dos estudios de intervención importantes en el decenio de 1990-1999 mostraron un aumento de las muertes por cáncer pulmonar (y de otros tipos) entre personas que recibieron complementos de  $\beta$ -caroteno. El problema es que si bien el  $\beta$ -caroteno en realidad es un antioxidante que atrapa radicales en condiciones de presión parcial baja de oxígeno, como en casi todos los tejidos, a presiones parciales altas de oxígeno (como en los pulmones) y especialmente en concentraciones altas, el  $\beta$ -caroteno es un prooxidante autocatalítico y, en consecuencia, puede iniciar daño de lípidos y proteínas por radicales.

Evidencia epidemiológica también sugiere que la vitamina E es protectora contra aterosclerosis y enfermedad cardiovascular. Aun así, metaanálisis de estudios de intervención con vitamina E muestran incremento de la mortalidad entre quienes toman complementos (en dosis altas). En todos estos estudios se ha usado  $\alpha$ -tocoferol, y es posible que los otros vitámeros de la vitamina E que están presentes en los alimentos, no así en los complementos, tengan importancia. *In vitro*, las proteínas plasmáticas forman menos hidroperóxido de éster de colesterol cuando se incuban con fuentes de concentraciones bajas de radicales perhidroxilo cuando la vitamina C se ha eliminado que cuando está presente. El problema parece ser que la vitamina E actúa como un antioxidante al formar un radical estable que persiste lo suficiente como para pasar por metabolismo hacia productos no radicales. Esto significa que el radical también

## CUADRO 45-1 Funciones antioxidantes y prooxidantes de la vitamina C

<b>Funciones antioxidantes:</b>
Ascorbato + $\cdot\text{O}_2^- \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2$ + monodehidroascorbato; la catalasa y las peroxidasas catalizan la reacción: $2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$
Ascorbato + $\cdot\text{OH} \rightarrow \text{H}_2\text{O}$ + monodehidroascorbato
<b>Funciones prooxidantes:</b>
Ascorbato + $\text{O}_2 \rightarrow \cdot\text{O}_2^-$ + monodehidroascorbato
Ascorbato + $\text{Cu}^{2+} \rightarrow \text{Cu}^+$ + monodehidroascorbato
$\text{Cu}^+ + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Cu}^{2+} + \text{OH}^- + \cdot\text{OH}$

persiste suficiente tiempo como para penetrar a mayor profundidad en la lipoproteína, lo que da por resultado más daño por radical, en lugar de interactuar con un antioxidante hidrosoluble en la superficie de la lipoproteína.

## RESUMEN

- Los radicales libres son especies moleculares muy reactivas con un electrón no apareado. Pueden reaccionar con, además de modificar, proteínas, ácidos nucleicos y ácidos grasos en las membranas celulares y las lipoproteínas plasmáticas.
- El daño por radical de lípidos y proteínas en lipoproteínas plasmáticas es un factor en la aparición de aterosclerosis y arteriopatía coronaria; el daño por radical de ácidos nucleicos puede inducir mutaciones hereditarias y cáncer; el daño por radical de proteínas puede llevar a enfermedades autoinmunitarias.
- Los radicales de oxígeno se forman como resultado de exposición a radiación ionizante, reacciones no enzimáticas de iones metálicos de transición, la explosión respiratoria de macrófagos activados, y la oxidación normal de coenzimas flavina reducidas.
- La protección contra daño por radicales es proporcionada por enzimas que eliminan iones superóxido y peróxido de hidrógeno, reducción enzimática de peróxidos de lípidos enlazados a oxidación de glutatión, reacción no enzimática de peróxidos de lípidos con vitamina E, y reacción de radicales con compuestos como vitaminas C y E, caroteno, ubiquinona, ácido úrico, y polifenoles de la dieta que forman radicales relativamente estables que persisten suficiente tiempo como para pasar por una reacción hacia productos no radicales.
- Salvo en personas que al principio tuvieron deficiencia, los estudios de intervención sobre vitamina E y  $\beta$ -caroteno en general han mostrado aumento de la mortalidad entre quienes toman los complementos. El  $\beta$ -caroteno sólo es un antioxidante a cifras bajas de oxígeno; a concentraciones más altas de oxígeno es un prooxidante autocatalítico. La vitamina E forma un radical estable que tiene la capacidad de reaccionar con antioxidantes hidrosolubles o de penetrar más hacia lipoproteínas y tejidos, de manera que incrementa el daño por radicales.

## REFERENCIAS

Asplund K: Antioxidant vitamins in the prevention of cardiovascular disease: a systematic review. *J Intern Med* 2002;251:372.

- Bjelakovic G, Nikolova D, Gluud LL, Simonetti RG, Gluud C: Mortality in randomized trials of antioxidant supplements for primary and secondary prevention. *JAMA* 2007;297:842.
- Burton G, Ingold K:  $\beta$ -Carotene, an unusual type of lipid antioxidant. *Science* 1984;224:569.
- Carr A, Frei B: Does vitamin C act as a pro-oxidant under physiological conditions? *FASEB J* 1999;13:1007.
- Halliwell B, Gutteridge JMC, Cross CE: Free radicals, antioxidants and human disease: where are we now? *J Lab Clin Med* 1992;119:598.
- Imlay JA: Pathways of oxidative damage. *Ann Rev Microbiol* 2003;57:395.
- Imlay JA: Cellular Defenses against superoxide and hydrogen peroxide. *Ann Rev Biochem* 2008;77: (doi:10.1146/annurev.biochem.77.061606.161055).
- Klaunig JE, Kamendulis LM: The role of oxidative stress in carcinogenesis. *Ann Rev Pharm Tox* 2004;44:239.
- Miller ER, Pastor-Barriuso R, et al: Meta-analysis: high-dosage vitamin E supplementation may increase all-cause mortality. *Ann Intern Med* 2005;142:37.
- Omenn GS, Goodman GE, et al: Effects of a combination of beta carotene and vitamin A on lung cancer and cardiovascular disease. *N Engl J Med* 1996;334:1150.
- Various authors: Symposium: Antioxidant vitamins and  $\beta$ -carotene in disease prevention. *Amer J Clin Nutr* 1995;62, suppl 6:12995-15405.
- Various authors: Symposium Proceedings: Molecular Mechanisms of protective effects of vitamin E in atherosclerosis. *J Nutr* 2001;131:366-397.