



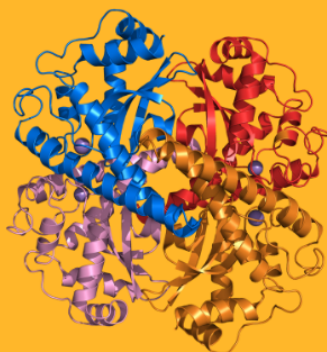
UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY



CEINBIO
Centro de Investigaciones Biomédicas



FORMACIÓN DE ESPECIES REACTIVAS DE OXIGENO A NIVEL MITOCONDRIAL: ESTUDIO IN SILICO



CICLO DE METODOLOGÍA CIENTÍFICA II-2024

¹DAMELLES, DIEGO; ¹FERREIRA, YUBER; ¹LEMONS, SARA; ¹OTEGUI, VIRGINIA;
¹PACHECO, MILAGROS; ¹SUAREZ, AGUSTIN

²DOCENTE: DEMICHELI VERONICA - DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA

¹CICLO DE METODOLOGÍA CIENTÍFICA II 2024-FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA, MONTEVIDEO, URUGUAY.

²DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA
FACULTAD DE MEDICINA-UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA, MONTEVIDEO,
URUGUAY

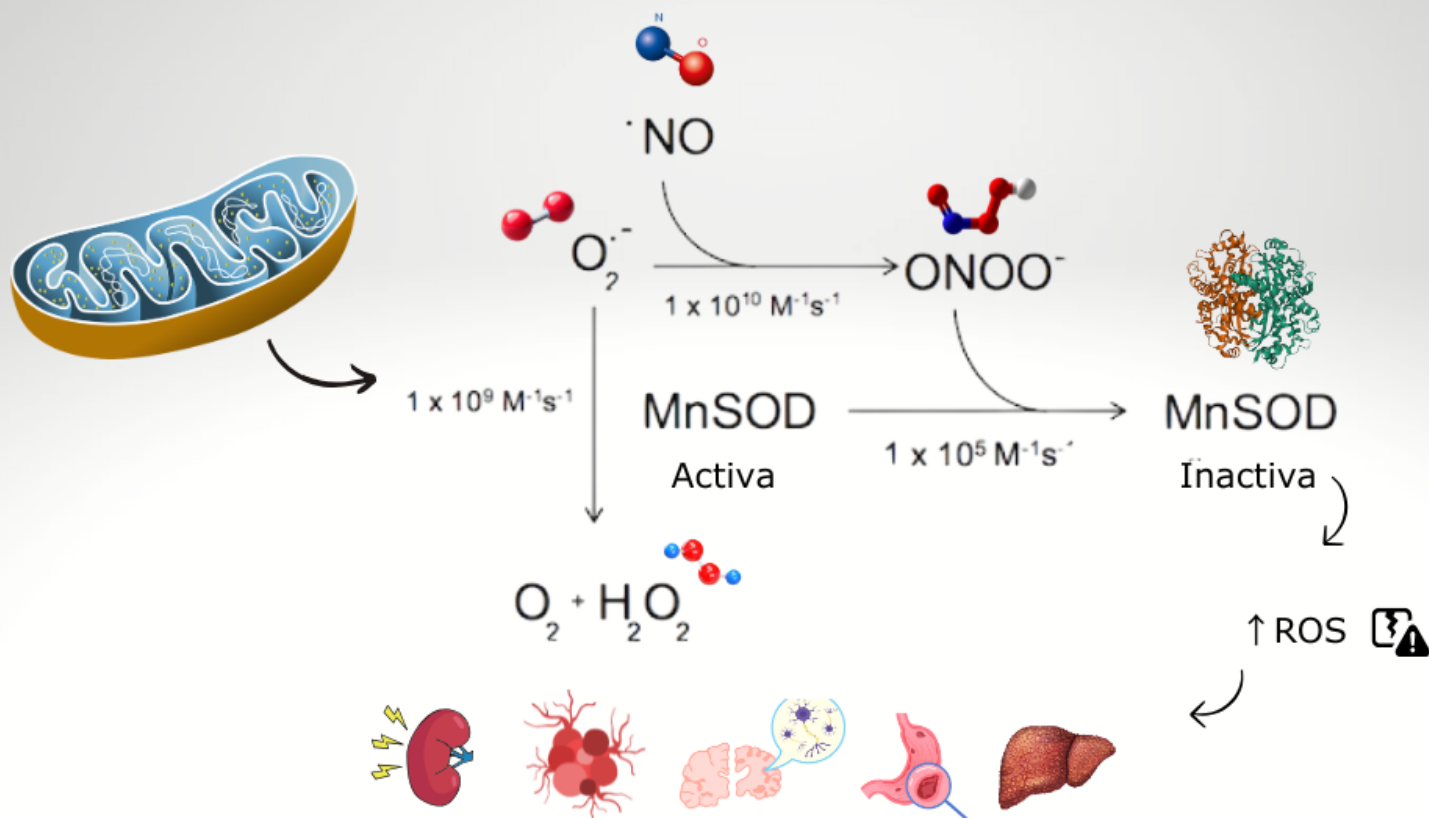
FECHA 17/11/2024

GRUPO 98

NÚMERO DE VERSIÓN 1

Graphical abstract

Daño orgánico asociado a la inactivación de MnSOD



Graphical Abstract creado con CANVA (1)

Índice de contenidos

Graphical abstract.....	1
Índice de figuras.....	3
Tabla de abreviaturas utilizadas en el texto.....	4
Resumen.....	5
Abstract.....	5
Introducción.....	6
Cadena respiratoria.....	7
Mecanismos de defensa antioxidantes.....	7
Rol de la MnSOD.....	8
Especies reactivas del nitrógeno.....	9
Nitración de la MnSOD.....	9
MnSOD y enfermedad hepática.....	11
MnSOD y enfermedad neoplásica.....	12
MnSOD y enfermedades neurodegenerativas.....	13
MnSOD y diabetes.....	14
Objetivos.....	15
Objetivo general:.....	15
Objetivos específicos:.....	15
Hipótesis.....	15
Materiales y métodos:.....	15
Resultados.....	19
Variabilidad de la concentración de MnSOD.....	21
Comportamiento del peroxinitrito frente a distintas concentraciones de MnSOD.....	21
Variabilidad del $O_2^{\bullet-}$	23
Variabilidad de la concentración de $\bullet NO$ en función del tiempo.....	23
Discusión.....	24
Conclusiones y perspectivas.....	25
Referencias bibliográficas.....	26
Agradecimientos.....	30
Anexos:.....	31

Índice de figuras

Figura	Referencias:
1	Tabla de especies reactivas del oxígeno
2	Pasaje de electrones por la cadena respiratoria.
3	Imagen del sitio activo de la MnSOD.
4	Tabla de especies reactivas del Nitrógeno
5	Acción patológica de MnSOD en la enfermedad renal.
6	Acción patológica de MnSOD en la enfermedad hepática.
7	Acción patológica de MnSOD en las enfermedades neurodegenerativas.
8	Expresión de la MnSOD en enfermedades pancreáticas.
9	Logo del Software COPASI
10	Representación en COPASI del modelo basal de 22 reacciones
11	Captura de pantalla extraída del software COPASI en una simulación del modelo en una duración de 10 minutos.
12	Variabilidad del óxido nítrico en función del tiempo
13	Logo del software ORIGIN
14	Captura de pantalla de tabla de resultados extraída desde el software COPASI
15	Efecto de los flujos de superóxido y óxido nítrico en la inactivación de SOD a diferentes concentraciones de SOD.
16	Variación de la concentración de ONOO ⁻ en función del tiempo para distintas concentraciones iniciales de MnSOD considerando distintas magnitudes de flujos de O ₂ ^{•-} y •NO.
17	Variación de la concentración de O ₂ ^{•-} en función del tiempo para distintas concentraciones iniciales de MnSOD considerando distintas magnitudes de flujos de O ₂ ^{•-} y •NO.
18	Variación de la concentración de óxido nítrico en función del tiempo para distintas concentraciones iniciales de MnSOD considerando distintas magnitudes de flujos de O ₂ ^{•-} y •NO.

Tabla de abreviaturas utilizadas en el texto

Abreviatura	Referencias:
ATP	Adenosín Trifosfato
COPASI	Complex pathway simulator
[CuZnSOD]	Superóxido dismutasa de cobre y zinc, citosólica
[ecSOD]	Superóxido dismutasa de cobre y zinc, extracelular
ELA	Esclerosis lateral amiotrófica
H₂O₂	Peróxido de hidrógeno
[MnSOD]	Manganeso Superóxido Dismutasa
NADH	Nicotinamida adenina dinucleótido y de hidrógeno (H)
NADPH	Nicotinamida-Adenina Dinucleótido fosfato
•NO	Óxido nítrico
OH	Radical hidroxilo
ONOO-	Peroxinitrito
O₂•⁻	Superóxido
PKA	Medida de acidez
ROS	Especies reactivas de oxígeno

Resumen

La Superóxido Dismutasa de Manganeso (MnSOD) es una enzima mitocondrial antioxidante humana esencial para prevenir el daño de estructuras celulares como el ADN mitocondrial y las proteínas que cataliza la reacción de dismutación del radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$) en oxígeno (O_2) y peróxido de hidrógeno (H_2O_2). En situaciones de estrés oxidativo el $O_2^{\bullet-}$ reacciona con óxido nítrico ($\bullet NO$) generando un producto intermedio denominado peroxinitrito ($ONOO^-$) con gran poder oxidante, entre otros, capaz de inactivar a la MnSOD teniendo como consecuencia la pérdida de su función, siendo así parte de la patogénesis de múltiples enfermedades. Se utilizó el software COPASI para simular reacciones químicas y determinar la formación de peroxinitrito así como su vinculación a la inactivación de la MnSOD.

Se comprobó la formación de peroxinitrito incluso en condiciones en las que se creía que por la alta velocidad de catálisis enzimática de la MnSOD era poco probable. Su formación conduce inequívocamente a la inactivación de la enzima por medio de un mecanismo de feedback negativo.

Palabras clave: MnSOD, COPASI, $O_2^{\bullet-}$, $ONOO^-$, $\bullet NO$, O_2 .

Abstract

Manganese Superoxide Dismutase (MnSOD) is a crucial human mitochondrial antioxidant enzyme that prevents damage to cellular structures such as mitochondrial DNA and proteins by catalyzing the dismutation reaction of the superoxide radical ($O_2^{\bullet-}$) into oxygen (O_2) and hydrogen peroxide (H_2O_2). In situations of oxidative stress, $O_2^{\bullet-}$ reacts with nitric oxide ($\bullet NO$), generating an intermediate product called peroxynitrite ($ONOO^-$), which can inactivate MnSOD, resulting in the loss of its function and contributing to the pathogenesis of multiple diseases. The COPASI software was used to simulate chemical reactions and determine the formation of peroxynitrite and its link to MnSOD inactivation.

Peroxynitrite formation was confirmed even under conditions where it was previously believed unlikely due to the high enzymatic catalysis rate of MnSOD. Its formation leads unequivocally to the enzyme's complete inactivation through a negative feedback mechanism.

Keywords: MnSOD, COPASI, $O_2^{\bullet-}$, $ONOO^-$, $\bullet NO$, O_2 .

Introducción

Concepto de especies reactivas de oxígeno (ROS)

Cuando hablamos de ROS nos referimos a radicales libres que pueden contener oxígeno o derivados que son el anión superóxido ($O_2^{\bullet-}$), peróxido de hidrógeno (H_2O_2), y el radical hidroxilo ($OH^{\bullet}$) los cuales poseen un electrón no apareado lo que los vuelve inestables necesitando reaccionar con otras especies para poder estabilizarse (1).

Las ROS se pueden producir en el retículo endoplásmico, en NADPH oxidasas, xantinas oxidasas y óxido nítrico sintasas, pero también existen fuentes exógenas de ROS como el alcohol, los metales pesados, solventes industriales, rayos UV, humo de tabaco, polución y distintas drogas (2).

Las especies reactivas incluyen especies radicales y no radicales (Figura 1) (3).

Especies reactivas del oxígeno (ROS)			
Radicales			
Superóxido:	$O_2^{\bullet-}$	Radical alcoxilo:	$RO^{\bullet}$
Hidroxilo:	$^{\bullet}OH$	Radical peroxilo:	$ROO^{\bullet}$
No radicales			
Peróxido de hidrógeno:	H_2O_2	Ozono:	O_3
oxígeno singlete:	1O_2	Peróxido orgánico:	$ROOH$
Acido hipocloroso:	$HOCl$	Ácido hipobromoso:	$HOBr$

Figura 1 . Especies reactivas del oxígeno. Adaptado de Phaniendra *et al* (3,4).

El $O_2^{\bullet-}$ es el principal ROS producido en la mitocondria y da origen a los demás ROS de mayor importancia: H_2O_2 , radical hidroxilo, radical peroxilo y el oxígeno singlete (4).

El $O_2^{\bullet-}$ es generado en la reacción de reducción del oxígeno molecular. El mismo proviene de fuentes intra y extracelulares. En condiciones fisiológicas se genera un flujo de aproximadamente $40\mu M/min$ de este radical (5,6). La principal fuente intracelular lo constituye el complejo NADH deshidrogenasa y ubiquinona-citocromo c a través de la auto oxidación o reducción parcial de sus componentes (6). También otras existen fuentes enzimáticas como las xantinas oxidasas y aldehído deshidrogenasas que al transferir electrones al O_2 (oxígeno) producen $O_2^{\bullet-}$ (6,7). El mismo tiene una

vida media menor a 1 milisegundo debido a la reacción de dismutación que lo “transforma” a H_2O_2 . (6,8).

Cadena respiratoria

Las mitocondrias son una fuente clave en la producción de especies reactivas del oxígeno, producto del metabolismo aeróbico fisiológico. En la misma se produce la fosforilación oxidativa a través de la cadena respiratoria donde para formar ATP los electrones pasan a través de cuatro complejos: complejo I (NADH: ubiquinona oxidoreductasa), complejo II (succinato: ubiquinona reductasa o succinato deshidrogenasa), complejo III (citocromo bc1) y complejo IV (citocromo oxidasa) a través de los cuales se formará la mayor parte de las ROS como consecuencia de la fuga de electrones en la misma (6,9–11), tal como se observa en la Figura 2.

Específicamente a nivel de los complejos I y III se produce el principal oxidante $\text{O}_2^{\bullet-}$ que se genera cuando el O_2 recibe 1e^- (6,12).

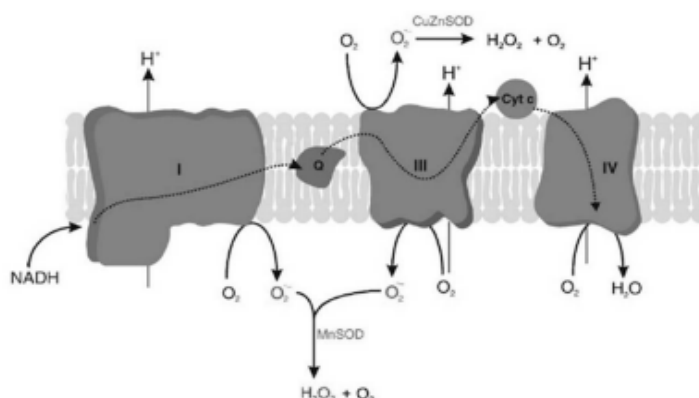


Figura 2 - Pasaje de los electrones a través de la cadena respiratoria. Adaptado de Kowaltowski *et al*'' (13).

Las ROS son necesarias para procesos de señalización, respuesta y defensa contra agentes mientras que su exceso puede producir daño a diversas estructuras celulares de manera irreversible (2,14).

Mecanismos de defensa antioxidantes

Los mecanismos antioxidantes endógenos están conformados por compuestos enzimáticos y no enzimáticos, entre los enzimáticos encontramos a las enzimas superóxido dismutasas, catalasa y glutatión peroxidasa. Los compuestos no

enzimáticos consisten en vitamina E, ascorbato, glutatión, transferrina, ceruloplasmina, entre otros (3,15,16).

Cuando estos mecanismos resultan no eficientes se crea un desbalance entre la producción de $O_2^{\bullet-}$ y su eliminación comprometiendo la supervivencia celular (3).

Esta situación conduce por tanto a la inactivación de los sistemas antioxidantes endógenos, al deterioro del transporte de electrones, al desacoplamiento de la fosforilación oxidativa y a la alteración de la permeabilidad de la membrana (3).

Rol de la MnSOD

De particular relevancia en mamíferos nos centraremos en la enzima antioxidante Manganese superóxido dismutasa cuya función es la dismutación del $O_2^{\bullet-}$ en H_2O_2 , la cual presenta 3 isoformas SOD1 [CuZnSOD] (superóxido dismutasa de cobre y zinc, citosólica), SOD2 [MnSOD] (superóxido dismutasa de manganeso, mitocondrial), y SOD3 [ecSOD] (superóxido dismutasa de cobre y zinc, extracelular) (17).

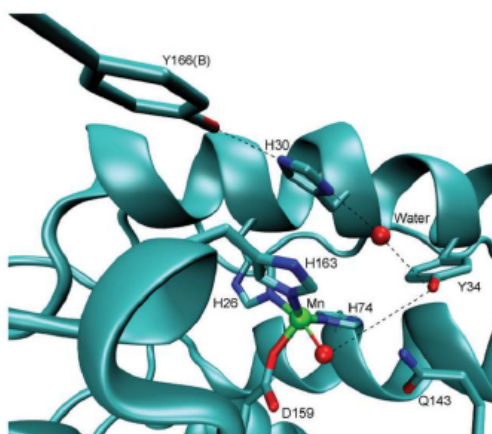


Figura 3 - Estructura de la MnSOD. Adaptado de Demichelli *et al* (18).

En esta investigación nos centraremos en la SOD2 (MnSOD) la cual es la principal enzima antioxidante responsable de eliminar el $O_2^{\bullet-}$ de la matriz mitocondrial siendo altamente efectiva con una k_{cat} cercana a $4 \times 10^4 \text{ s}^{-1}$ (18,19).

En cuanto a su estructura se trata de una enzima homotetramérica en eucariotas compuesta por una hélice y una lámina B mixtas; es una horquilla helicoidal dividida en 2 dominios un extremo N terminal y un dominio C terminal (18,20,21).

La MnSOD posee un sitio activo que es una región específica de su estructura donde ocurre la reacción que convierte el $O_2^{\bullet-}$ en O_2 y H_2O_2 . En este sitio activo es que se encuentra el átomo de manganeso esencial para la actividad de esta enzima (18).

Especies reactivas del nitrógeno

El óxido nítrico es una especie reactiva del nitrógeno que es producida en distintos tipos de células por la enzima óxido nítrico sintasa a partir del aminoácido L-arginina (6).

En situaciones de estrés oxidativo el $O_2^{\bullet-}$ reacciona con alta velocidad con el $\bullet NO$ para formar $ONOO^-$, un derivado del óxido de nitrógeno mucho más reactivo y con gran poder oxidante (18,22). En la figura 4 se muestra una tabla con especies reactivas del nitrógeno entre las cuales se encuentra $ONOO^-$.

Especies reactivas del nitrógeno (RNS)			
Radicales			
	Óxido nítrico: $NO^{\bullet}$	Dióxido de nitrógeno: $NO_2^{\bullet}$	
No radicales			
Peroxinitrito	$ONOO^-$	Catión nitrosilo: NO^+	
Trióxido de dinitrógeno	N_2O_3	Anión nitroxilo: NO^-	
Tetraóxido de dinitrógeno	N_2O_4	Ácido peroxinitroso: $ONOOH$	
Ácido nitroso	HNO_2	Peroxinitritos alquílicos: $ROONO$	

Figura 4 - Tabla de especies reactivas del Nitrógeno. Adaptado de Phaniedra *et al* (3,4)

El $ONOO^-$ tiene una vida media larga, lo que le permite difundir a través de las membranas celulares y reaccionar con distintos blancos biológicos (proteínas, ácidos nucleicos, lípidos, entre otros). Adicionalmente es capaz de nitrar residuos de tirosina lo cual en muchos casos conlleva a la inactivación de algunas enzimas (18), siendo el caso de la MnSOD como desarrollaremos a continuación.

Nitración de la MnSOD

El $ONOO^-$ puede promover la nitración de la tirosina 34 en el sitio activo lo que genera la inactivación enzimática de la MnSOD (18). Se cree que la inactivación sucede en

consecuencia a un cambio conformacional que bloquea la entrada del $O_2^{\bullet-}$ al centro de Mn(18).

Además la función está alterada por cambios en la red de enlaces de hidrógeno y se ha visto que disminuye el pKa lo que genera una repulsión electrostática que también impide el acceso del $O_2^{\bullet-}$ cargado negativamente en el sitio activo (18).

Por lo tanto, la disfunción de MnSOD puede resultar en una sobreproducción de oxidantes altamente reactivos, como $ONOO^-$ y OH^- , pudiendo provocar disfunción mitocondrial y desarrollo de enfermedades de la esfera cardiovascular, neurológica, y el propio envejecimiento (18,23).

En el presente trabajo nos referiremos brevemente a diferentes enfermedades asociadas a una alteración en la función de la MnSOD.

MnSOD y enfermedad renal

El riñón es un órgano metabólicamente activo y con altos niveles de oxidación mitocondrial. El tejido renal tiene una gran demanda de energía, consecuencia de su papel central en la reabsorción de nutrientes después de la filtración glomerular por lo cual el riñón es particularmente vulnerable al daño causado por el estrés oxidativo. Distintos informes han demostrado que el estrés oxidativo mitocondrial está directamente relacionado con los mecanismos subyacentes a la aparición y progresión de la Enfermedad renal crónica y de la Injuria renal aguda (24,25).

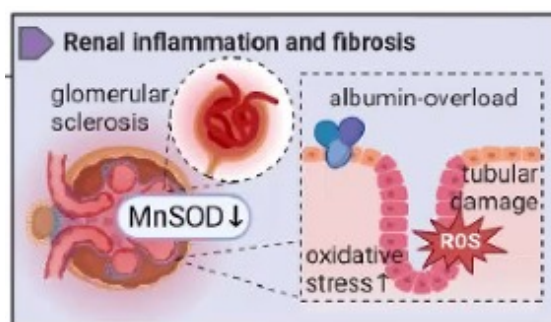


Figura 5 . Acción patológica de la MnSOD a nivel renal. Adaptado de Liu *et al* (23).

El exceso de ROS puede entonces promover la disfunción mitocondrial, el agotamiento de ATP, la inflamación y la apoptosis. La inactivación de la MnSOD y el aumento del

estrés oxidativo sugiere una asociación entre la disfunción de la enzima y la patogénesis de la enfermedad renal (24–26).

MnSOD y enfermedad hepática



Figura 6 . Acción patológica de la MnSOD a nivel hepático . Adaptado de Liu *et al* (23).

La superóxido dismutasa (SOD), principalmente expresada en el hígado, actúa como un miembro importante del sistema de defensa enzimática antioxidante contra las ROS y refleja la severidad del estrés oxidativo sistémico (23,27,28). La SOD2 o Mn-SOD se localiza en las mitocondrias y elimina las ROS para mantener la homeostasis celular (23,29). En condiciones de estrés oxidativo elevado, como ocurre en enfermedades hepáticas, hay un aumento en la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS). La sobreproducción de ROS puede superar la capacidad antioxidante de las células, lo que lleva a la disfunción y daño mitocondrial. Las mitocondrias dañadas pueden tener una capacidad reducida para expresar y mantener niveles adecuados de MnSOD (23,30).

La inflamación crónica, común en enfermedades hepáticas como la hepatitis B crónica y el hígado graso no alcohólico, puede alterar la expresión de varias enzimas antioxidantes, incluida la MnSOD (23,31).

Un estudio evaluó la eficacia de esta enzima como predictor de mortalidad a 90 días en pacientes con insuficiencia hepática aguda sobre crónica asociada al virus de la hepatitis B. Se analizaron sus niveles de expresión en células mononucleares de sangre periférica en dos grupos y se vio que los niveles de MnSOD estaban significativamente disminuidos en pacientes con insuficiencia hepática aguda sobre crónica en comparación con aquellos con hepatitis B crónica o controles sanos (23,28). El estrés oxidativo juega un papel fundamental en la patogénesis de la insuficiencia hepática (23,32). La producción aumentada de especies reactivas de oxígeno resulta finalmente

en la muerte celular apoptótica, lesión tisular y disfunción orgánica, que son procesos fisiopatológicos críticos para el desarrollo de la insuficiencia hepática aguda sobre crónica. La reducción de la expresión de la enzima se relaciona con un mal pronóstico y una supervivencia menor (33).

MnSOD y enfermedad neoplásica

Los cigarrillos contienen componentes oxidantes que son capaces de generar superóxido. Se estudió el efecto de la exposición al tabaco en la producción de radicales libres y la expresión de los genes de las enzimas antioxidantes como la CuZnSOD, MnSOD, entre otras. Se vió que la exposición a diferentes concentraciones de tabaco causa una injuria celular dosis dependiente que se explicó por el incremento en la producción de radicales libres. La exposición al tabaco induce una sobrecarga de radicales libres que es responsable por la inhibición de las enzimas antioxidantes (MnSOD entre otras). De igual forma se reportó que la exposición a tabaco genera una disminución de la expresión génica de la MnSOD. Ambos son mecanismos postulados de carcinogénesis en diferentes neoplasias (34).

Se estudiaron los efectos aditivos de fumar con los genotipos de la MnSOD, y se concluyó que existe un modelo aditivo de riesgo entre ambos factores de riesgo (fumar y los genotipos de alto riesgo de MnSOD) al ver que los individuos que tenían genotipos de alto riesgo para cáncer y que eran fumadores tenían un riesgo incrementado en comparación con los individuos no fumadores y sin genotipos de MnSOD de alto riesgo para cáncer (35).

Además, se concluyó que determinado polimorfismo de la MnSOD está involucrado en la carcinogénesis del cáncer gástrico y carcinoma de células escamosas de cavidad bucal, esta susceptibilidad genética se adiciona al factor de riesgo ya conocido que es el hábito tabáquico para este tipo de neoplasias (35,36).

En otro estudio, de igual forma se observó que determinadas variantes polimórficas alélicas de la MnSOD se asociaban con la susceptibilidad de cáncer de próstata (37).

La detección de los distintos polimorfismos del gen *sod2* podrían utilizarse como marcadores de riesgo genéticos para la detección, prevención, tratamiento y pronóstico del cáncer (38).

MnSOD y enfermedades neurodegenerativas

Se ha visto que la MnSOD tiene implicancia en múltiples enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer, Parkinson, enfermedad de Huntington, ELA (Esclerosis lateral amiotrófica), etc (23,39). Esto se debe a su función protectora frente al estrés oxidativo presente en dichas patologías (23,39).

En cuanto al Alzheimer, se trata de una enfermedad ocasionada por una acumulación anormal de proteínas lo cual genera una demencia progresiva caracterizada por pérdida de las funciones intelectuales, entre ellas la memoria (23,40–43). Ya es sabido que el estrés oxidativo tiene un papel importante en esta enfermedad (23,44), a raíz de ello se realizaron distintos estudios donde se midió los niveles de esta enzima y se vio que la misma se encontraba muy disminuida (23,45), por lo tanto si bien la enzima no es la responsable directa de la enfermedad su déficit contribuye a la progresión de la misma perdiendo el efecto protector contra el estrés oxidativo (23,46). La utilización de miméticos moleculares de la enzima podría ser una opción terapéutica para prevenir la progresión de esta enfermedad. (23,45).

Por otro lado el Parkinson es otra enfermedad caracterizada por una degeneración neuronal a nivel de la sustancia nigra que lleva a la pérdida de las neuronas dopaminérgicas reduciendo los niveles de dopamina (23,47), esto lleva a la producción de una proteína denominada “dopamina quinona” la cual se vio que reduce los niveles de MnSOD potenciando el estrés oxidativo e incrementando la disfunción neuronal y provocando la apoptosis celular (23,48). Sin embargo, en otros estudios se vieron niveles elevados de esta enzima en la sustancia nigra lo que plantea que la misma puede estar presente pero con una alteración en su función (23,49). Este último descubrimiento permite utilizar a la MnSOD como un factor diagnóstico temprano de la enfermedad (23,50).

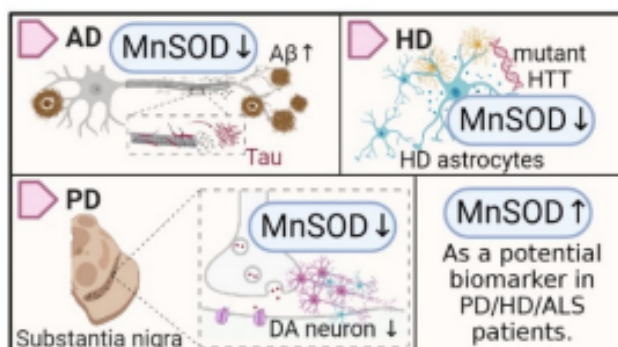


Figura 7 . Acción patológica de la MnSOD en las enfermedades neurodegenerativas.
Adaptado de Liu *et al* (23).

Otra patología neurodegenerativa en la que se vio alterada la MnSOD es la enfermedad de Huntington, se trata de un trastorno genético neurodegenerativo en donde se ha visto niveles de MnSOD francamente disminuidos en los astrocitos lo que lleva a pensar que podría formar parte de la patogenia de la enfermedad (23,51).

En la ELA (Esclerosis lateral amiotrófica) también se observó una alteración de la enzima (23,52,53). Es una patología que afecta a las neuronas motoras del tronco cerebral y médula espinal provocando un déficit motor que lleva a la muerte (23). Si bien se ha demostrado que la MnSOD no forma parte de su patogenia sí se ha visto que sus niveles se encuentran disminuidos perdiendo su poder antioxidante (23).

MnSOD y diabetes

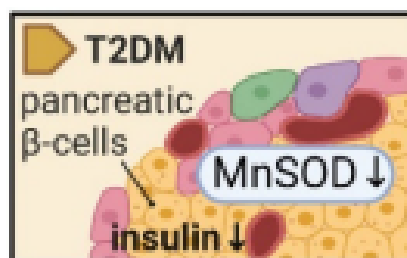


Figura 8 . Acción patológica de la MnSOD en la enfermedad diabética. Adaptado de Liu *et al* (23).

La diabetes se produce cuando existen elevados niveles de glucosa por una disminución en los niveles de insulina o una resistencia a la misma y se encuentra asociado tanto a estilos de vida como a embarazo, obesidad y envejecimiento (23,54,55). Tanto en la diabetes como en los estados de hiperglucemia existe un aumento en la producción de ROS por aumento de la nitración de proteínas especialmente en tejido adiposo, cardíaco y células beta pancreáticas; lo que se traduce en niveles aumentados de estrés oxidativo (56).

Esta enfermedad genera complicaciones a largo plazo especialmente a nivel micro y macrovascular (23). Un estudio realizado en ratones pre diabéticos trasplantados con islotes pancreáticos que sobreexpresan la MnSOD determinó que esta sobreexpresión de la enzima extendía la función de los islotes lo que deja en manifiesto la relevancia de la enzima en esta patología (23).

Teniendo en cuenta la importancia de los niveles de MnSOD activa presente en los distintos tejidos consideramos importante el estudio de la misma en distintos sistemas ya sea en sistemas de producción de oxidantes normal o en casos de estrés oxidativo lo cual nos lleva al estudio presentado a continuación.

Objetivos

Objetivo general:

-Investigar la inactivación de la MnSOD en condiciones normales y patológicas de formación de $O_2^{\bullet-}$ y $^{\bullet}NO$.

Objetivos específicos:

-Generar una revisión bibliográfica y actualización sobre MnSOD en diferentes patologías.

-Estudiar *in silico* la inactivación de la MnSOD por agentes oxidantes utilizando programas de análisis de cinética.

Hipótesis

En condiciones patológicas la MnSOD es inactivada por un subproducto de su sustrato.

Materiales y métodos:

Para la fundamentación teórica de la monografía fue utilizada la base de datos "Pubmed" en la cual introdujimos los siguientes términos MeSH: "Manganese superoxide dismutase" AND "reactive oxygen species" "; "Manganese superoxide dismutase" AND "oxidative damage"; "Manganese superoxide dismutase" AND "diseases"; "MnSOD" AND "renal injury" ; "Inactivation of SOD3" AND "pathology"; "Inactivation of SOD3" AND "aging"; "Manganese superoxide dismutase" AND "peroxynitrite"; "Increased nitric oxide" AND "MnSOD"; "SOD3" AND "Cancer" ; "Radi.R" AND "MnSOD"; "Demicheli.V and MnSOD"; "MnSOD" AND "diabetes"; "MnSOD" AND "glucose".

Instalamos en nuestras computadoras el software COPASI(Biochemical System Simulator) , la cual es una herramienta informática que nos permitió simular la cinética de reacciones químicas presentes en el compartimiento mitocondrial.



Fig 9 - Captura de pantalla extraída de la página oficial de COPASI: Biochemical System Simulator. *COPASI*. Disponible en: <https://copasi.org/> (57).

El objetivo fue evaluar el comportamiento de la MnSOD en condiciones tanto fisiológicas como patológicas.

A partir de la revisión bibliográfica previamente realizada obtuvimos el artículo científico "Human Manganese superoxide dismutase inactivation by peroxynitrite: a paradigm of metal-catalyzed tyrosine nitration in vitro and in vivo" (18) del cual se extrajo un modelo bioquímico **base de 22 reacciones** que se introdujeron en el sistema COPASI. Las primeras seis reacciones que se colocaron fueron la reacción del $O_2^{\bullet-}$ con el $\bullet NO$ para formar peroxinitrito; los flujos constantes de $O_2^{\bullet-}$ y $\bullet NO$; la oxidación y reducción de la enzima MnSOD. Por último la inactivación de MnSOD por medio de la nitración en manos del peroxinitrito. Las siguientes 16 reacciones trataban de asemejar lo mejor posible nuestro modelo a las condiciones intracelulares. En el artículo mencionado (18) se realizaron simulaciones computacionales con una concentración inicial de MnSOD similar a los niveles intracelulares y se la expuso a flujos equimolares de $O_2^{\bullet-}$ y $\bullet NO$ encontrados en condiciones fisiológicas de la célula. Nuestro trabajo recreó las mismas condiciones simuladas por el artículo (18) y añadió otras nuevas consideradas patológicas, con el objetivo de comparar la cinética de inactivación de la MnSOD para cada uno de los casos.

Este modelo simplificado no considera la detoxificación celular de peroxinitrito, realizada entre otros por la peroxirredoxina 3 y 5 a nivel mitocondrial.(58)

La concentración basal inicial de SOD en nuestro modelo era $10\mu M$ al igual que en la célula. No consideramos los dos mecanismos celulares que permiten incrementar la concentración de la enzima en respuesta a una alta demanda por aumento del estrés

oxidativo. La magnitud inicial de ambos flujos fue de 10 $\mu\text{M}/\text{min}$ como se extrajo de la referencias.

Las variables elegidas fueron la concentración de MnSOD, $\text{O}_2^{\bullet-}$, ONOO^- y $\bullet\text{NO}$ en función del tiempo. La primera situación en la que se recolectaron los datos de nuestra variable fue para una concentración inicial de MnSOD de 10 μM con flujos de $\text{O}_2^{\bullet-}$ y $\bullet\text{NO}$ a 10 $\mu\text{M}/\text{min}$. Se continuó con la simulación de reacciones cinéticas para tres concentraciones iniciales de SOD diferentes (10, 30 y 100 μM).

#	Name	Reaction	Rate Law	Flux [mol/s]	Noise Expression
1	Peroxinitrito	$\text{O}_2^- + \text{NO} \rightarrow \text{ONOO}$	Mass action (irreversible)	nan	
2	Flujo1	$\rightarrow \text{O}_2^-$	Constant flux (irreversible)	nan	
3	Flujo2	$\rightarrow \text{NO}$	Constant flux (irreversible)	nan	
4	Reducción Sod	$\text{SOD} + \text{O}_2^- \rightarrow \text{SODred} + \text{O}_2$	Mass action (irreversible)	nan	
5	Oxidación Sod	$\text{SODred} + \text{O}_2^- \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2 + \text{SOD}$	Mass action (irreversible)	nan	
6	Inactivación Sod	$\text{SOD} + \text{ONOO} \rightarrow \text{SODinact} + \text{NO}_2^-$	Mass action (irreversible)	nan	
7	Reacción7	$2 * \text{O}_2^- + 2 * \text{H} \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_2$	Mass action (irreversible)	nan	
8	Reacción8	$\text{ONOO} \rightarrow \text{NO}_3$	Mass action (irreversible)	nan	
9	Reacción9	$\text{ONOO} \rightarrow \text{NO}_2^- + \text{OH}^-$	Mass action (irreversible)	nan	
10	Reacción10	$\text{OH}^- + \text{NO}_2^- \rightarrow \text{OH} + \text{NO}_2^-$	Mass action (irreversible)	nan	
11	Reacción11	$\text{OH}^- + \text{NO} \rightarrow \text{NO}_2 + \text{H}$	Mass action (irreversible)	nan	
12	Reacción12	$\text{OH}^- + \text{NO}_2^- \rightarrow \text{ONOO} + \text{H}$	Mass action (irreversible)	nan	
13	Reacción13	$\text{OH}^- + \text{O}_2^- \rightarrow \text{O}_2 + \text{OH}$	Mass action (irreversible)	nan	
14	Reacción14	$2 * \text{NO} + \text{O}_2 \rightarrow 2 * \text{NO}_2^-$	Mass action (irreversible)	nan	
15	Reacción15	$\text{NO} + \text{NO}_2^- \rightleftharpoons \text{N}_2\text{O}_3$	Mass action (reversible)	nan	
16	Reacción16	$2 * \text{NO}_2^- \rightleftharpoons \text{N}_2\text{O}_4$	Mass action (reversible)	nan	
17	Reacción17	$\text{N}_2\text{O}_3 \rightarrow 2 * \text{NO}_2 + 2 * \text{H}$	Mass action (irreversible)	nan	
18	Reacción18	$\text{N}_2\text{O}_4 \rightarrow \text{NO}_2 + \text{NO}_3 + 2 * \text{H}$	Mass action (irreversible)	nan	
19	Reacción19	$\text{NO}_2^- + \text{O}_2^- \rightleftharpoons \text{O}_2\text{NOO}$	Mass action (reversible)	nan	
20	Reacción20	$\text{O}_2\text{NOO} \rightarrow \text{NO}_2 + \text{O}_2$	Mass action (irreversible)	nan	
21	Reacción21	$\text{N}_2\text{O}_3 + \text{ONOO} \rightarrow \text{NO}_2 + 2 * \text{NO}_2^-$	Mass action (irreversible)	nan	
22	Reacción22	$\text{ONOO} + \text{OH}^- \rightarrow \text{ONOO}^- + \text{OH}$	Mass action (irreversible)	nan	

Fig 10 - Captura de pantalla extraída del software COPASI (sistema de 22 reacciones)

Para cada concentración inicial de SOD se modificó los flujos de $\text{O}_2^{\bullet-}$ y $\bullet\text{NO}$ a los que se exponía a la enzima. Se sometió a la enzima a flujos equimolares de 10, 30 y 100 $\mu\text{M}/\text{min}$ para ambas especies y flujos no equimolares con una diferencia 10 veces superior de una especie respecto a la otra.

Time Course ☐ update model ☐ executable

Duration, Intervals Output Time Points

Duration [s] 600 Intervals 60 Interval Size [s] 10 ☐ Automatic

☐ Start in Steady State

☐ Suppress Output Before [s] 0

☐ Output Events ☐ Save Result in Memory

Integration Interval [s] 0 to 600

Output Interval [s] 0 to 600

Method: Deterministic (LSODA)

Name	Value
Integrate Reduced Model	☐
Relative Tolerance	1e-6
Absolute Tolerance	1e-12
Max Internal Steps	100000
Max Internal Step Size	0

Figura 11 - Captura de pantalla extraída de el software COPASI (colocación del tiempo en las reacciones)

El tiempo en el que se midió la concentración de las 4 especies fue de 10 minutos. Se simularon las distintas situaciones planteadas en el software y se obtuvieron datos de la concentración de las especies en intervalos de 10 segundos en formato de tablas y gráficas individuales para cada especie.

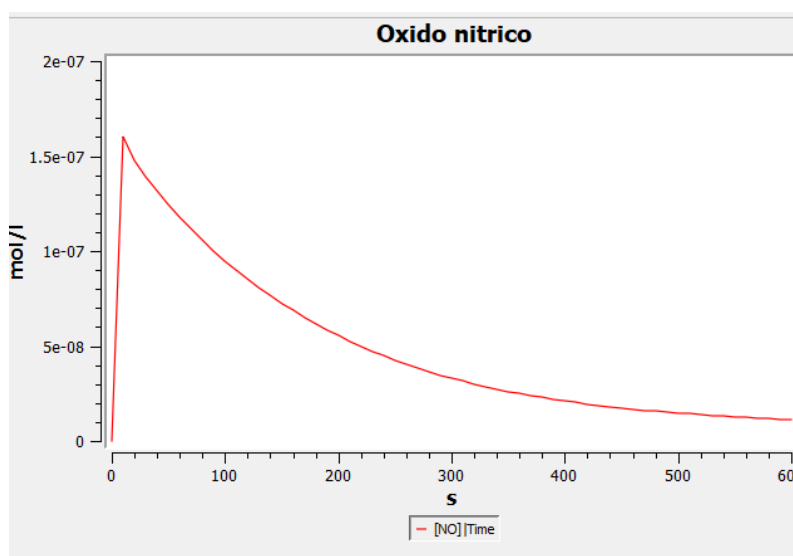


Figura 12 - Captura de pantalla extraída de el software COPASI
Concentración del *NO en función del tiempo

Ante la imposibilidad de poder analizar los datos en una misma gráfica recurrimos a un nuevo software científico denominado OriginPro que nos permitió comparar el comportamiento de la concentración de las especies en un mismo gráfico. Para ello

tomamos las tablas de datos obtenidas en el sistema COPASI y las transferimos a este software elaborando las gráficas.



Figura 13- Logo del software ORIGIN (59).

Plan de análisis

La presentación de resultados será a través de gráficas y tablas generadas por los software nombrados previamente. Las tablas nos permitirán en el mismo software representar las distintas concentraciones de las reacciones y sus metabolitos.

Time Course Result										Save
	Time	NO2-	H	O2-	OH-	NO-	NO2	ONOO-	SOD	
1	0	0	1	0	1	1	1	0	1e-05	
2	8	3.83672e-11	5.35627	0.00019384	-1.61469e-27	3.35067e-93	6.07092	0.000931295	2.71496e-26	
3	16	1.16831e-15	5.35627	0.00019384	-1.86214e-28	3.29256e-93	6.07092	6.2971e-06	-6.76632e-24	
4	24	3.9668e-21	5.35627	0.00019384	-2.14751e-29	3.29256e-93	6.07092	3.08863e-07	3.48557e-22	
5	32	-3.3061e-22	5.35627	0.00019384	-2.47666e-30	3.29256e-93	6.07092	2.70095e-07	3.19388e-22	
6	40	-4.36635e-24	5.35627	0.00019384	-2.85745e-31	3.29256e-93	6.07092	2.69843e-07	2.86704e-22	
7	48	-1.13867e-25	5.35627	0.00019384	-3.32066e-32	3.29256e-93	6.07092	2.69842e-07	2.5737e-22	
8	56	-2.68203e-26	5.35627	0.00019384	-4.03499e-33	3.29256e-93	6.07092	2.69841e-07	2.31037e-22	
9	64	2.97772e-25	5.35627	0.00019384	-2.11471e-33	3.29256e-93	6.07092	2.69842e-07	2.07398e-22	
10	72	1.00869e-25	5.35627	0.00019384	-1.68787e-33	3.29256e-93	6.07092	2.69841e-07	1.86178e-22	
11	80	-2.04273e-26	5.35627	0.00019384	1.74115e-34	3.29256e-93	6.07092	2.69841e-07	1.67129e-22	
12	88	6.76454e-26	5.35627	0.00019384	1.52217e-34	3.29256e-93	6.07092	2.69841e-07	1.50029e-22	
13	96	8.73327e-27	5.35627	0.00019384	-2.40819e-34	3.29256e-93	6.07092	2.69841e-07	1.34679e-22	
14	104	-1.20199e-26	5.35627	0.00019384	-1.40747e-34	3.29256e-93	6.07092	2.69841e-07	1.20899e-22	
15	112	9.02435e-28	5.35627	0.00019384	4.24776e-35	3.29256e-93	6.07092	2.69841e-07	1.08529e-22	
16	120	1.75615e-27	5.35627	0.00019384	4.83042e-35	3.29256e-93	6.07092	2.69841e-07	9.74242e-23	
17	128	3.69281e-27	5.35627	0.00019384	-2.0755e-35	3.29256e-93	6.07092	2.69841e-07	8.74553e-23	
18	136	-7.8779e-28	5.35627	0.00019384	-6.49997e-35	3.29256e-93	6.07092	2.69841e-07	7.85061e-23	
19	144	-5.38451e-28	5.35627	0.00019384	-5.25144e-35	3.29256e-93	6.07092	2.69841e-07	7.04726e-23	
20	152	-5.03521e-28	5.35627	0.00019384	-2.49945e-35	3.29256e-93	6.07092	2.69841e-07	6.32605e-23	
21	160	2.48892e-28	5.35627	0.00019384	7.62288e-36	3.29256e-93	6.07092	2.69841e-07	5.67868e-23	
22	168	1.19267e-28	5.35627	0.00019384	1.33355e-35	3.29256e-93	6.07092	2.69841e-07	5.09757e-23	
23	176	7.12001e-30	5.35627	0.00019384	8.65627e-36	3.29256e-93	6.07092	2.69841e-07	4.5759e-23	
24	184	-1.83386e-28	5.35627	0.00019384	-6.39436e-36	3.29256e-93	6.07092	2.69841e-07	4.10756e-23	
25	192	-4.15439e-28	5.35627	0.00019384	-2.30934e-35	3.29256e-93	6.07092	2.69841e-07	3.68698e-23	

Figura 14 - Captura de pantalla de tabla de resultados extraída desde el software COPASI

Resultados

Los resultados presentados son la representación gráfica de los valores de concentración de las diferentes moléculas obtenidas a partir de las simulaciones cinéticas realizadas por el software COPASI en función del tiempo. Estas simulaciones

abordaron condiciones donde la concentración de MnSOD se aproxima a niveles fisiológicos y, posteriormente, a condiciones patológicas. Para todas las situaciones consideradas se puso énfasis en comparar el tiempo en el cual la concentración de MnSOD activa llegaba a cero. De la misma forma se consideraron cinco escenarios de flujos de $O_2^{\bullet-}$ y $\bullet NO$, evaluando tanto flujos equimolares de los radicales a magnitudes crecientes (10, 30, y 100) como flujos no equimolares con una diferencia 10 veces superior entre uno y otro. Los flujos equimolares permitían concluir la importancia de la magnitud de los flujos en la inactivación de la SOD mientras que los flujos no equimolares ponían en evidencia cuál de los dos radicales tenía mayor impacto en la actividad de la MnSOD.

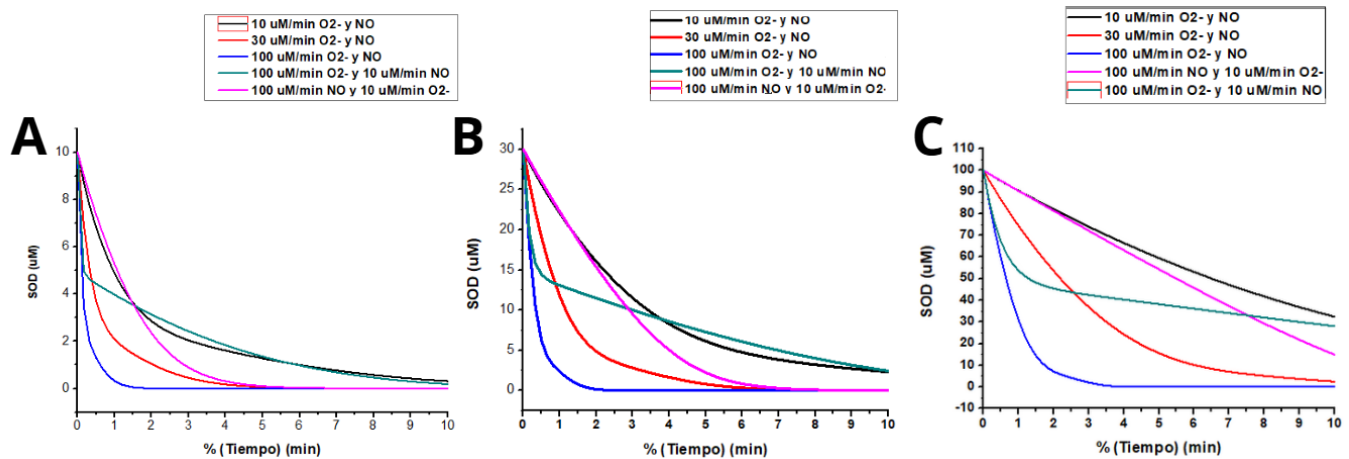


Fig. 15 - Efecto de los flujos de superóxido y óxido nítrico en la inactivación de SOD a diferentes concentraciones de SOD. **A:** MnSOD inicial de 10 μM . **B:** MnSOD inicial de 30 μM . **C:** MnSOD inicial de 100 μM .

Tal como se aprecia en la Figura 15 las diferentes cinéticas de inactivación de la MnSOD activa en función del tiempo. La cinética de inactivación depende directamente de la concentración inicial de la enzima y los flujos de $\bullet NO$ y $O_2^{\bullet-}$ a los cuales se somete la misma. Como se observó en las gráficas a medida que aumenta la concentración de MnSOD activa la pendiente de cada gráfica se va haciendo menos pronunciada lo que significa que la inactivación total de la SOD requiere más tiempo. Independientemente de la concentración inicial de MnSOD el aumento de los flujos equimolares acelera la inactivación de la enzima. Se observó que el aumento abrupto del flujo de $O_2^{\bullet-}$ (100 μM) provoca dos fases, una de rápida inactivación y una de inactivación más lenta. Frente a un bajo flujo de $\bullet NO$ se presentan dos fases de inactivación con diferentes pendientes, siendo menos pronunciada en comparación con la del $O_2^{\bullet-}$ sobre todo

cuando se incrementa la concentración de la enzima como en el caso de la gráfica C, ralentizando su concentración.

Variabilidad de la concentración de MnSOD

En la gráfica de la figura 16 se puede observar que para cada gráfica se confirmó un aumento progresivo en la formación de peroxinitrito aunque esto va variando en base a los flujos de $O_2^{\bullet-}$ y $\cdot NO$. En cuanto a los flujos como se observa en la pendiente azul el $O_2^{\bullet-}$ influyó significativamente en la formación de $ONOO^-$ consecuencia de que había más disponibilidad del mismo para reaccionar con la MnSOD y el $\cdot NO$. Lo que se pudo concluir a partir de las 3 gráficas es que luego de que ya no queda más MnSOD activa disponible el $ONOO^-$ entra en equilibrio porque se iguala su formación y destrucción. Además como se pudo apreciar en C a medida que se aumenta la concentración de MnSOD (100 mM) la generación de $ONOO^-$ se vuelve más lenta.

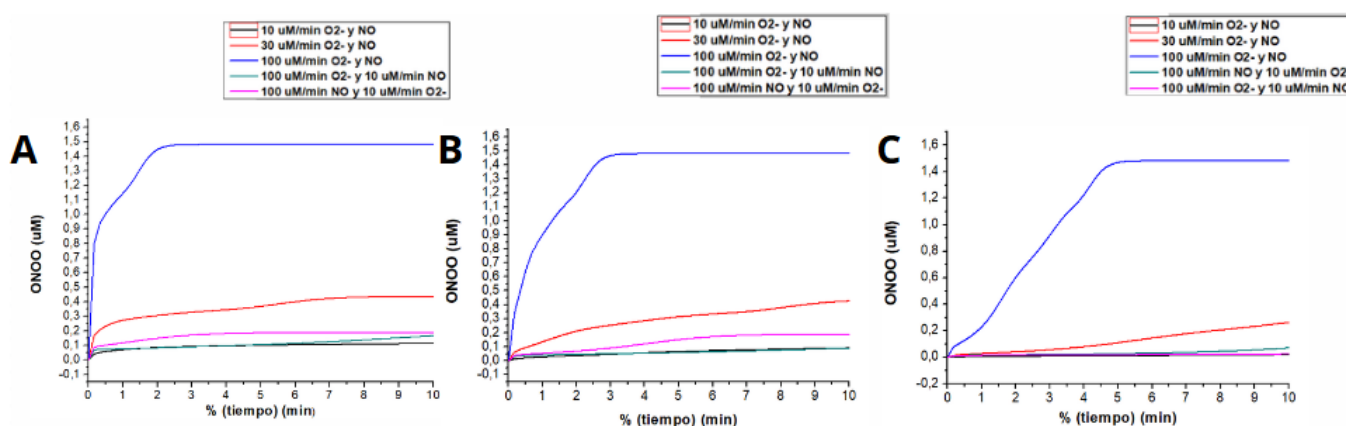


Fig.16.Variación de la concentración de $ONOO^-$ en función del tiempo para distintas concentraciones iniciales de MnSOD considerando distintas magnitudes de flujos de $O_2^{\bullet-}$ y $\cdot NO$.

A: MnSOD inicial de 10 μM . **B:** MnSOD inicial de 30 μM . **C:** MnSOD inicial de 100 μM .

Comportamiento del peroxinitrito frente a distintas concentraciones de MnSOD

A partir de las cuatro gráficas obtenidas de la Figura 17 se pudo observar que cuando se llega al equilibrio en la concentración de $O_2^{\bullet-}$ podemos deducir que la MnSOD está inactiva, el tiempo estará determinado por la concentración inicial de MnSOD y los flujos equimolares. En la gráfica A lo que se observó es que al aumentar la magnitud

de los flujos equimolares de $O_2^{\bullet-}$ y $\cdot NO$ el equilibrio del $O_2^{\bullet-}$ se alcanza más rápidamente. Por ejemplo para flujo equimolar 30mM demora entre 7 y 8 min mientras que para 100 mM se llega aproximadamente a los 2 min.

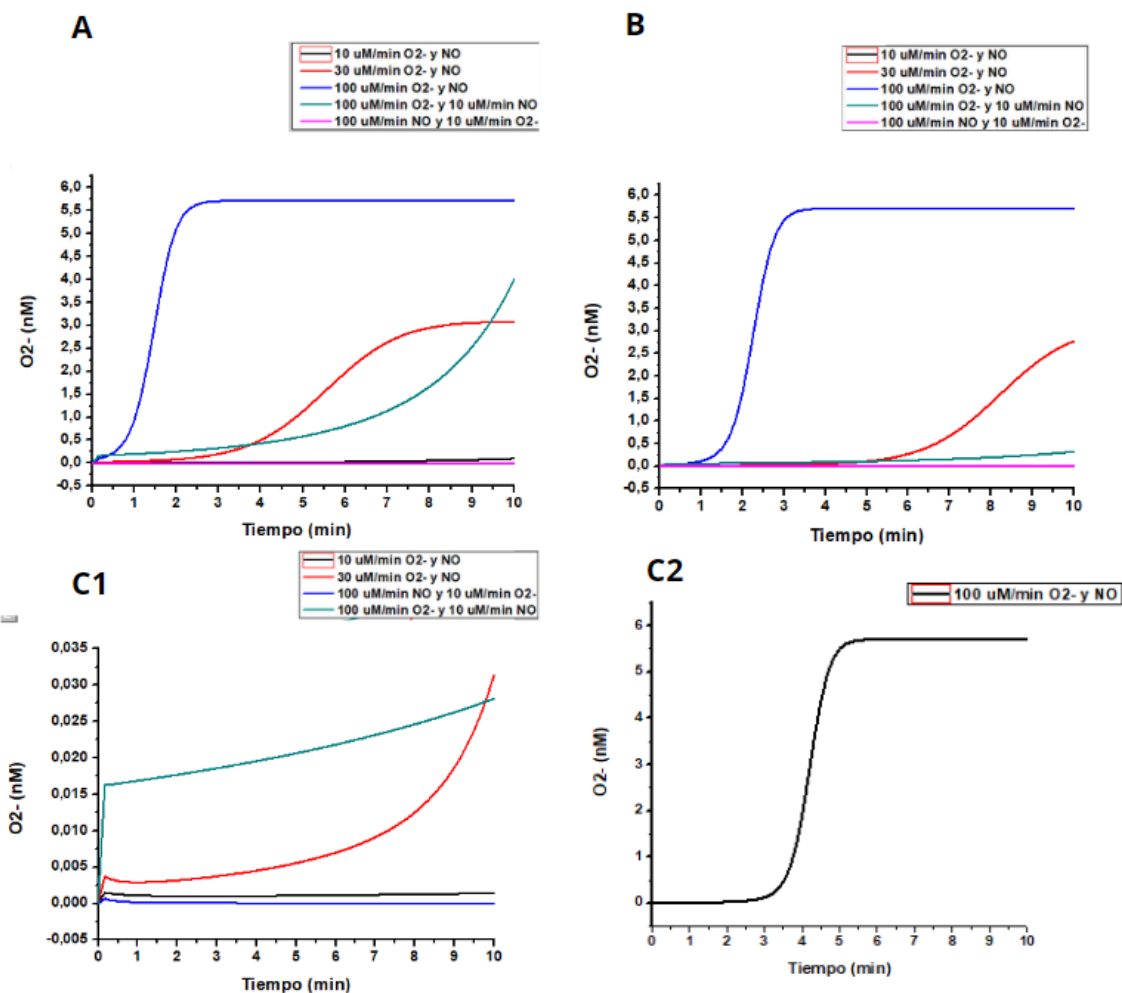


Fig. 17. Variación de la concentración de $O_2^{\bullet-}$ en función del tiempo para distintas concentraciones iniciales de MnSOD considerando distintas magnitudes de flujos de $O_2^{\bullet-}$ y $\cdot NO$.

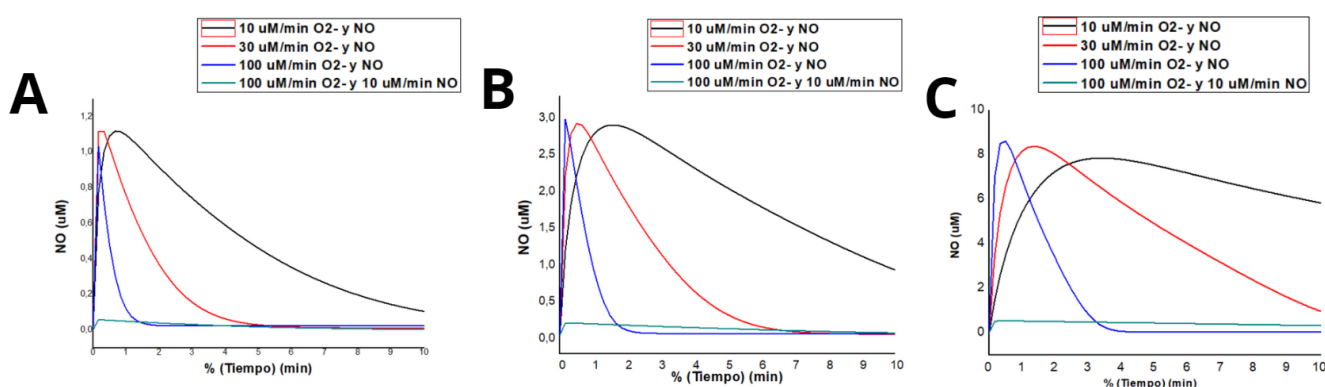
A: MnSOD inicial de 10 μM . **B:** MnSOD inicial de 30 μM . **C1:** MnSOD inicial de 100 μM **C2:** MnSOD inicial de 100 μM con un flujo equimolar de $O_2^{\bullet-}$ y $\cdot NO$.

En la concentración de MnSOD 100 mM (gráfica C1) para los flujos de 10mM y 30mM de $O_2^{\bullet-}$ y $\cdot NO$ respectivamente no se pudo observar el equilibrio por el tiempo utilizado para la simulación. El comportamiento de los flujos equimolares que se observa en la gráfica A también se repite en B y C aunque con desplazamiento de las curvas hacia la derecha comprobando que le lleva más tiempo llegar al equilibrio. Además, comparando el comportamiento de las curvas verdes correspondientes al flujo de

100mM de $O_2^{\bullet-}$ y 10 mM de $\bullet NO$ en las tres gráficas se pudo ver que a medida que aumenta la concentración de MnSOD la acumulación de $O_2^{\bullet-}$ disminuye. Por último viendo el comportamiento de la curva que representa el mayor flujo de $\bullet NO$ en el tiempo que desarrollamos la simulación la acumulación de $O_2^{\bullet-}$ es despreciable independientemente de la concentración de MnSOD inicial.

Variabilidad del $O_2^{\bullet-}$

En la Figura 18 se pudo observar que para una misma concentración inicial de MnSOD a medida que aumentó la concentración de los flujos equimolares la acumulación de $\bullet NO$ se produjo más rápido. Por ejemplo en la gráfica C el pico de la curva azul está casi en 1 minuto mientras que el de la curva negra está en 3 minutos esto se debe a que no hay $O_2^{\bullet-}$ disponible para reaccionar con el $\bullet NO$ hasta el pico máximo de la curva. Al aumentar la concentración de MnSOD las curvas se van desplazando hacia la derecha porque el $\bullet NO$ tiene que esperar más tiempo para que haya $O_2^{\bullet-}$ disponible



para reaccionar. En las tres gráficas verdes se puede observar que no se acumula $\bullet NO$ ya que hay poco flujo de $\bullet NO$ y este reacciona con el $O_2^{\bullet-}$ lo cual es concluyente con las gráficas previas del $O_2^{\bullet-}$

Fig. 18. Variación de la concentración de óxido nítrico en función del tiempo para distintas concentraciones iniciales de MnSOD considerando distintas magnitudes de flujos de $O_2^{\bullet-}$ y $\bullet NO$.

A: MnSOD inicial de 10 μM . **B:** MnSOD inicial de 30 μM . **C:** MnSOD inicial de 100 μM .

Variabilidad de la concentración de $\bullet NO$ en función del tiempo

Decidimos no incluir el flujo 100 μM de $\bullet NO$ y 10 μM de $O_2^{\bullet-}$ debido a que como se observa en la Figura 20 hay una acumulación mantenida en el tiempo de $\bullet NO$ de

grandes magnitudes dado que el flujo de $O_2^{\bullet-}$ está tan bajo que no pueden reaccionar con estas grandes concentraciones. Esta situación se repitió para las tres concentraciones de MnSOD. Por un tema de escala decidimos mostrar un único ejemplo.

En este trabajo se consideró un sistema cerrado simplificado, el cual no incluye sistemas de detoxificación de peroxinitrito tales como las peroxirredoxinas 3 y 5, encargadas de eliminar peroxinitrito.

Discusión

Este estudio experimental tenía el objetivo de analizar la inactivación de la MnSOD por el $ONOO^-$ en un sistema cerrado simplificado, simulando el compartimiento mitocondrial, dada la relevancia biológica de esta enzima en situaciones patológicas tales como enfermedades neurodegenerativas, renales, hepáticas, neoplásica y metabólicas que se caracterizaban por un aumento del estrés oxidativo (18,23).

Es tal la importancia de esta enzima que en el artículo "Increased oxidative damage is correlated to altered mitochondrial function in heterozygous manganese superoxide dismutase knockout mice" (60), fueron descritas situaciones donde se evidenció la imposibilidad de vida más allá de dos semanas en ratones knockout para esta enzima (18)

Su función es la dismutación del $O_2^{\bullet-}$ lo cual reduce el estrés oxidativo, sin embargo, se sabe que frente a un aumento significativo del mismo se incrementa la formación de distintos radicales, entre ellos los más importantes el $^{\bullet}NO$ y $O_2^{\bullet-}$. Ambas moléculas son capaces de formar grandes cantidades de un producto conocido como el $ONOO^-$, siendo este el responsable de inactivar a la MnSOD pese a su rápida velocidad de catálisis; esto es sorprendente dado que la k_{Cat} de esta enzima es sumamente elevada cercana al límite de difusión. (18)

Para investigar este proceso trabajamos bajo condiciones *in silico*, combinando diferentes concentraciones de MnSOD y variando los flujos de $^{\bullet}NO$ y $O_2^{\bullet-}$ con el fin de simular condiciones patológicas y compararlas con niveles cercanos a los fisiológicos.

En primer lugar, como se muestra en la Figura 18 para las gráficas de $^{\bullet}NO$ se observó que para todas las situaciones este se fue acumulando y que el tiempo que le tomó llegar al pico máximo aumenta si la concentración de la MnSOD se incrementa. En determinado momento la concentración de $^{\bullet}NO$ es tal que comenzó a competir con la MnSOD por el $O_2^{\bullet-}$.

Se pudo comprobar que frente a grandes flujos equimolares de ambos reactivos hay una gran formación de ONOO^- como lo indica la Figura 16 (curva azul), sin embargo, lo que llama la atención es que frente a grandes flujos de $\cdot\text{NO}$ hay una baja formación de ONOO^- que podría explicarse por la baja disponibilidad de $\text{O}_2^{\cdot-}$ para reaccionar. En condiciones en donde el flujo de los reactivos es bajo o hay mucho $\text{O}_2^{\cdot-}$ y poco $\cdot\text{NO}$ la formación de ONOO^- es tan baja que retrasa considerablemente la inactivación total de la enzima en el tiempo, demostrando la necesidad de grandes niveles de ambas moléculas para que esto suceda.

A partir de los resultados graficados en la Figura 15 podemos inferir que el $\cdot\text{NO}$ tiene un papel más dañino en la inactivación de la enzima ya que como se observa en las gráficas correspondientes al $\text{O}_2^{\cdot-}$ cuando tenemos gran concentración del mismo pero bajo $\cdot\text{NO}$ las mismas se mantienen en niveles cercanos a cero no permitiendo que compita con la enzima.

En la gráfica de inactivación de la MnSOD cuando tenemos una alta formación $\text{O}_2^{\cdot-}$ y una baja formación de $\cdot\text{NO}$ se observa una inactivación más lenta de la misma.

Esto podría indicar que aumentar los niveles de MnSOD podría ser protector contra los niveles de estrés oxidativo, se puede observar en las gráficas donde la concentración de $\cdot\text{NO}$ necesaria para que empiece la competencia entre la MnSOD y el $\cdot\text{NO}$ por el $\text{O}_2^{\cdot-}$ es cada vez mayor a medida que aumenta la concentración de enzima.

A partir de las gráficas de cinética de inactivación de la MnSOD correspondientes a la Figura 15, si contrastamos las gráficas de ONOO^- y MnSOD vemos que existe una correlación estrecha entre el aumento de la concentración del ONOO^- y el tiempo de inactivación total de la enzima como se formuló en la hipótesis. Por otro lado, se pudo observar que son similares los tiempos a los cuales la MnSOD está completamente inactivada para un escenario de flujos equimolares de 10 mM y frente a flujos no equimolares altos para $\text{O}_2^{\cdot-}$ y que se forma muy poco ONOO^- .

Conclusiones y perspectivas

En el presente estudio se planteó como hipótesis que en condiciones patológicas la MnSOD es inactivada por un subproducto de su sustrato. La misma sugiere un mecanismo de inactivación enzimática de la MnSOD en presencia de su propio sustrato. La hipótesis surge a partir de la revisión bibliográfica de artículos donde se demostró la vinculación entre la inactivación de la MnSOD como patogénesis de diferentes enfermedades. La comprensión de los mecanismos de inactivación de la SOD y los factores que determinan su cinética de inactivación podrían ser la base de futuros

estudios que pretendan disminuir su inactivación como posible blanco terapéutico de múltiples patologías.

En este estudio se concluye que se demuestra la hipótesis por medio de simulaciones cinéticas. Se demostró la formación de ONOO^- incluso en condiciones donde la concentración de MnSOD y los flujos de los radicales eran similares a los encontrados en la célula. El ONOO^- formado desencadena la cascada de inactivación de la MnSOD por medio de la cual la concentración de MnSOD activa tiende a cero en nuestro sistema. El ONOO^- contribuye al mecanismo de feedback negativo al disminuir progresivamente la concentración de MnSOD activa y por lo tanto permitir que cada vez más $\cdot\text{NO}$ reaccione con $\text{O}_2^{\cdot-}$ y así su producto continuar inactivando a la MnSOD.

De la misma forma, se demostró el papel esencial del $\cdot\text{NO}$ para el desarrollo de la cascada de inactivación de la MnSOD al observarse que las situaciones simuladas con flujos bajos de $\cdot\text{NO}$ en presencia de altos flujos de $\text{O}_2^{\cdot-}$ generaban cinéticas de inactivación enzimática similares a flujos equimolares de ambos radicales.

Referencias bibliográficas

1. . Le Lay S, Simard G, Martinez MC, Andriantsitohaina R. Oxidative Stress and Metabolic Pathologies: From an Adipocentric Point of View. *Oxid Med Cell Longev*. 2014;2014:1-18.
2. Di Meo S, Reed TT, Venditti P, Victor VM. Role of ROS and RNS Sources in Physiological and Pathological Conditions. Franco R, editor. *Oxid Med Cell Longev*. enero de 2016;2016(1):1245049.
3. Carvajal CC. ESPECIES REACTIVAS DEL OXÍGENO: FORMACIÓN, FUNCION Y ESTRÉS OXIDATIVO. 36.
4. Phaniendra A, Jestadi DB, Periyasamy L. Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. *Indian J Clin Biochem*. enero de 2015;30(1):11-26.
5. Quijano C, Castro L, Peluffo G, Valez V, Radi R. Enhanced mitochondrial superoxide in hyperglycemic endothelial cells: direct measurements and formation of hydrogen peroxide and peroxynitrite. *Am J Physiol-Heart Circ Physiol*. diciembre de 2007;293(6):H3404-14.
6. Dege VD. Nitración de proteínas mitocondriales.
7. Knowles PF, Gibson JF, Pick FM, Bray RC. Electron-spin-resonance evidence for enzymic reduction of oxygen to a free radical, the superoxide ion. *Biochem J*. 1 de enero de 1969;111(1):53-8.
8. Barnese K, Sheng Y, Stich TA, Gralla EB, Britt RD, Cabelli DE, et al. Investigation of the Highly Active Manganese Superoxide Dismutase from *Saccharomyces cerevisiae*. *J Am Chem Soc*. 15 de septiembre de 2010;132(36):12525-7.
9. Barja G. Mitochondrial Oxygen Radical Generation and Leak: Sites of Production in States 4 and 3, Organ Specificity, and Relation to Aging and Longevity. *J Bioenerg Biomembr*. 1999;31(4):347-66.
10. Turrens JF, Boveris A. Generation of superoxide anion by the NADH dehydrogenase of bovine heart mitochondria. *Biochem J*. 1 de noviembre de

- 1980;191(2):421-7.
11. Turrens JF, Freeman BA, Levitt JG, Crapo JD. The effect of hyperoxia on superoxide production by lung submitochondrial particles. Arch Biochem Biophys. septiembre de 1982;217(2):401-10.
 12. Boveris A, Cadenas E. Mitochondrial production of superoxide anions and its relationship to the antimycin insensitive respiration. FEBS Lett. julio de 1975;54(3):311-4.
 13. Kowaltowski AJ, De Souza-Pinto NC, Castilho RF, Vercesi AE. Mitochondria and reactive oxygen species. Free Radic Biol Med. agosto de 2009;47(4):333-43.
 14. Radi R, Beckman JS, Bush KM, Freeman BA. Peroxynitrite oxidation of sulfhydryls. J Biol Chem. marzo de 1991;266(7):4244-50.
 15. Rahal A, Kumar A, Singh V, Yadav B, Tiwari R, Chakraborty S, et al. Oxidative Stress, Prooxidants, and Antioxidants: The Interplay. BioMed Res Int. 2014;2014:1-19.
 16. Sainz RM, Lombo F, Mayo JC. Radical Decisions in Cancer: Redox Control of Cell Growth and Death. Cancers. 25 de abril de 2012;4(2):442-74.
 17. Fukai T, Ushio-Fukai M. Superoxide Dismutases: Role in Redox Signaling, Vascular Function, and Diseases. Antioxid Redox Signal. 15 de septiembre de 2011;15(6):1583-606.
 18. Demicheli V, Moreno DM, Radi R. Human Mn-superoxide dismutase inactivation by peroxynitrite: a paradigm of metal-catalyzed tyrosine nitration *in vitro* and *in vivo*. Metallomics. 2018;10(5):6-7.
 19. Hsu JL, Hsieh Y, Tu C, O'Connor D, Nick HS, Silverman DN. Catalytic Properties of Human Manganese Superoxide Dismutase. J Biol Chem. julio de 1996;271(30):17687-91.
 20. Sheng Y, Abreu IA, Cabelli DE, Maroney MJ, Miller AF, Teixeira M, et al. Superoxide Dismutases and Superoxide Reductases. Chem Rev. 9 de abril de 2014;114(7):3854-918.
 21. Stallings WC, Patridge KA, Strong RK, Ludwig ML. The structure of manganese superoxide dismutase from Thermus thermophilus HB8 at 2.4-Å resolution. J Biol Chem. diciembre de 1985;260(30):16424-32.
 22. Botti H, Möller M, Steinmann D, Nauser T, Koppenol W, Denicola A. Distance-dependent diffusion-controlled reaction of •NO and O₂•- at chemical equilibrium with ONOO-. J Phys Chem B Internet. 16 de diciembre de 2010;114(49):16584-93.
 23. Liu M, Sun X, Chen B, Dai R, Xi Z, Xu H. Insights into Manganese Superoxide Dismutase and Human Diseases. Int J Mol Sci. 14 de diciembre de 2022;23(24):15893.
 24. He L, Wei Q, Liu J, Yi M, Liu Y, Liu H, et al. AKI on CKD: heightened injury, suppressed repair, and the underlying mechanisms. Kidney Int. noviembre de 2017;92(5):1071-83.
 25. Kitada M, Xu J, Ogura Y, Monno I, Koya D. Manganese Superoxide Dismutase Dysfunction and the Pathogenesis of Kidney Disease. Front Physiol. 14 de julio de 2020;11:755.
 26. Che R, Yuan Y, Huang S, Zhang A. Mitochondrial dysfunction in the pathophysiology of renal diseases. Am J Physiol-Ren Physiol. 15 de febrero de 2014;306(4):F367-78.
 27. Sarem M, Znaidak R, Macías M, Rey R. Las células estrelladas del hígado: su importancia en condiciones normales y patológicas. Gastroenterol Hepatol. febrero de 2006;29(2):93-101.
 28. Ściskalska M, Ołdakowska M, Marek G, Milnerowicz H. Changes in the Activity and Concentration of Superoxide Dismutase Isoenzymes (Cu/Zn SOD, MnSOD) in the

- Blood of Healthy Subjects and Patients with Acute Pancreatitis. *Antioxidants*. 1 de octubre de 2020;9(10):948.
29. Weisiger RA, Fridovich I. Mitochondrial Superoxide Dismutase. *J Biol Chem*. julio de 1973;248(13):4793-6.
 30. Gřešková A, Petřivalský M. Thioredoxin System in Insects: Uncovering the Roles of Thioredoxins and Thioredoxin Reductase beyond the Antioxidant Defences. *Insects*. 14 de octubre de 2024;15(10):797.
 31. Engelmann C, Clària J, Szabo G, Bosch J, Bernardi M. Pathophysiology of decompensated cirrhosis: Portal hypertension, circulatory dysfunction, inflammation, metabolism and mitochondrial dysfunction. *J Hepatol*. julio de 2021;75:S49-66.
 32. Stauber RE, Paar M, Balazs I, Horvath A, Feldbacher N, Posch A, et al. Effect of albumin infusion on oxidative albumin modification and albumin binding capacity in chronic liver failure. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. marzo de 2024;134(3):375-84.
 33. Liu H, Lyu H, Jiang X, Wang L, Li H, Wei X, et al. Superoxide Dismutase 2 As A Predictor In Patients With Hepatitis B Virus-Associated Acute-On-Chronic Liver Failure [Internet]. 2022 [citado 29 de mayo de 2024]. Disponible en: <https://www.researchsquare.com/article/rs-1397658/v1>
 34. Russo M, Cocco S, Secondo A, Adornetto A, Bassi A, Nunziata A, et al. Cigarette Smoke Condensate Causes a Decrease of the Gene Expression of Cu-Zn Superoxide Dismutase, Mn Superoxide Dismutase, Glutathione Peroxidase, Catalase, and Free Radical-Induced Cell Injury in SH-SY5Y Human Neuroblastoma Cells. *Neurotox Res*. enero de 2011;19(1):49-54.
 35. Eftekhari A, Peivand Z, Saadat I, Saadat M. Association between Genetic Polymorphisms in Superoxide Dismutase Gene Family and Risk of Gastric Cancer. *Pathol Oncol Res*. enero de 2020;26(1):335-9.
 36. LIU Y, ZHA L, LI B, ZHANG L, YU T, LI L. Correlation between superoxide dismutase 1 and 2 polymorphisms and susceptibility to oral squamous cell carcinoma. *Exp Ther Med*. enero de 2014;7(1):171-8.
 37. Ding G, Liu F, Shen B, Feng C, Xu J, Ding Q. The Association Between Polymorphisms in Prooxidant or Antioxidant Enzymes (Myeloperoxidase, SOD2, and CAT) and Genes and Prostate Cancer Risk in the Chinese Population of Han Nationality. *Clin Genitourin Cancer*. diciembre de 2012;10(4):251-5.
 38. Hernandez-Saavedra D, McCord JM. Association of a new intronic polymorphism of the *SOD2* gene (G1677T) with cancer. *Cell Biochem Funct*. junio de 2009;27(4):223-7.
 39. Peng C, Trojanowski JQ, Lee VMY. Protein transmission in neurodegenerative disease. *Nat Rev Neurol*. abril de 2020;16(4):199-212.
 40. Dujardin S, Commins C, Lathuiliere A, Beerepoot P, Fernandes AR, Kamath TV, et al. Tau molecular diversity contributes to clinical heterogeneity in Alzheimer's disease. *Nat Med*. 1 de agosto de 2020;26(8):1256-63.
 41. Mahmudov I, Demir Y, Sert Y, Abdullayev Y, Sujayev A, Alwasel SH, et al. Synthesis and inhibition profiles of N-benzyl- and N-allyl aniline derivatives against carbonic anhydrase and acetylcholinesterase – A molecular docking study. *Arab J Chem*. marzo de 2022;15(3):103645.
 42. Güleç Ö, Türkeş C, Arslan M, Demir Y, Yeni Y, Hacımüftüoğlu A, et al. Cytotoxic effect, enzyme inhibition, and in silico studies of some novel N-substituted sulfonyl amides incorporating 1,3,4-oxadiazol structural motif. *Mol Divers*. octubre de 2022;26(5):2825-45.
 43. Martini AC, Gross TJ, Head E, Mapstone M. Beyond amyloid: Immune, cerebrovascular, and metabolic contributions to Alzheimer disease in people with Down syndrome. *Neuron*. julio de 2022;110(13):2063-79.
 44. Flynn JM, Melov S. SOD2 in mitochondrial dysfunction and neurodegeneration.

- Free Radic Biol Med. septiembre de 2013;62:4-12.
45. Price DL, Troncoso JC, Taniguchi N. Localization of Superoxide Dismutases in Alzheimer's Disease and Down's Syndrome Neocortex and Hippocampus. 1995;146(2).
 46. França MB, Lima KC, Eleutherio ECA. Oxidative Stress and Amyloid Toxicity: Insights From Yeast. J Cell Biochem. junio de 2017;118(6):1442-52.
 47. Bloem BR, Okun MS, Klein C. Parkinson's disease. The Lancet. junio de 2021;397(10291):2284-303.
 48. Belluzzi E, Bisaglia M, Lazzarini E, Tabares LC, Beltramini M, Bubacco L. Human SOD2 Modification by Dopamine Quinones Affects Enzymatic Activity by Promoting Its Aggregation: Possible Implications for Parkinson's Disease. Sgambato-Faure V, editor. PLoS ONE. 18 de junio de 2012;7(6):e38026.
 49. Ferrer I, Perez E, Dalfó E, Barrachina M. Abnormal levels of prohibitin and ATP synthase in the substantia nigra and frontal cortex in Parkinson's disease. Neurosci Lett. marzo de 2007;415(3):205-9.
 50. Santiago JA, Scherzer CR, Potashkin JA. Network Analysis Identifies SOD2 mRNA as a Potential Biomarker for Parkinson's Disease. Csermely P, editor. PLoS ONE. 3 de octubre de 2014;9(10):e109042.
 51. Cho IK, Yang B, Forest C, Qian L, Chan AWS. Amelioration of Huntington's disease phenotype in astrocytes derived from iPSC-derived neural progenitor cells of Huntington's disease monkeys. Reddy H, editor. PLOS ONE. 21 de marzo de 2019;14(3):e0214156.
 52. Liu Y, Brooks BR, Taniguchi N, Hartmann HA. CuZnSOD and MnSOD immunoreactivity in brain stem motor neurons from amyotrophic lateral sclerosis patients. Acta Neuropathol (Berl). 12 de enero de 1998;95(1):63-70.
 53. Wakai M, Mokuno K, Hashizume Y, Kato K. An immunohistochemical study of the neuronal expression of manganese superoxide dismutase in sporadic amyotrophic lateral sclerosis.
 54. Forbes JM, Cooper ME. Mechanisms of Diabetic Complications. Physiol Rev. enero de 2013;93(1):137-88.
 55. American Diabetes Association. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Diabetes Care. 1 de enero de 2013;36(Supplement_1):S67-74.
 56. Castro L, Demicheli V, Tórtora V, Radi R. Mitochondrial protein tyrosine nitration. Free Radic Res. enero de 2011;45(1):37-52.
 57. COPASI: About/Team [Internet]. [citado 13 de noviembre de 2024]. Disponible en: <https://copasi.org/About/Team/>
 58. María Inés D armas, Romina E, Mastrogiovanni M, G.P. Alegria T, E.S. Netto L, Tórtora V, et al. Rapid peroxynitrite reduction by human peroxiredoxin 3: Implications for the fate of oxidants in mitochondria. Free Radic Biol Med. 2019;Volume 130:Pages 369-378,.
 59. OriginLab - Origin and OriginPro - Data Analysis and Graphing Software [Internet]. [citado 13 de noviembre de 2024]. Disponible en: <https://www.originlab.com/>
 60. Williams MD, Van Remmen H, Conrad CC, Huang TT, Epstein CJ, Richardson A. Increased Oxidative Damage Is Correlated to Altered Mitochondrial Function in Heterozygous Manganese Superoxide Dismutase Knockout Mice. J Biol Chem. octubre de 1998;273(43):28510-5.

Agradecimientos

Al finalizar este trabajo queremos hacer un especial agradecimiento a nuestra orientadora Veronica Demicheli por ser nuestra guía y brindarnos sus conocimientos de años de investigación siguiendo el proceso con incansable paciencia y disposición. Además agradecer el uso libre del software COPASI utilizado ya que fue pilar fundamental para la generación de los datos, permitiéndonos obtener los resultados que les presentamos.

Anexos:

SOD 10 Flujos equimolares aumentados				
# Time	O2-	NO	ONOO	SOD
0	0	0	0	1,00E-05
10	2,48E-11	1,12E-06	1,70E-07	6,94E-06
20	2,62E-11	1,12E-06	2,07E-07	4,99E-06
30	2,90E-11	1,03E-06	2,32E-07	3,72E-06
40	3,23E-11	9,33E-07	2,51E-07	2,92E-06
50	3,59E-11	8,43E-07	2,64E-07	2,42E-06
60	4,01E-11	7,58E-07	2,73E-07	2,08E-06
70	4,49E-11	6,79E-07	2,80E-07	1,84E-06
80	5,04E-11	6,06E-07	2,86E-07	1,64E-06
90	5,69E-11	5,39E-07	2,91E-07	1,47E-06
100	6,44E-11	4,76E-07	2,97E-07	1,31E-06
110	7,33E-11	4,20E-07	3,01E-07	1,17E-06
120	8,37E-11	3,68E-07	3,06E-07	1,03E-06
130	9,59E-11	3,22E-07	3,10E-07	9,10E-07
140	1,10E-10	2,80E-07	3,15E-07	7,98E-07
150	1,27E-10	2,43E-07	3,19E-07	6,96E-07
160	1,48E-10	2,10E-07	3,22E-07	6,04E-07
170	1,71E-10	1,81E-07	3,26E-07	5,23E-07
180	1,99E-10	1,56E-07	3,29E-07	4,50E-07
190	2,33E-10	1,34E-07	3,32E-07	3,87E-07
200	2,71E-10	1,15E-07	3,34E-07	3,31E-07
210	3,17E-10	9,90E-08	3,37E-07	2,83E-07
220	3,70E-10	8,50E-08	3,40E-07	2,41E-07
230	4,31E-10	7,32E-08	3,42E-07	2,04E-07
240	5,02E-10	6,32E-08	3,45E-07	1,73E-07
250	5,82E-10	5,48E-08	3,48E-07	1,46E-07
260	6,73E-10	4,78E-08	3,51E-07	1,23E-07
270	7,73E-10	4,19E-08	3,55E-07	1,04E-07
280	8,84E-10	3,70E-08	3,59E-07	8,71E-08
290	1,00E-09	3,30E-08	3,64E-07	7,29E-08
300	1,13E-09	2,96E-08	3,69E-07	6,09E-08
310	1,27E-09	2,68E-08	3,74E-07	5,07E-08
320	1,41E-09	2,45E-08	3,79E-07	4,20E-08
330	1,55E-09	2,25E-08	3,85E-07	3,48E-08
340	1,69E-09	2,09E-08	3,90E-07	2,87E-08
350	1,83E-09	1,95E-08	3,95E-07	2,36E-08
360	1,97E-09	1,84E-08	4,01E-07	1,94E-08
370	2,10E-09	1,74E-08	4,05E-07	1,59E-08
380	2,23E-09	1,66E-08	4,10E-07	1,30E-08
390	2,35E-09	1,59E-08	4,14E-07	1,06E-08
400	2,45E-09	1,54E-08	4,17E-07	8,59E-09
410	2,55E-09	1,49E-08	4,20E-07	6,98E-09
420	2,63E-09	1,45E-08	4,23E-07	5,66E-09
430	2,71E-09	1,42E-08	4,25E-07	4,58E-09
440	2,77E-09	1,39E-08	4,27E-07	3,70E-09
450	2,83E-09	1,37E-08	4,29E-07	2,99E-09
460	2,87E-09	1,35E-08	4,30E-07	2,42E-09
470	2,91E-09	1,33E-08	4,31E-07	1,95E-09
480	2,95E-09	1,32E-08	4,32E-07	1,57E-09
490	2,97E-09	1,31E-08	4,33E-07	1,27E-09
500	3,00E-09	1,30E-08	4,34E-07	1,02E-09
510	3,01E-09	1,30E-08	4,34E-07	8,22E-10
520	3,03E-09	1,29E-08	4,35E-07	6,62E-10
530	3,04E-09	1,29E-08	4,35E-07	5,33E-10
540	3,05E-09	1,29E-08	4,36E-07	4,29E-10
550	3,06E-09	1,28E-08	4,36E-07	3,45E-10
560	3,07E-09	1,28E-08	4,36E-07	2,78E-10
570	3,07E-09	1,28E-08	4,36E-07	2,24E-10
580	3,08E-09	1,28E-08	4,36E-07	1,80E-10
590	3,08E-09	1,28E-08	4,36E-07	1,45E-10
600	3,08E-09	1,28E-08	4,36E-07	1,17E-10

SOD 30 Flujos equimolares aumentados				
# Time	O2-	NO	ONOO	SOD
0	0	0	0	3,00E-05
10	9,88E-12	2,17E-06	6,09E-08	2,58E-05
20	9,17E-12	2,73E-06	7,97E-08	2,22E-05
30	9,23E-12	2,88E-06	9,40E-08	1,91E-05
40	9,59E-12	2,85E-06	1,07E-07	1,63E-05
50	1,01E-11	2,75E-06	1,21E-07	1,39E-05
60	1,08E-11	2,62E-06	1,35E-07	1,18E-05
70	1,15E-11	2,47E-06	1,49E-07	9,98E-06
80	1,23E-11	2,33E-06	1,63E-07	8,50E-06
90	1,32E-11	2,19E-06	1,76E-07	7,28E-06
100	1,42E-11	2,05E-06	1,89E-07	6,29E-06
110	1,52E-11	1,92E-06	2,01E-07	5,50E-06
120	1,64E-11	1,80E-06	2,11E-07	4,86E-06
130	1,77E-11	1,67E-06	2,21E-07	4,35E-06
140	1,91E-11	1,56E-06	2,29E-07	3,94E-06
150	2,07E-11	1,44E-06	2,36E-07	3,59E-06
160	2,25E-11	1,33E-06	2,43E-07	3,29E-06

SOD 10 Flujos equimolares fisiologicos				
# Time	O2-	NO	ONOO	SOD
0	0	0	0	1,00E-05
10	9,72E-12	7,75E-07	4,15E-08	8,71E-06
20	8,76E-12	1,00E-06	5,21E-08	7,70E-06
30	8,55E-12	1,09E-06	5,86E-08	6,84E-06
40	8,60E-12	1,12E-06	6,35E-08	6,09E-06
50	8,79E-12	1,12E-06	6,76E-08	5,44E-06
60	9,04E-12	1,10E-06	7,12E-08	4,88E-06
70	9,34E-12	1,07E-06	7,44E-08	4,39E-06
80	9,66E-12	1,04E-06	7,72E-08	3,98E-06
90	1,00E-11	1,01E-06	7,98E-08	3,63E-06
100	1,04E-11	9,78E-07	8,21E-08	3,32E-06
110	1,08E-11	9,46E-07	8,42E-08	3,07E-06
120	1,12E-11	9,15E-07	8,60E-08	2,85E-06
130	1,16E-11	8,85E-07	8,76E-08	2,66E-06
140	1,20E-11	8,55E-07	8,90E-08	2,50E-06
150	1,24E-11	8,26E-07	9,03E-08	2,36E-06
160	1,29E-11	7,97E-07	9,14E-08	2,24E-06
170	1,34E-11	7,69E-07	9,24E-08	2,13E-06
180	1,39E-11	7,41E-07	9,34E-08	2,04E-06
190	1,45E-11	7,14E-07	9,42E-08	1,95E-06
200	1,50E-11	6,88E-07	9,50E-08	1,87E-06
210	1,56E-11	6,63E-07	9,57E-08	1,80E-06
220	1,63E-11	6,38E-07	9,64E-08	1,73E-06
230	1,69E-11	6,13E-07	9,71E-08	1,67E-06
240	1,76E-11	5,90E-07	9,78E-08	1,61E-06
250	1,83E-11	5,67E-07	9,84E-08	1,55E-06
260	1,91E-11	5,44E-07	9,90E-08	1,49E-06
270	1,99E-11	5,22E-07	9,96E-08	1,43E-06
280	2,08E-11	5,01E-07	1,00E-07	1,38E-06
290	2,17E-11	4,80E-07	1,01E-07	1,33E-06
300	2,27E-11	4,60E-07	1,01E-07	1,28E-06
310	2,37E-11	4,41E-07	1,02E-07	1,23E-06
320	2,47E-11	4,22E-07	1,02E-07	1,18E-06
330	2,59E-11	4,04E-07	1,03E-07	1,13E-06
340	2,71E-11	3,86E-07	1,04E-07	1,08E-06
350	2,83E-11	3,69E-07	1,04E-07	1,04E-06
360	2,97E-11	3,53E-07	1,05E-07	9,97E-07
370	3,11E-11	3,37E-07	1,05E-07	9,55E-07
380	3,26E-11	3,22E-07	1,06E-07	9,14E-07
390	3,42E-11	3,07E-07	1,06E-07	8,74E-07
400	3,58E-11	2,93E-07	1,07E-07	8,36E-07
410	3,76E-11	2,79E-07	1,07E-07	7,99E-07
420	3,95E-11	2,66E-07	1,08E-07	7,63E-07
430	4,15E-11	2,54E-07	1,08E-07	7,28E-07
440	4,36E-11	2,41E-07	1,08E-07	6,95E-07
450	4,58E-11	2,30E-07	1,09E-07	6,62E-07
460	4,82E-11	2,19E-07	1,09E-07	6,31E-07
470	5,07E-11	2,08E-07	1,10E-07	6,01E-07
480	5,33E-11	1,98E-07	1,10E-07	5,73E-07
490	5,61E-11	1,88E-07	1,10E-07	5,45E-07
500	5,91E-11	1,79E-07	1,11E-07	5,19E-07
510	6,22E-11	1,70E-07	1,11E-07	4,93E-07
520	6,56E-11	1,61E-07	1,11E-07	4,69E-07
530	6,91E-11	1,53E-07	1,12E-07	4,45E-07
540	7,28E-11	1,45E-07	1,12E-07	4,23E-07
550	7,68E-11	1,38E-07	1,12E-07	4,02E-07
560	8,10E-11	1,31E-07	1,13E-07	3,81E-07
570	8,54E-11	1,24E-07	1,13E-07	3,62E-07
580	9,01E-11	1,17E-07	1,13E-07	3,43E-07
590	9,51E-11	1,11E-07	1,13E-07	3,25E-07
600	1,00E-10	1,06E-07	1,14E-07	3,08E-07

SOD 30 Flujo equimolares fisiologicos				
# Time	O2-	NO	ONOO	SOD
0	0	0	0	3,00E-05
10	4,11E-12	1,16E-06	1,25E-08	2,84E-05
20	3,61E-12	1,78E-06	1,77E-08	2,70E-05
30	3,36E-12	2,17E-06	2,10E-08	2,57E-05
40	3,23E-12	2,43E-06	2,34E-08	2,44E-05
50	3,16E-12	2,61E-06	2,55E-08	2,32E-05
60	3,13E-12	2,72E-06	2,74E-08	2,21E-05
70	3,12E-12	2,80E-06	2,91E-08	2,09E-05
80	3,13E-12	2,84E-06	3,07E-08	1,99E-05
90	3,16E-12	2,85E-06	3,23E-08	1,89E-05
100	3,19E-12	2,85E-06	3,39E-08	1,79E-05
110	3,24E-12	2,84E-06	3,54E-08	1,69E-05
120	3,29E-12	2,82E-06	3,70E-08	1,60E-05
130	3,35E-12	2,78E-06	3,85E-08	1,52E-05
140	3,41E-12	2,75E-06	4,01E-08	1,44E-05
150	3,48E-12	2,71E-06	4,16E-08	1,36E-05
160	3,56E-12	2,66E-06	4,32E-08	1,29E-05

170	2,46E-11	1,22E-06	2,49E-07	3,03E-06
180	2,69E-11	1,12E-06	2,54E-07	2,80E-06
190	2,95E-11	1,02E-06	2,60E-07	2,58E-06
200	3,26E-11	9,29E-07	2,65E-07	2,37E-06
210	3,61E-11	8,40E-07	2,70E-07	2,18E-06
220	4,01E-11	7,57E-07	2,76E-07	1,99E-06
230	4,48E-11	6,79E-07	2,81E-07	1,81E-06
240	5,03E-11	6,07E-07	2,86E-07	1,64E-06
250	5,67E-11	5,40E-07	2,91E-07	1,47E-06
260	6,42E-11	4,78E-07	2,96E-07	1,32E-06
270	7,30E-11	4,21E-07	3,01E-07	1,17E-06
280	8,33E-11	3,69E-07	3,06E-07	1,04E-06
290	9,55E-11	3,23E-07	3,10E-07	9,15E-07
300	1,10E-10	2,81E-07	3,14E-07	8,02E-07
310	1,27E-10	2,44E-07	3,18E-07	7,00E-07
320	1,47E-10	2,11E-07	3,22E-07	6,08E-07
330	1,71E-10	1,82E-07	3,25E-07	5,25E-07
340	1,98E-10	1,57E-07	3,29E-07	4,53E-07
350	2,31E-10	1,35E-07	3,31E-07	3,89E-07
360	2,70E-10	1,16E-07	3,34E-07	3,33E-07
370	3,15E-10	9,94E-08	3,37E-07	2,84E-07
380	3,68E-10	8,54E-08	3,39E-07	2,42E-07
390	4,29E-10	7,36E-08	3,42E-07	2,06E-07
400	4,99E-10	6,35E-08	3,45E-07	1,74E-07
410	5,79E-10	5,51E-08	3,48E-07	1,47E-07
420	6,69E-10	4,80E-08	3,51E-07	1,24E-07
430	7,70E-10	4,21E-08	3,55E-07	1,04E-07
440	8,80E-10	3,72E-08	3,59E-07	8,77E-08
450	9,99E-10	3,31E-08	3,64E-07	7,34E-08
460	1,13E-09	2,97E-08	3,69E-07	6,13E-08
470	1,26E-09	2,69E-08	3,74E-07	5,10E-08
480	1,40E-09	2,45E-08	3,79E-07	4,23E-08
490	1,54E-09	2,26E-08	3,85E-07	3,50E-08
500	1,69E-09	2,09E-08	3,90E-07	2,89E-08
510	1,83E-09	1,96E-08	3,95E-07	2,38E-08
520	1,97E-09	1,84E-08	4,00E-07	1,95E-08
530	2,10E-09	1,74E-08	4,05E-07	1,60E-08
540	2,22E-09	1,66E-08	4,09E-07	1,31E-08
550	2,34E-09	1,59E-08	4,13E-07	1,06E-08
560	2,45E-09	1,54E-08	4,17E-07	8,66E-09
570	2,54E-09	1,49E-08	4,20E-07	7,03E-09
580	2,63E-09	1,45E-08	4,23E-07	5,70E-09
590	2,70E-09	1,42E-08	4,25E-07	4,61E-09
600	2,77E-09	1,39E-08	4,27E-07	3,73E-09

170	3,63E-12	2,62E-06	4,48E-08	1,22E-05
180	3,71E-12	2,57E-06	4,64E-08	1,15E-05
190	3,80E-12	2,52E-06	4,81E-08	1,09E-05
200	3,89E-12	2,47E-06	4,97E-08	1,03E-05
210	3,98E-12	2,42E-06	5,13E-08	9,73E-06
220	4,07E-12	2,37E-06	5,29E-08	9,21E-06
230	4,17E-12	2,33E-06	5,45E-08	8,73E-06
240	4,26E-12	2,28E-06	5,61E-08	8,27E-06
250	4,37E-12	2,23E-06	5,77E-08	7,84E-06
260	4,47E-12	2,18E-06	5,93E-08	7,45E-06
270	4,58E-12	2,14E-06	6,08E-08	7,08E-06
280	4,69E-12	2,09E-06	6,23E-08	6,73E-06
290	4,80E-12	2,05E-06	6,37E-08	6,41E-06
300	4,92E-12	2,00E-06	6,51E-08	6,12E-06
310	5,04E-12	1,96E-06	6,65E-08	5,84E-06
320	5,17E-12	1,92E-06	6,78E-08	5,58E-06
330	5,30E-12	1,87E-06	6,91E-08	5,35E-06
340	5,43E-12	1,83E-06	7,03E-08	5,13E-06
350	5,57E-12	1,79E-06	7,15E-08	4,92E-06
360	5,71E-12	1,75E-06	7,26E-08	4,73E-06
370	5,85E-12	1,71E-06	7,37E-08	4,56E-06
380	6,01E-12	1,67E-06	7,47E-08	4,39E-06
390	6,16E-12	1,63E-06	7,57E-08	4,24E-06
400	6,33E-12	1,59E-06	7,67E-08	4,10E-06
410	6,50E-12	1,55E-06	7,76E-08	3,96E-06
420	6,68E-12	1,51E-06	7,85E-08	3,84E-06
430	6,86E-12	1,47E-06	7,93E-08	3,72E-06
440	7,05E-12	1,43E-06	8,01E-08	3,61E-06
450	7,25E-12	1,40E-06	8,09E-08	3,50E-06
460	7,46E-12	1,36E-06	8,17E-08	3,40E-06
470	7,67E-12	1,32E-06	8,24E-08	3,30E-06
480	7,90E-12	1,29E-06	8,31E-08	3,21E-06
490	8,13E-12	1,25E-06	8,38E-08	3,12E-06
500	8,38E-12	1,21E-06	8,45E-08	3,04E-06
510	8,64E-12	1,18E-06	8,52E-08	2,95E-06
520	8,91E-12	1,15E-06	8,58E-08	2,87E-06
530	9,19E-12	1,11E-06	8,65E-08	2,80E-06
540	9,48E-12	1,08E-06	8,71E-08	2,72E-06
550	9,79E-12	1,05E-06	8,78E-08	2,65E-06
560	1,01E-11	1,01E-06	8,84E-08	2,57E-06
570	1,04E-11	9,81E-07	8,90E-08	2,50E-06
580	1,08E-11	9,50E-07	8,97E-08	2,43E-06
590	1,12E-11	9,19E-07	9,03E-08	2,36E-06
600	1,16E-11	8,89E-07	9,09E-08	2,29E-06

SOD 100 Flujos equimolares aumentados				
# Time	O2-	NO	ONOO	SOD
0	0	0	0	1,00E-04
10	3,73E-12	3,47E-06	1,23E-08	9,53E-05
20	3,29E-12	5,39E-06	1,77E-08	9,08E-05
30	3,09E-12	6,59E-06	2,13E-08	8,65E-05
40	2,98E-12	7,37E-06	2,40E-08	8,24E-05
50	2,93E-12	7,87E-06	2,63E-08	7,83E-05
60	2,91E-12	8,16E-06	2,84E-08	7,45E-05
70	2,92E-12	8,32E-06	3,05E-08	7,07E-05
80	2,95E-12	8,37E-06	3,24E-08	6,70E-05
90	2,99E-12	8,34E-06	3,44E-08	6,35E-05
100	3,05E-12	8,26E-06	3,64E-08	6,01E-05
110	3,11E-12	8,14E-06	3,85E-08	5,68E-05
120	3,18E-12	8,00E-06	4,07E-08	5,36E-05
130	3,26E-12	7,84E-06	4,29E-08	5,05E-05
140	3,35E-12	7,66E-06	4,53E-08	4,75E-05
150	3,44E-12	7,48E-06	4,79E-08	4,47E-05
160	3,54E-12	7,29E-06	5,05E-08	4,20E-05
170	3,64E-12	7,10E-06	5,34E-08	3,93E-05
180	3,75E-12	6,92E-06	5,64E-08	3,69E-05
190	3,86E-12	6,73E-06	5,97E-08	3,45E-05
200	3,98E-12	6,55E-06	6,31E-08	3,22E-05
210	4,10E-12	6,37E-06	6,68E-08	3,01E-05
220	4,24E-12	6,19E-06	7,07E-08	2,80E-05
230	4,37E-12	6,02E-06	7,48E-08	2,61E-05
240	4,52E-12	5,85E-06	7,92E-08	2,43E-05
250	4,67E-12	5,68E-06	8,37E-08	2,26E-05
260	4,83E-12	5,51E-06	8,86E-08	2,10E-05
270	4,99E-12	5,35E-06	9,36E-08	1,95E-05
280	5,17E-12	5,19E-06	9,88E-08	1,81E-05
290	5,36E-12	5,03E-06	1,04E-07	1,68E-05
300	5,55E-12	4,88E-06	1,10E-07	1,56E-05
310	5,76E-12	4,72E-06	1,15E-07	1,45E-05
320	5,98E-12	4,57E-06	1,21E-07	1,35E-05
330	6,21E-12	4,43E-06	1,27E-07	1,25E-05
340	6,45E-12	4,28E-06	1,33E-07	1,17E-05
350	6,71E-12	4,13E-06	1,39E-07	1,09E-05
360	6,98E-12	3,99E-06	1,45E-07	1,02E-05
370	7,28E-12	3,84E-06	1,51E-07	9,53E-06
380	7,59E-12	3,70E-06	1,56E-07	8,94E-06
390	7,93E-12	3,56E-06	1,62E-07	8,40E-06

SOD 100 Flujos equimolares fisiologicos				
# Time	O2-	NO	ONOO	SOD
0	0	0	0	1,00E-04
10	1,48E-12	1,47E-06	2,01E-09	9,83E-05
20	1,35E-12	2,60E-06	3,32E-09	9,67E-05
30	1,27E-12	3,51E-06	4,25E-09	9,52E-05
40	1,20E-12	4,26E-06	4,98E-09	9,36E-05
50	1,15E-12	4,89E-06	5,58E-09	9,21E-05
60	1,12E-12	5,41E-06	6,08E-09	9,06E-05
70	1,09E-12	5,86E-06	6,51E-09	8,91E-05
80	1,07E-12	6,24E-06	6,90E-09	8,77E-05
90	1,05E-12	6,56E-06	7,24E-09	8,62E-05
100	1,04E-12	6,83E-06	7,56E-09	8,48E-05
110	1,03E-12	7,06E-06	7,85E-09	8,34E-05
120	1,02E-12	7,25E-06	8,12E-09	8,20E-05
130	1,02E-12	7,40E-06	8,38E-09	8,06E-05
140	1,01E-12	7,53E-06	8,63E-09	7,93E-05
150	1,01E-12	7,63E-06	8,86E-09	7,79E-05
160	1,01E-12	7,71E-06	9,08E-09	7,66E-05
170	1,01E-12	7,76E-06	9,30E-09	7,53E-05
180	1,01E-12	7,80E-06	9,51E-09	7,40E-05
190	1,01E-12	7,83E-06	9,72E-09	7,27E-05
200	1,02E-12	7,84E-06	9,92E-09	7,15E-05
210	1,02E-12	7,84E-06	1,01E-08	7,02E-05
220	1,03E-12	7,83E-06	1,03E-08	6,90E-05
230	1,03E-12	7,81E-06	1,05E-08	6,77E-05
240	1,04E-12	7,78E-06	1,07E-08	6,65E-05
250	1,05E-12	7,75E-06	1,09E-08	6,53E-05
260	1,05E-12	7,71E-06	1,11E-08	6,41E-05
270	1,06E-12	7,66E-06	1,13E-08	6,30E-05
280	1,07E-12	7,62E-06	1,15E-08	6,18E-05
290	1,08E-12	7,57E-06	1,17E-08	6,07E-05
300	1,09E-12	7,51E-06	1,19E-08	5,96E-05
310	1,09E-12	7,46E-06	1,21E-08	5,84E-05
320	1,10E-12	7,40E-06	1,23E-08	5,73E-05
330	1,11E-12	7,34E-06	1,25E-08	5,63E-05
340	1,12E-12	7,28E-06	1,27E-08	5,52E-05
350	1,13E-12	7,22E-06	1,29E-08	5,41E-05
360	1,14E-12	7,16E-06	1,32E-08	5,31E-05
370	1,15E-12	7,10E-06	1,34E-08	5,21E-05
380	1,16E-12	7,04E-06	1,36E-08	5,11E-05
390	1,17E-12	6,98E-06	1,39E-08	5,01E-05

400	8,29E-12	3,42E-06	1,67E-07	7,91E-06
410	8,68E-12	3,28E-06	1,72E-07	7,46E-06
420	9,10E-12	3,14E-06	1,78E-07	7,05E-06
430	9,55E-12	3,00E-06	1,83E-07	6,68E-06
440	1,00E-11	2,87E-06	1,87E-07	6,33E-06
450	1,06E-11	2,73E-06	1,92E-07	6,00E-06
460	1,12E-11	2,60E-06	1,97E-07	5,70E-06
470	1,18E-11	2,46E-06	2,01E-07	5,41E-06
480	1,25E-11	2,33E-06	2,06E-07	5,14E-06
490	1,33E-11	2,20E-06	2,10E-07	4,88E-06
500	1,42E-11	2,07E-06	2,15E-07	4,64E-06
510	1,51E-11	1,95E-06	2,19E-07	4,40E-06
520	1,62E-11	1,83E-06	2,24E-07	4,16E-06
530	1,74E-11	1,70E-06	2,28E-07	3,93E-06
540	1,87E-11	1,59E-06	2,33E-07	3,71E-06
550	2,02E-11	1,47E-06	2,38E-07	3,49E-06
560	2,19E-11	1,36E-06	2,43E-07	3,27E-06
570	2,38E-11	1,26E-06	2,48E-07	3,06E-06
580	2,60E-11	1,15E-06	2,53E-07	2,85E-06
590	2,85E-11	1,06E-06	2,58E-07	2,65E-06
600	3,14E-11	9,61E-07	2,63E-07	2,45E-06

400	1,18E-12	6,92E-06	1,41E-08	4,91E-05
410	1,19E-12	6,86E-06	1,43E-08	4,81E-05
420	1,21E-12	6,80E-06	1,46E-08	4,72E-05
430	1,22E-12	6,74E-06	1,48E-08	4,62E-05
440	1,23E-12	6,68E-06	1,51E-08	4,53E-05
450	1,24E-12	6,63E-06	1,54E-08	4,44E-05
460	1,25E-12	6,57E-06	1,56E-08	4,35E-05
470	1,26E-12	6,51E-06	1,59E-08	4,26E-05
480	1,27E-12	6,46E-06	1,62E-08	4,18E-05
490	1,29E-12	6,40E-06	1,65E-08	4,09E-05
500	1,30E-12	6,35E-06	1,68E-08	4,01E-05
510	1,31E-12	6,29E-06	1,71E-08	3,92E-05
520	1,32E-12	6,24E-06	1,74E-08	3,84E-05
530	1,33E-12	6,19E-06	1,77E-08	3,76E-05
540	1,35E-12	6,13E-06	1,80E-08	3,68E-05
550	1,36E-12	6,08E-06	1,83E-08	3,61E-05
560	1,37E-12	6,03E-06	1,87E-08	3,53E-05
570	1,39E-12	5,98E-06	1,90E-08	3,46E-05
580	1,40E-12	5,93E-06	1,94E-08	3,38E-05
590	1,41E-12	5,88E-06	1,97E-08	3,31E-05
600	1,43E-12	5,83E-06	2,01E-08	3,24E-05

SOD 10 Flujos equimolares patologicos

# Time	O2-	NO	ONOO	SOD
0	0	0	0	1,00E-05
10	9,95E-11	1,03E-06	8,01E-07	3,46E-06
20	1,45E-10	7,16E-07	9,39E-07	1,92E-06
30	2,18E-10	4,80E-07	1,00E-06	1,31E-06
40	3,42E-10	3,09E-07	1,06E-06	8,63E-07
50	5,54E-10	1,92E-07	1,10E-06	5,38E-07
60	9,10E-10	1,18E-07	1,15E-06	3,20E-07
70	1,46E-09	7,57E-08	1,19E-06	1,84E-07
80	2,21E-09	5,20E-08	1,25E-06	1,01E-07
90	3,07E-09	3,91E-08	1,31E-06	5,41E-08
100	3,92E-09	3,18E-08	1,37E-06	2,79E-08
110	4,62E-09	2,78E-08	1,42E-06	1,40E-08
120	5,11E-09	2,57E-08	1,45E-06	6,86E-09
130	5,40E-09	2,45E-08	1,46E-06	3,33E-09
140	5,55E-09	2,40E-08	1,47E-06	1,61E-09
150	5,64E-09	2,37E-08	1,48E-06	7,71E-10
160	5,67E-09	2,35E-08	1,48E-06	3,70E-10
170	5,69E-09	2,35E-08	1,48E-06	1,77E-10
180	5,70E-09	2,34E-08	1,48E-06	8,50E-11
190	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	4,07E-11
200	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	1,95E-11
210	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	9,34E-12
220	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	4,47E-12
230	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	2,14E-12
240	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	1,03E-12
250	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	4,92E-13
260	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	2,35E-13
270	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	1,13E-13
280	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	5,40E-14
290	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	2,59E-14
300	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	1,24E-14
310	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	5,93E-15
320	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	2,84E-15
330	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	1,36E-15
340	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	6,52E-16
350	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	3,15E-16
360	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	1,53E-16
370	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	7,20E-17
380	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	3,27E-17
390	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	1,63E-17
400	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	9,77E-18
410	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	6,17E-18
420	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	3,61E-18
430	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	2,10E-18
440	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	1,28E-18
450	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	7,10E-19
460	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	4,20E-19
470	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	2,53E-19
480	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	1,40E-19
490	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	7,39E-20
500	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	2,70E-20
510	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	4,30E-21
520	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	-1,07E-20
530	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	-1,12E-20
540	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	-8,97E-21
550	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	-4,44E-21
560	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	-1,27E-21
570	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	1,91E-21
580	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	3,67E-21
590	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	3,02E-21
600	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	2,41E-21

SOD 10 Flujos no equimolares NO alto

# Time	O2-	NO	ONOO	SOD
0	0	0	0	1,00E-05
10	1,10E-12	1,46E-05	8,79E-08	9,04E-06
20	5,77E-13	2,86E-05	9,57E-08	8,18E-06
30	3,92E-13	4,26E-05	1,02E-07	7,38E-06
40	2,97E-13	5,65E-05	1,07E-07	6,62E-06
50	2,39E-13	7,04E-05	1,13E-07	5,92E-06
60	2,01E-13	8,42E-05	1,18E-07	5,27E-06
70	1,73E-13	9,80E-05	1,23E-07	4,66E-06
80	1,51E-13	1,12E-04	1,29E-07	4,10E-06
90	1,35E-13	1,26E-04	1,34E-07	3,59E-06
100	1,22E-13	1,40E-04	1,39E-07	3,13E-06
110	1,11E-13	1,53E-04	1,44E-07	2,71E-06
120	1,01E-13	1,68E-04	1,49E-07	2,34E-06
130	9,35E-14	1,82E-04	1,54E-07	2,01E-06
140	8,68E-14	1,96E-04	1,58E-07	1,72E-06
150	8,09E-14	2,10E-04	1,62E-07	1,46E-06
160	7,58E-14	2,24E-04	1,65E-07	1,24E-06
170	7,13E-14	2,38E-04	1,69E-07	1,05E-06
180	6,73E-14	2,53E-04	1,72E-07	8,86E-07
190	6,37E-14	2,67E-04	1,74E-07	7,45E-07
200	6,05E-14	2,81E-04	1,76E-07	6,25E-07
210	5,76E-14	2,95E-04	1,78E-07	5,24E-07
220	5,49E-14	3,09E-04	1,80E-07	4,38E-07
230	5,25E-14	3,24E-04	1,81E-07	3,65E-07
240	5,03E-14	3,38E-04	1,82E-07	3,05E-07
250	4,83E-14	3,52E-04	1,84E-07	2,54E-07
260	4,64E-14	3,66E-04	1,84E-07	2,11E-07
270	4,46E-14	3,81E-04	1,85E-07	1,76E-07
280	4,30E-14	3,95E-04	1,86E-07	1,46E-07
290	4,15E-14	4,09E-04	1,86E-07	1,21E-07
300	4,01E-14	4,24E-04	1,87E-07	1,01E-07
310	3,88E-14	4,38E-04	1,87E-07	8,39E-08
320	3,76E-14	4,52E-04	1,87E-07	6,97E-08
330	3,64E-14	4,66E-04	1,88E-07	5,79E-08
340	3,54E-14	4,81E-04	1,88E-07	4,82E-08
350	3,43E-14	4,95E-04	1,88E-07	4,00E-08
360	3,34E-14	5,09E-04	1,88E-07	3,33E-08
370	3,25E-14	5,23E-04	1,88E-07	2,77E-08
380	3,16E-14	5,38E-04	1,88E-07	2,31E-08
390	3,08E-14	5,52E-04	1,88E-07	1,93E-08
400	3,00E-14	5,66E-04	1,88E-07	1,61E-08
410	2,93E-14	5,81E-04	1,89E-07	1,34E-08
420	2,86E-14	5,95E-04	1,89E-07	1,13E-08
430	2,79E-14	6,09E-04	1,89E-07	9,44E-09
440	2,73E-14	6,23E-04	1,89E-07	7,94E-09
450	2,67E-14	6,38E-04	1,89E-07	6,69E-09
460	2,61E-14	6,52E-04	1,89E-07	5,65E-09
470	2,55E-14	6,66E-04	1,89E-07	4,79E-09
480	2,50E-14	6,81E-04	1,89E-07	4,07E-09
490	2,45E-14	6,95E-04	1,89E-07	3,48E-09
500	2,40E-14	7,09E-04	1,89E-07	2,99E-09
510	2,35E-14	7,23E-04	1,89E-07	2,57E-09
520	2,30E-14	7,38E-04	1,89E-07	2,23E-09
530	2,26E-14	7,52E-04	1,89E-07	1,95E-09
540	2,22E-14	7,66E-04	1,89E-07	1,71E-09
550	2,18E-14	7,81E-04	1,89E-07	1,51E-09
560	2,14E-14	7,95E-04	1,89E-07	1,34E-09
570	2,10E-14	8,09E-04	1,89E-07	1,20E-09
580	2,06E-14	8,23E-04	1,89E-07	1,09E-09
590	2,03E-14	8,38E-04	1,89E-07	9,87E-10
600	2,00E-14	8,52E-04	1,89E-07	9,04E-10

SOD 30 Flujos equimolares patologicos

# Time	O2-	NO	ONOO	SOD
0	0	0	0	3,00E-05
10	3,14E-11	2,93E-06	3,34E-07	1,81E-05
20	3,80E-11	2,55E-06	4,90E-07	1,04E-05
30	4,81E-11	2,07E-06	6,44E-07	6,21E-06
40	6,20E-11	1,63E-06	7,61E-07	4,14E-06
50	8,21E-11	1,25E-06	8,39E-07	3,07E-06
60	1,13E-10	9,11E-07	9,02E-07	2,33E-06
70	1,63E-10	6,37E-07	9,62E-07	1,70E-06
80	2,47E-10	4,23E-07	1,02E-06	1,17E-06
90	3,92E-10	2,69E-07	1,07E-06	7,59E-07
100	6,39E-10	1,67E-07	1,12E-06	4,67E-07
110	1,05E-09	1,03E-07	1,16E-06	2,75E-07
120	1,65E-09	6,74E-08	1,21E-06	1,56E-07
130	2,45E-09	4,75E-08	1,27E-06	8,52E-08
140	3,32E-09	3,65E-08	1,33E-06	4,50E-08
150	4,14E-09	3,04E-08	1,39E-06	2,30E-08
160	4,78E-09	2,71E-08	1,43E-06	1,14E-08

SOD 30 Flujos no equimolares NO alto

# Time	O2-	NO	ONOO	SOD
0	0	0	0	3,00E-05
10	9,53E-13	1,49E-05	3,76E-08	2,86E-05
20	5,34E-13	2,90E-05	4,26E-08	2,73E-05
30	3,73E-13	4,29E-05	4,56E-08	2,60E-05
40	2,87E-13	5,66E-05	4,81E-08	2,47E-05
50	2,34E-13	7,01E-05	5,05E-08	2,35E-05
60	1,98E-13	8,35E-05	5,28E-08	2,22E-05
70	1,72E-13	9,67E-05	5,52E-08	2,10E-05
80	1,52E-13	1,10E-04	5,77E-08	1,99E-05
90	1,36E-13	1,23E-04	6,03E-08	1,87E-05
100	1,23E-13	1,36E-04	6,30E-08	1,76E-05
110	1,12E-13	1,50E-04	6,59E-08	1,64E-05
120	1,03E-13	1,63E-04	6,90E-08	1,53E-05
130	9,52E-14	1,77E-04	7,22E-08	1,43E-05
140	8,84E-14	1,91E-04	7,56E-08	1,33E-05
150	8,25E-14	2,05E-04	7,92E-08	1,23E-05
160	7,74E-14	2,19E-04	8,30E-08	1,13E-05

170	5,21E-09	2,52E-08	1,45E-06	5,59E-09
180	5,45E-09	2,43E-08	1,47E-06	2,71E-09
190	5,58E-09	2,39E-08	1,47E-06	1,30E-09
200	5,65E-09	2,36E-08	1,48E-06	6,26E-10
210	5,68E-09	2,35E-08	1,48E-06	3,00E-10
220	5,70E-09	2,35E-08	1,48E-06	1,44E-10
230	5,70E-09	2,34E-08	1,48E-06	6,89E-11
240	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	3,30E-11
250	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	1,58E-11
260	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	7,57E-12
270	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	3,62E-12
280	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	1,74E-12
290	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	8,31E-13
300	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	3,98E-13
310	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	1,91E-13
320	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	9,13E-14
330	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	4,37E-14
340	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	2,10E-14
350	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	1,00E-14
360	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	4,82E-15
370	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	2,32E-15
380	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	1,11E-15
390	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	5,34E-16
400	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	2,57E-16
410	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	1,23E-16
420	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	5,74E-17
430	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	2,60E-17
440	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	1,31E-17
450	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	8,00E-18
460	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	4,99E-18
470	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	2,88E-18
480	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	1,66E-18
490	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	8,97E-19
500	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	4,73E-19
510	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	2,58E-19
520	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	1,50E-19
530	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	9,16E-20
540	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	5,87E-20
550	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	2,45E-20
560	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	-3,93E-20
570	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	-1,09E-19
580	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	-1,06E-19
590	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	-1,47E-19
600	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	-1,47E-19

170	7,28E-14	2,32E-04	8,71E-08	1,04E-05
180	6,87E-14	2,46E-04	9,13E-08	9,48E-06
190	6,51E-14	2,60E-04	9,58E-08	8,63E-06
200	6,18E-14	2,74E-04	1,00E-07	7,82E-06
210	5,88E-14	2,88E-04	1,05E-07	7,05E-06
220	5,61E-14	3,02E-04	1,10E-07	6,33E-06
230	5,37E-14	3,16E-04	1,15E-07	5,65E-06
240	5,14E-14	3,30E-04	1,21E-07	5,02E-06
250	4,93E-14	3,44E-04	1,26E-07	4,44E-06
260	4,74E-14	3,58E-04	1,31E-07	3,90E-06
270	4,56E-14	3,72E-04	1,36E-07	3,41E-06
280	4,39E-14	3,86E-04	1,41E-07	2,97E-06
290	4,24E-14	4,01E-04	1,46E-07	2,57E-06
300	4,10E-14	4,15E-04	1,51E-07	2,21E-06
310	3,96E-14	4,29E-04	1,55E-07	1,90E-06
320	3,83E-14	4,43E-04	1,60E-07	1,62E-06
330	3,72E-14	4,57E-04	1,63E-07	1,38E-06
340	3,60E-14	4,71E-04	1,67E-07	1,17E-06
350	3,50E-14	4,86E-04	1,70E-07	9,89E-07
360	3,40E-14	5,00E-04	1,72E-07	8,34E-07
370	3,31E-14	5,14E-04	1,75E-07	7,01E-07
380	3,22E-14	5,28E-04	1,77E-07	5,88E-07
390	3,13E-14	5,43E-04	1,79E-07	4,92E-07
400	3,05E-14	5,57E-04	1,80E-07	4,12E-07
410	2,98E-14	5,71E-04	1,82E-07	3,44E-07
420	2,90E-14	5,85E-04	1,83E-07	2,87E-07
430	2,83E-14	6,00E-04	1,84E-07	2,39E-07
440	2,77E-14	6,14E-04	1,85E-07	1,99E-07
450	2,71E-14	6,28E-04	1,85E-07	1,66E-07
460	2,65E-14	6,42E-04	1,86E-07	1,38E-07
470	2,59E-14	6,57E-04	1,86E-07	1,15E-07
480	2,53E-14	6,71E-04	1,87E-07	9,55E-08
490	2,48E-14	6,85E-04	1,87E-07	7,95E-08
500	2,43E-14	6,99E-04	1,87E-07	6,62E-08
510	2,38E-14	7,14E-04	1,88E-07	5,52E-08
520	2,33E-14	7,28E-04	1,88E-07	4,60E-08
530	2,29E-14	7,42E-04	1,88E-07	3,84E-08
540	2,25E-14	7,57E-04	1,88E-07	3,21E-08
550	2,21E-14	7,71E-04	1,88E-07	2,68E-08
560	2,17E-14	7,85E-04	1,88E-07	2,25E-08
570	2,13E-14	7,99E-04	1,88E-07	1,89E-08
580	2,09E-14	8,14E-04	1,88E-07	1,59E-08
590	2,05E-14	8,28E-04	1,89E-07	1,34E-08
600	2,02E-14	8,42E-04	1,89E-07	1,13E-08

SOD 100 Flujos equimolares patologicos

# Time	O2-	NO	ONOO	SOD
0	0	0	0	1,00E-04
10	1,03E-11	7,01E-06	7,63E-08	8,49E-05
20	9,80E-12	8,50E-06	1,03E-07	7,15E-05
30	1,02E-11	8,59E-06	1,28E-07	5,94E-05
40	1,10E-11	8,16E-06	1,55E-07	4,86E-05
50	1,20E-11	7,53E-06	1,88E-07	3,91E-05
60	1,34E-11	6,85E-06	2,28E-07	3,10E-05
70	1,50E-11	6,19E-06	2,77E-07	2,41E-05
80	1,69E-11	5,55E-06	3,36E-07	1,86E-05
90	1,92E-11	4,95E-06	4,03E-07	1,43E-05
100	2,19E-11	4,38E-06	4,73E-07	1,11E-05
110	2,53E-11	3,84E-06	5,41E-07	8,80E-06
120	2,96E-11	3,32E-06	6,03E-07	7,16E-06
130	3,52E-11	2,82E-06	6,58E-07	5,96E-06
140	4,27E-11	2,34E-06	7,08E-07	5,02E-06
150	5,32E-11	1,90E-06	7,57E-07	4,22E-06
160	6,84E-11	1,49E-06	8,08E-07	3,48E-06
170	9,13E-11	1,12E-06	8,63E-07	2,77E-06
180	1,28E-10	8,10E-07	9,22E-07	2,10E-06
190	1,87E-10	5,57E-07	9,82E-07	1,51E-06
200	2,88E-10	3,64E-07	1,04E-06	1,02E-06
210	4,61E-10	2,29E-07	1,09E-06	6,48E-07
220	7,56E-10	1,41E-07	1,13E-06	3,92E-07
230	1,23E-09	8,87E-08	1,17E-06	2,28E-07
240	1,91E-09	5,92E-08	1,23E-06	1,28E-07
250	2,74E-09	4,30E-08	1,29E-06	6,90E-08
260	3,61E-09	3,40E-08	1,35E-06	3,60E-08
270	4,38E-09	2,90E-08	1,40E-06	1,82E-08
280	4,95E-09	2,63E-08	1,44E-06	8,98E-09
290	5,31E-09	2,49E-08	1,46E-06	4,38E-09
300	5,51E-09	2,41E-08	1,47E-06	2,11E-09
310	5,61E-09	2,38E-08	1,48E-06	1,02E-09
320	5,66E-09	2,36E-08	1,48E-06	4,88E-10
330	5,69E-09	2,35E-08	1,48E-06	2,34E-10
340	5,70E-09	2,34E-08	1,48E-06	1,12E-10
350	5,70E-09	2,34E-08	1,48E-06	5,36E-11
360	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	2,57E-11
370	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	1,23E-11
380	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	5,89E-12
390	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	2,82E-12

SOD 100 Flujos no equimolares NO alto

# Time	O2-	NO	ONOO	SOD
0	0	0	0	1,00E-04
10	6,64E-13	1,56E-05	9,65E-09	9,84E-05
20	4,24E-13	3,02E-05	1,21E-08	9,68E-05
30	3,15E-13	4,43E-05	1,34E-08	9,52E-05
40	2,52E-13	5,80E-05	1,42E-08	9,37E-05
50	2,11E-13	7,11E-05	1,48E-08	9,21E-05
60	1,82E-13	8,39E-05	1,54E-08	9,05E-05
70	1,61E-13	9,63E-05	1,58E-08	8,90E-05
80	1,45E-13	1,09E-04	1,63E-08	8,74E-05
90	1,31E-13	1,21E-04	1,67E-08	8,59E-05
100	1,20E-13	1,33E-04	1,71E-08	8,44E-05
110	1,10E-13	1,46E-04	1,75E-08	8,28E-05
120	1,02E-13	1,59E-04	1,79E-08	8,13E-05
130	9,44E-14	1,72E-04	1,83E-08	7,98E-05
140	8,80E-14	1,85E-04	1,87E-08	7,82E-05
150	8,24E-14	1,98E-04	1,91E-08	7,67E-05
160	7,74E-14	2,12E-04	1,95E-08	7,52E-05
170	7,29E-14	2,25E-04	1,99E-08	7,37E-05
180	6,90E-14	2,39E-04	2,03E-08	7,22E-05
190	6,54E-14	2,52E-04	2,07E-08	7,06E-05
200	6,22E-14	2,66E-04	2,12E-08	6,91E-05
210	5,93E-14	2,80E-04	2,16E-08	6,76E-05
220	5,66E-14	2,93E-04	2,21E-08	6,61E-05
230	5,42E-14	3,07E-04	2,26E-08	6,46E-05
240	5,20E-14	3,20E-04	2,31E-08	6,32E-05
250	4,99E-14	3,34E-04	2,36E-08	6,17E-05
260	4,80E-14	3,48E-04	2,41E-08	6,02E-05
270	4,63E-14	3,61E-04	2,47E-08	5,87E-05
280	4,46E-14	3,75E-04	2,52E-08	5,72E-05
290	4,31E-14	3,89E-04	2,58E-08	5,58E-05
300	4,17E-14	4,02E-04	2,65E-08	5,43E-05
310	4,03E-14	4,16E-04	2,71E-08	5,29E-05
320	3,91E-14	4,30E-04	2,78E-08	5,14E-05
330	3,79E-14	4,43E-04	2,85E-08	5,00E-05
340	3,68E-14	4,57E-04	2,92E-08	4,85E-05
350	3,57E-14	4,71E-04	3,00E-08	4,71E-05
360	3,48E-14	4,84E-04	3,08E-08	4,57E-05
370	3,38E-14	4,98E-04	3,16E-08	4,43E-05
380	3,29E-14	5,12E-04	3,25E-08	4,29E-05
390	3,21E-14	5,25E-04	3,34E-08	4,15E-05

400	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	1,35E-12
410	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	6,47E-13
420	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	3,10E-13
430	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	1,48E-13
440	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	7,10E-14
450	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	3,40E-14
460	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	1,63E-14
470	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	7,84E-15
480	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	3,79E-15
490	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	1,90E-15
500	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	9,36E-16
510	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	4,12E-16
520	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	2,16E-16
530	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	1,13E-16
540	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	2,59E-17
550	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	-4,35E-18
560	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	8,41E-18
570	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	1,21E-17
580	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	9,83E-19
590	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	-5,37E-18
600	5,71E-09	2,34E-08	1,48E-06	-5,13E-18

400	3,13E-14	5,39E-04	3,43E-08	4,01E-05
410	3,05E-14	5,53E-04	3,54E-08	3,87E-05
420	2,98E-14	5,66E-04	3,64E-08	3,73E-05
430	2,91E-14	5,80E-04	3,75E-08	3,59E-05
440	2,84E-14	5,94E-04	3,87E-08	3,46E-05
450	2,78E-14	6,08E-04	4,00E-08	3,33E-05
460	2,72E-14	6,21E-04	4,13E-08	3,19E-05
470	2,66E-14	6,35E-04	4,27E-08	3,06E-05
480	2,61E-14	6,49E-04	4,41E-08	2,93E-05
490	2,55E-14	6,63E-04	4,57E-08	2,80E-05
500	2,50E-14	6,76E-04	4,73E-08	2,67E-05
510	2,45E-14	6,90E-04	4,91E-08	2,55E-05
520	2,41E-14	7,04E-04	5,09E-08	2,42E-05
530	2,36E-14	7,18E-04	5,29E-08	2,30E-05
540	2,32E-14	7,31E-04	5,50E-08	2,18E-05
550	2,27E-14	7,45E-04	5,72E-08	2,06E-05
560	2,23E-14	7,59E-04	5,95E-08	1,94E-05
570	2,19E-14	7,73E-04	6,21E-08	1,83E-05
580	2,16E-14	7,87E-04	6,47E-08	1,71E-05
590	2,12E-14	8,00E-04	6,76E-08	1,60E-05
600	2,08E-14	8,14E-04	7,06E-08	1,50E-05

SOD 10 Flujos no equimolares ONOO alto				
# Time	O2-	NO	ONOO	SOD
0	0	0	0	1,00E-05
10	1,66E-10	5,97E-08	7,03E-08	4,96E-06
20	1,72E-10	5,76E-08	7,26E-08	4,61E-06
30	1,78E-10	5,57E-08	7,37E-08	4,44E-06
40	1,85E-10	5,38E-08	7,47E-08	4,28E-06
50	1,92E-10	5,19E-08	7,58E-08	4,12E-06
60	1,99E-10	5,01E-08	7,69E-08	3,97E-06
70	2,07E-10	4,84E-08	7,80E-08	3,82E-06
80	2,15E-10	4,67E-08	7,91E-08	3,68E-06
90	2,24E-10	4,50E-08	8,02E-08	3,54E-06
100	2,33E-10	4,34E-08	8,13E-08	3,40E-06
110	2,43E-10	4,18E-08	8,24E-08	3,26E-06
120	2,53E-10	4,02E-08	8,36E-08	3,13E-06
130	2,63E-10	3,87E-08	8,47E-08	3,01E-06
140	2,75E-10	3,72E-08	8,59E-08	2,88E-06
150	2,87E-10	3,58E-08	8,70E-08	2,76E-06
160	2,99E-10	3,44E-08	8,82E-08	2,64E-06
170	3,13E-10	3,30E-08	8,94E-08	2,53E-06
180	3,27E-10	3,17E-08	9,05E-08	2,42E-06
190	3,42E-10	3,04E-08	9,17E-08	2,31E-06
200	3,58E-10	2,92E-08	9,29E-08	2,21E-06
210	3,75E-10	2,80E-08	9,41E-08	2,11E-06
220	3,92E-10	2,68E-08	9,54E-08	2,01E-06
230	4,11E-10	2,57E-08	9,66E-08	1,92E-06
240	4,32E-10	2,46E-08	9,79E-08	1,83E-06
250	4,53E-10	2,36E-08	9,91E-08	1,74E-06
260	4,76E-10	2,25E-08	1,00E-07	1,66E-06
270	5,00E-10	2,16E-08	1,02E-07	1,58E-06
280	5,26E-10	2,06E-08	1,03E-07	1,50E-06
290	5,53E-10	1,97E-08	1,04E-07	1,43E-06
300	5,82E-10	1,88E-08	1,06E-07	1,35E-06
310	6,13E-10	1,80E-08	1,07E-07	1,28E-06
320	6,47E-10	1,72E-08	1,09E-07	1,22E-06
330	6,82E-10	1,64E-08	1,10E-07	1,15E-06
340	7,20E-10	1,57E-08	1,12E-07	1,09E-06
350	7,61E-10	1,50E-08	1,13E-07	1,03E-06
360	8,04E-10	1,43E-08	1,15E-07	9,75E-07
370	8,50E-10	1,36E-08	1,16E-07	9,20E-07
380	9,00E-10	1,30E-08	1,18E-07	8,68E-07
390	9,54E-10	1,24E-08	1,20E-07	8,18E-07
400	1,01E-09	1,18E-08	1,22E-07	7,70E-07
410	1,07E-09	1,12E-08	1,24E-07	7,25E-07
420	1,14E-09	1,07E-08	1,25E-07	6,81E-07
430	1,21E-09	1,02E-08	1,27E-07	6,40E-07
440	1,29E-09	9,67E-09	1,29E-07	6,00E-07
450	1,37E-09	9,19E-09	1,32E-07	5,62E-07
460	1,46E-09	8,73E-09	1,34E-07	5,27E-07
470	1,56E-09	8,29E-09	1,36E-07	4,92E-07
480	1,67E-09	7,87E-09	1,38E-07	4,60E-07
490	1,78E-09	7,46E-09	1,41E-07	4,29E-07
500	1,91E-09	7,07E-09	1,43E-07	4,00E-07
510	2,04E-09	6,69E-09	1,45E-07	3,72E-07
520	2,19E-09	6,32E-09	1,48E-07	3,46E-07
530	2,35E-09	5,97E-09	1,50E-07	3,21E-07
540	2,53E-09	5,63E-09	1,53E-07	2,98E-07
550	2,72E-09	5,30E-09	1,55E-07	2,76E-07
560	2,93E-09	4,99E-09	1,58E-07	2,55E-07
570	3,16E-09	4,69E-09	1,60E-07	2,36E-07
580	3,41E-09	4,39E-09	1,62E-07	2,17E-07
590	3,69E-09	4,11E-09	1,65E-07	2,00E-07
600	4,00E-09	3,84E-09	1,67E-07	1,84E-07

SOD 30 Flujos no equimolares ONOO alto				
# Time	O2-	NO	ONOO	SOD
0	0	0	0	3,00E-05
10	5,47E-11	1,67E-07	3,17E-08	1,96E-05
20	5,58E-11	1,65E-07	3,69E-08	1,58E-05
30	5,69E-11	1,62E-07	3,94E-08	1,44E-05
40	5,80E-11	1,60E-07	4,06E-08	1,38E-05
50	5,92E-11	1,57E-07	4,14E-08	1,34E-05
60	6,05E-11	1,54E-07	4,20E-08	1,31E-05
70	6,17E-11	1,51E-07	4,26E-08	1,28E-05
80	6,30E-11	1,48E-07	4,32E-08	1,25E-05
90	6,44E-11	1,45E-07	4,38E-08	1,23E-05
100	6,58E-11	1,42E-07	4,44E-08	1,20E-05
110	6,73E-11	1,39E-07	4,50E-08	1,17E-05
120	6,88E-11	1,36E-07	4,56E-08	1,15E-05
130	7,03E-11	1,33E-07	4,62E-08	1,12E-05
140	7,20E-11	1,30E-07	4,69E-08	1,10E-05
150	7,36E-11	1,27E-07	4,75E-08	1,07E-05
160	7,54E-11	1,25E-07	4,82E-08	1,05E-05

170	7,72E-11	1,22E-07	4,89E-08	1,02E-05
180	7,91E-11	1,19E-07	4,96E-08	9,99E-06
190	8,10E-11	1,16E-07	5,03E-08	9,75E-06
200	8,31E-11	1,14E-07	5,10E-08	9,51E-06
210	8,52E-11	1,11E-07	5,17E-08	9,27E-06
220	8,74E-11	1,08E-07	5,25E-08	9,04E-06
230	8,97E-11	1,06E-07	5,33E-08	8,81E-06
240	9,21E-11	1,03E-07	5,40E-08	8,58E-06
250	9,46E-11	1,01E-07	5,48E-08	8,36E-06
260	9,72E-11	9,82E-08	5,56E-08	8,13E-06
270	9,99E-11	9,57E-08	5,64E-08	7,91E-06
280	1,03E-10	9,32E-08	5,73E-08	7,70E-06
290	1,06E-10	9,07E-08	5,81E-08	7,48E-06
300	1,09E-10	8,83E-08	5,90E-08	7,27E-06
310	1,12E-10	8,59E-08	5,99E-08	7,06E-06
320	1,15E-10	8,36E-08	6,07E-08	6,86E-06
330	1,19E-10	8,13E-08	6,16E-08	6,65E-06
340	1,23E-10	7,90E-08	6,25E-08	6,45E-06
350	1,26E-10	7,67E-08	6,35E-08	6,26E-06
360	1,30E-10	7,45E-08	6,44E-08	6,06E-06
370	1,35E-10	7,23E-08	6,54E-08	5,87E-06
380	1,39E-10	7,01E-08	6,63E-08	5,69E-06
390	1,44E-10	6,80E-08	6,73E-08	5,50E-06
400	1,49E-10	6,59E-08	6,83E-08	5,32E-06
410	1,54E-10	6,39E-08	6,93E-08	5,15E-06
420	1,59E-10	6,18E-08	7,03E-08	4,97E-06
430	1,65E-10	5,99E-08	7,14E-08	4,80E-06
440	1,71E-10	5,79E-08	7,24E-08	4,64E-06
450	1,77E-10	5,60E-08	7,34E-08	4,47E-06
460	1,84E-10	5,41E-08	7,45E-08	4,31E-06
470	1,90E-10	5,23E-08	7,56E-08	4,16E-06
480	1,98E-10	5,05E-08	7,66E-08	4,00E-06
490	2,05E-10	4,87E-08	7,77E-08	3,86E-06
500	2,13E-10	4,70E-08	7,88E-08	3,71E-06
510	2,22E-10	4,53E-08	7,99E-08	3,57E-06
520	2,31E-10	4,37E-08	8,11E-08	3,43E-06
530	2,40E-10	4,21E-08	8,22E-08	3,29E-06
540	2,50E-10	4,05E-08	8,33E-08	3,16E-06
550	2,61E-10	3,90E-08	8,45E-08	3,03E-06
560	2,72E-10	3,75E-08	8,56E-08	2,91E-06
570	2,84E-10	3,61E-08	8,68E-08	2,79E-06
580	2,96E-10	3,47E-08	8,79E-08	2,67E-06
590	3,10E-10	3,33E-08	8,91E-08	2,56E-06
600	3,24E-10	3,20E-08	9,03E-08	2,45E-06

SOD 100 Flujos no equimolares ONOO alto				
# Time	O2-	NO	ONOO	SOD
0	0	0	0	1,00E-04
10	1,63E-11	5,11E-07	8,77E-09	8,55E-05
20	1,63E-11	5,31E-07	1,03E-08	7,48E-05
30	1,65E-11	5,29E-07	1,15E-08	6,70E-05
40	1,66E-11	5,26E-07	1,24E-08	6,12E-05
50	1,67E-11	5,23E-07	1,33E-08	5,69E-05
60	1,69E-11	5,20E-07	1,40E-08	5,37E-05
70	1,70E-11	5,16E-07	1,45E-08	5,13E-05
80	1,71E-11	5,13E-07	1,50E-08	4,95E-05
90	1,73E-11	5,09E-07	1,54E-08	4,81E-05
100	1,74E-11	5,05E-07	1,57E-08	4,70E-05
110	1,75E-11	5,01E-07	1,59E-08	4,61E-05
120	1,77E-11	4,98E-07	1,62E-08	4,54E-05
130	1,78E-11	4,94E-07	1,63E-08	4,48E-05
140	1,80E-11	4,90E-07	1,65E-08	4,43E-05
150	1,81E-11	4,86E-07	1,67E-08	4,38E-05
160	1,83E-11	4,82E-07	1,68E-08	4,33E-05
170	1,84E-11	4,78E-07	1,70E-08	4,29E-05
180	1,86E-11	4,74E-07	1,71E-08	4,25E-05
190	1,87E-11	4,70E-07	1,72E-08	4,21E-05
200	1,89E-11	4,67E-07	1,74E-08	4,17E-05
210	1,90E-11	4,63E-07	1,75E-08	4,14E-05
220	1,92E-11	4,59E-07	1,76E-08	4,10E-05
230	1,94E-11	4,55E-07	1,77E-08	4,07E-05
240	1,95E-11	4,51E-07	1,79E-08	4,03E-05
250	1,97E-11	4,47E-07	1,80E-08	3,99E-05
260	1,99E-11	4,44E-07	1,81E-08	3,96E-05
270	2,01E-11	4,40E-07	1,83E-08	3,92E-05
280	2,02E-11	4,36E-07	1,84E-08	3,89E-05
290	2,04E-11	4,32E-07	1,86E-08	3,85E-05
300	2,06E-11	4,28E-07	1,87E-08	3,82E-05
310	2,08E-11	4,24E-07	1,88E-08	3,78E-05
320	2,10E-11	4,21E-07	1,90E-08	3,75E-05
330	2,12E-11	4,17E-07	1,91E-08	3,72E-05
340	2,14E-11	4,13E-07	1,93E-08	3,68E-05
350	2,16E-11	4,09E-07	1,94E-08	3,65E-05
360	2,18E-11	4,06E-07	1,96E-08	3,61E-05
370	2,20E-11	4,02E-07	1,98E-08	3,58E-05
380	2,22E-11	3,98E-07	1,99E-08	3,54E-05
390	2,24E-11	3,94E-07	2,01E-08	3,51E-05

400	2,27E-11	3,91E-07	2,02E-08	3,47E-05
410	2,29E-11	3,87E-07	2,04E-08	3,44E-05
420	2,31E-11	3,83E-07	2,06E-08	3,41E-05
430	2,34E-11	3,79E-07	2,07E-08	3,37E-05
440	2,36E-11	3,76E-07	2,09E-08	3,34E-05
450	2,38E-11	3,72E-07	2,11E-08	3,30E-05
460	2,41E-11	3,68E-07	2,13E-08	3,27E-05
470	2,43E-11	3,65E-07	2,15E-08	3,24E-05
480	2,46E-11	3,61E-07	2,16E-08	3,20E-05
490	2,49E-11	3,57E-07	2,18E-08	3,17E-05
500	2,51E-11	3,54E-07	2,20E-08	3,14E-05
510	2,54E-11	3,50E-07	2,22E-08	3,10E-05
520	2,57E-11	3,46E-07	2,24E-08	3,07E-05
530	2,60E-11	3,43E-07	2,26E-08	3,03E-05
540	2,63E-11	3,39E-07	2,28E-08	3,00E-05
550	2,65E-11	3,35E-07	2,30E-08	2,97E-05
560	2,68E-11	3,32E-07	2,32E-08	2,93E-05
570	2,72E-11	3,28E-07	2,34E-08	2,90E-05
580	2,75E-11	3,25E-07	2,37E-08	2,87E-05
590	2,78E-11	3,21E-07	2,39E-08	2,84E-05
600	2,81E-11	3,17E-07	2,41E-08	2,80E-05