Conclusiones

Los resultados obtenidos a partir de este trabajo de tesis doctoral permiten formular las siguientes conclusiones:

Sistema: triglicéridos en cloroformo

- 5HO-TRP y NAS demostraron ser secuestradores de radicales peroxilos más efectivos que BHT cuando se estudiaron por técnicas de quimioluminiscencia y producción de TBARS. Este efecto es coherente con la elevada actividad demostrada frente al radical DPPH• lo que lleva a la conclusión de que estos compuestos poseen elevada tendencia a ceder un radical H• a los radicales LOO• generados durante la peroxidación de triglicéridos ricos en PUFAs n-3, cortando la cadena de peroxidación y protegiendo a los lípidos de sus efectos en forma dependiente de la concentración.

- La efectividad de 5HO-TRP como antioxidante fue mayor que la de NAS lo que indica que su única diferencia estructural (cadena lateral en posición 3) es un factor importante en la determinación de la actividad.

- MLT no demostró ser un eficiente dador de H• cuando se analizó por ensayo de DPPH y el mismo comportamiento se observó para otro 5-metoxi derivado, 5MTP. Estos resultados son consistentes con la falta de inhibición de producción de TBARS y la incapacidad de disminuir la producción de quimioluminiscencia. Estos resultados nos permiten concluir que MLT y 5MTP no actuarían como antioxidantes cortadores de cadena clásicos en este sistema.

- No se evidenció formación de AFMK en el sistema de Tg PUFAs n-3 peroxidados con CHP en presencia de MLT. La MLT estaría reaccionando con especies generadas durante la reacción de peroxidación pero esto no implicaría un efecto protector de los lípidos.

- Ambos isómeros de CLAs mostraron ser más susceptibles a la peroxidación que LA y que MLA cuando se sometieron a peroxidación cuantificada por quimioluminiscencia.

- A diferencia de LA y MLA los isómeros CLAs mostraron inhibición de la peroxidación de Tg PUFAs n-3 cuando se analizaron por quimioluminiscencia. Sin embargo, las

concentraciones de CLAs que resultaron efectivas son muy elevadas (≥ 100 mM), razón por la cual creemos que estudios adicionales son necesarios para determinar la actividad secuestradora de radicales de estos compuestos en sistemas que simulen condiciones fisiológicas y buscar una correlación entre su actividad antioxidante y sus ya asignados efectos biológicos.

- La mayor reactividad de CLAs frente a radicales comparada con la de LA y MLA también se observó en el ensayo de DPPH. Se debe tener en cuenta el elevado valor de EC_{50} obtenido para CLAs. Fue necesaria una concentración ≈ 16 mM de CLAs para poder decolorar una solución ≈ 30 µM de DPPH. Es decir, fue necesaria una concentración de CLAs tres órdenes de magnitud mayor que la de DPPH.

Sistema: liposomas de lípidos de retina

- Los LS fueron más susceptibles a la peroxidación que los LNS, cualquiera sea el iniciador o medio de reacción utilizado.

- Solución fisiológica y, en menor medida, agua fueron los medios donde la reacción de peroxidación fue más eficiente, determinada por TBARS y dienos conjugados. En buffer Tris-HCl pH 7,4 la reacción fue inhibida.

- Fe^{2+} es un iniciador de peroxidación mucho más eficiente que Fe^{3+} cualquiera sea el medio acuoso de reacción o el tipo de liposoma empleado.

- La presencia de 5 µM BHT logró proteger a los PUFAs de la degradación generada por el proceso de peroxidación mientras que MLT, NAS, 5HO-TRP y 5MTP no presentaron efecto protector de PUFAs.

- MLT, NAS, 5MTP y 5HO-TRP no poseen un efecto antioxidante directo, es decir, no tienen la capacidad de secuestrar los radicales formados durante la reacción de peroxidación iniciada por Fe^{2+}en liposomas de lípidos de retina.

Comentarios generales

Las diferencias halladas en el comportamiento antioxidante de NAS y 5HO-TRP (ambos de carácter hidrofílico) en ambos sistemas de estudio pueden ser explicadas por la conocida teoría de la Paradoja Polar (Shahidi y Zhong, 2011). Esta teoría también explicaría el hecho de que estos compuestos hayan presentado mayor eficiencia antioxidante que BHT (lipofílico) en el sistema puramente lipídico. Esta teoría interpreta la aparente contradicción que supone el hecho de que los antioxidantes hidrofílicos resultan más efectivos en medios puramente lipídicos mientras que los lipofílicos lo son en medios acuosos. Se sabe que, sumada a su potencia innata, la efectividad de un antioxidante se ve también afectada por sus propiedades interfaciales y de partición en el medio. Los primeros estudios de oxidación en lípidos puros se basaron en la presunción de que la peroxidación ocurre en un medio homogéneo. La interfase aire-lípido fue considerada el sitio de inicio de la peroxidación propagándose luego al interior del aceite. Según esta suposición los antioxidantes parcialmente liposolubles se orientarían en la interfase aire-aceite donde ocurre la peroxidación y, por lo tanto, protegerían al sistema de los cambios oxidativos. Sin embargo, la distribución de antioxidantes polares en esta interfase fue cuestionada debido a que el aire es aún menos polar que el aceite. Así, se asumió que micro o nanoambientes afectan la química de la peroxidación y la acción antioxidante alterando la localización física de sustratos lipídicos y de antioxidantes. Por ejemplo, diferentes tipos de estructuras lamelares o miscelares (en presencia de trazas de agua) pueden formarse por autoensamble de componentes lipídicos (como fosfolípidos) o de productos de peroxidación (hidroperóxidos, aldehídos, cetonas). Actualmente existe evidencia suficiente que soporta la hipótesis que estas estructuras de asociación son los sitios donde ocurre la peroxidación en lípidos puros. Los antioxidantes polares, en lugar de ubicarse en la interfase aire-aceite como se creía previamente, están preferencialmente localizados en la interfase de estas estructuras coloidales (por ej: interfase agua-aceite) y resultan así más efectivos en la inhibición de la peroxidación que los no polares que se encuentran disueltos en la fase lipídica. Esta teoría fue sustentada por el hecho de que los antioxidantes polares, incapaces de disminuir la tensión superficial, sí lograron reducir la tensión interfacial (Chaiyasit y col, 2007)

Los resultados obtenidos en nuestro estudio refuerzan la hipótesis de que el elevado poder antioxidante demostrado por MLT en sistemas biológicos, debería ser adjudicado a la capacidad de MLT de modular enzimas y/o genes antes que a su capacidad secuestradora directa de radicales LOO•.