



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

**ESTRÉS REDUCTOR – INVESTIGACIÓN
BIBLIOGRÁFICA**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**LICENCIADO EN BIOQUÍMICA
DIAGNÓSTICA**

PRESENTA:

JOSHUA LICONA GÓMEZ

ASESORA:

DRA. SOFIA PIÑA OLMOS

COASESORA:

DRA. PATRICIA RAMÍREZ NOGUERA

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO, 2022



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN

U.N.A.M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLÁN
ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE

ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA
Jefa del Departamento de Titulación
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: **Trabajo de Tesis y examen profesional**

Estrés reductor – Investigación bibliográfica

Que presenta el pasante: **Joshua Licona Gómez**

Con número de cuenta: **313246955** para obtener el título de: **Licenciado en Bioquímica Diagnóstica**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 24 de noviembre de 2021.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Q.F.B. Gabriela Escalante Reynoso	
VOCAL	Dra. Azucena Lee Mendoza	
SECRETARIO	Dra. Sofia Piña Olmos	
1er. SUPLENTE	Q.F.B. Nydia Berenice González Angeles	
2do. SUPLENTE	Dra. Dolores Molina Jasso	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

LMCF/cga*



DEDICATORIAS

Gracias, mamá, porque tu entusiasmo, ingenio y coraje te hacen la persona más singular que he conocido, alegras mi vida y alientas mis ganas de aprender.

Gracias, papá, porque tu fortaleza, esfuerzo y fe me inspiran constantemente; mi admiración por ti crece cada día más conforme entiendo tus enseñanzas.

A mis padres, por ser mi modelo a seguir; los amo y los llevaré siempre conmigo donde sea que este. Gracias por ayudarme a conseguir este logro.

A Shalom por haber sido mi compañera incondicional durante los últimos años. Gracias por tu amor y soporte, sigamos consiguiendo logros juntos que siempre estaré para apoyarte.

*“Nunca consideres el estudio como una obligación, sino
como una oportunidad para penetrar en el bello y
maravilloso mundo del saber”*

Albert Einstein



AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Patricia Ramírez Noguera por recibirme en su laboratorio dándome una cálida bienvenida, permitiéndome formar parte de su comunidad. Gracias por su confianza y atención.

A la Dra. Sofia Piña Olmos, quien fue mi mentora a lo largo de todo el proyecto, por hacerme sentir parte del laboratorio desde el inicio y por brindarme su asesoría, conocimientos y atención los cuales fueron fundamentales para alcanzar este logro académico. Gracias por el invaluable apoyo brindado tanto dentro como fuera del laboratorio.

A la Universidad Nacional Autónoma de México, pues gracias a la educación proporcionada por esta casa de estudios hoy puedo concluir una carrera universitaria que me permitirá unirme a las filas de los profesionistas que ayudan al desarrollo de México.

Al proyecto PAPIIT IN214321 titulado: *Estudio de la respuesta antioxidante inducida por nanopartículas de quitosán con glutatión en la osteoartritis, estudio in vitro e in vivo*, por apoyar este trabajo.



CONTENIDO

ÍNDICE DE FIGURAS	6
ABREVIATURAS.....	7
RESUMEN.....	9
I. INTRODUCCIÓN.....	10
II. OBJETIVOS.....	12
Objetivo general.....	12
Objetivos específicos	12
III. MARCO TEÓRICO	13
Capítulo I - Equilibrio redox.....	13
1.1 Pares redox.....	17
1.2 Otras moléculas de importancia	28
Capítulo II - Estrés redox.....	34
2.1 Estrés redox y regulación de la expresión génica	36
Capítulo III - Estrés reductor.....	42
3.1 Causas del estrés reductor	44
3.2 NADPH y estrés reductor.....	53
Capítulo IV - Enfermedades degenerativas asociadas a estrés reductor	57
4.1 Estrés reductor y salud cardíaca	57
4.2 Estrés reductor en la resistencia a la insulina asociada con síndrome metabólico.....	61
4.3 Estrés reductor y cáncer	62
Capítulo V – Antioxidantes.....	64
5.1 β -caroteno	65
5.2 N-acetilcisteína	65
5.3 Estrógenos	66
Capítulo VI – Antireductores.....	68
Capítulo VII - ¿Por qué es necesario estudiar el estrés reductor?.....	71
IV. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS.....	72
V. GLOSARIO	73
VI. REFERENCIAS	77



ÍNDICE DE FIGURAS

- **Figura 1.** Cadena transportadora de electrones (CTE) y fosforilación oxidativa mitocondrial (OXPHOS).....11
- **Figura 2.** Biosíntesis de palmitato.....12
- **Figura 3.** Sistemas redox.....13
- **Figura 4.** Estructura del NADH/NAD⁺.....15
- **Figura 5.** Estructura del NADPH.....15
- **Figura 6.** Lanzadera de malato-aspartato.....17
- **Figura 7.** Lanzadera de glicerol-3-fosfato.....18
- **Figura 8.** Fuentes metabólicas de NADPH y la lanzadera de NADPH.....19
- **Figura 9.** Fuentes metabólicas de NADH.....20
- **Figura 10.** Estructura del GSH/GSSG.....21
- **Figura 11.** Biosíntesis y distribución celular de GSH.....23
- **Figura 12.** S-glutationilación de proteínas.....25
- **Figura 13.** Oxidación de la metionina y su reducción por la metionina sulfóxido reductasa.....26
- **Figura 14.** Remoción de EROs por GPx1.....27
- **Figura 15.** Reacción de Fenton.....29
- **Figura 16.** Causas y consecuencias del estrés redox.....32
- **Figura 17.** CTE y transporte inverso de electrones.....41
- **Figura 18.** Vía de señalización RISK.....43
- **Figura 19.** Reacción catalizada por la nicotinamida transhidrogenasa (NNT) mitocondrial.....45
- **Figura 20.** Doble naturaleza del fumarato.....62



ABREVIATURAS

- **αMHC** Cadena pesada de la α-miosina.
- **AMPK** Proteína cinasa activada por AMP
- **CAP** Cardiomiopatía por agregación de proteínas.
- **CAT** Catalasa.
- **CSC** Células madre del cáncer (del inglés “cancer stem cells”).
- **CTE** Cadena transportadora de electrones.
- **DIC** Transportador de dicarboxilato.
- **eNOS** Óxido nítrico sintasa endotelial.
- **iNOS** Óxido nítrico sintasa inducible.
- **ERNs** Especies reactivas de nitrógeno.
- **EROs** Especies reactivas de oxígeno.
- **FCCP** Agente desacoplante “carbonilcianuro-p-trifluorometoxifenilhidrazona”.
- **GCL** Ligasa de glutamato-cisteína.
- **GCLC** Subunidad catalítica de la GCL.
- **GCLM** Subunidad modificadora de la GCL.
- **GPx** Glutación peroxidasa.
- **GSH** Glutación reducido.
- **GSSG** Glutación oxidado o glutación disulfuro.
- **ICFEi** Insuficiencia cardiaca con fracción de eyección incrementada.
- **ICFEp** Insuficiencia cardiaca con fracción de eyección preservada.
- **ICFEr** Insuficiencia cardiaca con fracción de eyección reducida.
- **I/R** Isquemia/Reperusión.
- **IR** Resistencia a la insulina o insulinoresistencia.
- **KGC** Transportador de α-KG.
- **LPO** Peroxidación lipídica o lipoperoxidación.
- **LPS** Lipopolisacárido.
- **MMI** Membrana mitocondrial interna.



- **mPTP** Poro de transición de permeabilidad mitocondrial.
- **Msr** Metionina sulfóxido reductasa.
- **MTP** Transición de la permeabilidad mitocondrial.
- **NAC** N-acetil-L-cisteína.
- **NAD** Nicotinamida adenina dinucleótido.
- **NADP** Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato.
- **NNT_w** NNT wild-type o silvestre.
- **NOX** NADPH oxidasas.
- **O₂^{•-}** Anión superóxido.
- **OXPHOS** Fosforilación oxidativa mitocondrial (del inglés “mitochondrial oxidative phosphorylation system”).
- **PARP** Poli-(ADP-ribosa)–polimerasa.
- **PN** Peroxinitrito.
- **Prx** Peroxirredoxina.
- **PSSG** Disulfuro proteína-glutación.
- **R120GCryAB** αβ-cristalina humana con intercambio de aminoácidos R-G en la posición 120.
- **ReBC** Capacidad amortiguadora redox (del inglés “redox buffer capacity”).
- **Sec** Selenocisteína.
- **SM** Síndrome metabólico.
- **SOD** Superóxido dismutasa.
- **Srx** Sulfirredoxina.
- **Trx** Tiorredoxina.
- **TR o TrxR** Tiorredoxina reductasa.
- **TTC** Transportador de tricarboxilato.
- **UPR^{ER}** Sistema de respuesta a proteínas desplegadas del retículo endoplásmico.
- **UQ** Ubiquinona.



RESUMEN

El estrés reductor es un fenómeno dinámico y complejo regulado por distintos mecanismos que lo retroalimentan y podría definirse como un aumento en los niveles de equivalentes reductores, que en primera instancia disminuye los niveles de EROs al estimular los sistemas antioxidantes pero que posteriormente estimula la generación de EROs y estrés oxidativo al propiciar la reducción del oxígeno. Dicho estrés reductor puede alterar la función mitocondrial, provocar un mal plegamiento de proteínas, propiciar la supervivencia de células cancerosas o incluso disminuir la sensibilización a la insulina y, por lo tanto, se le relaciona con varias enfermedades como la cardiomiopatía por agregación de proteínas, síndrome metabólico, diabetes, cáncer entre otras; de igual manera, al ser una fuente de estrés oxidativo, también se le asocia a las enfermedades que este conlleva. En este contexto, la presente revisión intenta difundir la relevancia del estrés redox y la importancia de su estudio, así como sintetizar los conocimientos actuales sobre éste, haciendo especial énfasis en los procesos que lo causan y mediante los cuales podría relacionarse a enfermedades degenerativas como cardiopatías, cancer y diabetes.

Adicionalmente, ya que los antioxidantes emergen como nuevos compuestos con potencial carácter tóxico, se destaca el rol de éstos, como causantes de estrés redox y de los antireductores, como terapéuticos en el tratamiento del estrés reductor.



I. INTRODUCCIÓN

El medio redox de una célula o tejido es provisto principalmente por el potencial oxidoreductor de los pares redox GSH/GSSG; NAD⁺/NADH y NADP⁺/NADPH. La cantidad de éstos determina un medio oxidante o reductor en la célula (Rajasekaran, 2020).

El término estrés oxidativo fue propuesto por Helmut Sies en 1985 y lo definió como una perturbación en el balance prooxidante-antioxidante en favor de los prooxidantes aumentando el potencial de daño oxidativo. Sin embargo, cuando los sistemas redox se ven afectados, las perturbaciones también pueden ocurrir en el sentido opuesto provocando que los antioxidantes sobrepasen la producción de oxidantes derivando en estrés reductor, una condición caracterizada por niveles anormalmente altos de especies reducidas dentro de un sistema biológico; dicho término fue usado por primera vez en 1987 por Albrecht Wendel, quien observó que la sobreproducción de NADH tiene significancia toxicológica (Lloret, 2016).

El estrés reductor se relaciona con condiciones de inhibición respiratoria y se refiere a situaciones en las cuales el estado redox (de las moléculas en una célula o compartimento subcelular) se desplaza a un estado reducido, debido por ejemplo, a una elevada cantidad de moléculas antioxidantes; este cambio en el estado redox provoca daño reductor, pues el exceso de equivalentes reductores altera la formación de enlaces disulfuro en las proteínas, reduce la función mitocondrial y disminuye el metabolismo celular. Interesantemente, el estrés reductor también puede estimular el daño oxidativo al promover la formación de especies reactivas de oxígeno (EROs), los mecanismos subyacentes a este fenómeno se comentarán más adelante (Kehrer, 2007; Pérez-Torres, 2017).

Aunque es innegable la importancia del estrés oxidativo; de acuerdo con Ghyczy y Boros, en la base de datos PubMed en 2001 existían 8597 citas de estrés oxidativo,



pero ninguna de estrés reductor. Y pese a que en la actualidad el estrés reductor ha cobrado mayor importancia, el panorama en cuanto a investigación sigue siendo escaso. Esto refleja la idea ampliamente difundida de que el estrés oxidativo es la fuente principal de radicales libres y que es, o debería ser susceptible de corrección mediante el uso de antioxidantes; una idea que nos ha hecho ignorar la posibilidad de que el estrés reductor probablemente no solo sea más común que el estrés oxidativo, sino que también podría ser la principal fuente de especies reactivas de oxígeno (Ghyczy, 2002). De hecho, se han asociado varias enfermedades degenerativas e inflamatorias con estados de hipoxia o de cociente NADH/NAD⁺ elevado lo cual sugiere que el estrés reductor también podría contribuir a su desarrollo, ejemplos de estas enfermedades incluyen la cardiomiopatía por agregación de proteínas, cardiomiopatía hipertrófica, distrofia muscular, hipertensión pulmonar, artritis reumatoide, cáncer, Alzheimer y síndrome metabólico entre otras (Lipinski, 2002; Pérez-Torres, 2017).

Es razonable creer que el estrés oxidativo es corregible con la ingesta de antioxidantes, incluso éstos son muy recomendados por la industria farmacéutica. Sin embargo, los suplementos antioxidantes no parecen ofrecer una protección suficiente contra el estrés oxidativo y por ende el daño oxidativo, tampoco parecen incrementar la esperanza de vida; de hecho, los resultados son diversos y se ha considerado que la terapia antioxidante podría aumentar la mortalidad (Poljsak, 2012).

Evidentemente para entender los procesos relacionados con el estrés reductor se requiere más investigación tanto básica como aplicada, así como el desarrollo de nuevos productos que permitan el tratamiento de sus padecimientos o mejor aún, que tengan características profilácticas, una posible solución a estas problemáticas son los antireductores, moléculas que previenen o inhiben la reducción de otro compuesto



al reducirse a sí mismas (Becker, 2016). En este contexto, Ghyczy y Boros, postulan que las biomoléculas con grupos metil electrofílicos (S-adenosilmetionina, betaína, carnitina, colina, glicerilfosforilcolina y fosfatidilcolina) son potenciales aceptores de electrones (antireductores) y, por tanto, podrían ser las principales defensas del organismo contra el estrés reductor (Ghyczy, 2001). Por lo que en un futuro estas biomoléculas podrían servir de modelo para el desarrollo de medicamentos con potencial terapéutico en el tratamiento de enfermedades relacionadas con el estrés reductor.

II. OBJETIVOS

Objetivo general

1. Realizar una actualización bibliográfica sobre el tema estrés reductor y su relación con algunas enfermedades degenerativas, mediante la revisión de literatura científica disponible en las bases de datos de consulta.

Objetivos específicos

1. Describir e integrar los procesos celulares mediante los cuales el estrés reductor se genera para comprender su importancia en el desarrollo de enfermedades degenerativas.
2. Difundir la información recopilada acerca del estrés reductor para incentivar y reconocer la importancia de su estudio en la comunidad científica.



III. MARCO TEÓRICO

Capítulo I - Equilibrio redox

La química de las reacciones redox es sencilla y está bien detallada. Específicamente, la reducción es definida como la adición de uno o más electrones a una molécula, mientras que la oxidación es definida como la remoción de uno o más electrones. Los principios de química básica dictan que el equilibrio entre oxidación y reducción es requerido en todas las reacciones químicas. Así, cuando una sustancia se oxida, otra debe reducirse (Kehrer, 2007).

En el contexto biológico, las células realizan la transferencia de los equivalentes de reducción (electrones, iones hidruro) desde agentes reductores hasta agentes oxidantes con ayuda de los pares redox, principalmente NAD^+/NADH , $\text{NADP}^+/\text{NADPH}$ y GSH/GSSG , esto con el fin de generar energía, sintetizar componentes celulares esenciales y ayudar en la neutralización enzimática o no enzimática de especies reactivas de oxígeno (EROs). Ejemplos de esto son el uso de NADH como donador de electrones para la fosforilación oxidativa mitocondrial (**figura 1**) y el de NADPH para la biosíntesis reductora de ácidos grasos (**figura 2**), y para el reciclaje de GSSG en GSH (**figura 3**) en los sistemas redox (Xiao, 2020).

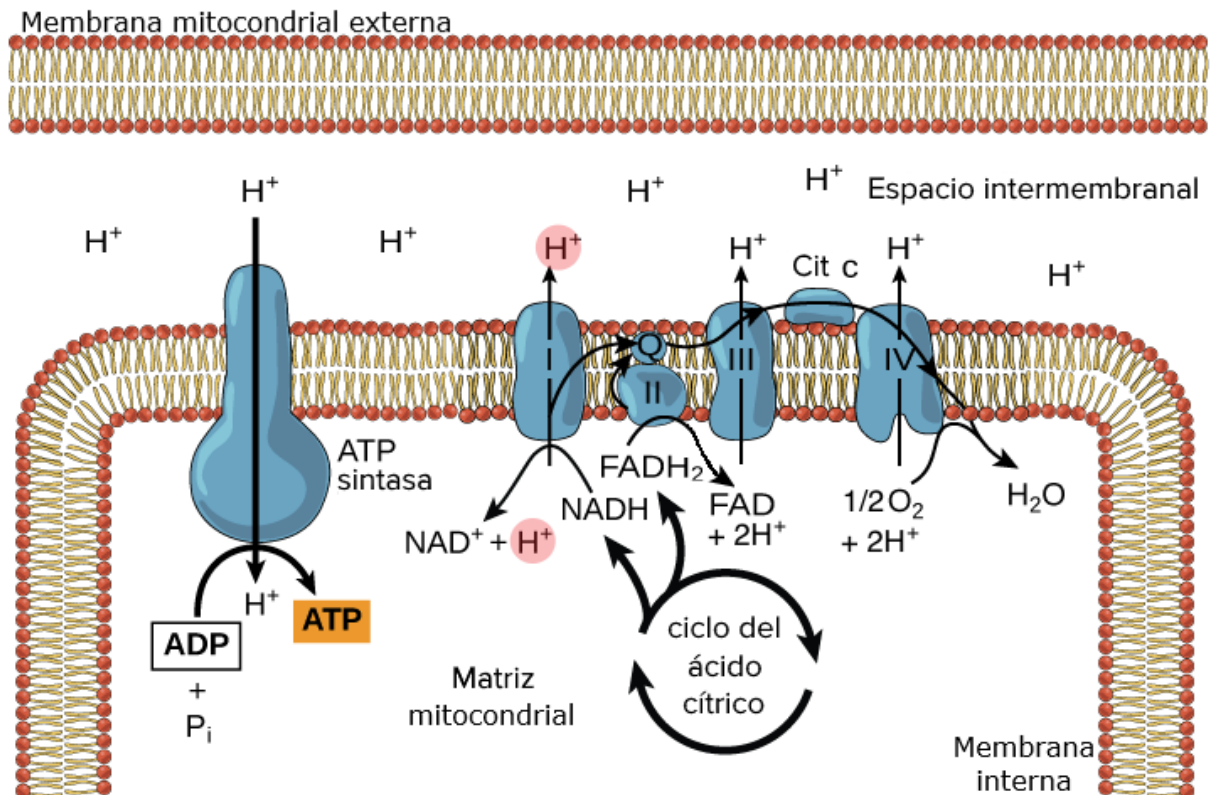


Figura 1. Cadena transportadora de electrones (CTE) y fosforilación oxidativa mitocondrial (OXPHOS). El NADH y el FADH₂ ceden sus electrones a los complejos I y II respectivamente, para que los complejos I, III y IV transporten H⁺ al espacio intermembranal, esto para generar un gradiente de concentración que estimule el reingreso de los H⁺ a la matriz mitocondrial a través de la ATP sintasa impulsando la fosforilación de ADP para la producción de energía. Cit c: citocromo c; Complejo I: NADH deshidrogenasa; Complejo II: succinato deshidrogenasa; Complejo III: citocromo bc₁; Complejo IV: citocromo oxidasa; P_i: fosfato inorgánico; Q: coenzima Q. Imagen modificada de: <https://bit.ly/3sl63uE> (Khan Academy, 2021).

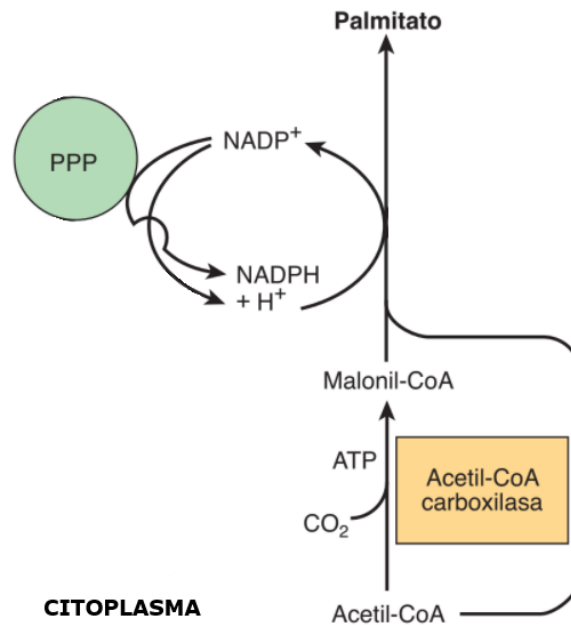


Figura 2. Biosíntesis de palmitato. El paso inicial consiste en la producción de malonil-CoA a partir de acetil-CoA en presencia de ATP, bicarbonato y la enzima acetil-CoA carboxilasa; posteriormente se realiza la síntesis del ácido graso usando el NADPH como fuente de equivalentes reductores, dicho NADPH procede principalmente de la vía de las pentosas fosfato. PPP: ruta de las pentosas fosfato. Imagen modificada de: Harper: Bioquímica ilustrada, 29e (Murray, R. K. et. al. 2013).

De especial importancia, es la neutralización de EROs la cual ocurre en las redes o sistemas redox. Estos sistemas se conforman de sustancias oxidantes y sustancias antioxidantes; los oxidantes celulares incluyen a las EROs, a las especies reactivas de nitrógeno (ERNs) y a sus derivados, los cuales son producidos principalmente por enzimas como las NADPH oxidasas (NOXs), sintasas de óxido nítrico (NOS) desacopladas o por la cadena de transporte de electrones en la mitocondria como subproductos funcionales. Mientras que los antioxidantes celulares encargados de contrarrestar a estos oxidantes incluyen a enzimas como las superóxido dismutasas (SOD1-3), catalasas, glutatión peroxidasas (GPx1-8), tioredoxinas (Trx1-2) y peroxirredoxinas (Prx1-6); y pequeñas moléculas no enzimáticas como glutatión (GSH), α -tocoferol y ascorbato (Xiao, 2020). Cabe destacar que, dentro de estos sistemas, el NADPH es una molécula clave que suministra con equivalentes reductores a los principales mecanismos de eliminación de H₂O₂ en la matriz



mitocondrial, dichos mecanismos son el de GSH/GPx3/GR y el de Prx3/Trx2/TR2. Aunque la catalasa también está presente en la matriz, tiene muy poca afinidad por el H_2O_2 ; por lo tanto, es poco probable que tenga una función importante cuando el H_2O_2 se encuentra en concentraciones micromolares. De tal modo, el poder antioxidante de la matriz se basa en un suministro adecuado de NADPH generado por la nicotinamida nucleótido transhidrogenasa (NNT), isocitrato deshidrogenasa (IDH) y enzima málica que mantienen la reserva de NADPH/NADP⁺ de la matriz reducida (Korge, 2015).

El funcionamiento de los sistemas redox y el papel de los pares NADP⁺/NADPH y GSH/GSSG dentro de los mismos se detalla en la figura 3.

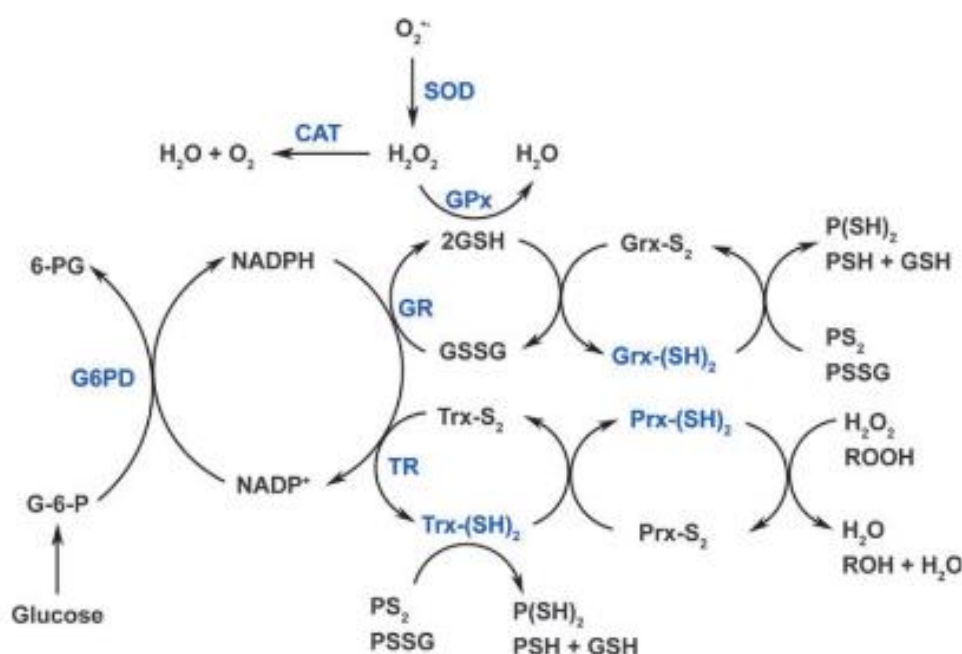


Figura 3. *Sistemas redox.* Los principales oxidantes celulares incluyen al $\text{O}_2^{\cdot -}$ y al H_2O_2 los cuales son generados por enzimas o por la respiración mitocondrial. Las SODs catalizan la conversión de $\text{O}_2^{\cdot -}$ a H_2O_2 dentro de la mitocondria (dismutación), el cual a su vez es reducido a H_2O por la catalasa o por las GPx a través de la oxidación de dos moléculas de GSH a GSSG, posteriormente las moléculas de GSSG se reciclan nuevamente a 2GSH por acción de la enzima GR usando NADPH como donador de electrones. El GSH también es usado por las Grx-(SH)₂ para reducir disulfuros intra/inter proteínicos (PS₂ o PSSG) a grupos sulfhidrilo (P(SH)₂ o PSH + GSH), este proceso también pueden realizarlo las Trx-(SH)₂ en ausencia de GSH, igualmente el proceso inverso puede ser realizado por la GST o de manera espontánea. En cuanto a las Prxs, éstas extraen electrones de las Trx-(SH)₂ para reducir H_2O_2 o ROOH a H_2O y ROH respectivamente; posteriormente las Trx-S₂ se reciclan por acción de la TR usando NADPH como donador de electrones (obtenido previamente por la G6PD en la PPP). 6-PG: 6-



fosfogluconato; CAT: catalasa; G-6-P: glucosa-6-fosfato; G6PD: glucosa-6-fosfato deshidrogenasa; GPxs: glutatión peroxidasa; GR: glutatión reductasa; Grx-(SH)₂: glutarredoxina reducida; Grx-S₂: glutarredoxina oxidada; GSH: glutatión; GSSG: glutatión disulfuro; GST: glutatión-S-transferasa; O₂^{•-}: anión superóxido; PPP: ruta de las pentosas fosfato; Prx-(SH)₂: peroxirredoxina reducida; PS₂: disulfuro proteína-proteína; PSSG: disulfuro proteína-glutatión o proteína S-glutationilada; ROH: alcoholes; ROOH: hidroperóxidos orgánicos; SODs: superóxido dismutasas; TR: tiorredoxina reductasa; Trx-(SH)₂: tiorredoxina reducida (Xiao, 2020).

Cuando el equilibrio entre la producción de EROs y los sistemas antioxidantes (enzimáticos y no enzimáticos) está presente, el organismo se encuentra en equilibrio redox, el cual es esencial para muchos procesos biológicos y para la homeostasis celular y mitocondrial, pues al mantener niveles adecuados de EROs, permite que éstas funcionen como moléculas de señalización. Acorde a esto, el término homeostasis mitocondrial se refiere a como bajas dosis de EROs mitocondriales producidas por la cadena transportadora de electrones (CTE) pueden activar la capacidad antioxidante con la finalidad de contrarrestar el estrés oxidativo y restablecer la homeostasis (Pérez-Torres, 2017). Tal es el caso del óxido nítrico (NO), el radical [•]NO y el H₂O₂, los dos primeros pueden actuar como moléculas mensajeras contribuyendo a la vasodilatación, proliferación y promoción o inhibición de la apoptosis y necrosis celular programada y espontánea, mientras que el H₂O₂ puede activar por lo menos 40 productos génicos (ARN y proteínas), así como promover la apoptosis (Pérez-Torres, 2017).

1.1 Pares redox

NAD⁺/NADH y NADP⁺/NADPH

La Nicotinamida adenina dinucleótido (NAD) es una coenzima redox ubicua formada por 2 nucleótidos vinculados por sus grupos fosfato, un nucleótido contiene una base adenina mientras que el otro contiene nicotinamida (**figura 4**).

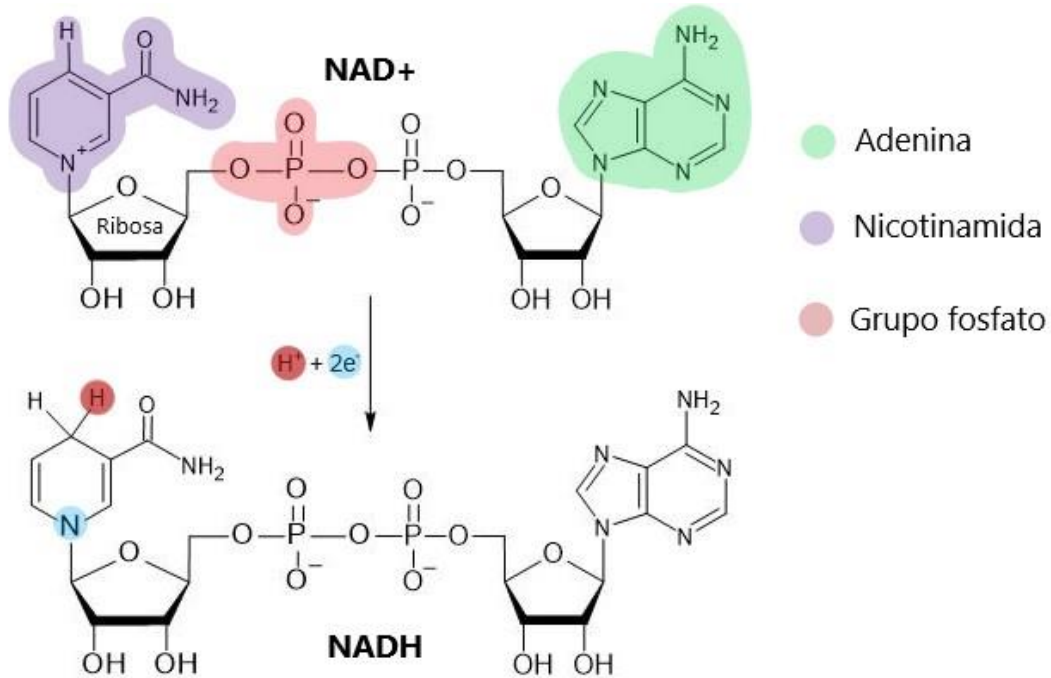


Figura 4. Estructura del NADH/NAD⁺.

El NAD puede ser sintetizado usando triptófano o ácido aspártico, o puede ser tomado de la vitamina niacina (B3). También puede ser transformado en NADP (figura 5) con la adición de un grupo fosfato en el anillo de ribosa (Pérez-Torres, 2017).

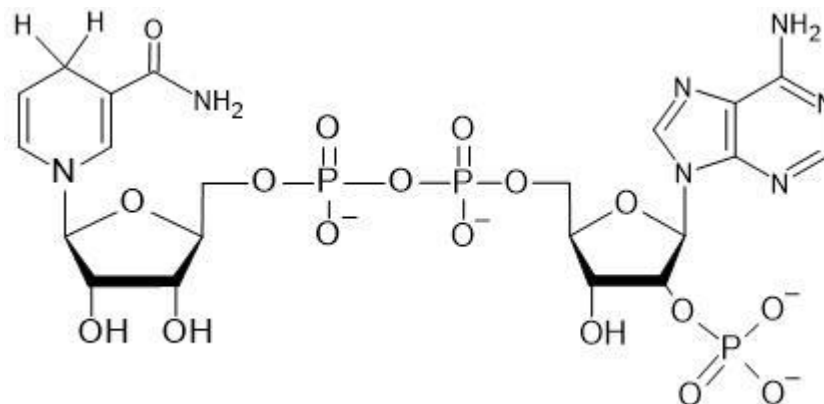


Figura 5. Estructura del NADPH.

Al poseer una estructura similar, el NAD y el NADP funcionan como transportadores de iones hidruro (H^-), sin embargo, ambas moléculas cumplen diferentes funciones en el metabolismo. El par NAD⁺/NADH se usa principalmente para reacciones de oxidación en el catabolismo, como la síntesis de aldehídos y cetonas a partir de



alcoholes o la síntesis de ácidos orgánicos a partir de aldehídos y por tanto está involucrado en la generación de ATP. Mientras que el par $\text{NADP}^+/\text{NADPH}$ funciona como un agente reductor en procesos anabólicos o de biosíntesis; por ejemplo, en la formación de enlaces saturados a partir de dobles enlaces y por lo tanto está involucrado en el gasto de ATP (Peretó, 2011).

Los conjuntos de NAD y NADP se encuentran bien seccionados debido a la localización específica de las enzimas que los biosintetizan y a la permeabilidad de las membranas frente a ellos. Por ejemplo, la nicotinamida mononucleótido adenilil transferasa mitocondrial (NMNAT) y la NAD cinasa mitocondrial (NADK) llevan a cabo la síntesis de NAD^+ y NADP^+ en la mitocondria respectivamente, y a pesar de que el NADP^+ puede difundir a través de la membrana nuclear fácilmente, ninguno de estos dinucleótidos puede difundir a través de la membrana mitocondrial interna (Xiao, 2020). Otro ejemplo es el del NADH citosólico, el cual puede difundir libremente a través de los poros de la membrana mitocondrial externa; sin embargo, es incapaz de atravesar la membrana interna; dadas estas circunstancias los grupos de NADH y NADPH generalmente funcionan en sus respectivos compartimentos. Sin embargo, cuando es necesario, éstos pueden realizar intercambios de equivalentes reductores entre sí usando mecanismos de tipo lanzadera para mantener las condiciones redox y las funciones redox-dependientes (Xiao, 2020). Ejemplos de estos mecanismos son las lanzaderas de malato/aspartato y de glicerol-3-fosfato para el transporte de equivalentes de NADH (**figuras 6 y 7**), y la de isocitrato- α -cetoglutarato para el transporte de equivalentes de NADPH (**figura 8**), adicionalmente, las fuentes metabólicas de NADH y NADPH se muestran en las figuras 8 y 9.

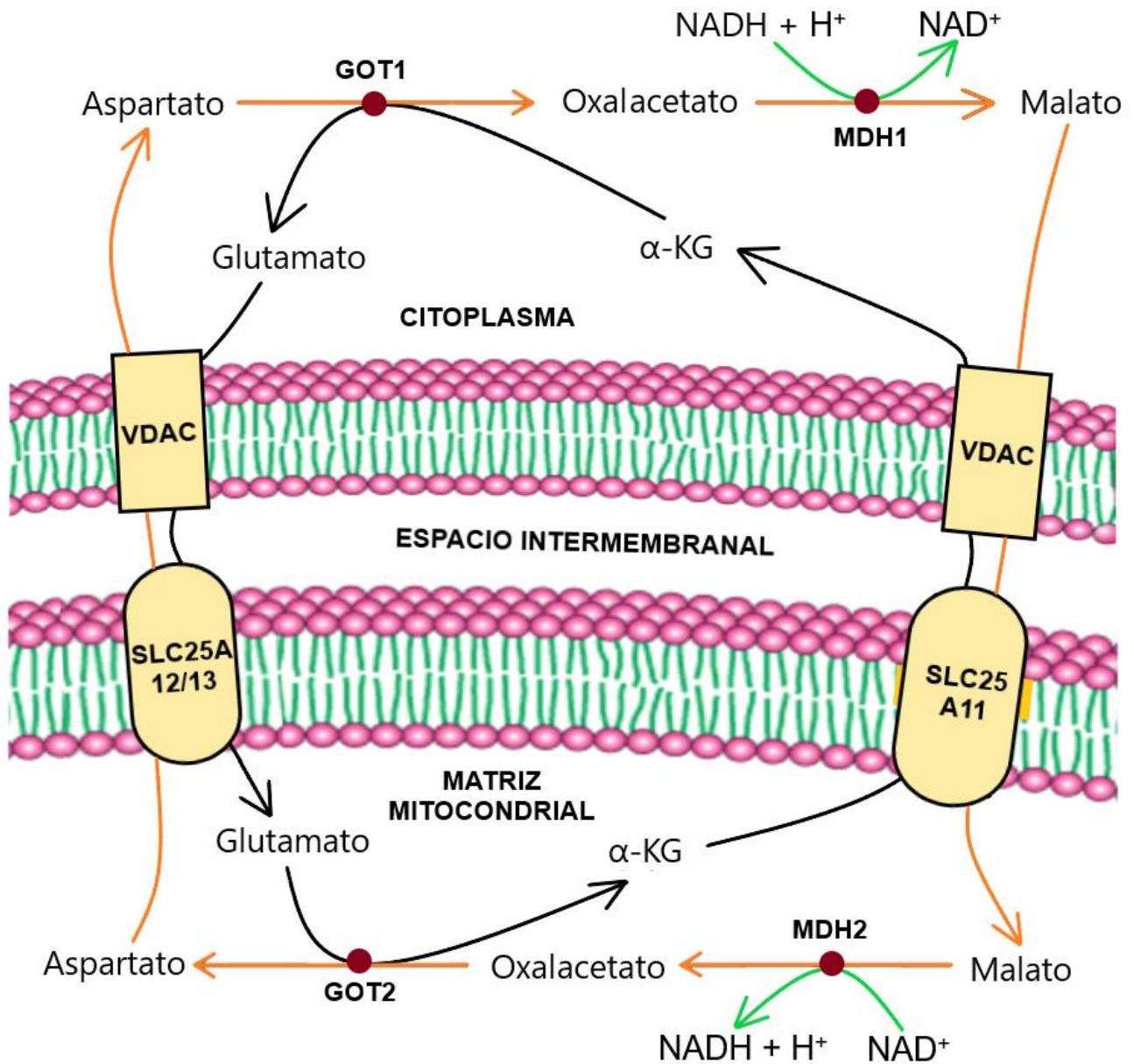


Figura 6. Lanzadera de malato-aspartato. La lanzadera de malato/aspartato intercambia equivalentes de reducción del NADH citosólico con el NADH mitocondrial para mantener altos niveles de NAD⁺ en el citosol, los cuales son necesarios para la glucólisis; y altos niveles de NADH en la mitocondria, los cuales proveen electrones para la OXPHOS mitocondrial. α -KG: α -cetoglutarato; GOT1: aspartato aminotransferasa citoplásmica; GOT2: aspartato aminotransferasa mitocondrial; MDH1: malato deshidrogenasa citoplásmica; MDH2: malato deshidrogenasa mitocondrial; SLC25A11: transportador mitocondrial de malato/2-oxoglutarato; SLC25A12: transportador mitocondrial de aspartato glutamato 1; SLC25A13: transportador mitocondrial de aspartato glutamato 2; VDAC: porina de la membrana mitocondrial externa.

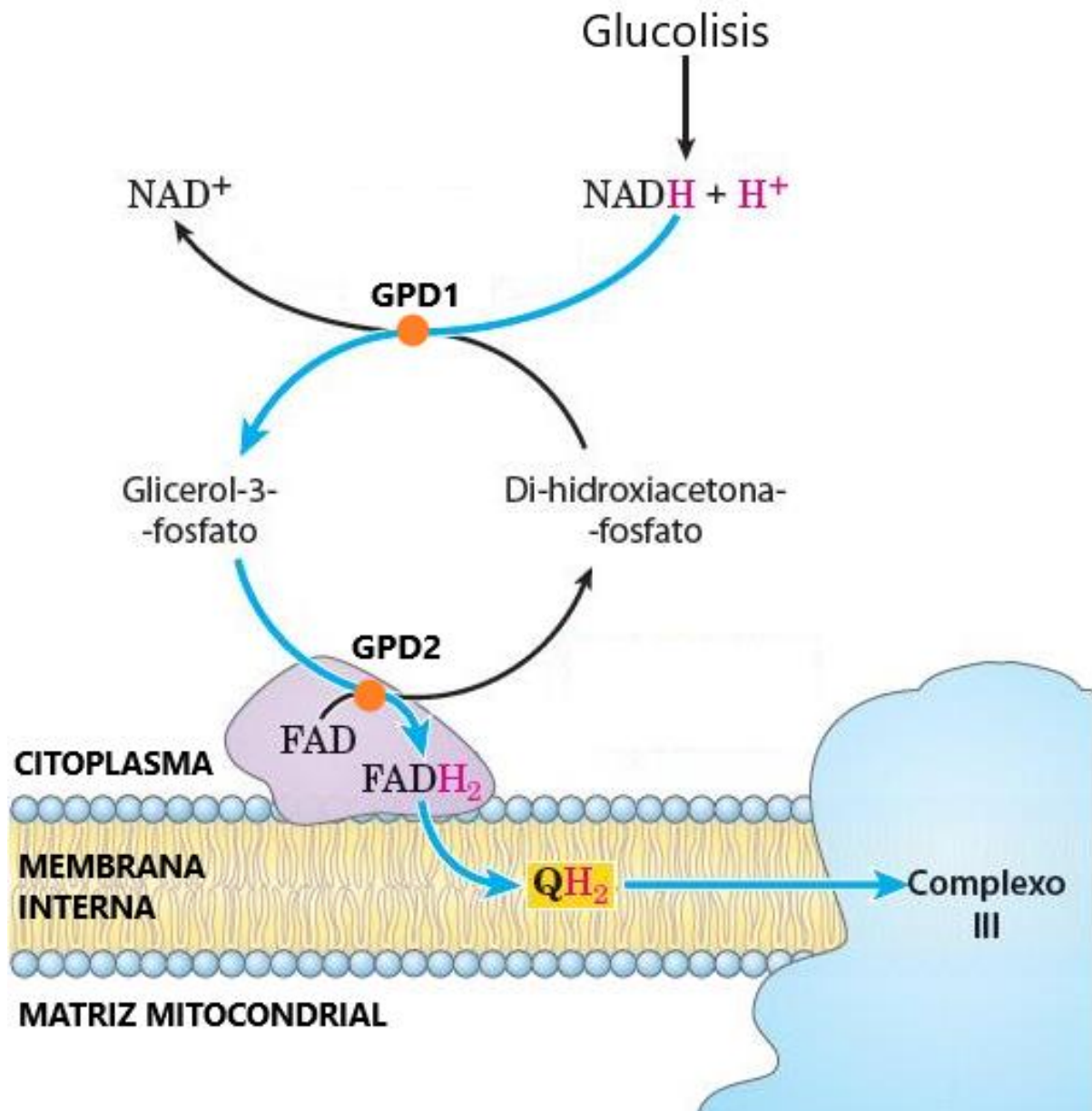


Figura 7. Lanzadera de glicerol-3-fosfato. La lanzadera de glicerol-3-P entrega los electrones al FAD por lo que su rendimiento energético es menor, éstos son entregados posteriormente al complejo III de la cadena transportadora de electrones. GPD1: glicerol-3-fosfato deshidrogenasa citosólica; GPD2: glicerol-3-fosfato deshidrogenasa mitocondrial. Imagen modificada de: Lehninger: Principios de bioquímica, 6e. (Nelson, D. *et. al.* 2013).

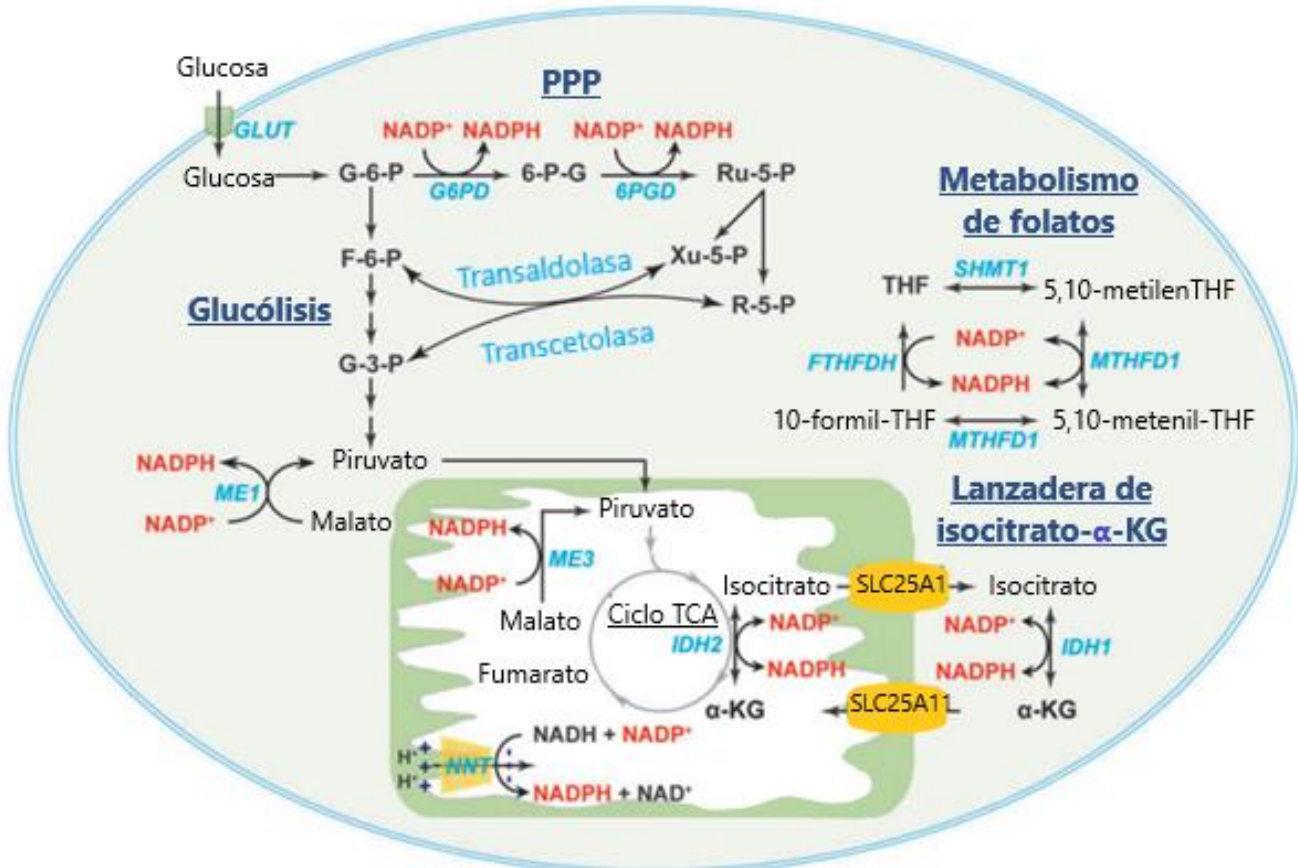


Figura 8. Fuentes metabólicas de NADPH y la lanzadera de NADPH. En el citosol, el NADPH es producido primariamente por la G6PD y por el 6PGD en la PPP, donde los productos R-5-P y Xu-5-P pueden ser desviados hacia la glucólisis por la transaldolasa y la transcetolasa. ME1 e IDH1 también contribuyen a la producción citosólica de NADPH. Adicionalmente dos enzimas en el metabolismo de folatos, MTHFD1 y FTHFDH, también son fuentes de NADPH citosólico. El NADPH mitocondrial es generado por la IDH2, la NNT y ME3. Los conjuntos de NADPH mitocondrial y citosólico son intercambiados a través de la lanzadera de isocitrato- α -cetoglutarato, donde el IDH1 citosólico y el IDH2 mitocondrial catalizan la interconversión de isocitrato y α -cetoglutarato en conjunto con la interconversión de NADP⁺ y NADPH. La proteína transportadora de citrato (codificada por el gen SLC25A1) y la proteína de antiporte α -KG/malato (codificada por el gen SLC25A11) median el transporte de isocitrato y de α -KG entre el citosol y la mitocondria respectivamente. α -KG: α -cetoglutarato; 6-P-G: 6-fosfogluconato; 6PGD: 6-fosfogluconato deshidrogenasa; F-6-P: fructosa-6-fosfato; FTHFDH: 10-formil-tetrahidrofolato deshidrogenasa; G-3-P: gliceraldehido-3-fosfato; G6PD: glucosa-6-fosfato deshidrogenasa; GLUT: Transportador de glucosa; IDH: isocitrato deshidrogenasa; ME: enzima málica; MTHFD: metilen-tetrahidrofolato deshidrogenasa; NNT: nicotinamida nucleótido transhidrogenasa; PPP: ruta de las pentosas fosfato; R-5-P: ribosa-5-fosfato; Ru-5-P: ribulosa-5-fosfato; SCL25A1: proteína transportadora de citrato; SCL25A11: proteína de antiporte α -KG/malato; SHMT: serin hidroximetiltransferasa; THF: tetrahidrofolato; Xu-5-P: xilulosa-5-fosfato. Imagen modificada (Xiao, 2020).

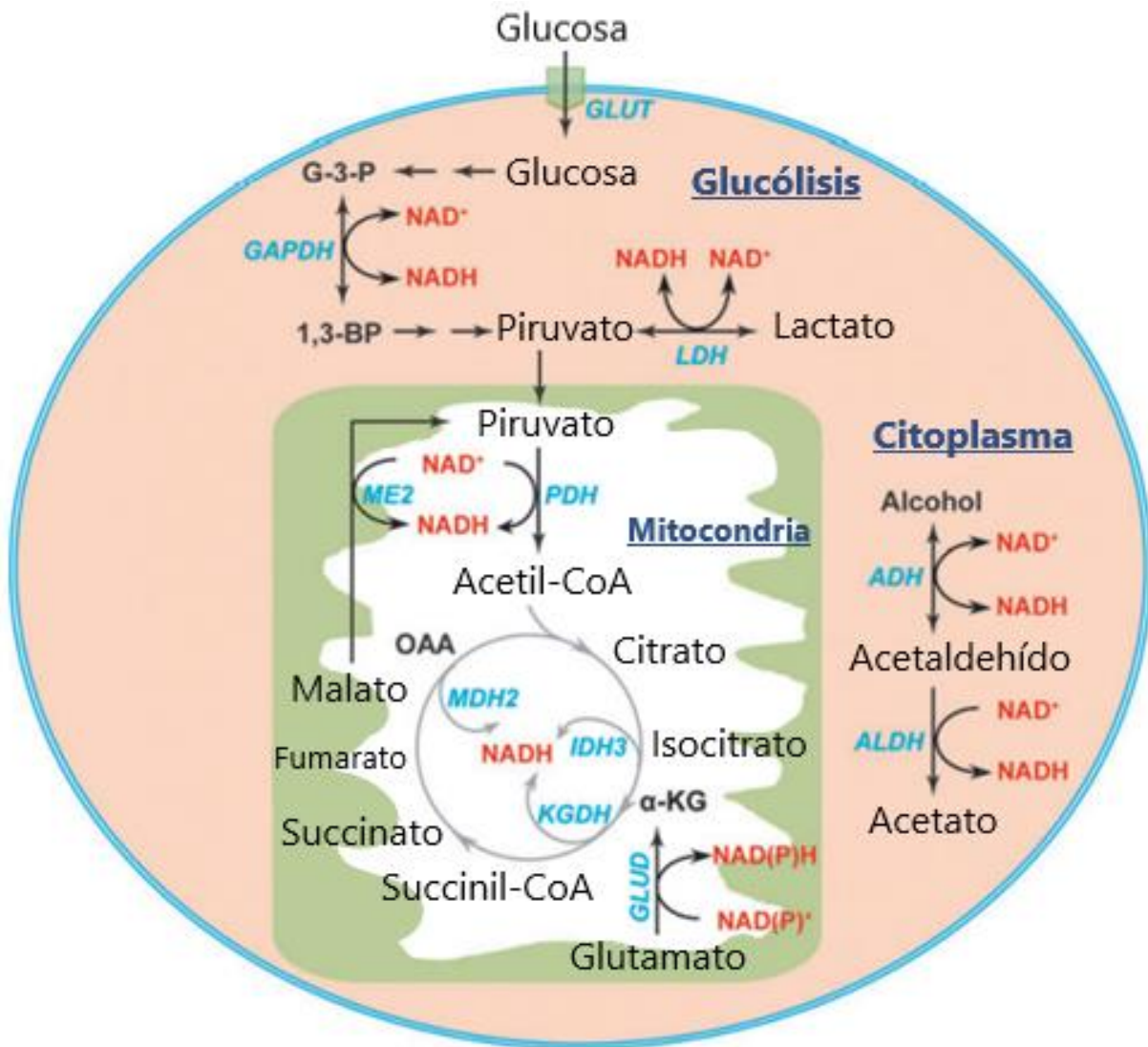


Figura 9. Fuentes metabólicas de NADH. En el citosol, la interconversión de NAD⁺ y NADH es mediada por dos enzimas GAPDH, LDH y por las enzimas del metabolismo del alcohol ADH y ALDH. En la matriz mitocondrial las enzimas del ciclo de Krebs (IDH3, KGDH, MDH2) y las enzimas PDH, ME2 y GLUD contribuyen a la producción de NADH. 1,3-BP: 1,3-bifosfoglicerato; α-KG: α-cetoglutarato; ADH: alcohol deshidrogenasa; ALDH: aldehído deshidrogenasa; G-3-P: gliceraldehído-3-fosfato; GAPDH: gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa; GLUD: glutamato deshidrogenasa; GLUT: transportador de glucosa; IDH: isocitrato deshidrogenasa; KGDH: α-cetoglutarato deshidrogenasa; LDH: lactato deshidrogenasa; MDH: malato deshidrogenasa; ME: enzima málica; OAA: oxalacetato; PDH: piruvato deshidrogenasa. Imagen modificada (Xiao, 2020).

GSH/GSSG

El GSH es un péptido de bajo peso molecular formado por los aminoácidos glutamato, cisteína y glicina usado ampliamente como un indicador del estado redox celular (**figura 10**). Es sintetizado por las enzimas γ-glutamil-cisteína sintasa y GSH sintasa



(figura 11) y al ser oxidado durante los procesos de detoxificación celular apoya en la remoción de H_2O_2 mediante las GPx's (figura 3), igualmente puede regenerarse mediante su reducción por la glutatión reductasa (figura 3) (Pérez-Torres, 2017). Cabe destacar, que el GSH también desempeña un papel importante en la modulación de las señalizaciones redox durante el ciclo celular y en procesos asociados a la detoxificación de xenobióticos y sus metabolitos (Xiao, 2020).

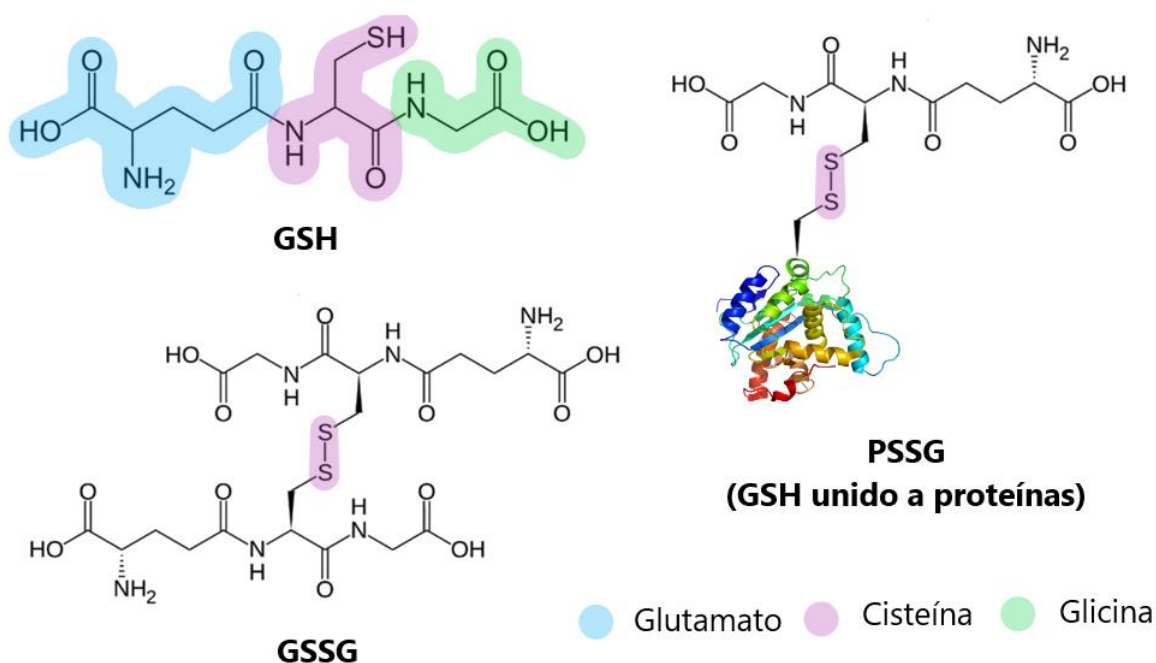


Figura 10. Estructura del GSH/GSSG. El GSSG se conforma de dos moléculas de GSH que al oxidarse se unen con un puente disulfuro; el glutatión (GSH) también puede encontrarse unido a proteínas a través de sus residuos de cisteína formando puentes disulfuro (PSSG).

El par GSH/GSSG es el principal amortiguador redox de las células debido a sus altas concentraciones en comparación con otros pares (Pérez-Torres, 2017). Y se distribuye en distintos compartimentos, estando la mayoría (>80%) en el citosol, 10%-15% dentro de la mitocondria, 5%-10% en el núcleo y una porción mínima en el retículo endoplasmático (Xiao, 2020). En el citosol, la proporción GSH/GSSG va de 30:1 a 100:1. En el retículo endoplasmático la proporción es de 1:1 a 3:1 y en la mitocondria, es de 20:1 a 40:1 (figura 11) (Pérez-Torres, 2017). Encontrándose la



forma reducida en mayor proporción respecto a la oxidada (GSH>98%) (Xiao, 2020). Cabe destacar que de todo el glutatión presente en la célula solo el 15% está unido a proteínas a través de su grupo activo -SH del residuo de cisteína (reacciona formando puentes disulfuro), mientras que el resto se encuentra de manera libre (Pérez-Torres, 2017).

Es notable que el GSH citosólico también puede intercambiarse entre los compartimentos intracelulares, siendo este un proceso esencial para la defensa oxidativa, ya que la mitocondria no puede sintetizar GSH y al ser una molécula cargada negativamente puede difundir libremente por la membrana mitocondrial externa, pero presenta dificultades para atravesar la membrana interna, por lo que la relocalización del GSH citosólico a la mitocondria requiere de transportadores específicos (Denzoin, 2013; Xiao, 2020). El importe a la mitocondria se realiza a través de los transportadores 2-oxoglutarato (KGC) y dicarboxilato (DIC), el primero incorpora GSH dentro de la mitocondria por intercambio de fosfato inorgánico y el segundo por intercambio de 2-oxoglutarato, lo que permite aumentar la disponibilidad de GSH para las peroxidasas mitocondriales afectando así los niveles de H₂O₂ (Denzoin, 2013; Pérez-Torres, 2017). También se puede importar el GSH usando el transportador de tricarboxilato (**figura 11**).

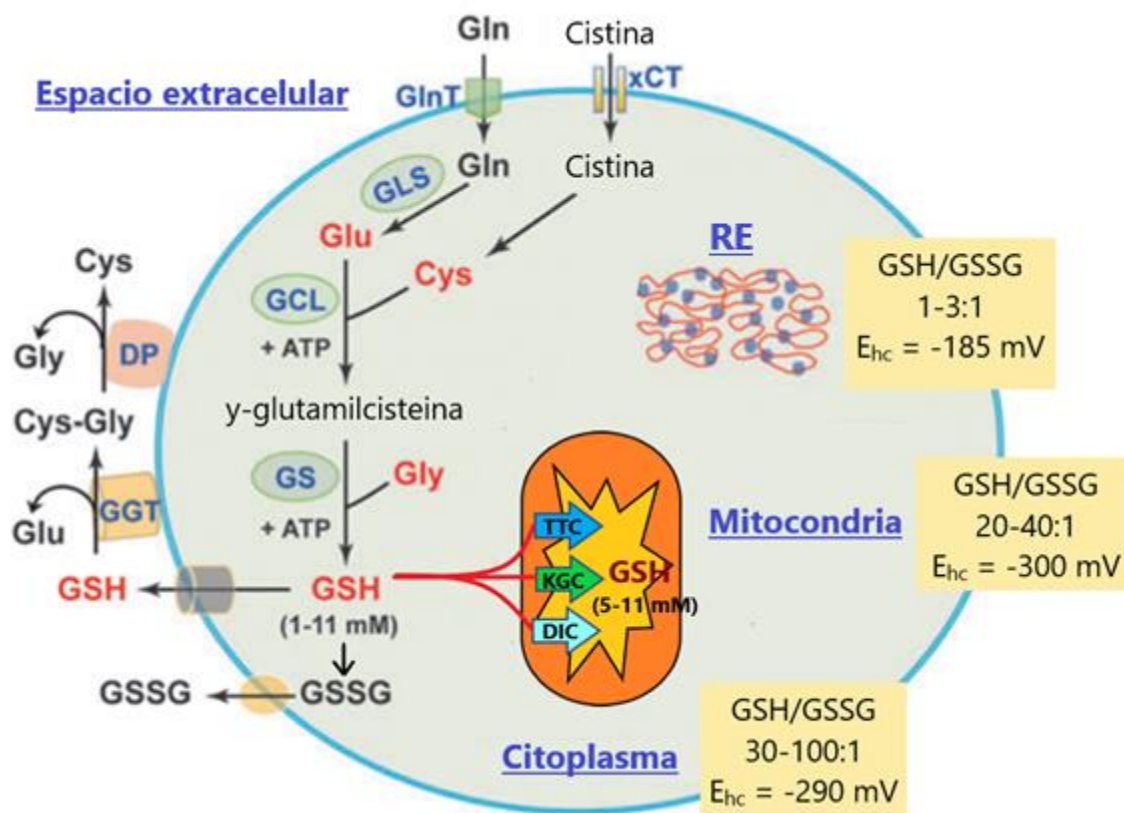


Figura 11. Biosíntesis y distribución celular de GSH. Glu, Cys y Gly son los tres aminoácidos precursores del GSH. La síntesis del GSH requiere dos pasos sucesivos catalizados por dos enzimas dependientes de ATP: GCL y GS. Glu se puede reponer con Gln endógeno y exógeno a través de la glutaminólisis mediada por GLS. Cys puede ser generado por la reducción de cistina endógena y exógena. Los niveles de GSH en el citosol se encuentran en el rango de 5-11 mM. En contraste, en el RE hay un ambiente más oxidante con un cociente GSH/GSSG de 1-3:1. El GSH citosólico puede ser transportado a la mitocondria a través de tres potenciales transportadores, KGC, DIC y TTC. El GSH y el GSSG también pueden ser secretados a los compartimentos extracelulares; sin embargo, sus niveles son comparativamente más bajos. EL GSH extracelular puede ser degradado por la enzima de la superficie celular GGT a Glu y Cys-Gly, y más adelante, ser metabolizados a Cys libre y Gly por DP. Los aminoácidos resultantes pueden ser reutilizados por las células para la síntesis intracelular de GSH. Cys: cisteína; Cys-Gly: cisteinil-glicina; DIC: transportador de dicarboxilato; DP: dipeptidasas; RE: retículo endoplásmico; GCL: ligasa de glutamato-cisteína; GGT: γ -glutamil transpeptidasa; Gln: glutamina; GlnT: transportador de glutamina; GLS: glutaminasa; Glu: glutamato; Gly: glicina; GS: GSH sintetasa; KGC: transportador de α -KG; RE: retículo endoplásmico; TTC: transportador de tricarboxilato; xCT: transportador de cistina. Imagen modificada (Xiao, 2020).

Un proceso mediante el cual el GSH podría modular el metabolismo celular, es mediante la S-glutathionilación de proteínas. Al igual que la fosforilación, la S-glutathionilación es un mecanismo de modificación postraduccional importante que regula las funciones biológicas, el plegamiento de proteínas estructurales, y la



localización subcelular de una proteína diana (Xiao, 2020). Las proteínas pueden ser glutationiladas a través de reacciones enzimáticas y no enzimáticas. La S-glutationilación de tipo no enzimática se realiza durante el estrés oxidativo y generalmente es no específica e irreversible (Mailloux, 2013; Ribas, 2014). Las EROs oxidan GSH en GSSG, el cual reacciona con residuos de cisteína (-SH) en proteínas para formar PSSG (**figura 12**). Amplia evidencia demuestra que las enzimas metabólicas son susceptibles de glutationilación bajo condiciones de estrés oxidativo, por ejemplo, las enzimas glucolíticas, las enzimas del ciclo de Krebs y las proteínas del complejo OXPHOS en la mitocondria pueden ser glutationiladas, lo que resulta en la activación o inactivación de sus actividades, modulando así la energética celular (Xiao, 2020).

En contraste la S-glutationilación enzimática es generalmente específica; reversible y es altamente controlada por fluctuaciones en el cociente GSH/GSSG local (Mailloux, 2013; Ribas, 2014). La glutatión-S-transferasa es la enzima más importante que media la S-glutationilación al adicionar GSH a los residuos de cisteína produciendo PSSG (**figura 12**); mientras que Grx1-2 son las enzimas que primariamente se encargan de catalizar la reacción inversa (**figura 3**). Hoy en día, poco se sabe acerca de si la glutationilación de proteínas; particularmente de enzimas metabólicas puede ocurrir bajo condiciones de estrés reductor, es decir, un elevado cociente GSH/GSSG, y como esta modificación puede perjudicar el metabolismo celular, por lo que estos tópicos requieren futuras investigaciones (Xiao, 2020).

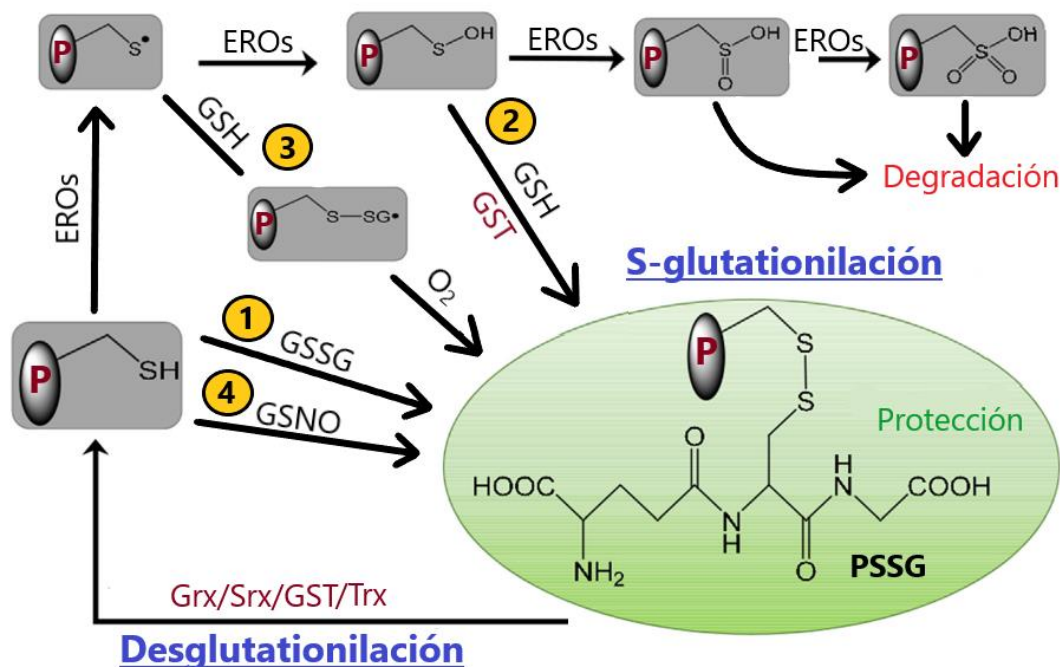


Figura 12. S-glutathionilación de proteínas. La S-glutathionilación de proteínas para obtención de PSSG puede realizarse de forma espontánea o enzimática. La reacción no enzimática puede proceder de varias maneras: puede realizarse reaccionando PSH con GSSG (1); mediante la oxidación de PSH a PSOH por las EROs y su posterior reacción con GSH, evitando así que la proteína objetivo se oxide en exceso a SO₂H o SO₃H (2); con la oxidación de PSH a PS• y su posterior reacción con GSH y O₂ sucesivamente (3) o usando GSNO y permitir su reacción con PSH (4). Por otro lado, se puede realizar enzimáticamente con la enzima GST en presencia de PSOH y GSH (2). La glutathionilación de proteínas puede producirse de forma espontánea, pero las tasas y magnitudes se ven aumentadas en gran medida por la actividad catalítica de la GST. En contraste, la desglutathionilación puede ser realizada por Grx, Srx, Trx o GST. GSNO: S-nitrosoglutathión; GSSG: glutathión disulfuro; GST: glutathión-S-transferasa; PS•: radical tiilo; PSH: tiol proteínico; PSOH: ácido sulfénico; PSSG: proteína glutathionilada; PSSG•: radical tiil glutathionil; SO₂H: ácido sulfinico; SO₃H: ácido sulfónico; Srx: sulfurredoxina. Imagen modificada (Zhang, 2018).

1.2 Otras moléculas de importancia

Tioles

Los tioles de bajo peso molecular como los productos de oxidación de la cisteína, los ácidos sulfénicos, los S-nitrosotioles (p.e. S-nitrosoglutathión) y los disulfuros son de especial interés (**figura 12**) dado que desempeñan un papel importante en los procesos redox de la célula, así como en la regulación de enzimas o factores de transcripción implicados en los procesos de señalización celular. Por ejemplo, los sistemas Trx-Prx/metionina sulfóxido reductasa y GSH-GPx-glutarredoxina/glutathión-



S-transferasa (**figuras 3 y 13**) regulan el entorno redox celular y contienen las oxido reductasas termoestables Trx y Grx, que poseen grupos tiol en sus sitios activos, formados por dos residuos de cisteína, los cuales actúan como donantes de hidrógeno necesarios para muchas enzimas metabólicas con enlaces disulfuro en su sitio catalítico. Sus funciones incluyen la regulación del plegamiento de las proteínas, reducción del dehidroascorbato, la reparación de las proteínas alteradas por procesos oxidativos y el metabolismo del azufre (Pérez-Torres, 2017).

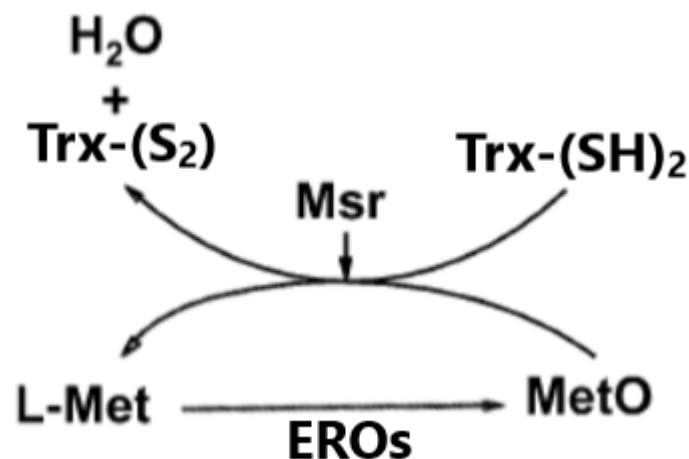


Figura 13. Oxidación de la metionina y su reducción por la metionina sulfóxido reductasa. En el primer paso la metionina es oxidada por las EROs generando isómeros R y S (MetO-R y MetO-S). Posteriormente, pueden ser reducidos nuevamente con las formas A y B de la enzima metionina sulfóxido reductasa (Msr-A y Msr-B) de manera estereoespecífica y con ayuda de la tiorredoxina reducida (Trx-(SH)₂). Imagen modificada de: <https://bit.ly/33NwswQ> (Cataldo, R. T. 2007).

Glutatión peroxidasa isoforma 1 (GPx1)

La familia de la enzima glutatión peroxidasa (GPx) está formada por enzimas homólogas que contienen selenio-cisteína. Uno de los miembros más abundantes de esta familia es la GPx1, la cual es la principal enzima antioxidante que impide la acumulación de H₂O₂ intracelular usando al GSH como fuente de equivalentes reductores. Y es más eficaz que la catalasa (CAT) para realizar esta tarea en muchas condiciones fisiológicas, además puede reducir hidroperóxidos lipídicos y disminuir la

peroxidación lipídica (LPO) (Pérez-Torres, 2017). Por otro lado, con cantidades adecuadas de GSH, la GPx1 puede actuar como peroxinitrito reductasa modulando la cantidad de peroxinitrito (PN) y atenuando la nitración de proteínas mediada por el PN (figura 14) (Fu, 2001).

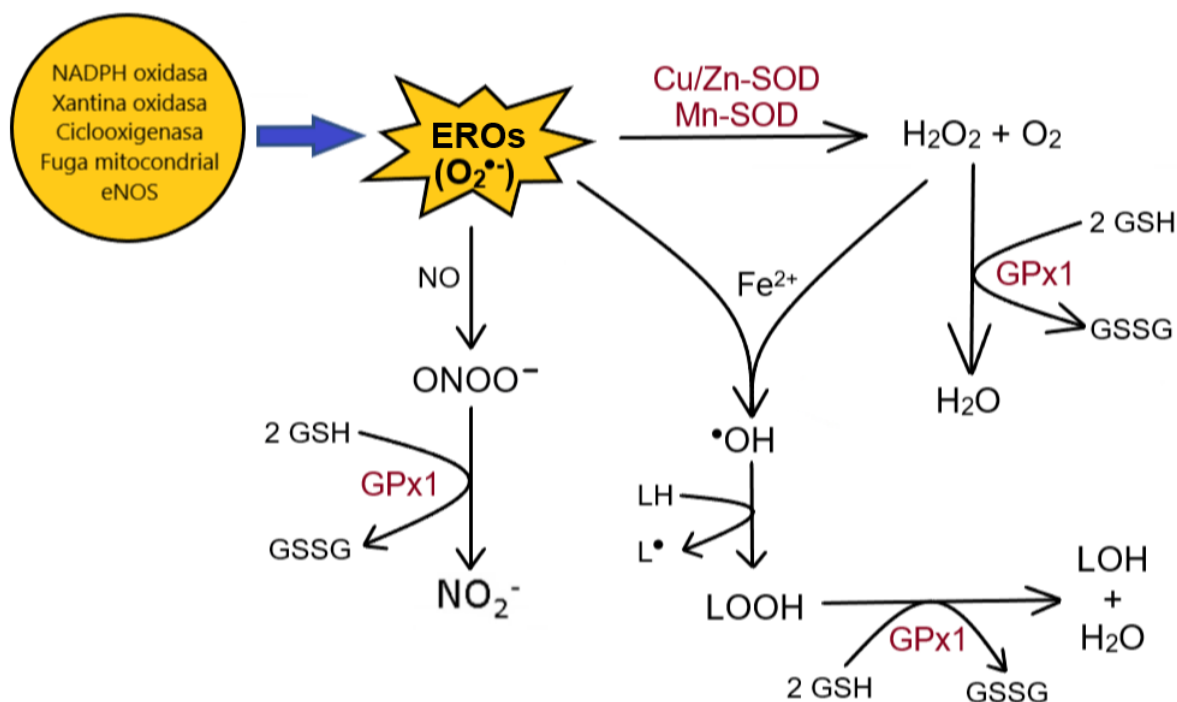


Figura 14. Remoción de EROs por GPx1. El $O_2^{\bullet-}$ producido por enzimas como la NADPH oxidasa es neutralizado y convertido en agua mediante un proceso de dos pasos en el que primero interviene la SOD y después la GPx1 o la catalasa. Un desbalance en esta vía favorece la producción de H_2O_2 . También pueden ocurrir reacciones tipo “Fenton” cuando el H_2O_2 o el $O_2^{\bullet-}$ interactúan con metales de transición como el hierro (Fe^{2+}), resultando en la producción de $\bullet OH$ nocivos, estos radicales a su vez pueden provocar daño peroxidativo a los lípidos, formando LOOH. La importancia funcional de la GPx1 reside en su habilidad para neutralizar el H_2O_2 y los peróxidos lipídicos transformándolos en agua y alcohol lipídico (LOH) respectivamente. Adicionalmente la GPx1 remueve los radicales peroxinitrito que se forman como resultado de la interacción de $O_2^{\bullet-}$ con NO. Dos moléculas de GSH son consumidas cada vez que la GPx1 reduce EROs, generando GSSG. eNOS: sintasa de óxido nítrico endotelial; GPx1: glutatión peroxidasa 1; L \bullet : radical lipídico; LH: ácido graso poliinsaturado; LOOH: hidroperóxido lipídico; LOH: alcohol lipídico; NO: óxido nítrico; NO_2^- : nitrito; $O_2^{\bullet-}$: radical superóxido; $\bullet OH$: radical hidroxilo; ONOO $^-$: peroxinitrito; SOD: superóxido dismutasa. Imagen modificada (Haan, 2011).

Especies de persulfuro

Las especies de persulfuro, como el persulfuro de cisteína (CysSSH), desempeñan importantes funciones en la regulación de la señalización celular redox, como parte



de la respuesta antioxidante. De hecho, estas especies pueden interactuar con GSH para formar persulfuro de glutatión (GSSH) (Pérez-Torres, 2017). Debido a que el CysSSH y el GSSH tienen una mayor nucleofilia que la cisteína (Cys) y el GSH, exhiben mayor actividad de eliminación contra los oxidantes como el peróxido de hidrógeno, y los electrófilos, lo que contribuye a la regulación de la señalización redox (Kasamatsu, 2016).

Aparte del mecanismo regulador de la señalización redox, las proteínas y enzimas pueden contener persulfuros de Cys, incluyendo CysSSH en sus residuos de Cys específicos, este proceso se denomina polisulfuración de proteínas y se cree que proporciona protección a los residuos tiólicos de las proteínas contra la modificación química irreversible causada por oxidantes y electrófilos (Kasamatsu, 2016)

Hierro (Fe)

El hierro es un cofactor fundamental para importantes actividades biológicas y reacciones bioquímicas, y su metabolismo constituye una maquinaria basada en redox que es esencial para las necesidades metabólicas. El hierro desempeña un papel fundamental en la generación de especies reactivas a través de la reacción de Fenton (**figura 15**) y en condiciones de estrés oxidativo, esta maquinaria se convierte en una amenaza potencial, exacerbando la condición prooxidante. En contraste, una disminución del hierro intracelular disminuye la generación de EROs y puede conducir a estrés reductor. En este contexto, un bajo contenido de hierro inhibe la ferritina (proteína que almacena el hierro y lo libera de forma controlada) y estimula al receptor de transferrina 1 (TFR1), una proteína que permite la importación de hierro por la transferrina. Cabe destacar que, para unirse a la transferrina, el Fe^{2+} debe ser oxidado a Fe^{3+} por la ceruloplasmina (Forrellat, 2000; Pérez-Torres, 2017). Paradójicamente



el aumento en los niveles de NADPH (estrés reductor debido a la disminución de hierro intracelular) también puede favorecer el estado de Fe^{2+} , ayudando a la incorporación de hierro en la ferritina (Pérez-Torres, 2017), probablemente para garantizar el depósito intracelular de hierro y su posterior utilización en la síntesis de proteínas y enzimas, dado que se encuentra en bajas concentraciones (Forrellat, 2000).

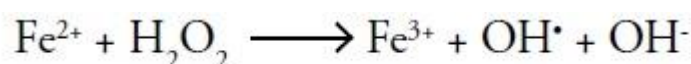


Figura 15. *Reacción de Fenton.* Aunque los iones hierro que se encuentran en la transferrina y lactoferrina en presencia de pH fisiológico no participan de la producción de radical hidroxilo (OH^{\cdot}), el hierro que se encuentra en la ferritina pueda ser movilizado por moléculas reductoras como el ascorbato y catalizar la formación del radical hidroxilo (Corrales, 2012).

Selenio (Se)

Varias de las selenoproteínas presentes en humanos son enzimas antioxidantes extremadamente eficientes, que forman parte de los sistemas de la tiorredoxina y del glutatión, por lo que los procesos dependientes del sistema tiorredoxina son selenio-dependientes (Salinas, 2010). En el humano existen 25 proteínas de selenio que participan en diferentes procesos fisiológicos, como envejecimiento, inmunidad, actividad antiinflamatoria, metabolismo muscular, reproducción y reacciones redox (Pérez-Torres, 2017). Dentro de este grupo de proteínas, muchas se caracterizan por tener residuos de selenocisteína (Sec) y entre ellas se encuentran 5 de las 8 isoformas de la GPx, la Msr-B (que reduce al isómero MetO-R), la tiorredoxina reductasa (TR), las selenoproteínas 15, H, I, K, M, O, S, T, V y la selenoproteína W “SelW”, dependiente de glutatión (Salinas, 2010). Las selenoproteínas SelW, SelV, SelT y SelH se unen al ADN de forma sensible al estado redox, mientras que las selenoproteínas SelM y Sel15 funcionan como oxidorreductasas en el lumen del



retículo endoplasmático (Reeves, 2009). En conjunto, estas enzimas aumentan la capacidad antioxidante, y alteran las vías de señalización inflamatoria que modulan las EROs inhibiendo la cascada NF- κ B. Cabe destacar que la síntesis de proteínas de selenio se ve afectada por los niveles de suplementos de Se, por lo que la ingesta excesiva de este elemento puede producir efectos perjudiciales para la salud y contribuir a estrés reductor mediante la sobreexpresión de SelW (Pérez-Torres, 2017; Zhang, 2013).



Capítulo II - Estrés redox

En condiciones fisiológicas los oxidantes celulares se mantienen a niveles estables al ser neutralizados por moléculas antioxidantes a través de los pares redox, permitiendo que las EROs sean usadas en muchos procesos biológicos de señalización, proliferación y diferenciación celular, a esta capacidad amortiguadora basal se le denomina “capacidad amortiguadora redox” (ReBC por sus siglas en inglés “redox buffer capacity”). Cuando las células se ven expuestas a desequilibrios en los niveles de oxidantes o reductores, la ReBC aumenta para contrarrestar el estrés redox y restaurar la homeostasis, esta capacidad se denomina ReBC compensatoria, en estas circunstancias, aunque elevadas, las sustancias oxidantes y reductoras se encuentran todavía en niveles fisiológicos. Sin embargo, cuando esta respuesta compensatoria es excedida el estrés redox (incluyendo estrés oxidativo y estrés reductor) ocurre (Xiao, 2020).

El término estrés oxidativo fue usado inicialmente por Helmut Sies en 1985 para los sistemas biológicos y lo definió como un desequilibrio en el balance prooxidante-antioxidante, en favor de los prooxidantes. La definición fue extendida más tarde indicando que dicho estrés conlleva un potencial para generar daño. El primer uso del término estrés reductor fue por Albrecht Wendel en 1987. Interesantemente el término no ha sido definido de manera precisa, tal vez debido a la relación inversa con el estrés oxidativo o quizás porque el estrés reductor no ha sido considerado ampliamente a nivel experimental y teórico. En general, el estrés reductor se ha asociado a condiciones de inhibición respiratoria y se refiere a situaciones en las cuales el estatus de una célula o compartimento subcelular se ha reducido. Es importante mencionar que el estrés reductor disminuye los niveles celulares de EROs



por debajo de sus niveles fisiológicos, pero también puede estimular la producción de EROs cuando la cantidad de oxígeno se reduce parcialmente, haciendo la correlación entre estrés reductor y estrés oxidativo aún mayor (Kehrer, 2007; Xiao, 2020).

Aunado a lo anterior, aunque parezca paradójico, en un entorno de estrés reductor, la producción de EROs se acelera hasta el punto en que sobrepasa la capacidad de eliminación de EROs, aun cuando ésta debería estar potenciada al máximo. En otras palabras, el aumento del poder antioxidante de NADPH/NADP⁺ durante el estrés reductor es insuficiente para contrarrestar el aumento en la producción de EROs resultado de este estrés, derivando en un excedente neto de EROs, oxidación de la matriz, citotoxicidad y agregación de proteínas. Esta y otras observaciones respaldan la hipótesis del “balance de EROs optimizado por redox” (del inglés “redox-optimized EROs balance”), de acuerdo con esta hipótesis el balance redox se pierde y la producción de EROs se incrementa en ambos extremos de oxidación y reducción de los pares redox NADH/NAD⁺, NADPH/NADP⁺ y GSH/GSSG (Korge, 2015). De este modo, tanto el estrés reductor como el estrés oxidativo serían perjudiciales para la célula.

Aunque la definición de estrés reductor sea un concepto ambiguo. Algunas de las causas y consecuencias relacionadas al estrés reductor y oxidativo están bien registradas y se pueden resumir de la siguiente manera:

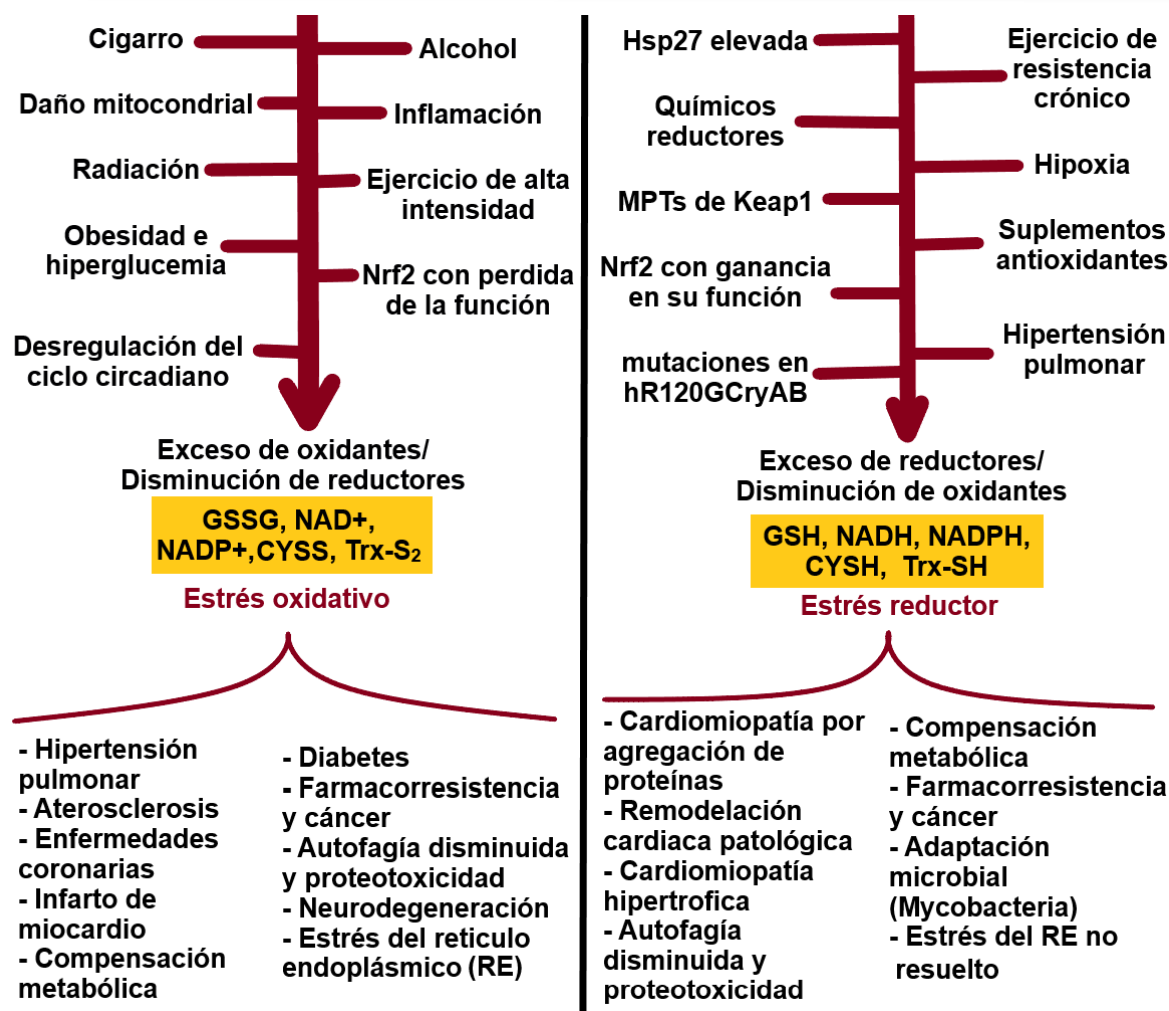


Figura 16. Causas y consecuencias del estrés redox. Factores que estimulan la formación de agentes oxidantes induciendo estrés oxidativo y contribuyendo a patologías como aterosclerosis, diabetes, neurodegeneración, entre otras (izquierda). Factores que estimulan la formación de agentes reductores induciendo estrés reductor y contribuyendo a procesos patológicos como farmacorresistencia en células cancerígenas, proteotoxicidad, remodelación cardiaca patológica y cardiomiopatía. Hsp: proteína de choque térmico; MPTs: modificaciones postraduccionales; RE: retículo endoplásmico. Imagen modificada (Rajasekaran, 2020).

2.1 Estrés redox y regulación de la expresión génica

La activación de la expresión génica en respuesta al estrés parece ser una respuesta universalmente conservada, y numerosa información sugiere que los oxidantes pueden mediar la activación génica. Se desconoce si existe un grupo de genes que respondan al estrés reductor. Sin embargo, se ha propuesto que los genes *grp* codificantes de proteínas regulada por glucosa responden más al estrés reductor, mientras que los genes *hsp* codificantes de proteínas de choque térmico responden



mejor al estrés oxidativo. Conforme a lo anterior, además de genes, se han registrado también varios factores de transcripción regulados por mecanismos redox (Kehrer, 2007).

NF- κ B

El factor nuclear κ B representa a una familia de factores de transcripción diméricos, que regulan la expresión de un vasto arreglo de genes involucrados en diferentes procesos biológicos como inmunidad innata y adaptativa, inflamación, respuestas al estrés, desarrollo de células B y organogénesis linfoide (Gilmore, 2014; Liu, 2017).

Esta familia está compuesta de 5 miembros relacionados estructuralmente: p50 (también llamado NF- κ B1), p52 (NF- κ B2), p65 (RelA), RelB y c-Rel. En algunos casos se habla de 7 miembros ya que se toman en cuenta las proteínas precursoras de p50 y p52 (p105 y p100 respectivamente) (Liu, 2017).

Ya que el factor NF- κ B normalmente se encuentra secuestrado en el citoplasma de la célula como un precursor inactivo y formando un complejo con la proteína inhibidora I κ B, este debe ser activado para su translocación al núcleo, dicha activación puede llevarse a cabo por 2 vías, la “vía canónica” y la “vía no canónica” (López-Bojorquez, 2004; Wang, 2012).

En la vía canónica, los pasos necesarios para la activación incluyen: fosforilación, ubiquitinación y degradación en el proteosoma de la proteína inhibidora I κ B. Una vez en el núcleo, el factor se une a los elementos de respuesta κ B (kBRE por sus siglas en inglés) y activa la transcripción (López-Bojorquez, 2004; Wang, 2012).

La vía canónica responde a estímulos como citocinas proinflamatorias, mitógenos, componentes microbianos, factores de transcripción y agentes estresantes, los cuales activan al complejo IKK (IKK β , IKK α , NEMO), el cual fosforila las proteínas I κ B



promoviendo su ubiquitinación y degradación proteosomal, al mismo tiempo, esto resulta en la liberación del complejo NF-kB. Este complejo es activado posteriormente por modificaciones postraduccionales (fosforilación, acetilación, glicosilación) y se transloca al núcleo donde ya sea individualmente o en conjunto con otros factores de transcripción (como AP-1, Ets y Stat) induce la expresión del gen diana. Cabe destacar que los complejos diméricos predominantes en la vía canónica son p50/p65 y p50/c-Rel (Gilmore, 2014; Liu, 2017)

En la vía no canónica el complejo p100/RelB se encuentra inactivo en el citoplasma, aquí la señalización a través de un set de receptores (incluyendo LT β R, CD40, BR3 y BAFFR) activa la cinasa NIK, la cual a su vez activa a los complejos IKK α que fosforilan a p100. La fosforilación de p100 resulta en su ubiquitinación y procesamiento proteosomal, dando como resultado a p52. Los complejos p52/RelB resultantes son transcripcionalmente competentes y pueden translocarse al núcleo para inducir la expresión de genes (Gilmore, 2014).

Como se dijo, la activación de NF-kB sigue varias vías, en este contexto, también se sabe que las condiciones redox son de suma importancia, pues las condiciones oxidantes activan NF-kB en varios tipos de células y los antioxidantes pueden bloquear esta activación, aunado a esto, la producción de oxidantes se ve reforzada por varios inductores de NF-kB como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α). Sin embargo, a nivel nuclear, el factor NF-kB debe reducirse para unirse al ADN. Por lo tanto, el estado redox general de sitios subcelulares específicos es crucial para determinar el estado de activación de NF-kB (Kehrer, 2007).

Nrf-2

Nrf2 es un factor de transcripción que se expresa de manera constitutiva en la mayoría de las células y promueve la expresión de aproximadamente 500 genes



detoxicantes y antioxidantes, estando implicado por tanto, en el proceso entero del metabolismo de xenobióticos y en la expresión de proteínas antioxidantes que incluyen desde factores de equilibrio redox hasta proteínas de respuesta al estrés y enzimas metabólicas como GST, hemo oxigenasa-1 (HO-1), Trx, NQO1 y GLC (Bellezza, 2018; Konigsberg, 2007; Pérez-Torres, 2017).

Debido a que esta expresión constitutiva debe ser regulada para mantener la homeostasis redox; bajo condiciones fisiológicas Nrf2 es retenido en el citosol por Keap1 y es marcado para degradación proteosomal. Cabe destacar que debido a que la interacción Nrf2-Keap1 es insuficiente para mantener a Nrf2 en el citosol, Keap1 se asocia con el citoesqueleto (Konigsberg, 2007). Sin embargo, bajo condiciones de estrés oxidativo los tioles críticos en Keap-1 se oxidan, liberando a Nrf-2 el cual se transloca al núcleo, donde puede dimerizar con las proteínas Maf pequeñas (MafG, MafK y MafF), con las Maf grandes (c-Maf) o con otras proteínas bZIP como c-Fos, Fra1, p45-NF-E2, Bach1 y Bach2. Estos heterodímeros reconocen los AREs (elementos de respuesta antioxidante) que son secuencias potenciadoras esenciales para la transcripción de los genes antioxidantes objetivos de Nrf2 (Kehrer, 2007; Konigsberg, 2007). En contraste, se ha descrito un mecanismo alternativo para la activación de Nrf2, bajo condiciones de estrés reductor; en esta situación, el exceso de agentes reductores puede conducir a niveles elevados del adaptador de autofagia p62/SQSTM1, que también está vinculado a Keap-1. Este mecanismo se basa en la competencia entre Nrf2 y p62/SQSTM1, por unirse a Keap1 (su regulador negativo), dicha competencia provoca que el secuestro citoplasmático de Nrf2 disminuya y este pueda translocarse al núcleo para ejercer su función (Pérez-Torres, 2017).

Adicional e independientemente a la liberación de Nrf2 en el citoplasma, se ha documentado que un residuo de cisteína clave en Nrf2 debe estar en la forma tior



reducida para que dicho factor sea completamente funcional y pueda realizar la activación transcripcional y aunque la fosforilación también puede estar involucrada, este modelo resalta aún más la importancia de las reacciones reductivas en el control de la transducción de señales (Kehrer, 2007).

Interacción Nrf-2/NF-κB

Las vías Nrf2 y NF-κB regulan la homeostasis fisiológica del estado redox celular y las respuestas al estrés y la inflamación. Los mecanismos moleculares que subyacen a esta compleja y dinámica interacción, que dependen del tipo de célula y del contexto tisular, están aún por dilucidar. Sin embargo, numerosos estudios han propuesto que Nrf2 desempeña un papel fundamental para contrarrestar la respuesta inflamatoria impulsada por NF-κB y viceversa. Por ejemplo, a nivel transcripcional, Nrf2 y NF-κB compiten por unirse al coactivador de la transcripción CBP (del inglés CREB binding protein) para poder ejercer su función y, por tanto, este proceso dependerá de los niveles de translocación nuclear de cada factor. Por otro lado, NF-κB puede reclutar a HDAC3 para causar hipoacetilación local sobre Nrf2 reduciendo su señalización. En contraste, los compuestos que disminuyen la respuesta inflamatoria al suprimir la señalización de NF-κB pueden activar la vía de Nrf2. También se sabe que p65 (miembro de la familia NF-κB) tiene un papel doble en la regulación de Nrf2 ya que por un lado puede ejercer su acción proinflamatoria como parte del complejo dimérico p50/p65 y por otro puede unirse a varios sitios kBRE ubicados en un promotor proximal a Nrf2 iniciando la transcripción de este último, siendo este un posible mecanismo de retroalimentación negativa. Cabe destacar, que este no es el único mecanismo conocido, pues la GTPasa Rac1 (activada previamente por LPS) puede estimular a NF-κB para que induzca la actividad de Nrf2, a su vez, Nrf2 estimula la



expresión de la HO-1, la cual reduce la actividad inflamatoria de NF-kB y desplaza las células a un entorno más reductor, esencial para poner fin a la activación de NF-kB (Bellezza, 2018).



Capítulo III - Estrés reductor

Como se expuso previamente, el estrés reductor a diferencia del estrés oxidativo no es un concepto bien definido. El término fue sugerido por primera vez en 1987 por Albrecht Wendel, pero fue descrito por Gregory Gores hasta 1989, este último junto con sus colaboradores, estudiaron un modelo de hipoxia química usando hepatocitos de rata; los autores propusieron que los transportadores de electrones se reducen debido a la escasez de oxígeno y se re-oxidan durante la reperfusión o reoxigenación, provocando que se generen grandes cantidades de EROs. Generalmente al estrés reductor se le define como un desequilibrio en los niveles de prooxidantes y antioxidantes celulares, favoreciendo a estos últimos. Sin embargo, otros autores añaden además del desequilibrio entre moléculas, la capacidad de esta perturbación para generar daño en las estructuras celulares; por otro lado, Xiao y cols., lo definen como una acumulación excesiva de equivalentes reductores específicamente NADH, NADPH y GSH que exceden la capacidad de las oxidorreductasas endógenas (Xiao, 2020). Sin embargo, estas definiciones son algo confusas porque en las mitocondrias aisladas, se sabe que el estrés reductor (cocientes $NADH/NAD^+$ y $NADPH/NADP^+$ elevados) promueve el exceso de EROs a un nivel que excede la capacidad antioxidante, aun cuando los sistemas antioxidantes dependientes de NADPH también incrementan su actividad generalmente de manera paralela. En otras palabras, el estrés reductor puede inducir estrés oxidativo, que a su vez estimula nuevamente estrés reductor. Por ejemplo, durante el estrés reductor, cuando se espera que los aceptores de electrones estén mayormente reducidos, algunas proteínas redox pueden donar electrones al O_2 , incrementando por tanto la producción de EROs. Sin embargo, altos niveles de equivalentes reductores también



potencian a los sistemas de eliminación de EROs, favoreciendo el estrés reductor (Korge, 2015; Pérez-Torres, 2017).

Como se ha venido mencionado, aunque la definición de estrés reductor no está bien establecida, sus efectos en los organismos son bien conocidos, pues al igual que el estrés oxidativo, el estrés reductor perjudica las funciones celulares. Por ejemplo, las EROs proveen al retículo endoplasmático con un ambiente relativamente oxidante que es requerido para la formación de puentes disulfuro en proteínas secretoras y de membrana, este proceso es esencial y necesario para el correcto plegamiento de proteínas el cual determina la estructura y función de dichas proteínas. Sin embargo, bajo condiciones de estrés reductor, cuando la producción de oxidantes mitocondriales es inhibida, hay una disminución importante en la formación de enlaces disulfuro en la célula, o incluso estos se pueden formar pero de manera incorrecta, resultando en la activación del sistema de respuesta a proteínas desplegadas del retículo endoplásmico “UPR^{ER}” (una importante vía de transducción de señales que ayuda a aliviar el estrés reductor mediante la eliminación de las proteínas mal plegadas acumuladas en este compartimento celular), retención intracelular de proteínas de membrana, estrés del retículo endoplasmático, plegamiento retrasado, transporte desordenado, oxidación fallida y agregación de proteínas. Aunado a esto, el exceso de equivalentes reductores también puede disminuir las respuestas de crecimiento celular, reducir la función mitocondrial y disminuir el metabolismo celular. Incluso se le ha relacionado con el desarrollo de algunas enfermedades estrechamente vinculadas a condiciones inflamatorias, como cardiomiopatía por agregación de proteínas (CAP), cardiomiopatía hipertrófica, distrofia muscular, hipertensión pulmonar, artritis reumatoide, cáncer, alzheimer, diabetes tipo II y síndrome metabólico, entre otras (Pérez-Torres, 2017; Xiao, 2020).



3.1 Causas del estrés reductor

El estrés reductor se genera cuando hay alteraciones en el uso de los equivalentes reductores y por tanto está íntimamente asociado con la respiración mitocondrial y la generación de energía (Kehrer, 2007). Las causas de estas alteraciones son variadas, pero se pueden agrupar de la siguiente manera:

1. Privación de oxígeno (hipoxia, anoxia, isquemia)

La adaptación metabólica a la hipoxia es fundamental para la supervivencia, remodelación y proliferación celular. La causa primordial de estrés reductor durante la privación de oxígeno es la pérdida del aceptor final de electrones (oxígeno), lo que provoca una disfunción en la cadena respiratoria y en el ciclo de Krebs con la resultante acumulación de coenzimas reducidas como NADH por inhibición del complejo I y de la oxidación de NADH. Debido a que este proceso ocurre en la mitocondria, este es el primer organelo en exhibir cambios medibles, posteriormente, en el citoplasma el aumento del cociente lactato/piruvato evidencia estrés reductor (Kehrer, 2007; Pérez-Torres, 2017; Xiao, 2020). Igualmente, en toda la célula se puede observar una pérdida de fosfatos de alta energía (principalmente ATP), por lo que, para atenuar este fenómeno se activa en la célula la vía de señalización HIF-1 α , la cual cambia a la fosforilación oxidativa por la glucólisis como mecanismo principal para la producción de energía. Aunque la glucólisis puede modificar esta pérdida de ATP, no es suficiente para mantener la viabilidad tisular a largo plazo, además de que se genera una cantidad adicional de equivalentes reductores (Kehrer, 2007; Xiao, 2020).

No hay evidencia que sugiera que las coenzimas reducidas o los compuestos oxidados sean directamente tóxicos, por lo que los mecanismos de tales efectos



podrían involucrar la interrupción de rutas de señalización reguladas por mecanismos redox y la generación de radicales libres o especies oxidantes (Kehrer, 2007). Los radicales libres se pueden generar por la fuga de electrones de la CTE al O_2 durante la respiración, por exposición a luz UV, por infecciones o toxinas. Y aunque en concentraciones fisiológicas actúan como estresores horméticos y activan los sistemas de reparación o contrarrestan a los patógenos en los fagolisosomas, por otro lado, los radicales libres altamente reactivos y fuera de control pueden causar daños en el ADN, las proteínas y los lípidos, provocando mutagénesis o muerte celular (Becker, 2016). Conforme a esto, durante la reperfusión la CTE se activaría nuevamente gracias a que el oxígeno molecular vuelve a estar disponible en cantidades suficientes, permitiendo que el complejo I oxide nuevamente al NADH. Sin embargo, debido a que existiría un excedente de NADH, el complejo I se saturaría y el NADH empezaría a proveer electrones para la reducción de O_2 a $O_2^{\cdot-}$ en el complejo I (Kehrer, 2007; Xiao, 2020). Cabe destacar que, aunque la formación de EROs ocurre naturalmente durante la reducción de ubiquinona o coenzima Q (UQ) a ubiquinol en el complejo I, esta se ve aumentada junto con incrementos en la concentración de NADH (García, 2016). Por lo que el daño celular estaría mediado por estrés oxidativo posterior a estrés reductor.

Aunado a la producción de radicales libres, se ha observado en modelos *in vivo* de isquemia/reperfusión (I/R) que los altos niveles de NADH también pueden provocar la inversión en la actividad de succinato deshidrogenasa (SDH; complejo II) provocando la acumulación de succinato en los tejidos. Después en la reperfusión, el succinato es reoxidado rápidamente por la SDH provocando la formación de EROs en el complejo I a través de un transporte inverso de electrones (**figura 17**), este fenómeno consiste en la transferencia de electrones desde el succinato a través del complejo II a la UQ

y entonces al cofactor FMN (flavina mononucleótido) del complejo I el cual finalmente reduce el NAD^+ y por el cual se producen EROs (García, 2016; Xiao, 2020).

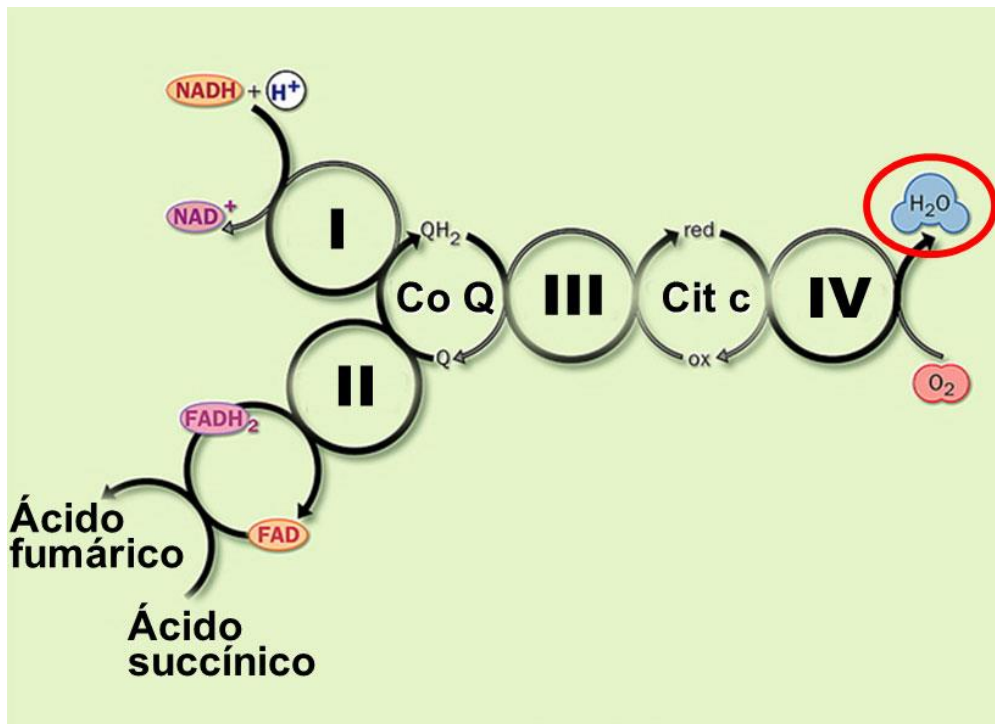


Figura 17. CTE y transporte inverso de electrones.

Finalmente, la disminución del ATP junto con el estrés oxidativo puede inducir transición de la permeabilidad mitocondrial (MTP). De manera general, primero ocurre la disminución de ATP durante la isquemia, la cual conduce a un aumento de Ca^{2+} citosólico, posteriormente durante la reperfusión se impulsa la captación excesiva de Ca^{2+} por la mitocondria y se forman EROs por el exceso de equivalentes reductores, posteriormente la sobrecarga de Ca^{2+} mitocondrial junto con el estrés oxidativo, así como la prevalencia de bajos niveles de ATP inducen la apertura del poro de transición de permeabilidad mitocondrial (mPTP). La apertura del mPTP provoca despolarización de la membrana interna, hidrólisis de ATP por la ATP sintasa mitocondrial, nuevos aumentos del Ca^{2+} citosólico, y así sucesivamente, dando como resultado muerte celular (Luna-Ortiz, 2011).



Afortunadamente, las células han desarrollado mecanismos para la supervivencia contra eventos de I/R, uno de ellos es a través del reclutamiento de “quinasas de supervivencia”. Durante las primeras etapas de la reperfusión, se estimula la vía de las cinasas de salvamento de la lesión por reperfusión (RISK). Esta vía comprende a las cinasas PI3K y MEK1/2 e incluye varios mecanismos; ninguno de ellos mutuamente excluyentes, a través de los cuales inhibe la apertura del mPTP. Estos son: 1) fosforilación e inhibición de GSK β , 2) fosforilación de eNOS y producción de óxido nítrico, que se ha demostrado inhibe la apertura del mPTP y 3) fosforilación de BAD, ya sea directa o indirectamente a través de la cinasa p70S6, anulando así su efecto proapoptótico. Interesantemente, esta vía también puede ser activada farmacológicamente, por ejemplo, mediante la administración de insulina al inicio de la reperfusión se protege contra la lesión causada por I/R reduciendo la probabilidad de que el mPTP se abra (Luna-Ortiz, 2011).

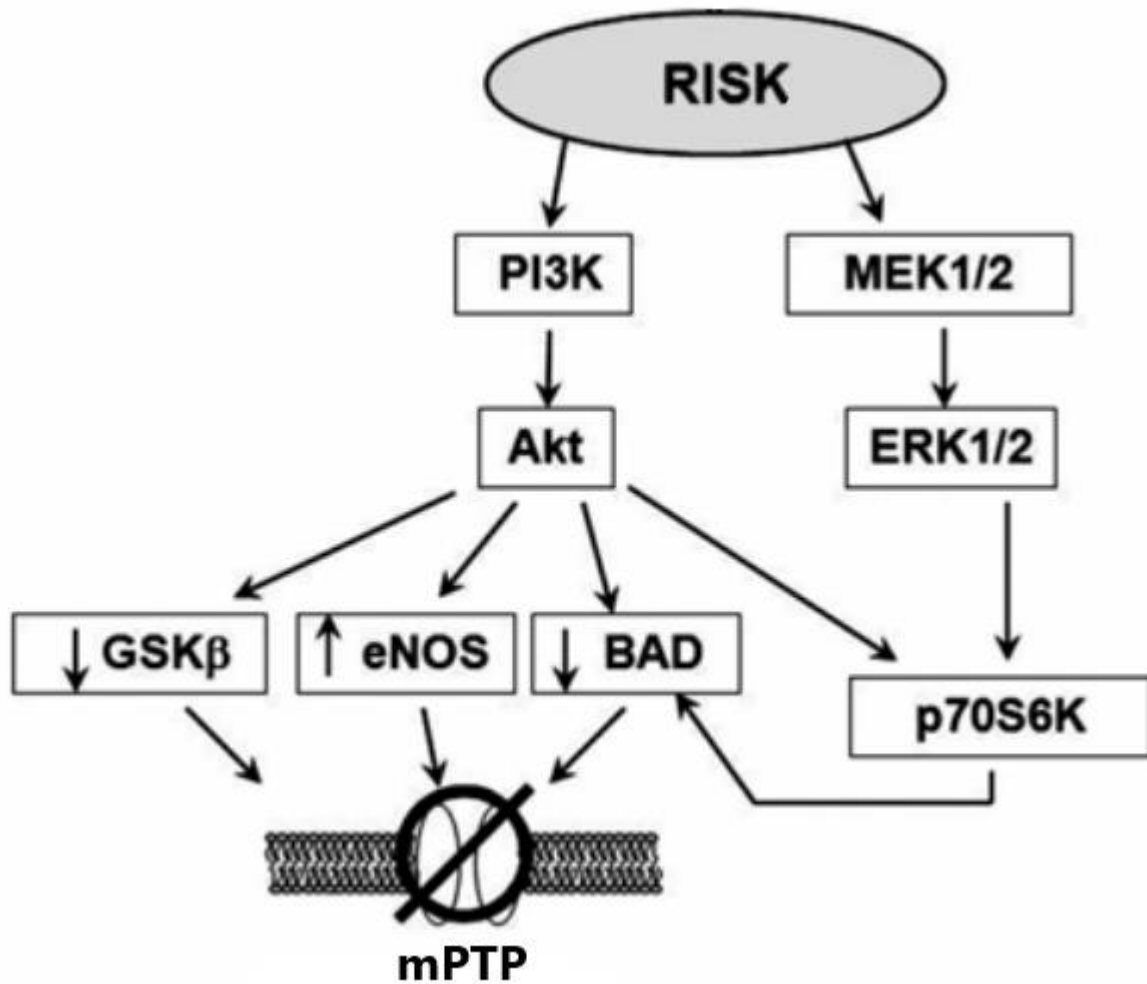


Figura 18. Vía de señalización RISK. Imagen modificada (Luna-Ortiz, 2011).

2. Exposición a xenobióticos (cianuro, yodoacetato, rotenona)

El estrés reductor causado por xenobióticos se asemeja mucho al asociado con la privación de oxígeno. De hecho, un modelo ampliamente estudiado de estrés reductor se denomina hipoxia química e implica el bloqueo de la respiración mitocondrial en varios sitios usando cianuro y yodoacetato; aunque la bioquímica general parece ser similar, difiere en algunos aspectos de la privación de oxígeno, por ejemplo, tales bloqueos en un entorno aeróbico podrían aumentar aún más la generación de EROs, ya que el oxígeno se encuentra en cantidades suficientes y no se requiere un proceso de reperfusión (Kehrer, 2007).



El bloqueo de sitios específicos de transporte de electrones con agentes como la rotenona (inhibidor del complejo I) o la antimicina A (inhibidor del complejo III) también puede generar estrés reductor, aunque es probable que tengan efectos diferentes basados en las características únicas de estos compuestos (Kehrer, 2007). Un ejemplo claro es la rotenona, que impide la transferencia de electrones a la UQ, por lo que puede llevar a estrés reductor mediante la acumulación de NADH. Sin embargo, también puede inducir la producción de EROs al bloquear la transferencia de electrones, pues incrementa la formación de semiquinona, la cual actúa como primer donante de electrones en la generación de $O_2^{\cdot-}$; paradójicamente, si se encuentra en altas concentraciones, también puede reducir la formación de $O_2^{\cdot-}$ al bloquear el flujo inverso de electrones causado por el exceso de NADH (García, 2016).

3. Enfermedades (mutaciones, cáncer)

Considerando que el estado redox del NADP es crítico para la eliminación enzimática del H_2O_2 mitocondrial y para la conservación de la homeostasis redox. La nicotinamida nucleótido transhidrogenasa (NNT), una proteína integral situada en la membrana mitocondrial interna es de gran importancia dado que contribuye a la producción de NADPH y por tanto a una elevada relación NADPH/NADP⁺ mitocondrial. Esta enzima cataliza la reducción de NADP⁺ a expensas de la oxidación de NADH a través del acoplamiento de su actividad transhidrogenasa al intercambio de H⁺ entre el espacio intermembrana de la mitocondria y la matriz mitocondrial. Cabe destacar, que en condiciones normales el gradiente electroquímico de la membrana mitocondrial interna (MMI) impulsa el equilibrio de la reacción hacia la reducción de



NADP⁺. En cambio, si el gradiente electroquímico se disipa experimentalmente y el NADH se oxida, la NNT es capaz de catalizar la reacción inversa (Ronchi, 2013).

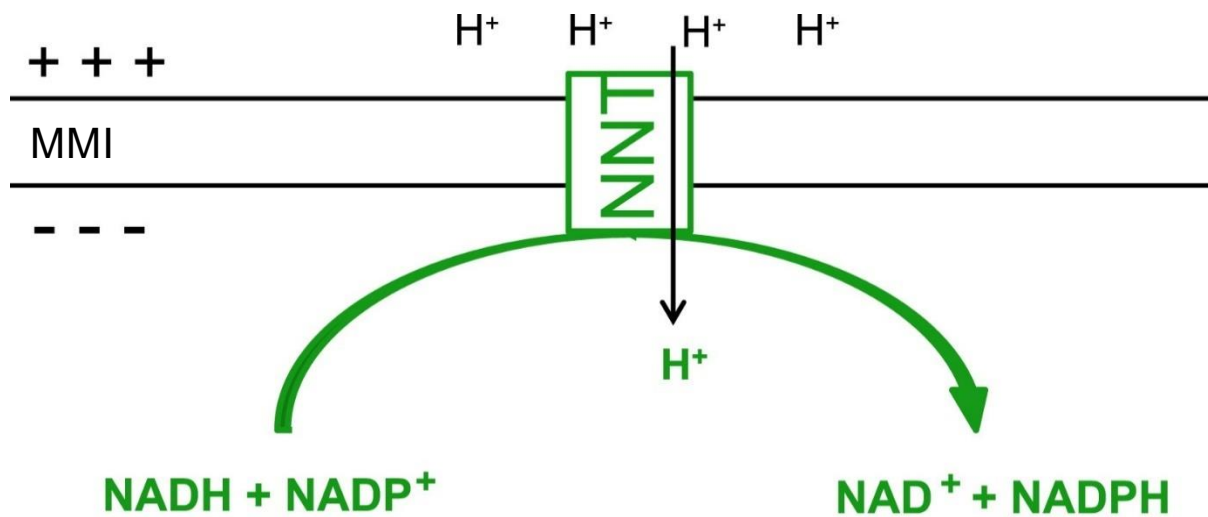


Figura 19. Reacción catalizada por la nicotinamida transhidrogenasa (NNT) mitocondrial. La NNT se ensambla a través de la membrana mitocondrial interna (IMM) y transloca H⁺ a la matriz mitocondrial a medida que el NADP⁺ se reduce a expensas del NADH en el lado de la matriz; el gradiente electroquímico a través de la MMI desplaza el equilibrio de la NNT hacia la derecha. Imagen modificada (Ronchi, 2013).

Además de lo ya mencionado, se ha observado que la producción de NADH por el complejo piruvato deshidrogenasa (PDH) puede incrementar en fibras musculares aisladas de gastrocnemio de ratón con pérdida de la función en NNT (C57BL/6J o NNT_{MUT}) cuando se les estimula con piruvato resultando en estrés reductor y en niveles elevados de H₂O₂ debido posiblemente al exceso de electrones en el complejo I y a la falta de NADPH necesario para sistemas antioxidantes como el de la GPx. En contraste la producción de H₂O₂ no se ve afectada en fibras musculares aisladas de ratones con NNT funcional (C57BL/6N o NNT_{WT}) cuando se les estimula de la misma manera. Estos hallazgos sugieren que la pérdida de la función de NNT provoca estrés reductor al permitir la acumulación de NADH y disminuir la producción de NADPH (Xiao, 2020). También se ha observado que las mitocondrias hepáticas aisladas de ratones NNT_{MUT} muestran otras anomalías redox, como por ejemplo aumento en



la proporción de GSSG/GSH, una pobre capacidad para metabolizar peróxidos orgánicos y una mayor susceptibilidad a sufrir MTP (Ronchi, 2013).

Interesantemente, aunque la disfunción de la NNT puede llevar a estrés reductor, se ha observado en células de melanoma que la sobreexpresión de NNT también resulta en estrés reductor al incrementar el cociente NADPH/NADP⁺ (Xiao, 2020).

Otro caso que es de importancia mencionar involucra estrés reductor y reprogramación metabólica en células humanas SK-Hep1 (células de adenocarcinoma) con NNT inactivado. Específicamente el silenciamiento de NNT en estas células promueve la hiperpolarización de la membrana mitocondrial, incrementa el consumo de oxígeno, la producción de ATP y disminuye la producción de lactato implicando un cambio metabólico de glucólisis a OXPHOS para corregir el estrés reductor causado por la acumulación de NADH. Este cambio metabólico provoca que las células sean más vulnerables a los efectos citotóxicos de la rotenona (inhibidor de la OXPHOS mitocondrial) pero más resistentes al 3-bromopiruvato (inhibidor de la glucólisis) (Xiao, 2020).

Es importante destacar que, si bien creciente evidencia apoya fuertemente que el estrés reductor en ratones NNT^{MUT} se relaciona con alteraciones metabólicas sistémicas, como intolerancia a la glucosa, disminución en la secreción de insulina inducida por glucosa, disminución en el gasto de energía y una mayor susceptibilidad a obesidad inducida por dieta alta en grasas (Xiao, 2020); todos estos hallazgos se realizaron bajo distintas condiciones y con diferentes sujetos de estudio, por lo que es de vital importancia investigar, si estos fenómenos mutacionales del gen NNT pueden ocurrir en el humano en el mismo gen o en otros distintos y si dichas mutaciones afectaran de la misma manera.



Aunado a lo anterior, las mutaciones en el gen NNT no son las únicas relacionadas al desarrollo de estrés reductor; un claro ejemplo que podemos correlacionar implica la generación de estrés reductor causado por mutaciones de la lámina C en el tejido muscular de *Drosophila* y en pacientes humanos con distrofia muscular, en ambos se observan incrementos en los niveles de GSH, NADPH y en la activación de la vía de Nrf-2. Cabe destacar, que el incremento en los valores de NADPH es provocado por elevada actividad de IDH (isocitrato deshidrogenasa) y es independiente de la actividad de G6PD (la mayor fuente de NADPH citosólico) y 6PGD (6-fosfogluconato deshidrogenasa) (Xiao, 2020).

Finalmente, también se ha observado estrés reductor en células tímicas de linfoma donde la sobreexpresión de G6PD aumenta los niveles de NADPH. No obstante, también estimula la expresión de enzimas NOX, lo cual potencia la producción de EROs y daño oxidativo posterior al estrés reductor (Xiao, 2020).

4. Estilo de vida (ingesta de suplementos, ejercicio de resistencia)

Como se mencionó anteriormente, el silenciamiento de genes en las mitocondrias puede favorecer el estrés reductor. Sin embargo, no es la única causa, pues también se ha observado que la adición exógena de glutamato-malato en este organelo, aumenta significativamente los niveles de NADH y posteriormente estimula la producción de H₂O₂ aproximadamente 10 veces. En contraste, la producción de H₂O₂ puede ser disminuida hasta un 50% al estimular la respiración mitocondrial y la oxidación de NADH con la adición de ADP o del agente desacoplante FCCP (Xiao, 2020). Aunque esto fue observado en mitocondrias, cabe la posibilidad de que suceda algo similar si en la dieta mediante suplementos se ingiere una cantidad considerable de antioxidantes o sustancias precursoras que estimulen la producción de NADH (p.e.



suplementos de glutamato-malato), por tal motivo se requiere más investigación al respecto. Sumado a lo anterior, la ingesta excesiva de suplementos de selenio también puede producir efectos perjudiciales para la salud y contribuir a estrés reductor mediante la sobreexpresión de la SelW (Pérez-Torres, 2017).

Por otra parte, el ejercicio exhaustivo también puede aumentar los niveles de enzimas antioxidantes como GPx, SOD y Trx1 en sangre periférica, lo que a su vez puede perjudicar la homeostasis y conducir a estrés reductor. Sin embargo, esto siempre dependerá del tipo, intensidad, así como la duración del ejercicio, la complejidad física y la carga o antecedentes genéticos del individuo (Pérez-Torres, 2017).

3.2 NADPH y estrés reductor

Hasta ahora se ha hablado del estrés reductor haciendo especial énfasis en el NADH y en el estrés oxidativo que genera posterior al estrés reductor, y aunque el exceso de NADPH por sobreactividad de las enzimas NNT, G6PD o IDH también es motivo de estrés reductor, es de especial importancia ahondar en este tópico, ya que sería lógico pensar que el NADPH al proveer electrones para el funcionamiento de los sistemas antioxidantes, no está involucrado en la generación de EROs y por tanto, no se observa estrés oxidativo posterior al estrés reductor causado por un cociente de NADPH/NADP⁺ elevado. Sin embargo, se sabe que la eliminación de EROs por los sistemas GSH/GPx/GR y Prx/Trx/TR2 dependientes de NADPH es directamente modulada por la conversión de GR y TR2, de enzimas con función antioxidante a enzimas productoras de EROs, esto siempre y cuando exista un cociente NADPH/NADP⁺ elevado y sus aceptores (GSSG y Trx-S₂) se encuentren en cantidades limitadas o existe la presencia de inhibidores que interfieren con el transporte de electrones hacia estos aceptores (pCMPS, pCMB y mersalyl para la GR



o CDNB para la TR2). No obstante, es preciso señalar que incluso la máxima capacidad de la GR para formar EROs es inferior a su capacidad para reducir GSSG, por lo que el O₂ se vuelve viable como aceptor de electrones de la GR sólo cuando la transferencia de electrones a la GSSG está muy deteriorada. Sin embargo, este bajo nivel de actividad “NADPH oxidasa” en ambas enzimas sigue siendo suficiente para generar cantidades significativas de H₂O₂ en cantidades comparables a los complejos de la cadena respiratoria inhibidos durante el estrés reductor (Korge, 2015).

Estos descubrimientos se realizaron después de observar que GR y TR2 pertenecen a la misma familia de flavoenzimas (disulfuro-reductasas) que incluyen a la lipoamida deshidrogenasa, el componente E3 de la α-KG deshidrogenasa y la piruvato deshidrogenasa. Mientras que la lipoamida deshidrogenasa, cataliza la transferencia de electrones entre NADH y disulfuros con una reacción química muy similar al GR y a las TR's,; puede producir EROs con una tasa igual o mayor que el complejo I cuando el conjunto NADH/NAD⁺ está altamente reducido. Por otro lado, la isoforma citoplasmática de la TR1 igualmente ha demostrado capacidad para generar EROs en presencia de NADPH, esto cuando Trx-S₂ está en cantidades limitadas o cuando se inhibe el flujo de electrones con compuestos de bajo peso molecular como auranofina, curcumina, juglona y otros dinitrohalobencenos. En estas condiciones, se cree que el sitio redox de la flavoproteína reducida de TR1 dona directamente los electrones obtenidos del NADPH al O₂ molecular, para generar O₂^{•-} y H₂O₂ (Korge, 2015).

Aunque estos hallazgos nos permiten entender de mejor manera la forma en que funcionan los mecanismos de producción de EROs, todavía queda por demostrar si las condiciones para activar la producción de EROs por GR y TR2 ocurren en mitocondrias sanas durante el estrés reductor *in vivo*, puesto que las observaciones



anteriores fueron resultados de experimentos realizados en mitocondrias permeabilizadas *in vitro* (Korge, 2015).

Aun cuando sabemos que GR y TR2 pueden ejercer una actividad “NADPH oxidasa”, estos mecanismos por sí solos, podrían no ser capaces de explicar el exceso neto de EROs en la mitocondria por exceso de NADPH, esto debido a que no se sabe si su actividad antioxidante/oxidante es unilateral, o si pueden realizar ambos papeles al mismo tiempo, igualmente dicha actividad “dual” dependería de la accesibilidad de las enzimas a GSSG y Trx-S₂. Por ello, otro de los factores importantes que podría explicar esta incógnita sería la actividad de Prx, la cual influye de manera importante en los excedentes de EROs en la matriz mitocondrial durante estrés reductor. Específicamente, el incremento de H₂O₂ puede ser contrarrestado por la acción de la Prx que rápidamente reduce el H₂O₂ generado. Por lo que, el principal determinante del exceso de H₂O₂ en la matriz sería la inhibición de la actividad de Prx ya sea por la falta de Trx-(SH)₂ debido a que el Trx-S₂ no es reducido por la TR (**figura 3**) o por incrementos en los niveles de Zn²⁺ citoplasmático y mitocondrial que se sabe pueden aumentar debido a eventos de I/R, EROs o PN (por lo menos en cardiomiocitos). A pesar de ello, esto podría estar sobreestimado y la contribución relativa de otros sistemas antioxidantes requiere futura clarificación (Korge, 2015).

A pesar de que el Zn²⁺ puede tener un efecto perjudicial al inhibir Prx, también puede tener un efecto protector al inducir la activación de la vía RISK, inhibiendo la apertura de los mPTP en la reperfusión. No obstante, esto sería solo bajo determinadas condiciones, ya que después de una prolongada I/R, la inhibición de Prx por el Zn²⁺ podría ser un factor que exacerbe aún más la explosión masiva de EROs tras la reperfusión teniendo efectos citotóxicos, lo que deja la puerta abierta a la



investigación para delinear la regulación en la liberación de Zn^{2+} como factor protector o perjudicial en el contexto de la I/R (Korge, 2015).

Otro importante sistema de producción de EROs que puede activarse a causa del estrés reductor y que se encuentra en muchos tipos celulares es la familia NADPH oxidasa (NOX) (Pérez-Torres, 2017); dichas enzimas utilizan al NADPH como sustrato para la producción de H_2O_2 y $O_2^{\cdot-}$. En contraste, el dominante negativo NOX4 (DN-NOX4) suprime la función de las NOX, produciendo un estado reductor importante activando directamente a Nrf2 (Pérez-Torres, 2017). Sin embargo, en ratones DN-NOX4 expuestos a I/R también se observan niveles altos de EROs y disfunción cardíaca, indicando que los altos niveles de GSH y NADPH aumentan la generación de EROs (Xiao, 2020). Actualmente los mecanismos subyacentes a este fenómeno se desconocen, no obstante, una opción plausible sería el mecanismo basado en la actividad "NADPH oxidasa" de las enzimas GR y TR2 explicado anteriormente; para confirmar esta hipótesis, debe probarse que GR y TR2 no pueden ser inhibidas por DN-NOX4, que ejercen su actividad prooxidante bajo condiciones de I/R y que los niveles elevados de EROs durante la I/R no se deben al excedente de NADH.



Capítulo IV - Enfermedades degenerativas asociadas a estrés reductor

El estrés reductor es dañino para las células y se le vincula con un amplio rango de condiciones patológicas como cardiomiopatía por agregación de proteínas, cardiomiopatía hipertrófica, distrofia muscular, hipertensión pulmonar, artritis reumatoide, cáncer, alzheimer, síndrome metabólico y diabetes mellitus, entre otras (Pérez-Torres, 2017). Por lo que es indispensable estudiar los mecanismos involucrados en estas enfermedades, para así entender cómo se desarrollan y en un futuro poder establecer opciones profilácticas y terapéuticas que ayuden a su tratamiento.

4.1 Estrés reductor y salud cardíaca

La fisiopatología de las enfermedades cardíacas es compleja y multifactorial, y en ella intervienen varias vías moleculares. Estas vías moleculares pueden estar interconectadas, y algunas de ellas han sido relacionadas con el aumento de la relación GSH/GSSG. Una de las vías es la activación de señales inflamatorias, aquí las citocinas proinflamatorias ejercen fuertes efectos directos en los cardiomiocitos, induciendo la apoptosis, la depresión de la contractilidad y la regulación a la baja de las proteínas sarcoméricas; otra vía molecular es la expresión deficiente de chaperonas y proteínas de choque térmico (Hsp), en este caso, las Hsp pequeñas están presentes de forma ubicua en las células y las protegen del estrés mediante su actividad antiapoptótica y antiinflamatoria (Pérez-Torres, 2017). Las mutaciones dominantes en los genes que codifican para las chaperonas, como CryAB y Bag3, determinan muchos trastornos humanos hereditarios, como la cardiomiopatía por agregación de proteínas (CAP), la miopatía del músculo esquelético y las cataratas. Las mutaciones en la Hsp de bajo peso molecular $\alpha\beta$ -cristalina (CryAB) o en la



desmina, una proteína del citoesqueleto que mantiene la integridad muscular y la tolerancia al estrés, causan agregación de proteínas, miopatías esqueléticas y cardiomiopatías, en las que hay mal plegamiento de las proteínas y la presencia de grandes agregados citoplasmáticos (Perez-Torres,2017).

Una de las cardiopatías mencionadas anteriormente que se encuentra asociada a estrés reductor es la CAP, la cual puede ser causada por una mutación autosómica dominante en el gen de la $\alpha\beta$ -cristalina humana, que induce un intercambio de aminoácidos R120G (R120G CryAB), esta mutación puede estimular la expresión de la Hsp25, que participa en el desarrollo de estrés reductor al aumentar los niveles de GSH e incrementar la actividad de la G6PD, la CAT y la GPx1. Dicha mutación también ha sido evaluada *in vivo* en ratones que han modificados genéticamente para expresarla de manera cardioespecífica y se ha observado que los ratones manifiestan las características de la cardiomiopatía presente en los humanos al igual que el estrés reductor. Específicamente, el tejido cardíaco de los ratones muestra un aumento en la expresión y en la actividad enzimática de G6PD, GR y GPx, siendo la sobreactividad de G6PD y GR de suma importancia dado que aumentan la producción de NADPH y estimulan el reciclaje de GSSG en GSH respectivamente, lo que provoca la agregación de proteínas. Dada la importancia de los niveles de NADPH en el desarrollo de esta enfermedad, la actividad de la G6PD podría ser un objetivo para el tratamiento de la insuficiencia cardíaca en humanos, de hecho, se ha observado que al reemplazar la G6PD nativa de los ratones por una G6PD hipomórfica, se puede normalizar el estrés reductor de la enfermedad (Korge, 2015; Pérez-Torres, 2017; Xiao, 2020). Adicionalmente es necesario resaltar que la sobreproducción de enzimas antioxidantes (GR, GPx1, catalasa) y de las enzimas sintéticas de GSH (GCLC y GCLM) también se debe a la activación de la vía de señalización Nrf-2, la cual al ser



inactivada normaliza el estrés reductor y reduce la hipertrofia cardíaca en los ratones (Xiao, 2020). De forma similar a Hsp25, la Hsp27 puede provocar hipertrofia y disfunción cardíaca a través de un mecanismo de estrés reductor pues promueve la sobreexpresión de GPx1, adicionalmente, en células CCL39 (células de hámster chino) puede provocar una deficiencia de hierro al reducir su captación mediada por TFR1 disminuyendo también la producción de EROs en la célula (Pérez-Torres, 2017).

Respecto a la participación de Nrf2 en la CAP, su función es controvertida, ya que por una parte existe evidencia de que puede mejorar la cardiopatía (Strom, 2017), mientras que por otra parte se ha asociado su sobreexpresión con varias patologías cardíacas, en las cuales participa en dos etapas: inicialmente se activa debido a la generación de EROs, pero posteriormente, se da lugar a una activación y translocación nuclear de Nrf2 sostenida debido a que Keap1 es retenido en el citoplasma por los agregados de proteína, lo cual conduce a incesante sobreexpresión transcripcional de las enzimas antioxidantes que contribuyen a estrés reductor, superando incluso la producción de EROs (Pérez-Torres, 2017; Rajasekaran, 2011). En contraste, la deficiencia de Nrf2 atenúa la CAP en el estrés reductor al reducir la agregación de las proteínas disfuncionales, indicativo de que la modificación oxidativa de las proteínas intracelulares es un evento necesario para una adecuada ubiquitinación y degradación de proteínas (Pérez-Torres, 2017).

Aparte de CAP, se ha observado en ratones modificados genéticamente para sobreexpresar el promotor α MHC, que el estrés reductor crónico producto de la activación constitutiva de Nrf2 es capaz de provocar remodelación cardíaca patológica (p.e. hipertrofia cardíaca) y disfunción diastólica (hipercontracción del ventrículo), con gasto cardíaco anormalmente incrementado (fracción de eyección >80%). En otras



palabras, el estrés reductor crónico describe un claro ejemplo de insuficiencia cardíaca progresiva con fracción de eyección incrementada (ICFEi). Y aunque otros estudios han reportado condiciones para ICFE preservada (ICFEp), aumentar la función del sistema antioxidante podría derivar en insuficiencia cardíaca a lo largo del tiempo (Rajasekaran, 2020; Shanmugam, 2020); aunque esto pareciera negativo y perjudicial para el órgano, se requiere realizar más investigación al respecto debido a que la fracción de eyección ha sido el pilar para medir el éxito terapéutico y el pronóstico en los pacientes con insuficiencia cardíaca y las mejoras o incrementos en la fracción de eyección sugieren la eficacia del tratamiento y una mejor calidad de vida, así como menores tasas de hospitalización y una mayor supervivencia, por lo que el uso de terapias antioxidantes que generen estrés reductor y fracción de eyección incrementada podrían ser benéficas para pacientes con ICFE reducida (ICFEr). En contraste, para individuos que nunca han padecido insuficiencia cardíaca sería perjudicial, dado que su mortalidad es menor comparada con individuos que padecen ICFEi (Albakri, 2020).

Otro precedente de enfermedades cardíacas relacionadas a estrés reductor involucra la funcionalidad de las enzimas NOX. Ya que si la actividad de estas enzimas es inhibida durante I/R el daño celular puede ser mayor que si no estuvieran inhibidas. Esto se debe a que la supresión de la función NOX impide la acumulación de HIF-1 α y, en consecuencia, perjudica el cambio en la utilización de los ácidos grasos a la utilización de la glucosa (reprogramación metabólica) durante la I/R, y por lo tanto aumenta el daño al impedir que la célula compense la falta de ATP proveniente de la CTE (Pérez-Torres, 2017).



4.2 Estrés reductor en la resistencia a la insulina asociada con síndrome metabólico

La sobrealimentación crónica con alto contenido de sacarosa crea una hiperglucemia crónica que puede inducir síndrome metabólico (SM) el cual incluye obesidad, hipertensión, dislipidemia, resistencia a la insulina (IR), hiperinsulinemia y alteración en la secreción de insulina; siendo la IR así como la hiperinsulinemia de los primeros signos del SM. Concretamente, la IR se define como una pérdida de sensibilidad a la hormona por parte de las células, y reducción o ausencia de respuestas metabólicas que promueven la homeostasis de la glucosa (Fernández-Real, 2003; Pérez-Torres, 2017). En este contexto, cuando existen condiciones de hiperglucemia crónica, distintos mecanismos pueden contribuir al desarrollo de estrés reductor, entre ellos, al existir un exceso de glucosa, esta incrementa su flujo a través de las vías glucolíticas, lo que conduce a una mayor producción de NADH; de manera parecida la vía de los polioles utiliza más del 30% de la glucosa corporal, lo que contribuye significativamente al estrés reductor, por otro lado los niveles de NAD⁺ pueden disminuir por la sobreactivación de enzimas consumidoras de NAD⁺ (como la PARP). En conjunto estos fenómenos resultan en el incremento del cociente NADH/NAD⁺ y promueven la producción de EROs en el complejo I de la cadena respiratoria mitocondrial debido a la sobrecarga de NADH. (Pérez-Torres, 2017; Xiao, 2020)

Otro mecanismo relacionado implica la sobreexpresión de GPx1 y se relaciona a IR, hiperglucemia, hiperinsulinemia, aumento de los depósitos de grasa y leptina en plasma. En este caso, la actividad de la GPx-1 interfiere al eliminar excesivamente las EROs intracelulares necesarias para la sensibilización a la insulina. La insulina posee acciones metabólicas y vasodilatadoras como la producción de NO y acciones mitogénicas, de crecimiento y diferenciación celular; y en condiciones normales, induce la fosforilación del receptor de insulina y de la proteína cinasa B (Akt),



generando una explosión de H_2O_2 en las células. Posteriormente, el H_2O_2 formado inhibe temporalmente a la tirosina-fosfatasa celular, permitiendo la sensibilización a la insulina, después, la tirosina-fosfatasa recobra su actividad y disminuye la fosforilación del receptor de insulina. Sin embargo, durante el estrés reductor el exceso de GPx1 disminuye los niveles de H_2O_2 necesarios resultando en una mayor actividad de la tirosina-fosfatasa, menor fosforilación del receptor de insulina y, por ende, menor sensibilidad a la insulina y a sus funciones (Pérez-Torres, 2017).

4.3 Estrés reductor y cáncer

Un delicado balance entre señalización oxidativa y reductora es un factor vital para la homeostasis, la proliferación celular, progresión y resistencia farmacológica de las células cancerosas. Las células cancerosas despliegan obstinadamente altas concentraciones de EROs debido a su metabolismo, a su genética y a la volatilidad asociada al microambiente del tumor. Estos niveles elevados de EROs a su vez son compensados por incrementos en las defensas antioxidantes (Rajasekaran, 2020). Las variaciones en el metabolismo celular están entre las marcas más prominentes de los tumores sólidos y en orden a adaptarse a este metabolismo alterado, las células cancerígenas han tenido que depender de otras rutas metabólicas primarias para apoyar su control redox y así mantener su proliferación (Rajasekaran, 2020). Un ejemplo de esto, son las denominadas células madre del cáncer (CSC) las cuales son un pequeño subconjunto de células dentro del microambiente tumoral que tienen la capacidad de diferenciarse y de promover su autorrenovación al disminuir sus niveles intracelulares de EROs y al estimular la expresión del gen Bmi-1 el cual además promueve la transición epitelial-mesenquimal y aumenta la tumorigenicidad (Kim, 2020). Concretamente, las CSC del cáncer de mama sobre expresan a Nrf2 el cual



incrementa la expresión de la enzima GCLC y, por ende, la biosíntesis de GSH resultando en la disminución intracelular de EROs y estrés reductor (Kim, 2020; Rajasekaran, 2020). Más adelante, dicho estrés reductor y el exceso de GSH estimulan la activación del eje AMPK-FoxO3a-Bmi1 mediante la S-glutationilación de los residuos de cisteína en la subunidad alfa de la AMPK. Esto activa a la AMPK que en respuesta fosforila a FoxO3a facilitando su translocación nuclear y su unión al promotor del gen que codifica a Bmi-1 potenciando la actividad de autorrenovación y el potencial tumorigénico de las CSC del cancer de mama (Kim, 2020). Esto concuerda con las observaciones de que el silenciamiento de Nrf2 suprime la expresión de Bmi-1 y atenúa la tumorigenicidad de las células de cáncer mamario (Rajasekaran, 2020).

Cabe destacar, que además de la autorrenovación, los bajos niveles de EROs podrían conferir a las CSC resistencia a la radiación ionizante; aunado a esto, también se sabe que la sobreexpresión de Nrf2 atenúa la apoptosis inducida por el cisplatino *in vitro* en células de cáncer de mama humano (MCF-7) durante condiciones de hipoxia; dicha resistencia puede ser reducida por inhibición química del GCLC o su silenciamiento génico (Kim, 2020).



Capítulo V – Antioxidantes

El efecto protector de algunos compuestos con efecto antioxidante es bien conocido. Las defensas antioxidantes intra o extracelulares pueden eliminar varios radicales, eliminar las proteínas dañadas por los radicales libres, suprimir los ácidos grasos oxidados de las membranas y deshacer los daños en el ADN causado por los radicales libres. Sin embargo, el uso de antioxidantes no es del todo eficaz para tratar enfermedades neurodegenerativas, la inflamación crónica, las enfermedades cardiovasculares y el cáncer, de hecho, podría aumentar la producción de radicales libres (Pérez-Torres, 2017). Las dosis elevadas de antioxidantes pueden provocar disfunción celular al alterar el equilibrio redox tras interactuar con concentraciones fisiológicas de EROs (Martin, 2002) e interferir con el metabolismo de algunos nutrientes, aumentar el riesgo de cáncer o incluso reducir la eficacia de los tratamientos contra el cáncer (p.e radioterapia/quimioterapia), disminuyendo así los efectos benéficos para la salud y disminuyendo la esperanza de vida (Pérez-Torres, 2017).

Acorde con lo anterior, se ha demostrado que el uso de antioxidantes en *C. elegans* previene la extensión en la esperanza de vida al inhibir la mitohormesis (Schulz, 2007). Otro ejemplo, involucra un estudio en el que varones fumadores estuvieron expuestos a suplementos diarios de vitamina E y betacaroteno, por un periodo de 5 - 8 años y se observó que la mortalidad promedio aumentó en los varones fumadores que tomaban suplementos de betacaroteno y probablemente se debió a su efecto sobre la proliferación celular. Esto debido a que la concentración intracelular de EROs es fundamental para la supervivencia de las células cancerosas y ha sido demostrado en células de cáncer de pulmón humano que aumentos agudos en las concentraciones intracelulares de EROs inhiben la glucólisis, desviando el flujo de



glucosa hacia la ruta de las pentosas fosfato generando suficiente potencial reductor (respuesta antioxidante) para la desintoxicación de EROs promoviendo cambios metabólicos necesarios para la proliferación, permitiendo que las células cancerosas resistan el estrés oxidativo. Esto plantea la cuestión de si la disminución de la toxicidad de las células cancerígenas usando antioxidantes podría aumentar la incidencia de cáncer al permitir la supervivencia inadecuada de estas células. (Poljsak, 2012).

5.1 β -caroteno

El β -caroteno es el carotenoide más abundante en la naturaleza, y es la provitamina más importante en la dieta humana. La mucosa del intestino delgado lo transforma en vitamina A, y luego se almacena en el hígado como éster de retinol. Como antioxidante liposoluble, reduce las posibilidades de sufrir ataques cardíacos y aumenta la eficacia del sistema inmunitario. Sin embargo, en dosis altas puede aumentar la síntesis y liberación de TNF- α e IL-8, que son mediadores proinflamatorios, esto debido a que, a pesar de ser clasificado como un antioxidante, también posee actividad prooxidante (antireductora), los compuestos con esta “doble naturaleza” se exponen con mayor profundidad en el capítulo siguiente (Pérez-Torres, 2017). Por otro lado, gracias a su actividad antioxidante, si se administra en exceso o como un compuesto aislado puede aumentar la incidencia del cáncer de pulmón, la mortalidad en fumadores y el riesgo de pólipos adenomatosos grandes en mujeres (Pérez-Torres, 2017; Poljsak, 2012).

5.2 N-acetilcisteína

La N-acetilcisteína (NAC) es un fármaco con propiedades mucolíticas que también tiene efectos antioxidantes, y se utiliza como precursor para la formación de GSH. Del



mismo modo que con otros compuestos antioxidantes, la NAC ha demostrado tener efectos perjudiciales si no se consume de manera adecuada. Por ejemplo, el tratamiento crónico con NAC induce estrés reductor en mioblastos deteriorando la función mitocondrial (Pérez-Torres, 2017). Otro precedente involucra células de riñón embrionario humano, en ellas el tratamiento con NAC puede inducir sobreexpresión de la subunidad catalítica GCL o su modificación, favoreciendo un aumento de GSH provocando oxidación mitocondrial y citotoxicidad (Zhang, 2012). Finalmente, también se ha observado en ratones y sujetos humanos con cáncer de pulmón inducido por B-RAF y K-RAS, que el consumo combinado de NAC con vitamina E, aumenta notablemente la progresión de tumores y reduce la supervivencia (Mendelsohn, 2014).

5.3 Estrógenos

La acción antioxidante de los estrógenos, y especialmente del 17β -estradiol, se despliega por dos mecanismos; el primero es a través de su estructura hidroxifenólica, que puede donar átomos de hidrógeno, mientras que el segundo mecanismo está asociado a su efecto estimulante sobre los genes de enzimas antioxidantes. Sin embargo, los estrógenos en alta concentración ejercen efectos nocivos al basar su actividad bioquímica predominantemente sobre su anillo fenólico el cual participa en reacciones metabólicas que inducen estrés oxidativo en la célula (Pérez-Torres, 2017). Por ejemplo, se producen EROs durante el ciclo redox de los estrógenos en el cual a través de oxidaciones se obtienen estrógenos catecólicos, y posteriormente quinonas, que también son consideradas pro-oxidantes dado que producen EROs (Liehr, 1990; Rivera-Portalatin, 2007). Aunado a esto, los estrógenos metabolizados en radicales fenoxilo, quinonas o semiquinonas, pueden causar daños en las células



ya sea a través de la alquilación u oxidación de macromoléculas celulares, incluido el ADN, pudiendo también promover la transformación neoplásica y el desarrollo de cáncer de mama (Pérez-Torres, 2017).



Capítulo VI – Antireductores

Los antireductores son moléculas que previenen o inhiben la reducción de otro compuesto al reducirse a sí mismas, por tanto, son aceptores de electrones o sustancias que disminuyen la cantidad de hidrógeno. Los antireductores comprenden desde antiradicales (como carotenoides) hasta reductores de la emisión de metano ruminal (como fumarato, catequina o resveratrol). Más allá de estos compuestos multifuncionales, el espectro de antireductores se extiende incluso a los atrayentes de electrones puros como el O₂ que protege a las raíces de las plantas de reductores tóxicos como H₂ y H₂S (Becker, 2016). De los grupos mencionados, la clasificación de antiradicales se define como un conjunto de antioxidantes y antireductores que actúan sobre los radicales libres. Aunque los antioxidantes y los antireductores tienen funciones opuestas, convergen en este grupo debido a que ambos mitigan el daño por radicales libres, por un lado, los antioxidantes pueden transferir un electrón a los radicales libres convirtiéndolos en compuestos menos reactivos de dos electrones; alternativamente, los antireductores oxidan a los radicales libres evitando que otras biomoléculas de importancia sean oxidadas y pierdan su función. Cabe destacar que, aunque ambos mecanismos de acción “antiradical” son distintos, se les suele denominar invariablemente mecanismos antioxidantes ya que los dos neutralizan a los radicales libres (Becker, 2016).

Otro grupo que es de especial importancia mencionar incluye a los compuestos de “doble naturaleza” o con “cara de Janus” y que engloba a compuestos antioxidantes en los que se ha descubierto una función antireductora (Becker, 2016). Los compuestos en cuestión pueden tanto donar electrones (actividad antioxidante) como aceptar electrones (actividad antireductora). No obstante, la “doble naturaleza” no se refiere a las parejas redox ni a las acciones regeneradoras como la del glutatión. Por



el contrario, quiere decir que, a partir de un mismo compuesto único, la acción antioxidante o antireductora genera productos de conversión oxidados o reducidos. Antioxidantes naturales bien conocidos, como ciertos carotenoides y los flavonoides entran en esta categoría, además de pequeños metabolitos como el fumarato (Becker, 2016).

En el caso del fumarato, este puede actuar como antioxidante activando a la enzima GPx1 que elimina las EROs o uniéndose al ozono. En contraste, puede actuar como antireductor teniendo efectos cardioprotectores durante la hipoxia, al actuar como un aceptor de electrones evitando la fermentación endógena y necrosante del piruvato a ácido láctico (**figura 20**) (Becker, 2016).

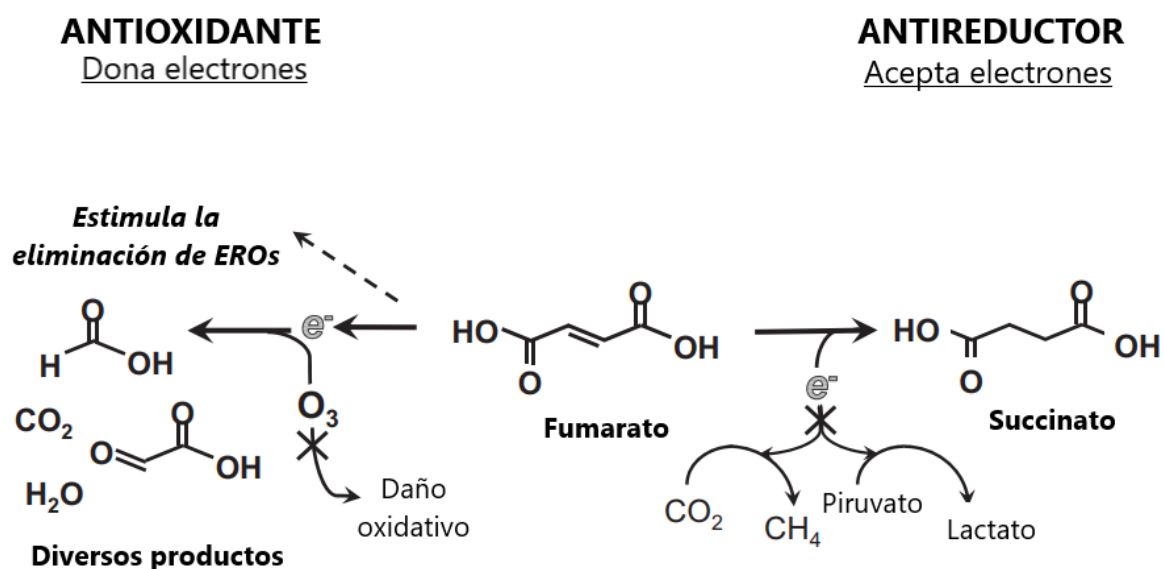


Figura 20. Doble naturaleza del fumarato. Imagen modificada (Becker, 2016).

Otro antioxidante de doble naturaleza es la enzima SOD que en presencia de dos moléculas de anión superóxido lleva a cabo la reducción a H₂O₂ y la oxidación a O₂. Por lo tanto, esta enzima ha sido clasificada como antioxidante y antireductora (Becker, 2016).



Aunque los antireductores pueden tener efectos benéficos, si éstos se ingieren en exceso, podrían, como electrofílicos, inducir estrés oxidativo, causar proteotoxicidad y daño celular. Por lo tanto, al igual que el uso de antioxidantes para la promoción de la salud, la aplicación de antireductores parece igualmente desafiante (Becker, 2016). Finalmente, *in vivo* la protección temprana contra el estrés reductor es ofrecida por diversos antireductores endógenos como la albumina del suero y biomoléculas con grupos metil electrofílicos (S-adenosilmetionina, betaína, carnitina, colina, glicerilfosforilcolina y fosfatidilcolina), que al ser potenciales aceptores de electrones (antireductores) podrían ser las principales defensas del organismo contra el estrés reductor (Becker, 2016; Ghyczy, 2001)



Capítulo VII - ¿Por qué es necesario estudiar el estrés reductor?

Evidentemente para entender los procesos relacionados con el estrés reductor se requiere más investigación tanto básica como aplicada, así como el desarrollo de nuevos productos que permitan el tratamiento de sus padecimientos o mejor aún, que tengan características profilácticas, como lo son los antireductores, moléculas que previenen o inhiben la reducción de otro compuesto al reducirse a sí mismas (Becker, 2016). El estrés reductor sigue siendo un tema escasamente investigado, debido posiblemente a que es un concepto relativamente nuevo y a la creencia de que solo un ambiente oxidativo puede derivar en daño a las proteínas, lípidos y ácidos nucleicos. Sin embargo, el exceso de equivalentes reductores también es perjudicial para las células por varios mecanismos que incluyen la interrupción en las funciones de señalización de las EROs, inducción de la producción de EROs, perturbaciones del metabolismo celular e inhibición en la formación de puentes disulfuro en las proteínas (Xiao, 2020).

De igual manera, puesto que muchos estudios se centran en el corazón, es necesario investigar el estrés reductor en una mayor variedad de órganos, usando distintos sujetos de estudio, como por ejemplo, fenotipos distintos al cáncer de mama, y en condiciones que se asemejen a las características *in vivo*, con el fin de entender completamente los mecanismos que lo generan, como participa en el desarrollo de enfermedades degenerativas y como puede ser atenuado a partir de nuevas terapias, en este último caso, el potencial de investigación y desarrollo es sumamente amplio. Aunado a esto, al entender mejor los mecanismos patológicos del ambiente reductor, será posible generar algoritmos diagnósticos enfocados a enfermedades causadas por trastornos redox que además incluyan tratamientos antioxidantes benéficos que no exacerben la enfermedad, como en el caso de enfermedades tumorales.



IV. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

El estrés reductor podría definirse como un aumento en los niveles de equivalentes reductores, que en primera instancia disminuye los niveles de EROs al estimular los sistemas antioxidantes pero que posteriormente estimula la generación de EROs y estrés oxidativo al propiciar la reducción del oxígeno. Dicho estrés reductor puede alterar la función mitocondrial, provocar un mal plegamiento de proteínas, propiciar la supervivencia de células cancerosas o incluso disminuir la sensibilización a la insulina; por lo tanto, se le relaciona con varias enfermedades como la cardiomiopatía por agregación de proteínas, síndrome metabólico, diabetes, cáncer entre otras; de igual manera, al ser una fuente de estrés oxidativo, también se le asocia a las enfermedades que este conlleva. En otras palabras, la homeostasis de los pares redox es de suma importancia debido a que en la mayoría de los casos no importa si hay estrés oxidativo o estrés reductor en la célula, ambos desequilibrios en el estado redox resultaran en la producción de EROs, lo cual a su vez provocará oxidación de los componentes celulares y citotoxicidad. Por lo que es necesario realizar más investigaciones, no solo para definir de mejor manera los conceptos y mecanismos que subyacen al estrés reductor, sino también para delimitar los límites benéficos tanto de las sustancias antioxidantes como de las oxidantes (antireductores). Conforme a esto, se espera que este escrito sirva como fuente de estudio para otras investigaciones y que al mismo tiempo estimule a otros miembros de la comunidad científica a dilucidar las muchas interrogantes aún por responder en esta área escasamente explorada.



V. GLOSARIO

- **Agente desacoplante:** Agente que permite la translocación de los protones en la mitocondria desde el espacio intermembranal a la matriz mitocondrial sin que haya síntesis de ATP, acelerando por tanto la respiración y disipando la energía del gradiente de protones en forma de calor (Rial, 2007).
- **Antioxidante:** Sustancia que protege las células de los daños que causan los radicales libres. Entre los antioxidantes están el betacaroteno, el licopeno, las vitaminas A, C y E, y otras sustancias naturales y fabricadas (Instituto Nacional del Cáncer, 2021).
- **Antiradical:** Grupo de antioxidantes y antireductores que actúan neutralizando los radicales libres (Becker, 2016).
- **Antireductor:** Moléculasceptoras de electrones que previenen o inhiben la reducción de otro compuesto al reducirse a sí mismas (Becker, 2016).
- **Compuestos de doble naturaleza o con “cara de Janus”:** Antioxidantes en los que se ha descubierto una función antireductora. Los compuestos en cuestión pueden tanto donar electrones (actividad antioxidante) como aceptar electrones (actividad antireductora) (Becker, 2016).
- **Autofagia:** Proceso por el que la célula descompone y destruye proteínas viejas, dañadas o anormales, y otras sustancias en su citoplasma. Los productos de la descomposición se reciclan para funciones celulares importantes, en especial durante períodos de estrés o ayuno (Instituto Nacional del Cáncer, 2021).
- **Balance de EROs optimizado por redox:** Hipótesis que establece que el balance redox se pierde y la producción de EROs se incrementa en ambos



extremos de oxidación y reducción de los pares redox NADH/NAD⁺, NADPH/NADP⁺ y GSH/GSSG (Korge, 2015).

- **Bmi-1:** Bmi-1 es un miembro del complejo represor Polycomb 1 que media el silenciamiento de genes mediante la regulación de la estructura de la cromatina y es indispensable para la autorrenovación de las células madre, tanto normales como cancerosas (Bhattacharya, 2015).
- **B-RAF:** Gen que codifica una proteína que participa en el envío de señales en las células y en la multiplicación celular. Se han encontrado formas mutadas del gen BRAF y de su proteína en muchos tipos de cáncer (Instituto Nacional del Cáncer, 2021).
- **Especies reactivas de oxígeno:** Formas del oxígeno con un alto estado de energía o formas de oxígeno molecular parcialmente reducidas y con mayor reactividad (Kehrer, 2007).
- **Estrés oxidativo:** Alteración en el equilibrio prooxidante-antioxidante a favor de los prooxidantes aumentando el potencial de daño (Kehrer, 2007).
- **Estrés reductor:**
 - ❖ Alteración en el equilibrio prooxidante-antioxidante a favor de los antioxidantes aumentando el potencial de daño (Kehrer, 2007).
 - ❖ Acumulación excesiva de equivalentes reductores (específicamente NADH, NADPH y GSH) que excede la capacidad de las oxidorreductasas endógenas (Xiao, 2020).
 - ❖ Aumento en los niveles de equivalentes reductores, que en primera instancia disminuye los niveles de EROs al estimular los sistemas antioxidantes pero que posteriormente estimula la generación de EROs y estrés oxidativo al propiciar la reducción del oxígeno.



- **Isquemia:** Falta de suministro de sangre a una parte del cuerpo. La isquemia puede causar daño a los tejidos debido a la falta de oxígeno y nutrientes (Instituto Nacional del Cáncer, 2021).
- **K-RAS:** Gen que da origen a una proteína que participa en las vías de señalización celular que controlan la multiplicación, la maduración y la destrucción de las células. Se han encontrado formas mutadas del gen KRAS en algunos tipos de cáncer (Instituto Nacional del Cáncer, 2021).
- **Mitohormesis:** Respuesta biológica que se produce al inducir una cantidad reducida de estrés mitocondrial y que conduce a un aumento de la salud y viabilidad de una célula, tejido u organismo (Bárcena, 2018).
- **PARP:** Enzima que participa en muchas funciones celulares, incluso el reparo del daño al ADN. Los inhibidores de la enzima, PARP-1, están en estudio para el tratamiento de cáncer (Instituto Nacional del Cáncer, 2021).
- **Pólipos:** Tumores benignos que se pueden encontrar en varias ubicaciones del tracto digestivo, pero son más comunes en el colon. Algunos pólipos pueden contener pequeñas zonas cancerígenas, si bien la gran mayoría no presentan esta complicación (ASGE, 2021).
- **Radicales libres:** Moléculas con uno o más electrones desapareados que no están controlados por su entorno inmediato (Kehrer, 2007).
- **Sintasas de óxido nítrico (NOS):** Familia de enzimas localizadas en el citosol (excepto la NOS mitocondrial) que generan óxido nítrico a partir de L-arginina, NADPH y O₂ (Carvajal, 2019).
- **Desacoplamiento de la NOS:** Fenómeno en el que la enzima NOS produce superóxido, y que ocurre cuando existe un faltante relativo de cualquiera de las



sustancias implicadas en la reacción de la NOS (arginina, BH4 o NADPH) (Carvajal, 2019).

- **Transición epitelial-mesenquimal:** Proceso fundamental durante el desarrollo embrionario, la remodelación tisular y la cicatrización, que implica pérdida de las propiedades adhesivas y la polaridad epitelial y adquisición del fenotipo mesenquimal que aumenta la movilidad celular individual y permite el desarrollo de características invasivas (Benedetti, 2015).
- **Vía de los polioles:** Ruta preferencial para la conversión de la glucosa en tejidos que no requieren insulina para su captación. En ella, la glucosa es transformada a fructosa por acción de la aldosa reductasa y la sorbitol deshidrogenasa, disminuye los niveles de NADPH y aumenta los de NADH (Díaz-Flores, 2004).



VI. REFERENCIAS

1. Albakri, A. (2020). *Heart failure with improved ejection fraction: A review and pooled analysis of pathophysiology, diagnosis and clinical management*. *Int Med Care*, 4, 1-9. DOI: 10.15761/IMC.1000141
2. ASGE. (2021). *Cómo comprender los pólipos del colon y su tratamiento*. Consultado el 20/06/21 en: <https://www.asge.org/home/for-patients/patient-information/c%C3%B3mo-comprender-los-p%C3%B3lipos-del-colon-y-su-tratamiento-peb08s>
3. Bárcena, C., Mayoral, P., & Quirós, P. M. (2018). *Mitohormesis, an Antiaging Paradigm*. *International review of cell and molecular biology*, 340, 35–77. <https://doi.org/10.1016/bs.ircmb.2018.05.002>
4. Becker, P. M. (2016). *Antireduction: an ancient strategy fit for future*. *Biosci Rep*; 36 (4): e00367. doi: <https://doi.org/10.1042/BSR20160085>
5. Bellezza, I., Giambanco, I., Minelli, A., & Donato, R. (2018). *Nrf2-Keap1 signaling in oxidative and reductive stress*. *Biochimica et biophysica acta. Molecular cell research*, 1865(5), 721–733. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2018.02.010>
6. Benedetti, I. & Reyes, N. (2015). *Transición epitelial-mesenquimal en la progresión del adenocarcinoma prostático*. *Iatreia*, 28(4), 420-433. <https://doi.org/10.17533/udea.iatreia.v28n4a07>
7. Bhattacharya, R., Mustafi, S. B., Street, M., Dey, A., & Dwivedi, S. K. (2015). *Bmi-1: At the crossroads of physiological and pathological biology*. *Genes & diseases*, 2(3), 225–239. <https://doi.org/10.1016/j.gendis.2015.04.001>
8. Carvajal, C. (2019). *Especies reactivas del oxígeno: formación, función y estrés oxidativo*. *Medicina Legal de Costa Rica*, 36(1), 91-100. Retrieved June 19, 2021, from http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1409-00152019000100091&lng=en&tlng=es.
9. Corrales, L. C. & Muñoz A. M. M. (2012). *Estrés oxidativo: origen, evolución y consecuencias de la toxicidad del oxígeno*. *Nova*, 10(18), 213-225. Retrieved May 15, 2021, from http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1794-24702012000200009&lng=en&tlng=es



10. Denzoin, L. A., Soraci, A. L. & Tapia, M. O. (2013). Homeostasis del glutatión. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 47(3), 529-539. [fecha de Consulta 14 de abril de 2021]. ISSN: 0325-2957. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=53529349007>
11. Díaz-Flores, M., Baiza, L., Ibáñez, M., Pascoe, D., Guzmán, A. & Kumate, J. (2004). Aspectos moleculares del daño tisular inducido por la hiperglucemia crónica. *Gaceta médica de México*, 140(4), 437-447. Recuperado en 21 de junio de 2021, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0016-38132004000400014&lng=es&tlng=es.
12. Fernández-Real, J. M., & Ricart, W. (2003). Insulin resistance and chronic cardiovascular inflammatory syndrome. *Endocrine reviews*, 24(3), 278–301. <https://doi.org/10.1210/er.2002-0010>
13. Forrellat, M., Gautier, H. & Fernández, N. (2000). Metabolismo del hierro. *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia*, 16(3), 149-160. Recuperado en 14 de abril de 2021, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892000000300001&lng=es&tlng=es
14. Fu, Y., Sies, H., & Lei, X. G. (2001). Opposite roles of selenium-dependent glutathione peroxidase-1 in superoxide generator diquat- and peroxy-nitrite-induced apoptosis and signaling. *The Journal of biological chemistry*, 276(46), 43004–43009. <https://doi.org/10.1074/jbc.M106946200>
15. García, M. D. (2016). Desarrollo de técnicas farmacológicas para la identificación y cribado de fármacos mediante microarrays de membranas celulares (tesis doctoral). Universidad del país Vasco.
16. Ghyczy, M. y Boros, M. (2001). *Electrophilic methyl groups present in the diet ameliorate pathological states induced by reductive and oxidative stress: a hypothesis*. *British Journal of Nutrition* 85, 409-414.
17. Ghyczy, M. y Boros, M. (2002). *Evidence in support of a concept of reductive stress - Reply by Ghyczy & Boros*. *British Journal of Nutrition*, 87(1), 94. <https://doi.org/10.1079/BJN2001488>
18. Gilmore, T. (2014). *NF-κB signaling*. Recuperado el 18 de mayo de 2021 de Cell Signaling Technology: <https://www.cellsignal.at/pathways/nfkb-signaling-pathway>



19. Haan, J. B., & Cooper, M. E. (2011). Targeted antioxidant therapies in hyperglycemia-mediated endothelial dysfunction. *Frontiers in bioscience (Scholar edition)*, 3, 709–729. <https://doi.org/10.2741/s182>
20. Instituto Nacional del Cáncer. (2021). *Autofagia*. NIH. Obtenido el 19/04/2021 en: <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-cancer/def/autofagia>
21. Instituto Nacional del Cáncer. (2021). *Antioxidante*. NIH. Obtenido el 20/06/21: <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-cancer/def/antioxidante>
22. Instituto Nacional del Cáncer. (2021). *Gen BRAF*. NIH. Obtenido el 20/06/2021 en: <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-cancer/def/gen-braf>
23. Instituto Nacional del Cáncer. (2021). *Isquemia*. NIH. Obtenido el 20/06/2021 en: <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-cancer/def/isquemia>
24. Instituto Nacional del Cáncer. (2021). *Gen KRAS*. NIH. Obtenido el 20/06/2021 en: <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-cancer/def/gen-kras>
25. Instituto Nacional del Cáncer. (2021). *PARP*. NIH. Obtenido el 20/06/2021 en: <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-cancer/def/parp>
26. Kasamatsu, S., Nishimura, A., Morita, M., Matsunaga, T., Abdul Hamid, H., & Akaike, T. (2016). Redox Signaling Regulated by Cysteine Persulfide and Protein Polysulfidation. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 21(12), 1721. <https://doi.org/10.3390/molecules21121721>
27. Kehrer, J. P. (2007). *Reductive Stress*. En Fink, G. (ed). *Encyclopedia of Stress* (pp. 331-336). Academic Press. doi: [10.1016/B978-012373947-6.00323-8](https://doi.org/10.1016/B978-012373947-6.00323-8).
28. Kim, D. H., Jang, J. H., Kwon, O. S., Cha, H. J., Youn, H. J., Chun, K. S., & Surh, Y. J. (2020). Nuclear Factor Erythroid-Derived 2-Like 2-Induced Reductive Stress Favors Self-Renewal of Breast Cancer Stem-Like Cells via the FoxO3a-Bmi-1 Axis. *Antioxidants & redox signaling*, 32(18), 1313–1329. <https://doi.org/10.1089/ars.2019.7730>
29. Königsberg F. M. (2007). Nrf2: La historia de un nuevo factor de transcripción que responde a estrés oxidativo. *Rev Educ Bioquímica*. 26(1):18-25.



30. Korge, P., Calmettes, G., & Weiss, J. N. (2015). *Increased reactive oxygen species production during reductive stress: The roles of mitochondrial glutathione and thioredoxin reductases*. *Biochimica et biophysica acta*, 1847(6-7), 514–525. <https://doi.org/10.1016/j.bbabc.2015.02.012>
31. Liehr, J. G., & Roy, D. (1990). Free radical generation by redox cycling of estrogens. *Free radical biology & medicine*, 8(4), 415–423. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(90\)90108-u](https://doi.org/10.1016/0891-5849(90)90108-u)
32. Lipinski, B. (2002). *Evidence in support of a concept of reductive stress*. *The British journal of nutrition*, 87(1), 93–94. <https://doi.org/10.1079/BJN2001435>
33. Liu, T., Zhang, L., Joo, D., & Sun, S. C. (2017). NF- κ B signaling in inflammation. *Signal transduction and targeted therapy*, 2, 17023–. <https://doi.org/10.1038/sigtrans.2017.23>
34. Lloret, A., Fuchsberger, T., Giraldo, E. y Viña, J. (2016). *Reductive Stress: A New Concept in Alzheimer's Disease*. *Current Alzheimer research*, 13(2), 206–211. <https://doi.org/10.2174/1567205012666150921101430>
35. López-Bojorquez, L. (2004). *La regulación del factor de transcripción NF- κ B. Un mediador molecular en el proceso inflamatorio*. *Revista de investigación clínica*, 56(1), 83-92. Recuperado en 02 de febrero de 2021, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-83762004000100012&lng=es&tlng=es
36. Luna-Ortiz, P., Torres, J. C., Pastelin, G., & Martínez-Rosas, M. (2011). Myocardial postconditioning: anaesthetic considerations. *Archivos de cardiología de México*, 81(1), 33–46.
37. Mailloux, R. J., Jin, X., & Willmore, W. G. (2013). Redox regulation of mitochondrial function with emphasis on cysteine oxidation reactions. *Redox biology*, 2, 123–139. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2013.12.011>
38. Martin, K. R., & Barrett, J. C. (2002). Reactive oxygen species as double-edged swords in cellular processes: low-dose cell signaling versus high-dose toxicity. *Human & experimental toxicology*, 21(2), 71–75. <https://doi.org/10.1191/0960327102ht213oa>
39. Mendelsohn, A. R., & Larrick, J. W. (2014). Paradoxical effects of antioxidants on cancer. *Rejuvenation research*, 17(3), 306–311. <https://doi.org/10.1089/rej.2014.1577>



40. Peretó J. (2011) NADH, NADPH. In: Gargaud M. et al. (eds) Encyclopedia of Astrobiology. Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-11274-4_1039
41. Pérez-Torres, I., Guarner, V. y Rubio, M. E. (2017). *Reductive Stress in Inflammation-Associated Diseases and the Pro-Oxidant Effect of Antioxidant Agents*. International journal of molecular sciences, 18(10), 2098. <https://doi.org/10.3390/ijms18102098>
42. Poljsak, B. y Milisav, I. (2012). *The neglected significance of "antioxidative stress"*. Oxidative medicine and cellular longevity, 2012, 480895. <https://doi.org/10.1155/2012/480895>
43. Rajasekaran, N. S. (2020). *Reductive Stress: Neglected Science*. Antioxidants & redox signaling, 10.1089/ars.2020.8114. Advance online publication. <https://doi.org/10.1089/ars.2020.8114>
44. Rajasekaran, N. S., Varadharaj, S., Khanderao, G. D., Davidson, C. J., Kannan, S., Firpo, M. A., Zweier, J. L., & Benjamin, I. J. (2011). Sustained activation of nuclear erythroid 2-related factor 2/antioxidant response element signaling promotes reductive stress in the human mutant protein aggregation cardiomyopathy in mice. Antioxidants & redox signaling, 14(6), 957–971. <https://doi.org/10.1089/ars.2010.3587>
45. Reeves, M. A., & Hoffmann, P. R. (2009). The human selenoproteome: recent insights into functions and regulation. Cellular and molecular life sciences: CMLS, 66(15), 2457–2478. <https://doi.org/10.1007/s00018-009-0032-4>
46. Rial, E., González, M., Hernández, O., Huerta, R. & Vivas, R. (2007). *LA PROTEÍNA DESACOPLANTE UCP1 DEL TEJIDO ADIPOSO CAFÉ: MECANISMO, ESTRUCTURA, FUNCIÓN Y REGULACIÓN*. Mensaje Bioquímico, Vol. XXXI. ISSN-0188-137X.
47. Ribas, V., García, C. & Fernández, J. C. (2014). Glutathione and mitochondria. Frontiers in pharmacology, 5, 151. <https://doi.org/10.3389/fphar.2014.00151>
48. Rivera-Portalatin, N. M., Vera, J. L., Prokai, K. & Prokai, L. (2007). Comparison of estrogen-derived ortho-quinone and para-quinol concerning induction of oxidative stress. The Journal of steroid biochemistry and molecular biology, 105(1-5), 71–75. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2006.11.025>
49. Ronchi, J. A., Figueira, T. R., Ravagnani, F. G., Oliveira, H. C., Vercesi, A. E., & Castilho, R. F. (2013). A spontaneous mutation in the nicotinamide nucleotide



- transhydrogenase gene of C57BL/6J mice results in mitochondrial redox abnormalities. *Free radical biology & medicine*, 63, 446–456. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2013.05.049>
50. Salinas, G. (2010). Bioquímica de la selenocisteína, el 21er aminoácido, y rol de las selenoproteínas en la salud humana. *Mensaje Bioquímico*, Vol. XXXIV, 121-133. [fecha de Consulta 14/Abril/2021]. ISSN-0188-137X. Disponible en: <http://riquim.fq.edu.uy/archive/files/92c0927114e753f9b3652f19f3c66b15.pdf>
51. Schulz, T. J., Zarse, K., Voigt, A., Urban, N., Birringer, M., & Ristow, M. (2007). *Glucose restriction extends Caenorhabditis elegans life span by inducing mitochondrial respiration and increasing oxidative stress*. *Cell metabolism*, 6(4), 280–293. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2007.08.011>
52. Shanmugam, G., Wang, D., Gounder, S. S., Fernandes, J., Litovsky, S. H., Whitehead, K., Radhakrishnan, R. K., Franklin, S., Hoidal, J. R., Kensler, T. W., Dell'Italia, L., Darley-Usmar, V., Abel, E. D., Jones, D. P., Ping, P., & Rajasekaran, N. S. (2020). Reductive Stress Causes Pathological Cardiac Remodeling and Diastolic Dysfunction. *Antioxidants & redox signaling*, 32(18), 1293–1312. <https://doi.org/10.1089/ars.2019.7808>
53. Strom, J., & Chen, Q. M. (2017). Loss of Nrf2 promotes rapid progression to heart failure following myocardial infarction. *Toxicology and applied pharmacology*, 327, 52–58. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2017.03.025>
54. Wang, V. Y., Huang, W., Asagiri, M., Spann, N., Hoffmann, A., Glass, C., & Ghosh, G. (2012). The transcriptional specificity of NF- κ B dimers is coded within the κ B DNA response elements. *Cell reports*, 2(4), 824–839. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2012.08.042>
55. Xiao, W., & Loscalzo, J. (2020). Metabolic Responses to Reductive Stress. *Antioxidants & redox signaling*, 32(18), 1330–1347. <https://doi.org/10.1089/ars.2019.7803>
56. Zhang, H., Limphong, P., Pieper, J., Liu, Q., Rodesch, C. K., Christians, E., & Benjamin, I. J. (2012). Glutathione-dependent reductive stress triggers mitochondrial oxidation and cytotoxicity. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 26(4), 1442–1451. <https://doi.org/10.1096/fj.11-199869>
57. Zhang, J., Ye, Z. W., Singh, S., Townsend, D. M., & Tew, K. D. (2018). An evolving understanding of the S-glutathionylation cycle in pathways of redox



regulation. *Free radical biology & medicine*, 120, 204–216.
<https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2018.03.038>

58. Zhang, Q., Chen, L., Guo, K., Zheng, L., Liu, B., Yu, W., Guo, C., Liu, Z., Chen, Y., & Tang, Z. (2013). Effects of different selenium levels on gene expression of a subset of selenoproteins and antioxidative capacity in mice. *Biological trace element research*, 154(2), 255–261. <https://doi.org/10.1007/s12011-013-9710-z>