



Segundo Congreso Virtual de
Ciencias Básicas Biomédicas en Granma.
Manzanillo.



ESTRÉS OXIDATIVO. DEFENSA Y HOMEOSTASIS CELULAR

Autora: Dra. Aliena Núñez González.

Especialidad: Bioquímica Clínica.

Facultad de Ciencias Médicas de Granma "Celia Sánchez Manduley"

Provincia Granma

e-mail autor principal: alienangzalez937@gmail.com

RESUMEN

El estrés oxidativo se define hoy en día como el desequilibrio entre la formación de moléculas reactivas oxidantes y sistemas de neutralización de los mismos. Dicho desequilibrio da lugar a la acumulación de moléculas inestables y altamente reactivas que tienden a oxidar y degradar moléculas lipídicas, proteicas, carbohidratos o el mismo DNA e inducen la activación de rutas celulares tanto de supervivencia como de muerte celular. Con el propósito de describir cómo intervienen las especies reactivas del oxígeno en los procesos de supervivencia y muerte celular se realizó esta investigación. Desde la sistematización del análisis de la información consultada se arribó a la conclusión de que el estrés oxidativo constituye el principal mecanismo de defensa y control de la homeostasis a nivel molecular y celular.

Palabras claves: estrés oxidativo, especies reactivas del oxígeno, supervivencia celular, muerte celular.

INTRODUCCIÓN

El estrés oxidativo se define hoy en día como el desequilibrio entre la formación de moléculas reactivas oxidantes y sistemas de neutralización de los mismos. Dicho desequilibrio da lugar a la acumulación de moléculas inestables y altamente reactivas que tienden a oxidar y/o degradar moléculas lipídicas, proteicas, carbohidratos o el mismo DNA e inducen la activación de rutas celulares tanto de supervivencia como de muerte celular.¹



La capacidad de estas moléculas para activar diversas rutas hace que se les haya propuesto una función general de segundos mensajeros, comparable con la función del calcio intracelular, cAMP, diacilglicerol (DAG) etc. es importante mencionar que lejos de la primera impresión de "exclusividad patológico", la formación de ROS se da tanto dentro de la fisiología normal de la célula como en procesos patológicos.

De hecho, la principal fuente de generación de ROS intracelular es la propia respiración celular, proceso común en todos los sistemas aeróbicos. La pérdida de electrones en el continuo flujo a través de la cadena de transporte de electrones mitocondrial (y también en los cloroplastos en el caso de las plantas) da lugar a la formación de radicales libres de oxígeno que son posteriormente neutralizadas por el sistema antioxidante celular.^{1, 2}

En un plano general, son múltiples los factores que pueden inducir un aumento en la producción intracelular de ROS; desde xenobióticos, drogas, o citoquinas a factores medioambientales como la radiación ultravioleta (UV), radiaciones ionizantes (RI) o el propio humo de los cigarrillos. En el ámbito intracelular, los principales centros y/o reacciones productoras de ROS se pueden resumir como:

- La mitocondria, donde ROS es subproducto normal de la respiración celular.
- Peroxisomas, centros principales de detoxificación de ROS.
- Síntesis programada por medio de enzimas como las NADPH oxidasas (o proteínas NOX).
- Consecuencia de la bloqueo de sistemas de transporte de electrones (ej. cadena de transporte de electrones mitocondrial), cambios conformacionales mediados por la absorción de energía (ej. en células epiteliales expuestas a radiaciones UV.)³
- La cantidad de metales redox-reactivos reducidos como el hierro (Fe^{2+}) o el cobre (Cu^+) es de gran importancia en la generación de radicales de oxígeno debido a su tendencia a reaccionar con H .³



OBJETIVO

Describir cómo intervienen las especies reactivas del oxígeno en los procesos de supervivencia y muerte celular.

DESARROLLO

En numerosos casos, la producción de ROS entra dentro de los procesos celulares normales. Por ello, las células han desarrollado sistemas de neutralización de daño por oxidación, genéricamente conocidos como "antioxidantes".

En relación a los tipos de antioxidantes, existen dos subgrupos principales:

- a) sistemas enzimáticos.
- b) antioxidantes no enzimáticos.^{3, 4}

Sistema antioxidante enzimático

Las células disponen de un amplio sistema enzimático especializado en la metabolización de especies reactivas de oxígeno y en especial, de radicales libres ($O^2 \cdot$, OH) e hidrógeno peróxido (H_2O_2). Este sistema lo componen enzimas pertenecientes a la categoría de las oxidoreductasas que corresponden a diferentes grupos como las catalasas, peroxidasas, reductasas, superóxido dismutasas (SOD) o las tioredoxinas (incluyendo las glutaredoxinas y la recientemente descrita nucleoredoxina) repartidas a lo largo de prácticamente toda la células.⁵

Entre las mencionadas enzimas, algunas como la catalasa, se hallan normalmente confinadas en orgánulos especializados en la detoxificación de especies reactivas de oxígeno (peroxisomas), la SOD Mn-dependiente ha sido descrita como específica de la mitocondria y otras como glutatión peroxidasa (GP), tioredoxina reductasa (TR), glutatión reductasa (GR) o Cu/Zn SOD han sido descritas como principalmente citoplasmáticas. A modo de nota, cabe



mencionar que incluso se ha descrito una enzima antioxidante extracelular: la SOD 3 o SOD extracelular.⁶

Antioxidantes no enzimáticos⁷

Dentro de esta categoría se hallan compuestos con capacidad protectora frente a inductores de estrés oxidativo como el ácido ascórbico (o vitamina C), tocoferoles (más conocidos como vitamina E), carotenoides (precursores de la vitamina A), melatonina (también conocida como “la hormona de la oscuridad”) o incluso metales como el selenio (debido al requerimiento del mismo en el centro activo de enzimas como la GP y la TR), la mayoría (exceptuando la melatonina) adquiridos extracelularmente mediante alimentos, principalmente vegetales. En este apartado incluimos también al glutati6n (GSH) que si bien est1a estrechamente ligado al sistema antioxidante enzim1tico celular, no es por s3 mismo una enzima.

El 1cido asc6rbico (AA) o vitamina C es una mol6cula hidrof3lica que ejerce su funci6n antioxidante mediante la donaci6n de un electr6n que reduce tanto radicales libre de ox3geno como ox3geno singlete o per6xidos.

Es a su vez importante la capacidad del AA para reciclar la vitamina E (vit E) mediante la reducci6n de su radical fenoxil. El t6rmino “vitamina E”, por su parte, engloba las diferentes isoformas del tocoferol (α , β , χ , δ) y tocotrienol (α , β , χ , δ) de entre las que destaca el α -tocoferol, por ser la forma predominante en plasma y tejidos. Debido a su naturaleza hidr6foba, la actividad de α -tocoferol se centra en el sistema de membranas celulares y dominios lipoproteicos donde ha sido descrito como inhibidor de peroxidaci6n lip3dica en cadena terminal.⁸

A pesar de su bien descrita capacidad antioxidante en sistemas in vitro, suspensiones lip3dicas o fosfolip3dicas etc., cada vez son m1s las dudas acerca de su comportamiento in vivo; la nueva corriente apunta hacia la actividad del α -tocoferol como modulador de l3pidos o prote3na quinasas y con ello de cascadas de se1alizacion celular, m1s all1 de una actividad directa sobre ROS.



Los carotenoides o C40 isoprenoides, son pigmentos sintetizados tanto en plantas como en algunos hongos y bacterias. Entre ellos, nos es de especial importancia el β -caroteno por ser precursor de la vitamina A el cual jugaría una doble función como antioxidante y precursor del ácido retinoico (AR). El AR, a su vez, se une a sus receptores nucleares (RAR y RXR) regulando la transcripción de genes implicados en procesos como el desarrollo embrionario o la diferenciación celular.^{8, 9}

Los carotenoides en general y el β -caroteno en particular han sido descritos como antioxidantes debido a su capacidad para interferir con reacciones iniciadas por radicales y desencadenantes de peroxidación lipídica así como para extinguir (quench) singletes de oxígeno).

Sin embargo, se ha observado que su comportamiento parece variar entre anti y prooxidante dependiendo de la cantidad de oxígeno disponible o el grado de estrés oxidativo presente en el sistema por lo que se mantiene la controversia sobre su clasificación.¹⁰

En cuanto a la melatonina, es una molécula ubicua que se encuentra tanto en plantas, fungi o animales y que en humanos, como en la mayoría de los vertebrados, se sintetiza en la glándula pineal durante la noche (o fase oscura del ciclo luz/oscuridad ambiental). Sin embargo, además de la importancia en la regulación del sueño, esta hormona (derivada de la serotonina) cumple otras funciones importantes entre las que se halla la de antioxidante (tanto contra ROS como contra RNS) y regulador de enzimas antioxidantes celulares. De hecho, muestra propiedades citoprotectoras en numerosas enfermedades neurodegenerativas así como propiedades oncoestáticas.^{10, 11}

El GSH es el principal representante de la función antioxidante de los tioles y parte esencial del mencionado sistema antioxidante enzimático, cuya forma oxidada es el glutatión bisulfito (GSSG). El glutatión es abundante tanto en el citosol (1-11mM) como en el núcleo (3-15mM) y en la mitocondria (5-11mM), siendo el principal antioxidante soluble de los compartimentos mencionados. Su síntesis se realiza en el citosol mediante la actividad consecuente de la glutamato-cisteína ligasa y la glutatión sintetasa; tras su



síntesis este tripéptido (Glu-Cys-Gly) ha de ser transportado a la mitocondria y al núcleo. Entre las funciones antioxidantes principales del GSH destaca la de ser cofactor de numerosas enzimas antioxidantes como la GP y su labor es especialmente importante en el sistema nervioso central debido a la alta tasa de consumo de oxígeno (respiración mitocondrial) en la misma.

La presencia constante de especies reactivas de oxígenos así como los numerosos sistemas de control mencionados dan idea de la importancia de las reacciones reducción-oxidación (reacciones redox) dentro de los procesos celulares. Junto a ello, la aparición de estrés oxidativo tras diferentes estímulos (citocinas, drogas) ha hecho que los ROS intracelulares se definan como segundos mensajeros.

Sin embargo, creemos conveniente diferenciar entre el efecto de los ROS generados intracelularmente y de la exposición directa a ROS, ya que en este último caso, el estrés oxidativo sería desencadenante y no eslabón de los procesos celulares regulados.

La muerte celular es un proceso estudiado desde en el siglo XIX. Ya en 1885 Flemming describió un proceso que denominó cromatolisis, tras observar la desaparición de células que presentaban rotura nuclear. Desde entonces, y especialmente a partir de 1970s, son muchos los estudios dirigidos a un mayor entendimiento de cómo procesos extremos como la muerte celular están estrictamente regulados.⁹

Al igual que lo ocurrido con el estrés oxidativo, hoy en día se reconoce que la muerte celular apoptótica es un proceso programado que toma parte en actividades tan diversas como el desarrollo de numerosos tejidos o la destrucción de células dañadas.

El hecho de que muchos de los compuestos inductores de apoptosis fueran oxidantes o inductores del metabolismo oxidativo celular hizo que en 1994 Buttke y Sandstrom sugirieran el estrés oxidativo como mediador común en procesos apoptóticos. Al día de hoy, el desplazamiento del ratio GSH/GSSG (formas reducida y oxidada del glutatión) hacia la forma oxidada (GSSG) se



considera como una de las principales señales reguladoras del destino celular Sin embargo, la cada vez más compleja red de sistemas generadores de ROS hace que junto con el ratio GSH/GSSG, se hayan propuesto otras variables en la activación de rutas apoptóticas o de supervivencia como: ^{11, 12}

- Tipo de ROS generado donde un aumento de H₂O₂ activaría rutas pro apoptóticas mientras que concentraciones bajas de O₂ - podrían estas relacionadas con rutas de supervivencia
- Origen de los ROS: mitocondrial, originado por la NOX4, NQO1, otras NADPH oxidasas etc. Aportan extensa información de las rutas moleculares implicadas en apoptosis por agentes externos oxidantes directos tales como el propio H₂O₂, oxidantes intracelulares como el menadione o paraquat, radiaciones UV o RI. A modo de nota, recordar que a diferencia del estudio basado en el mecanismo de acción de numerosos xenobióticos, drogas o los mencionados oxidantes intracelulares, en el caso de H₂O₂, el estrés oxidativo no es mensajero secundario sino inductor principal de la muerte celular.

Son muchas las moléculas/rutas de señalización relacionadas con apoptosis y/o supervivencia celular activada tras la exposición a estrés oxidativo. Entre ellas, cabe destacar la proteína apoptosis signal-related kinase-1 o ASK-1, activada por estrés oxidativo y a su vez, regulada por el sistema antioxidante celular. La ASK-1 es una kinasa de la familia de las MKKK (Mitogen activated protein Kinase Kinase Kinase) que ha sido involucrada en la regulación de JNK (c-Jun N-terminal kinase) en procesos de muerte celular.

Si bien no tan evidentes como la muerte celular, ROS ha demostrado regular otros procesos como la progresión del ciclo celular y con ello, proliferación y la diferenciación. Brevemente, se observa que aumentos leves puntuales de ROS pueden incrementar la progresión del ciclo celular (con ello la proliferación) mientras que estados prolongados de ROS elevado inducen arresto del ciclo celular ligado a diferenciación, senescencia o muerte celular, de forma dosis y tiempo dependiente. Es mucho lo que queda por conocer en cuanto a las bases moleculares precisas de ROS en la regulación del ciclo



celular pero son muchos los datos que apuntan hacia la proteína p21 como inductor del arresto celular en casos de dosis no letales de ROS.¹²

En cuanto a cambios en niveles intracelulares de ROS durante el ciclo celular, se ha observado que los niveles de ROS aumentan durante el paso de la fase G1 a la S y que la eliminación del ROS mencionado induce arresto celular, evitando la entrada en la fase S (o de síntesis). De hecho, se ha postulado que ROS pudiera regular el ciclo celular mediante la modulación de enzimas con aminoácidos redox-sensibles en los centros catalíticos.

La unión entre el ciclo celular y la diferenciación se basa en que en condiciones normales, el arresto del ciclo celular es uno de los pasos previos al inicio tanto de la diferenciación como del proceso de senescencia.

Con respecto al proceso de diferenciación parece que una vez más, el nivel de estrés oxidativo es crucial en la inducción/inhibición del proceso. En células madre embrionarias de ratón, se ha observado que un nivel regulado de H₂O₂ induce proliferación y cardiomiogénesis de los mismos, mediado en parte por la expresión de genes específicos de células cardíacas (ej. α -actina, MLC2a, MLC2V etc.).

Así mismo, se ha observado que durante la diferenciación, dichas células madre expresaban las isoformas Nox-1, Nox-2 y Nox-4 de las NADPH oxidasas y que el tratamiento de células cardíacas con ROS aumenta proteínas como la Nox-1 y Nox-4, sugiriendo una regulación bidireccional de ROS así como la implicación de los mismos en la diferenciación de células madre embrionarias.¹⁰

Otro de los ejemplos de la regulación por estrés oxidativo la encontramos en el sistema hematopoyético donde el control sobre ROS o la falta de la misma han demostrado regular las proporciones de proliferación-regeneración-diferenciación del sistema hematopoyético. En este sistema, la familia Foxo (Forkhead box O) de factores de transcripción representa uno de los principales moduladores del estrés oxidativo, mediante la regulación de genes correspondientes al sistema antioxidante como la MnSOD.



De forma general, se ha observado que la delección de Foxo3a en ratón reduce la expresión de las 2 proteínas antioxidantes mencionadas dando lugar a un aumento del ROS en las células madre hematopoyéticas (CMH) y una menor regeneración de las mismas. Junto a ello, delección de miembros de la familia Foxo como Foxo1, Foxo3a o Foxo4 en CMH induce un aumento de células en las fases S/G2 y M del ciclo celular, diferenciación celular y consecuentemente, menor capacidad regenerativa.⁷

Los ejemplos hasta ahora mencionados corresponden a procesos dentro de la fisiología normal pero la implicación de los ROS en proliferación y diferenciación celular es también extensible a procesos patológicos como el cáncer, caracterizado por la proliferación descontrolada y la falta de diferenciación celular. De hecho, son numerosas las diferencias en la producción y control de ROS halladas entre células normales y neoplásicas

En células neoplásicas, la mayor presencia de enzimas del sistema antioxidantes (ej. tioredoxina) o antioxidantes no enzimáticos como el GSH induce un microambiente reductor, especialmente importante en compartimentos como el núcleo o la mitocondria. Este microambiente facilitaría no sólo la evasión del proceso apoptótico (ej. inhibiendo la ASK-1, implicada en la inducción de muerte celular y analizada anteriormente) sino también la proliferación desmedida, fruto de un proceso inverso al ligado a la diferenciación celular y mediado por la activación de factores de transcripción redox-sensibles como el AP-1 (activador proteína-1) y el NF- κ B (nuclear factor- κ B).

CONCLUSIONES

El estrés oxidativo constituye el principal mecanismo de defensa y control de la homeostasis a nivel molecular y celular.



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Anderson B, Sawyer DB. Predicting and preventing the cardiotoxicity of cancer therapy. *Expert Rev Cardiovasc Ther* 2008; 6: 1023-33
2. Aoyama K, Watabe M, Nakaki T. Regulation of neuronal glutathione synthesis. *J Pharmacol.*
3. Arakawa M, Ito Y. N-acetylcysteine and neurodegenerative diseases: basic and Clinical pharmacology. *Cerebellum* 2007; 19: 1-7
4. Asumendi A, Morales MC, Alvarez A, Aréchaga J, Pérez-Yarza G. Implication of mitochondria-derived ROS and cardiolipin peroxidation in N-(4-hydroxyphenyl)retinamide-induced apoptosis. *Br J Cancer* 2002; 86: 1951-6
5. Atkinson J, Epand RF, Epand RM. Tocopherols and tocotrienols in membranes: a critical review. *Free Radic Biol Med* 2008; 44: 739-64
6. Azzi A. Molecular mechanism of alpha-tocopherol action. *Free Radic Biol Med* 2007; 43: 16-21
7. Baker A, Payne CM, Briehl MM, Powis G. Thioredoxin, a gene found overexpresses in human cancer, inhibits apoptosis in vitro and in vivo. *Cancer Res* 1997; 57: 5162-7
8. Bickers DR, Athar M. Oxidative stress in the pathogenesis of skin disease. *J Invest Dermatol*
9. Miller WH Jr, Schipper HM, Lee JS, Singer J, Waxman S. Mechanism of action of arsenic trioxide. *Cancer Res* 2002; 62: 3893-903
10. Miyamoto K, Araki KY, Naka K, Arai F, Takubo K, Yamazaki S, Matsuoka S, Miyamoto T, Ito K, Ohmura M, Chen C, Hosokawa K, Nakauchi H, Nakayama K, Nakayama KI, Harada M, Motoyama N, Suda T, Hirao A. Foxo3a is essential for maintenance of the hematopoietic stem cell pool. *Cell Stem Cell* 2007; 1: 101-12
11. Palozza P. Can beta-carotene regulate cell growth by a redox mechanism? An answer from cultured cells. *Biochim Biophys Acta* 2005; 1740: 215-21
12. Mendoza Coussette, Ulises; García Piñeiro, José Carlos; Gastell, Pedro Luis; Armenteros, Armando Amador. «Xantina oxidoreductasa,



**Segundo Congreso Virtual de
Ciencias Básicas Biomédicas en Granma.
Manzanillo.**



propiedades, funciones y regulación de su expresión genética». Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas 24 (2): 0-0. ISSN 0864-0300. Consultado el 14 de febrero de 2016.