



Estrés oxidativo

Dr. Antonio Manuel Lax Pérez

Doctor en Bioquímica. Grupo Investigación Clínica y Traslacional en Cardiología. IMIB-Arrixaca

ÍNDICE

Estrés oxidativo	2
Producción de pro-oxidantes	2
Fuentes potenciales de ERO	3
<i>Producción de ERO mitocondriales</i>	3
<i>Producción de ERO en el citosol</i>	6
Disfunción mitocondrial y producción de ERO	6
Mecanismos de defensa antioxidante	8
Efecto de las ERO mitocondriales sobre el corazón y enfermedad cardiovascular	9
<i>Efectos de las ERO sobre los cardiomiocitos</i>	9
<i>Efecto de las ERO sobre las células endoteliales</i>	10
<i>ERO y enfermedad cardiovascular</i>	11
<i>Valoración del estrés oxidativo y potencial antioxidante como índices de diagnóstico, pronóstico y evolución de la enfermedad</i>	13
BIBLIOGRAFÍA	16



Estrés oxidativo

El oxígeno ha sido seleccionado por la evolución en todos los seres vivos aerobios como la molécula receptora de electrones en los procesos para formar ATP y obtener energía. Esta circunstancia ha aportado numerosas ventajas a estos seres aeróbicos, pero también desventajas debido a la fuerte naturaleza oxidativa del oxígeno. El oxígeno es una molécula altamente inestable con gran capacidad para aceptar electrones de otras moléculas. Esta capacidad de captar electrones hace que en procesos de metabolismo aerobio, en ocasiones, bien como consecuencia de la actividad enzimática oxidativa, bien como oxidación incompleta de la cadena respiratoria mitocondrial, se formen moléculas de oxígeno inestables con un electrón desapareado en su última capa, es decir especies con oxígeno reactivo (ERO), con una alta capacidad de reacción, prácticamente con cualquier principio activo, lo que también condiciona su corta existencia y su capacidad lesiva.

Definimos el estrés oxidativo como aquella situación en la que las células están expuestas a un ambiente pro-oxidante que puede afectar a la homeostasis del estado redox. En esta situación, los mecanismos defensivos antioxidantes desarrollados para contrarrestar la acción de las ERO (véase página 8) no son capaces de restaurar la situación basal, dando lugar a una desprotección tisular frente a la acción de estos compuestos tan reactivos y que participan en algunos procesos degenerativos de los sistemas biológicos. El alto contenido mitocondrial hace que uno de los sistemas más sensibles a este daño oxidante sea el sistema cardiovascular. Dentro de las ERO se incluyen los radicales con oxígeno reactivo, y otros compuestos de oxígeno que si bien no pueden catalogarse químicamente como radicales libres (H_2O_2 , $OONO^-$, ...), sí que son altamente pro-oxidantes, y durante su metabolismo pueden generar especies muy reactivas (OH^- , NO_2).

Producción de pro-oxidantes

Las ERO se generan en las células fundamentalmente por reacciones de transferencia de electrones. Éstas pueden estar mediadas por la acción enzimática o por el contrario estar producidas sin la intervención de las enzimas. El radical libre que



suele generar la existencia de las demás ERO endógenas es el anión superóxido. Su origen en las células son las mitocondrias y las membranas celulares tras la actuación de enzimas de membrana. En la mitocondria, el oxígeno molecular se metaboliza en la cadena de transporte de electrones por la vía tetravalente para la obtención de energía (ATP), pero una pequeña proporción de él (2-5%) se escapa por una vía univalente, el oxígeno capta un electrón y se convierte en el anión superóxido. A nivel de las membranas celulares realizan su función diversas enzimas —lipo-oxigenasa, xantina oxidasa, ciclo-oxigenasa, mono-aminoxidasa y NADPH oxidasa—, que utilizan el oxígeno como aceptor de electrones y en consecuencia se forma este anión. La activación de estas enzimas está relacionada con la actuación de diferentes hormonas y moduladores hormonales, de esta forma el anión superóxido puede considerarse como segundo mensajero en la actuación hormonal. A partir de este anión se forman las demás ERO, destacando el peróxido de hidrógeno, peroxinitrito, hipoclorito y cloraminas, así como los radicales hidroxilo y dióxido de nitrógeno.

Las ERO actúan como herramientas de las defensas celulares contra ciertas agresiones o daños. Leucocitos monocitos-macrófagos y células del llamado sistema retículo-endotelial (células endoteliales, histiocitos, células alveolares II, células Kupffer, células gliales, ..) una vez activados liberan importantes cantidades de ERO que ayudan a combatir la agresión y participan del proceso inflamatorio. En ciertos casos, si estos procesos inflamatorios se producen de forma sistémica y crónica y en determinados individuos, puede condicionar, por ejemplo, el inicio y la progresión del proceso arteriosclerótico.

Fuentes potenciales de ERO

La producción de radicales libres ocurre tanto a nivel citosólico como a nivel mitocondrial.

Producción de ERO mitocondriales

La mitocondria es el orgánulo encargado de generar la mayor parte de la energía celular mediante el mecanismo de fosforilación oxidativa. Este proceso está mediado por los cuatro complejos de transferencia de electrones (I – IV) integrados en



la membrana interna mitocondrial, formando la cadena de transporte de electrones (CTE) o cadena respiratoria. Los electrones llegan en forma de NADH y FADH₂, provenientes de las dos rutas principales de obtención de energía, que son el ciclo de Krebs y la β-oxidación de ácidos grasos. En presencia de O₂, la reducción de H₂O en la CTE para la obtención de energía genera un gradiente de protones entre la matriz mitocondrial y el espacio intermembrana. Finalmente este gradiente electroquímico es aprovechado por la ATP sintasa, también denominada complejo V, para la síntesis de ATP(1). Además de su papel en la generación de energía, la mitocondria participa en otros procesos celulares cruciales, como la regulación de la homeostasis de Ca²⁺, la apoptosis y la producción de especies con oxígeno reactivo (ERO).

Las mitocondrias representan la mayor fuente de ERO de las células, siendo los complejos I y III de la CTE los principales generadores. A pesar de que la mayor parte del O₂ es completamente consumido en el proceso de la fosforilación oxidativa, una pequeña parte (1-2%) se convierte en anión superóxido (O₂^{·-}) en los complejos I y III de la CTE. A partir de este paso se forman otras ERO como el peróxido de hidrógeno (H₂O₂), generado por la dismutación del anión O₂^{·-} mediada por la manganeso superóxido dismutasa (MnSOD), y el radical hidroxilo (·OH) que se obtiene por la reducción de H₂O₂ en presencia de metales de transición reducidos(2) (Figura 1).

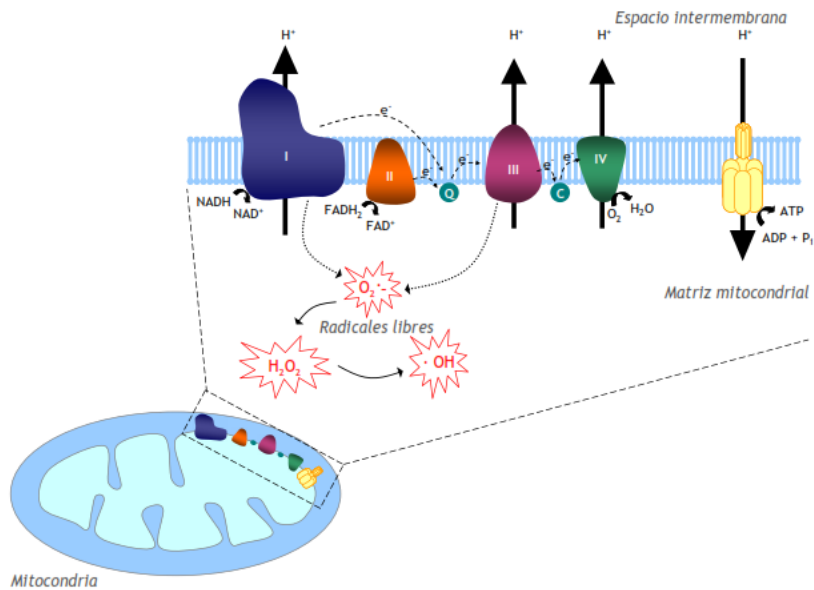


Figura 1. Producción de radicales libres en la cadena de transporte de electrones mitocondrial. La fosforilación oxidativa es llevada a cabo en la membrana mitocondrial interna, donde se encuentra la cadena de transporte de electrones formada por los complejos I, II, III y IV, el coenzima Q (Q) y el citocromo C (C). La actividad de los complejos I, III y IV genera un gradiente de protones (H^+) que favorece la entrada de éstos a través de la ATP sintasa, que genera ATP a partir de $ADP + P_i$. De los complejos I y III además, se libera el anión superóxido ($O_2^{\cdot-}$), uno de los principales radicales libres de origen mitocondrial, junto con sus derivados, el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y el radical hidroxilo ($\cdot OH$). $NADH / NAD^+$, nicotinamida adenina dinucleótido (forma reducida / oxidada); $FADH_2 / FAD^+$, flavina adenina dinucleótido (forma reducida / oxidada); O_2 , oxígeno; H_2O , agua; ATP, adenosina trifosfato; ADP, adenosina difosfato; P_i , fosfato inorgánico.

Además de ERO, en la mitocondria se forman también especies reactivas de nitrógeno (ERN), como el peroxinitrito ($ONOO^-$) formado a partir del óxido nítrico que reacciona con el anión $O_2^{\cdot-}$. Tanto las ERO como las ERN actúan como moléculas de señalización relevantes para diversas funciones celulares en condiciones fisiológicas, como la muerte celular programada, la regulación de respuestas a estrés, la proliferación celular o como sensores de la concentración de O_2 (2,3). Un ejemplo del papel esencial de las ERO en el mantenimiento de ciertas funciones celulares es la liberación de insulina por parte de las células β pancreáticas en respuesta a la glucosa, que requiere una moderada y equilibrada producción de ERO mitocondriales(4). Sin embargo, si la producción de ERO es excesiva puede dañar moléculas como el ADN y las proteínas, generándose un estado de estrés oxidativo perjudicial para la célula.

Producción de ERO en el citosol

En la célula existen diversas enzimas que son capaces de producir ERO, como la NADPH oxidasa. Esta enzima está formada por varios complejos proteicos y juega un rol crucial en la defensa inmunitaria, al generar ERO en las células fagocíticas para eliminar los microorganismos patógenos. La NADPH oxidasa se expresa en múltiples tipos celulares, pero es de particular importancia su función en el sistema vascular, ya que actúa regulando el tono vascular y como sensor de O₂ (5). Sin embargo, se ha demostrado que la sobre-expresión o el incremento de actividad de esta enzima —excesiva generación de ERO en este tejido—, está relacionada con diversas enfermedades vasculares(6). Está implicada en la generación de anión superóxido (Figura 2)

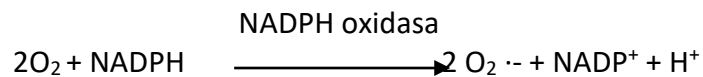


Figura 2. Mecanismo de reacción de la enzima NADPH oxidasa.

Otros ejemplos de enzimas generadoras de ERO son la xantina oxidasa (XO), la lipooxigenasa o la óxido nítrico sintasa, así como la mieloperoxidasa (MPO), que se encargan de la producción de ERO como mecanismo defensivo en las células inmunitarias.

Disfunción mitocondrial y producción de ERO

Se define como disfunción mitocondrial a la descompensación de las funciones reguladoras que la mitocondria realiza: síntesis de ATP, regulación de la homeostasis del Ca²⁺, síntesis y catabolismo de diversos metabolitos, así como la generación y detoxificación de radicales libres (Figura 3). Durante el funcionamiento mitocondrial se producen cantidades significativas de ERO, que en situaciones normales son eliminadas por los sistemas antioxidantes presentes en las células. Pero cuando estos sistemas no funcionan de forma correcta, la constante exposición a ERO hace que los componentes mitocondriales, como el ADN, las proteínas o las membranas sean especialmente sensibles a su efecto deletéreo. Brevemente, el ADN mitocondrial acumula mucho más daño oxidativo que el ADN nuclear debido a su proximidad a las



fuentes generadoras de ERO, pero también debido a unos sistemas de reparación menos eficaces y a la ausencia de histonas que protegen físicamente el ADN de ataques exógenos. Por otra parte, las proteínas mitocondriales también son particularmente susceptibles al daño oxidativo debido a la presencia de grupos de iones sulfuro en su estructura(7). Así, las proteínas que integran los complejos mitocondriales de la CTE pueden verse afectadas por una producción excesiva de ERO. Particularmente el complejo I es el más vulnerable, y su alteración, en consecuencia, incrementa la producción de ERO, creándose un círculo vicioso que da lugar a la disfunción mitocondrial. Es importante destacar que el daño al complejo I tiene un mayor impacto en la función mitocondrial que la alteración a otros complejos, dado que las mitocondrias poseen menos cantidad de complejo I que del resto de complejos de la CTE(8). Finalmente, las membranas mitocondriales son otra diana del daño oxidativo. Diversos estudios han demostrado que los fosfolípidos que integran las membranas mitocondriales son ricos en ácidos grasos insaturados, que son extremadamente susceptibles a la peroxidación lipídica mediada por las ERO. Uno de los lípidos más afectados por el daño oxidativo es la cardiolipina, un componente esencial de la membrana mitocondrial interna que además se asocia a los complejos mitocondriales, probablemente favoreciendo la comunicación entre ellos(9). El daño inducido por las ERO sobre la membrana mitocondrial interna es significativo, no solo porque ésta integra los complejos mitocondriales, sino también porque mantiene un elevado potencial de membrana mitocondrial ($\Delta\psi_m$) necesario para mantener su gradiente electroquímico. Estas propiedades se pueden ver comprometidas por la acción oxidativa de las ERO(10). Una función mitocondrial basal (normal), se manifiesta con una tasa equilibrada de producción de ATP, que implica el consumo apropiado de O_2 en la CTE mitocondrial, el cual fluctúa en función de los requerimientos energéticos. A su vez, el $\Delta\psi_m$ es un indicador de la función de la mitocondria puesto que representa el equilibrio entre el potencial de reducción de las bombas de protones en la CTE y la conductividad iónica de la membrana hacia la matriz mitocondrial(11).

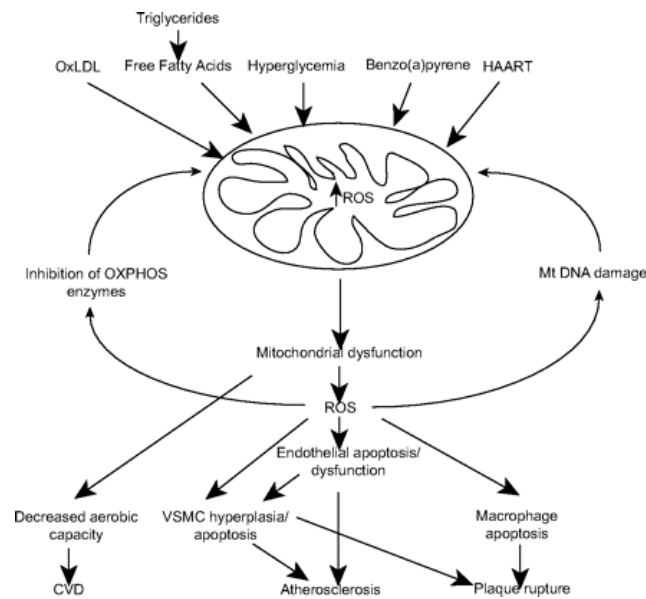


Figure 3. Mecanismos aterogénicos de la disfunción mitocondrial. Varios agentes asociados con la fisiopatología vascular inducen disfunción mitocondrial y aumentan la producción de ERO. La disfunción mitocondrial conduce a una disminución de la capacidad aeróbica, que es un fuerte predictor de mortalidad. El aumento de la producción de ERO mitocondrial provoca disfunción endotelial/apoptosis y proliferación/apoptosis de células musculares lisas tipo VSMC, lo que lleva al desarrollo de la aterosclerosis. La muerte celular por apoptosis de las células VSMC y de los macrófagos causada por una mayor producción de ERO, afecta a la progresión de la lesión aterosclerótica y puede causar ruptura de la placa. La figura representa además la interacción entre la disfunción mitocondrial y la producción de ERO. CVD: enfermedad cardiovascular.

Mecanismos de defensa antioxidante

Todos los organismos que utilizan el O_2 como fuente para la obtención de ATP (aeróbicos) poseen sistemas biológicos de defensa, llamados antioxidantes, para protegerse frente a una producción nociva de las ERO. Un antioxidante es cualquier sustancia que, a baja concentración, respecto al sustrato oxidable, disminuye o inhibe de forma significativa la propia oxidación de ese sustrato. Aunque son varios los mecanismos implicados, la defensa antioxidante enzimática es la más importante.

Sistema de defensa antioxidante enzimática

Este sistema de defensa en condiciones basales es capaz de proteger frente a las ERO producidos durante el metabolismo celular. Las enzimas implicadas son: la superóxido dismutasa (SOD), la catalasa (CAT) y la glutatión peroxidasa (GPX) (figura 4).

La SOD cataliza la dismutación del anión superóxido, originando peróxido de hidrógeno. La CAT, es una enzima tetramérica que cataliza la descomposición del peróxido de hidrógeno en agua. Está presente en la mayoría de las células eucariotas, localizándose a nivel de los peroxisomas. Por último, está la GPX, que también contribuye a la eliminación del peróxido de hidrógeno pero, a diferencia de la CAT, que usa el peróxido de hidrógeno como dador de electrones, esta utiliza el glutatión reducido.

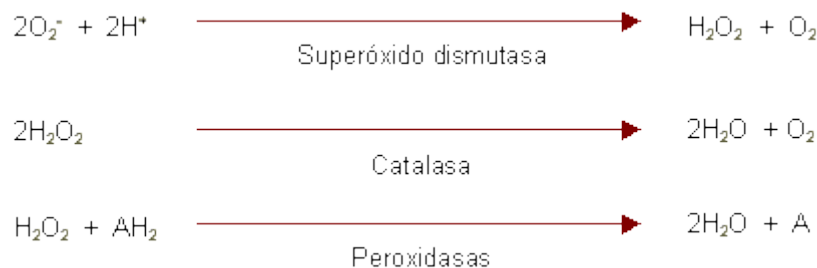


Figura 4. Reacciones protectoras contra la acción de aniones superóxido y peróxidos

Efecto de las ERO mitocondriales sobre el corazón y enfermedad cardiovascular

Efectos deletéreos de las ERO sobre los cardiomiocitos

El corazón necesita un suministro constante de energía para inducir la actividad contráctil. Esta actividad se cumple gracias a la síntesis diaria de ATP a través de la fosforilación oxidativa. En un corazón en estado normal aproximadamente entre un 60-70% de las necesidades energéticas en forma de ATP se obtienen gracias a la oxidación de los ácidos grasos (β -oxidación), dando lugar a un mayor rendimiento de ATP que con la glucosa. La fosforilación oxidativa es una fuente de producción endógena de ERO dentro de las mitocondrias; la disfunción mitocondrial conduce a la sobreproducción de ERO lo que genera un círculo vicioso de daño oxidativo —apertura del poro de permeabilidad transitoria mitocondrial y liberación de más ERO—(12) que tiene importantes efectos fisiopatológicos. El

exceso en la producción de ERO bajo condiciones fisiopatológicas induce efectos deletéreos sobre los miocitos a través de la disfunción mitocondrial y el declive bioenergético. La exposición crónica de los miocitos a ERO conduce a una alteración del proceso de excitación-contracción, lo que causa arritmias y contribuye a una remodelación cardíaca mediante la inducción de la hipertrofia, apoptosis, necrosis, y fibrosis (13–15).

Efectos de las ERO sobre las células endoteliales

A nivel vascular, la acumulación de ERO induce una respuesta inflamatoria que está implicada en la patogénesis entre otras de la aterosclerosis, la hipertensión, o la diabetes mellitus(16). Sin embargo, en condiciones no patológicas, los niveles basales de ERO que se generan en las mitocondrias ejercen efectos beneficiosos sobre la fisiología y función cardiovascular(17).

En el endotelio de arteriolas coronarias, la generación de H_2O_2 en las mitocondrias es inducida por la tensión de cizallamiento. A este nivel el H_2O_2 produce dilatación (18). Diferentes estudios han mostrado como este H_2O_2 se produce básicamente a nivel del complejo I y III de las mitocondrias de estas células endoteliales(19).

Otra molécula sintetizada a nivel de las células endoteliales, e importante vasodilatador, es el óxido nítrico (NO). El NO tiene funciones muy importantes que regulan la bioquímica del endotelio: anti-proliferativo y anti-plaquetario, disminución de la permeabilidad y anti-inflamatorio (20). Diferentes estudios han mostrado como el NO inhibe la adhesión de los leucocitos así como también la activación de VCAM-1 (molécula de adhesión de células endoteliales vasculares) y MCP1 (21), a través del bloqueo del factor de transcripción NF-kB (22).

Un concepto importante a considerar, es la disfunción endotelial (DE). Se define la DE, como un proceso en el que el endotelio sufre alteraciones bioquímicas que conducen a su deterioro funcional. Es un evento temprano en el desarrollo y aparición de aterosclerosis y sabemos que la reducción en la biodisponibilidad de NO está implicada en este proceso. Existen varias rutas a través de las que se puede reducir la biodisponibilidad de NO y con ella la evolución a DE. Uno de estas vías es la producción de superóxido que inactiva a NO. Pero este no es el único mecanismo. La disminución en la expresión o actividad de la enzima óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS) o la reducción de la biodisponibilidad de tetrahidrobiopterina (BH4) (cofactor de la enzima NOS), son dos ejemplos de mecanismos implicados.

ERO y enfermedad cardiovascular

Las ERO mitocondriales están implicadas en la patogénesis de las enfermedades cardiovasculares, tales como la aterosclerosis, la hipertensión o la diabetes. La teoría de la disfunción mitocondrial (véase página 6), postula que el exceso de liberación de ERO a nivel mitocondrial es responsable de la activación de una reacción inflamatoria vascular que conduce a la enfermedad cardiovascular(23,24). Muchos factores de riesgo cardiovasculares, incluyendo la hiperglucemia, la resistencia a la insulina, la hipercolesterolemia, la oxidación de las LDL, la hiperhomocisteinemia, la exposición al humo del tabaco o el envejecimiento, pueden afectar de forma negativa a la función de las mitocondrias de las células endoteliales a través de diversos mecanismos, lo que resulta en un aumento de la producción de ERO. Esto contribuye a la disfunción endotelial y en última instancia al desarrollo de la enfermedad cardiovascular. Además, una producción excesiva de ERO a nivel mitocondrial, afecta a las membranas mitocondriales, a las proteínas y al ADN mitocondrial, amplificando la disfunción mitocondrial a través de un círculo vicioso. De forma interesante, la producción de ERO a nivel mitocondrial por otro tipo de células vasculares (por ejemplo, células de músculo liso) también pueden contribuir al desarrollo de lesiones vasculares(25). La teoría de la disfunción mitocondrial se ilustra bien en el daño celular inducido por la hiperglucemia a nivel de las células endoteliales o en las células de órganos diana relacionadas con las complicaciones diabéticas(26,27). La hiperglucemia intracelular aumenta el gradiente de protones mitocondrial a través de la producción excesiva de donantes de electrones (NADH y FADH₂) para el ciclo de los ácidos tricarbónicos, lo que resulta en un aumento de la producción mitocondrial de ERO (Figura 5). Estas ERO inducen la activación de la enzima poli (ADP-ribosa) polimerasa y, a su vez, disminuyen la actividad de la gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH). Este efecto sobre la enzima GAPDH, activa múltiples vías, incluyendo la activación de la enzima proteína quinasa C (PKC) y, posteriormente, el factor de transcripción NF-κB, lo que resulta en una disminución en la expresión de la enzima óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS), aumento de la producción de vasoconstrictores como la endotelina-1, y la activación de muchos genes pro-inflamatorios.

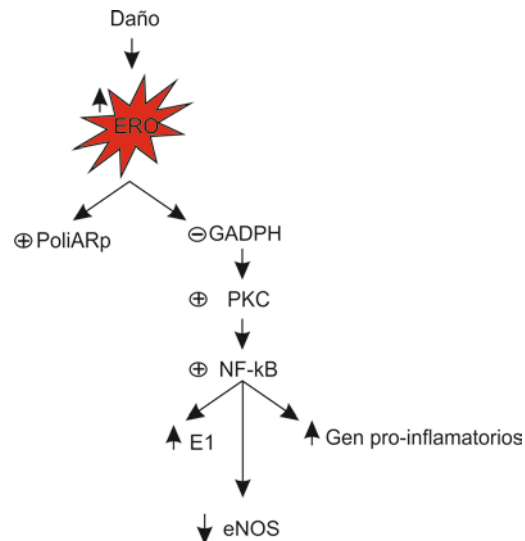


Figura 5. Daño oxidativo y enfermedad cardiovascular. PoliARp: enzima poli (ADP-ribosa) polimerasa; GADPH: enzima gliceraldehido 3 fosfato deshidrogenasa; PKC: protein quinasa C; E1: endotelina 1; eNOS: enzima óxido nítrico sintasa endotelial.

Todos estos cambios pueden contribuir de forma potencial en la patogénesis del daño microvascular de tipo diabético. Curiosamente, la enfermedad macrovascular diabética parece implicar un aumento de flujo libre de ácidos grasos y su oxidación en las células endoteliales así como la consecuente sobreproducción de ERO a nivel mitocondrial(28). Las ERO específicas implicadas en la señalización celular parecen variar dependiendo de la configuración fisiopatológica. Como ejemplo, la activación del factor de transcripción NF-kB inducida por diversas citoquinas, está inversamente relacionado con la expresión de Mn-SOD(29). En este caso, la sobreexpresión de las enzimas antioxidantes catalasa y glutatión peroxidasa, no tienen ningún efecto(29). Estas observaciones sugieren que la activación de este factor de transcripción (NF-kB) por citoquinas inflamatorias está mediada por O₂⁻ en lugar de H₂O₂.

Valoración del estrés oxidativo y potencial antioxidante como índices de diagnóstico, pronóstico y evolución de la enfermedad

Básicamente mediante el uso de técnicas espectrofotométricas, fluorimétricas, cromatografía de alta resolución, y técnicas de biología molecular, podemos valorar el grado de estrés oxidativo y de las defensas antioxidantes endógenas del sujeto (Figura 6). La obtención de resultados significativos mediante el uso de este método es difícil, en referencia a la corta vida media de las especies oxidantes. La rápida obtención de las muestras y su adecuado almacenamiento posterior (N_2 líquido), son parámetros muy importantes para la obtención de resultados satisfactorios.

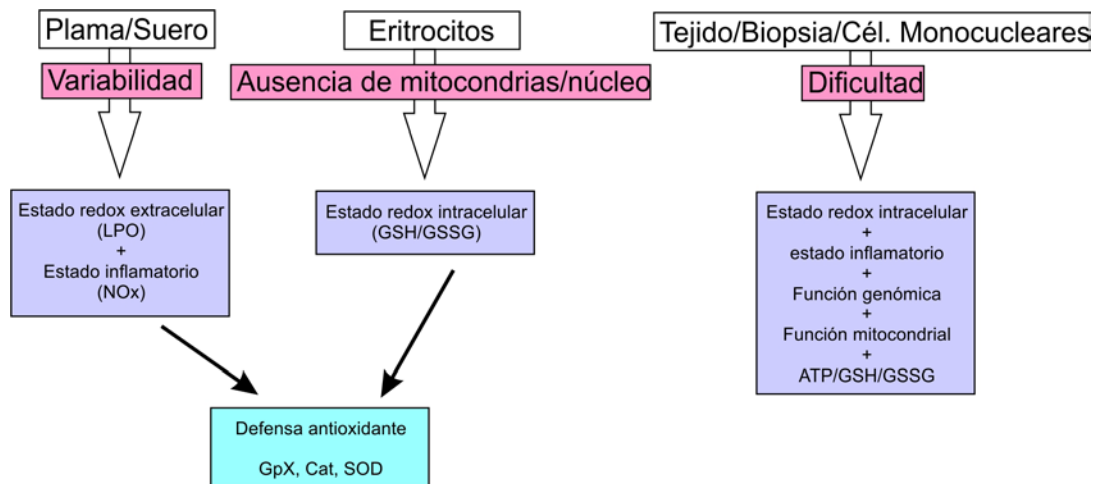


Figura 6: Parámetros utilizados para valorar el estado oxidativo. Se comparan las distintas muestras para determinar dichos marcadores, y la utilidad relativa de cada una.

Con el objetivo de evaluar el grado de estrés oxidativo en las muestras biológicas, de forma directa, en el laboratorio se realizan las siguientes determinaciones:

1. Estado redox extracelular plasmático. Determinación de marcadores de daño oxidativo/nitrosativo, radicales libres y sistemas antioxidantes endógenos extracelulares (Figura 7). Finalidad: Evaluar el estado redox (oxidativo) periférico. Interés clínico: Nos indica de manera indirecta y superficial el estado oxidativo del



paciente, aunque no nos dice cómo están afectadas las células/tejidos el organismo.

Muestra biológica: Plasma, LCR.

Parámetros de medida a considerar:

- Peroxidación de los lípidos de membrana (LPO): refleja el daño oxidativo a las membranas celulares.
- Carbonilos: refleja el daño oxidativo a las proteínas.
- 8-hidroxi-desoxiguanosina (OH-dG): refleja el daño oxidativo al ADN.
- Nitritos+ nitratos (NOx): refleja el daño nitrosativo celular debido a un proceso inflamatorio.
- Cociente Glutation reducido (GSH)/glutation oxidado (GSSG): refleja el estado redox y, cuando se mide en las células, constituye el mejor índice del estado redox intracelular.
- Glutation peroxidasa (GPx) y reductasa (GRd): reflejan la capacidad del organismo para mantener el índice GSH/GSSG y, por tanto, la capacidad de defensa antioxidante.
- Superóxido dismutasa (SOD): refleja la capacidad de defensa antioxidante frente a radicales superóxido, principales generados en la mitocondria.
- Catalasa (CAT): refleja la capacidad de defensa antioxidante frente a los peróxidos de hidrógeno.
- Coenzima Q10 (CoQ10): refleja la defensa antioxidante de las membranas celulares, y es también un índice importante de la función mitocondrial.
- Melatonina intracelular: refleja el estado del reloj biológico, así como la capacidad de defensa antioxidante endógena.
- Actividad antioxidante total del plasma (AAT): refleja de manera indirecta el conjunto de sistemas de defensa antioxidante en el plasma.
- Productos de oxidación avanzada de proteínas (AOPP): es un marcador importante de estrés oxidativo, directamente relacionado con los productos finales de glicación avanzada (AGE), y mediadores también de inflamación y activación de células monocíticas.

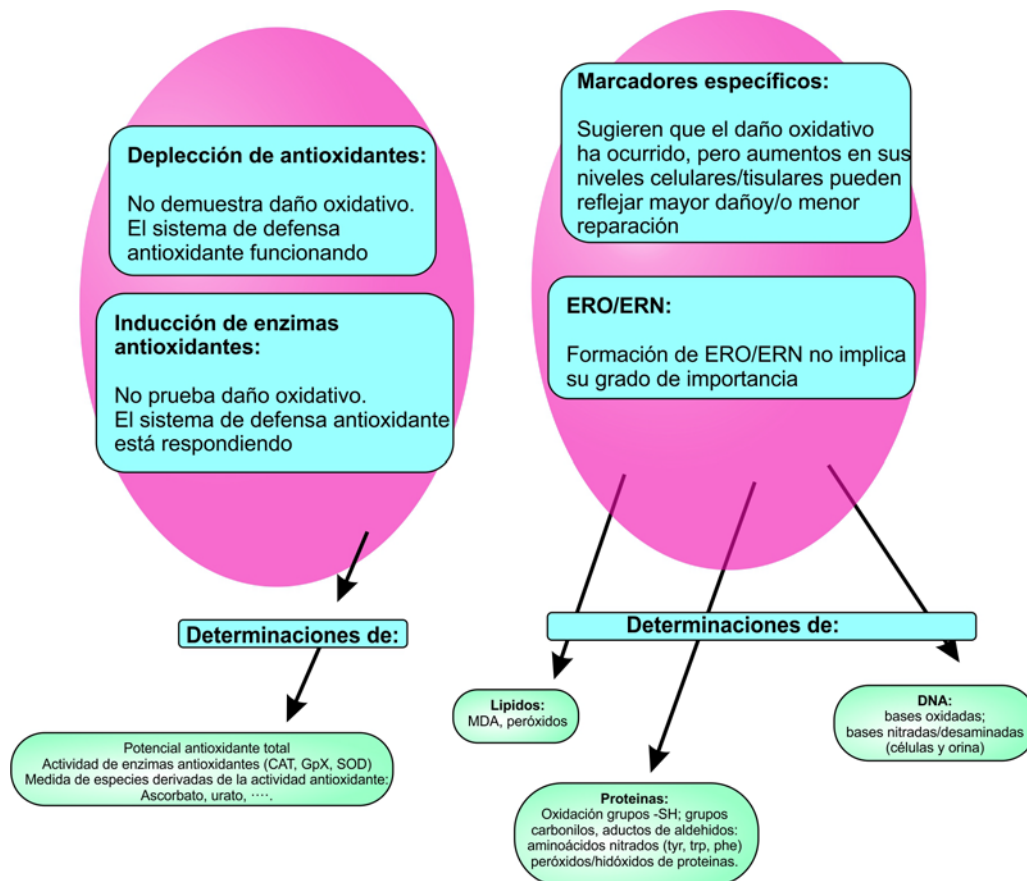


Figura 7: Algunos tipos de mediadores utilizados como marcadores del estado redox e inflamatorio

2. Estado redox intracelular eritrocitario: Determinación de los marcadores de daño oxidativo, radicales libres y sistemas antioxidantes endógenos intracelulares. Finalidad: Evaluar el estado redox (oxidativo) intracelular. Interés clínico: Nos indica de manera más específica el estado oxidativo intracelular del paciente, ya que las determinaciones en hematíes reflejan el estado redox intracelular de los tejidos. Sin embargo, al no tener núcleo ni mitocondrias, no se determina el componente bioenergético en dicho estado. Muestra biológica a considerar: hematíes, biopsia-tisular.

Parámetros: Los mismos que antes, excepto la AAT.

3. Estado redox intracelular en células mononucleares: Determinación de marcadores de daño oxidativo, radicales libres y sistemas antioxidantes endógenos intracelulares.



La ventaja frente a las determinaciones en hematíes es que este estudio proporciona información adicional, importante, al incluir estas células mitocondrias y núcleos.

Finalidad: Evaluar el estado redox (oxidativo) intracelular en células bioenergéticamente activas. Interés clínico: Nos indica de manera más específica el estado oxidativo intracelular del paciente, ya que las determinaciones en células mononucleares periféricas (monocitos y linfocitos) reflejan el estado redox intracelular de los tejidos, tanto el dependiente del metabolismo citoplasmático como del mitocondrial. Muestra biológica: células mononucleares sanguíneas; biopsia tisular.

Parámetros: Los mismos que en hematíes.

BIBLIOGRAFÍA

1. Elston T, Wang H, Oster G. Energy transduction in ATP synthase. *Nature*. 1998 Jan 29;391(6666):510–3.
2. Dröge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev*. 2002 Jan;82(1):47–95.
3. Brookes PS, Levonen A-L, Shiva S, Sarti P, Darley-Usmar VM. Mitochondria: regulators of signal transduction by reactive oxygen and nitrogen species. *Free Radic Biol Med*. 2002 Sep 15;33(6):755–64.
4. Leloup C, Tourrel-Cuzin C, Magnan C, Karaca M, Castel J, Carneiro L, et al. Mitochondrial reactive oxygen species are obligatory signals for glucose-induced insulin secretion. *Diabetes*. 2009 Mar;58(3):673–81.
5. Cave AC, Brewer AC, Narayanapanicker A, Ray R, Grieve DJ, Walker S, et al. NADPH oxidases in cardiovascular health and disease. *Antioxid Redox Signal*. 2006 Jun;8(5-6):691–728.
6. Li B, Tian J, Sun Y, Xu T-R, Chi R-F, Zhang X-L, et al. Activation of NADPH oxidase mediates increased endoplasmic reticulum stress and left ventricular remodeling after myocardial infarction in rabbits. *Biochim Biophys Acta*. 2015 May;1852(5):805–15.
7. Dahm CC, Moore K, Murphy MP. Persistent S-nitrosation of complex I and other mitochondrial membrane proteins by S-nitrosothiols but not nitric oxide or peroxynitrite: implications for the interaction of nitric oxide with mitochondria. *J Biol Chem*. 2006 Apr 14;281(15):10056–65.
8. Musatov A, Robinson NC. Susceptibility of mitochondrial electron-transport complexes to oxidative damage. Focus on cytochrome c oxidase. *Free Radic Res*. 2012 Nov;46(11):1313–26.



9. Haines TH, Dencher NA. Cardiolipin: a proton trap for oxidative phosphorylation. *FEBS Lett.* 2002 Sep 25;528(1-3):35–9.
10. Skulachev VP. Cationic antioxidants as a powerful tool against mitochondrial oxidative stress. *Biochem Biophys Res Commun.* 2013 Nov 15;441(2):275–9.
11. Perry CGR, Kane DA, Lanza IR, Neuffer PD. Methods for assessing mitochondrial function in diabetes. *Diabetes.* 2013 Apr;62(4):1041–53.
12. Zorov DB, Filburn CR, Klotz LO, Zweier JL, Sollott SJ. Reactive oxygen species (ROS)-induced ROS release: a new phenomenon accompanying induction of the mitochondrial permeability transition in cardiac myocytes. *J Exp Med.* 2000 Oct 2;192(7):1001–14.
13. Giordano FJ. Oxygen, oxidative stress, hypoxia, and heart failure. *J Clin Invest.* 2005 Mar;115(3):500–8.
14. Akar FG, Aon MA, Tomaselli GF, O'Rourke B. The mitochondrial origin of postischemic arrhythmias. *J Clin Invest.* 2005 Dec;115(12):3527–35.
15. Maack C, Dabew ER, Hohl M, Schäfers H-J, Böhm M. Endogenous activation of mitochondrial KATP channels protects human failing myocardium from hydroxyl radical-induced stunning. *Circ Res.* 2009 Oct 9;105(8):811–7.
16. Li J-M, Shah AM. Endothelial cell superoxide generation: regulation and relevance for cardiovascular pathophysiology. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2004 Nov;287(5):R1014–30.
17. Zhang DX, Gutterman DD. Mitochondrial reactive oxygen species-mediated signaling in endothelial cells. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2007 May;292(5):H2023–31.
18. Zhang DX, Borbouse L, Gebremedhin D, Mendoza SA, Zinkevich NS, Li R, et al. H₂O₂-induced dilation in human coronary arterioles: role of protein kinase G dimerization and large-conductance Ca²⁺-activated K⁺ channel activation. *Circ Res.* 2012 Feb 3;110(3):471–80.
19. Liu Y, Zhao H, Li H, Kalyanaraman B, Nicolosi AC, Gutterman DD. Mitochondrial sources of H₂O₂ generation play a key role in flow-mediated dilation in human coronary resistance arteries. *Circ Res.* 2003 Sep 19;93(6):573–80.
20. Ferrari R. Importance of oxygen free radicals during ischemia and reperfusion in the experimental and clinical setting. *Oxygen free radicals and the heart. Am J Cardiovasc Pathol.* 1992;4(2):103–14.
21. Ferrari R. Oxygen-free radicals at myocardial level: effects of ischaemia and reperfusion. *Adv Exp Med Biol.* 1994;366:99–111.
22. Ferrari R, Ceconi C, Curello S, Cargnoni A, Pasini E, De Giuli F, et al. Role of oxygen free radicals in ischemic and reperfused myocardium. *Am J Clin Nutr.* 1991 Jan;53(1 Suppl):215S – 222S.
23. Puddu P, Puddu GM, Galletti L, Cravero E, Muscari A. Mitochondrial dysfunction as an initiating event in atherogenesis: a plausible hypothesis. *Cardiology.* 2005;103(3):137–41.



24. Ballinger SW. Mitochondrial dysfunction in cardiovascular disease. *Free Radic Biol Med*. 2005 May 15;38(10):1278–95.
25. Ballinger SW, Patterson C, Knight-Lozano CA, Burow DL, Conklin CA, Hu Z, et al. Mitochondrial integrity and function in atherogenesis. *Circulation*. 2002 Jul 30;106(5):544–9.
26. Nishikawa T, Edelstein D, Du XL, Yamagishi S, Matsumura T, Kaneda Y, et al. Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycaemic damage. *Nature*. 2000 Apr 13;404(6779):787–90.
27. Brownlee M. The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism. *Diabetes*. 2005 Jun;54(6):1615–25.
28. Du X, Edelstein D, Obici S, Higham N, Zou M-H, Brownlee M. Insulin resistance reduces arterial prostacyclin synthase and eNOS activities by increasing endothelial fatty acid oxidation. *J Clin Invest*. 2006 Apr;116(4):1071–80.
29. Azevedo-Martins AK, Lortz S, Lenzen S, Curi R, Eizirik DL, Tiedge M. Improvement of the mitochondrial antioxidant defense status prevents cytokine-induced nuclear factor-kappaB activation in insulin-producing cells. *Diabetes*. 2003 Jan;52(1):93–101.