

TRABAJOS DE REVISIÓN

Instituto de Ciencias Básicas y Preclínicas "Victoria de Girón"

ESTRÉS OXIDATIVO Y ENVEJECIMIENTO

Dra. Karina Rodríguez Capote y Dra. Ela Céspedes Miranda

RESUMEN

Se ha reportado un incremento del estrés oxidativo durante el envejecimiento y en las enfermedades asociadas a éste. Aunque no se conocen los mecanismos moleculares que condicionan el fenómeno del envejecimiento, se han formulado numerosas hipótesis al respecto. En el presente artículo se abordan aspectos bioquímicos relacionados con los radicales libres y el metabolismo oxidativo de las células como causa posible de senectud.

Descriptor DeCS: ENVEJECIMIENTO/fisiología; RADICALES LIBRES/química; ESTRES OXIDATIVO.

El aumento de la expectativa de vida ha originado un envejecimiento de la población y por consiguiente un incremento relativo de las enfermedades asociadas a éste. Aunque no se conocen los mecanismos moleculares que condicionan el fenómeno del envejecimiento, son numerosas las hipótesis formuladas al respecto.^{1,2} Éstas proponen perturbaciones en órganos, sistemas o en procesos bioquímicos vinculados con los radicales libres y el metabolismo oxidativo de las células, como causa fundamental de la senectud.

La incuestionable ventaja evolutiva que supone desde el punto de vista energético la utilización del oxígeno molecular como último aceptor de electrones, haciendo posible la síntesis de ATP, se contrapone a

su alta potencialidad citotóxica, pues de su reducción univalente se generan productos intermedios más reactivos conocidos como especies reactivas del oxígeno (ERO). Frecuentemente se ha empleado la expresión *paradoja del oxígeno* para referirse a estas funciones opuestas del O₂ en los organismos aerobios.

El organismo desarrolla mecanismos de defensa para contrarrestar la acción de las especies reactivas del oxígeno. Estos mecanismos están constituidos por sistemas enzimáticos y sustancias de bajo peso molecular como tocoferoles, ascorbato, carotenos, ácido úrico y otros. En relación con la participación de los radicales libres en el envejecimiento es necesario considerar 3 factores fundamentales: la *produc-*

ción de oxidantes, el nivel de defensa antioxidante y la extensión del daño por oxidantes.

TEORÍA DE LOS RADICALES LIBRES EN EL ENVEJECIMIENTO

La hipótesis original de los radicales libres en el envejecimiento fue propuesta por *Gerschman* y *Harman* en los inicios de la década del 50, en un momento en que se conocía relativamente poco sobre los sitios celulares de generación de los radicales libres y sus subsecuentes reacciones moleculares.^{3,4}

El dogma central de esta teoría radica en que durante el metabolismo aerobio se producen incidental e incontrolablemente especies radicálicas derivadas del oxígeno que, una vez generadas, promueven reacciones que dañan macromoléculas. Este daño irreversible se acumula con el tiempo resultando en una pérdida gradual de la capacidad funcional de la célula.^{1,2,4}

PRODUCCIÓN DE OXIDANTES

Aunque son varias las fuentes generadoras de ERO (tabla), se considera que la mitocondria es la más importante.⁵⁻⁸

TABLA. Producción endógena de ERO

Enzima o sistema	ERO
CTE: Coenzima Q, cit b ₅₆₆ NADH deshidrogenasa	O ₂ ⁻
SOD	H ₂ O ₂
Monoaminoxidasa	H ₂ O ₂
NADPH oxidasa (neutrófilos)	O ₂ ⁻
Xantinoxidasa	O ₂ ⁻
Reacción de Fentón	OH ⁻
Oxido nítrico sintetasa	NO

El primer producto de la reducción parcial del oxígeno es el anión superóxido (O₂⁻) que es producido en condiciones fisiológicas en la cadena transportadora de electrones (CTE) y es convertido en peróxido de hidrógeno (H₂O₂) espontáneamente o por acción de la enzima superóxido dismutasa (SOD). El radical hidroxilo (·OH), altamente reactivo, puede ser producido por reducción directa del H₂O₂ por el O₂⁻, por transferencia directa de un electrón del O₂⁻ al H₂O₂ catalizada por metales (reacción de Fenton) o por reacción directa de la ubisemiquinona reducida con el H₂O₂.

La coenzima Q puede intervenir además en la formación de radicales hidroxilo, al reaccionar con el H₂O₂ en ausencia de iones metálicos como catalizadores y no requiere de protones que compensen la carga.⁶

El O₂⁻ puede además reaccionar con el óxido nítrico (NO) y generar peroxinitrito (ONOO⁻).

El incremento en la formación de O₂⁻ y H₂O₂ se justifica con el hallazgo de que en el envejecimiento se modifican las condiciones del flujo de electrones en la CTE y es más fácil a los electrones escapar de la secuencia normal del flujo.⁶ En estudios realizados en el músculo esquelético humano se vio un decrecimiento selectivo en los complejos I y IV durante el envejecimiento.⁹ *Sohal* reportó un incremento en la concentración de coenzima Q, en relación con otros componentes de la CTE, en insectos y en tejido murino de animales viejos.^{10,11}

Villa y otros encontraron disminución en la síntesis del citocromo aa₃ y de NADH deshidrogenasa y aumento en la familia de citocromo b, con la edad.^{12,13} Estos investigadores postulan que las ERO generadas pueden infligir daño, tanto a la membrana interna de la mitocondria como a los componentes de la CTE o al ADN mitocondrial, lo cual incrementa aún más la producción

de ERO y consecuentemente más daño a la mitocondria e incremento del estrés oxidativo por aumentar la producción de oxidantes.^{4,6,10,13-16} El envejecimiento de la mitocondria determinaría también la duración de la vida.

NIVEL DE DEFENSA ANTIOXIDANTE

Numerosos estudios se han realizado para determinar si las defensas antioxidantes declinan con la edad. Estos estudios involucran mediciones de las enzimas y compuestos con funciones antioxidantes: actividad o expresión de SOD, catalasa (CAT), glutatión peroxidasa (GPx), glutatión reductasa (GRd), concentración de glutatión reducido (GSH), vitaminas, ácido úrico y otros.

Diferentes autores han demostrado que las concentraciones de GSH en varios tejidos de origen murino disminuyen significativamente con la edad;^{6,11,17-21} similares resultados se han observado en insectos.^{11,22}

Se ha encontrado una disminución en la actividad CAT en *Drosophila* y mosca doméstica durante el envejecimiento.^{11,21,23} En cambio, en mamíferos, el comportamiento de esta enzima con la edad es diferente según el tejido; disminuye en riñón e hígado y tiende a aumentar en corazón y cerebro, donde disminuye marcadamente en las últimas etapas de la vida.^{6,16,17,21,24-26}

La actividad y expresión de GPx y glutatión-S-transferasa (GST) declinan durante el envejecimiento en todos los tejidos estudiados^{6,16,21,24,25} a diferencia de la GRd, que en mamíferos aumenta en cerebro y corazón pero disminuye en hígado y riñón^{6,17,27} y en insectos disminuye.^{11,21,23}

Las marcadas diferencias entre los estudios referentes a la actividad o expresión

SOD impiden arribar a una conclusión definitiva. Las referencias sobre el comportamiento de la actividad de esta enzima durante el envejecimiento son contradictorias. En numerosos estudios realizados no se encuentran cambios en la actividad o en la expresión con la edad²⁸⁻³⁰ mientras que otros autores refieren disminución^{31,32} o aumento.³³⁻³⁵

Estas divergencias en los resultados en la determinación de la actividad SOD pueden ser causadas por diferencias entre especies, condiciones del hábitat del animal y por procedimientos técnicos empleados.

Estudios en moscas *Drosophila melanogaster* que sobreexpresaban SOD-Cu/Zn y CAT mostraron disminución del daño oxidativo molecular relacionado con la edad, disminución de la susceptibilidad al estrés oxidativo agudo y aumento en el tiempo de vida de las moscas. El tiempo de vida de mutantes que no expresan actividad SOD-Cu/Zn fue significativamente más corto que el de su grupo control.^{21,36}

Estos estudios muestran que durante el envejecimiento hay un declinar en las defensas antioxidantes de la célula.

El gen de la SOD-Cu/Zn se localiza en el cromosoma 21, por lo que varios autores han sugerido que el envejecimiento precoz asociado al síndrome de *Down* e incluso el retardo mental, pueda deberse a una sobreexpresión de esta enzima sin el aumento compensatorio de la CAT y la GPx.^{33,37,38}

EXTENSIÓN DEL DAÑO POR OXIDANTES

Existen evidencias del acúmulo de daño oxidativo con la edad:

Daño al ADN

- Se ha reportado incremento en la excreción urinaria de timidínglicol con la edad en ratón, ratas, monos y humanos.^{5,39}
- Se ha observado un incremento de

8 hidroxil-2-desoxiguanosina (8-OHdG) tanto en el ADN nuclear como el mitocondrial durante el envejecimiento.^{14,40}

- Incremento progresivo, relacionado con la edad en el número de enlaces iónicos entre proteínas no histonas y grupos fosfatos del ADN y aumento en la concentración de aductos desoxiguanosina-malondialdehídos en el ADN con la edad.⁴⁰
- Aumento en la condensación de la cromatina con la edad.⁴

Daño a proteínas

- Se ha correlacionado con la edad el aumento en el contenido de grupos carbonilos por oxidación de proteínas.^{3,4,16,17}
- Aparición de enlaces cruzados entre proteínas.^{2,4}

Daño a lípidos

- Estudios de fluorescencia, dienos conjugados y malondialdehídos han mostrado mayores niveles de peroxidación lipídica en tejidos de animales viejos respecto a los jóvenes.^{3,5,11,17,23,33,36,41}
- Se han utilizado los niveles de exhalación de alcanos como indicador de la peroxidación lipídica *in vivo* en mamíferos e insectos (el n-pentano y el etano son productos del catabolismo de los ácidos grasos polinsaturados ω -3 y ω -6 respectivamente) y se ha observado que son mayores en animales envejecidos respecto a los jóvenes.^{3,15,20,23}
- Con la edad aumentan las concentraciones de lipofuscina en la célula, el componente mayoritario de este *pigmento del envejecimiento*, es producto de la peroxidación lipídica.^{3,4,42}

CRÍTICA A LA TEORÍA DE LOS RADICALES LIBRES EN EL ENVEJECIMIENTO

El talón de Aquiles de esta teoría es que concibe al envejecimiento como un

fenómeno totalmente estocástico, pues postula que los daños que lo condicionan ocurren al azar, cuando en realidad durante el envejecimiento se produce una secuencia característica, progresiva, irreversible e incluso predecible, de cambios en todos los niveles de organización biológica que no pueden ser explicados a través de mecanismos azarosos.

Otra objeción a esta hipótesis es que no explica por qué los cambios son graduales e irreversibles. Si el envejecimiento se debiera sólo al aumento de ERO y disminución relativa de antioxidantes endógenos, entonces con la administración de antioxidantes se podría enlentecer o acelerar el envejecimiento. Estudios experimentales de restricción dietética y suplemento antioxidante en ratón, rata e insectos no aumentaron el tiempo de vida máximo de estas especies; sólo se logró que más individuos lo alcanzaran y mejoró la calidad de la vida.^{3,43}

La hipótesis del estrés oxidativo en el envejecimiento reconcilia y conceptualiza la información existente sobre este tema e intenta responder las interrogantes que se generan a partir de la *teoría de los radicales libres*.

HIPÓTESIS DEL ESTRÉS OXIDATIVO EN EL ENVEJECIMIENTO

El estrés oxidativo (EOx) se define como el desequilibrio entre las moléculas de alto potencial oxidante derivadas del oxígeno (conocidas como especies reactivas del oxígeno) y los sistemas antioxidantes; a favor de la generación de las ERO.

La teoría del estrés oxidativo es una de las hipótesis que intenta explicar los cambios degenerativos y la pérdida neuronal que ocurren durante la senescencia. Esta hipótesis considera que el envejecimiento

y el desarrollo no son fases distintas de la vida sino más bien que el envejecimiento es la etapa final del desarrollo y que aun cuando no es un fenómeno genéticamente programado ocurre por la influencia del EOx en el programa genético.^{3,4,16}

Los postulados de esta hipótesis son:⁴

- El completamiento del programa genético que gobierna la secuencia y duración de varias fases ontogenéticas está ligado al gasto de una suma definida de energía.
- El nivel de EOx depende de la velocidad de generación de oxidantes y de los niveles de defensa antioxidante, los cuales están genéticamente controlados; pero están influidos también por factores epigenéticos.
- El EOx ejerce una influencia regulatoria en la expresión génica y es diferente en los distintos estadios del desarrollo.

EL RELOJ METABÓLICO

El concepto de índice basal metabólico como una determinante de la longevidad fue introducido por *Rubner* en 1908. Él encontró que la cantidad de energía metabolizada por gramo de peso, desde la madurez hasta la muerte, en 5 especies diferentes de mamíferos era relativamente similar. A partir de este hallazgo postuló que la materia viva gasta una cantidad definida de energía biológica durante la vida y entonces la duración de ésta se determina por el tiempo necesario para transformar dicha energía.²¹

Desde su formulación se han realizado numerosos experimentos dirigidos a verificar esta hipótesis.

Es bien conocido que el tiempo de vida de los animales poiquilotérmicos puede ser alterado variando la temperatura ambien-

tal, lo que afecta su índice metabólico. Estudios realizados por *Sohal* en la chinche *Oncopeltus fasciatus* mostraron que la vida de estos insectos fue cuatro veces mayor y con un consumo de oxígeno 4 veces menor a 18 EC que a 30 EC. Similares resultados fueron reportados en *Drosophila melanogaster* y mosca doméstica.^{21,23}

La relación entre la temperatura, índice metabólico y longevidad en los mamíferos es más compleja a causa de que son homeotérmicos y a la necesidad fisiológica de actividad física para prevenir la atrofia muscular; no obstante, se ha podido demostrar que el índice de metabolismo basal en los mamíferos se correlaciona inversamente con el tiempo de vida de la especie.^{3,20}

Estos hallazgos demostraron que si bien el tiempo de vida máximo podía ser alterado variando el índice metabólico, el total de energía gastado durante la vida (potencial metabólico) permanece constante y es característico de la especie. La existencia de un potencial metabólico para un genotipo dado sostiene el concepto de un reloj genéticamente controlado, el cual corre más en relación con el gasto de energía que con el tiempo.⁴

EL ESTRÉS OXIDATIVO ESTÁ BAJO CONTROL GENÉTICO

Un mecanismo mediante el cual el índice metabólico influye en el desarrollo y el envejecimiento puede ser a través de modulaciones en el nivel de EOx.

La célula tiende a generar oxidantes y antioxidantes en una forma inter-dependiente. Mientras que los oxidantes estimulan la producción endógena de antioxidantes;^{6,17-19,22} la administración de antioxidantes suprime varios componentes de las defensas endógenas.^{3,14} Estos hallazgos sugieren que

el estado oxidativo de la célula es mantenido por mecanismos de retroalimentación.

La administración de vitamina C (ácido ascórbico), vitamina E (tocoferol) o β -carotenos deprime las concentraciones de GSH y disminuye la actividad en moscas.⁴⁴

La inactivación de CAT en ranas adultas indujo la síntesis de GRd⁴⁵ y aumentó en el 20 % la concentración de GSH en el cerebro de las ratas.^{18,19}

La transcripción de los genes de la SOD-Mn en *E. coli* fue suprimida ante la administración de GSH,⁴⁶ mientras que al suministrarle diamida (agente oxidante de GSH) se vio inducción de la expresión SOD, CAT y GRd.⁴⁷

Sohal encontró que existe relación entre el potencial de vida máximo y los niveles de defensa antioxidante en 6 especies diferentes de mamíferos y en insectos.^{11,20,44}

Los resultados de estos estudios indican que la generación de oxidantes, niveles de defensa antioxidante e índice metabólico son interactivos.

EL ENVEJECIMIENTO ESTÁ ASOCIADO CON ALTERACIONES EN EL NIVEL DE EOX Y CAMBIOS EN LA EXPRESIÓN GÉNICA

- Cambios en el nivel de EOX y, por tanto, en el estado redox de la célula, ejercen alteraciones en el balance iónico intracelular y en las propiedades estéricas de la cromatina, por formación de puentes disulfuro y enlaces iónicos entre las proteínas.²¹
- La expresión génica está fuertemente relacionada con el grado de condensación de la cromatina, por lo que se ha sugerido que la influencia del EOX en la expresión de los genes durante el desarrollo, se deba a los efectos que tiene en su configuración espacial.^{3,4,21}

- El envejecimiento se caracteriza por alteraciones indicativas de un desgaste gradual del genoma tales como: disminución del número de receptores celulares, aparición de proteínas anormales, desrepresión de oncogenes, disminución de la transcripción, traducción y procesamiento del ARN. Este fenómeno fue descrito y denominado por *Cutler* como *disdiferenciación*.⁴⁸

EL INCREMENTO DEL ESTRÉS OXIDATIVO ES UN FENÓMENO EPIGENÉTICO

Aunque el nivel del estrés oxidativo está influido por mecanismos genéticos, el incremento en la formulación de ERO es un fenómeno epigenético.⁴

- La mitocondria es el principal sitio productor de ERO y también el primer blanco para el efecto deletéreo de estas moléculas, por lo que se genera un ciclo vicioso: formación de ERO \rightarrow daño mitocondrial (ADN, membrana, transportadores) \rightarrow alteraciones en la cadena transportadora de electrones \rightarrow más formación de ERO. Alteraciones en la mitocondria pueden ser consecuencia y causa del incremento en la producción de ERO; pero este fenómeno es enteramente epigenético.
- Durante el desarrollo, cambios en el nivel de EOX, programados genéticamente, inducen la expresión de nuevas proteínas o la supresión de determinados genes,⁴⁸ por lo que es posible que en la fase adulta de la vida, modificaciones en el EOX por factores epigenéticos supriman también la expresión de determinados genes.^{4,21}
- A partir de estas observaciones *Sohal* y *Allen* postularon que el envejecimiento no está gobernado por un programa genético *per se*, pero que ocurre por la

influencia del EOx en el programa genético.^{3,4}

INFLUENCIA DEL EOx EN LA EXPRESIÓN GÉNICA

Existen evidencias que muestran que el EOx puede influir en la expresión génica en distintos niveles: transcripción, modificaciones postranscripcionales y traducción.

Se ha sugerido que el efecto del EOx en la expresión génica sea a través de 2 mecanismos:

1. Por efecto directo sobre la producción y procesamiento del ARN.
2. Por cambios en la distribución iónica de la célula.

Efectos en el nivel del control transcripcional:

- En *E. coli*, *Salmonella* y *Typhimurium* una proteína conocida como Oxy R, cuando es oxidada por H₂O₂ actúa como un activador transcripcional que induce la expresión de CAT, SOD-Mn, GRd, alquilhidroperóxido reductasa, entre otras.⁴⁹
- En células eucariotas todavía no está claro cómo se controla la expresión de los genes SOD, pero hay 2 mecanismos propuestos:
 - A través del factor transcripcional AP-1, que en su componente *c-fos* tiene un residuo de cisteína crítico muy sensible a la oxidación.^{33,49}
 - A través de la oxidación de la subunidad inhibitoria del NF-kB.⁴⁹
- La SOD-Mn es específicamente inducida por el factor de necrosis tumoral (TNF α). Existen evidencias de que este factor es inducido por ERO, y éste a su

vez activa al NF-kB por lo que se sugiere que existe una relación entre la activación oxidativa del NF-kB y la inducción de la SOD-Mn.³³

Efectos en el nivel de las modificaciones postranscripcionales:

- Recientemente se ha observado que el procesamiento del ARN es alterado por la exposición de la célula a sistemas generadores de radicales del oxígeno.⁴
- Anticuerpos contra la enzima SOD incrementan la liberación de ARN inmaduro del núcleo al citoplasma, efecto que puede ser suprimido por la administración de SOD.
- El hecho de que en organismos en desarrollo, en tejidos de individuos senescentes y en tejidos bombardeados con O₂ se haya encontrado ARN inmaduro en el citoplasma sugiere que los cambios asociados al envejecimiento y al desarrollo puedan ser mediados por la generación y eliminación de ERO.⁴

EN RESUMEN LA HIPÓTESIS DEL ESTRÉS OXIDATIVO PLANTEA

- Los cambios en la expresión génica que gobiernan eventos ontogenéticos se acompañan de cambios en el nivel de EOx y viceversa.
- El daño que se acumula durante el envejecimiento es más bien un efecto secundario que una causa directa de la senescencia.
- El EOx es uno de los factores que gobiernan los cambios en la expresión génica durante la diferenciación y el envejecimiento.

Concluimos que el envejecimiento es un problema científico que en las ciencias

biomédicas contemporáneas se aborda con un enfoque multidisciplinario. En estos momentos se plantea, a pesar de las numerosas hipótesis que se han propuesto para tratar de explicar este fenómeno, que existe un proceso único modificable por facto-

res genéticos y ambientales, responsable del envejecimiento, que también es determinado por el envejecimiento de la mitocondria y la producción de radicales libres como resultado del metabolismo en este organelo.

SUMMARY

An increased oxidative stress has been reported during aging and the diseases associated to it. Although the molecular mechanisms triggering the phenomenon of aging are unknown, a number of hypotheses have been framed on this subject. The present article deals with biochemical aspect of free radicals and oxidate cell metabolism as a possible causes of senescence.

Subject headings: AGING/physiology; FREE RADICALS/chemistry.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Medvedev Z. An attempt at a rational classification of theories of aging *Biol Rev* 1990;65:375-98.
2. Hayflick L. theories of biological aging. *Exp Gerontol* 1985;20:145-59.
3. Sohal RS. The free radical hypothesis of aging: an appraisal of the current status. *Aging Clin Exp Res* 1993;5:3-17.
4. Sohal RS, Allen RG. Oxidative stress as a causal factor in differentiation and aging: a unifying hypothesis. *Exp Ger* 1990;25:499-522
5. Floyd RA. Free radicals in molecular biology. Aging and disease. New York: Raven, 1984.
6. Benzi G, Moretti A. Age-and peroxidative stress-related modifications of the cerebral enzymatic activities linked to mitochondria and the Cclutatione System. *Free Rad Biol Med* 1995;19(1):77-101.
7. Storz G, Tartaglia LA, Ames BN. Transcriptional regulator of oxidative stress-inducibile genes: direct activation by oxidation: *Science* 1990;248:189-94.
8. García JC, Clapés S, Céspedes EM, Simplicio O, Morín MA. Radicales libres sueños moleculares o realidades clínicas. *Rev Cubana Invest Biomed* 1994;13(1-2):12-8.
9. Cooper JM, Mann UM, Schapira AHV. Analysis of mitochondrial respiratory chain function and mitochondrial DNA deletion in human skeletal muscle: effect of aging. *J Neurol Sci* 1992;113:91-8.
10. Farmer KJ, Sohal RS. Relationship between superoxide anion radical generation and aging in the housefly, *Musca Domestica*. *Free Rad Biol Med* 1989;7:23-9.
11. Sohal RS, Arnold LA, Sohal BH. Aged-related changes in antioxidants enzymes and pro-oxidant generation in tissues of the rat with special reference to parameters in two insect species. *Free Rad Biol Med* 1990;10:495-500.
12. Villa RF, Gorini A. Action of L-acetylcarnitine on different cerebral mitochondrial populations from hippocampus and striatum during aging. *Neurochem Res* 1991;16:1125-32.
13. Sohal RS, Sohal BH, Brunk UT. Relationship between antioxidant defenses and longevity in different mammalian species. *Mech Ag Dev* 1990;53: 217-27.
14. Beal FM. Aging, energy and oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Ann Neurol* 1995;38(3):357-66.
15. Sohal RS, Brunk UT. Mitochondrial production of pro-oxidants and cellular senescence. *Mut Res* 1992;275:295-304.

16. Sohal RS, Agarwal S, Sohal BH. Oxidative stress and aging in the Mongolian Gerbil. *Mech Ag Dev* 1995;81(1):15-25.
17. Mo JQ, Hom DG, Andersen JK. Decreases in protective enzymes correlates with increased oxidative damage in the aging mouse brain. *Mech Ag Dev* 1995;81:73-82.
18. Benzi G, Pastoris S. Age-related effect induced by oxidative stress on the cerebral Glutathione System. *Neurochem Res* 1989;14(5):473-81.
19. Benzi G, Marzatico F, Pastoris O. Influence of oxidative stress on the age-linked alterations of the cerebral Glutathione System. *J Neurosci Res* 1990;26:120-8.
20. Villa RF, Gorini A. Effect of CDP-choline treatment on mitochondrial and synaptosomal protein composition in different brain regions during aging. *Int J Dev Neurosci* 1993;11:83-93.
21. Sohal RS, Allen RG. Relationship between oxygen metabolism, aging and development. *Adv Free Rad Biol Med* 1986;2:117-60.
22. Shull S, Heints NH. Differential regulation of antioxidant enzymes in response to oxidants. *J Biol Chem* 1991;266:24398-403.
23. Sohal RS, Donato H, Biehl ER. Effect of age and metabolic rate on lipid peroxidation in the housefly, *Musca Domestica*. *Mech Ag Dev* 1981;16:159-67.
24. Nisticò G, Iriolo MR, Fiskin K. NGF restores decrease in catalase activity and increases superoxide dismutase and glutathione peroxidase activity in the brain of aged rats. *Free Rad Biol Med* 1992;12:177-81.
25. Nagy ZS. The horizons of an interdisciplinary synthesis in experimental gerontology. *Arch Gerontol Geriatr* 1991;12:329-49.
26. Gutteridge JMC. Oxygen radicals, transition metals and ageing. *Advances in age pigments research*. ed. York: Pergamon, 1987:1-22.
27. Iantomasi SM, Favilli F. Glutathione metabolism in heart and liver of the aging rat. *Biochem Cell Biol* 1994;72(1-2):58-61.
28. Danh HC, Strolin BM, Dostert P. Differential changes in superoxide dismutase activity in brain and liver of old rats and mice. *J Neurochem* 1986;46:1344-52.
29. Rao G, Semsei I, Richardson A. Expression of superoxide dismutase and catalase in rat brain as a function of age. *Mech Ag Dev* 1992;58:13-9.
30. Rao G, Xia E, Richardson A. Effect of age on the expression of antioxidant enzymes in male Fisher F344 rats. *Mech Ag Dev* 1990;53:49-60.
31. Gupta A, Hasan M, Chander R. Age related elevation of lipid peroxidation products: diminution of superoxide dismutase activity in the CNS of rats. *Gerontology* 1991;37:305-9.
32. Vanella A, Geremia E, D'Urso G. superoxide dismutase activities in aging brain. *Gerontology* 1982;28:108-13.
33. Warner HR. Superoxide dismutase, aging and degenerative diseases. *Free Rad Biol Med* 1994;7(3):249-58.
34. Scarpa M, Rigo A, Viglinio P. Age dependence of the level of the enzymes involved in the protection against active oxygen species in the rat brain. *Proc Soc Exp Biol Med* 1987;185:129-33.
35. Ross BM, Kim DK, Bonventre JV. Characterization of a novel phospholipase A2 activity in human brain. *J Neurochem* 1995;64(5):2213-21.
36. Shi I, Sawada M. Alterations in free radicals activity in aging *Drosophila*. *Exp Gerontol* 1994;29(5):574-84.
37. Ciriolo MR, Fiskin K, Martino A. Age-related changes in Cu/Zn SOD, Se-dependent and independent Glutathione Peroxidase and Catalase activities in specific areas of rat brain. *Mech Ag Dev* 1991;61:287-97.
38. Oenzil F, Kishikawa M, Mizuno T. Age-related accumulation of lipofuscin in three different regions of rat brain. *Mech Ag Dev* 1994;76(2):156-63.
39. De Haan JB, Newman JD. Cu/Zn superoxide dismutase mRNA and enzyme activity, and susceptibility to lipid peroxidation, increases with aging in murine brains. *Mol Brain Res* 1992;13:179-87.

40. Ames BN. Endogenous oxidative DNA damage, aging and cancer. *Free Rad Res Comms* 1989;7:121-8.
41. Nakano M, Oenzil F, Mizuno T Gotoh S. Aged related changes in the lipofuscin acumulation of brain and heart *Int J Exp Clin Gerontol* 1995;41(2):69-79.
42. Oenzil F, Kishikawa M, Mizuno T. Age-related acumulation of lipofuscin in three different regions of rat brain. *Mech Ag Dev* 1994;76(2):156-63.
43. Harman D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J Gerontol* 1956;11:298-300.
44. Sohal RS, Toy PL, Allen RG. Ralationship between life expectancy, endogenous antioxidants and products of oxygen free radical reactions in the housefly. *Mech Ag Dev* 1986;36:71-7.
45. Pérez-Campo R, López-Torres M, Rojas C. Lung Glutathione reductase induction in aging catalase-depleted frogs correlates with early survival throughout the life span. *Mech Ag Dev* 1993;67:115-27.
46. Gardner PR, Fridovich I. Controls of the biosynthesis of Mn-SOD of *E coli*. *J Biol Chem* 1981;262:17591-5.
47. Privalle CT, Fridovich I. Biosynthesis of the manganese containing superoxide dismutase in *E. Coli*: anaerobic induction of active Mn-SOD by diamide. *Free Rad Biol Med* 1990;9:1-5.
48. Cutler RG. Antioxidants, aging and longevity. *Free Rad Biol* 1984;6:371-428.
49. Schroder HC, Messer R, Bachmann M. Superoxide radical induced loss of nuclear restriction of immature mRNA: A posible cause of aging. *Med Ag Dev* 1987;41:251-6.

Recibido: 21 de mayo de 1999. Aprobado: 19 de julio de 1999.

Dra. *Karina Rodríguez Capote*. Instituto de Ciencias Básicas y Preclínicas "Victoria de Girón". Calle 146 No. 3102. Playa, Ciudad de La Habana, Cuba.