



Antioxidants and inhibition of free radicals: lipoperoxidation and carbonylation

Antioxidantes e inhibición de radicales libres: lipoperoxidación y carbonilación

Oscar Antonio Aguilar-Paredes¹, Citlalli Castillo-Guevara², Rubén Díaz-Godínez³, Antonio Nieto-Camacho⁴, Daniel Méndez-Iturbide^{5*}

¹Maestría en Biotecnología y Manejo de Recursos Naturales, Universidad Autónoma de Tlaxcala, Ixtacuixtla, Tlaxcala, México.

²Laboratorio de Biodiversidad, Centro de Investigación en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala, Ixtacuixtla, Tlaxcala, México.

³Laboratorio de Biotecnología, Centro de Investigación en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala, Ixtacuixtla, Tlaxcala, México.

⁴Laboratorio de Pruebas de Actividad Biológica, Instituto de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, México.

⁵Laboratorio de Investigación en Química de la Nutrición de la Licenciatura en Nutrición, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma de Tlaxcala, Tlaxcala, México.

*Corresponding author.

E-mail address: danychem@yahoo.com.mx (D. Méndez-Iturbide).

Article history:

Received: 20 November 2017 / Received in revised form: 29 December 2017 / Accepted: 30 December 2017 / Published online: 1 January 2018.

<https://doi.org/10.29267/mxjb.2018.3.1.60>

ABSTRACT

The interaction that exists between free radicals and antioxidants is important for health, aging and different diseases related to age. Free radicals induce oxidative stress, which can be inhibited by the action of the body's endogenous antioxidants in conjunction with the exogenous antioxidants that are obtained through the ingestion of some foods. The free radicals that are commonly produced during aerobic metabolism are used in different defense mechanisms against infectious agents, however these molecules are highly reactive, and can damage various biomolecules of our cells. In this work, a general view of the main aspects of the subject is presented, concepts, classifications and characteristics of free radicals and different antioxidant defense systems are mentioned, the mechanisms by which damage these chemical species are produced on the body are briefly explained

Keywords: carbonylation, free radical, lipoperoxidation

RESUMEN

La interacción que existe entre radicales libres y los antioxidantes es muy importante para mantener la salud en el ser humano, ya que en el proceso de envejecimiento y en diferentes enfermedades relacionadas con la edad, los radicales libres inducen al estrés oxidativo, el cual puede ser inhibido por la acción de los antioxidantes endógenos del cuerpo en conjunto con los antioxidantes exógenos que se obtienen a través de la ingestión de algunos alimentos. Los radicales libres que comúnmente se producen durante el metabolismo aerobio son utilizados en diferentes mecanismos de defensa contra agentes infecciosos, a pesar de ello estas moléculas son altamente reactivas, y pueden dañar diversas biomoléculas de nuestras células. En este trabajo se presenta una visión general de los principales aspectos de los antioxidantes, se mencionan conceptos, clasificaciones y características de los radicales libres y de los diferentes sistemas de defensa antioxidante, se explican brevemente los mecanismos por los cuales se producen los daños de estas especies químicas sobre el organismo.

Palabras clave: radical libre, carbonilación, lipoperoxidación,

1. INTRODUCCIÓN

El metabolismo celular es un conjunto de procesos enzimáticos indispensables para la supervivencia del hombre, que en conjunto con otros factores como la exposición a contaminantes, el estilo de vida, el medio ambiente y situaciones patológicas, generan especies reactivas derivadas de oxígeno y otros radicales libres, que en conjunto cuando se encuentran en exceso, da resultado el estrés oxidativo. Este proceso se ha relacionado con diversas enfermedades crónicas e incluso algunos tipos de cáncer (Phaniendra *et al.*, 2014). Recientemente la investigación en antioxidantes ha ganado gran relevancia en investigación de ciencias de la salud, ya que se ha demostrado mejorar el sistema inmune y ayudar en la reducción de enfermedades crónicas degenerativas, esto es posible porque inhiben la oxidación de las células causada por los radicales libres.

Diversas patologías tales como; enfermedades gástricas, cardíacas, respiratorias, óseas, multiorgánicas, entre otras, están asociadas a la excesiva producción de moléculas de gran inestabilidad llamadas radicales libres. La definición de especies reactivas se refiere a dos tipos de moléculas: los radicales y los no radicales (Lozada & García, 2009). Estas moléculas son el resultado del metabolismo celular y se localizan en los sistemas biológicos como especies reactivas de oxígeno (ROS) y por las especies reactivas de nitrógeno (RNS), estas moléculas se generan a través de los procesos fisiológicos normales y en procesos patológicos (Halliwell, 2006).

Durante las últimas décadas, se ha correlacionado positivamente el aumento de proteínas carboniladas con ciertas patologías, está bien establecido que la exposición de proteínas a

especies reactivas del oxígeno (EROS) pueden alterar la estructura química y física de la molécula, causando oxidación de los grupos laterales, escisión de proteínas, fragmentación del esqueleto proteico, entrecruzamiento, pérdida del plegamiento, y formación de nuevos grupos reactivos tales como los grupo carbonilo (Dalle-Donne & Aldini 2006). Las especies reactivas de oxígeno también reaccionan con los ácidos grasos poliinsaturados de las membranas celulares transformándolos en ácidos grasos peroxidados, los cuáles sufren un acortamiento de su cadena lateral liberando malondialdehído, alterando las funciones celulares de los organismos (Spickett, 2010).

2. RADICAL LIBRE

Un radical libre (RL) se define como una especie química que puede ser neutra o con carga, y que en su último orbital contiene uno o más electrones desapareados (Ascensão, Ferreira & Magalhães 2007), lo cual le da la característica de ser muy inestable cinéticamente y energéticamente hablando (Halliwell, 2007). Esta configuración inestable genera energía que se libera por medio de reacciones con moléculas cercanas, como lípidos, proteínas, carbohidratos y ácidos nucleicos. Existen diferentes maneras por las cuales se pueden generar RL, una de ellas es el metabolismo celular (Reina & Martínez 2017), además existen otras fuentes endógenas por ejemplo la autooxidación de sustratos, las oxidaciones microsomales, los fagosomas, y los neutrófilos, así como también pueden existir factores externos que generan éste tipo de moléculas como la exposición a gases provenientes de los escapes de los automóviles, la contaminación ambiental, el humo del cigarrillo, exposición a rayos X, al ozono y a productos químicos industriales además de ciertos medicamentos (Lobo, 2010). Cuando existe un aumento en la concentración de los RL se origina un desequilibrio entre la velocidad de generación y su inhibición por el sistema antioxidante endógeno, dando como resultado un proceso llamado estrés oxidativo y que se ha asociado a diversas enfermedades.

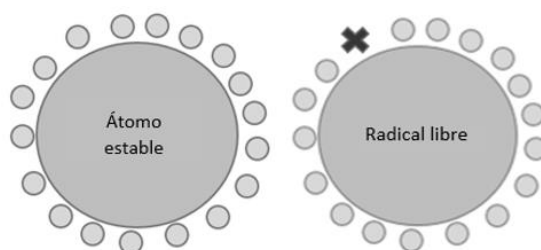


Fig. 1. Estructura de un átomo estable y un radical libre.

3. ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO

El oxígeno molecular es un radical libre estable y que es esencial para la función celular y por lo tanto para la vida de los organismos aerobios, cuando el oxígeno es utilizado a través de la cadena respiratoria se generan radicales centrados en el oxígeno y que son llamados especies reactivas de oxígeno (Delgado, 2010; Schieber, 2014). Cuando el O₂ se reduce a través de los electrones que salen de la cadena respiratoria dan origen a diversas ERO como; súper óxido (O₂⁻), hidroxilo (·OH), peroxilo (R-OO·), alcoxilo (R-O·), hidroperoxilo (H-O-O·) entre otros como se muestra en la tabla 1.

Tabla 1. Especies reactivas de oxígeno generadas en el cuerpo humano.

No- Radicales	Radicales
Oxígeno singulete (¹ O ₂)	Hidroperoxilo (H-O-O·)
Ozono (O ₃)	Alcoxilo (RO·)
Peróxido de hidrógeno (H ₂ O ₂)	Peroxilo (R-O-O·)
Ácido hipocloroso (HOCl)	Hidroxilo (·OH)
Ácido hipobromoso (HOBr)	Superóxido (O ₂ ⁻)
Anión peroxinitrito (NO ₃ ⁻)	

4. ESTRÉS OXIDATIVO

Se define como un proceso donde existe un desequilibrio al aumentar el contenido intracelular de RL, haciendo que las defensas antioxidantes de la célula sean incapaces de inhibir el daño (Gutteridge & Halliwell, 1999), que éstas generan a los lípidos (Yla-Herttuala, 1999), ADN (Marnett, 2000) y proteínas (Stadtman, 2000). Todo esto tiene como consecuencia la alteración de la relación estructura-función en cualquier órgano o grupo celular especializado (Ames, 1993), y este proceso está asociado a diversas enfermedades como; diferentes tipos de cáncer, diabetes mellitus, Alzheimer, hipertensión, artritis etc (Phaniendra, 2015).

Se sabe que el estrés oxidativo oxida a los aminoácidos que forman a las proteínas, produciendo múltiples modificaciones como son: la formación de grupos carbonilo (Imlay, 2003; Nyström, 2003), modificando así su estructura, actividad y función. Por otra parte el estrés oxidativo que también ataca a los ácidos grasos poliinsaturados dan lugar a la lipoperoxidación, en donde ceden sus electrones a los radicales libres, dañando considerablemente a las células ya que afecta la membrana celular además de modificar su estructura molecular provocando la muerte celular (Delgado, 2010).

El DNA también se ve afectado por el estrés oxidativo, generando errores en la transcripción y traducción de RNA, esto sucede cuando el radical hidroxilo (·OH), provoca

una liberación de las bases nitrogenadas que están unidas a la desoxirribosa, dando como resultado el rompimiento de una o ambas cadenas de DNA (Dunkan, *et al.*, 2000).

5. ANTIOXIDANTES

Los antioxidantes son considerados como cualquier sustancia que presente en bajas concentraciones tiene la capacidad de retrasar o inhibir la oxidación. Los antioxidantes pueden actuar de diversas maneras.

- a) Disminuyendo la concentración de oxidantes.
- b) Evitando la iniciación de la reacción en cadena al “barrer” (cubrir o detener una reactividad química muy alta), los primeros radicales libres que se forman.
- c) Uniéndose a iones metálicos para evitar la formación de especies reactivas.
- d) Transformando los peróxidos en productos menos reactivos.
- e) Deteniendo la propagación y el aumento de radicales libres.

5.1. Antioxidantes enzimáticos

Los antioxidantes enzimáticos ayudan a la prevención de que se generen nuevas ERO. Esto se consigue transformando las ERO en moléculas menos dañinas, antes de que reaccionen, evitando su producción a partir de otras moléculas (Katalinic *et al.*, 2005), en éste grupo destacan las siguientes enzimas:

5.1.1. Superóxido dismutasa

Las superóxido dismutasas (SOD), son una familia de enzimas que catalizan la transformación de los radicales libres anión superóxido, en peróxido de hidrógeno y oxígeno, estas enzimas se localizan tanto intracelular como extracelularmente. Se ha identificado que la SOD tiene actividad en diferentes seres vivos desde bacterias hasta en humanos, actuando como defensa ante la toxicidad del oxígeno, constituyen una familia de metaloenzimas que actúan a través de cuatro grupos de metal; Fe-SOD, Mn-SOD, CuZn-SOD y Ni-SOD (Lynch & Kuramitsu, 2000).

5.1.2. Catalasa

La catalasa es una enzima antioxidante, que se localiza en la mayoría de los tejidos que utilizan oxígeno, específicamente en las mitocondrias y los peroxisomas este tipo de enzimas utilizan manganeso o hierro para degradar o reducir el peróxido de hidrógeno a agua y oxígeno molecular (Radi *et al* 1991). También reaccionan con donantes de hidrógeno como el ácido fórmico, etanol, metanol y fenoles con actividad peroxidasa.

5.1.3. Glutation peroxidasa

Glutation peroxidasa (GPX) es una enzima intracelular que rompe los peróxidos de hidrógeno en agua, y los peróxidos lipídicos los convierte en sus alcoholes, este proceso se

lleva a cabo en la mitocondria y algunas veces en el citosol. (Góth, 2004). Su actividad depende en su mayoría de un cofactor de un micronutriente, que es el selenio, esta enzima principalmente inhibe la peroxidación de los lípidos protegiendo así las células del estrés oxidativo.

5.2. Antioxidantes no enzimáticos

5.2.1. Vitamina E

Es un lípido isoprenoide y que se puede encontrar de 8 maneras diferentes en el cuerpo humano, la forma más activa en la que se encuentra esta vitamina es α -tocoferol cuyo hidroxilo fenólico en el anillo de cromano es el encargado de la reducción antioxidante, es el antioxidante más importante que se localiza unido a la membrana celular (Hensley *et al.*, 2004; Mayes, 1997). Las propiedades redox de su anillo cromano que está en su estructura química como se muestra en la figura 2, ataca a los radicales orgánicos peroxilos convirtiéndola en un antioxidante efectivo ante este tipo de radicales (Sies, 1995). Se ha demostrado que la vitamina E es el principal antioxidante liposoluble que protege a las lipoproteínas contra el estrés oxidativo (Febles, 2002).

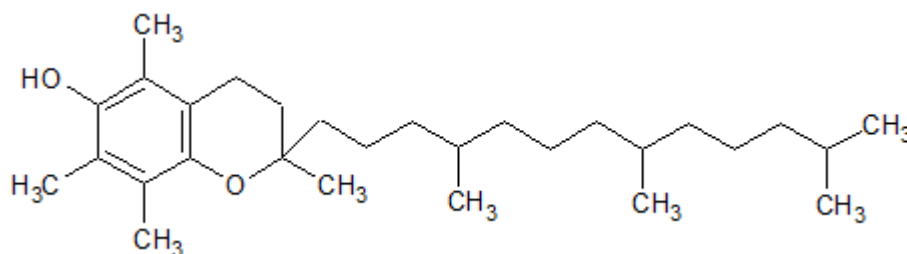


Fig. 2. Estructura química de la vitamina E.

5.2.2. Vitamina C

Es una vitamina soluble en agua, presenta en su estructura química una configuración de lactona, donde los grupos hidroxilos asociados al doble enlace como se muestra en la figura 3, actúan como un poderoso antioxidante en el cuerpo humano (Mayes, 1997), esta vitamina trabaja en conjunto con los antioxidantes enzimáticos, también coopera en conjunto con la vitamina E, regenerando el α -tocoferol a partir de los radicales α -tocoferol en membranas y lipoproteínas (Carr & Frei, 1999; Kojo, 2004).

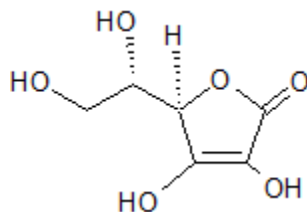
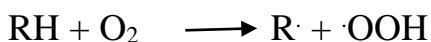


Fig. 3. Estructura química de la vitamina C.

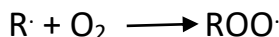
5.3. Lipoperoxidación

La lipoperoxidación (LPO) es un proceso que es generado por los radicales libres principalmente el radical hidroxilo, el cual tiene una gran afinidad por los ácidos grasos poliinsaturados que conforman una parte de los fosfolípidos de la membrana celular, sin embargo también se ven afectados los grupos *hemo* de los pigmentos, los aminoácidos de las proteínas y los dobles enlaces de las vitaminas (Sailaja 2011, Insani *et al.*, 2008). La oxidación lipídica se lleva a cabo mediante un mecanismo autocatalítico de radicales libres (autooxidación), este proceso se realiza a través de tres fases: iniciación, propagación y terminación (Fernández *et al.*, 1997). En la fase de iniciación se quita un átomo de hidrógeno del grupo metileno, que se encuentra entre los dobles enlaces de los ácidos grasos (RH) generando un radical con carbono central (Stahl, 2000).

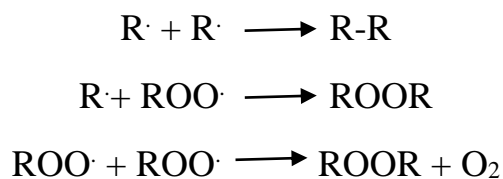


La fase de iniciación se ve favorecida cuando existe un aumento en el número de dobles enlaces de los ácidos grasos, por ésta razón los ácidos grasos poliinsaturados son más vulnerables a oxidarse (Morrisey *et al.*, 1998).

En la fase de propagación los radicales reaccionan formando un radical peroxilo (ROO \cdot), el cual es altamente reactivo para empezar una reacción en cadena (estrés oxidativo) extrayendo un átomo de hidrógeno de un ácido graso poliinsaturado adyacente. En ésta reacción se forman hidroperóxidos lipídicos (ROOH) y un nuevo radical (Fernández *et al.*, 1997).



En la fase de terminación los radicales libres reaccionan entre ellos en ausencia de oxígeno y producen productos más estables



Los productos finales de la LPO, son lípidos peroxidados, que al degradarse originan nuevos radicales libres y una amplia variedad de compuestos citotóxicos, como los aldehídos, entre ellos 4-hidroxi-2-nonenal (4-HNE) y malondialdehído (MDA); aunque se ha comprobado que este último posee una baja toxicidad. El malondialdehído es un dialdehído de tres carbonos altamente reactivo (figura 4), es el producto final de la degradación de los ácidos grasos poliinsaturados, se encuentran en la membrana celular, y es utilizado como un índice en la lipoperoxidación y como un marcador de estrés oxidativo (Janero, 1990). Se ha reportado que el MDA aparte de ser un marcador de estrés oxidativo, es capaz de tener interacción con diferentes bases de ácidos nucleicos, generando mutaciones en el ADN (Del Rio, 2005). Las consecuencias del daño en la estructura molecular del AGP son más evidentes cuando estos lípidos forman parte de las membranas celulares o subcelulares.

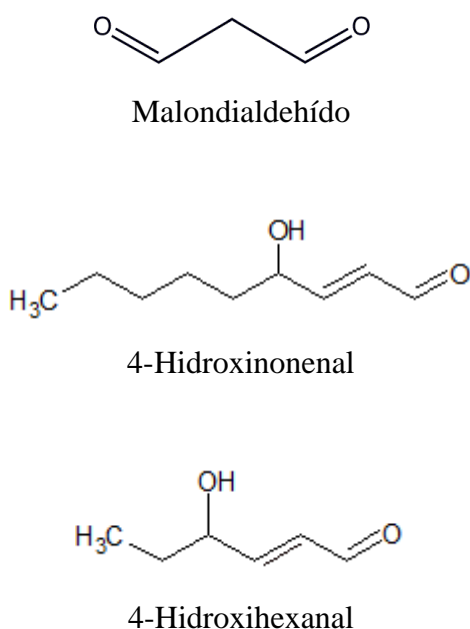


Fig. 4. Estructuras químicas de los principales aldehídos formados en la lipoperoxidación.

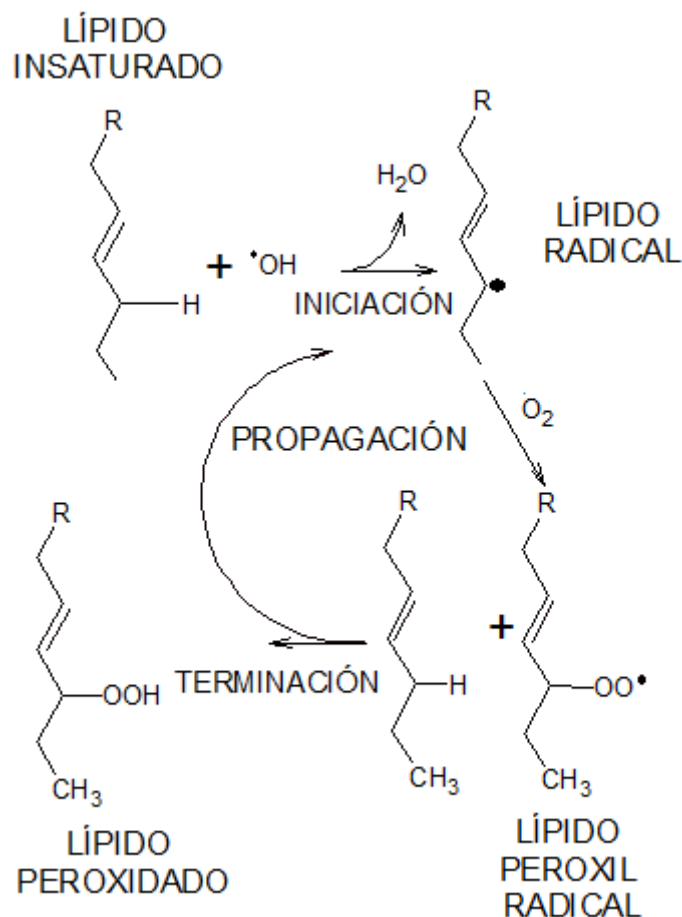


Fig. 5. Proceso de lipoperoxidación donde se observan las tres fases, iniciación, propagación y terminación, a partir de un ácido graso insaturado

5.4. Carbonilación

Es un proceso de oxidación en las proteínas formando grupos carbonilo, la detección y cuantificación de estos grupos, es una forma indirecta de medir el estrés. Diferentes tipos de oxidación proteica pueden ser inducidos directamente por EROS o indirectamente por productos secundarios del estrés oxidativo. La cisteína y la metionina son propensas a ser oxidadas por casi todas las EROS. La carbonilación de proteínas incluye muchas modificaciones que se producen a través de diferentes mecanismos de reacción que puede resumirse de la siguiente manera (Colombo 2016):

- La oxidación directa de varios residuos de aminoácidos inducida por radical hidroxilo ($\text{HO}\cdot$): este radical puede ser generado por reacción de Fenton, reacción de cationes metálicos con peróxido de hidrógeno o por radiaciones ionizantes. $\text{HO}\cdot$ induce la oxidación de la prolina, arginina, lisina y treonina a aldehídos o cetonas. Dos productos típicos de la oxidación son glutámicos semialdehído y semialdehído aminoadípico de arginina y oxidación de lisina, respectivamente.

- b) Reacciones de "adición de Michael": cisteína, histidina y los residuos de lisina pueden reaccionar con especies de carbonilo, tales como: 4 - hidroxinonenal (4 - HNE), 2 - propenal (acroleína), y Malondialdehído, generado durante la peroxidación lipídica.
- c) Reacciones de glicación / glucoxidación: el grupo amino de la lisina puede reaccionar con azúcares reductores o sus productos oxidativos para generar especies de carbonilo tales como carboximetil lisina.

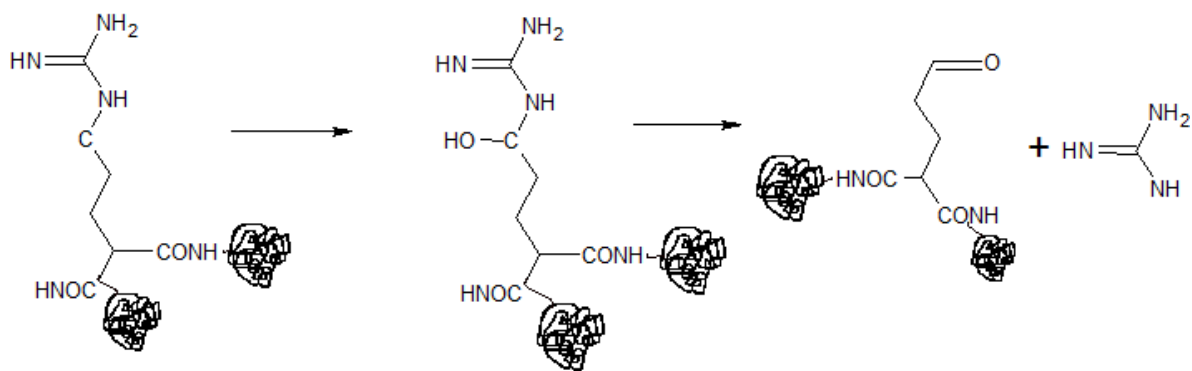


Fig. 5. Arginina como consecuencia de carbonilación oxidativa.

6. CONCLUSIÓN

Los radicales libres y las ERO son producidas continuamente en nuestro organismo como parte del metabolismo celular. Nuestras células están equipadas con sistemas antioxidantes de defensa que le permiten mantener en bajas concentraciones dichas especies y así evitar el daño oxidativo sobre las macromoléculas biológicas. Se ha demostrado que estas moléculas son altamente reactivas y al existir un aumento de los radicales libres y las ERO por encima de los antioxidantes endógenos y exógenos comienza el proceso de estrés oxidativo. Los efectos nocivos del estrés oxidativo, sobre la salud humana, pueden ser reducidos a través de la ingesta de antioxidantes dietarios, presentes en diversos alimentos, principalmente las frutas y verduras (Vitamina E y C).

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

REFERENCIAS

Ames B. N., Shigenaga M. K. & Hagen T. M. 1993. Oxidants, antioxidants, and the degenerative disease of aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 90:7915-7922.

Ascensão A., Ferreira R. & Magalhães J. 2007. Exercise-induced cardioprotection biochemical, morphological and functional evidence in whole tissue and isolated mitochondria. *International Journal of Cardiology*. 117(1):16-30.

Carr A. & Frei B. 1999. Does Vitamin C act as a pro-oxidant under physiological conditions? *Federation of American Societies for Experimental Biology*. 13:1007-024.

Colombo G., Clerici M., Garavaglia M., Giustarini D., Rossi R., Milzani A., & Dalle-Donne I. 2016. A step-by-step protocol for assaying protein carbonylation in biological samples. *Journal Of Chromatography B*. 1019:178-190.

Dalle-Donne I. & Aldini G. 2006. Protein carbonylation, cellular dysfunction, and disease progression. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. 10(2):389-406.

Del Rio D., Stewart A. J. & Pellegrini N. 2005. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 15(4):316-328.

Delgado L., Betanzos G. & Sumaya M. 2010. Importancia de los antioxidantes dietarios en la disminución del estrés oxidativo. *Investigación y Ciencia*. 18(50):10-15.

Dunkan S., Farewell A., Ballesteros-Radman M. & Nystrom T. 2000. Protein oxidation in response to increased transcriptional or translational errors, *Proceedings of the National Academy of Science*. 97(11):5746-5749.

Febles C., Soto C., Saldaña A. & García B. 2002. Funciones de la vitamina E. *Revista Cubana de Estomatología*. 40(1):28-32.

Fernández J., Pérez J.A. & Fernández, J.A. 1997. Thiobarbituric acid test for monitoring lipid oxidation in meat. *Food Chemistry*. 59: 345-353.

Góth L., Rass P. & Páy A. 2004. Catalase enzyme mutations and their association with diseases. *The Journal of Molecular Diagnostics*. 8:141-149.

Gutteridge J. & Halliwell B. 1999. *Reactive oxygen species in biological systems*, New York, USA: D.L. Gilbert and C.A. Colton, ed. 189-218.

Halliwell B. & Gutteridge J. M. C. 1989. *Free radicals in biology and medicine*, 2da ed., Oxford, London: Clarendon Press.

Halliwell B. 2006. *Reactive Species and Antioxidants. Redox Biology Is a Fundamental Theme of Aerobic Life*. *Plant physiology*. 141(2):312-322.

- Hensley K., Benakass E. J. & Bolli R. 2004. New perspectives on vitamin E: γ -tocopherol and carboxyethylhydroxychroman metabolites in biology and medicine. *Free Radical Biology and Medicine*. 36:1–15.
- Imlay J. A. 2003. Pathways of oxidative damage, *Annals Review of Microbiology*. (57):395-418.
- Insani E. M., Eyherabide A., Grigioni G., Sancho A. M., Pensel N. A. & Descalzo A. M. 2008. Oxidative stability and its relationship with natural antioxidants during refrigerated display of beef produced in Argentina. *Meat Science*. 79: 444-452.
- Janero, D. R., Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. *Free Radical Biology and Medicine*. 1990. 9(6):515-540.
- Katalinic V., Modun D., Music I. & Boban M. 2005. Gender differences in antioxidant capacity of rat tissues determined by 2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline 6- sulfonate; ABTS) and ferric reducing antioxidant power FRAP assays. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*. 140: 47-52.
- Kojo S. 2004. Vitamin C: basic metabolism and its function as an index of oxidative stress. *Current Medicinal Chemistry*. 11:1041-64.
- Lobo V., Patil A. & Phatak A. 2010. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews*. 4(8): 234-240.
- Lozada S. & Garcia L. 2009. Estres oxidativo y antioxidantes: como mantener el equilibrio. *Revista de la Asociacion Colombiana de Dermatologia*. 17: 172-179.
- Lynch M. & Kuramitsu H. 2000. Expression and role of superoxide dismutases (SOD) in pathogenic bacteria. *Microbes & Infection*. 2:1245-1255.
- Marnett L. J. 2000. Oxyradicals and DNA damage. *Carcinogenesis*. 21(3):361-70.
- Mayes P.A. 1997. Estructura y función de vitaminas liposolubles. En: *Bioquímica de Harper*. Murray RK., Mayes P.A. & Granner DK ed. México DF, El Manual Moderno, S. A. 728-31.
- Morrissey P. A., Sheehy P.J.A., Galvin K., Kerry J.P. & Buckley D. J. 1998. Lipid stability in meat and meat products. *Meat Science*. 49: 73-86.
- Nyström T., 2003 Role of oxidative carbonilation in quality control and senescence, *The European Molecular Biology Organization Journal*. (60):1333-1341.
- Phaniendra A., Jestadi D. B. & Periyasamy L. 2015. Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*. 30(1):11–26.

- Radi R., Turrens J. F., Chang L. Y., Bush K. M., Crapo J. D. & Freeman B. A. 1991. Detection of catalase in rat heart mitochondria. *Journal of Biological Chemistry*. 266: 22028-22034.
- Reina M., & Martínez, A. 2017. Free radicals interacting with Cu, Ag and Au clusters. *Computational And Theoretical Chemistry*. 1120:24-33.
- Sailaja R., Sireesha K., Aparna Y. & Sadanandam, M. 2011. Free Radicals and Tissue Damage: Role of Antioxidant. *Free Radicals and Antioxidants*. 1(4): 56-69.
- Schieber M. & Chandel N. S. 2014. ROS function in redox signaling and oxidative stress. *Current Biology*. 24: 453-462.
- Sies H. & Stahl W. 1995. Vitamins E and C, β -carotene, and other carotenoids as antioxidants. *American Journal of Clinical Nutrition*. 62:13155-13215.
- Spickett C., Wiswedel I., Siems W., Zarkovic K., & Zarkovic N. 2010. Advances in methods for the determination of biologically relevant lipid peroxidation products. *Free Radical Research*. 44(10): 1172-1202.
- Stadtman E. R. & Levine R. L. 2000. Protein oxidation. *Annals of the New York Academy of Science*. 899:191-208.
- Yla-Herttuala S. 1999. Oxidized LDL and atherogenesis. *Annals of the New York Academy of Science*. 874:134-137.