

Asociación Española de Profesionales Médicos en Ozonoterapia

Seminario intensivo en Ozonoterapia básica aplicado a la Medicina Interna

Especies Reactivas de Oxígeno y Ambiente Redox

3 y 4 junio, 2016



Gregorio Martínez Sánchez, Pharm.D, Ph.D.

gregorcuba @ yahoo.it

E-MAIL

Dr. Gregorio Martínez Sánchez, Ph.D.

Seminario intensivo en Ozonoterapia básica aplicado a la Medicina Interna

Especies Reactivas de Oxígeno

Introducción

ERO historia y conceptos generales.

ERO fundamentales y su formación.



BIBLIOGRAFIA

Gregorio Martínez Sánchez, Eduardo Candelario Jalil, Isabel García García, Olga Sonia León Fernández, Tania Bilbao Reboredo, Luis Ledesma Rivero. Ambiente Antioxidante/Pro-oxidante. Su impacto medico. Ed Aracne. ISBN 978-88-548-4636-4, 2012, pp 680.

Cómo obtenerlo?

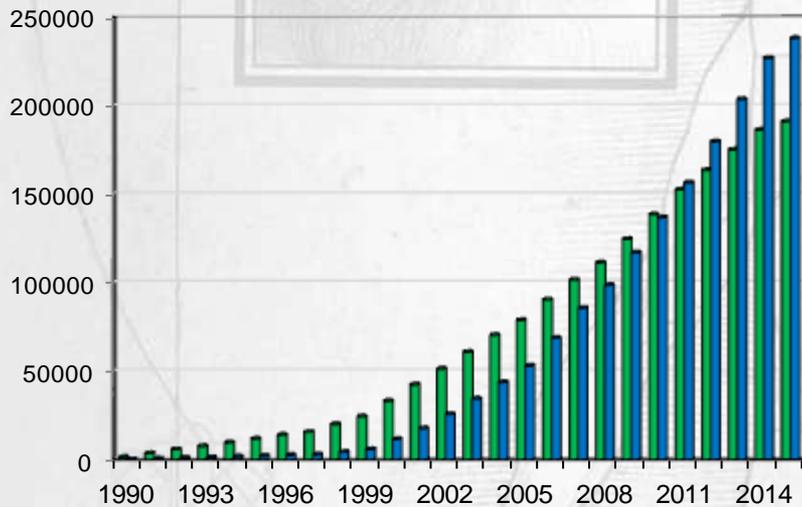
- 1) Editorial Aracne (Italia) info@aracneeditrice.it**
- 2) AMAZON books**

1775 Descubrimiento del oxígeno
1900 Existencia del radical trifenilmetilo
1933 Linus Pauling predijo la existencia del ($O_2^{\cdot-}$)
1969 Descubrimiento de la SOD

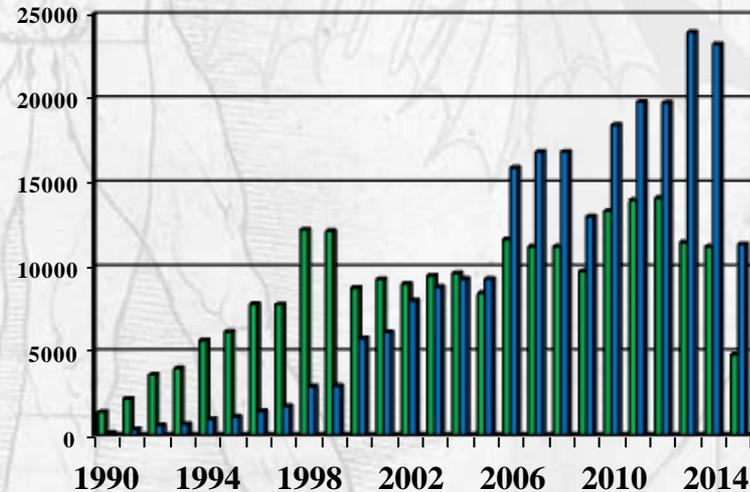
1973 Leucocitos producen ERO
1978 Reactividad del $\cdot OH$
1990 Descubrimiento del $NO\cdot$



Accumulativo



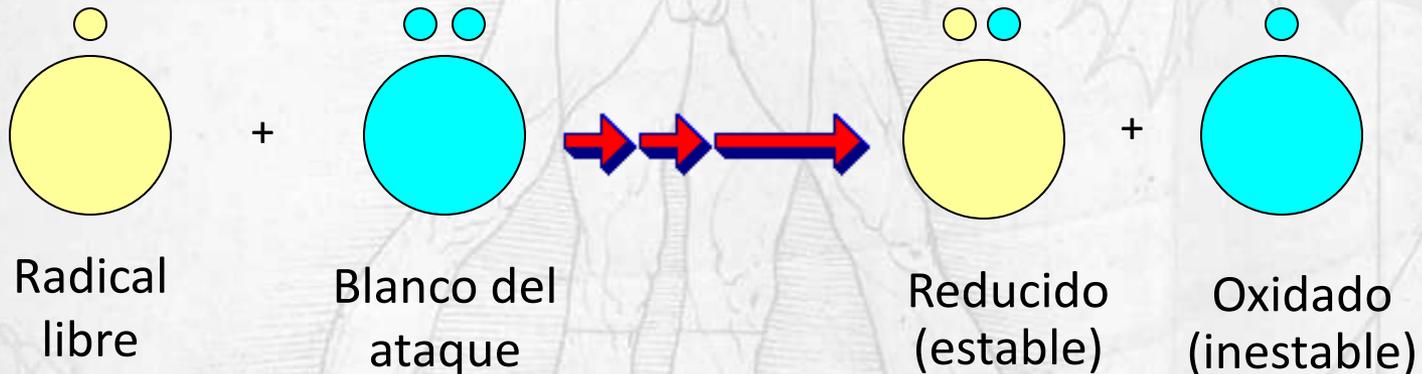
No. artículos por año



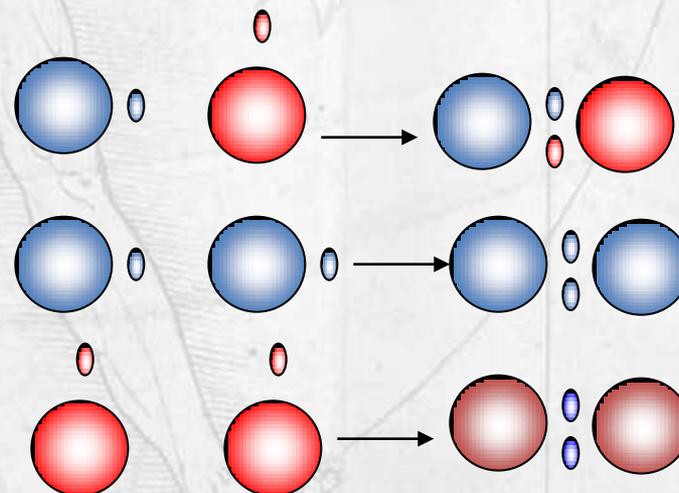
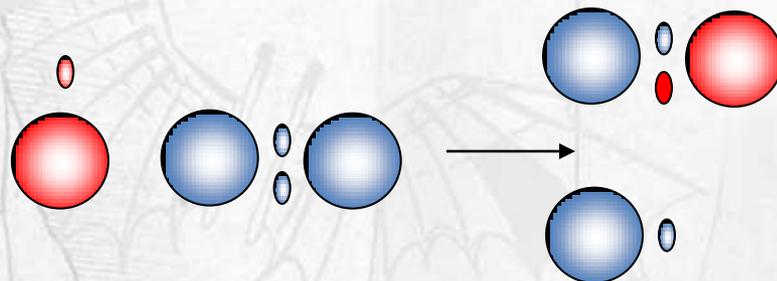
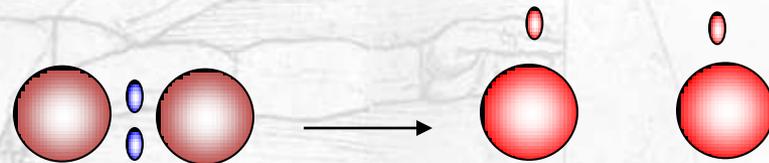
Fuente PubMed – MedLine 2015

¿Qué son los radicales libres?

Los radicales libres son especies químicas capaces de una existencia independiente que contienen uno o más electrones no apareados en el orbital más externo. Sus tiempos de vida medio ($t^{1/2}$) son muy cortos (Halliwell & Aruoma, 1989).



ETAPAS DE LAS REACCIONES RADICALARIAS



¿Quiénes son las Especies Reactivas del Oxígeno (ERO)?

Radicales libres: especie con existencia independiente que posee uno o más electrones no apareados.

No-radicales derivados del oxígeno con una potente acción oxidante.

Radical

t 1/2

Anión radical superóxido



**Enzimática= 10⁻⁹
Espontánea= 10⁻⁵**

Radical hidroxilo



10⁻⁹ s (10⁻⁷-10⁻¹⁰)

Radical lipídico



10⁻⁸ s

Óxido nítrico



3-5 s

Radical alcóxil



10⁻⁶ s

Radical Alquil peróxil



7 s

ERO

t 1/2

Peróxido de hidrógeno



Depende de Enzima

Peroxinitrito



0,05-1 s

Ácido hipocloroso



10⁻⁶ s

ANTIOXIDANTE

**CUALQUIER SUSTANCIA QUE
PRESENTE A MUY BAJAS
CONCENTRACIONES COMPARADAS
CON LA SUSTANCIA OXIDABLE,
PREVENGA O RETARDE SU OXIDACIÓN**

B. Halliwell 1990 Free Rad. Res.Comms 9

ESTRÉS OXIDATIVO

Desbalance a corto o largo plazo del equilibrio antioxidantes/pro-oxidantes que provoca **disrupción de los sistemas de señalización y control a consecuencia de favorecer los procesos de pro-oxidación u obstaculizar los mecanismos antioxidantes.**

Nuevo concepto de estrés oxidativo

H Sies 1985

Estrés oxidativo: desequilibrio entre la generación de agentes oxidantes y los mecanismos oxidantes.....



Jones 2006: .. Disrupción de los mecanismos de señalización y control que forman parte de los circuitos redox intercelulares.....

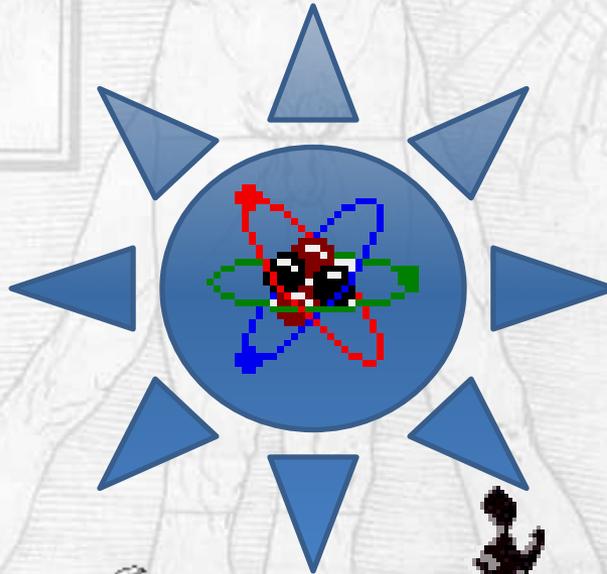
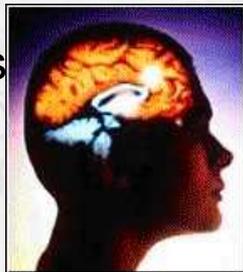


Cardiovasculares

Cancer



Enfermedades
Del SNC



Inflamación



Activ. Fisica

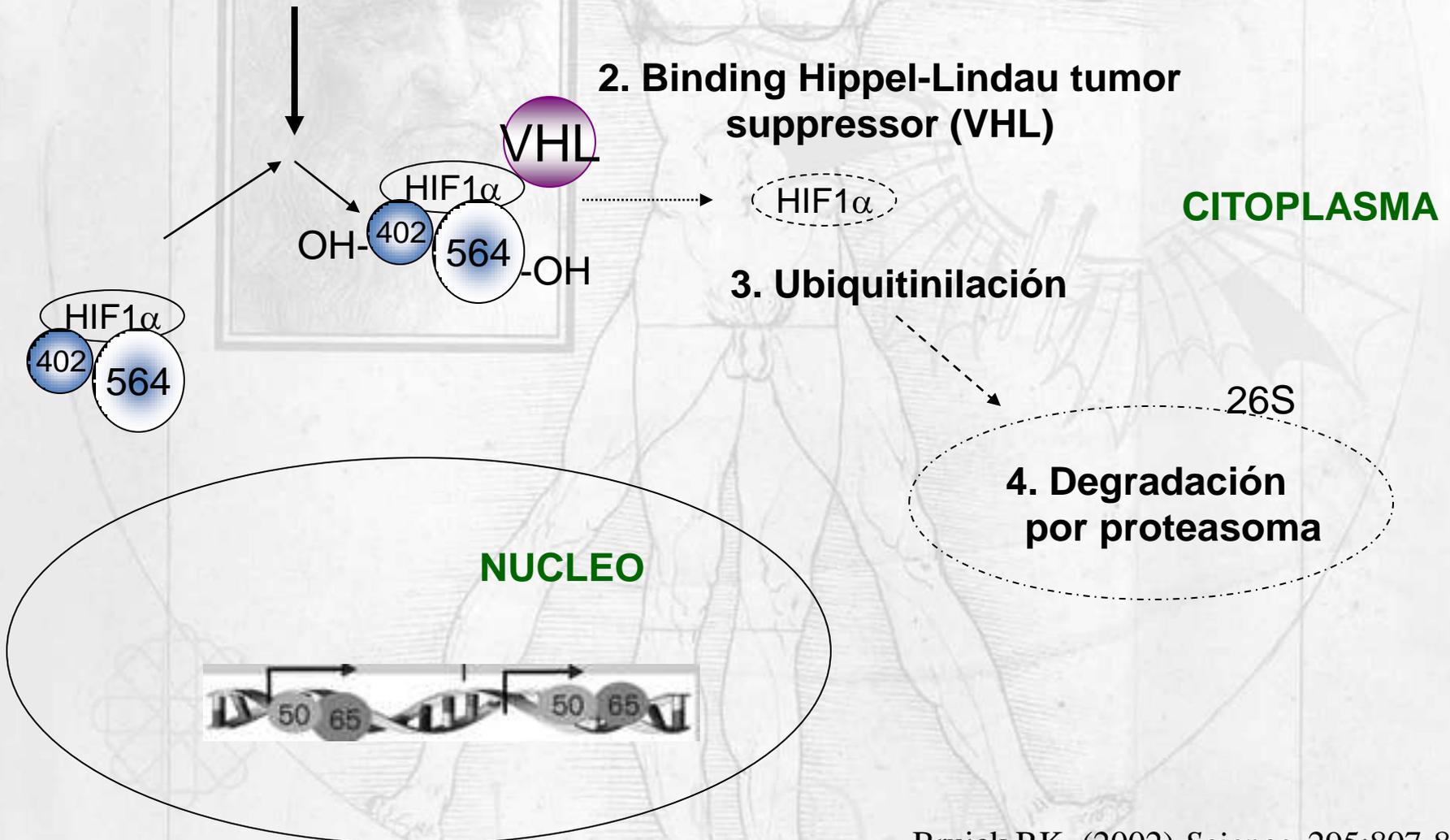


Dr. Gregorio Martínez Sánchez, Ph.D.

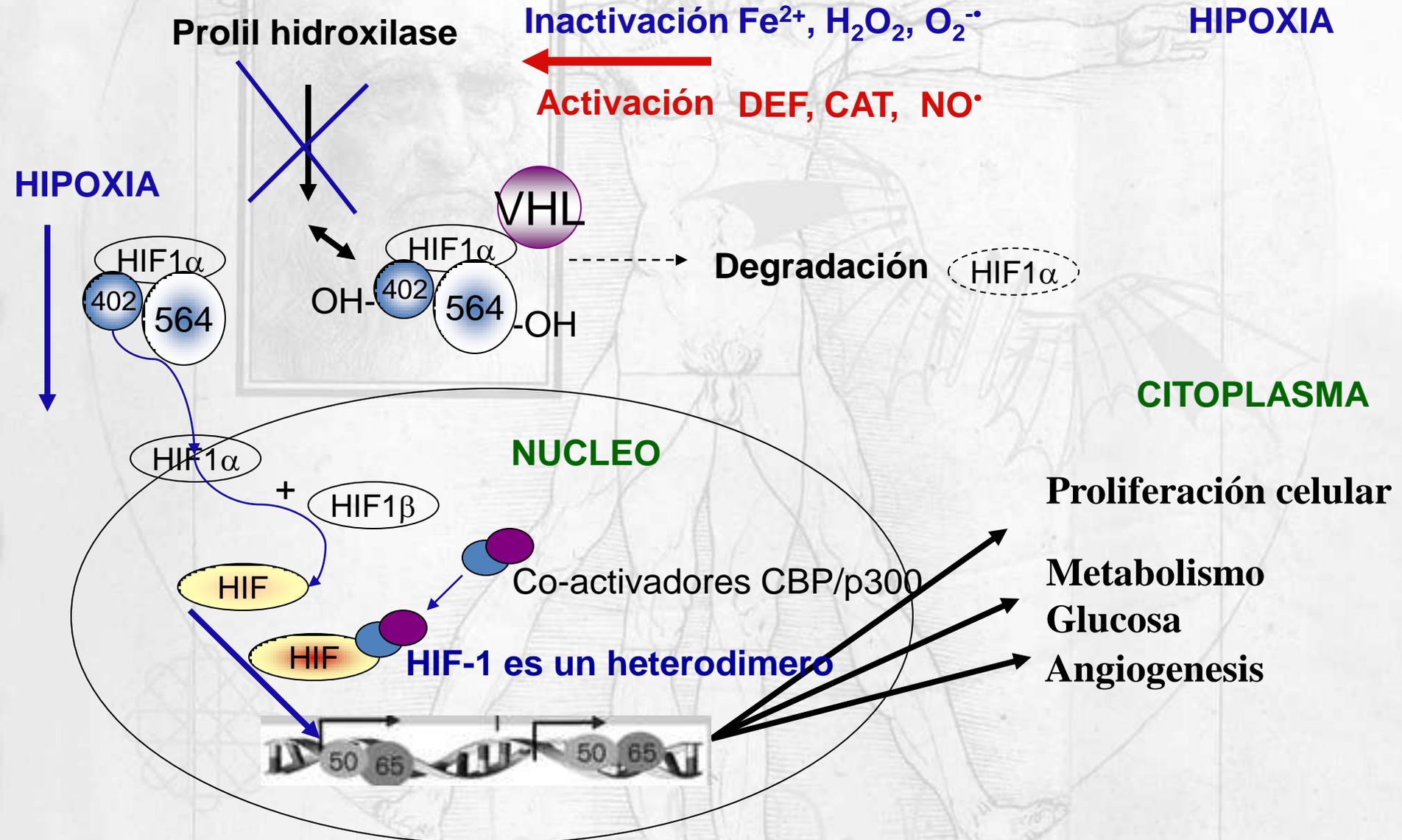
HIF-1 α se produce y degrada de manera constitutiva *via* VHL.

1. Prolil hidroxilasa

NORMOXIA ~6% O₂ 40 mmHg

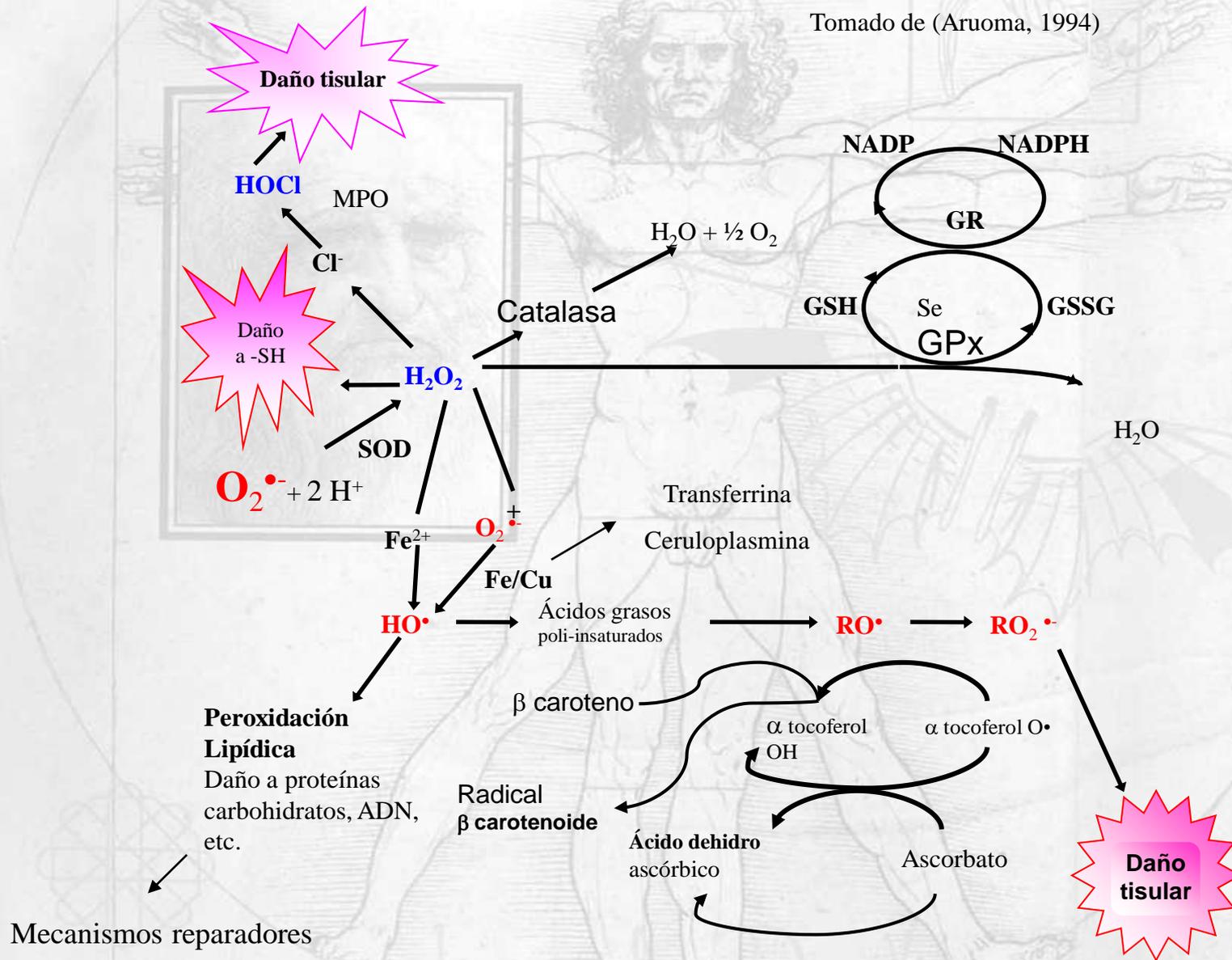


La Prolil hidroxilasa es O₂-dependiente



Interacción entre los sistemas antioxidantes

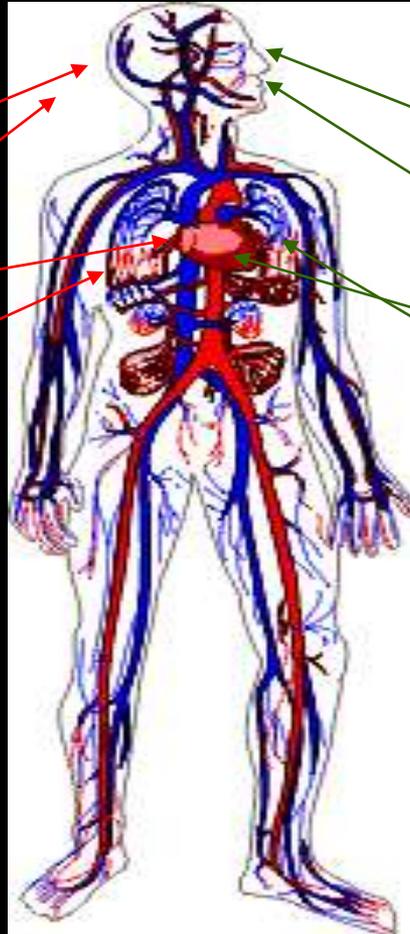
Tomado de (Aruoma, 1994)



ENFERMEDADES EN CUYA FISIOPATOLOGÍA ESTÁ INVOLUCRADO EL DESBALANCE REDOX

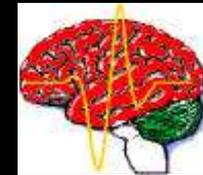
AGUDAS

Trauma
Apoplejía
Daño IR
Síndrome Distrés Resp.
Rechazo agudo (transplantes)
Inflamación Aguda
Paracetamol (sobre dosis)
Xenobióticos
Ejercicio agudo



CRÓNICAS

Parkinson
Alzheimer
Hipertensión, Aterosclerosis
Fibrosis cística
Rechazo crónico (transplantes)
Inflamación crónica
Cáncer
Envejecimiento
Entrenamiento sistemático



PRINCIPALES FUENTES INDUCTORAS DEL DESBALANCE REDOX

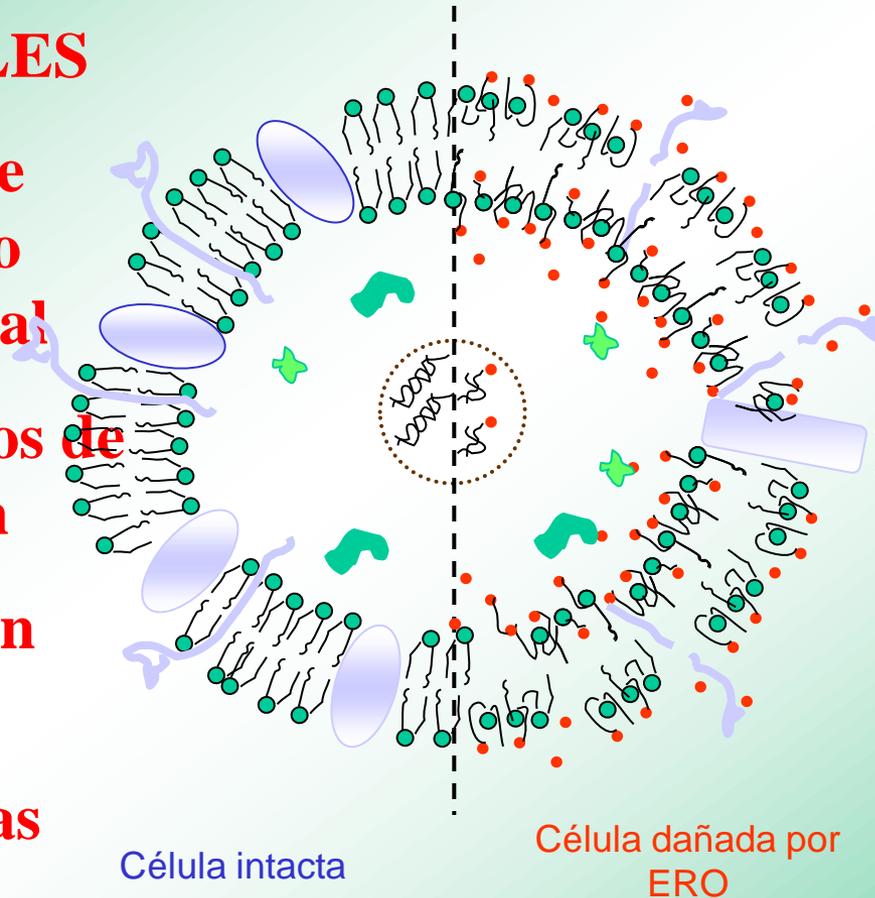
INEVITABLES

Transporte electrónico mitocondrial

Iones Metálicos de transición

Inflamación

Enzimas generadoras



EVITABLES

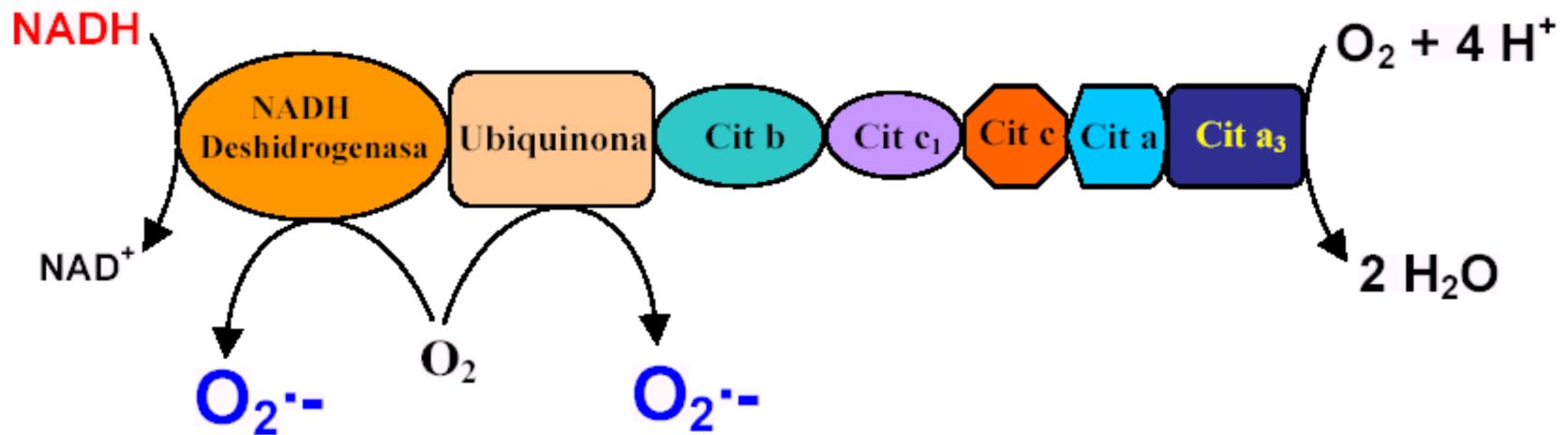
Metabolismo de fármacos y xenobióticos

Humo del cigarro y contaminantes ambientales

Radiaciones

Producción de $O_2^{\cdot-}$ por la NADH deshidrogenasa

- El otro mecanismo de producción de $O_2^{\cdot-}$ en la mitocondria es la flavoproteína NADH deshidrogenasa
- El grupo flavina de esta enzima es reducido durante el transporte electrónico al radical flavina semiquinona que al reaccionar con el O_2 produce $O_2^{\cdot-}$ en una reacción similar a la de la ubisemiquinona.

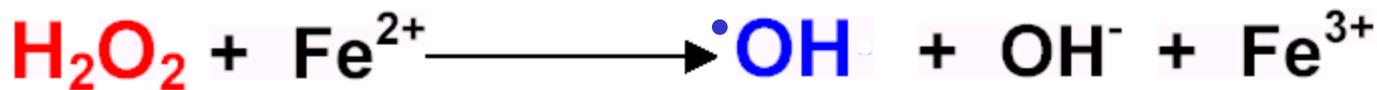
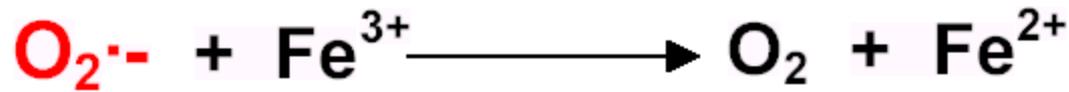


Producción del anión radical superóxido por la cadena de transporte electrónico mitocondrial

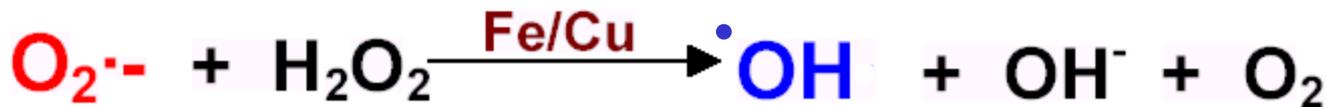
FUENTES O MECANISMOS GENERADORES DE ERO

Iones de metales de transición

Reacciones de Haber-Weiss y Fenton

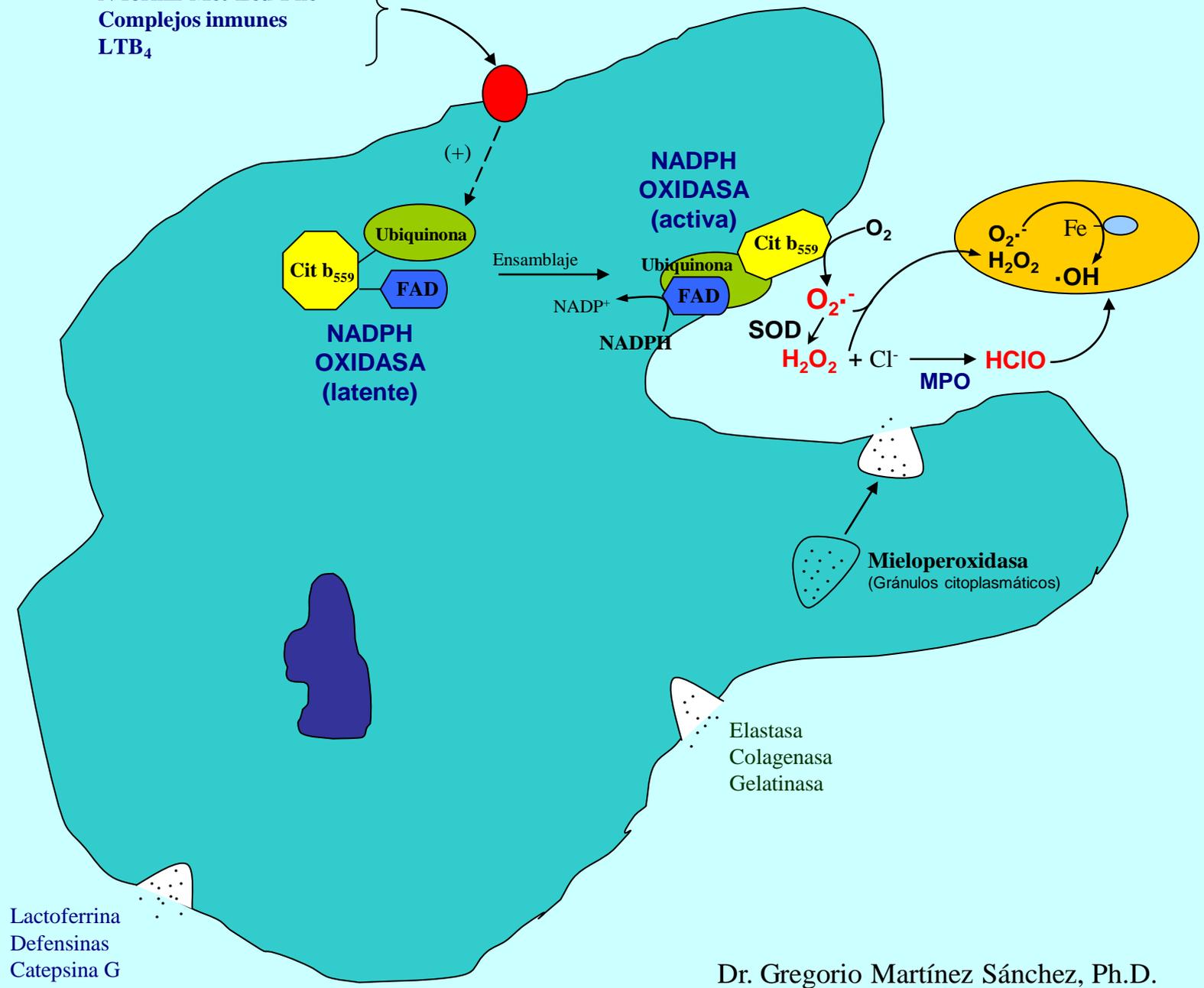


Reacción de Fenton



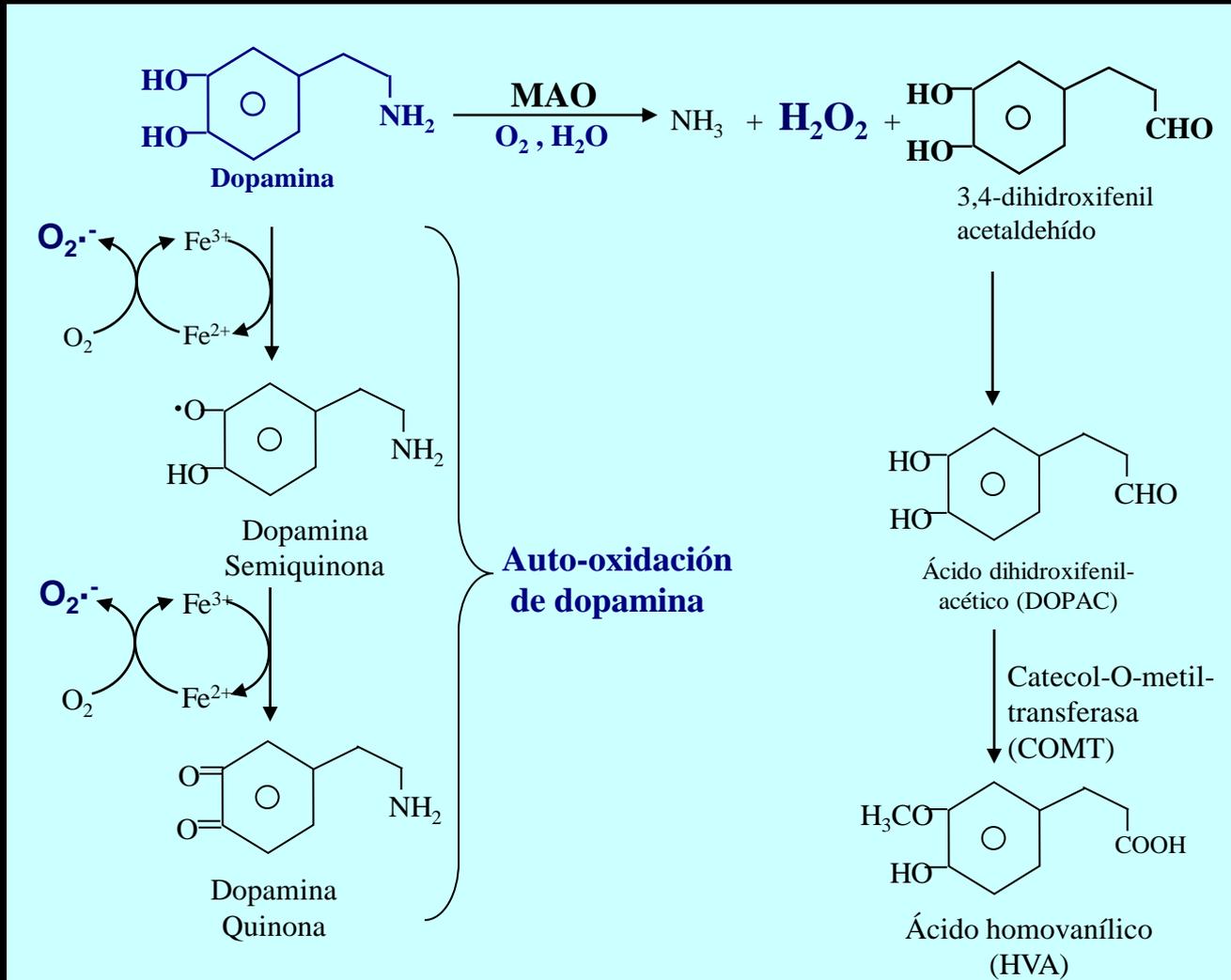
Reacción de Haber-Weiss

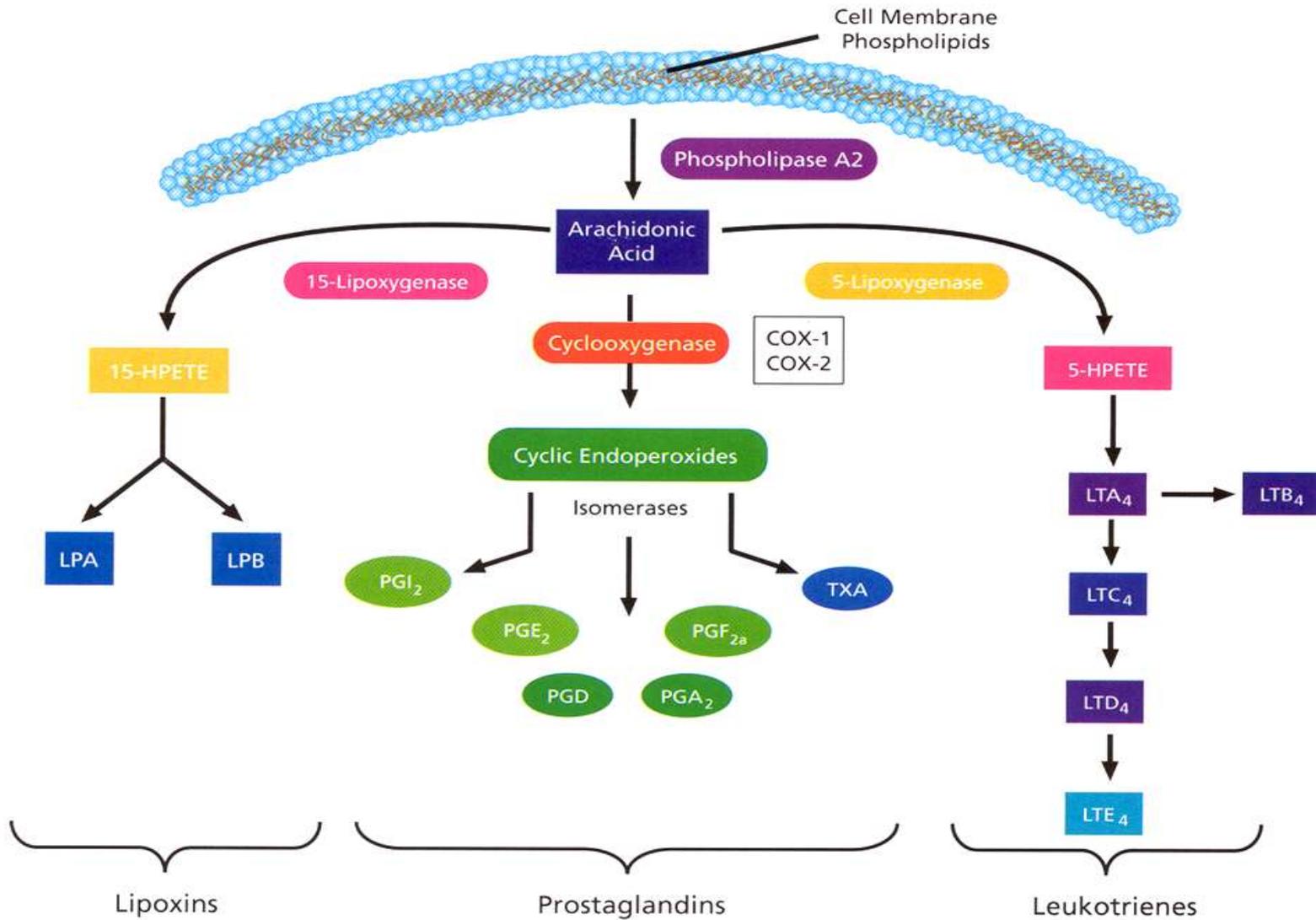
C5a
N-formil-Met-Leu-Phe
Complejos inmunes
LTB₄



Lactoferrina
Defensinas
Catepsina G

Producción de ERO por la Monoamino-oxidasa (MAO)



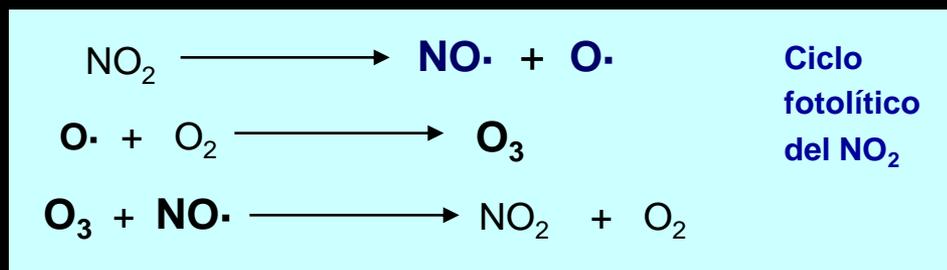


FUENTES O MECANISMOS GENERADORES DE ERO

CONTAMINANTES AMBIENTALES

El agente oxidante más importante en la atmósfera terrestre es el ozono (O_3).

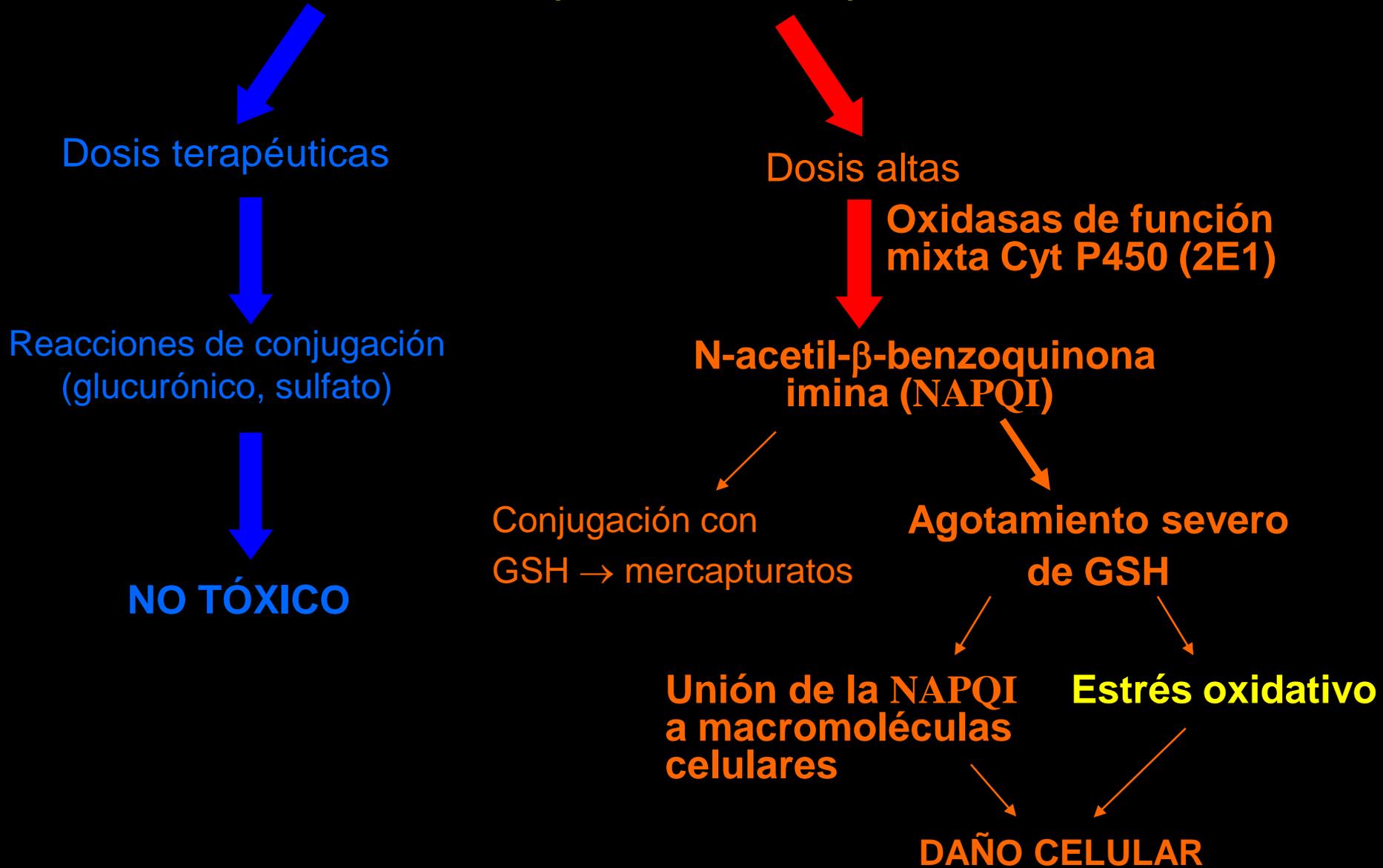
Otro de los contaminantes atmosféricos de gran importancia es el dióxido de nitrógeno (NO_2), el cual absorbe la luz UV generando otros compuestos con elevada reactividad:



Los efectos tóxicos fundamentales del NO_2 y el O_3 ocurren fundamentalmente en las vías respiratorias.

El O_3 genera una cascada de ERO altamente reactivas e inestables (aldehídos, ozónidos, H_2O_2 , hidroperóxidos lipídicos) que casi instantáneamente reaccionan con componentes de las membranas y del citoplasma celular.

Paracetamol (Acetaminofeno)



MECANISMOS ANTIOXIDANTES

Mecanismos antioxidantes endógenos

a) Enzimas antioxidantes

SUPERÓXIDO DISMUTASA

Cataliza la dismutación del anión superóxido en H_2O_2 y O_2 .



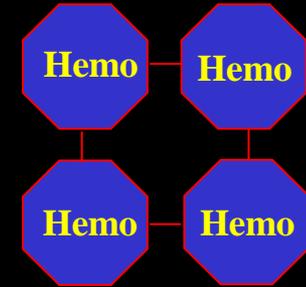
Humanos	{ Cu/ZnSOD MnSOD EC-SOD (Cu/Zn)	Todas las isoformas catalizan la dismutación del $\text{O}_2^{\cdot-}$ con similar eficiencia
---------	--	---

Única enzima que se conoce actúa sobre un radical !!!

MECANISMOS ANTIOXIDANTES

Mecanismos antioxidantes endógenos

a) Enzimas antioxidantes



CATALASA

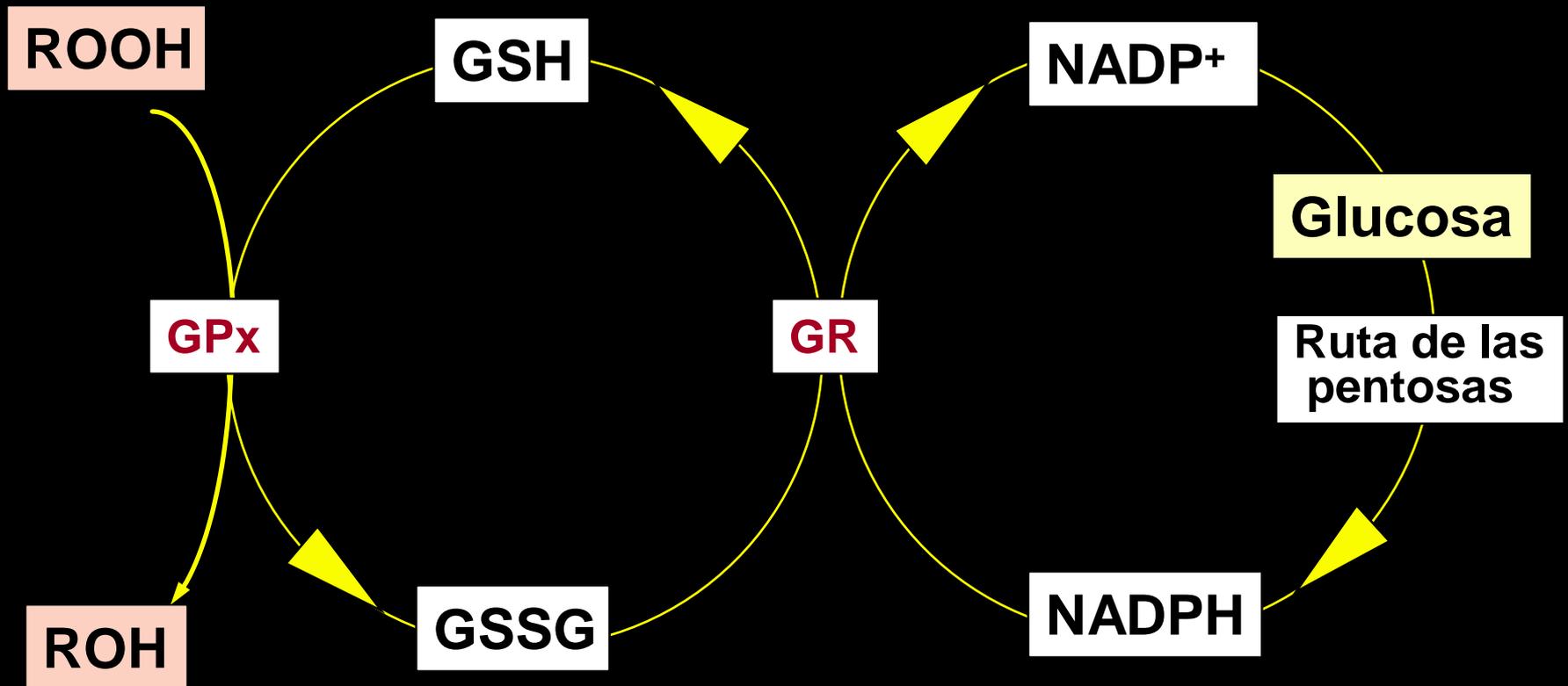
Es un tetrámero que contiene 4 subunidades de 60 kDa cada una con un grupo hemo.

Existen muchas formas de catalasa, la mayoría presenta Fe (grupo hemo), pero algunas poseen Mn

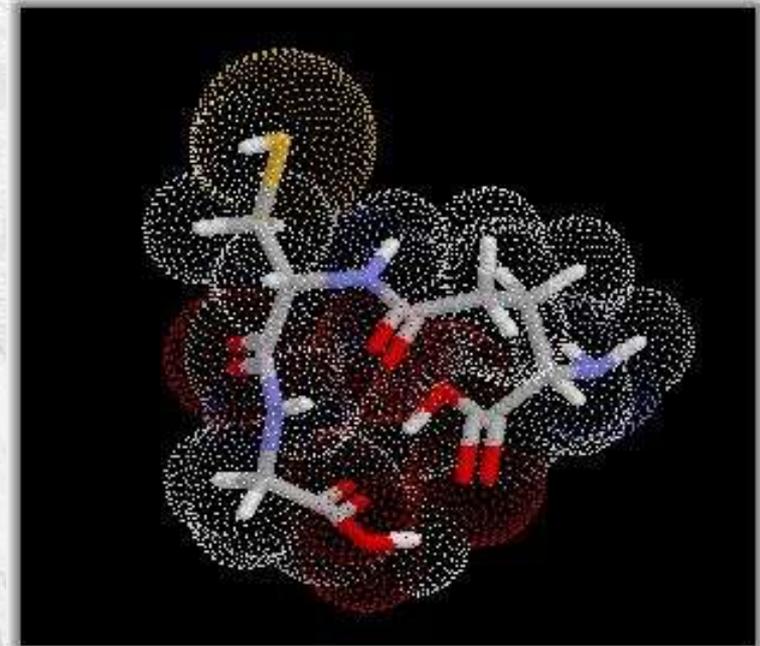
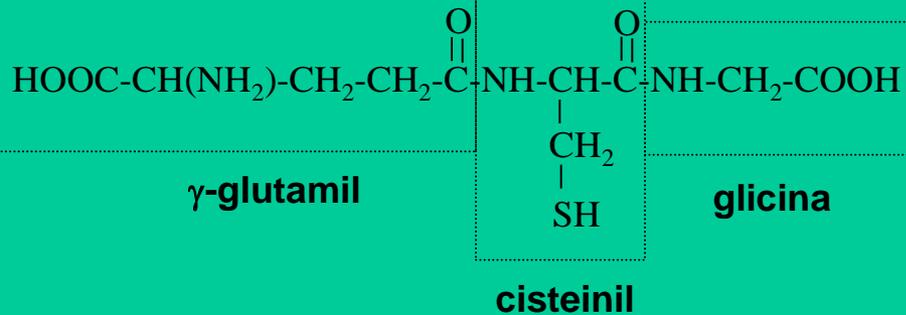
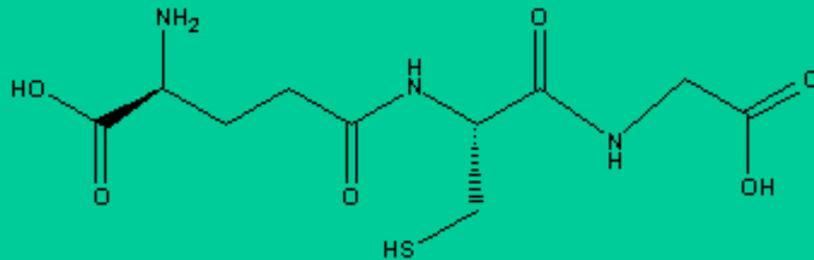
La mayoría de las bacterias anaerobias NO presentan catalasa

- ☞ Es una de las enzimas más eficientes que se conoce y de las más abundantes
- ☞ Reacciona con el H_2O_2 para generar agua y oxígeno
- ☞ Se localiza en la matriz de los peroxisomas y en la mitocondria (tejido cardíaco, solamente), mientras que en eritrocitos se encuentra en citosol

Para que pueda mantenerse la actividad de la GPx es necesaria la actividad de la Glutación reductasa (GR), una enzima que emplea el NADPH como cofactor. La GR tiene una distribución celular muy similar a la GPx.



Glutación



MECANISMOS ANTIOXIDANTES

ANTIOXIDANTES OBTENIDOS DE LA DIETA

Selenio

Es un elemento esencial

1817 Jons Jakob Berzelius y G Hahn descubre y nombró este elemento en honor a la diosa de la luna Selene

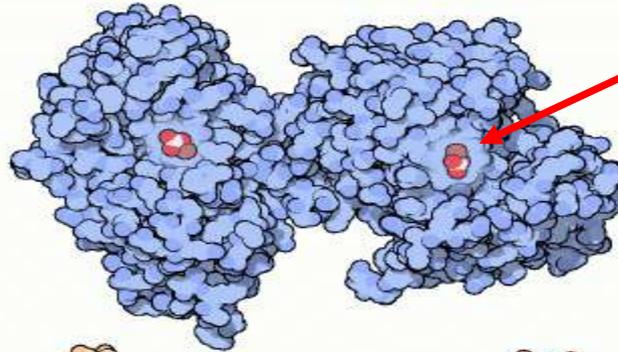
1957 Dr. Klaus Schwarz. Establece el Se como nutriente esencial en la nutrición animal

1973 Dr John Rotruck (Univ. Wisconsin) Demostró la incorporación de Se a GPx

1980 Requerimientos diarios 50-200 μg (Nat. Acad Sci. EEUU)

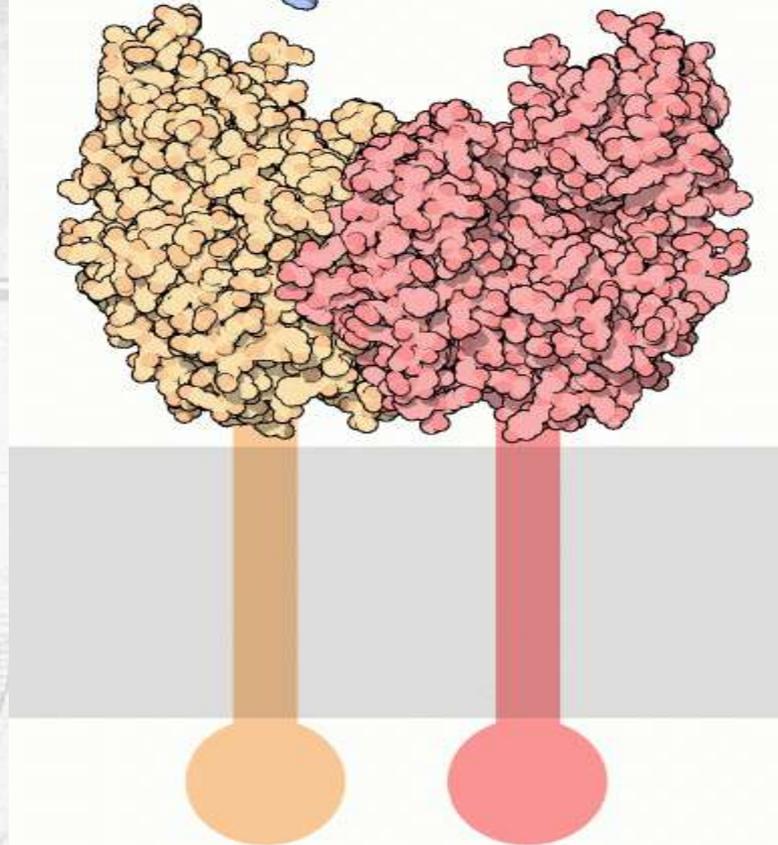
1989 Requerimientos diarios 75-55 μg

Transferrina



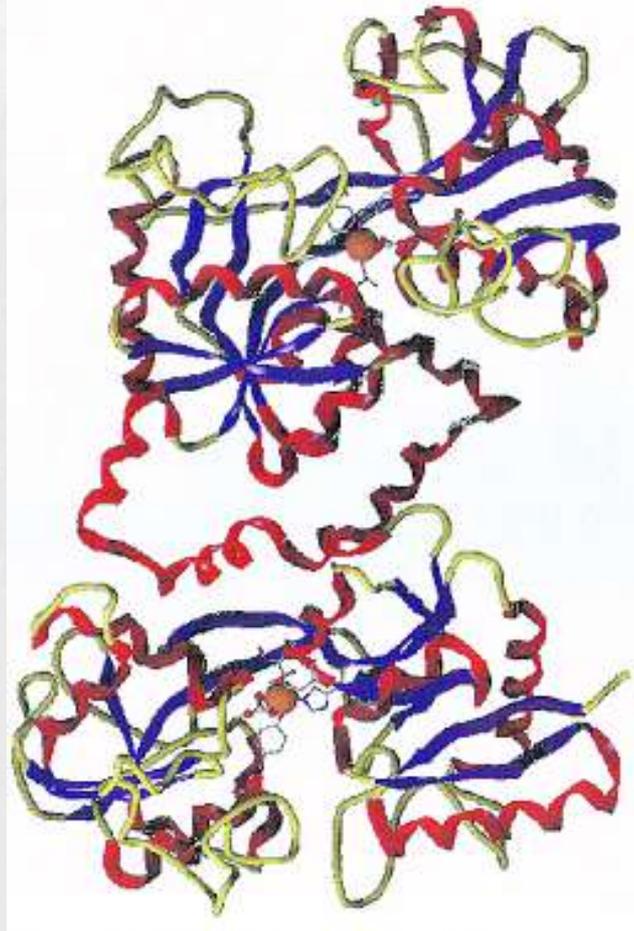
**Sitio de unión
del Fe**

**Receptor de la
transferrina
anclado en la
membrana**

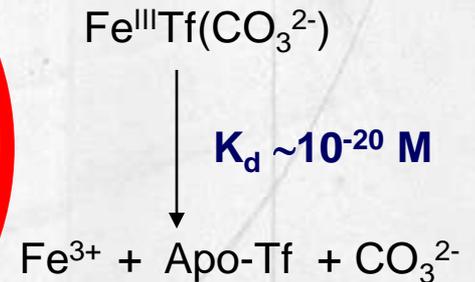
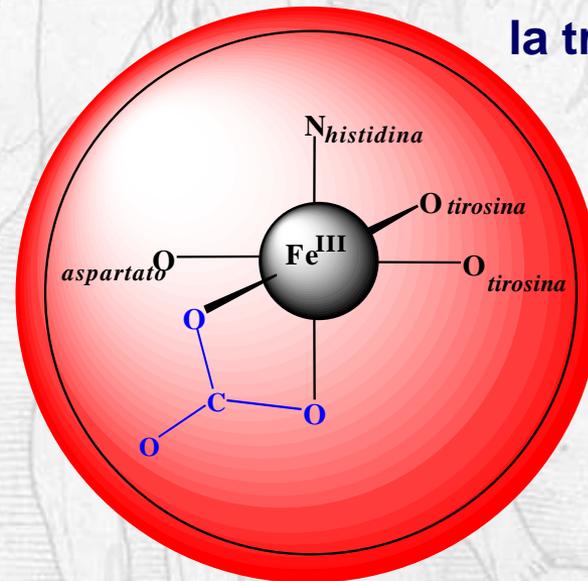


Secuestro de Fe por la transferrina

En el humano, la proteína transferrina mantiene secuestrado prácticamente todo el Fe extracelular debido a su extremadamente alta afinidad por este ion



Sitio de unión del Fe^{3+} a la transferrina humana



MECANISMOS ANTIOXIDANTES

ANTIOXIDANTES OBTENIDOS DE LA DIETA

Vitamina E

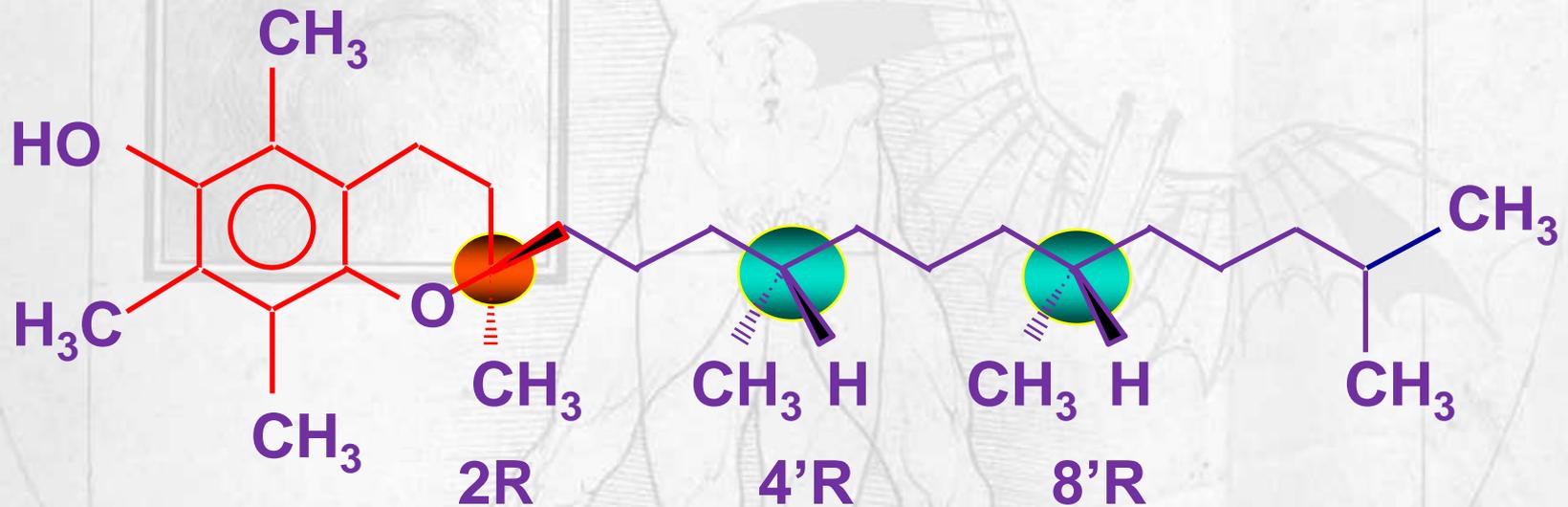
Descubierta en 1922 por Evans y Bishop al observarse que las ratas sometidas a una dieta que contenía solamente grasas purificadas, proteínas, carbohidratos y minerales presentaban problemas en la reproducción

En 1936 Evans et al. aislaron la vitamina pura y sugirieron el nombre de tocoferol, el cual se deriva del griego *tocos* (nacimiento) y *phero* (portar). En el 1938 ya se había hecho la caracterización de su estructura

La actividad biológica de la Vitamina E no se limita a un solo compuesto sino que es compartida por varios derivados del 2-metil-2-(4',8',12' trimetiltridecil)-6-cromanol, conocido como tocol. Estos compuestos pertenecen a dos series que difieren en el grado de insaturaciones en la cadena lateral fitil.

El α -tocoferol es el que presenta mayor actividad biológica y representa aproximadamente el 90% de todos los tocoferoles presentes en los tejidos de los mamíferos.

RRR- α -Tocoferol



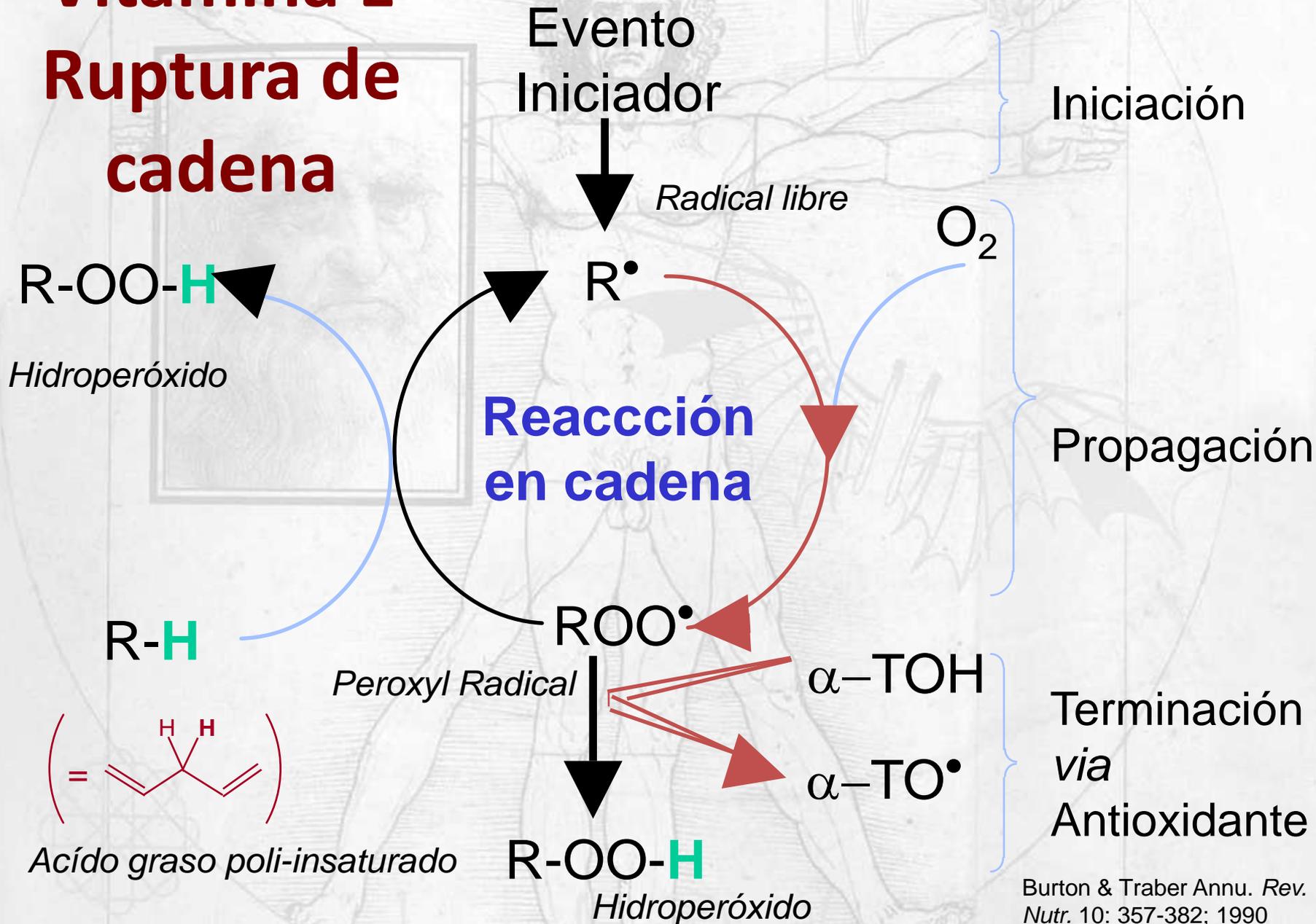
d- α -Tocoferol

Vitamina E en los alimentos

Alimento	mg/ 100 g	UI
Aceite de germen de trigo	119-118	177-191
Aceite de Girasol	49	73
Aceite de maíz	26	39
Aceite de oliva	13-22	19-32
Mayonesa	13	19
Germen de trigo	11	17
Cacahuete / maní	8,30	13
Espárragos	2	3
Espinaca fresca	1,8	2,7
Atún en aceite	1,7	2,6
Pollo frito	0,5	0,7
Camarón congelado	0,6	0,9

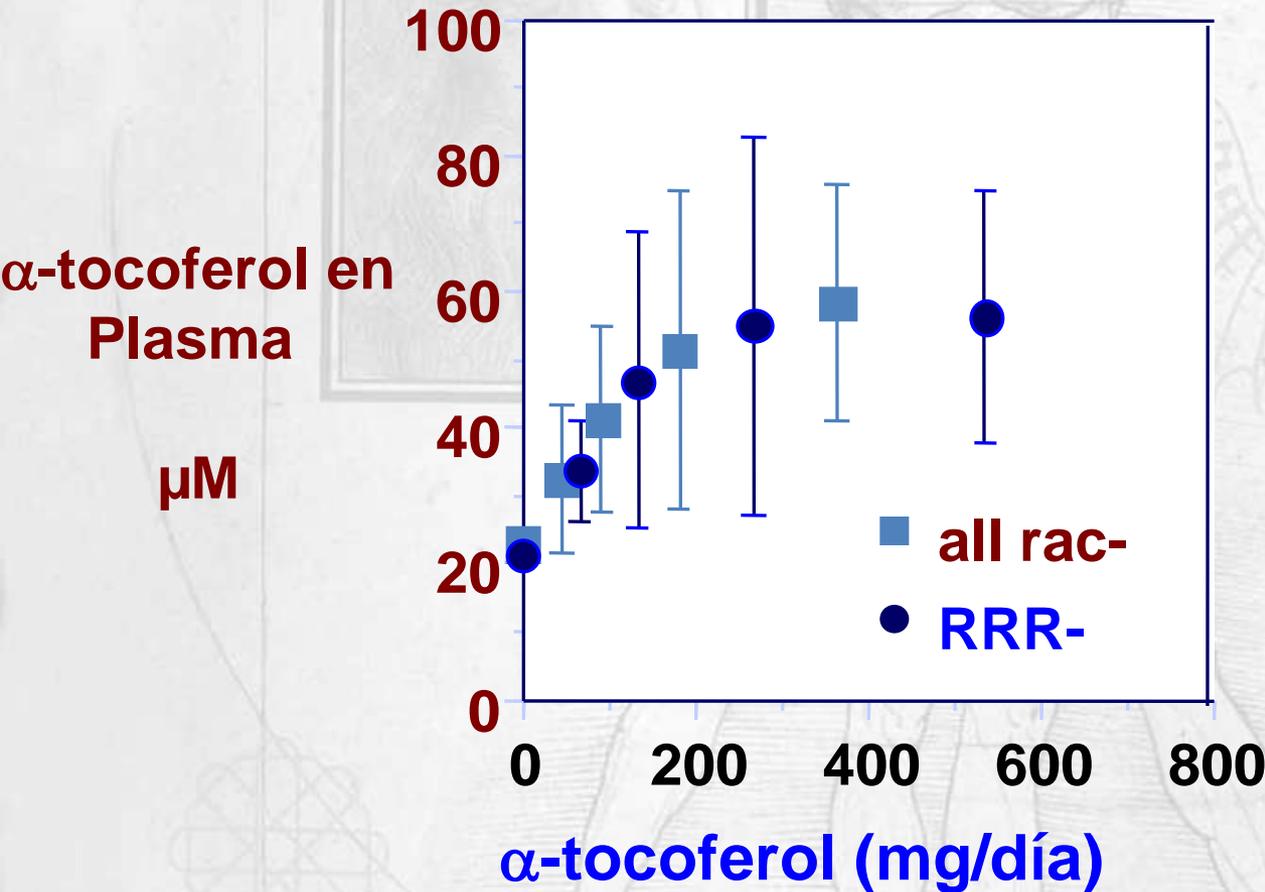
Vitamina E

Ruptura de cadena



Burton & Traber Annu. Rev. Nutr. 10: 357-382; 1990

α -Tocoferol en plasma en respuesta a la suplementación



α -tocoferol (α -T) y α -tocoferil acetato (α -TAC):
1 IU *RRR*- α -TAC entre 1,36 = mg *RRR*- α -TAC
1 IU *all rac* α -TAC entre 2 = mg *2R*- α -TAC

400 IU Vitamin E =
294 mg *RRR*- α -TAC
ó 268 mg *RRR*- α -T

200 mg *2R*- α -TAC
ó 182 mg *2R*- α -T

Devaraj *et al.* *Arterio Thromb Vasc Biol* 17:2273, 1997

MECANISMOS ANTIOXIDANTES

ANTIOXIDANTES OBTENIDOS DE LA DIETA

Citrus, Collagen, Cold

Vitamina C

1500 a.n.e se describen **estados carenciales**

(fatiga, inflamación bucal, caída de los dientes = escorbuto)

1700s Se descubre que **el jugo de cítricos previene** en los marinos el escorbuto

1932 Fue **crystalizada** y obtenida en forma pura a partir del jugo de limón por los bioquímicos norteamericanos C.G. King y W.A. Waugh

- Es el más potente antioxidante de fase acuosa presente en mamíferos
- Cumple una función muy importante en la regeneración del α -tocoferol.
- La ingestión de vitamina C se ha asociado a una disminución del riesgo de cáncer
- Los efectos a escala sistémica están relacionados con su actividad antioxidante e inmunoestimulante.



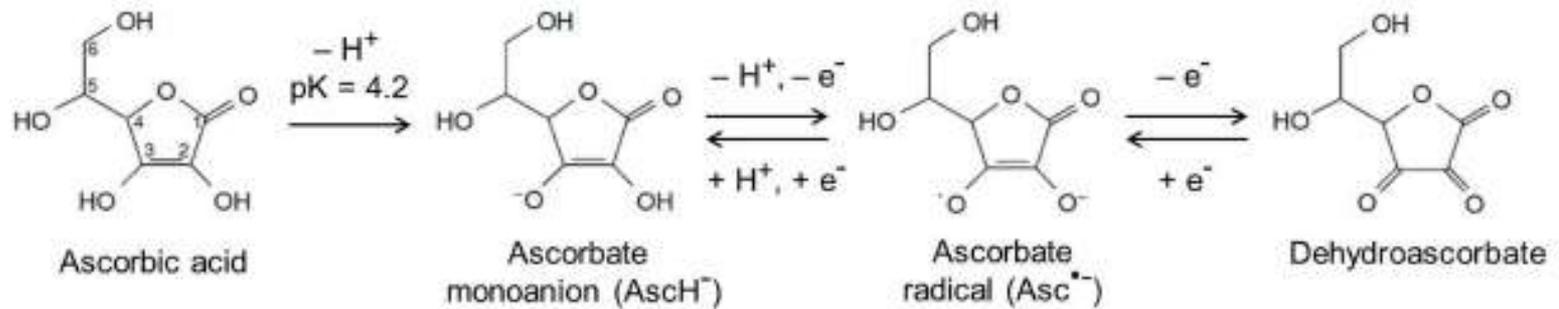
Vitamina C en los alimentos



Alimento	mg/ 100 g
Acerola / Cereza	1 300
Ají maturo	369
Brócoli	300
Guayaba	300
Fruta bomba / Papaya	168
Ají verde	130
Kiwi	100
Naranja	70
Freza	59
Limón	50
Toronja	40
Lima	37



El ácido ascórbico es un Di-ácido



A pH 7,4; 99,95% de la vitamina C estará presente como $AscH^-$; 0,05% como $AscH_2$ y 0,004% como Asc^{2-} . Así, las propiedades antioxidantes de la vitamina C se deben al $AscH^-$.

Ingesta de Vitamina C

DOSIS

0-10 mg

10-20 mg

35-50 mg

60 mg

80 mg

100-150 mg

Elevación de los Requerimientos

600-1200 mg

5 g

2-9 g

> 10 g

1 – 30 g (Oral) 3 -100 g (I.V.) Cáncer

OBSERVACIONES:

Riesgo de escorbuto, baja resistencia a las infecciones. Pequeñas hemorragias y hematomas. Disminuye la velocidad de cicatrización.

Previene el escorbuto.

Dosis en niños de hasta 14 años.

Dosis RDA

Embarazo

Lactancia ~ **200 mg** → **niveles plasmáticos óptimos ~70-80 µM**

Fiebre, Enfermedades Virales, Alcoholismo, Estrés emocional, Estrés ambiental (Pb, Hg, Cd, CO, Derivados del petróleo). Fumadores, Uso de corticoides, aspirina, sulfas, estrógenos en la menopausia, anticonceptivos orales.

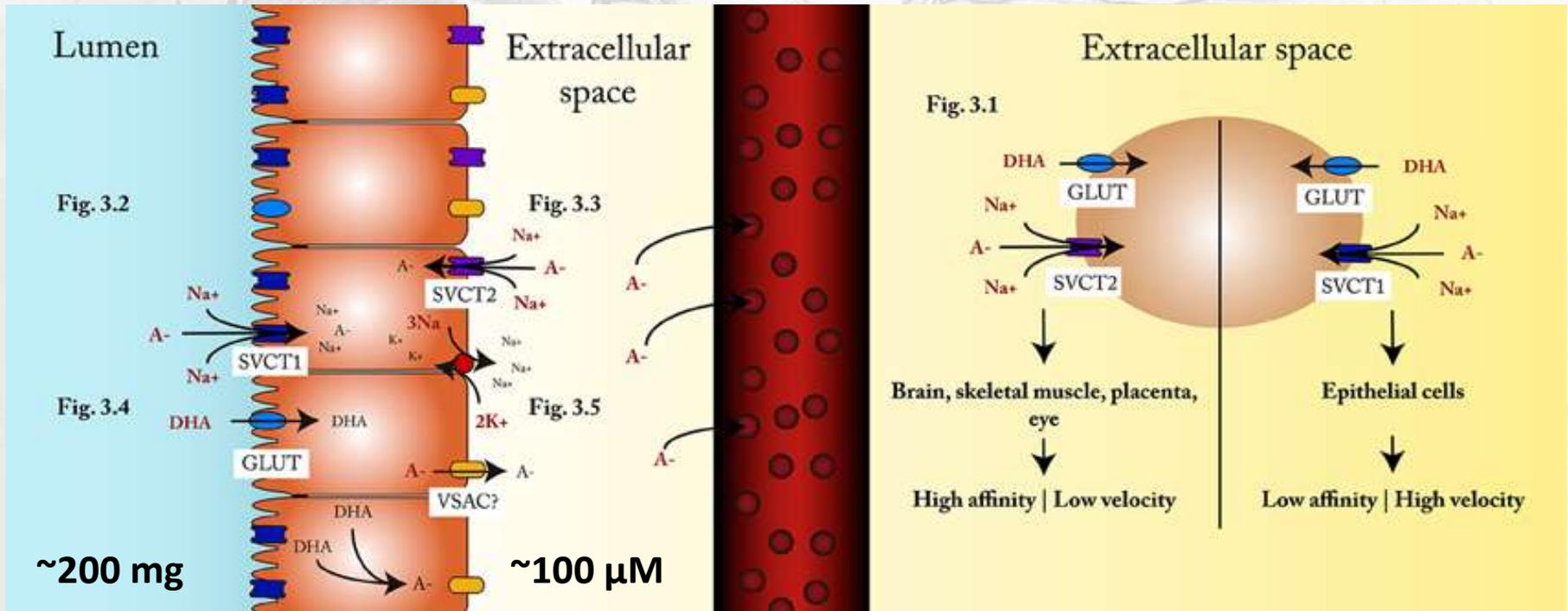
Estimado basado en la extrapolación de dietas vegetarianas

Elevación de la producción de interferón, acción antiviral

Dosis recomendada por Linus Pauling (Resfriados y Cáncer)

Signos tóxicos: Diarreas, Nauseas, Disuria, Sensibilización cutánea, hemólisis, Acumulación de cálculos de oxalato de Ca en los riñones, Pérdida de Cu.

Vitamin C Pharmacokinetic



SVCTs. Sodium Vitamin C Transporters

Almacenamiento / Refrigeración - Contenido de Vit. C

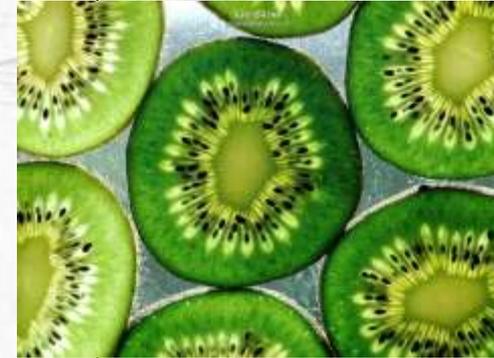
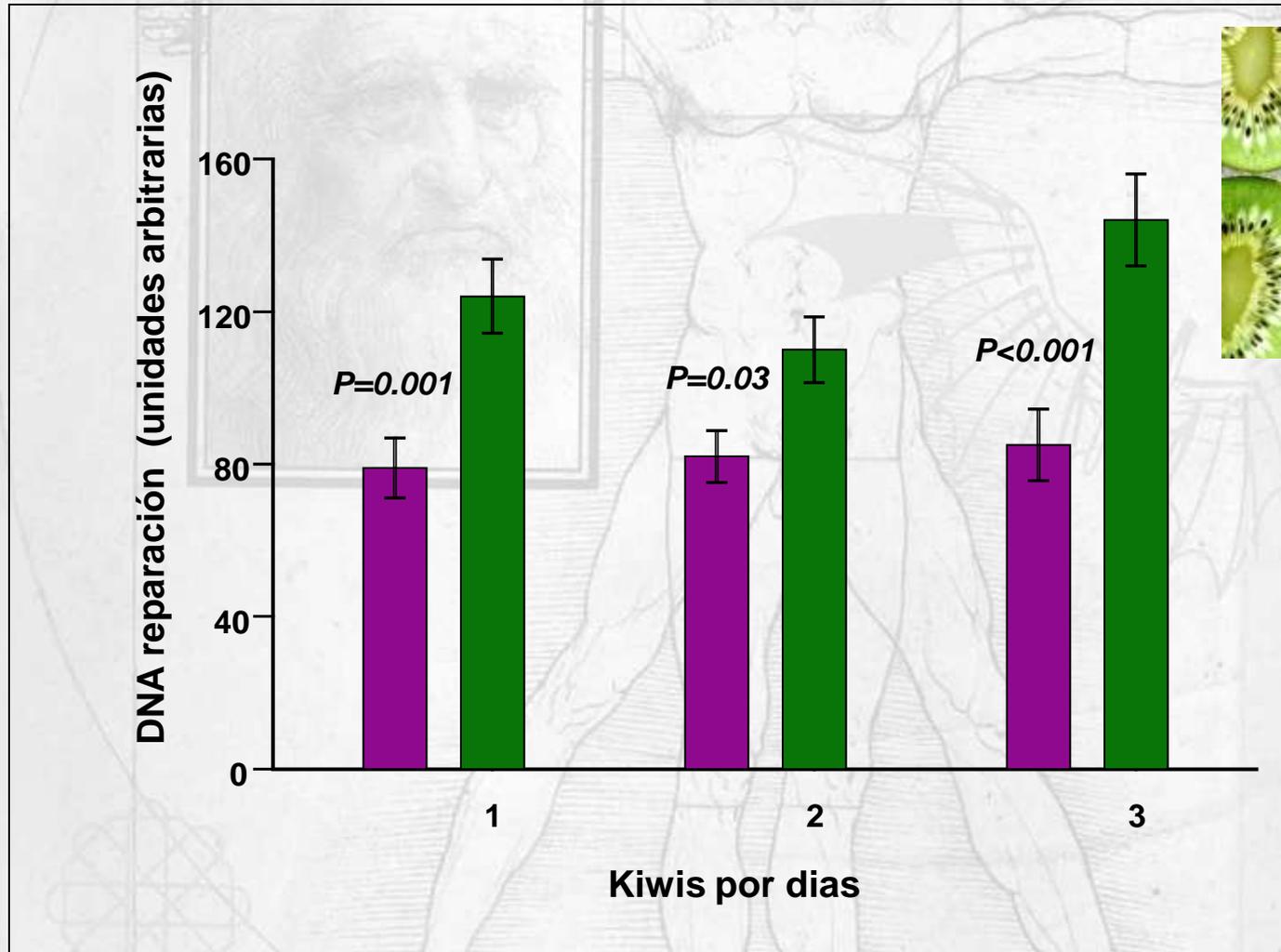
Vegetal		Cocido	Refrig. 1 d	Recalentado
Espárrago		86	82	66
Brócoli		88	68	60
Guisantes		88	52	43
Berza		73	44	33
Espinaca		52	48	32
Habas		83	41	29

Porcentaje de Vit. C en **Brocoli** cocido por varios métodos

Método	%
Frita	76
Micro-ondas, poca agua	75
Hervida, poca agua	74
Micro-ondas, abundante agua	56
Hervida, abundate agua	44



Esimulación de los mecanismos de reparación del ADN durante la suplementación con Kiwi



Preguntas



Contacte a:

Gregorio Martínez Sánchez, Pharm.D, Ph.D.

Investigador Titular

Director científico

Medical Center Beauty Benefit

gregorcuba @ yahoo.it



**Pere Borrell del Caso (1874)
Escapando del la Crítica**