

Una mirada al estrés oxidativo en la célula

Augusto Zuluaga Vélez;

Ingeniero Químico, Estudiante de la Maestría en Biología Molecular y Biotecnología, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Tecnológica de Pereira, Pereira, Risaralda, Colombia.
Correo electrónico: azuluagav@gmail.com

Duverney Gaviria Arias.

Biólogo, Magister en Biología Molecular y Biotecnología, Candidato a Doctor, Docente de la Maestría en Biología Molecular y Biotecnología, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Tecnológica de Pereira, Pereira, Risaralda, Colombia.

Resumen

Las células de nuestro cuerpo son fuente de especies reactivas, las cuales, ayudado por una disfunción de las defensas antioxidantes, pueden atacar moléculas fundamentales, desencadenando desordenes graves como la neurodegeneración. En esta revisión se describen las especies reactivas como el anión radical superóxido, el anión hidroxilo, el peróxido de hidrógeno, el ácido hipocloroso, el óxido nítrico y el peroxinitrito, con fuentes como, la cadena de transporte de electrones y las enzimas monoamino oxidasa y NADPH oxidasa. También se detallan los mecanismos de defensa antioxidante endógenos y como una falla de los mismos origina agregación de proteínas, oxidación de bases nitrogenadas en la molécula de ácido desoxirribonucleico (ADN) y peroxidación lipídica.

Palabras clave: estrés oxidativo; especies reactivas; agregación de proteínas; peroxidación lipídica y daño en ADN.

A look to the oxidative stress in the cell

Abstract

The cells of our body are a source of reactive species, which, aided by a dysfunction of antioxidant defenses can attack key molecules, triggering serious disorders such as neurodegeneration. This review describes the reactive species such as superoxide anion radical, hydroxyl anion, hydrogen peroxide, hypochlorous acid, nitric oxide and peroxynitrite also from sources such as the electron transport chain, the monoamine oxidase and NADPH oxidase. It also details the endogenous antioxidant defense mechanisms and as its failure triggers aggregation of proteins, oxidation of nitrogenous bases in the dextoxyrrybonucleic acid (DNA) molecule and lipid peroxidation.

Key words: oxidative stress; reactive species; protein aggregation; lipid peroxidation; and DNA damage.

Introducción

Los seres humanos necesitan oxígeno para sobrevivir, pero la hiperoxia produce toxicidad, incluyendo neurotoxicidad (1). De hecho, nos encontramos con que esto sucede en todos nuestros tejidos todo el tiempo, incluso en 21% de O₂, siempre hay un nivel basal de daño oxidativo al ácido desoxirribonucleico (ADN), los lípidos y las proteínas (2,3). Así, los sistemas que reparan y reemplazan las biomoléculas

Recibido : 11-10-2012.

Aceptado : 16-11-2012.

oxidadas son esenciales, y fallas en ellos, contribuyen a la neurodegeneración (4). En aerobios sanos, hay un equilibrio entre la producción de diversas especies reactivas (especies reactivas de oxígeno, especies reactivas de cloro y especies reactivas de nitrógeno) y las defensas antioxidantes (5-8). Estas especies no son completamente eliminadas ya que son moléculas críticas en procesos biológicos como la transducción de señales, la plasticidad sináptica, la formación de memoria (9), defensa contra las infecciones y coordinadores de la respuesta inflamatoria (10,11).

Sin embargo, muchas especies reactivas pueden lesionar los tejidos humanos y, si esto sucede a menudo, el resultado es el desarrollo de cáncer, enfermedades neurodegenerativas y diabetes (12-15). De todas formas, esto suele ocurrir en los años post-reproductivos, donde los mecanismos de reparación tienden a fallar (16), probablemente porque, la evolución ha seleccionado invertir los escasos recursos energéticos sólo hasta que la reproducción se ha completado y la descendencia puede sobrevivir. Un ejemplo extremo de esto es el salmón del océano Pacífico (género *Oncorhynchus*), el cual crece, se reproducen una sola vez, y luego se deteriora rápido y muere. Las posibilidades de que un salmón del Pacífico sobreviva para reproducirse una vez más son pequeñas, y la evolución como de costumbre, no favoreció a mantener los recursos para la supervivencia después de la reproducción (17).

La presente revisión tiene por objeto describir las especies reactivas (el anión radical superóxido, el anión hidroxilo, el peróxido de hidrógeno, el ácido hipocloroso, el óxido nítrico y el peroxinitrito), sus fuentes endógenas (la cadena de transporte de electrones y las enzimas monoamino oxidasa y NADPH oxidasa), los mecanismos de defensa enzimáticos que posee la célula y como un desequilibrio en estos, llamado estrés oxidativo, tiene un efecto adverso en las macromoléculas celulares (Figura 1). En proteínas, esto viene acompañado de pérdidas en la funcionalidad y la eficiencia de la catálisis, en agregación de distintas cadenas peptídicas y en la inhibición del proteasoma. En la hélice del ADN, las especies reactivas interactúan con las bases nitrogenadas, introduciendo grupos hidroxilo, generando mutaciones y malos apareamientos entre las bases. Y finalmente, en lípidos, se produce una reacción en cadena por radicales libres, donde el resultado es un peróxido lipídico que desencadena alteraciones en las membranas celulares.

Para esta revisión se usó como fuente principal de consulta la base de datos ScienceDirect® dispuesta por la Universidad Tecnológica de Pereira, de ésta, se analizaron 118 artículos, los cuales se escogieron por su importancia y pertinencia en el tema. Asimismo se consultaron libros destacados en las áreas de bioquímica y química (18-21).

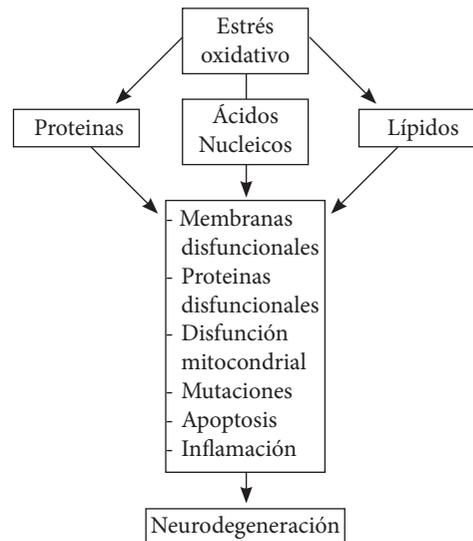


Figura 1. Daño celular por estrés oxidativo.

Radicales libres y especies reactivas de oxígeno (ROS)

Los electrones en los átomos y moléculas ocupan las regiones del espacio conocidas como orbitales. Cada orbital puede contener un máximo de dos electrones. Por ejemplo, los dos electrones que forman un enlace covalente ocupan el mismo orbital, pero tienen espines opuestos. Si un orbital contiene sólo un electrón, se dice que el electrón está desapareado. Un radical libre se define como cualquier especie que contiene uno o más electrones no apareados (20,21). El término radical libre y especies reactivas de oxígeno (ROS por sus siglas en inglés) son comúnmente usados simultáneamente, sin embargo, el término ROS es referido a un número de moléculas químicamente reactivas derivadas del oxígeno (O_2) (8,22). Las ROS incluyen el radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$), el radical hidroxilo ($\cdot OH$), el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y el ácido hipocloroso ($HOCl$). Las ROS son muy reactivas y tóxicas, dos términos que no son necesariamente iguales (por ejemplo, el H_2O_2 es poco reactivo, pero más tóxico que el $O_2^{\cdot-}$, por su habilidad para permear las membranas biológicas y por el tiempo que permanece en la célula) (16,23,24).

Anión Radical Superóxido

Si un solo electrón se suministra al O_2 , entra en uno de los orbitales π antienlazantes para formar un par de electrones allí. El producto es el radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$) nombre completo anión radical superóxido (el punto superíndice denota un radical libre). Es una especie potencialmente tóxica, puede iniciar reacciones que dan lugar a otras ROS. Este anión es formado por muchas reacciones catalizadas enzimáticamente, tales como, el paso de hipoxantina a xantina por la xantina oxidasa (25-27), la formación de ácidos carboxílicos de los aldehídos por la aldehído oxidasa (28), y la NADPH oxidasa (29,30), entre otras, además de reacciones no enzimáticas como la oxidación de la cisteína (31,32).

Peróxido de Hidrógeno

H. J. H. Fenton en el siglo XIX reportó el potencial oxidante de este compuesto, no radical libre, cuando es mezclado con

sales de hierro, ya que produce radicales $\cdot\text{OH}$, compuestos altamente tóxicos (33). Es por eso, que su reactividad depende en gran medida de la disposición de metales de transición, además de su alta difusión a través de la membrana (34,35). En medio biológico es formado por varias vías, la primera es después de la reducción directa del O_2 por dos electrones, además de la reducción de anión superóxido por la enzima superóxido dismutasa de cobre y zinc (Cu-Zn-SOD) en el citosol o la superóxido dismutasa de manganeso (Mn-SOD) en la mitocondria (22,36-39). También se puede producir peróxido de hidrógeno a través de las reacciones catalizadas por la xantina oxidasa (25,27) y la aldehído oxidasa (40).

Ácido Hipocloroso

El HOCl, es el mayor oxidante producido por leucocitos activados en presencia de mieloperoxidasa (MPO), la cual necesita como sustrato ión cloruro, un protón y peróxido de hidrógeno. MPO es un tetrámero, fuertemente glicosilado de unos 150 kDa; abundante en neutrófilos, monocitos, macrófagos y microglías (7,41,42) en el cerebro. Este, se secreta al compartimento fagolisosomal después de la activación de fagocitos por una variedad de agonistas como por ejemplo el péptido beta-amiloide (A β) (43,44).

Radical Hidroxilo ($\cdot\text{OH}$)

Es la especie más reactiva, tiene una vida promedio de 10^{-9} segundos. Debido a su reactividad su acción se limita a sitios cerca del lugar de su producción. Puede ser formado en vivo como un resultado de radiación electromagnética de alta energía (rayos x) (45). También puede formarse con la adición de Fe (II) por la reacción de Fenton y con la reacción de Haber-Weiss que tiene lugar entre las formas oxidadas de Fe^{+3} o Cu^{+2} (16,46,47).

Especies reactivas de nitrógeno (RNS)

Las RNS son referidas al óxido nítrico (NO) y a moléculas derivadas de él, tales como peroxinitrito (ONOO^-) y dióxido de nitrógeno (NO_2). Las RNS han sido diferenciadas de las ROS debido a que generalmente tienen una vida media más larga que especies como el $\cdot\text{OH}$ y el O_2^- , lo que las hace más dañinas (48).

Óxido Nítrico (NO)

El óxido nítrico (NO), que es un gas de corta duración, muy difusible y considerado un radical libre de nitrógeno, tiene funciones fisiológicas y patológicas en muchos tejidos de mamíferos. El NO actúa como neurotransmisor en el sistema nervioso central y periférico, pero pueden ser neurotóxico en altas concentraciones (49,50). Este, induce la apoptosis en las células neuronales, y ha sido implicado en una variedad de procesos patológicos, como la isquemia cerebral, la neurodegeneración y la inflamación (51,52). Se produce por oxidación de L-arginina con oxígeno y NADPH como donante de electrones, es catalizada por una enzima llamada óxido nítrico sintasa (NOS) (53,54).

Anión peroxinitrito (ONOO^-)

Es una especie oxidante de vida corta que se produce por la reacción del óxido nítrico (NO) y superóxido (O_2^-) (55).

Los sitios de formación de peroxinitrito se supone que están espacialmente asociados con las fuentes de superóxido, tales como el NADPH oxidasa en la respiración mitocondrial, ya que, aunque el NO es relativamente estable y difunde fácilmente, el superóxido tiene una vida mucha más corta y su difusión a través de membranas biológicas es restringida (56). A pH fisiológico, ONOO^- se protona rápidamente a ácido peroxinitroso, ONOOH , el cual puede causar daños adicionales al degradarse en radical hidroxilo (57).

Fuentes de las especies reactivas de oxígeno (ROS)

Mitocondria como fuente máxima de ROS

En condiciones fisiológicas normales, la fosforilación oxidativa mitocondrial cuenta con más del 90% de la producción de ATP en la mayoría de células y tejidos. Las mitocondrias también están implicadas en el mantenimiento principal de la homeostasis de Ca^{+2} , además de llevar a cabo los pasos críticos de reacción de metabolismo de las hormonas esteroides, la síntesis de pirimidina, la eliminación de amoníaco a través de ciclo de la urea, y la muerte celular programada (58). Gracias a la cadena de transporte de electrones mitocondrial (METC), este orgánulo está especializado en la conservación de la energía redox de nutrientes en forma de un gradiente electroquímico a través de la membrana mitocondrial interna, dicho gradiente se utiliza para fosforilar ADP y generar de esta manera ATP (19).

La cadena de transporte de electrones mitocondrial es una fuente importante de ROS intracelulares [2, 10, 18, 41], con la mayoría de las ROS se producen como resultado de la reducción parcial de oxígeno molecular formando anión superóxido (O_2^-) durante el proceso de la fosforilación oxidativa.

Cadena de transporte de electrones

La maquinaria de la fosforilación oxidativa mitocondrial se compone de cuatro complejos de multisubunidades (complejo I-IV) (18,19). A partir de intermediarios del ciclo de Krebs (NADH y FADH_2), los electrones ingresan en el complejo I o II, y se transfieren al complejo III, a continuación, para el complejo IV, y finalmente al O_2 como aceptor final de los electrones de los organismos aerobios. La energía redox liberado durante el proceso de transferencia de electrones en los complejos I, III y IV se utiliza para bombear activamente H^+ de la matriz mitocondrial al espacio intermembranal; el gradiente electroquímico de H^+ a través de la membrana interna es utilizado finalmente por el complejo ATP sintasa para producir ATP (24,36,59-61).

El Complejo I (NADH: ubiquinona oxidoreductasa), un complejo enzimático de 45 subunidades, cataliza el primer paso de la cadena de transporte de electrones utilizando la unión no covalentemente a grupos prostéticos (mononucleótido de flavina o FMN y iones de azufre) (62). Siete subunidades (ND1, 2, 3, 4L, 4, 5, 6) están codificadas por el ADNmt, mientras que los otros son codificadas por el ADN nuclear. Las proteínas codificadas por el ADNmt constituyen la mitad del núcleo catalítico, mientras que siete subunidades codificadas por ADN nuclear (NDUF-S1, S2, S3, S7, S8, V1,

V2) comprenden la otra mitad. Un complejo I defectuoso ocasiona un incremento en la generación de radicales libre, lo que ocasiona un déficit de energía en la fosforilación oxidativa y un aumento del daño oxidativo (63,64).

Por otro lado, Q-citocromo c oxireductasa (complejo III) es una fuente bien documentada de ROS (60,65-67). El complejo es un dímero de monómeros idénticos, cada uno con 11 diferentes subunidades. El núcleo funcional de cada monómero es de tres subunidades: citocromo b con sus dos grupos hemo (BH y BL), la proteína de hierro-azufre Rieske con su centros 2Fe-2S; y el citocromo c1 con su grupo hemo (19). Este complejo respiratorio transfiere electrones desde el ubiquinol (QH₂) al citocromo c. La QH₂ es oxidada a ubiquinona (Q) en una compleja serie de reacciones que implica primero la formación de la semiquinona radical (Q[•]) en el sitio de Qp de Complejo III, que se enfrenta al espacio intermembrana, por donación de un electrón desde QH₂ a la proteína de Rieske y luego al citocromo c. Un electrón de la Q[•] formada en Qp se transfiere entonces al sitio Qn (que se enfrenta a la matriz mitocondrial), donde Q se reduce a Q[•]. El Q[•] del Qn se reduce a QH₂ por un electrón proporcionado por un segundo Q[•] formado en el sitio Qp. El resultado de este ciclo es que Q[•] está formada tanto en el Qp como en el sitio Qn. Debido a que el par Q[•]/Q está altamente reducido, O₂[•] puede estar formado por donación de electrones de la misma, siempre y cuando O₂ tenga acceso a cualquiera de estos sitios dentro del complejo. Aunque el sitio Qp se cree generalmente que es más accesible para O₂ (68), también hay pruebas de la formación de superóxido en el sitio Qn (61).

La citocromo c oxidasa o complejo IV es la oxidasa terminal de la cadena de transportes de electrones (18,19). Esta enzima en mamíferos contiene 13 subunidades de las cuales 3 son catalíticas y son codificadas por los genes mitocondriales. Las otras 10 subunidades se cree que tienen roles regulatorios y/o estructurales. La enzima contiene dos grupos hemo y dos centros Cu⁺² en sus centros catalíticos (58). Una disfunción de esta enzima se refleja en varios desordenes como cáncer, isquemia y diabetes (38,69-71), además de neurodegeneración provocado por la sobre producción de anión superóxido (61,72).

Monoamino oxidasa

Las monoamina oxidasas (MAO-A y MAO-B) están localizadas en la membrana externa de la mitocondria en varios tejidos de los mamíferos (24,73,74). Estas enzimas catalizan la oxidación de monoaminas por liberación de peróxido de hidrógeno (3,7,73). Las MAOs de las mitocondrias de las células en el cerebro juegan un importante rol en la degradación de neurotransmisores como la dopamina y noradrenalina (75-77).

NADPH Oxidasa

Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato reducido (NADPH) oxidasa es una enzima que cataliza la producción de superóxido (O₂[•]) a partir de oxígeno y NADPH, en células endoteliales (78), fagocitos (79) y células del sistema nervioso central (11,80). Estudios indican que este complejo debe ser

bien regulado debido a que la producción de ROS es muy rápida y conlleva fácilmente a una disfunción mitocondrial y neuroinflamación (10,11,81). El complejo consta de 5 subunidades, 3 citoplasmáticas (p67PHOX, p47PHOX and p40PHOX), 2 que abarcan la membrana (gp91PHOX, p22PHOX) y proteína G de bajo peso molecular (rac1 o rac2) (82). La subunidad gp91PHOX es la catalítica, responsable de la transferencia de electrones entre el NADPH y el oxígeno molecular, así como la conductancia del H⁺.

Sistemas enzimáticos antioxidantes

En presencia de oxígeno, los organismos han sido forzados a desarrollar mecanismos de defensa frente a las ROS, como son los antioxidantes y las enzimas de degradación de ROS. Los antioxidantes son sustancias biológicas que compiten con sustratos oxidables por las ROS, para inhibir el proceso de oxidación en moléculas fundamentales como las bases nitrogenadas del ADN y los lípidos de membrana, dentro de estos, se encuentra la vitamina C (15), vitamina E (83) y los polifenoles (38,84). Las enzimas de degradación de ROS endógenas son la superóxido dismutasa (SOD), la catalasa (CAT) y la glutatión peroxidasa (GPx) (60,85); una forma integrada en que actúan estas enzimas puede observarse en la figura 2. Adicionalmente, existe otro mecanismo de defensa llamado el sistema tiorredoxina, que actúa no sobre las especies reactivas, sino, en la reducción de algunas moléculas oxidadas (86).

Superóxido dismutasa (SOD)

El rol catalítico de la SOD fue descubierto por Irwin Fridovich and Joe McCord en 1969. La SOD es una enzima que cataliza la reducción del ión superóxido a H₂O₂ (59,87), el cual es fácilmente metabolizado a agua por la GPx y la CAT. La SOD se presenta de dos formas, con cobre y zinc (Cu-Zn-SOD) y con manganeso (Mn-SOD). La Cu-Zn-SOD se halla en el citosol, tiene un peso de 32KDa y posee dos dominios idénticos. Mientras que la Mn-SOD está en la matriz mitocondrial y posee una masa de 88 kDa con 4 dominios idénticos (88).

Glutatión peroxidasa (GPx)

Las células de mamíferos contienen cinco isoformas de la glutatión peroxidasa, que usan como cofactor el selenio. La citosólica GPx (GPx1), la gastrointestinal GPx (GPx2), la plasmática GPx (GPx3), la fosfolípido hidropoxidasa (GPx4), y la GPx6, expresada sólo en el sistema olfativo (89). Todos GPxS puede reducir el peróxido de hidrógeno, peróxidos de alquilo, hidroperóxidos de ácidos grasos, sin embargo, GPx4 también reduce hidroperóxidos en lipoproteínas y lípidos complejos tales como los derivados de ésteres de colesterol, colesterol y fosfolípidos (90).

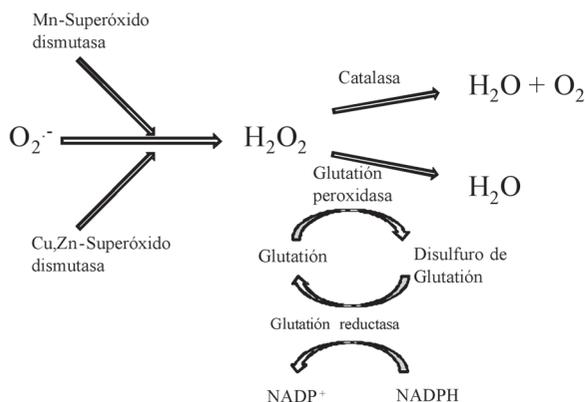


Figura 2. Esquema general de reducción del anión radical superóxido a través de los sistemas enzimáticos endógenos antioxidantes.

H_2O_2 reacciona con el grupo (-SeH) de la selenocisteína (U) en el centro activo de GPxS generando un selenio oxidado (-SeOH), que luego se reduce paso a paso por dos moléculas de glutati3n (tripéptido de L-cisteína, ácido L-glutámico y glicina), llamado comúnmente GSH. La reacción requiere la desprotonación de U (-Se), que se produce fácilmente a pH fisiológico y genera disulfuro de glutati3n (GSSG) rápidamente, garantizando la eliminación de H_2O_2 (91). GSSG a su vez se puede reducir de nuevo a GSH con la ayuda de NADPH y la enzima glutati3n reductasa (GR), formando un ciclo redox (92). La participación del residuo de selenocisteína en la catálisis de los GPxS fue demostrado por mutagénesis sitio dirigida, ya que cuando se intercambi3 a cisteína en un GPx, la actividad específica disminuy3 dos a tres órdenes de magnitud (93).

Catalasa (CAT)

La catalasa es una enzima codificada por un solo gen en los mamíferos, que actúa como antioxidante importante al descomponer el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno (66, 94). La enzima activa es una proteína homo tetramérica de aproximadamente 240 kDa, que contiene 4 grupos prostéticos hemo (95). La catalasa es principalmente localizada en los peroxisomas de la mayoría de las células en el cerebro (96), un cambio del nivel de ésta, es asociado a procesos neurodegenerativos (97) y a la aparición de gliomas (98).

Sistema Tiorredoxina (Trx/TrxR)

Las tiorredoxinas (TRX) son proteínas de 12 kDa que actúan como antioxidantes, facilitando la reducción de otras proteínas a través de un intercambio tiol-disulfuro en la cisteína, gracias a dos residuos de cisteína que posee. Es ubicua y se encuentra conservada en muchos organismos (99). Estas proteínas son mantenidas en estado reducido por la tiorredoxina reductasa, en una reacción dependiente de NADPH.

La tiorredoxina (Trx), la tiorredoxina reductasa (TrxR) y el NADPH, comprenden el sistema tiorredoxina, el cuál, tiene un gran número de funciones en la expresión genética, la defensa contra el estrés oxidativo y la apoptosis (100). Las

tres isoenzimas de TrxR de mamíferos contienen un residuo de selenocisteína esencial para su catálisis y usado como diana de varios fármacos en el tratamiento del cáncer y en la intoxicación por mercurio. (101).

Daño oxidativo en proteínas

Modificaciones oxidativas a las proteínas puede dar lugar a alteración de sus funciones y estructura, además del aumento en su hidrofobicidad lo que aumenta su potencial de agregación. Curiosamente, esto conduce a que las proteínas se sometan a la proteólisis, basada principalmente en el proteasoma (96). Ineficiencia de este sistema podría tener consecuencias devastadoras en células de mamífero, tales como cáncer, enfermedades neurodegenerativas y apoptosis (102-104).

El proteasoma 26S es un complejo compuesto por una unidad catalítica (20S) y una unidad reguladora (19S) (18). El núcleo 20S del proteasoma, llamado así por su constante de sedimentación, es la subunidad principal del sistema proteasomal, una estructura celular muy compleja implicada en la degradación proteolítica de proteínas oxidadas, regulación proteica, control de calidad de proteínas, regulación del ciclo celular, expresión génica, respuestas inmunitarias, carcinogénesis, reparación del ADN y, probablemente, muchas otras funciones celulares (104). El núcleo 20S es una estructura cilíndrica hueca (160 x 100 Å) construido a partir de cuatro anillos homólogos (dos α y dos β) cada uno con siete subunidades, dispuestos en una secuencia $\alpha\beta\beta\alpha$. Todas las proteínas oxidadas, cuyos aminoácidos oxidados no contengan azufre, serán degradados por el sistema proteasomal (105).

Dado que las proteínas proporcionan el mayor grupo de moléculas celulares, la probabilidad de la oxidación de proteínas está aumentada en las células sometidas a estrés oxidativo y por lo tanto la cantidad de proteínas disfuncionales en la célula se aumenta (3). Cuando esto ocurre pueden distinguirse tres etapas diferentes que dependen de la cantidad de oxidación (106). La primera etapa es cuando la proteína está sólo ligeramente modificada, pero la estructura principal sigue intacta, lo que resulta quizás en una moderada reducción de la actividad. En la siguiente etapa la cantidad de daño infligido es suficiente para causar un despliegue parcial de la proteína, mientras que las secuencias hidrofóbicas que generalmente están cubiertas dentro de proteínas solubles globulares están expuestas en la superficie. Y en la tercera etapa ocurre si la proteína dañada no es reconocida y degradada por el proteasoma, así se forma un agregado de proteínas altamente oxidadas que contiene uniones covalentes de residuos de otras proteínas (30-70%), lípidos (20-50%) y azúcares llamados lipofuscina (103, 107, 108). En esta etapa, las proteínas no son lo suficientemente largas como para entrar en el proteasoma. Debido a que es una etapa final de oxidación, la lipofuscina no es el resultado inmediato del estrés oxidativo, sino más bien un efecto a largo plazo de dosis baja de estrés crónico (no letal).

El principal efecto que tiene lipofuscina es la inhibición del proteasoma (105, 109). Aunque los mecanismos no están del todo dilucidados, el hecho de que el proteasoma reconozca estructuras hidrofóbicas como sustrato sugieren que la superficie glicolípídica de la lipofuscina es reconocida también como sustrato. Así, la actividad proteasomal cae en intentos inútiles de degradación de la lipofuscina, resultando en un aumento en la cantidad de proteínas oxidadas en el citosol que no se degradan.

Daño en ADN

Como ya se descrito con anterioridad, existen fuentes tanto exógenas como endógenas de producción y degradación de especies reactivas, y su posible desequilibrio, independientemente de su origen, puede interactuar con el ADN, dando lugar a modificaciones y las consecuencias potencialmente graves para la célula (110).

De las especies reactivas de oxígeno, el radical hidroxilo ($\cdot\text{OH}$) reacciona con el ADN, adicionándose en los átomos de carbono que están formando dobles enlaces en las bases nitrogenadas y abstrayendo un hidrógeno del grupo metilo de la timina así como de cada uno de los enlaces carbono hidrógeno del azúcar (2'-deoxirribosa) (111). Una de las bases más propensas al daño oxidativo es la guanina. Más de 20 productos de oxidación de la base guanina han sido identificados y entre ellos el más abundante y bien estudiada es 8-oxo-guanina (8-oxoG) (3), la cual, cuando no se repara es mutagénica, ya que se ha demostrado que se aparea con la adenina (A) en lugar de citosina (C), lo que provoca transversiones (18).

Para protegerse contra este daño todas las células tienen diferentes vías de reparación del ADN (4). Las tres vías principales para la reparación de daños en bases son la reparación por escisión de nucleótidos (NER) (112), la reparación por escisión de bases (BER) (14) y reparación de malos apareamientos (MMR) (113). NER elimina las lesiones que distorsionan la hélice del ADN, BER realiza reparaciones a una base específica y MMR corrige los desajustes en el apareamiento normal de las bases. Las deficiencias en las vías de reparación del ADN pueden resultar en una reducción de estabilidad de los cromosomas celulares que a su vez pueden conducir a la mutagénesis y la disfunción celular (114). En el sistema nervioso central (SNC), mayores niveles de daño del ADN, ya sea debido a una mayor exposición a agentes que dañan y/o reparación defectuosa del ADN, puede conducir a pronunciadas neuropatología, ya que se ha encontrado que el daño oxidativo del ADN se acumula preferentemente en las regiones promotoras de varios genes implicados en la plasticidad sináptica y la función mitocondrial (115).

Daño en lípidos

Las membranas celulares que proporcionan la integridad estructural de las células están compuestas de una variedad de fosfolípidos, ésteres de colesterol, colesterol, ácidos grasos y una variedad de proteínas que tienen funciones clave en la célula (116). Además, los fosfolípidos que contienen ácidos grasos como el ácido araquidónico (AraC) y ácido docosahexaenoico (DHA) pueden servir como una molécula señal en la activación celular (117, 118).

Radicales como el hidroxilo y el peroxilo pueden abstraer un átomo de hidrógeno del grupo metileno de ácidos grasos poliinsaturados, generando radicales libre de carbono. Así, la reacción inicial de radical hidroxilo con ácidos grasos produce un radical lípídico que, cuando reacciona con el oxígeno, produce lípido peroxil radical, que aún puede reaccionar con los ácidos grasos para producir hidroperóxido de lípido (119). Esta reacción en cadena llamada peroxidación lípídica, altera significativamente la estructura de las membranas y otros lípidos, lo que resulta en los procesos de alteración de la fluidez, permeabilidad, transporte y viabilidad celular (120, 121).

Debido a que el cerebro es el órgano que tiene la mayor concentración de lípidos, a excepción del tejido adiposo en cuerpos de los mamíferos (122), eventos que afecta este tipo de moléculas, ejemplo el estrés oxidativo, desencadenan serías consecuencias como los trastornos neurodegenerativos (123). A manera de reflexión final, es claro que los sistemas de defensa endógenos son propensos a fallar o son incapaces de controlar las especies reactivas cuando existe una disfunción en los mecanismos de producción. Es por eso que, la comunidad científica ha hecho un esfuerzo importante por encontrar antioxidantes exógenos que logren mitigar los alcances de las ROS en las macromoléculas y que ayuden a mantener el balance redox en la célula. Un tipo de compuestos con estas características son los polifenoles, moléculas con presencia de más de un grupo hidroxilo fenólico, con excelentes propiedades de quelación de metales de transición y que gracias al apreciable número de dobles enlaces carbono-carbono que poseen, los hace sustancias anti-radicales libres (124-128).

Agradecimientos

Agradecemos al Dr. José William Martínez por su continua motivación en la consecución de esta revisión y por sus sugerencias para el mejoramiento de la misma.

Conflicto de intereses:

Los autores declaramos no tener conflicto de intereses.

Referencias

1. Chavko M, Auker CR, McCarron RM. Relationship between protein nitration and oxidation and development of hyperoxic seizures. *Nitric Oxide* 2003;9(1):18-23.
2. Halliwell B, Whiteman, M. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *Br J Pharmacol* 2004;142:231-55.
3. Radak Z, Zhao Z, Goto S, Koltai E. Age-associated neurodegeneration and oxidative damage to lipids, proteins and DNA. *Molecular Aspects of Medicine* 2011;32(4-6):305-15.
4. Jeppesen DK, Bohr VA, Stevnsner T. DNA repair deficiency in neurodegeneration. *Progress in Neurobiology* 2011;94(2):166-200.

5. Sun J, Druhan LJ, Zweier JL. Reactive oxygen and nitrogen species regulate inducible nitric oxide synthase function shifting the balance of nitric oxide and superoxide production. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 2010;494(2):130-7.
6. Ray PD, Huang B-W, Tsuji Y. Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling. *Cellular Signalling* 2012;24(5):981-90.
7. Yap YW, Whiteman M, Cheung NS. Chlorinative stress: An under appreciated mediator of neurodegeneration? *Cellular Signalling* 2007;19(2):219-28.
8. Hlavatá L, Ježek, P. Mitochondria in homeostasis of reactive oxygen species in cell, tissues, and organism. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 2005;37:2478-503.
9. Kishida KT, Klann, E. Reactive Oxygen Species, Synaptic Plasticity, and Memory. In: Veasey SC, editor. *Oxidative Neural Injury: Humana Press*; 2009. p. 1-28.
10. Spencer JPE, Vafeiadou K, Williams RJ, Vauzour D. Neuroinflammation: Modulation by flavonoids and mechanisms of action. *Molecular Aspects of Medicine* 2012;33(1):83-97.
11. Gao H-M, Zhou H, Hong J-S. NADPH oxidases: novel therapeutic targets for neurodegenerative diseases. *Trends in Pharmacological Sciences* 2012;33(6):295-303.
12. Melo A, Monteiro L, Lima RMF, de Oliveira DM, de Cerqueira MD, El-Bachá RS. Oxidative Stress in Neurodegenerative Diseases: Mechanisms and Therapeutic Perspectives. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2011;2011:1-14.
13. Hervouet E, Simonnet H, Godinot C. Mitochondria and reactive oxygen species in renal cancer. *Biochimie* 2007;89(9):1080-8.
14. Weissman L, de Souza-Pinto NC, Stevnsner T, Bohr VA. DNA repair, mitochondria, and neurodegeneration. *Neuroscience* 2007;145(4):1318-29.
15. Fransen M, Nordgren M, Wang B, Apanasets O. Role of peroxisomes in ROS/RNS-metabolism: Implications for human disease. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease* 2012;1822(9):1363-73.
16. Paradies G, Petrosillo G, Paradies V, Ruggiero FM. Mitochondrial dysfunction in brain aging: Role of oxidative stress and cardiolipin. *Neurochemistry International* 2011;58(4):447-57.
17. Kirkwood TB. Understanding the odd science of aging. *Cell* 2005;120:437-47.
18. Berg JM, Tymoczko, J. L., Stryer, L., Gatto, G. J. *Biochemistry*. Seventh ed. Company WHFa, editor 2012.
19. Nelson DL, Cox, M.M. *Lehninger Principles of Biochemistry*. Fifth ed. Freeman WH, editor 2008.
20. Petrucci RH, Harwood, W. S, Herring, F. G. *Química General*. Octava Edición. ed. Pearson Educación SA, editor. Madrid 2003.
21. Chang R, College, W. *Química*. Séptima ed. S.A M-HIE, editor. Colombia 2002.
22. MacFarlane PM, Wilkerson JER, Lovett-Barr MR, Mitchell GS. Reactive oxygen species and respiratory plasticity following intermittent hypoxia. *Respiratory Physiology & Neurobiology* 2008;164(1-2):263-71.
23. Poon HF, Calabrese, V, Scapagnini, G, Butterfield, D. Free radicals and brain aging. *Clin Geriatric Med* 2004;20:329-59.
24. Andreyev AY, Kushnareva, Y. E, Starkov, A. A. Mitochondrial Metabolism of Reactive Oxygen Species. *Biochemistry (Moscow)* 2005;70:200-14.
25. Sanganahalli BG, Joshi, P. G, Joshi, N. B. Xanthine oxidase, nitric oxide synthase and phospholipase A2 produce reactive oxygen species via mitochondria. *Brain Research* 2005;1037(1-2):200-2003.
26. Kayyali US, Donaldson, C, Huang, H, Abdelnour, R, Hassoun, P. M. Phosphorylation of xanthine dehydrogenase/oxidase in hypoxia. *The Journal of Biological Chemistry* 2001;276(17):14359-65.
27. Solaroglu I, Okutan, O, Kaptanoglu, E, Beskonakli, E, Kilinc, K. Increased xanthine oxidase activity after traumatic brain injury in rats. *Journal of Clinical Neuroscience* 2005;12(3):273-5.
28. Mendel RR, Kruse T. Cell biology of molybdenum in plants and humans. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research* 2012;1823(9):1568-79.
29. Lu Q, Wainwright MS, Harris VA, Aggarwal S, Hou Y, Rau T, et al. Increased NADPH oxidase-derived superoxide is involved in the neuronal cell death induced by hypoxia-ischemia in neonatal hippocampal slice cultures. *Free Radical Biology and Medicine* 2012;53(5):1139-51.
30. Segal BH, Grimm MJ, Khan ANH, Han W, Blackwell TS. Regulation of innate immunity by NADPH oxidase. *Free Radical Biology and Medicine* 2012;53(1):72-80.
31. Petruk AA, Bartesaghi S, Trujillo M, Estrin DA, Murgida D, Kalyanaraman B, et al. Molecular basis of intramolecular electron transfer in proteins during radical-mediated oxidations: Computer simulation studies in model tyrosine-cysteine peptides in solution. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 2012;525(1):82-91.
32. Circu ML, Aw TY. Glutathione and modulation of cell apoptosis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research* 2012;1823(10):1767-77.
33. Walling C. Fenton's Reagent Revisited. *Acc Chem Res* 1975;8(4):125-31.
34. Furda AM, Marrangoni AM, Lokshin A, Van Houten B. Oxidants and not alkylating agents induce rapid mtDNA loss and mitochondrial dysfunction. *DNA Repair* 2012;11(8):684-92.
35. Magliaro BC, Saldanha CJ. Clozapine protects PC-12 cells from death due to oxidative stress induced by hydrogen peroxide via a cell-type specific mechanism involving inhibition of extracellular signal-regulated kinase phosphorylation. *Brain Research* 2009;1283:14-24.
36. Bolaños JP, Moro MA, Lizasoain I, Almeida A. Mitochondria and reactive oxygen and nitrogen species in neurological disorders and stroke: Therapeutic implications. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2009;61(14):1299-315.
37. Trushina E, McMurray CT. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in neurodegenerative diseases. *Neuroscience* 2007;145(4):1233-48.

38. Panickar KS, Anderson RA. Effect of Polyphenols on Oxidative Stress and Mitochondrial Dysfunction in Neuronal Death and Brain Edema in Cerebral Ischemia. *International Journal of Molecular Sciences* 2011;12(11):8181-207.
39. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* 2007;39:44-84.
40. Pryde DC, Dalvie D, Hu Q, Jones P, Obach RS, Tran T-D. Aldehyde Oxidase: An Enzyme of Emerging Importance in Drug Discovery. *Journal of Medicinal Chemistry* 2010;53(24):8441-60.
41. Gray E, Thomas TL, Betmouni S, Scolding N, Love S. Elevated myeloperoxidase activity in white matter in multiple sclerosis. *Neuroscience Letters* 2008;444(2):195-8.
42. Flemmig J, Arnhold J. Interaction of hypochlorous acid and myeloperoxidase with phosphatidylserine in the presence of ammonium ions. *Journal of Inorganic Biochemistry* 2010;104(7):759-64.
43. Lefkowitz DL, Lefkowitz SS. Microglia and myeloperoxidase: A deadly partnership in neurodegenerative disease. *Free Radical Biology and Medicine* 2008;45(5):726-31.
44. Manna I, Valentino P, La Russa A, Condino F, Nisticò R, Liguori M, et al. *Journal of Negative Results in BioMedicine* 2006;5(1):3.
45. Takeshita K, Fujii K, Anzai K, Ozawa T. In vivo monitoring of hydroxyl radical generation caused by x-ray irradiation of rats using the spin trapping/epi technique. *Free Radical Biology and Medicine* 2004;36(9):1134-43.
46. Jellinger KA. Recent advances in our understanding of neurodegeneration. *Journal of Neural Transmission* 2009;116(9):1111-62.
47. Tabner BJ, Turnbull S, El-Agnaf, O. M. A. , Allso, D. Formation of hydrogen peroxide and hydroxyl radicals from A β and α -synuclein as a possible mechanism of cell death in Alzheimer's disease and Parkinson's disease. *Free Radical Biology & Medicine* 2002;32:1076-83.
48. Balazy MNS. Aging, lipid modifications and phospholipases-new concepts. *Ageing Res Rev* 2003;2(2):191-209.
49. Dawson VL, Dawson, TM. Nitric oxide neurotoxicity. *J Chem Neuroanat* 1996;10:179-90.
50. Gross SS, Wolin, M.S. Nitric oxide: pathophysiological mechanisms. *Annu Rev Physiol* 1995;57:737-69.
51. Bolanos JP, Almeida A, Stewart V, Peuchen S, Land JM, Clark JB, Heales SJ. Nitric oxide-mediated mitochondrial damage in the brain: mechanisms and implications for neurodegenerative diseases. *J Neurochem* 1997;68:2227-40.
52. Bolanos JP, Almeida A, Peuchen S, Clark JB, Heales SJ, Duchon MR. Interrelationships between astrocyte function, oxidative stress and antioxidant status within the central nervous system. *Prog Neurobiol* 1997;52:261-81.
53. Durante W, Johnson FK, Johnson RA. Arginase: A critical regulator of nitric oxide synthesis and vascular function. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2007;34:906-11.
54. Maiti P, Singh SB, Ilavazhagan G. Nitric oxide system is involved in hypobaric hypoxia-induced oxidative stress in rat brain. *Acta Histochemica* 2010;112(3):222-32.
55. Chen W, Su H, Huang Z, Feng L, Nie H. Neuroprotective effect of raspberry extract by inhibiting peroxynitrite-induced DNA damage and hydroxyl radical formation. *Food Research International* 2012;49(1):22-6.
56. Szabó C, Ischiropoulos H, Radi R. Peroxynitrite: biochemistry, pathophysiology and development of therapeutics. *Nature Reviews Drug Discovery* 2007;6(8):662-80.
57. Alvarez B, Radi, R. Peroxynitrite reactivity with amino acids and proteins. *Amino Acids* 2003;25:295-311.
58. Srinivasan S, Avadhani NG. Cytochrome c oxidase dysfunction in oxidative stress. *Free Radical Biology and Medicine* 2012;53(6):1252-63.
59. Page MM, Robb EL, Salway KD, Stuart JA. Mitochondrial redox metabolism: Aging, longevity and dietary effects. Gao L, Laude K, Cai H. *Mitochondrial Pathophysiology, Reactive Oxygen Species, and Cardiovascular Diseases. Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 2008;38(1):137-55.
60. Kowaltowski AJ, de Souza-Pinto NC, Castilho RF, Vercesi AE. Mitochondria and reactive oxygen species. *Free Radical Biology and Medicine* 2009;47(4):333-43.
61. Iommarini L, Calvaruso MA, Kurelac I, Gasparre G, Porcelli AM. Complex I impairment in mitochondrial diseases and cancer: Parallel roads leading to different outcomes. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 2012.
62. Chandel NS, Budinger GRS. The cellular basis for diverse responses to oxygen. *Free Radical Biology and Medicine* 2007;42(2):165-74.
63. Al-Gubory KH, Fowler PA, Garrel C. The roles of cellular reactive oxygen species, oxidative stress and antioxidants in pregnancy outcomes. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 2010;42(10):1634-50.
64. Circu ML, Aw TY. Reactive oxygen species, cellular redox systems, and apoptosis. *Free Radical Biology and Medicine* 2010;48(6):749-62.
65. Jeong E-M, Liu M, Sturdy M, Gao G, Varghese ST, Sovari AA, et al. Metabolic stress, reactive oxygen species, and arrhythmia. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 2012;52(2):454-63.
66. Forkink M, Smeitink JAM, Brock R, Willems PHGM, Koopman WJH. Detection and manipulation of mitochondrial reactive oxygen species in mammalian cells. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics* 2010;1797(6-7):1034-44.
67. Sarewicz M, Borek A, Cieluch E, Świerczek M, Osyczka A. Discrimination between two possible reaction sequences that create potential risk of generation of deleterious radicals by cytochrome bc₁. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics* 2010;1797(11):1820-7.

69. Hüttemann M, Helling S, Sanderson TH, Sinkler C, Samavati L, Mahapatra G, et al. Regulation of mitochondrial respiration and apoptosis through cell signaling: Cytochrome c oxidase and cytochrome c in ischemia/reperfusion injury and inflammation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics* 2012;1817(4):598-609.
70. Namslauer I, Dietz MS, Brzezinski P. Functional effects of mutations in cytochrome c oxidase related to prostate cancer. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics* 2011;1807(10):1336-41.
71. Arnold S. The power of life—Cytochrome c oxidase takes center stage in metabolic control, cell signalling and survival. *Mitochondrion* 2012;12(1):46-56.
72. Kadenbach B, Arnold S, Lee I, Hüttemann M. The possible role of cytochrome c oxidase in stress-induced apoptosis and degenerative diseases. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics* 2004;1655:400-8.
73. Manni ME, Bigagli E, Lodovici M, Zazzeri M, Raimondi L. The protective effect of losartan in the nephropathy of the diabetic rat includes the control of monoamine oxidase type A activity. *Pharmacological Research* 2012;65(4):465-71.
74. Legoabe LJ, Petzer A, Petzer JP. Selected C7-substituted chromone derivatives as monoamine oxidase inhibitors. *Bioorganic Chemistry* 2012.
75. Toulouse A, Sullivan AM. Progress in Parkinson's disease—Where do we stand? *Progress in Neurobiology* 2008;85(4):376-92.
76. Lipski J, Nistico R, Berretta N, Guatteo E, Bernardi G, Mercuri NB. L-DOPA: A scapegoat for accelerated neurodegeneration in Parkinson's disease? *Progress in Neurobiology* 2011;94(4):389-407.
77. Legoabe LJ, Petzer A, Petzer JP. Inhibition of monoamine oxidase by selected C6-substituted chromone derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry* 2012;49:343-53.
78. Wu F, Schuster DP, Tyml K, Wilson JX. Ascorbate inhibits NADPH oxidase subunit p47phox expression in microvascular endothelial cells. *Free Radical Biology and Medicine* 2007;42(1):124-31.
79. Gonzalez A, Hung C-Y, Cole GT. Absence of phagocyte NADPH oxidase 2 leads to severe inflammatory response in lungs of mice infected with *Coccidioides*. *Microbial Pathogenesis* 2011;51(6):432-41.
80. Zhou H, Zhang F, Chen S-h, Zhang D, Wilson B, Hong J-s, et al. Rotenone activates phagocyte NADPH oxidase by binding to its membrane subunit gp91phox. *Free Radical Biology and Medicine* 2012;52(2):303-13.
81. Maejima Y, Kuroda J, Matsushima S, Ago T, Sadoshima J. Regulation of myocardial growth and death by NADPH oxidase. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 2011;50(3):408-16.
82. Babior BM. NADPH oxidase. *Current Opinion in Immunology* 2004;16(1):42-7.
83. Frustaci A, Neri M, Cesario A, Adams JB, Domenici E, Dalla Bernardina B, et al. Oxidative stress-related biomarkers in autism: Systematic review and meta-analyses. *Free Radical Biology and Medicine* 2012;52(10):2128-41.
84. Pavlica S, Gebhardt R. Protective effects of flavonoids and two metabolites against oxidative stress in neuronal PC12 cells. *Life Sciences* 2010;86(3-4):79-86.
85. Sun W-H, Liu F, Chen Y, Zhu Y-C. Hydrogen sulfide decreases the levels of ROS by inhibiting mitochondrial complex IV and increasing SOD activities in cardiomyocytes under ischemia/reperfusion. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2012;421(2):164-9.
86. Narzi D, Siu SWI, Stirnimann CU, Grimshaw JPA, Glockshuber R, Capitani G, et al. Evidence for Proton Shuffling in a Thioredoxin-Like Protein during Catalysis. *Journal of Molecular Biology* 2008;382(4):978-86.
87. Sanz A, Barja, G. Estimation of the Rate of Production of Oxygen Radicals by Mitochondria. In: Conn PM, editor. *Handbook of Models for Human Aging*: Oxford : Elsevier Academic Press; 2006.
88. Lee J-C, Son Y-O, Pratheeshkumar P, Shi X. Oxidative stress and metal carcinogenesis. *Free Radical Biology and Medicine* 2012;53(4):742-57.
89. Zemolin APP, Meinerz DF, de Paula MT, Mariano DOC, Rocha JBT, Pereira AB, et al. Evidences for a role of glutathione peroxidase 4 (GPx4) in methylmercury induced neurotoxicity in vivo. *Toxicology* 2012;302(1):60-7.
90. Liang H, Ran Q, Jang YC, Holstein D, Lechleiter J, McDonald-Marsh T, et al. Glutathione peroxidase 4 differentially regulates the release of apoptogenic proteins from mitochondria. *Free Radical Biology and Medicine* 2009;47(3):312-20.
91. Brigelius-Flohé R, Kipp A. Glutathione peroxidases in different stages of carcinogenesis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects* 2009;1790(11):1555-68.
92. Lu SC. Glutathione synthesis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects* 2012.
93. Toppo S, Flohé L, Ursini F, Vanin S, Maiorino M. Catalytic mechanisms and specificities of glutathione peroxidases: Variations of a basic scheme. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects* 2009;1790(11):1486-500.
94. Schmidt AJ, Krieg JC, Vedder H. Effects of steroid hormones on catalase activity in neuronal and glial cell systems. *European Neuropsychopharmacology* 2005;15(2):177-83.
95. Williams C, Bener Aksam E, Gunkel K, Veenhuis M, van der Klei IJ. The relevance of the non-canonical PTS1 of peroxisomal catalase. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research* 2012;1823(7):1133-41.
96. Dasuri K, Zhang L, Keller JN. Oxidative Stress, Neurodegeneration, and the Balance of Protein Degradation and Protein Synthesis. *Free Radical Biology and Medicine* 2012.
97. Liddell JR, Robinson SR, Dringen R. Endogenous glutathione and catalase protect cultured rat astrocytes from the iron-mediated toxicity of hydrogen peroxide. *Neuroscience Letters* 2004;364(3):164-7.
98. Smith PS, Zhao W, Spitz DR, Robbins ME. Inhibiting catalase activity sensitizes 36B10 rat glioma cells to oxidative stress. *Free Radical Biology and Medicine* 2007;42(6):787-97.

99. Mustacich D, Powis G. Thioredoxin reductase. *Biochem J* 2000;346:1-8.
100. Kumar JK. Proteomic analysis of thioredoxin-targeted proteins in *Escherichia coli*. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2004;101(11):3759-64.
101. Holmgren A, Lu J. Thioredoxin and thioredoxin reductase: Current research with special reference to human disease. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2010;396(1):120-4.
102. Mittal S, Ganesh S. Protein quality control mechanisms and neurodegenerative disorders: checks, balances and deadlocks. *Neuroscience Research* 2010;68:159-66.
103. Keller JN, Dimayuga E, Chen Q, Thorpe J, Gee J, Ding Q. Autophagy, proteasomes, lipofuscin, and oxidative stress in the aging brain. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 2004;36(12):2376-91.
104. Frankland-Searby S, Bhaumik SR. The 26S proteasome complex: An attractive target for cancer therapy. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer* 2012;1825(1):64-76.
105. Jung T, Catalgol B, Grune T. The proteasomal system. *Molecular Aspects of Medicine* 2009;30(4):191-296.
106. Jung T, Bader N, Grune T. Oxidized proteins: intracellular distribution and recognition by the proteasome. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 2007;462:231-7.
107. Höhn A, Jung T, Grimm S, Catalgol B, Weber D, Grune T. Lipofuscin inhibits the proteasome by binding to surface motifs. *Free Radical Biology and Medicine* 2011;50(5):585-91.
108. Höhn A, Jung T, Grimm S, Grune T. Lipofuscin-bound iron is a major intracellular source of oxidants: Role in senescent cells. *Free Radical Biology and Medicine* 2010;48(8):1100-8.
109. Grune T, Jung T, Merker K, Davies KJA. Decreased proteolysis caused by protein aggregates, inclusion bodies, plaques, lipofuscin, ceroid, and 'aggresomes' during oxidative stress, aging, and disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 2004;36(12):2519-30.
110. Kryston TB, Georgiev AB, Pissis P, Georgakilas AG. Role of oxidative stress and DNA damage in human carcinogenesis. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 2011;711(1-2):193-201.
111. Cooke MS. Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. *The FASEB Journal* 2003;17(10):1195-214.
112. Kuper J, Kisker C. Damage recognition in nucleotide excision DNA repair. *Current Opinion in Structural Biology* 2012;22(1):88-93.
113. Hsieh P, Yamane K. DNA mismatch repair: Molecular mechanism, cancer, and ageing. *Mechanisms of Ageing and Development* 2008;129(7-8):391-407.
114. Moskalev AA, Shaposhnikov MV, Plyusnina EN, Zhavoronkov A, Budovsky A, Yanai H, et al. The role of DNA damage and repair in aging through the prism of Koch-like criteria. *Ageing Research Reviews* 2012.
115. Lu T, Pan Y, Kao SY, Li C, Kohane I, Chan J, Yankner BA. Gene regulation and DNA damage in the ageing human brain. *Nature* 2004;429:883-91.
116. Catalá A. Lipid peroxidation of membrane phospholipids generates hydroxy-alkenals and oxidized phospholipids active in physiological and/or pathological conditions. *Chem Phys Lipids* 2009;157:1-11.
117. Chen L, Meng Q, Yu X, Li C, Zhang C, Cui C, et al. Possible mechanisms underlying the biphasic regulatory effects of arachidonic acid on Ca²⁺ signaling in HEK293 cells. *Cellular Signalling* 2012;24(8):1565-72.
118. Basselin M, Ramadan E, Rapoport SI. Imaging brain signal transduction and metabolism via arachidonic and docosahexaenoic acid in animals and humans. *Brain Research Bulletin* 2012;87(2-3):154-71.
119. Fam SS, Morrow JD. The isoprostanes: unique products of arachidonic acid oxidation – a review. *Curr Med Chem* 2003;10:1723-40.
120. Niki E. Lipid peroxidation: Physiological levels and dual biological effects. *Free Radical Biology and Medicine* 2009;47(5):469-84.
121. Barrera G, Pizzimenti S, Dianzani MU. Lipid peroxidation: control of cell proliferation, cell differentiation and cell death. *Molecular Aspects of Medicine* 2008;29(1-2):1-8.
122. Reed TT. Lipid peroxidation and neurodegenerative disease. *Free Radical Biology and Medicine* 2011;51(7):1302-19.
123. Niki E, Yoshida Y, Saito Y, Noguchi N. Lipid peroxidation: Mechanisms, inhibition, and biological effects. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2005;338(1):668-76.
124. Chang L-W, Juang L-J, Wang B-S, Wang M-Y, Tai H-M, Hung W-J, et al. Antioxidant and antityrosinase activity of mulberry (*Morus alba* L.) twigs and root bark. *Food and Chemical Toxicology* 2011;49(4):785-90.
125. Harvey BS, Musgrave IF, Ohlsson KS, Fransson Å, Smid SD. The green tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate inhibits amyloid- β evoked fibril formation and neuronal cell death in vitro. *Food Chemistry* 2011;129(4):1729-36.
126. Asadi S, Ahmadiani A, Esmaeili MA, Sonboli A, Ansari N, Khodagholi F. In vitro antioxidant activities and an investigation of neuroprotection by six *Salvia* species from Iran: A comparative study. *Food and Chemical Toxicology* 2010;48(5):1341-9.
127. Okello EJ, McDougall GJ, Kumar S, Seal CJ. In vitro protective effects of colon-available extract of *Camellia sinensis* (tea) against hydrogen peroxide and beta-amyloid (A β (1-42)) induced cytotoxicity in differentiated PC12 cells. *Phytomedicine* 2011;18(8-9):691-6.
128. Pavlica S, Gebhardt R. Protective effects of flavonoids and two metabolites against oxidative stress in neuronal PC12 cells. *Life Sciences* 2010;86(3-4):79-86. *Mechanisms of Ageing and Development* 2010;131(4):242-52.