

Fisiología Básica de los Radicales Libres de Oxígeno.-

**Prof. José Viña Ribes, Catedrático de Fisiología
(Facultad de Medicina, Universitat de Valencia)**

**Prof. Máximo Vento Torres, Titular de Pediatría
(Facultad de Medicina, Universidad de Alicante)**

1. Concepto de Radical Libre.-

Los electrones en los átomos ocupan regiones del espacio conocidas como orbitales. Cada orbital contiene un máximo de 2 electrones. Un radical libre se define, simplemente, como *cualquier especie química capaz de una existencia independiente y que contiene uno o más electrones no apareados*.

Los radicales libres pueden reaccionar con otras moléculas de forma diversa. Así un radical libre puede donar su electrón no apareado a otra molécula. También puede arrebatar un electrón de otra molécula para llegar a la situación de estabilidad. En todas estas reacciones, el radical libre convierte a la molécula con la que reacciona a su vez en un radical libre, y por lo tanto, una característica bastante habitual de las reacciones de los radicales libres es que se trata de procesos en cadena: un radical da lugar a la formación de otro radical. Sólo al encontrarse dos radicales libres cesa el proceso.

2. Formación de radicales libres in vivo.-

La molécula del oxígeno diatómico en su estado basal (O_2) a pesar de ser una especie con características de radical y el más importante oxidante en los organismos aeróbicos, es tan sólo escasamente reactiva debido al hecho de que sus dos electrones no apareados están localizados en diferentes orbitales moleculares y poseen spin (sentido de giro) paralelos. Como consecuencia, si el O_2 debiera aceptar dos electrones, estos deberían poseer spins antiparalelos en relación con los electrones no apareados del oxígeno, un criterio que no es habitualmente satisfecho por un típico par de electrones en los orbitales moleculares o atómicos. Como consecuencia de ello el oxígeno acepta de forma preferente electrones de uno en uno de otros radicales (tales como metales de transición en ciertas valencias). Así, in vivo, la típica reducción del oxígeno de dos o cuatro electrones se realiza de una forma coordinada, seriada, y catalizada enzimáticamente mediante sucesivas reducciones univalentes, y las enzimas que catalizan dichas reacciones tienen típicamente en su núcleo activo metales de transición tales como el hierro. La reducción univalente y divalente del oxígeno da lugar a $O_2^{\cdot-}$ (superóxido) y H_2O_2 (hidroperóxido), que son ambos el resultado de múltiples reacciones in vivo. En presencia de metales de transición (Fe y cobre por ejemplo) ambos radicales conjuntamente generan el extremadamente reactivo ion $\cdot OH$ (hidroxilo) que es considerado el radical responsable de la destrucción de importantes biomoléculas. A todas estas moléculas, además de otras que no vamos a describir puesto que no estra dentro del ámbito de esta exposición les vamos a denominar colectivamente “oxidantes”.

3. Fuentes de radicales libres in vivo.-

3.1. Respiración mitocondrial que comprende la reducción coordinada mediante cuatro electrones del oxígeno a agua, siendo la donación de los electrones realizada por el NADH o succinato de los complejos I y II respectivamente de la cadena de transporte de electrones mitocondrial. Aparentemente, el sistema de transporte mitocondrial no es perfecto y se producen iones superóxido cuya dismutación enzimática conduce a la formación de hidróperóxido.

3.2. Oxidación peroximal de los ácidos grasos que genera hidróperóxido como subproducto.

3.3. Enzimas microsomales citocromo P450 encargados de metabolizar productos xenobióticos, generalmente de origen vegetal o medicamentos, reducen habitualmente el oxígeno a superóxido.

3.4 Actividad de las células fagocitarias durante su ataque a gérmenes patógenos que produce una mezcla de oxidantes y radicales libres incluyendo superóxido, hidróperóxido, peroxinitritos e hipoclorito.

4. Dianas de los radicales libres.-

Las tres macromoléculas clásicas biológicas (lípidos, ácidos nucleicos y proteínas) son susceptibles al ataque de los radicales libres, y hay una gran evidencia acumulada de que sufren daño oxidativo in vivo.

4.1. Respecto a los lípidos se sabe que un radical hidróperóxido sustrae un átomo de hidrógeno del doble enlace de un lípido insaturado vecino formando un hidróperóxido y un radical alquilo, el cual a su vez reacciona con el oxígeno para regenerar un radical lipídico hidróperóxido capaz de iniciar de nuevo el proceso oxidativo. Una consecuencia importante de la oxidación de los lípidos membranarios es la alteración de la fluidez y por ende las propiedades de las mismas que pueden producir la disrupción de las proteínas unidas a las membranas.

4.2. El daño oxidativo a los ácidos nucleicos puede revestir características muy complejas. Las propiedades electroquímicas de la 8-oxo-guanina (8oxoGua) y de la 8-oxo-dihidroxi-deoxiguanosina (8oxo-dG) han permitido el acoplamiento de sistemas de detección electroquímicos extraordinariamente sensibles a la HPLC, lo que ha permitido el estudio de su formación, acumulación y excreción en seres vivos. La identificación de reparaciones enzimáticas específicas de lesiones oxidativas ha proporcionado la prueba de la significación del daño oxidativo al DNA así como herramientas para manipular la carga de daño in vivo por knock out genético.

4.3 La oxidación de proteínas no ha sido tan bien caracterizada, aunque se han podido documentar daños específicos incluyendo la oxidación de grupos sulfidrilos, reducción de disulfidos, aducción oxidativa de residuos de aminoácidos, reacción con aldehidos, fragmentación peptídica etc... Un hallazgo esencial muy reciente es el hallazgo de la inactivación de ciertas enzimas que poseen en su núcleo activo clusters de hierro-azufre y que son extraordinariamente sensibles a la acción de los radicales superóxido, así la aconitasa del ciclo del ácido tricarboxílico y que además de su inactivación supone la

liberación de hierro libre del enzima con las consecuencias desastrosas (activación de la reacción de Fenton) que ello puede suponer.

5. Defensas antioxidantes.-

Las células están equipadas con un repertorio impresionante de enzimas antioxidantes, así como de pequeñas moléculas la mayoría derivadas de la ingesta diaria de frutas y verduras. A saber:

5.1. “Sumideros enzimáticos” (scavengers) tales como superóxido dismutasa (SOD), que favorece la dismutación del radical superóxido a hidroperóxido; y catalasa (CAT) y glutatión peroxidasa (GPx) que convierten el hidroperóxido en agua.

5.2. “Sumideros de radicales hidrofílicos” tales como ascorbato, urato, y glutatión.

5.3. “Sumideros de radicales lipofílicos” tales como los tocoferoles, flavonoides, carotenoides y ubiquinol.

5.4. Enzimas implicados en la reducción de las formas oxidadas de pequeños antioxidantes moleculares (GSH reductasa; dehidroascorbato reductasa) o responsables del mantenimiento de los tioles proteicos (tioredoxin reductasa)

5.5. La maquinaria celular que mantiene un ambiente de reducción en el interior de la célula (así la Glucosa 6 Fosfato Deshidrogenasa que regenera el NADPH).

6. Bibliografía recomendada.-

Halliwell BH and JMC Gutteridge
Free Radicals in Biology and Medicine.
Oxford UK, Oxford Univ Press, 1989.

Boveris A and B Chance
The mitochondrial generation of hydrogen peroxide. General properties and effect of hyperbaric oxygen.
Biochem J 1973; 134: 707-716.

KB Beckman and BN Ames
The Free Radical Theory of Aging Matures
Physiological Reviews 1998; 78: 547-581.

Halliwell B, JMC Gutteridge, CE Cross
Free radicals, antioxidants and human disease: Where are we now?
J Lab Clin Med 1992; 119: 598-620.

CONCLUSIONES

Prof. Máximo Vento Torres
Depto de Pediatría
Hospital Virgen del Consuelo
Valencia.

Esta mesa redonda ha pretendido la puesta al día de una serie de conceptos cuyo fundamento teórico es altamente complejo, pero que la pericia de los conferenciantes estoy seguro ha hecho comprensible al auditorio. En pocos años hemos pasado de especulaciones teóricas y datos duros de laboratorio en animales de experimentación a realidades clínicas con aplicaciones prácticas para el médico clínico cada día más próximas a la cabecera del enfermo. Este ha sido de alguna manera el objetivo de esta mesa, acercar al neonatólogo práctico no sólo los conceptos teóricos, sino despertar en él el interés por un campo relativamente nuevo que se vá abriendo camino y que pronto aportará herramientas específicas al arsenal diagnóstico y terapéutico en el día a día.

Desde la comprensión del concepto de radical libre, con su enorme reactividad en cadena proporcionada por su desapareamiento en los orbitales moleculares que le componen; desde la comprensión de que la producción de radicales libres es un hecho fisiológico y que como ocurre con muchos otros procesos en la naturaleza el ser humano está preparado para su control mediante mecanismos antioxidantes y de reparación del daño. Desde la importancia que tiene un adecuado manejo de drogas xenobioticas como de oxígeno en seres inmaduros con su capacidad de reacción todavía limitada; desde el conocimiento de que el pulmón es tal vez el primer órgano susceptible de daño oxidativo en el mismo momento de iniciarse la respiración atmosférica especialmente cuando es sometido a terapias agresivas en cuidados intensivos y, finalmente, desde la posibilidad de iniciar el manejo de terapias de control de estas alteraciones mediante el uso racional de antioxidantes, desde todas estas perspectivas la mesa redonda les ha intentado aproximar a una nueva realidad y, que espero, les haya sido lo suficientemente atractiva para que cuando vuelvan a sus puestos de trabajo haya sembrado en ustedes la semilla de la necesidad de saber algo más de este tema tan apasionante e inicien la lectura de las múltiples y excelentes revisiones que existen sobre el tema.