

RADICALES LIBRES Y DEFENSAS ANTIOXIDANTES

Dra. Sara Pura Terrado Quevedo¹, Dr. Armando Barthelemy Vidaillet², Lic. Marta Valls Alvarez³, Dra. Odalys Armand Lorie⁴.

RESUMEN

Los radicales libres constituyen potentes agentes oxidantes, altamente reactivos, que son neutralizados por las defensas antioxidantes. Cuando hay un desequilibrio entre los oxidantes y antioxidantes con predominio de los primeros, se dice que existe un estrés oxidativo, lesivo a macromoléculas biológicas tan importantes como proteínas, lípidos y ácidos nucleicos. Se hace referencia a los principales sistemas de defensa antioxidantes y a los mecanismos fundamentales mediante los cuales éstos actúan.

Palabras clave: RADICALES LIBRES; ANTIOXIDANTES; ESTRÉS OXIDATIVO.

INTRODUCCION

El tema de los radicales libres o agentes oxidantes es de gran actualidad y ha sobrepasado los términos estrictamente científicos para pasar a ser del dominio común de los ciudadanos. Esto se ha visto en gran medida potenciado por la relación cada vez más evidente entre envejecimiento y oxidación celular y las estrategias que la industria farmacéutica está diseñando para retardar la aparición de los cambios que aparecen con la vejez.

En términos más científicos, el interés del estudio de los radicales libres se ve estimulado por su evidente incidencia en procesos de gran repercusión individual y

¹ *Especialista de I Grado en Bioquímica clínica Profesora asistente.*

² *Especialista de I Grado en Bioquímica clínica Instructor.*

³ *Licenciada en Bioquímica. Profesora auxiliar.*

⁴ *Especialista de I Grado en Genética Profesora asistente.*

social, tales como tumores, procesos bronco-pulmonares, cardiopatía isquémica, arteriosclerosis, entre otros.

Aunque los oxidantes se generan durante los procesos biológicos normales, su capacidad de modificar las moléculas de forma perjudicial está bloqueada por una gran cantidad de antioxidantes intracelulares y extracelulares.

Cuando se produce un incremento de la carga oxidante o una disminución de la defensa antioxidante, los oxidantes quedan libres para interactuar con los componentes biológicos normales y modificarlos; cuando estos componentes son esenciales, y la magnitud de su modificación suficiente, se manifiesta la lesión a nivel tisular.

La naturaleza ha dotado a los organismos con metabolismo aerobio de múltiples sistemas destoxificadores o antioxidantes cuya función fundamental es la de atenuar los efectos de los oxidantes.

DESARROLLO

FORMACIÓN DE RADICALES LIBRES.

Un radical libre se define como una especie química con capacidad de existencia independiente que posee un orbital con un electrón desapareado, lo que le otorga una especial reactividad.

A nivel fisiológico los radicales libres más importantes son especies derivadas del oxígeno, tales como el anión superóxido (O_2^-), el radical hidroxilo (OH), el óxido nítrico (NO), el radical peróxido (ROO), el radical hidroperoxilo (HO_2) y el oxígeno singlete (1O_2). Además de los radicales libres, existen otras especies reactivas derivadas del oxígeno y que pueden ser oxidantes en ciertas condiciones, como por ejemplo, el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), el ácido hipocloroso (HOCl) y el ozono (O_3).

En el organismo humano los radicales libres se producen normalmente durante el metabolismo aeróbico celular, a través de reacciones enzimáticas, dentro de las que se incluyen la cadena respiratoria, la síntesis de prostaglandinas y el sistema del citocromo P450. Pero los radicales libres también se pueden generar "accidentalmente" a partir de reacciones no enzimáticas como las que se producen por reacción del oxígeno con compuestos orgánicos o las iniciadas por radiaciones ionizantes. También, el organismo está expuesto a agentes oxidantes ambientales como el ozono, el humo del tabaco, etc.

Debido a su elevada reactividad, los radicales libres formados son capaces de interactuar con diversas estructuras celulares a través de la unión covalente a

enzimas o receptores, modificando su actividad; mediante la unión a ciertos componentes de la membrana, alterando la estructura y función de la misma e interfiriendo en los procesos de transporte, iniciando la peroxidación lipídica, con graves consecuencias estructurales y funcionales, o causando daño sobre el ADN.

Debido a su potencial para dañar a los sistemas biológicos principales, se considera que los radicales libres son factores importantes que contribuyen al desarrollo de ciertas enfermedades crónicas como la enfermedad cardiovascular y el cáncer, entre otras, en las que el estrés oxidativo se presenta como un fenómeno secundario que puede agravar el curso de las mismas.¹

SISTEMAS ANTIOXIDANTES.

El descubrimiento en 1968 de la superóxido dismutasa despertó el interés de los científicos por los sistemas antioxidantes. El hecho de que existan tantos sistemas detoxificadores y de que estén tan ampliamente distribuidos en los seres vivos refleja la enorme importancia de estar protegidos de la oxidación.²

Los sistemas antioxidantes han sido clasificados teniendo en cuenta su naturaleza enzimática o no, en:

1- Enzimáticos. Entre éstos se encuentran: superóxido dismutasa, catalasa, glutatión reductasa, glutatión peroxidasa, glutatión transferasa, glucosa 6 fosfato deshidrogenasa.

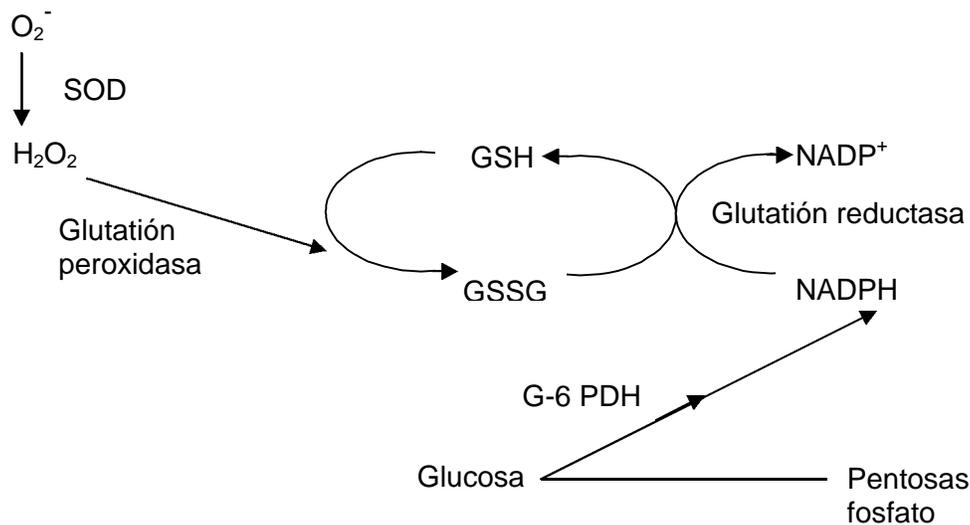
2- No enzimáticos. Entre éstos se encuentran: ácido ascórbico, glutatión, tocoferoles, coenzima Q, flavonoides, carotenoides (luteína, licopeno, lizaxantina).

SISTEMA DEL GLUTATION

El glutatión está ampliamente distribuido a nivel celular. De hecho, puede encontrarse en las células de casi todos los animales a concentraciones relativamente altas. El glutatión es un reductor intracelular que tiene un papel muy importante en la catálisis, en el metabolismo y el transporte. Se encarga de proteger a las células de los radicales libres, los peróxidos y otros compuestos tóxicos.

Muchas de estas funciones derivan de sus propiedades químicas, pues contiene un grupo tiol y un enlace gamma glutamilo que es resistente a la degradación de las peptidasas normales (65- 66). El grupo sulfidrilo, que forma parte de la cadena lateral del aminoácido cisteína, es el causante de la acción neutralizadora del glutatión sobre los radicales libres.³

EL CICLO DEL GLUTATIÓN:



El glutatión es cofactor de la enzima glutatión peroxidasa. Esta enzima cataliza la formación del glutatión reducido (GSH). Es una proteína tetramérica que posee cuatro átomos de selenio y utiliza como sustrato al glutatión, el cual es capaz de conjugarse con compuestos especialmente tóxicos, solubilizarlos y facilitar su excreción biliar.⁴

Es la única enzima humana que utiliza selenio como cofactor. Esta enzima participa también en la eliminación de hidroperóxidos. La enzima glutatión reductasa cataliza la reacción de regeneración del glutatión reducido. Esta enzima utiliza como cofactor al $NADPH.H^+$ proveniente fundamentalmente del ciclo de las pentosas.

SUPEROXIDO DISMUTASA

Existen diferentes tipos de esta enzima, las que se caracterizan por utilizar iones metálicos como elementos catalíticos esenciales. Los tipos fundamentales de esta enzima son la superóxido dismutasa manganeso dependiente (Mn SOD) y la superóxido dismutasa cobre zinc dependiente (Cu Zn SOD).

Estas enzimas se localizan en prácticamente todos los tejidos y son particularmente abundantes en el epitelio alveolar y los endotelios vasculares. Ellas participan en la eliminación del radical super óxido.

La forma dominante de la esclerosis lateral amiotrófica, enfermedad degenerativa de las neuronas motoras del encéfalo y de la médula espinal, está relacionada con una mutación de la SOD que contiene zinc y cobre. Estas mutaciones disminuyen su

actividad y hacen que la enzima, normalmente protectora, se transforme en tóxica. Puede ser que las enzimas mutantes liberen fácilmente Cu^{+2} , un potente pro-oxidante.

Por otro lado, estudios realizados indican que parece factible utilizar la SOD Cu Zn humana recombinante en forma de aerosol como método para incrementar la pantalla antioxidante de la superficie epitelial respiratoria.⁵

GLUTATION S TRANSFERASAS

Las glutatión S transferasas constituyen un conjunto de enzimas que participan en la eliminación de los radicales libres, es decir, forman parte de las defensas antioxidantes y también utilizan al glutatión como cofactor.

GLUCOSA 6 FOSFATO DESHIDROGENASA.

La glucosa 6 fosfato deshidrogenasa cataliza una de las reacciones del ciclo de las pentosas en la que obtiene NAPH.H^+ . La deficiencia de esta enzima desencadena la lesión oxidativa en el eritrocito debido a que limita la producción de NAPH.H^+ necesario para regenerar el glutatión reducido. Esto produce una acumulación de peróxido de hidrógeno y del ión superóxido.

La acumulación de estos compuestos puede causar la oxidación de grupos sulfidrilos de proteínas de la membrana del eritrocito y, quizás, peroxidación de los lípidos de membrana, causando su lisis. También, pueden oxidar grupos sulfidrilos de la hemoglobina haciendo que ésta precipite y forme los llamados cuerpos de Heinz.

CATALASA

Es una proteína tetramérica que contiene como grupo prostético al HEMO. Es abundante en los peroxisomas donde participa en la eliminación del peróxido de hidrógeno.

TOCOFEROLES

El término tocoferol se aplica a una familia de compuestos relacionados: los tocoferoles y los tocotrienoles. Los tocoferoles más importantes desde el punto de vista nutricional son: Alfa- tocoferol, Beta-tocoferol, Gamma-tocoferol, Delta-tocoferol. Estos constituyen las cuatro formas principales de la vitamina E.

A pesar de su baja concentración en las membranas celulares (aproximadamente una molécula de vitamina E por cada 1 000 de lípidos), la vitamina E es considerada el

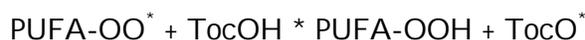
principal antioxidante liposoluble del organismo. En la membrana celular rompe la cadena de peroxidación de los radicales peroxilos, amortigua los efectos peroxidantes del ión superóxido, modula la cascada metabólica del ácido araquidónico iniciada por la lipoxigenasa o la ciclooxigenasa, y controla la fluidez de la membrana, ordenando su estructura.

La principal acción de la vitamina E como antioxidante se ejerce rompiendo la cadena de reacción de radicales libres del organismo. Reacciona más rápidamente con los radicales peroxilos que los ácidos grasos poliinsaturados. Una cadena de reacción de radicales libres se inicia cuando un ácido graso poliinsaturado (PUFA-H; *Poly Unsaturated Fatty Acid*) presente en los fosfolípidos de las membranas pierde un hidrógeno al reaccionar con un radical libre (R^*), transformándose el propio ácido graso en radical libre (PUFA *), que reacciona rápidamente con el oxígeno molecular, formándose un radical libre peroxilo (PUFA-OO *)



Este radical libre, a su vez, puede quitar un hidrógeno a otro ácido graso poliinsaturado, que inicia su transformación en radical peroxilo, y la repetición de este proceso constituye la cadena de reacción de radicales libres (también denominada cadena de peroxidación), la cual puede distorsionar la propia estructura molecular de la membrana celular.

La cadena de reacción de radicales libres se rompe, gracias precisamente a la presencia en la membrana celular de un antioxidante fenólico, como es la vitamina E. Para ello, un radical libre peroxilo (PUFA-OO *) reacciona con la vitamina E (α -tocoferol, TocOH), que le transfiere un hidrógeno fenólico transformándose en hidroperóxido (PUFA-OOH), que ya no es radical libre, formándose a su vez el radical fenoxilo del tocoferol (TocO *), que tiene muy poca reactividad y no propaga la cadena de peroxidación:



El radical fenoxilo del tocoferol puede reaccionar con la vitamina C ó con el glutati6n reducido (GSH) para regenerar tocoferol. A su vez, por acción de la fosfolipasa A₂, el hidroperóxido del ácido graso es liberado del fosfolípido, que puede difundir al citosol, donde, por acción de los sistemas enzimáticos de la superóxido dismutasa, catalasa o glutati6n peroxidasa, llega a transformarse en hidroxiaácido (PUFA-OH). De esta forma se produce una interacción sinérgica entre los distintos sistemas antioxidantes presentes en la fase lipídica de las membranas celulares y la fase acuosa del citosol.

El radical fenoxilo del tocoferol puede también reaccionar con otro radical peroxilo de ácido graso poliinsaturado, formándose otro hidroperóxido de ácido graso, más un producto oxidado no radical del tocoferol:

$\text{ROO}^* + \text{TocO}^* \rightarrow \text{ROOH} + \text{producto de oxidación del tocoferol en el que el anillo cromano y la cadena lateral del tocoferol son transformados en productos no radicales.}$

Los productos no radicales libres de oxidación del tocoferol pueden ser muy variables e, incluso, dos radicales *-tocoferoxilos pueden reaccionar juntos formando un dímero o ser completamente oxidados a quinona de tocoferol. Estos productos son conjugados con el ácido glucurónico y excretados por la bilis, de forma que una vez realizada su función el *-tocoferol no se recicla, sino que debe ser reemplazado totalmente para continuar presente en la membrana celular. De cualquier forma, se cree que una gran proporción de la vitamina E no llega a transformarse en esos productos, sino que es reemplazada intacta.

La acción antioxidante del tocoferol constituye la primera línea de defensa contra la peroxidación lipídica, protegiendo las membranas celulares precisamente en la etapa inicial del ataque de radicales libres, a través de su capacidad amortiguadora de dichos radicales. De hecho, la acción antioxidante de la vitamina E es efectiva a altas concentraciones de oxígeno, por lo que no sorprende que tienda a concentrarse en las estructuras lipídicas que están expuestas a las más altas presiones de oxígeno, como las membranas de los eritrocitos, las del árbol respiratorio y las de la retina.

Actualmente los conocimientos de la función que desempeñan las lipoproteínas de baja densidad (LDL) oxidadas en la patogenia de la aterosclerosis han puesto de manifiesto otra posible función de la vitamina E; se ha demostrado que los suplementos de vitamina E protegen a las LDL de la oxidación, lo que evita la propagación iniciada por el ataque de los radicales libres.

La vitamina E protege de todos estos acontecimientos intracelulares ejerciendo las funciones protectoras. Entre esas funciones están sus efectos protectores sobre la oxidación de las LDL y sobre el metabolismo del ácido araquidónico endotelial.

La función del tocoferol como protector de la autooxidación de las LDL es bien conocida. Las LDL oxidadas constituyen un factor iniciador del proceso aterosclerótico y, precisamente, los antioxidantes como la vitamina E pueden evitar su formación, como se ha demostrado tanto *in vitro* como *in vivo*. De hecho, la vitamina E es el principal factor antioxidante presente en las LDL, y existen incluso estudios clínicos en los que se ha demostrado la eficacia del suplemento dietético con vitamina E en la prevención de la aterosclerosis. La cantidad de vitamina E en las LDL sometidas a oxidación *in vitro* disminuye con el tiempo, pero se ha demostrado que este efecto es inhibido o retrasado en presencia de otros agentes antioxidantes como

el ácido ascórbico o los flavonoides, lo que pone de manifiesto la existencia de una respuesta sinérgica entre estos factores.

El ácido araquidónico es el ácido graso poliinsaturado más abundante de la serie C₂₀ y es el precursor de varias familias de compuestos que ejercen diversos efectos biológicos. Cuando las fosfolipasas liberan al ácido araquidónico de los fosfolípidos, éste es metabolizado por la vía de la ciclooxigenasa sintetizándose prostaglandinas, tromboxanos y prostaciclina, o por la vía de las lipoxigenasas sintetizándose leucotrienos y lipoxinas. La acción de las lipoxigenasas conlleva a la formación de radicales libres, y la vitamina E interfiere en la formación de dichos radicales a través de un mecanismo similar al comentado anteriormente.

En consecuencia, la vitamina E inhibe la síntesis de leucotrienos, así como la oxidación no enzimática del ácido araquidónico, mientras que facilita la acción de la ciclooxigenasa y la síntesis de prostaciclina (en particular la PGI₂) a partir del ácido araquidónico. La síntesis de la PGI₂ comienza con la liberación del ácido araquidónico de los fosfolípidos de la membrana por acción de la fosfolipasa A₂. Una vez liberado, el ácido araquidónico se transforma secuencialmente por la ciclooxigenasa y prostaciclina sintetasa, en la PGI₂, y el proceso es activado por la vitamina E, que incrementa la expresión de la fosfolipasa A₂ y de la ciclooxigenasa.

El efecto de la vitamina E de inhibir la síntesis de leucotrienos se ejerce de una forma dependiente de la dosis. Estos compuestos son factores quimiotácticos y mediadores de procesos inflamatorios, por lo que la acción de la vitamina E de inhibir su formación contribuye también a reducir el desarrollo del proceso aterosclerótico.

La relación entre esta vitamina y el selenio se demostró por primera vez en 1939. Al alimentar animales de laboratorio con dietas purificadas se comprobó que sus hígados resultaban dañados y morían. Se les podía proteger suministrándoles vitamina E, o bien extracto de levadura; se descubrió que el factor responsable era un derivado orgánico del selenio.

Hoy se conoce que la glutatión peroxidasa, de la cual el selenio es un componente integral, proporciona una segunda línea de defensa contra los peróxidos. Así, el tocoferol y el selenio reducen el requerimiento de uno y otro o refuerzan cada una de las acciones del otro contra los peróxidos.

Además, el selenio se requiere para la función pancreática normal, que a su vez es necesaria para la digestión y absorción de los lípidos, incluyendo la vitamina E. De modo inverso, la vitamina E reduce los requerimientos de selenio al impedir su pérdida corporal o por conservación de su forma activa.⁶

CAROTENOIDES

Los carotenoides son compuestos isoprenoides, los más generalizados de todos los pigmentos naturales. La naturaleza produce cerca de 100 millones de pigmentos de carotenoides por año. Ningún animal puede sintetizar carotenoides. Muchos mamíferos acumulan carotenoides en sus tejidos. El cuerpo amarillo del ovario humano acumula B-caroteno.

Entre los carotenoides más comunes están: alfa caroteno, beta caroteno, gamma caroteno, zeaxantina, luteína, licopeno.

Ciertos carotenoides son capaces de convertirse en vitamina A. Estos carotenoides de pro-vitamina, según se conocen, totalizan actualmente más de 50. De éstos, el todo-trans-beta-caroteno efectúa la contribución más extensa a la actividad vitamina A.

Debido a su alto grado de insaturación los carotenoides pueden extraer o donar electrones, lo que da lugar a radicales aniónicos y catiónicos que pueden reaccionar con el oxígeno y otras moléculas, lo cual pone de manifiesto tanto propiedades antioxidantes como pro-oxidantes en diversas condiciones.

Como grupo, los carotenoides son sumamente hidrófobos, prácticamente insolubles en agua. Por consiguiente, están restringidos a zonas hidrófobas de las células como el núcleo interno de las membranas.

Los carotenoides, al reducir radicales libres de oxígeno, pueden actuar como antioxidantes. Como resultado, se han demostrado varios efectos protectores en sistemas experimentales. Estos incluyen reducción de los radicales libres en la neoplasia fotoinducida, en la mutagenia, en el intercambio de cromátidas hermanas y en la transformación celular.

En los estudios epidémicos humanos se ha demostrado que el beta caroteno y algunos otros carotenoides, incluyendo algunos que no son provitamina A, están asociados con el efecto protector contra algunos cánceres, cataratas relacionadas con la edad y cardiopatía coronaria. Sin embargo, es importante recordar que estos resultados son preliminares. En algunos casos el consumo excesivo de carotenos se ha asociado con efectos nocivos. En otros estudios, los efectos beneficiosos se han asociado con un consumo relativamente alto de fuentes de caroteno, como las frutas y las hortalizas.

Se sabe que éstas contienen otros antioxidantes nutricionales y también no nutricionales.

Licopeno

El licopeno es un carotenoide altamente lipofílico, que se caracteriza por carecer de anillos cíclicos y poseer un gran número de dobles enlaces conjugados; se encuentra primordialmente en el tomate y sus productos derivados en la dieta occidental, aunque también lo contienen otras frutas de color rojo. Sus características químicas le confieren un gran poder antioxidante; de hecho, el licopeno ha demostrado ser el carotenoide con mayor capacidad de neutralizar radicales de oxígeno singlete (1O_2). La absorción intestinal del licopeno presente en el tomate y sus derivados aumenta cuando éstos se calientan antes de la ingestión o cuando son ingeridos junto con una comida grasa.

Se ha demostrado que el licopeno es capaz de disminuir la oxidabilidad de las LDL cuando se administra jugo de tomate a corto plazo (cuatro semanas), pero cuando se ha evaluado su actividad antioxidante de forma aislada *in vitro* no se ha encontrado que disminuya la propensión de las LDL a la peroxidación lipídica.

El licopeno carece totalmente de actividad de provitamina A, y sus concentraciones plasmáticas no son consistentemente menores en fumadores que en no fumadores; debido a esto, se ha puesto en duda su capacidad antioxidante *in vivo*, y se están atribuyendo sus efectos de retraso del desarrollo de aterosclerosis a otros mecanismos. Una de estas hipótesis proviene de un estudio en el cual se realizó una adición de licopeno a cultivos de macrófagos, con lo que se obtuvo una disminución del 73% en la síntesis de colesterol y un aumento de 34% en la captación y degradación de LDL. Al evaluar los mismos autores los efectos de la suplementación con 60 mg/día de licopeno en pacientes durante tres meses, encontraron una disminución del 14% de LDL, sin cambios en otras fracciones lipoproteicas.⁷

POLIFENOLES

Constituyen un grupo de compuestos presentes, sobre todo, en hojas, frutos, corteza e incluso madera de los vegetales, que como su nombre indica, poseen varios anillos fenólicos unidos por diferentes radicales hidrocarbonatos, que les otorgan especificidad. Varios de ellos confieren un color amarillo (flavus) a los tejidos vegetales en los que se encuentran, por lo que se han llamado flavonoides. Múltiples estudios relacionan a los polifenoles con el desarrollo de las enfermedades cardiovasculares. Dentro de los polifenoles más estudiados están los del té y el vino.

Polifenoles del vino

Más de 60 estudios prospectivos han encontrado una asociación inversa entre el consumo moderado de bebidas alcohólicas y el riesgo cardiovascular, aunque el efecto

ha sido más acusado para el vino. Parte de este efecto adicional puede ser explicado por su contenido de flavonoides antioxidantes. Los principales flavonoides antioxidantes del vino son el resveratrol y la quercetina. El vino tinto tiene un mayor contenido de flavonoides que el blanco y ha demostrado ser capaz de inhibir la oxidación de las LDL *in vitro* por un efecto independiente de su contenido en alcohol. La quercetina y el resveratrol han demostrado inhibir la oxidación de las LDL *in vitro*, con diferencias en su potencia antioxidante, además de poseer un efecto antiagregante plaquetario. Al parecer los flavonoides se encuentran en la piel y las pepitas de la uva y, por tanto, es durante el proceso de maduración cuando el vino se carga de flavonoides antioxidantes.

Polifenoles del té

El té, la segunda bebida más consumida en todo el mundo después del agua, con un consumo promedio per cápita de 120 ml/día. De acuerdo con el procesamiento de las hojas antes de elaborar la infusión, existe té verde y té negro, y en cada parte del mundo se consume uno de estos dos tipos, aunque el negro es consumido en el 80% de los lugares en que se bebe té. Aproximadamente el 30% del peso seco de las hojas de té son polifenoles, de los cuales los más importantes son los flavonoles conocidos como catequinas. El contenido de catequinas de los distintos tipos de té es diferente.

Un estudio clínico muy reciente demuestra que el consumo de té negro a corto y a largo plazo revierte la disfunción endotelial presente en pacientes con enfermedad coronaria, por lo que en el futuro próximo seguramente se llevarán a cabo más estudios aleatorios del consumo de té y se podrán definir recomendaciones para la población en general y los individuos con riesgo cardiovascular en particular.⁷

Polifenoles del aceite de oliva

Estudios recientes muestran que los principales fenoles presentes en el aceite de oliva virgen poseen un importante conjunto de propiedades antioxidantes e inhibitoras de la enzima lipooxigenasa leucocitaria. Los resultados sugieren que estos compuestos pueden actuar reduciendo la migración de leucocitos a la zona inflamada, reduciendo la producción de leucotrieno B₄, poderoso agente quimiotáctico, y los consiguientes daños originados por la liberación de especies reactivas del oxígeno y del nitrógeno procedentes de células fagocíticas.

Sin embargo, estos compuestos mantienen intacta la generación de prostanoïdes tipo tromboxanos originados por la vía de la ciclooxigenasa. Por extensión, se entiende que estos compuestos no producen inhibición en la generación de prostaglandinas, mediadores lipídicos derivados de esta misma vía enzimática, que actúan facilitando el flujo sanguíneo microvascular y realizando funciones inmunomoduladoras. Estos estudios han permitido concluir que los polifenoles del aceite de oliva virgen podrían colaborar como agentes protectores contra aquellas alteraciones del sistema

cardiovascular, cuya progresión se ve acelerada por la acumulación y adhesión de células leucocitarias a la zona inflamada.⁸

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Rodríguez-Palmero M. Nutrición. Radicales libres, antioxidantes y envejecimiento. [Artículo en línea]. Papel de la dieta. *Ámbito farmacéutico* 2000; 19 (7) <<http://db.doyma.es/cgi-bin/wdbcgi.exe/doyma/mrevista.fulltext?pidet=11589>> [22 noviembre 2002]
2. Barquinero J. Los antioxidantes defienden la vida. En: Crystal R G, Ramón J R. *Glutación: eje de la defensa antioxidante*. Países bajos: Excerpta Médica; 1992. 22.
3. Viña J. Efectos del envejecimiento sobre el metabolismo y las funciones del Glutación. En: Cristal RG, Ramón J R. *Glutación: eje de la defensa antioxidante*. Países bajos: Excerpta Médica; 1992: 65-67.
4. Zorrilla García A. El envejecimiento y el stress oxidativo. *Rev Cubana Invest Bioméd.* 2002; 21 (3):
5. Hallivel B. Antioxidantes. En: Ziegler E, Filer J R. *Conocimientos actuales sobre nutrición*. 7ª ed. Washington: 1997: 639-640.
6. Herrera E. Metabolismo de la vitamina E. *Nutrición y obesidad*. [Artículo en línea]. 2000; 3 (1) <http://db.doyma.es/cgi-bin/wdbcgi.exe/doyma/mrevista.fulltext?pidet=8221> [13 de octubre 2002]
7. Mendevil C O. Antioxidantes y enfermedad vascular. [Artículo en línea]. *Clínica Investig Arteriosclerosis* 2002; 14 (1) <http://db.doyma.es/cgi-bin/wdbcgi.exe/doyma/mrevista.fulltext?pidet=13025977> [15 de noviembre 2002].
8. De la Puerta R, Ruiz Gutiérrez V. Efecto protector de los polifenoles. [Artículo en línea]. *Clínica Investig Arteriosclerosis* 2000; 12 (2) <http://db.doyma.es/cgi-bin/wdbcgi.exe/doyma/mrevista.resumen?pidet=11061>. [20 de septiembre 2002].