

ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO Y SU IMPLICACIÓN EN BIOMEDICINA¹

Reactive oxygen species and the implication in Biomedicine

Lozano-Picazo, C.; Fernández-Belda, F.*

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular A, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia. 30071 Campus de Espinardo, Murcia, España.

***Autor para correspondencia:** Francisco Fernández-Belda, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular A, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia, 30071 Campus de Espinardo, Murcia, España. Tel: +34 868 884 763, Email: fbelda@um.es

Historial del artículo:

Recibido: 28 de mayo, 2018

Aceptado: 30 de enero, 2019

RESUMEN

Las especies reactivas de oxígeno (ROS) actúan como regulador intracelular cuando se generan de forma controlada en puntos concretos de la célula. Modifican la función de proteínas mediante la oxidación reversible de cisteínas. Hay quinasas y fosfatasas de proteínas, factores de transcripción y canales iónicos que están regulados por ROS. Estrés oxidativo y daño celular aparecen cuando los mecanismos antioxidantes de protección son incapaces de mantener bajo el nivel intracelular de ROS. En estas condiciones, ROS inducen pérdida de viabilidad celular en patologías degenerativas de corazón y cerebro y promueven proliferación celular ilimitada en procesos tumorales. La alteración de la función mitocondrial juega un papel clave en la generación del estrés oxidativo y por tanto es una diana terapéutica preferente para evitar o aminorar los daños oxidativos producidos por ROS.

Palabras clave: regulación redox, estrés oxidativo, miocardiopatías, cáncer, neurodegeneración.

¹ Esta revisión es un resumen de información básica sobre ROS y un esbozo de su implicación en las patologías que se describen. El conocimiento actual es todavía muy incompleto.

ABSTRACT

Reactive oxygen species (ROS) act as intracellular regulator when they are generated under control in specific cell spots. They modify proteins function by cysteine reversible oxidation. There are protein kinases and phosphatases, transcription factors and ionic channels that are regulated by ROS. Oxidative stress and cell damage arise when the protection antioxidant mechanisms are unable to keep low the intracellular ROS level. Under these conditions, ROS induce cell viability loss in heart and brain degenerative pathologies and promote unlimited cell proliferation in tumor processes. Alteration of the mitochondrial function is a key player in the oxidative stress generation and therefore it is preferential therapeutic target for prevention or attenuation of the ROS-induced oxidative damage.

Key words: redox regulation, oxidative stress, cardiomyopathies, cancer, neurodegeneration.

INTRODUCCIÓN

Moses Gomberg (1898) descubre la formación del radical trifenilmetilo y se considera el padre de la química de los radicales libres. Rebeca Gerschman (1954) propone que los radicales superóxido ($O_2^{\bullet-}$) e hidroxilo ($\bullet OH$) son responsables del mecanismo de toxicidad por oxígeno. Denham Harman (1956) postula la teoría del envejecimiento basada en la toxicidad de los radicales libres. Joe McCord e Irwin Fridovich (1969) descubren la enzima superóxido dismutasa (SOD). Chandra Mittal y Ferid Murad (1977) prueban que $O_2^{\bullet-}$ induce activación de la enzima guanilato ciclasa y se forma monofosfato de guanosina cíclica. Helmut Sies (1985) acuña el concepto de “estrés oxidativo” como el desequilibrio producido por el aumento de especies oxidantes o la disminución de sistemas antioxidantes. A principios del siglo XXI se comprueba que hay especies reactivas de oxígeno (ROS) que intervienen en mecanismos fisiológicos (Buetler *et al.*, 2004; Rhee, 2006). El interés por los temas relacionados con ROS ha ido en aumento durante los últimos años dada la importancia que tienen en diversos campos relacionados con la Biomedicina.

RADICALES LIBRES Y ROS

Un radical libre es una especie química que posee un electrón (e^-) desapareado en la capa de valencia de alguno de sus átomos. Esto le otor-

ga una configuración electrónica inestable que lo hace muy reactivo porque tiende a reaccionar con otras especies para estabilizarse. Tienen una vida media corta (microsegundos) y actúan en un sitio cercano al que se forman. Los radicales libres de mayor interés biológico son derivados de oxígeno o nitrógeno que poseen una estructura de Lewis con número impar de e^- . El acrónimo ROS se utiliza para referirse tanto a radicales libres que contienen oxígeno como a derivados que sin ser radicales libres son muy reactivos como ellos. Es el caso de: anión peróxido ($O_2^=$), peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y anión hidroxilo (OH^-) (Figura 1).

La producción de pequeñas cantidades de ROS forma parte del metabolismo celular que actúa como regulador de procesos activados por hormonas, factores de crecimiento, citoquinas y otros estímulos. Sin embargo, la producción incontrolada de ROS altera o destruye componentes celulares y modifica la expresión de genes (Dröge, 2002; Lushchak, 2014; Schieber y Chandel, 2014).

PAPEL DEL O_2 COMO FUENTE DE ROS

Los organismos superiores utilizan O_2 para obtener la mayor parte de la energía que precisan aunque esa necesidad de O_2 es potencialmente tóxica. La alta reactividad del O_2 , que le permite formar ROS, se debe a su estado triplete (3O_2) cuya configuración electrónica es la de un birradical ($\bullet O-O\bullet$ ó bien

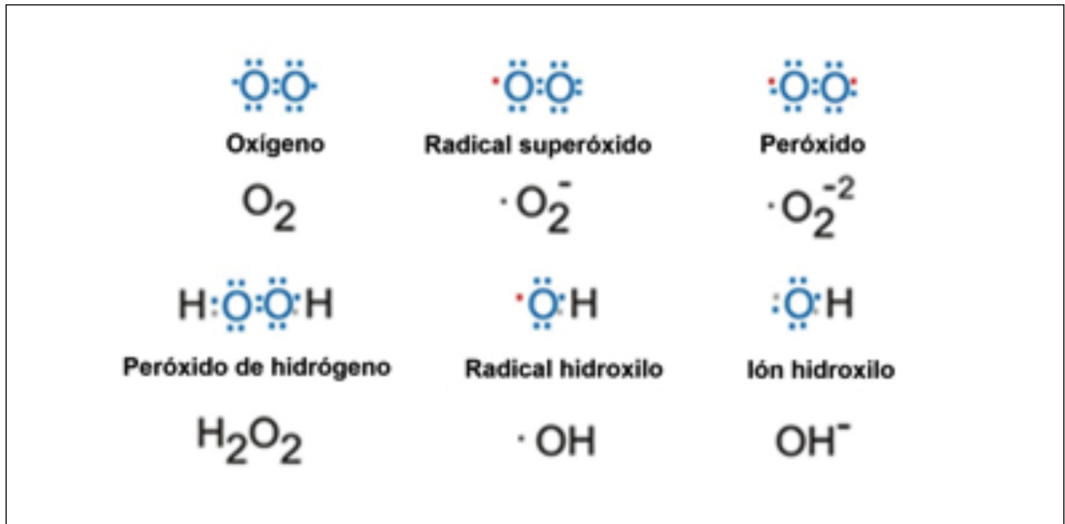


Figura 1. Principales ROS de interés biológico. El O_2 en estado triplete tiene 2 e^- desapareados en la capa de valencia. La reducción secuencial por la adición de e^- da lugar a: radical superóxido, anión peróxido, peróxido de hidrógeno, radical hidroxilo y anión hidroxilo. (tomado de: Held, 2015).

O_2^-) con capacidad para aceptar e^- . El O_2 en estado singlete (1O_2) es menos reactivo porque no tiene e^- desapareados en la capa de valencia ($O=O$). La situación habitual en los procesos de oxidación-reducción (redox) es la transferencia de $2e^-$ del donador (reducido) al aceptor (oxidado). Cuando el donador solo cede $1e^-$ al aceptor O_2^- se forma el radical $O_2^{\bullet-}$ que es muy inestable y tiende a reaccionar. Si reacciona con óxido nítrico se forma anión peroxinitrito que es otra especie muy reactiva. Si $O_2^{\bullet-}$ cede $1e^-$ a otro radical $O_2^{\bullet-}$ se forma O_2 y $O_2^=$ que en presencia de $2H^+$ genera H_2O_2 . Hay una reacción tóxica de descomposición de H_2O_2 que se produce cuando hay niveles elevados. H_2O_2 recibe $1e^-$ de Fe^{2+} a través de la reacción de Fenton: $H_2O_2 + Fe^{2+} \rightarrow \bullet OH + OH^- + Fe^{3+}$. Se genera $\bullet OH$ que es un radical muy reactivo con capacidad para oxidar proteínas, lípidos y material genético de forma indiscriminada (Lushchak, 2014).

REGULACIÓN O ESTRÉS

Los efectos producidos por ROS dependen de la intensidad, la duración y el microentorno. Un pequeño aumento transitorio en un punto concreto de la célula sirve como regulador intracelular para activar alguna función biológica. Sin embargo, una elevación transitoria o crónica de mayor entidad desencadena una respuesta oxidativa que es propia de estados patológicos. Por eso, las células disponen de eficientes mecanismos antioxidantes que protegen de la potencial toxicidad de ROS. Un antioxidante es una molécula que impide la acumulación de ROS en cantidades perjudiciales o estimula mecanismos endógenos para su eliminación. Cuando el equilibrio entre ROS y los sistemas antioxidantes se desplaza a favor de las sustancias oxidantes aparece el estrés oxidativo. El daño oxidativo es el efecto que se observa cuando los sistemas antioxidantes de la célula son insuficientes para

neutralizar la elevación de ROS (Winterbourn y Hampton, 2008; Lushchak, 2014).

FUENTES ENDÓGENAS DE ROS

Los mecanismos de producción de ROS en los seres vivos se basan en la transferencia de e^- y están fundamentalmente asociados al metabolismo celular del O_2 .

NADPH oxidasa (NOX)

Es un complejo enzimático cuya función es producir radical $O_2^{\bullet-}$ a través de la reacción: $NADPH + 2O_2^- \rightarrow NADP^+ + 2O_2^{\bullet-} + H^+$. El producto de reacción $O_2^{\bullet-}$ se transforma rápidamente en H_2O_2 que es más estable y es la especie que actúa en la mayoría de casos. La activación de NOX puede inducirse por diversos estímulos incluyendo: angiotensina II, endotelina-1, interleuquina-1, factor α de necrosis tumoral, factor β transformante del crecimiento, factor de crecimiento del endotelio vascular, alteraciones metabólicas, hipoxia-reoxigenación y estímulos mecánicos. Las características bioquímicas de NOX y su presencia en casi todo tipo de células sugieren que es la principal fuente productora de ROS cuando éstas intervienen en procesos de regulación redox (Dworakowski *et al.*, 2006). NOX en mamíferos constituye una familia de 7 proteínas cuya expresión depende del tipo de célula y de la localización subcelular. NOX2 fue la primera isoforma descubierta, se identificó en leucocitos y es responsable de la respuesta microbicida de las células fagocíticas. En algunos tipos de células hay co-expresión de isoformas, así células de músculo liso vascular co-expresan NOX1 y NOX4 mientras que cardiomiocitos y células endoteliales co-expresan NOX2 y NOX4 (Bedard y Krause, 2007).

Cadena respiratoria mitocondrial

Un pequeño % del O_2 que entra en la mitocondria para producir energía forma ROS como

producto no deseado. El poder reductor procedente de la oxidación de glucosa fluye en forma de e^- a través de la cadena respiratoria siendo los complejos I y III los mayores productores de ROS. El primer radical que se forma es $O_2^{\bullet-}$ y se genera cuando O_2^- recibe $1e^-$ del donador lo que supone una reducción incompleta: $O_2^- + 1e^- \rightarrow O_2^{\bullet-}$. La inestabilidad de $O_2^{\bullet-}$ permite la posterior formación de H_2O_2 , $\bullet OH$ y OH^- (Lushchak, 2014).

Otras fuentes secundarias de producción de ROS incluyen: xantina oxidasa, monoamino oxidasa, óxido nítrico sintasa desacoplada, citocromo P450 oxidasa, ciclooxigenasa y lipooxigenasa.

FUENTES EXÓGENAS DE ROS

La generación de ROS puede proceder de fuentes ajenas al metabolismo aerobio como son: humo de tabaco, alcohol, contaminación ambiental, radiación ultravioleta, radiaciones ionizantes, exposición a pesticidas, agentes químicos, algunos fármacos, etc.

DEFENSAS FRENTE A ROS

Las células cuentan con mecanismos antioxidantes tanto enzimáticos, que actúan directamente sobre la especie tóxica, como no enzimáticos que reaccionan para dar otra especie más estable que se metaboliza o excreta. También se les conoce como atrapadores (*scavengers* en inglés).

Eliminación de $O_2^{\bullet-}$

SOD está presente en citosol (Cu/Zn-SOD) y matriz mitocondrial (Mn-SOD) de las células de todos los organismos animales y vegetales que viven en condiciones aerobias. Cataliza la dismutación de $O_2^{\bullet-}$ a través de la reacción: $2O_2^{\bullet-} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$. El coenzima Q_{10} ($CoQH_2$) de la cadena respiratoria también elimina $O_2^{\bullet-}$ a través de la reacción: $CoQH_2 + O_2^{\bullet-} \rightarrow CoQ^{\bullet-} + H_2O_2$.

Eliminación de H₂O₂

Glutación peroxidasa cataliza la descomposición de H₂O₂ cuando la concentración es baja. Requiere la presencia del tripéptido glutatión (GSH) que se transforma en glutatión oxidado (GSSG) a través de la reacción: $2\text{GSH} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{GSSG} + 2\text{H}_2\text{O}$. Cuando la concentración de H₂O₂ es alta interviene catalasa mediante la reacción: $2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$. Peroxirredoxina también descompone H₂O₂ en H₂O estando su actividad regulada por cambios en la fosforilación y el estado redox del enzima. Es responsable de los aumentos transitorios y locales de H₂O₂ (señales de H₂O₂) que actúan como regulador redox.

Eliminación de •OH y peróxilo (ROO•)

Se consigue a través del antioxidante hidrosoluble vitamina C (ácido ascórbico) cuando se oxida a ácido deshidroascórbico. La especie activa es el radical ascorbilo que es un intermedio de la reacción reversible de oxidación. La eliminación a través del antioxidante liposoluble vitamina E (tocoferoles) conlleva la donación de H y la pérdida irreversible de moléculas de vitamina. CoQH₂ también impide la peroxidación de lípidos de membrana y de lipoproteínas.

Tiorredoxina/tiorredoxina reductasa, glutatión/glutatión reductasa y glutarredoxina son necesarias para mantener el equilibrio redox de la célula.

IMPLICACIÓN EN REGULACIÓN REDOX

El efecto regulador de ROS suele producirse a través de H₂O₂ y se basa en la capacidad para oxidar alguna cisteína de proteínas diana. Hay cisteínas (Cys-SH) en determinadas proteínas que se oxidan con facilidad porque el grupo tiol a pH fisiológico está como anión tiolato (Cys-S⁻). Niveles bajos de H₂O₂

transforman reversiblemente Cys-S⁻ en grupo sulfénico (Cys-SOH) que es inestable y provoca la formación de puentes disulfuro intere e intramoleculares. En condiciones de estrés oxidativo, Cys-SOH evoluciona a sulfínico (Cys-SO₂H) y sulfónico (Cys-SO₃H) en un proceso irreversible que provoca modificaciones y daños permanentes. Hay un mecanismo indirecto que utiliza sensores redox que son proteínas que se oxidan por ROS y al reducirse permiten la oxidación de proteínas diana. Cambios en la función de proteínas asociados a la oxidación reversible de Cys-S⁻ constituyen un mecanismo fisiológico de regulación redox. La fuente productora de H₂O₂ suele estar junto a la proteína diana para que la acción sea rápida y eficaz. Por otro lado, la acumulación de H₂O₂ es transitoria porque se produce cuando peroxirredoxina está momentáneamente inactiva por oxidación o fosforilación. El efecto oxidativo sobre la proteína diana es igualmente transitorio y desaparece por mecanismos enzimáticos de reducción que recuperan los residuos Cys-S⁻. El mecanismo de regulación redox más conocido es la inhibición de fosfatasa de proteínas con tirosinas fosforiladas que regulan numerosas rutas de transducción de señales. Las fosfatasa tienen una secuencia conservada en el centro activo con Cys-S⁻ que cuando se oxida origina pérdida de la actividad enzimática. La inhibición reversible de la actividad fosfatasa por oxidación de Cys-S⁻ eleva el nivel de la quinasa correspondiente y por tanto activa de forma indirecta la ruta de transducción. También puede darse activación directa de una quinasa por oxidación de Cys-S⁻ como ocurre en la quinasa Src, la actividad quinasa del receptor de insulina o las quinasas A, G y C de proteínas. Otros ejemplos incluyen el efecto directo o indirecto sobre factores de transcripción como: HIF-1, Nrf2, NF-κB, AP-1, STAT y la regulación de canales iónicos (Winterbourn y Hampton, 2008; Finkel, 2011; Schieber y Chandel, 2014).

IMPLICACIÓN EN MIOCARDIOPATÍAS

Es un hecho constatable que la elevación de ROS indicativa de estrés oxidativo está implicada en el desarrollo de algunas patologías graves del miocardio.

Efectos de ROS en isquemia-reperusión

La consecuencia más grave de la isquemia es la inducción de muerte celular que es inevitable e inmediata en el núcleo isquémico. La región en riesgo que rodea al núcleo queda en situación de hipoxia y es más resistente. Sin embargo, las maniobras de reperusión para mejorar la función cardíaca generan una sobreproducción de ROS en las mitocondrias de los cardiomiocitos que es nociva. El origen está en la activación de NOX y el mal funcionamiento de la cadena respiratoria que provoca la isquemia y se potencian al reintroducir O₂ en la reperusión. El estrés oxidativo produce daños directos en los cardiomiocitos tales como: modificaciones irreversibles de componentes celulares y activación de enzimas proteolíticas. También induce la apertura irreversible del poro mitocondrial de permeabilidad transitoria que da lugar a muerte celular por apoptosis y necroptosis. La reperusión aumenta la respuesta inflamatoria de la isquemia activando la formación de mediadores proinflamatorios y moléculas de adhesión que contribuyen a la activación e infiltración de leucocitos para generar más estrés oxidativo. La propia alteración redox activa factores de transcripción que tienen efecto cardioprotector. Uno de ellos es el factor de hipoxia HIF-1 que en presencia de ROS activa la transcripción de genes que protegen de daños causados por la isquemia-reperusión. El factor Nrf2 también protege del estrés oxidativo que crea la isquemia-reperusión activando la transcripción de genes relacionados con el equilibrio redox de la célula. Los niveles bajos de ROS que se generan después de la reperusión tienen una función protectora activando facto-

res de crecimiento que inducen proliferación, diferenciación y migración celular. Hay procesos de reparación que producen angiogénesis y mejoran la función del órgano pero hay otros que activan la formación de tejido fibrótico y dependiendo de su extensión pueden originar pérdida de contractilidad. El preacondicionamiento cardíaco es un mecanismo experimental de cardioprotección a través del cual períodos breves de isquemia-reperusión previos a una isquemia prolongada proporcionan protección. El efecto se atribuye a la apertura del canal mitocondrial de K⁺ sensible a ATP que permite la entrada de K⁺ a la mitocondria y disminuye el potencial de membrana mitocondrial. Resultados experimentales de protección frente a la isquemia-reperusión al tratar con antioxidantes dirigidos a las mitocondrias y el propio mecanismo protector del preacondicionamiento sitúan a la mitocondria como diana terapéutica preferente para evitar o aminorar los daños de la isquemia-reperusión (Kalogeris *et al.*, 2014; Cadenas, 2018).

Efectos de ROS en hipertrofia e insuficiencia

La hipertrofia patológica es una respuesta compensatoria dinámica para normalizar la función cardíaca. Acompaña a otras cardiopatías y puede activarse por isquemia-reperusión. Hay estímulos crónicos de tipo neurohormonal (angiotensina II, endotelina-1, catecolaminas), inflamatorio (citoquinas) o estiramiento mecánico que activan rutas de transducción de señales y elevan los niveles de ROS. La producción de ROS implica principalmente a la actividad NOX2 que está en la membrana plasmática y NOX4 que está en mitocondrias. Estas isoformas desempeñan funciones distintas en los procesos de hipertrofia y fibrosis que están sin caracterizar. El estrés oxidativo crónico que crea ROS afecta a múltiples dianas moleculares. Se activan factores de transcripción como: NF-κB, NFAT, GATA4 y MEF2 que estimulan la hipertrofia. Se produce reprogramación ge-

nética con la expresión de genes fetales que modifican estructuras y funciones celulares. Se activan quinasas de proteínas con acción pro-apoptótica (ASK1, JNK y p38MAPK) y se alteran otras quinasas con acción anti-apoptótica (PI3K, Akt, ERK1/2). Se produce estrés mitocondrial que induce muerte celular por apoptosis. Los efectos de ROS alcanzan a componentes del ciclo de excitación-contracción, así activan por oxidación a las quinasas A y CaMKII que ejercen función reguladora. También oxidan al receptor de rianodina/canal de Ca^{2+} que lo mantienen en estado abierto y provoca la descarga del Ca^{2+} que almacena el retículo sarcoplásmico. La ATPasa dependiente de Ca^{2+} que bombea Ca^{2+} al interior del retículo sarcoplásmico se inactiva por niveles altos de ROS. Transportadores de la membrana plasmática como el intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$, canales de Ca^{2+} de tipo L y canales de Na^+ y proteínas de la maquinaria contráctil también se afectan por el estrés oxidativo. El proceso apoptótico lento que disminuye la viabilidad celular y las alteraciones de la maquinaria contráctil hacen que la función del miocardio empeore progresivamente. Los estímulos hipertróficos antes descritos también contribuyen a la respuesta adaptativa del miocardio provocando hipertrofia de cardiomiocitos y modificación de la matriz extracelular que da lugar a fibrosis. Cuando los mecanismos de compensación se prolongan, la fibrosis llega a producir disfunción ventricular que es típica del remodelado cardíaco y que en última instancia conduce a la insuficiencia cardíaca (Maejima *et al.*, 2011; Sag *et al.*, 2014).

IMPLICACIÓN EN CÁNCER

Las células tumorales muestran un metabolismo hiperactivo y mantienen niveles elevados de ROS. Sin embargo, el papel de ROS en la carcinogénesis y metástasis está todavía por concretar. La sobreproducción de ROS origina daños oxidativos directos. Concreta-

mente, alteraciones de distinta naturaleza en el material genético (ruptura de cadenas, alteración de bases, mutaciones, deleciones) pueden iniciar o contribuir al desarrollo de un tumor. Una característica de muchos tumores es su estado de hipoxia debido a que la velocidad de proliferación es mayor que la de angiogénesis. La adaptación a la hipoxia implica la activación del factor HIF-1 que activa genes de la ruta glucolítica. Las células tumorales utilizan glucosa para formar lactato en presencia de O_2 un fenómeno conocido como efecto Warburg. Esta modificación metabólica permite la adaptación a la hipoxia y aumenta la resistencia al tratamiento. Hay tumores que mantienen activo el factor HIF-1 incluso en condiciones de normoxia (Lennicke *et al.*, 2015; DeBerardinis y Chandel, 2016). Otra alteración habitual inducible por ROS es la activación de oncogenes y señales oncogénicas que actúan en las distintas etapas de desarrollo del tumor. Incluye la activación permanente de las proteínas Ras, Bcr-ab y c-Myc implicadas en proliferación celular, inactivación de genes supresores de tumores, angiogénesis y disfunción mitocondrial. La activación constitutiva de Ras y de factores de crecimiento por H_2O_2 promueven la ruta anti-apoptótica PI3K-Akt-mTOR que también se activa por inhibición de la fosfatasa de proteínas PTEN. La activación de c-Myc a través de la ruta Wnt/b-catenina aumenta la capacidad de metástasis (Kumari *et al.*, 2018). Otras dianas de ROS implicadas en progresión del tumor y metástasis son la quinasa Src, la proteína RhoA y los factores de transcripción NF- κ B y STAT-3 (Yang *et al.*, 2014). Los niveles de los antioxidantes SOD, catalasa, GSH, glutatión peroxidasa y NADPH son mayores en células tumorales que en células sanas para evitar la activación de quinasas relacionadas con apoptosis (JNK, p38MAPK) y reacciones indiscriminadas de oxidación. A ello contribuye el factor Nrf2 que potencia la respuesta antioxidante. La expresión de Nrf2 está reprimida en ausencia de estrés oxidativo

por unión a la proteína citosólica Keap1 que induce su degradación. El estrés oxidativo oxida a Keap1 liberando Nrf2 que entra al núcleo y se une al elemento de respuesta antioxidante, un potenciador de genes que activa respuestas antioxidantes y antiinflamatorias. Las metaloproteinasas de matriz son enzimas que degradan proteínas de la matriz extracelular y son necesarias para la curación de heridas, la angiogénesis y el remodelado fisiológico tisular en general. Su activación facilita la invasión y metástasis de las células tumorales en un proceso relacionado con la transición epitelio-mesénquima y que se inhibe por N-acetilcisteína que es un atrapador de ROS. Las células tumorales disponen de entornos específicos en las mitocondrias con niveles altos de ROS que activan por proximidad la ruta PI3K-Akt-mTOR, oncogenes y factores de transcripción (HIF-1, NF- κ B) necesarios para la formación y desarrollo del tumor. Al mismo tiempo tienen niveles altos de antioxidantes para mantener el equilibrio redox y evitar la activación de la respuesta apoptótica. Esto es una prueba de que la señal redox de H₂O₂ está compartimentalizada (DeBerardinis y Chandel, 2016). La observación de que células tumorales tienen mayor nivel de ROS y de antioxidantes que células sanas y que células tumorales con mayor nivel de ROS tienen más capacidad para desarrollar metástasis ofrece dos posibles alternativas de tratamiento. Disminuir la producción de ROS aumentando la capacidad antioxidante debería impedir la activación de la respuesta anti-apoptótica. Sin embargo, los tratamientos experimentales y ensayos clínicos con antioxidantes no han proporcionado efectos beneficiosos e incluso podrían ser perjudiciales. Hay que tener en cuenta que los antioxidantes intracelulares no son los mismos en todos los tipos de cáncer ni coinciden con los de las células sanas. En cuanto al aumento de la producción de ROS debería inducir la muerte selectiva de células tumorales aunque existe el riesgo de que activaran más la proliferación. Por tanto,

el tratamiento efectivo requeriría antioxidantes específicos para cada tipo de cáncer o el uso de agentes pro-oxidantes dirigidos a los entornos mitocondriales donde se genera ROS (Schieber y Chandel, 2014).

IMPLICACIÓN EN NEURODEGENERACIÓN

La elevación intracelular de ROS es un factor fundamental en el desarrollo de las enfermedades neurodegenerativas aunque el conocimiento actual sobre su papel es por el momento insuficiente. La mayor vulnerabilidad de las neuronas al daño oxidativo se debe a que consumen mucho O₂ y tienen una menor capacidad antioxidante. La principal fuente de producción de ROS en células del tejido nervioso es la mitocondria siendo la cadena respiratoria y la actividad NOX los mecanismos responsables. Se admite que el mal funcionamiento de las mitocondrias es una característica asociada al envejecimiento y a las enfermedades neurodegenerativas. La alteración de la cadena respiratoria mitocondrial que produce estrés oxidativo y muerte celular por apoptosis es la causa más evidente. Inflamación y edad son factores que favorecen la aparición de estrés oxidativo. Mutaciones en el material genético mitocondrial o la interacción de proteínas mutadas con mitocondrias son otros factores que alteran la función mitocondrial. La abundancia de insaturaciones en los fosfolípidos de las membranas es un condicionante desfavorable para las neuronas porque ROS generan productos de peroxidación lipídica que contribuyen a las alteraciones neurodegenerativas. También lo es la acumulación de cationes metálicos de transición que intervienen en procesos redox y permiten la formación de radical \bullet OH a través de la reacción de Fenton. La escasa capacidad de regeneración de las neuronas de organismos adultos hace que distintos efectores del estrés oxidativo activen procesos de muerte celular que conducen a la

pérdida de tejido nervioso (Lin y Beal, 2006; Kim *et al.*, 2015).

Efectos de ROS en enfermedad de Alzheimer (EA)

La acumulación extracelular de depósitos de amiloide- β (Ab) y de ovillos de proteína tau dentro de la neurona son alteraciones características de la EA. Tiene una clara relación con el mal funcionamiento de las mitocondrias. De hecho, el estrés oxidativo que se observa desde el comienzo de la enfermedad activa la formación de depósitos de Ab y la fosforilación de tau. También se ha visto que la acumulación de depósitos de Ab aumenta el estrés oxidativo lo que podría constituir un círculo vicioso. Se sabe que Ab también se acumula en mitocondrias alterando el metabolismo energético. La disfunción mitocondrial inducida por Ab se ha relacionado con la liberación de citocromo c y otras proteínas mitocondriales pro-apoptóticas. Por otra parte, la formación de placas de Ab libera citoquinas que inician la respuesta inflamatoria y son una fuente generadora de ROS que produce estrés oxidativo y daño neuronal. Además, las placas de Ab retienen cationes de hierro y cobre que potencian el estrés oxidativo al intervenir en la producción del radical $\bullet\text{OH}$. La elevación de ROS puede activar la ruta de transducción de JNK para inducir apoptosis. El efecto patológico de tau también parece guardar relación con el estrés oxidativo porque la sobreexpresión de tau aumenta la sensibilidad de las neuronas al estrés oxidativo. En la EA se ha observado descenso en la capacidad antioxidante de las neuronas que coincide con la elevación intracelular de ROS. El origen de la alteración mitocondrial en la EA está también sin aclarar. Se ha atribuido a alteraciones en complejos enzimáticos relacionados con el ciclo de Krebs, en los complejos I, III y IV de la cadena respiratoria y en el mecanismo de fosforilación oxidativa (Lin y Beal, 2006; Kim *et al.*, 2015; Liu *et al.*, 2017).

Efectos de ROS en enfermedad de Parkinson (EP)

El estrés oxidativo y el mal funcionamiento de las mitocondrias guardan relación directa con la pérdida de neuronas dopaminérgicas de la sustancia negra del cerebro que caracteriza a la EP. Una alteración esencial que produce estrés oxidativo y activa la ruta apoptótica es el descenso en la actividad del complejo I de la cadena respiratoria mitocondrial. La alteración puede estar ligada a alguna mutación en el material genético mitocondrial o a la acumulación y agregación de la proteína α -sinucleína en mitocondrias. En este sentido, la exposición a determinados tóxicos ambientales, entre ellos los pesticidas, parece que aumentan el riesgo de sufrir la EP. Mutaciones genéticas en proteínas como PINK1, DJ-1, α -sinucleína, parkina y LRRK2 alteran la funcionalidad de las mitocondrias y son características de la EP. Otras alteraciones observadas en pacientes con EP son: aumento en la acumulación de catión hierro por las neuronas, que es un factor potencialmente muy tóxico, presencia de subproductos de la peroxidación lipídica y descenso en el contenido de antioxidantes que es especialmente significativo en el caso de GSH. Otra diana del estrés oxidativo que ve deteriorada su función es el proteasoma lo que provoca la acumulación de agregados de proteínas mal plegadas cosa que también ocurre en la EA (Lin y Beal, 2006; Kim *et al.*, 2015; Liu *et al.*, 2017).

CONCLUSIÓN

El efecto intracelular de ROS (concretamente H_2O_2) es ambivalente. Puede ser regulador redox o agente patológico dependiendo de la concentración local, duración y contexto celular. Además, el efecto patológico de H_2O_2 puede inducir respuestas contrarias como son proliferación y muerte celular. Este comportamiento demuestra la complejidad de la regulación por ROS y explica los decepcionantes resultados

de los tratamientos antioxidantes. El conocimiento de la acción de ROS a nivel molecular es esencial para entender su papel en procesos patológicos de tipo cardiovascular, tumoral y neurológico y es la garantía para encontrar tratamientos más efectivos.

BIBLIOGRAFÍA

- BEDARD K, KRAUSE KH. 2007. The NOX family of ROS-generating NADPH oxidases: physiology and pathophysiology. *Physiol. Rev.* 87: 245-313.
- BUETLER TM, KRAUSKOPF A, RUEGG UT. 2004. Role of superoxide as a signaling molecule. *News Physiol. Sci.* 19: 120-123.
- CADENAS S. 2018. ROS and redox signaling in myocardial ischemia-reperfusion injury and cardioprotection. *Free Radic. Biol. Med.* 117: 76-89.
- DEBERARDINIS JR, CHANDEL NS. 2016. Fundamentals of cancer metabolism. *Sci. Adv.* 2: e1600200.
- DRÖGE W. 2002. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol. Rev.* 82: 47-95.
- DWORAKOWSKI R, ANILKUMAR N, ZHANG M, SHAH AM. 2006. Redox signalling involving NADPH oxidase-derived reactive oxygen species. *Biochem. Soc. Trans.* 34: 960-964.
- FINKEL T. 2011. Signal transduction by reactive oxygen species. *J. Cell Biol.* 194: 7-15.
- HELD P. 2015. An introduction to reactive oxygen species. Measurement of ROS in cells. https://www.biotek.com/assets/tech_resources/ROS%20White%20Paper_2015.pdf
- KALOGERIS T, BAO Y, KORTHUIS RJ. 2014. Mitochondrial reactive oxygen species: A double edged sword in ischemia/reperfusion vs preconditioning. *Redox Biol.* 2: 702-714.
- KIM GH, KIM JE, RHIE SJ, YOON S. 2015. The role of oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Exp. Neurobiol.* 24: 325-340.
- KUMARI S, BADANA AK, G MM, G S, MALLA R. 2018. Reactive oxygen species: A key constituent in cancer survival. *Biomark. Insights* 13: 1-9.
- LENNICKE C, RAHN J, LICHTENFELS R, WESSJOHANN LA, SELIGER B. 2015. Hydrogen peroxide - production, fate and role in redox signaling of tumor cells. *Cell Commun. Signal.* 13-39.
- LIN MT, BEAL F. 2006. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Nature* 443: 787-795.
- LIU Z, ZHOU T, ZIEGLER AC, DIMITRION P, ZUO L. 2017. Oxidative stress in neurodegenerative diseases: from molecular mechanisms to clinical applications. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2017: 2525967.
- LUSHCHAK VI. 2014. Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. *Chem. Biol. Interact.* 224: 164-175.
- MAEJIMA Y, KURODA J, MATSUSHIMA S, AGO T, SADOSHIMA J. 2011. Regulation of myocardial growth and death by NADPH oxidase. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 50: 408-416.
- RHEE SG. 2006. A necessary evil for cell signaling. *Science* 312: 1882-1883.
- SAG CM, SANTOS CX, SHAH AJ. 2014. Redox regulation of cardiac hypertrophy. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 73: 103-109.
- SCHIEBER M, CHANDEL NS. 2014. ROS function in redox signaling and oxidative stress. *Curr. Biol.* 24: R453-R462.
- WINTERBOURN CC, HAMPTON MB. 2008. Thiol chemistry and specificity in redox signaling. *Free Radic. Biol. Med.* 45: 549-561.
- YANG W, ZOU L, HUANG C, LEI Y. 2014. Redox regulation of cancer metastasis: molecular signaling and therapeutic opportunities. *Drug Dev. Res.* 75: 331-341.