

Estrés oxidativo y antioxidantes: cómo mantener el equilibrio

Oxidative stress and antioxidants: how to keep the balance.

Sara María Lozada,¹ Lucy García.²

1. Servicio de Dermatología, Universidad del Valle, Cali, Colombia

2. Facultad de Ciencias Básicas Médicas, Universidad del Valle, Cali, Colombia

Correspondencia:

Lucy García

Email: lucyga47@hotmail.com

Recibido: 10 de agosto de 2009

Aceptado: 30 agosto de 2009

No se reportan conflictos de intereses.

Resumen

El estrés oxidativo originado por altas concentraciones de radicales libres y especies reactivas, derivadas de radicales o no, se considera causa de daño a los organismos vivos y a sus constituyentes celulares, de cáncer, de infecciones, de envejecimiento y de enfermedades inflamatorias y degenerativas, entre otras. Sin embargo, algunos de ellos, como el óxido nítrico, son necesarios e importantes para los procesos de señalización y otras funciones fisiológicas, como por ejemplo, el mantenimiento del tono vascular y la tensión de oxígeno, y para la producción de eritropoyetina.

Los tratamientos e investigaciones se enfocan cada vez más hacia cómo mantener el equilibrio o restablecer la homeostasis de óxido-reducción, para tratar los procesos patológicos y favorecer los fisiológicos.

PALABRAS CLAVE: antioxidantes, estrés oxidativo, oxidación, enzimas.

Summary

The oxidative stress originated by high concentrations of free radicals and radical-derived, non-radical reactive species, is considered cause of damage for living organisms and their cellular components, cause of cancer, infections, aging, inflammatory and degenerative diseases among others.

Nevertheless, some of them, such as nitric oxide, are necessary and important for the processes of signaling and other physiological functions, i.e., vascular tone maintenance, oxygen tension, and erythropoietin production.

Therapy and research are focused towards maintaining the balance or restoring the redox homeostasis to treat pathological processes and/or to favor physiological ones.

KEY WORDS: antioxidants, oxidative stress, oxidation, enzymes.

Introducción

La oxidación es un proceso electroquímico por el cual un ion o átomo pierde uno o varios electrones. Como resultado, se producen moléculas muy inestables, denominadas especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno, que tienen electrones capaces de reaccionar con varios sustratos

orgánicos, tales como lípidos, proteínas y ADN¹. La oxidación de esas biomoléculas genera daño, compromete las funciones celulares normales y puede contribuir a estados patológicos². Entonces, aunque estas reacciones de oxidación son necesarias para obtener energía para un adecuado funcionamiento celular, un desequilibrio entre la producción de especies reactivas y los mecanismos

RADICALES LIBRES		NO RADICALES	
ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO		ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO	
<ul style="list-style-type: none"> •Superóxido: O_2^- •Hidroxilo: OH^- •Hidroperoxilo: $HO_2^.$ •Carbonato: CO_3^{2-} •Peroxióxido: $RO_2^.$ •Alcoxi: RO^- •Radical de dióxido de carbono: CO_2^- •Oxígeno de orbital único 	<ul style="list-style-type: none"> •H_2O_2 •Ácido hipobromoso: HOBr^a •Ácido hipocloroso: HOCl^b •Ozono: O_3 •Oxígeno de orbital único. O_2^{-1} •Peróxidos orgánicos: ROOH •Peroxinitrito: $ONOO^-$ •Peroxinitrato: O_2NOO^- •Ácido peroxinitroso: $ONOOH$^d •Peroxomoncarbonato: $HOOCO_2^-$^c 		
ESPECIES REACTIVAS DE CLORO		ESPECIES REACTIVAS DE CLORO	
<ul style="list-style-type: none"> •Átomo clorinado: Cl· 	<ul style="list-style-type: none"> •Ácido hipocloroso: HOCl^b •Nitrilo clorado: NO_2Cl^e •Dióxido clorinado: ClO_2 •Cloraminas 	<ul style="list-style-type: none"> 	<ul style="list-style-type: none">
ESPECIES REACTIVAS DE NITRÓGENO		ESPECIES REACTIVAS DE NITRÓGENO	
<ul style="list-style-type: none"> •Óxido nítrico •Dióxido de nitrógeno •Radical nitrato 	<ul style="list-style-type: none"> •Ácido nitroso •Catión nitrosilo •Anión nitroxi •Tetróxido dinitrogenado •Trióxido dinitrogenado •Peroxiacetill nitrato 	<ul style="list-style-type: none"> 	<ul style="list-style-type: none">

TABLA 1. Especies reactivas (RS) Modificado de: Haliwell B. Reactive Species and Antioxidants. Redox Biology Is a Fundamental Theme of Aerobic Life. Plant Physiology 2006; 141:312–22.

antioxidantes, genera estrés oxidativo y conlleva a disfunción y muerte celular³. La mayoría de las reacciones de oxidación utilizan el oxígeno (O_2), lo que lleva a que 90% del oxígeno plasmático sea utilizado para procesos metabólicos⁴.

Especies reactivas de oxígeno y nitrógeno

Las especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno son moléculas muy reactivas, de las cuales se reconocen dos clases: las de tipo radical libre y las de tipo no radical.

Los radicales libres son todas las especies capaces de supervivencia, que contienen uno o más electrones impares, con capacidad para neutralizarse entre sí y que, al reaccionar con O_2 , forman radicales tipo peroxylo⁵. Dentro del grupo de radicales libres se encuentran: el superóxido (O_2^-), el radical más abundante, producto de la oxidación de moléculas orgánicas y resultado de múltiples procesos metabólicos⁶; el radical hidroxilo (OH^-), el más tóxico entre los radicales y producto de la reacción

del radical superóxido con el peróxido de hidrógeno; el óxido nítrico (NO), cuyo efecto tóxico se produce al mezclarse con el radical superóxido y formar peroxynitrito ($ONOO^-$) que, por tratarse de una molécula no radical libre, es mucho más estable y puede generar efecto tóxico a largo plazo⁷.

Entre las moléculas de tipo no radical, además del peroxynitrito, se menciona el peróxido de hidrógeno, ya que es el oxidante más estable de todos y reacciona a distancia de su lugar de producción. Además, es necesario para la supervivencia celular (TABLA 1)⁸.

Producción de especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno

Existen enzimas intracelulares que producen especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno mediante reacciones electroquímicas.

Las enzimas de la familia Nox y, en especial, la oxidasa de NADPH (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate) o NOX_x, se encuentran presentes en la mitocon-

dria y participan de la cadena respiratoria celular, convirtiendo el O_2 en anión superóxido. La NOX2 se ubica en los fagocitos; sin embargo, una enzima similar a la NADPH se encuentra en las demás células realizando la misma función, de una forma un poco menos eficiente⁹.

La sintasa de óxido nítrico (NOS, nitric oxide synthase) se encarga de producir óxido nítrico a partir de la reacción del O_2 con la L-arginina, en presencia de la NADPH. Algunas células, como las endoteliales y las neuronas, presentan esta enzima de manera constitutiva, lo que permite la producción continua de dicha sustancia, logrando mantener el tono vascular y la adecuada transmisión neuronal¹⁰.

La mieloperoxidasa es específica de los gránulos azurófilos de los neutrófilos y es la encargada de la producción de ácido hipocloroso a partir de H_2O_2 y Cl, importante en la defensa antimicrobiana y que puede ser utilizado como marcador de activación del neutrófilo¹¹.

Estas tres enzimas son los mediadores de la producción de especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno más importantes en nuestro organismo. Sin embargo, no son las únicas productoras, ya que existen enzimas "radicales" presentes en muchas células y tejidos que, además de producir radicales libres, tienen muchas otras funciones. En condiciones normales, estas enzimas, como la oxidasa del retículo endoplásmico, las enzimas del peroxisoma y las enzimas del citosol, producen pocas cantidades de especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno¹². La xantina-oxidasa es una de estas enzimas del citosol que, en el proceso de hipoxia-reperfusión, es la encargada de la producción de las especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno.

Los iones metálicos, aunque no producen directamente dichas especies reactivas, permiten ampliar su producción, sobre todo cuando se liberan masivamente como producto de la muerte celular¹³.

Las especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno son el producto de múltiples procesos fisiológicos, como el metabolismo celular, patológicos, como la inflamación y la isquemia, e incluso, producto de la relación con elementos ambientales, como la radiación por la luz, la polución y el humo del cigarrillo¹⁴.

Papel fisiológico

Las especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno tienen un papel fisiológico importante al participar en múltiples procesos celulares normales.

Relajación muscular y transmisión celular

Por ejemplo, mediante la ciclase de guanidilo, el óxido nítrico modifica los depósitos de calcio, permitiendo la

relajación muscular. Esto es especialmente importante en el tono vascular y la transmisión neuronal.

La transmisión de señales celulares es otra de las funciones de las especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno, ya que son capaces de actuar como mensajeros intracelulares y activar múltiples procesos¹⁵.

Oxidación y defensa antimicrobiana

Durante los estados de infección, los macrófagos y los polimorfonucleares ejercen su papel de defensa mediante un sistema enzimático de oxidación y reducción presente en la membrana, responsable de la producción de especies reactivas de O_2 y de nitrógeno (N_2^-)¹⁶. Este sistema es responsable del clásico "estallido respiratorio" (respiratory burst), con generación del anión superóxido (O_2^-). El anión superóxido, a su vez, puede convertirse en peróxido de hidrógeno (H_2O_2) o convertirse en otras especies reactivas. Estas reacciones son catalizadas por enzimas, como la oxidasa de NADPH, la mieloperoxidasa y la peroxidasa de glutatión.

Los polimorfonucleares son estimulados por productos bacterianos como los lipopolisacáridos o por la interacción de dicho producto con citocinas, como el factor de necrosis tumoral, el interferón y la interleucina 1. La producción de óxido nítrico durante el estallido del polimorfonuclear y la asociación del anión superóxido y el óxido nítrico, lleva a la formación de productos intermediarios más tóxicos, como el peroxinitrito (ONOO⁻), el anión hipocloroso, el dióxido de nitrógeno y el radical hidroxilo (HO⁻).

El óxido nítrico y otras especies reactivas de oxígeno y nitrógeno, son responsables del daño al ADN microbiano y de la alteración de los lípidos y de las proteínas de la membrana microbiana¹⁷. Las especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno son particularmente indispensables en la defensa antimicrobiana, debido a que logran destruir los microorganismos mediante su capacidad oxidativa. Durante la inflamación aguda, las grandes cantidades de dichas especies liberadas permiten activar los fagocitos, promover la vasodilatación e inducir citotoxicidad.

Sí bien es cierto que todos estos elementos son perjudiciales a largo plazo, de no presentarse de forma aguda no se lograría la activación de los mecanismos de defensa que en ciertos procesos resultan vitales, por ejemplo, durante las infecciones por microorganismos. Durante la inflamación crónica se producen cantidades sostenidas de especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno que inducen mayor destrucción de los tejidos¹⁸.

Oxidación e isquemia

Durante el periodo de anoxia en los episodios de isquemia, se producen grandes cantidades de especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno por daño mitocon-

drial y de las bombas iónicas. Al restablecerse el riego sanguíneo, el O₂ genera aún más especies reactivas, que de manera sostenida y en moderada cantidad permiten mejorar los sistemas antioxidantes, porque de alguna manera el sistema "aprende" y al verse forzado, elimina más eficientemente los excesos de RNOS.¹⁹

Especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno y apoptosis

Estas especies reactivas pueden regular la muerte celular interaccionando con la caspasa 3 e induciendo la liberación de citocromo C de la mitocondria, la fragmentación del ADN y la activación de la cinasa de proteínas activada por mitógenos, (MAPKs), las cuales participan de múltiples procesos celulares al activar cascadas de señalización intracelular que pueden terminar por inducir apoptosis²⁰. Todas esas alteraciones moleculares han sido postuladas en la apoptosis del líquen plano y el vitíligo²¹. El tiorredoxín 1 es un barredor de radicales que protege del daño oxidativo y previene la apoptosis de los queratocitos en el lupus discoide y de la fibrosis pulmonar en la esclerosis sistémica²².

Sistemas antioxidantes

Los sistemas antioxidantes trabajan mediante dos tipos de mecanismos que permiten eliminar los excesos de especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno, que son la protección estequiométrica y la catalítica. La protección estequiométrica consiste en su neutralización por medio de moléculas pequeñas que inactivan una o dos moléculas de especies reactivas. La protección catalítica se produce con enzimas que inhiben las reacciones de oxidación y evitan la formación de grandes cantidades de especies reactivas²³.

Existe gran cantidad de compuestos antioxidantes, como enzimas, iones metálicos, uratos y otras moléculas endógenas, y moléculas exógenas convencionales, como son las vitaminas y los carotenoides, y no convencionales o menos conocidas.

Los sistemas enzimáticos, son de tipo inhibitorio, reductores o neutralizantes, y reparadores²⁴.

Dentro del grupo de enzimas inhibitorias, encontramos la oxidasa del NADPH y el inhibidor de la sintasa del óxido nítrico, que actúan modulando la actividad de las enzimas responsables de la producción de especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno²⁵. Las neutralizantes como la dismutasa del superóxido, la catalasa y la peroxidasa del glutatión, que actúan catalizando las especies reactivas, pueden ser citosólicas o de membrana y permiten controlar la producción de antioxidantes; característicamente, usan como cofactores oligoelementos como el cinc, el magnesio y el cobre²⁶. Finalmente, las enzimas reparadoras actúan reparando el daño que las

especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno hayan podido causar al ADN celular o a las membranas; incluyen lipasas, transferasa y proteasas²⁷.

Los antioxidantes no convencionales son sustancias químicas poco conocidas como antioxidantes y cuya acción antioxidant se ha encontrado en pacientes críticamente enfermos. Entre ellos se encuentra la glutamina, un aminoácido precursor de la taurina, y el glutatión, cuya acción antioxidant no ha sido aún dilucidada y que ha reportado efectos benéficos a corto y largo plazo en pacientes críticos²⁸.

La N-acetil-cisteína, utilizada en el manejo de la intoxicación con acetaminofén y para disminuir las secreciones durante cuadros respiratorios, tiene otras múltiples actividades farmacológicas, como la restauración de los depósitos de glutatión al modificar la acción de la peroxidasa de glutatión que, como ya mencionamos, es una de las enzimas antioxidantes; además, recicla especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno por sí mismo y disminuye la activación de factores nucleares, lo que permite modular la respuesta inflamatoria²⁹.

Los antioxidantes convencionales mejor conocidos y, tal vez, más investigados, incluyen las vitaminas, los fitoquímicos y los oligoelementos³⁰.

Entre las vitaminas, la vitamina C, de composición hidrosoluble, se absorbe en el intestino delgado, su biodisponibilidad depende de la dosis y no se pega a las proteínas plasmáticas. El 25% de su excreción es renal y se logra la saturación plasmática con 400 mg/día. Como antioxidante, recicla especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno, pero su oxidación produce ácido oxálico y su toxicidad produce un síndrome tipo escorbuto³¹.

La vitamina E, o tocoferol, consiste en 4 tocoferoles y 4 tocotrienoles, del cual el más abundante es el alfa-tocoferol; su absorción depende de la secreción de ácidos biliares y es liposoluble, por lo cual se recicla y vuelve a circular. Su principal efecto es reciclar especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno en los lípidos y no se ha reportado efecto tóxico directo³².

Los carotenoides son más de 800 pigmentos liposolubles; de este grupo de pigmentos, los hidrocarburos son carotenos y los óxidos son xantófilos. El betacaroteno tiene actividad pro vitamina A porque se degrada en retinal y, luego, puede reducirse en retinol. Su bioconversión se satura lo que lleva a la acumulación de betacaroteno, haciéndolo susceptible de ser oxidado³³.

El licopeno, en cambio, no tiene actividad pro vitamina A y corresponde a 21% de los carotenoides; su mayor fuente es el tomate. Es un gran antioxidante y se cree que tiene capacidad de reparar el ADN.

La luteína tiene su fuente en los vegetales verdes y su concentración plasmática aumenta hasta 10 veces con suplementos orales³⁴.

Acción antioxidante	
ENZIMAS	
• Dismutasa del superóxido • Catalasa • Peroxidasa de glutatión • Tioredoxina	Remover radical superóxido Convertir H ₂ O ₂ a H ₂ O Convertir H ₂ O ₂ a H ₂ O Convertir H ₂ O ₂ a H ₂ O
SECUESTRADORES DE IONES DE METALES	Quelantes de cinc, cobre e hierro
• Metalotioneína • Fitoquelantes • Transferrina • Albúmina	
BAJA MASA MOLECULAR	Recicladores de especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno
• Uratos (endógenos) • Vitamina C (exógeno) • Vitamina E (exógeno) • Carotenoides (exógeno) • Fitoquímicos (exógeno)	

TABLA 2. Componentes del sistema antioxidante. Modificada de: Willcox J, Ash S, Catignani G. Antioxidants and prevention of chronic disease. Crit Rev Food Sci Nutr. 2004;44:275-95.

Entre los fitoquímicos, micronutrientes provenientes de las plantas, se han identificado hasta 8.000 estructuras fenólicas: simples, como el ácido fenólico, un poco más complejas, como los flavonoides que son los más abundantes, y estructuras muy polimerizadas, como los estilbenos y lignanos. Entre los flavonoides existen seis grupos de pigmentos: los flavonoles, cuya biosíntesis es estimulada por la luz y se encuentran en alimentos como la cebolla y el brócoli; los flavones que se encuentran en la piel de los cítricos y son menos comunes; los flavonones, como la narigenina, que se encuentran en las uvas, los tomates y la menta; las isoflavonas, que tienen una estructura similar a los estrógenos, lo que les da propiedades seudohormonales y por lo cual se denominan fitoestrógenos, son sensibles al calor³⁵; los flavonoles existen en monómeros y se denominan catequinas, están presentes en el té verde y el chocolate, y son estables al calor, y también, en polímeros denominados proantocianinas que son taninas condensadas y se encuentran en la epidermis de las flores coloreadas³⁶.

Finalmente, los oligoelementos no han recibido la misma atención como micronutrientes antioxidantes debido al estrecho margen entre déficit y toxicidad. Sin embargo, el cinc, el selenio y el hierro han cobrado interés. El cinc recicla las especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno y, además, regula los niveles de la dismutasa del superóxido; el selenio es esencial en la activación de la peroxidasa de glutatión y el hierro actúa como co-

factor de la catalasa; todas son enzimas importantes en el sistema antioxidante. No obstante, por su capacidad de hacer transferencia de electrones pueden iniciar reacciones oxidativas (TABLA 2)³⁷.

Antioxidantes y enfermedad

Múltiples estudios se desarrollan para encontrar el mecanismo pro oxidante y entender la utilidad de los antioxidantes en enfermedades crónicas^{38,39}. Es así como hasta hoy existen estudios clínicos en enfermedades cardiovasculares⁴⁰, diabetes y cáncer de piel, pulmonar, gástrico y de colon, próstata y vejiga. Hay estudios en pacientes con quemaduras⁴², quirúrgicos y posquirúrgicos, en pacientes críticos⁴³, en enfermedad autoinmune, en infertilidad⁴⁴, en enfermedad de Alzheimer, en enfermedades neurodegenerativas⁴⁵ y en alteraciones oculares. En nuestro campo, se investiga el uso de antioxidantes en fotoenvejecimiento⁴⁶, vitíligo, psoriasis y cáncer de piel, melanoma y no melanoma.

En enfermedad cardiovascular, por ejemplo, los macrófagos inician la formación de la placa ateromatosa al engolfar en su interior lípidos oxidados de baja densidad (LDL) que, por su gran contenido de ácidos grasos poliinsaturados, son susceptibles a estas reacciones electroquímicas, convirtiendo al macrófago en células espumosas que terminan por agruparse y dañar el endotelio⁴⁷. En la diabetes, los altos niveles de glucosa plasmática, llevan a la producción de proteínas glicosiladas que actúan como radicales libres, lo cual coloca al sistema en un estado de estrés oxidativo que, como ya revisamos, puede producir daño del ADN, aumentar la oxidación de lípidos y permitir que se desarrollen todas las complicaciones de la diabetes⁴⁸.

Especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno y car-

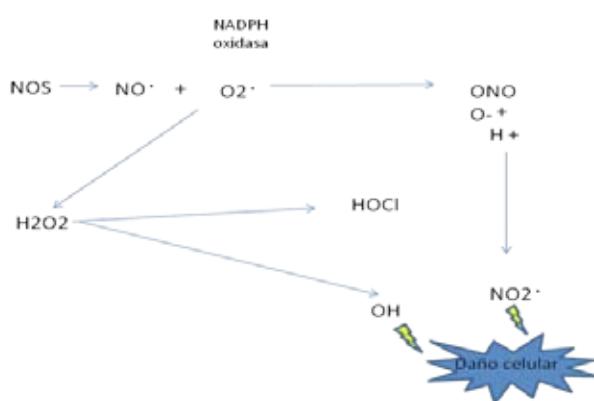


FIGURA 1. Especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno y daño celular.

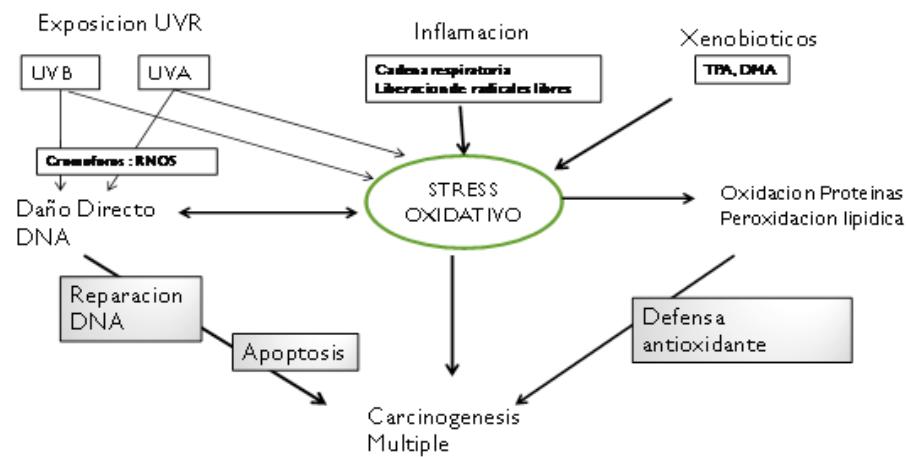


FIGURA 2. Especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno y carcinogénesis.

cinogénesis cutánea. Estos procesos oxidativos alteran la homeostasis celular, ocasionando daño a la célula; las sustancias proinflamatorias que se producen de manera sostenida provocan daño al ADN y, junto con la producción de especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno, generan más daño celular⁴⁹. Si, además, los sistemas de protección como la apoptosis celular, no logran eliminar estas células alteradas, se mantendrá un crecimiento celular incontrolado de clones celulares alterados⁵⁰. De esta forma, la producción excesiva de especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno permite iniciar, promover y mantener el proceso carcinogénico cutáneo.

La radiación ultravioleta induce daño directo al ADN y, además, por medio de la exposición de cromóforos, activa la producción de especies reactivas de oxígeno que inducen estrés oxidativo. El daño en el ADN produce mutaciones y genotipos celulares alterados, lo que permite la expansión clonal del tumor (**FIGURA 2**)⁵¹.

Antioxidantes como tratamiento, controversias

Aunque se ha postulado en diferentes publicaciones que el tratamiento con antioxidantes podría alterar los estados patológicos, modificando los procesos de oxidación, existen también reportes de metanálisis y revisiones sistemáticas que concluyen que el tratamiento con beta-caroteno, vitamina A y vitamina E podrían, incluso, aumentar la mortalidad⁵².

Las dificultades de los estudios y ensayos clínicos incluyen las siguientes^{53,54}:

- Ausencia de estandarización de métodos para medir el estado oxidativo inicial y criterios para determinar la actividad antioxidante de una molécula; esto dificulta la medición objetiva y precisa de la actividad

antioxidante de una molécula y su efecto en un sistema u organismo.

- Limitado conocimiento de la farmacocinética y la farmacodinamia de cada uno de los antioxidantes, lo que dificulta identificar si el estrés oxidativo es un co-factor dentro de una afección determinada o si no lo es, y hasta dónde contribuye al proceso patológico.
- Especificidad del antioxidante en una enfermedad o proceso patológico determinado que, en la actualidad, está determinada por la disponibilidad comercial.
- Tiempo de duración de los estudios limitado a 1 a 2 años, en un proceso de más de 20 años de duración, como es el estrés oxidativo.
- Las características clínicas variables y no controladas de las poblaciones estudiadas.

Hasta no lograr el control de todas estas variables, los ensayos clínicos controlados de antioxidantes no podrán demostrar objetivamente su utilidad en la prevención o en la curación de múltiples enfermedades y los resultados deben ser leídos de manera muy crítica.

Conclusiones

La oxidación es un proceso fisiológico que no se puede ni se debe evitar. Es la pérdida de la homeostasis la que induce un estado de estrés oxidativo que, finalmente, favorece múltiples procesos patológicos. El fortalecimiento de los sistemas antioxidantes endógenos permitirá un mejor control de los excesos de especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno que se llegaren a presentar.

Una dieta sana y balanceada le permite al organismo acceder a los micronutrientes que requiere para mantener el equilibrio en los procesos fisiológicos.

Hasta hoy, existen múltiples antioxidantes y faltan aún más por describir. Los estudios permitirán desarrollar fármacos a partir del concepto de mantener el equilibrio

oxidativo por medio de sustancias antioxidantes, pero estos estudios deben desarrollarse teniendo en cuenta que estas sustancias son fármacos y como tal deben tratarse, ya que hasta ahora, los antioxidantes se han utilizado como suplementos vitamínicos y así mismo se han estudiado, lo que no permite generar datos objetivos.

Referencias

- Halliwell B, Aruoma OI. DNA damage by oxygen-derived species: its mechanism and measurement in mammalian systems. *FEBS Lett.* 1991;281:9-19.
- Halliwell B, Gutteridge JMC. Oxidative stress: Adaptation, damage, repair and death. In: Halliwell B, Gutteridge JMC. Free radicals in biology and medicine. 3rd edition. New York: Oxford University Press; 1999.
- Halliwell B, Whiteman M. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and cell culture. How should you do it and what does it mean? *Br J Pharmacol.* 2004;142:231-55.
- Halliwell B. Free radicals and antioxidants: a personal view. *Nutrition Reviews.* 1994;52:253-65.
- Opara E. Oxidative stress. *Dis Mon.* 2006;52:183-98.
- Turrens J. Superoxide production by the mitochondrial respiratory chain. *Biosci Rep.* 1997;17:3-8..
- Beckman JS, Koppenol WH. Nitric oxide, superoxide and peroxynitrite: the good, the bad, and ugly. *Am J Physiol.* 1996;271:1424-37.
- Haliwell B. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiol.* 2006;141:312-22.
- Thannickal VJ, Fanburg BL. Reactive oxygen species in cell signaling. *Am J Physiol-Lung Cell Mol Physiol.* 2000;279:1005-28.
- Ghafourifar P, Cadenas E. Mitochondrial nitric oxide synthase. *Trends Pharmacol Sci.* 2005;26:190-95.
- Lau D, Baldus S. Myeloperoxidase and its contributory role in inflammatory vascular disease. *Pharmacol Ther.* 2006;111:16-26.
- Mc Adam BF, Mardini IA, Habib A, Burke A, Lawson JA, Kapoor S, et al. Effect of regulated expression of human cyclooxygenase isoforms on eicosanoid and isoeicosanoid production in inflammation. *J Clin Invest.* 2000;105:1473-82.
- Liu W, Rosenberg G A, Shi H, Furuichi T, Timmins GS, Cunningham LA, et al. Xanthine oxidase activates pro-matrix metalloproteinase-2 in cultured rat vascular smooth muscle cells through non-free radical mechanisms. *Arch Biochem Biophys.* 2004;426:11-17.
- Willcox J, Ash S, Catignani G. Antioxidants and prevention of chronic disease. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2004;44:275-95.
- Hensley K, Robinson KA, Gabbita SP, Salsman S, Floyd RA. Reactive oxygen species, cell signaling, and cell injury. *Free Radic Biol Med.* 2000;28:1456-62.
- Halliwell B. Phagocyte-derived reactive species: salvation or suicide? *Trends Biochem Sci.* 2006;31:509-15.
- Rhee SG. Cell signaling. H_2O_2 , a necessary evil for cell signaling. *Science.* 2006;312:1882-3.
- Pire L, Deby-Dupont G, Lemineur T, Preiser JC. How to keep oxidative stress under control. *Curr Nutr Food Sci.* 2007;3:222-35.
- Lee PJ, Choi AMK. Pathways of cell signaling in hyperoxia. *Free Radic Biol Med.* 2003;35:341-50.
- Wang X, Martindale JL, Liu Y, Holbrook NJ. The cellular response to oxidative stress: influences of mitogen-activated protein kinase signalling pathways on cell survival. *Biochem J.* 1998;15:291-300.
- Shameer P, Prasad PVS, Kaviarasan PK. Serum zinc level in vitiligo: A case control study. *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* 2005;71:206-7.
- Navarro C, Bustos ML. Esclerosis sistémica etiopatogenia, nuevos conceptos. *Reumatol Clin.* 2006;2(Suppl.3):S6-9.
- Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev.* 2002;82:47-95.
- Mates JM, Pérez-Gómez C, De Castro IN. Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin Biochem.* 1999;32:595-603.
- DeCoursey TE, Ligeti E. Regulation and termination of NADPH oxidase activity. *Cell Mol Life Sci.* 2005;62:2173-93.
- Masella R, Di Benedetto R, Vari R, Filesi C, Giovannini C. Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: Involvement of glutathione and glutathione related enzymes. *J Nutr Biochem.* 2005;16:577-86.
- Evans MD, Dizdaroglu M, Cooke MS. Oxidative DNA damage and disease: induction, repair and significance. *Mutat Res.* 2004; 567:1-6.
- Preiser JC, Werner J. Glutamine, a life-saving nutrient, but why? *Crit Care Med.* 2003;31:2555-6.
- Walsh TS, Lee A. N-acetylcysteine administration in the critically ill. *Int Care Med.* 1999;25:432-4.
- Evans P, Halliwell B. Micronutrients: oxidant/antioxidant status. *Br J Nutr.* 2001;85(Suppl.2):S67-74.
- Vertuani S, Angusti A, Manfredini S. The antioxidants and pro-antioxidants network: an overview. *Curr Pharm Des.* 2004;10:1677-94.
- Halliwell B, Rafter J, Jenner A. Health promotion by flavonoids, tocopherols, tocotrienols, and other phenols: direct or indirect effects? Antioxidant or not? *Am J Clin Nutr.* 2005;81:268-76.
- Schwendhelm E, Mass R, Troost R, Böger RH. Clinical pharmacokinetics of antioxidants and their impact on systemic oxidative stress. *Clin Pharmacokinet.* 2003;42:437-59.
- Lee CY, Isaac HB, Huang SH, Long LH, Wang H, Gruber J, et al. Limited antioxidant effect after consumption of a single dose of tomato sauce by young males, despite a rise in plasma lycopene. *Free Radic Res.* 2009;43:622-8.
- Tham DM, Gardner CD, Haskell WL. Potential health benefits of dietary phytoestrogens: a review of the clinical, epidemiological, and mechanistic evidence. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998;83:2223-35.
- Salah N, Miller NJ, Paganga G, Tiburg L, Bolwell GP, Rice-Evans C. Polyphenolic flavanols as scavengers of aqueous

- phase radicals and as chain-breaking antioxidants. *Arch Biochem Biophys.* 1995;322:339-46.
37. Opara E, Rockway S. Antioxidants and micronutrients. *Dis Mon.* 2006;52:151-63.
 38. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol.* 2007;39:44-84.
 39. Rees M, Kennett E, Whitelock J, Davies M. Oxidative damage to extracellular matrix and its role in human pathologies. *Free Radical Biology & Medicine.* 2008;44:1973-2001.
 40. Flores-Mateo G, Carrillo-Santistevé P, Elosua R, Guallar E, Marrugat J, Bleys J, et al. Antioxidant enzyme activity and coronary heart disease: meta-analyses of observational studies. *Am J Epidemiol.* 2009;170:135-47.
 41. Choi SW, Benzie I, Ma SW, Strain J, Hannigan B. Acute hyperglycemia and oxidative stress: Direct cause and effect? *Free Radic Biol Med.* 2008;44:1217-31.
 42. Parihar A, Parihar M, Milner S, Bhat S. Oxidative stress and anti-oxidative mobilization in burn injury. *Burns.* 2008;34:6-17.
 43. Biesalski H, McGregor G. Antioxidant therapy in critical care -is the microcirculation the primary target? *Crit Care Med.* 2007;35:S577-83.
 44. Patel S, Sigman M. Antioxidant therapy in male infertility. *Urol Clin North Am.* 2008;35:319-30.
 45. Sun AY, Wang Q, Simonyi A, Sun GY. Botanical phenolics and brain health. *Neuromolecular Med.* 2008;10:259-74.
 46. Ghersetich I, Troiano M, De Giorgi V, Lotti T. Receptors in skin ageing and antiageing agents. *Dermatol Clin.* 2007;25:655-62.
 47. Mashima R, Witting PK, Stocker R. Oxidants and antioxidants in atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol.* 2001;12:411-8.
 48. Maritim AC, Sanders RA, Watkins JB. Diabetes, oxidative stress and antioxidants. *J Biochem Mol Toxicol.* 2003;17:24-37.
 49. Franco R, Schoneveld O, Georgakilas A, Panayiotidis M. Oxidative stress, DNA methylation and carcinogenesis. *Cancer Lett.* 2008;266:6-11.
 50. Goetz M, Luch A. Reactive species: A cell damaging route assisting to chemical carcinogens. *Cancer Lett.* 2008;266:73-83.
 51. Sander CS, Chang H, Hamm F, Eslner P, Thiele JJ. Role of oxidative stress and antioxidant network in cutaneous carcinogenesis. *Int J Dermatol.* 2004;43:326-35.
 52. Bjelakovic G, Nikolova D, Gluud LL, Simonetti RG, Gluud C. Mortality in randomized trials of antioxidant supplements for primary and secondary prevention. Systematic review and meta-analysis. *JAMA.* 2007;297: 842-57.
 53. Hermans N, Cops P, Maes L, De Bruyne P, van den Berghe D, Vliethinck AJ, et al. Challenges and pitfalls in antioxidant research. *Curr Med Chem.* 2007;14:417-30.
 54. Steinhubl S. Why have antioxidants failed in clinical trials? *Am J Cardiol.* 2008;101:14D-19D.