



Reacciones de radicales libres con relevancia biológica en la teoría del envejecimiento.

Franklin Vargas*, Carlos Rivas, Abdoel Nursamaa, Tamara Zoltan

Laboratorio de Fotoquímica, Centro de Química,
Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, I.V.I.C.,
Apartado 21827, Caracas 1020-A, Venezuela.

(*) fvargas@ivic.ve

Recibido: 09/04/2007

Revisado: 19/07/2007

Aceptado: 29/08/2007

Resumen:

En la presente revisión, se recogen una serie de resultados en investigaciones llevadas a cabo sobre el tema de los radicales libres y su relación con el envejecimiento celular. Hemos considerado cómo las especies reactivas de oxígeno (anión superóxido, oxígeno singlete y radicales hidroxilos) y las especies de nitrógeno inducen la generación de reacciones que involucran la oxidación de proteínas, lípidos, carbohidratos y ADN. Además, ellos no sólo reaccionan con este tipo de compuestos, también pueden reaccionar entre ellos como resultado de la terminación de reacciones de cadena. Todos estos eventos contribuyen a promover el envejecimiento celular y al origen de patologías diversas como bien la enfermedad de Alzheimer y Parkinson, así como otras patologías neuro-degenerativas. Por esta razón es fundamental para un organismo mantener un equilibrio estable y un sistema de redox regulado para prevenir la acumulación de estas especies reactivas que dan el origen a los procesos del envejecimiento. La manera más accesible de mantener este equilibrio, está a través del consumo exógeno de comidas ricas en antioxidante lo que permite neutralizar algún posible desequilibrio que puede comenzar los procesos indeseables de la oxidación-reducción de nuestro sistema celular. **Palabras claves:** Radicales libres, envejecimiento, apoptosis, foto-carcinogénesis, anti-oxidantes.

Abstract

In the present review, we have gathered a series of results on investigations carried out about the topic of the free radicals and their relationship with the cellular aging. We have considered how the reactive oxygen species (superoxide anion, singlet oxygen and hydroxyl radicals) and nitrogen species induce the generation of reactions that involve the oxidation of proteins, lipids, carbohydrates and DNA. Furthermore, they not only react with the just mentioned type of compounds, they can also react among themselves as a result of the termination of chain of reactions. All these events contribute to promote cellular aging and to the origin of diverse pathologies such as well as the illness of Alzheimer and Parkinson diseases as well as other neurodegenerative pathologies. For this reason it is fundamental for an organism to maintain a stable balance and a regulated redox-system to prevent the accumulation of reactive species that give origin to the senescence processes. Up to now the most accessible way to maintain this balance, is through the exogenous consumption of foods rich in anti-oxidant that allow to counteract some possible unbalance that can initiate the undesirable oxidation-reduction processes. **Keywords:** Free radicals, aging, apoptosis, photo-carcinogenesis, antioxidants.

Introducción

A la luz de los conocimientos actuales, el proceso de envejecimiento es consecuencia de dos factores, uno endógeno y el otro exógeno. El factor endógeno radica en la naturaleza misma de la célula y del código genético que rige su existencia y en consecuencia la del organismo conformado por el conglomerado celular. Los seres vivos ya traen desde su origen la programación que determina la

longevidad de la célula la cual de no haber otros factores sufre un proceso denominado apoptosis o muerte celular, en un tiempo prefijado la sumatoria de todas las apoptosis conduce al deceso de todo el organismo¹. En segundo lugar y no menos importante son los factores exógenos, estos se originan en elementos vitales provenientes del ambiente y que son requeridos por la célula para su funcionamiento normal como compuestos de O₂ o N₂,

productos generados en procesos metabólicos tanto de la membrana celular como del citoplasma u organelos presentes en él².

El presente artículo hace énfasis en esas especies químicas reactivas de oxígeno y nitrógeno que generan radicales libres, los cuales por su alta reactividad debida a electrones desapareados que poseen en su última capa de valencia, o por su elevado potencial de oxidación, reaccionan con una serie de moléculas importantes para la vida como lo son las proteínas, los lípidos, los ácidos nucleicos y los carbohidratos, alterando su estructura y por ende sus funciones normales dentro de la célula. Las especies en referencia son radicales derivados del oxígeno como el anión superóxido ($O_2^{\cdot-}$), el radical HO^{\cdot} , el peroxi-alkil radical ROO^{\cdot} , y no radicales como el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), denominados ERO. Las especies reactivas de nitrógeno, denominada ERN, involucradas en reacciones de envejecimiento celular son óxido nítrico y peroxi nitritos. Se ha comprobado que la actividad de estas especies químicas causa daños muy graves en las membranas celulares y en los organelos ubicados en el citoplasma, especialmente en las mitocondrias que se traducen en procesos degenerativos que aceleran la senectud³.

Especies reactivas de oxígeno (ERO) y nitrógeno (ERN)

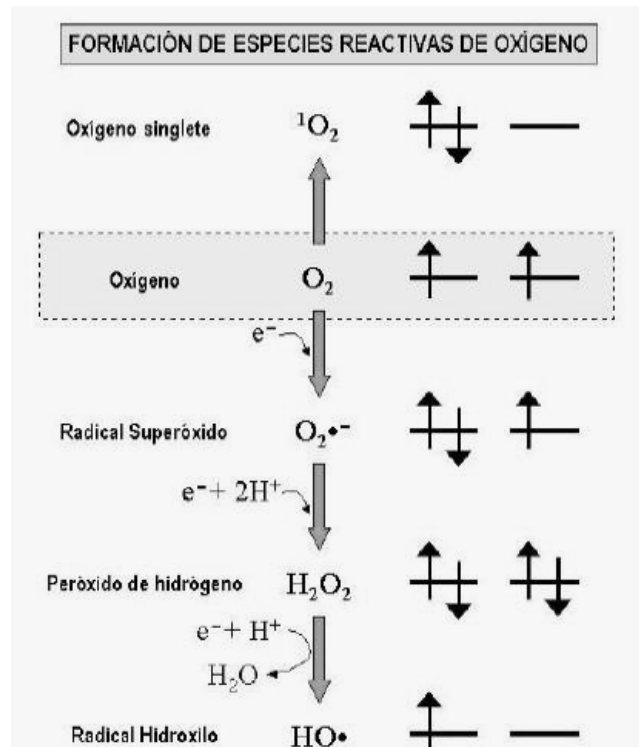
Las ERO y ERN son las responsables de generar muchas patologías humanas. Particularmente las ERO, como el anión superóxido ($O_2^{\cdot-}$), peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y el radical hidroxilo (HO^{\cdot}) son generados de manera natural durante procesos metabólicos en todos los seres consumidores de oxígeno. Las ERN más importante es el óxido nítrico (NO^{\cdot}), a partir del cual se forman otras especies como el anión peroxinitrito ($ONOO^{\cdot}$), anión nitroxilo (NO^{\cdot}) y el dióxido de nitrógeno (NO_2). Los daños generados por las ERO y ERN incluyen modificaciones de las macromoléculas celulares, como proteínas, donde pudiera perderse la reactividad enzimática; lípidos, donde ocurre peroxidación modificando la estructura de la membrana; y ADN, dando lugar a mutagénesis y carcinogénesis. Estas modificaciones se van acumulando exponencialmente a lo largo de la vida del organismo, e inducen así el proceso de envejecimiento. Este último, es la base fundamental de la teoría del envejecimiento por radicales libres, conocida actualmente como la hipótesis de los radicales libres^{4,5}. Estas teorías del envejecimiento han evolucionado hacia la teoría del envejecimiento mitocondrial.

Una evidencia que soporta esta teoría es aquella en donde se ha demostrado que células crecidas bajo condiciones de hipoxia exhiben una vida más prolongada que aquellas células crecidas bajo altas concentraciones de oxígeno, una

vez más demostrando el papel del metabolismo mitocondrial sobre el envejecimiento celular.

Existen numerosos mecanismos por los cuales se generan las ERO. Las EROS se pueden originar en cualquier compartimiento celular como resultado normal de su fisiología. Se pueden generar en mitocondrias, retículo endoplasmático, linfocitos y neutrófilos entre otros, en consecuentes reacciones de Haber-Weiss y de Fenton o dismutación de superóxido. Pueden provenir de un origen no enzimático, como involucra reacciones de tioles, quinonas, flavinas, mioglobina, etc; como también enzimático, por acción de xantina y aldehído oxidasa, citocromo P-450, NADPH oxidasa.

Las ERO son producidas por la NADPH oxidasa, la 5-lipoxigenasa (5LO), la cual cataliza la producción de leucotrienos a partir del ácido araquidónico, y principalmente por las mitocondrias, responsables de generar el 2% del radical superóxido a partir del metabolismo del oxígeno. Este organelo tiene un papel importante en el proceso de envejecimiento. Las mitocondrias son fábricas de energía celular, que generan ATP a través de la reacción de hidrocarburos con el oxígeno.



Cada célula humana contiene cientos de mitocondrias, y cada una contiene múltiples copias de ADN mitocondrial (ADNmt). Para que este organelo funcione adecuadamente, es necesario que su ADN se mantenga intacto. En

este respecto, se ha evidenciado, que consistentemente con el envejecimiento celular, ocurre además la acumulación de mutaciones somáticas en el ADNmt, las cuales son transmitidas aleatoriamente durante la división mitocondrial y la división celular. Esto trae como consecuencia fosforilaciones oxidativas defectuosas a través de alteraciones que afectan a los cuatro complejos mitocondriales, y un transporte defectuoso de electrones. De los cuatro complejos, el Complejo I es el que se ve más afectado, pues 7 de los 13 genes estructurales del ADNmt codifican para este complejo. La acumulación de estas alteraciones da lugar al incremento de la producción del radical anión superóxido a partir del oxígeno. El radical anión superóxido puede dismutar espontáneamente o por acción de la superóxido dismutasa para formar peróxido de hidrógeno. Éste, puede reaccionar para formar el radical hidroxilo. No obstante, lo anterior, en la cara externa de la membrana mitocondrial se ubica una enzima, la mono-amino oxidasa, la cual cataliza la deaminación oxidativa de las aminas biogénicas y es una fuente importante de H_2O_2 , contribuyendo así a la concentración de especies reactivas tanto en la matriz mitocondrial como en el citosol celular.

Las recientes investigaciones en el campo de los radicales libres señalan los efectos de las radiaciones ultravioleta sobre la producción de especies reactivas oxigenadas, que pueden desempeñar un papel fundamental en enfermedades cutáneas como envejecimiento, cáncer cutáneo y una gran variedad de foto-dermatosis. Los radicales libres no son moléculas extrañas a la piel, sino que son producidos habitualmente en los procesos de respiración celular. Existen diversos neutralizadores endógenos de radicales libres (enzimas y antioxidantes) que permiten reducir su concentración a niveles no perjudiciales para la piel, pero muchas veces estos mecanismos no son suficientes, ya que su producción excede a su neutralización. Tanto la radiación UVA como la UVB conducen a la producción de especies reactivas oxigenadas que actúan sobre la piel de formas diversas: alteran la bicapa fosfolipídica (especialmente vulnerable a la oxidación) que constituye las membranas celulares; interfieren en el funcionamiento de las enzimas y sobre el ADN de los fibroblastos (células) del tejido conjuntivo.

La tasa de producción de ERO aumenta con el tiempo, aumentando por ende la cantidad de daño macromolecular. Esto va acompañado por el proceso de envejecimiento. La razón de ser estos daños macromoleculares, pudieran deberse a daños intrínsecos en las mitocondrias por el ataque de los productos de su metabolismo. Las mitocondrias son además responsables de producir el 0,5% de óxido nítrico (NO) proveniente del metabolismo del oxígeno (O_2). Esta síntesis se da a partir de la L-arginina, a

través de la acción de la NOSmt (óxido nítrico sintetasa mitocondrial), la cual se encuentra en la membrana mitocondrial interna. El NO inhibe reversiblemente la actividad de la citocromo oxidasa por competencia con el O_2 . El balance entre la producción de NO y su consumo, resulta en una concentración estable de NO , la cual regula la captación mitocondrial de oxígeno y el suministro de energía. Además, el NO permite el cambio de muerte celular mediado por apoptosis a necrosis, a través de la inhibición de la producción de ATP. El NO reacciona con el radical O_2^- en una reacción de terminación que ocurre en la matriz mitocondrial, generando el anión peroxinitrito ($ONOO^-$). Éste, es una especie reactiva altamente oxidante y nitrosante de proteínas, pues induce reacción con los anillos aromáticos, sulfoxidación de metionina, y S-nitrosilación de cisteína seguida por la formación de un puente disulfuro, inactivando así el funcionamiento de proteínas regulatorias importantes, como enzimas y receptores. La formación del peroxinitrito comprende el 85% de la tasa de utilización de NO mitocondrial en condiciones aeróbicas. El envejecimiento mitocondrial inducido por especies reactivas como O_2^- y $ONOO^-$, ocurre a través del daño al ADNmt y por inactivación proteica, dando lugar a mitocondrias disfuncionales incapaces de mantener el potencial de membrana y la síntesis de ATP.

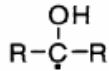
Se ha demostrado que en células endoteliales, las cuales utilizan el NO para la vasodilatación, una vez que atraviesan el proceso de envejecimiento natural, pierden su capacidad de ejercer esta función. Esto es debido a la acumulación del radical O_2^- durante el envejecimiento, el cual reacciona con el NO generando $ONOO^-$, por lo que el NO queda secuestrado, impidiendo la acción de este radical sobre la célula.

Los radicales libres son especies químicas capaces de tener una existencia independiente que contiene electrones desapareados. El ejemplo más simple podría ser un electrón solvatado, que es un electrón desapareado y tiene un tiempo de existencia definido.

El tiempo de existencia depende, claro en las condiciones bajo las cuales se genera el radical libre, en términos de solvente, la presencia de especies con que este podría reaccionar, etc. La razón por el interés científico en los radicales libres es que, como especies que contienen los electrones desapareados, ellos son frecuentemente muy reactivos y manifiestan la necesidad de estabilizarse. Para lograr esto, ellos reaccionan rápidamente con moléculas orgánicas que se encuentran en su proximidad. Los resultados de esta reactividad pueden generar la creación de otras especies que pueden o no ser tan reactivos como el radical original, y puede o no sufrir subsecuentes

reacciones. Para los propósitos de esta discusión, los radicales libres pueden ser divididos en dos grupos, dependiendo del tipo de átomo en que se localiza el centro radical. El primer grupo es el de los radicales centrados en el carbono, y el segundo centrados en el oxígeno^{6,7}.

La especie radical carbono-centrada más estudiada ha sido el radical quetil, un ejemplo de que se muestra a continuación:



Estructura general de un radical quetil.

Un ejemplo específico de la formación de un radical quetil es cuando el estado excitado triplete de la benzofenona abstrae un átomo de hidrógeno de un donador, como es mostrado a continuación:



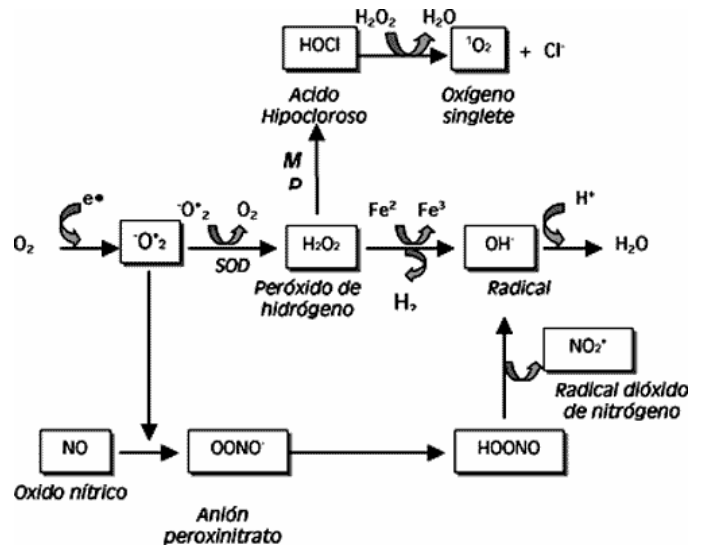
Abstracción de hidrógeno por la difenilcetona excitada de un donador para producir un radical quetilo y un radical alquilo.

En lo que concierne a estudios de la salud se enfatiza más el estudio de las especies radicales que contienen oxígeno. De hecho, según la definición, el oxígeno molecular sería clasificado como un radical libre, ya que su configuración electrónica es tal que hay dos electrones desapareados en su capa exterior, orbitales anti-enlazantes π .

Probablemente, de las especies radicales la más estudiada en términos de sistemas biológicos es el radical hidróxilo. Este radical es muy reactivo y dañino de moléculas biológicas y tejidos. Hay tres tipos principales de reacciones en las que el radical hidróxilo participa: la abstracción de hidrógeno, adición, y transferencia de electrones.

Si las especies de radicales hidroxilo reaccionan con otra especie no-radical, entonces un radical libre diferente es producido, el cual puede ser más reactivo que el radical de origen. Aunque usualmente no es así, el radical hidroxilo es altamente reactivo. Los radicales del hidroxilo pueden reaccionar mediante abstracción de hidrógeno con la mayoría de las moléculas orgánicas (como sustrato), pero para colocar su reactividad en el contexto comparativo con los tipos de toxicidad discutidos aquí, asumiremos que el sustrato pudiera ser un aminoácido dentro de una enzima en particular. Los radicales hidroxilos son bien conocidos por reaccionar con los aminoácidos mediante la abstracción de hidrógeno. De esta manera un radical libre

podría ser generado dentro o centrado en una proteína. Este radical sufriría indudablemente más adelante reacciones que probablemente romperían con la estructura proteica y por consiguiente la función de la enzima. Las reacciones de abstracción de hidrógeno por el radical hidroxilo también afecta eficientemente a los fosfolípidos (importante constituyentes de la membrana celular), nucleótidos y deoxirribosa (partes estructurales del ADN). Claramente los radicales hidroxilos son sumamente tóxicos como resultado de su alta reactividad y baja selectividad en lo que se refiere al sustrato.



Esquema de la generación de ERO y ERN.

Efectos a nivel celular

Las células humanas dependen de un intercambio continuo de nutrientes, de sus metabolitos y su entorno para que puedan funcionar apropiadamente. Para que este intercambio pueda ser eficaz debe mantenerse principalmente la integridad de la membrana celular, evitando interferencias en el mecanismo de transporte celular. Alguna alteración de la membrana celular podría afectar su mecanismo de función, lo que traería como consecuencia efectos adversos en el crecimiento y metabolismo celular, relacionados con el envejecimiento.

Las enzimas son vitales para el funcionamiento apropiado de organismos. Cualquier interferencia con el funcionamiento normal de los procesos enzimáticos puede considerarse como un efecto tóxico en el organismo. Recientemente se ha descubierto una enzima conocida como SIR2 (*silent information regulator*), cuando se restringe el consumo calórico se genera una enzima que elimina la nicotinamida que normalmente reprime la SIR2. Esta es un estresante que activa la sobrevivencia como respuesta. Estas investigaciones en levaduras y mosca de

la fruta han sido extendidas a los mamíferos, en estos la versión del SIR2 se llama SIRT-1 y tiene la misma actividad enzimática que la SIR. SIRT-1 activa mecanismos de reparación o restauración celular. Existen compuestos relacionados a SIRT-1 llamados certuinas que desarrollan la misma actividad. El resveratrol, un potente anti-oxidante natural que activa las certuinas.

La humanidad desde tiempos remotos ha soñado con el "elixir de la vida" que fue objeto de intensa búsqueda por los alquimistas medievales. Hace más de 70 años se descubrió que una restricción calórica en la alimentación era la única forma de prolongar la vida. Como efectivamente la aplicación de esta idea ha dado buenos resultados se creyó que su eficacia se debía a una disminución en la velocidad de los procesos metabólicos, actualmente se cree que la restricción calórica es más bien un factor estresante para el organismo como sería una escasez de alimentos, que llevaría a una hambruna, la cual induce a una respuesta defensiva para preservar la vida durante la escasez.

Sustancias cancerígenas u oncogénicas inducen a la formación de tumores. Estas sustancias interfieren con el funcionamiento apropiado de órganos y tejidos del organismo, produciendo a menudo su muerte. Una de las mayores causas del cáncer es probablemente el daño o las mutaciones en el ADN causadas por especies químicas tóxicas. Tal daño en el ADN lleva principalmente a las rupturas de los mecanismos de control que son codificadas en el material genético.

Cualquier sustancia que causa el daño de ADN o mutaciones es por consiguiente tóxica. Cáncer es el nombre común, para aproximadamente 200 enfermedades específicas que comparten la característica común de crecimiento de células anormales. Las causas pueden puntualizarse en cuatro clases: la predisposición genética, los factores medioambientales, y factores desconocidos. Estos pueden actuar individualmente o en conjunto. Se ha estimado que la combinación de ambiente y herencia es la causa de cerca de 60 - 90% de todos los cánceres. El ambiente, como potencial cancerígeno, se refiere ampliamente a todas las interacciones que tiene un organismo con sus ambientes (aire, la comida, el agua, los hábitos de vida, etc.).

La fuente potencial de toxicidad en algunos casos es la luz, mientras en otros son precursores químicos que actúan en forma diferente. En muchos casos los radicales libres se generan por la absorción de luz. En tales casos la luz es parte del proceso que causa la toxicidad.

La célula constituye una unidad con un medio interno que difiere del entorno celular. Esta diferencia se mantiene

durante toda su vida por un continuo control de entrada y salida de moléculas e iones que se ejerce a través de una delgada membrana, también llamada *membrana plasmática o plasmalema*. Esta encierra al citoplasma y todos los organelos e inclusiones celulares, tales como las mitocondrias, el núcleo, vesículas y retículos. Muchos de estos constituyen, a su vez, sub-compartimientos más pequeños, separados del citoplasma por sus propias membranas superficiales, las cuales actúan como barreras para la difusión libre. El enorme retardo en ésta permite a las membranas, con ayuda de mecanismos metabólicos, regular el movimiento neto de fluidos y, por tanto, las concentraciones de sustancias en los compartimientos celulares y subcelulares. La existencia de gradientes de concentración a través de las membranas implica que éstas participan en la traslocación de sustancias entre compartimientos. Además, la membrana plasmática regula la concentración citoplasmática de iones disueltos y otras moléculas con mucha precisión, estableciendo un medio celular conducente a unas actividades metabólicas y sintéticas balanceadas de las células.

Los componentes lipídicos de las membranas biológicas son generalmente ambifílicos de naturaleza, con largas cadenas de hidrocarburos asociados entre sí vía hidrofóbica y mediante interacciones de Van der Waals. Ellos también contienen grupos polares que son hidrofílicos y por consiguiente prefiere ser asociado con un ambiente acuoso. En las membranas de célula animales los principales lípidos son los fosfolípidos.

Dentro de cada mitad de bicapa lipídica, las proteínas y moléculas de lípido pueden difundir rápidamente. Esto se logra a través de la presencia de un lado ácido graso no saturado y uno poliinsaturado en la membrana. Los daños a estos ácidos grasos tienden a reducir la fluidez en la membrana y por ende su normal funcionamiento. Su integridad es por consiguiente crucial para la función apropiada de la célula^{8,9}.

Peroxidación lipídica

La peroxidación lipídica es un proceso degenerativo que afecta a los lípidos insaturados de la membrana bajo condiciones de estrés oxidativo. Se cree que este complejo proceso contribuye al envejecimiento y generación de enfermedades, mediante la interrupción de la estructura conformacional de la membrana, el empaquetamiento de los componentes lipídicos y el funcionamiento intrínseco de la membrana¹⁰. Esto comprende la base de la teoría del marcapasos de membrana, el cual es una extensión de la teoría del estrés oxidativo¹¹.

Los ácidos grasos poli-insaturados (AGPI), conocidos también como *poly-unsaturated fatty acids* (PUFA), de los

fosfolípidos de membrana, son particularmente susceptibles a sufrir peroxidación, así como modificaciones que incluyen el rearrreglo o pérdida de dobles enlaces, y en algunos casos, la degradación reductora de cadenas lipídicas aciladas laterales. Los hidroperóxidos lipídicos, intermedios importantes de las reacciones de peroxidación, también se acumulan en la bicapa, contribuyendo aún más a la pérdida de la estructura de la membrana. Muchas de las consecuencias biofísicas de estas modificaciones estructurales comprenden cambios en la fluidez de la membrana, aumento de la permeabilidad celular, alteraciones de las propiedades de fase termotrópicas de la membrana y cambios en la actividad de las proteínas de membrana¹².

Los aldehídos derivados de la lipoperoxidación son muy estables, de alta reactividad y alteran la fluidez de la membrana, por lo que se sabe están involucrados en el daño tisular asociado con el estrés oxidativo. Entre ellos, tenemos al malondialdehído (MDA), el cual puede dañar proteínas mediante la unión covalente a las mismas, generando proteínas modificadas que pudieran acumularse, causando daño a tejidos durante el envejecimiento. Además, a esto contribuye la formación de productos de terminación de lipoperoxidación y productos de terminación de las glicaciones, las cuales se forman a partir de la asociación entre aldehídos y proteínas¹³.

Puesto que el MDA es un intermediario importante en la formación de productos de terminación de lipoxidación avanzada durante la peroxidación lipídica, se estudió a la piridoxamina (PM), pues se sugiere que es un eficiente inhibidor de estas reacciones de terminación en varios sistemas biológicos. Se encontró que la PM efectivamente inhibió la acción de la MDA bajo condiciones fisiológicas¹⁴.

Otros aldehídos, producto de la peroxidación lipídica, comprenden al 4-hidroxi-2-nonenal (HNE) y al 4-hidroxihexenal (HEE). Ambos afectan el balance redox durante el envejecimiento y en varios procesos degenerativos, incluyendo la disfunción vascular, producto del deterioro de las células endoteliales. Tanto la HNE como la HEE inducen disfunción endotelial y por ende la muerte celular por apoptosis, pues ambos generan interrupciones en la membrana mitocondrial induciendo a que ésta libere citocromo c al citosol, donde interactúa con las caspasas induciéndose así la apoptosis. La HEE induce la formación de ERO y ERN, generando además al anión peroxinitrito. Por lo tanto, daños inducidos por la peroxidación lipídica generada durante la senescencia, junto con la producción de HNE pudieran exacerbar el daño celular causado por las ERO y ERN¹⁴.

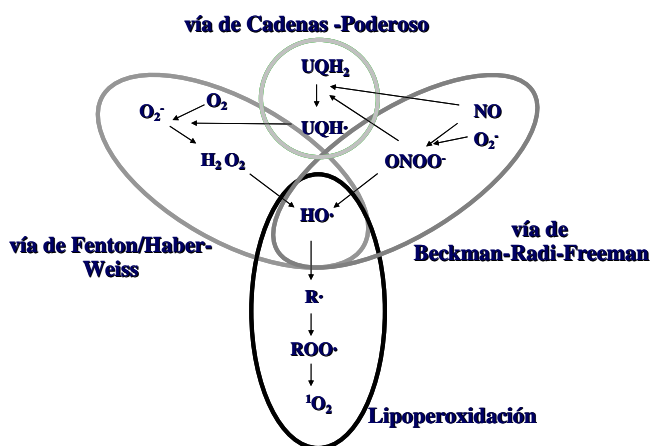
Una de las formas que tiene la célula para defenderse de la HNE, la cual puede resultar ser citotóxica para la célula, es a través de la proteína captadora de proteínas modificadas por HNE, llamada E-FABP. Esta proteína funciona como antioxidante ante el daño inducido a proteínas por la acción de la HNE¹⁵.

La perturbación en el contenido de colesterol de la membrana ha sido asociada a muchas enfermedades, puesto que el colesterol es un componente importante en el mantenimiento estructural de la membrana. La peroxidación lipídica parece generar la agregación inmisible de partículas de colesterol, alterando así la composición natural de la membrana.

El anión superóxido generado en las mitocondrias es muy sensible a la fuerza motriz de los protones, de manera que puede reducirse significativamente su producción mediante el desacoplamiento débil de la fosforilación oxidativa que ocurre en la mitocondria. Este anión, junto con los productos de la peroxidación lipídica, hidroxialquenaldehído e hidroxinonaldehído, son activadores potentes de la conductancia de los protones a través de la acción de proteínas desacopladoras, como UCP2 y UCP3. Estas proteínas tienen como finalidad desacoplar y así disminuir la producción del anión superóxido, ejerciendo protección contra el daño inducido por las ERO¹⁶.

El dolicol es un compuesto de poliprenol ampliamente distribuido en las membranas, muy cercanas a las colas de los fosfolípidos. Los niveles de dolicol aumentan dramáticamente con la edad de tal manera que la restricción calórica asociada con la edad aumenta su aparición, y pudiera funcionar, en conjunto con la vitamina E, como agente antioxidante contra los lípidos peroxidados de la membrana¹⁴.

Otro de los compuestos lipídicos generados por ERO, son los hidroperóxidos lipídicos (LOOH), los cuales son productos iniciales de la fotoperoxidación que típicamente se genera por el ataque del oxígeno singlete. LOOH puede sufrir varios cambios: 1.- Reducción de un electrón, catalizado por hierro, a radicales libres iniciadores de cadena, los cuales exacerban el daño peroxidativo, 2.- Reducción de dos electrones, catalizado por selenoperoxidasa, a alcoholes relativamente inocuos, y/o 3.- Trasladarse a otras membranas donde las reacciones 1 o 2 pueden ocurrir. Estas moléculas pueden funcionar además como moléculas señalizadoras o como inductoras de apoptosis¹⁶.



La cadena bioquímica de reacciones de radicales libres.

Proteínas

La cantidad de proteína depende del número de funciones que la proteína realiza, pero en promedio el valor es aproximadamente 50% del peso seco de la membrana. Algunas de estas proteínas están ligeramente atadas a la membrana (proteínas extrínsecas) mientras otras están firmemente enlazadas e incluso parciales o completamente empotradas en la membrana (proteínas intrínsecas).

La proporción lípido/proteína es variable, dependiendo del tipo de membrana celular, pero más que en la abundancia, la razón de su importancia reside en el hecho de que las funciones más especializadas de las membranas involucran a las proteínas.

Hasta el presente poco es lo que se sabe referente a la composición y estructura de tales proteínas aunque, en número reducido, se han descrito parcialmente algunas. Por ejemplo, la de la membrana de los glóbulos rojos humanos (eritrocitos) posee un peso molecular que oscila entre 250000 y 15000 dalton. De ellas por lo menos 5 son glicoproteínas. Datos obtenidos de estudios de dispersión rotatoria y dicroísmo circular, han demostrado que la mayor parte de esas proteínas posee estructura globular.

Basándose en sus propiedades generales y la naturaleza de su asociación con la membrana pueden distinguirse dos clases de proteínas denominadas:

- Periféricas o extrínsecas, e
- Integradas o intrínsecas.

Las primeras se caracterizan porque se solubilizan en condiciones suaves, como tratamiento de las membranas con disoluciones neutras de alta fuerza iónica (ej.: NaCl, 1M), agentes quelantes, etc., son solubles en disoluciones acuosas de pH neutro, y una vez en disolución están libres de lípidos. Las proteínas integradas, en cambio, se caracterizan porque se pueden extraer de las membranas

mediante tratamientos relativamente drásticos con detergentes, solventes orgánicos, etc., son hidrófobas y, en consecuencia, se coagulan rápidamente en medios acuosos, y permanecen asociadas a algunas moléculas de lípidos, aún después de su aislamiento. Estas propiedades permiten hacer una clara distinción de la naturaleza de las fuerzas que estabilizan la unión de las proteínas con las membranas. En las proteínas periféricas, las fuerzas que las mantienen unidas a la matriz lipídica de las membranas son de naturaleza culómbica, mientras que en las proteínas integradas las fuerzas de interacción son hidrofóbicas y las que en mayor grado dan estabilidad a la unión de las proteínas con los lípidos.

Modificación de proteínas

Las proteínas son blancos importantes en una célula. Las reacciones de una variedad de radicales libres, ERO y ERN con las proteínas pueden dar lugar a modificaciones oxidativas de las mismas, dando lugar a la formación de hidroperóxidos, hidroxilación de grupos aromáticos y aminoácidos alifáticos de cadenas laterales, nitración de residuos de aminoácidos aromáticos, oxidación de grupos sulfidrido, sulfoxidación del aminoácido metionina, cloración de grupos aromáticos y grupos amino primarios, conversión de algunos aminoácidos a derivados carbonílicos, ruptura de la cadena polipeptídica y formación de puentes cruzados. Tales modificaciones de las proteínas pudieran conllevar a la pérdida de sus funciones enzimáticas, acumulación e inhibición de su degradación, como se ha observado en algunas enfermedades, envejecimiento, diferenciación celular y apoptosis. Podemos ver entonces, como el estrés oxidativo pudiera ser un agente causal del envejecimiento.

En presencia de estrés oxidativo, interviene la acción de los agentes antioxidantes. Cuando la producción de los radicales libres sobrepasa la acción de estos agentes, es allí cuando la célula entra en apoptosis. Sin embargo, bajo condiciones normales, las especies reactivas están presentes, lo cual sugiere que los antioxidantes actúan en cierto momento, permitiendo así el mantenimiento de una baja concentración de especies reactivas dentro de la célula, lo cual se sabe son necesarias para el funcionamiento de algunos tipos celulares como las células inmunitarias^{17,18}.

Ahmet y col. (2004), reportaron que las enzimas antioxidantes, metionin sulfóxido reductasa A y B (MsrA y MsrB), presente en las levaduras, ejercen un papel protector ante la oxidación de proteínas en presencia de oxígeno, y que en condiciones de anoxia, las células morían con mayor rapidez, debido a que debe existir un intercambio metabólico, y por ende energético, para que las células puedan sobrevivir. La acción de estas enzimas

viene dada por la alta susceptibilidad del aminoácido metionina a ser oxidada por ERO, formando metionin-S-sulfóxidos (S-MetO) y metionin-R-sulfóxido (R-MetO). Las metioninas oxidadas pueden ser reparadas por enzimas antioxidantes, como las Met-S-SO reductasa (MsrA) y Met-R-SO (MetB). Éstas son renovadas constantemente a través de la acción de la tioredoxina/tioredoxina reductasa. Particularmente, la acción de la MsrA parece prolongar la vida de algunos animales, mientras que su disminución reduce la vida de los mismos¹⁹⁻²¹. Por lo tanto, estas enzimas pueden regular el funcionamiento proteico, estar involucradas en vías de transducción de la señalización, y pueden prever la acumulación de proteínas defectuosas (antioxidante), así como marcar proteínas para su degradación. El mal funcionamiento de estas enzimas pudiera conllevar a cambios celulares que resulten en la necesidad de la acción de otros antioxidantes, enfermedades neurodegenerativas, como Alzheimer's y Parkinson, y una menor expectativa de vida. Además, se ha reportado una disminución de la actividad de MsrA y de su expresión en varios órganos como resultado del envejecimiento, una vez más contribuyendo a la acumulación de ERO y ERN, y por ende al envejecimiento.

Las proteínas también pueden ser modificadas por carbonilación, donde ocurre un ataque oxidativo catalizado por un metal, a los aminoácidos prolina, arginina, lisina y treonina. Adicionalmente, reacciones de carbonilación pueden ocurrir sobre residuos de lisina, cisteína e histidina mediante reacciones secundarias con compuestos reactivos carbonílicos, tales como carbohidratos (productos de glicosilación), lípidos, y productos terminales avanzados de glicación/lipoxidación. Los productos cuantitativamente más importantes de estas reacciones son la formación de semialdehído glutámico de la arginina y prolina, y semialdehído aminoalifático de la lisina²². Las modificaciones inducidas por carbonilación son irreversibles e irreparables, por lo que la cantidad de grupos carbonílicos existentes en una proteína es ampliamente utilizada como un marcador del daño oxidativo. Estas proteínas carboniladas, son marcadas para su degradación en los proteasomas, pero pueden escapar a ello formando agregados de gran tamaño molecular que van acumulándose con la edad. Los agregados pueden volverse citotóxicos y han sido asociados con un gran número de desórdenes como Parkinson's y Alzheimer's, producto del envejecimiento, y cáncer.

Existe un aumento sustancial de proteínas carboniladas a medida que avanza la edad. Esto pudiera deberse a la disminución de las defensas antioxidantes, aumento en la producción de ERO, un aumento en la susceptibilidad de

las proteínas al ataque oxidativo o disminución de la capacidad de remoción de proteínas oxidadas. En cuanto a este último aspecto, Davies y col (2006), reportaron que durante el envejecimiento, el proteasoma 20S, encargado de degradar proteínas modificadas u oxidadas, las cuales han perdido su plegamiento funcional por la oxidación, dejando expuestos los residuos hidrofóbicos, se encuentra progresivamente inhibidos por la unión creciente de agregados proteicos al proteasoma. Los agregados proteicos son generados por una alta oxidación o entrecruzamientos entre sí²³. Este efecto ha sido observado en pacientes que sufren de cataratas, donde hay acumulación de proteínas del lente que han sido modificadas²⁴⁻²⁶. Además, se han observado defectos en el sistema proteolítico de las mitocondrias, lo cual conlleva también a la acumulación de proteínas modificadas en las mitocondrias, contribuyendo así al proceso de envejecimiento celular^{27,28}.

Glúcidos.

En células de mamíferos los glúcidos rara vez representan más del 10% de la masa de una membrana plasmática. Casi todos son oligosacáridos, la mayoría asociados a proteínas y el resto a lípidos, y generalmente están localizados en la superficie externa de la membrana celular. Estos glúcidos están compuestos en su mayor parte por glucosa, galactosa, N-acetil galactosamina y ácido siálico o neuramínico. El ácido siálico es casi siempre terminal y esta es la causa de la carga superficial negativa que, en medios neutros, caracteriza a la mayoría de las células de los mamíferos. Es probable que los carbohidratos jueguen un papel importante en las funciones de la membrana celular, pero, aparte de su intervención en los procesos de reconocimiento celular, poco se sabe de su función.

Daño a las mitocondrias.

La hipótesis del envejecimiento por radicales libres se fortalece al focalizarla en las mitocondrias y se transforma en la teoría del envejecimiento mitocondrial y celular por la acción continua de los radicales libres del oxígeno y del nitrógeno. Las evidencias y los conceptos en apoyo a esta teoría son los siguientes:

- 1.- Las mitocondrias son los sitios de producción de la energía celular (ATP) y una disfunción mitocondrial lleva a un estado de baja disponibilidad energética afectando todo el metabolismo celular.
- 2.- Las mitocondrias son los sitios subcelulares más importantes de generación de O_2^- en los órganos de los mamíferos. Las mitocondrias también generan NO y estos dos radicales libres llevan a la formación intramitocondrial del radical HO \cdot y de ONOO \cdot , dos poderosos oxidantes. La

concentración intramitocondrial de O_2^- es de 5 a 10 veces mayor que la concentración de O_2^- en el citosol y en el núcleo²⁹.

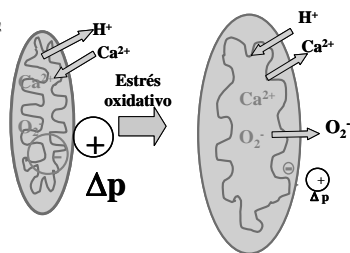
3.- ADN mitocondrial, localizado en la matriz de estos organelos, está muy cerca de los sitios de generación de HO^\cdot y de $ONOO^-$ y no está protegido por las histonas ni tiene un efectivo sistema de reparación, como es en el caso del ADN nuclear.

4.- ADN mitocondrial codifica aproximadamente un 5% de las proteínas de la cadena respiratoria. Los trece péptidos, componentes de la cadena respiratoria y de la F_1F_0 ATPasa, sintetizados de acuerdo a la codificación del ADN mitocondrial son: siete de la NADH-dehidrogenasa; tres de la citocromo oxidasa; dos de la F_1F_0 ATPasa; y uno del citocromo b. Una síntesis defectuosa de estos péptidos produciría un deterioro del mecanismo molecular de transducción de energía.

5.- El deterioro acumulativo del mecanismo molecular de transducción de energía mitocondrial modifica a las organelas a mitocondrias disfuncionales³⁰.

MITOCONDRIAS DISFUNCIONALES

- Disminución del consumo de O_2
- Control respiratorio disminuido
- Aumento en la producción de O_2^- y de H_2O_2
- Potencial de membrana disminuido



Teoría del envejecimiento basada en los radicales libres

Esta teoría fue propuesta por *Denham Harman* en 1956, la cual postula que el envejecimiento resulta de los efectos perjudiciales fortuitos causados a tejidos por reacciones de radicales libres. Estas reacciones pueden estar implicadas en la producción de los cambios del envejecimiento, asociados con el medio ambiente, enfermedad y con su proceso intrínseco³¹⁻³³. Varios aspectos son los temas de interés relacionados con las teorías del envejecimiento:

- El origen de la vida y su evolución.
- El aumento de la longevidad en especies animales sometidas a manipulaciones dietéticas y ambientales.
- El proceso de envejecimiento.
- El gran número de enfermedades en cuya patogenia están implicados los radicales libres del oxígeno³⁴.

Las ERO y ERN contribuyen considerablemente al desarrollo de desórdenes estocásticos observados durante

el envejecimiento. Los radicales libres, además, están implicados en enfermedades degenerativas como arteriosclerosis, amiloidosis, demencia senil tipo Alzheimer, enfermedades auto-inmunes. Pese a ser la teoría de los radicales libres la de mayor aceptación en los últimos años, permanecen preguntas sin una respuesta definitiva, como la de si los radicales libres contribuyen a la iniciación y/o propagación del envejecimiento.

Hasta el principio de los años 90 se conocía relativamente poco sobre los sitios celulares de generación de los radicales libres y sus subsecuentes reacciones moleculares. Teniendo en cuenta los avances que se han producido en este campo^{32,34}, la hipótesis original de los radicales libres en el envejecimiento se ha ido modificando en respuesta a este progreso. De acuerdo con dicha teoría, existe interrelación entre la generación de oxidantes, la protección antioxidante y la reparación del daño oxidativo (los 2 últimos pueden ser inducidos en respuesta al daño). La expectativa de vida puede ser aumentada al disminuir el grado de los fenómenos oxidantes. Esto se lograría con la mejoría de los hábitos higiénico-dietéticos y con el aumento de las defensas antioxidantes. Se considera que la mitocondria es la fuente generadora de especies reactivas del oxígeno (ERO) más importante. El incremento en la formación de O_2^- y H_2O_2 se justifica con el hallazgo de que en el envejecimiento se modifican las condiciones del flujo de electrones en la cadena de transporte de estos.

Los investigadores postulan que las ERO generadas pueden producir daño tanto a la membrana interna de la mitocondria como a los componentes de la cadena de transporte de electrones o al ADN mitocondrial, lo que incrementa más la producción de ERO y consecuentemente más daño a la mitocondria e incremento del estrés oxidativo por aumentar la producción de oxidantes. El genoma mitocondrial es muy susceptible al ataque por radicales libres producido en la propia mitocondria. Esto produce cambios con el tiempo, se compromete la formación de ATP y la síntesis de proteínas. En los últimos años se ha continuado trabajando en el daño que se produce en la mitocondria por los radicales libres, así como el funcionamiento de los procesos que se desarrollan en este organelo. Existen múltiples evidencias que corroboran la importancia de la disfunción mitocondrial en la patogénesis de la destrucción celular que causa envejecimiento, y es el estrés oxidativo el principal inductor de esas alteraciones^{35,36}.

Fotocarcinogénesis, cremas solares, y dióxido de titanio.

Fotocarcinogénesis es la generación de cáncer como resultado de la exposición a la luz. Hay evidencia abundante para apoyar la conclusión de que la exposición

ligera a luz ultravioleta tiene incidencia en los aumentos de dos tipos principales de cánceres superficiales en los humanos: los cánceres de la piel, no-melanoma y los melanomas malignos.

Los cánceres superficiales no afectan a todas las personas por igual. La raza es una variante y la situación global también afecta la incidencia de cáncer. Estas dos observaciones llevan a la determinación eventual de que existen dos factores de riesgo principales en el desarrollo de cáncer superficial, constitución genética y exposición a la radiación ultravioleta. La genética de cada individuo determina la cantidad de composición de melanina de cada piel. La melanina es un protector natural solar, ésta absorbe la luz, previniendo su penetración a través de las capas exteriores de la piel y así evitar de alguna forma de daño a las células internas. Claro, que también los genes determinan la susceptibilidad para producir los diferentes tipos de cáncer³⁷.

Los estudios han mostrado claramente que a una mayor exposición a la luz solar, mayor ha sido la incidencia de cánceres superficiales dentro de una muestra poblacional. En un diagrama del espectro solar, las longitudes de onda que atraviesan la atmósfera de la Tierra, pueden definirse en las siguientes fracciones. La porción del espectro visible al ojo humano correspondiente entre 400-700 nm y el espectro de UV dividido en tres regiones; UVC (200-280 nm), UVB (280-315 nm) y UVA (325-400 nm). UV-A es el tipo de luz de UV encontrado mayoritariamente en la vida cotidiana. Aunque este es de baja energía puede causar daños celulares. UV-B es típicamente más destructivo porque tiene suficiente energía para dañar los tejidos biológicos, y no es completamente absorbido por la atmósfera. UV-B es conocido por causar cáncer superficial. La mayoría de la luz de UV-C extra-terrestre es bloqueada por la atmósfera, pero un pequeño cambio en la capa de ozono podría aumentar el peligro dramáticamente del cáncer superficial. Un papel muy importante con respecto a los fotocarcinogénesis ha jugado el ozono de la atmósfera, el cual absorbe una proporción grande de la luz solar en la región alrededor de 260 nm donde los ácidos nucleicos absorben fuertemente. Los ácidos nucleicos son implicados fuertemente en la absorción de UV y fotocarcinogénesis, ya que el efecto de protección por el ozono es un mecanismo de protección natural. Mucho esfuerzo se ha hecho para dilucidar los mecanismos de la fotocarcinogénesis, pero hasta ahora se ha puesto en evidencia que el camino es largo y complejo, involucrando la interacción con varios componentes celulares, los efectos como la creación de lesiones en los ácidos nucleicos, efectos en la señalización intracelular, supresión inmune y estrés oxidativo.

El eritema actínico o quemadura solar es la respuesta cutánea básica que resulta de la exposición a la radiación actínica, la cual es suministrada por el sol y algunas fuentes de luz artificial, tales como las empleadas en las cámaras bronceadoras. Ésta aparece 3 ó 4 horas después de la irradiación y puede durar de 5 a 6 días dependiendo de la intensidad de la quemadura. Los signos o síntomas característicos de esta dolencia incluyen sensibilidad de la piel al tacto, inflamación o edema y dolor. En ocasiones se experimenta sensación de escozor y pueden aparecer ampollas en la zona afectada. La pigmentación retardada o bronceada aparece después del segundo o el tercer día y, finalmente, después de un período de 6 a 10 días puede ocurrir descamación de la piel. Existen otros tipos de dolencias cutáneas relacionadas con las consecuencias nocivas provocadas por la radiación actínica, pero éstas no son tan frecuentes como la descrita anteriormente. El hecho de que la ocurrencia de dichas afecciones sea reducida, se debe a que las mismas pueden ser ocasionadas por efecto de una sustancia capaz de inducir sensibilidad cutánea frente a la radiación en cuestión. Este fenómeno es denominado *fotosensibilidad* y la sustancia que la genera, *fotosensibilizador*.

Los daños oxidativos causados al ADN, bien sea inducidos por radiación o por agentes químicos exógenos como también por radicales libres liberados en forma endógena son generalmente considerados como causas contribuyentes de cáncer. La oxidación de las bases nitrogenadas en el ADN puede ser detectable directamente por cromatografía líquida de alta presión (HPLC), siendo la 7,8-dihidro-8-oxo-guanina como el producto de oxidación más abundante. Este es frecuentemente considerado como un indicador de estrés oxidativo.

Es bien conocido que todas las células contienen enzimas que específicamente reconocen varias modificaciones en el ADN causadas por radiación y por especies de oxígeno reactivo, probablemente porque ellos representan un riesgo natural. En muchos experimentos se aprovechan las capacidades de reconocimiento en distintos extractos celulares, para caracterizar un tipo determinado de daño al ADN. El ADN superenrollado ("supercoiled") puede ser expuesto *in vitro* a agentes conocidos o que se supone que pueden causar daño de tipo radical libre por ejemplo, y se sondea los resultados con enzimas reparadoras obtenidas de varias fuentes. El ensayo se basa en el hecho de que las enzimas reparadoras de daños específicos cortan los enlaces de azúcar-fosfato del ADN en los sitios modificados ("sitios sensibles a endonucleasa"), típicamente en una acción combinada de una enzima glicosilasa y una endonucleasa. En el caso de la utilización de ADN superenrollado, la incisión causa la relajación de la macromolécula entera a una forma circular. Este último

es fácilmente separado de la forma del original por electroforesis en gel de agarosa y el número de sitios sensibles a endonucleasa puede determinarse. En experimentos sin el tratamiento de la enzima endonucleasa, se obtiene el número de rompimientos simples de la hebra de ADN, producidos directamente por el agente dañino.

Mientras la mayoría de los resultados están de acuerdo con la observación de que las pocas modificaciones producidas por rosa de bengala y azul de metileno en presencia de luz son mediadas por oxígeno singlete, la formación de cadenas simples en el ADN por fotosensibilizadores ha sido una cuestión de debate durante varios años. Para el azul de metileno se ha concluido que los mecanismos oxígeno-dependientes y oxígeno-independientes están involucrados. Los mecanismos de la reacción de Tipo I (no involucrando al oxígeno singlete) también se han citado como responsables para la acción de la rosa de bengala en la inducción de ruptura de las hebras en el ADN. La producción de oxígeno singlete también contribuye al rompimiento de hebras del ADN con rosa de bengala en la presencia de luz. Estos resultados también infieren que el rendimiento global del daño (modificaciones bajas y rompimiento de las hebras), a un nivel dado de producción de oxígeno singlete, es más alto en el sistema fotodinámico que con el oxígeno singlete generado químicamente. El aumento de las rupturas de hebras de ADN en la presencia de Fe^{3+} indica que una reacción del tipo Fenton es posible dependiendo de las condiciones de reacción. Estos resultados podrían ser mejor explicados asumiendo que una interacción de oxígeno singlete con el fotosensibilizador da lugar a un complejo de transferencia de carga o un par radical iónico. Estos no son reconocidos por SOD, pero puede reaccionar con Fe^{3+} -EDTA o directamente con ADN, induciendo un daño de tipo radical (ruptura de hebras)³⁸.

Debido a que entre la exposición de UV y el desarrollo de cánceres superficiales se establece claramente una estrecha relación, los organismos de salud pública se han volcado activamente hacia un programa de educación intentando hacer entender a las personas sobre los peligros asociados con la luz UV. Las maneras en que nosotros podemos intentar modular nuestra exposición a la radiación UV (solar) es usando una barrera física para resguardarnos de ella como: el sombrero y vestimentas, o aplicándonos cremas protectoras en la piel.

Los protectores solares son una rama de la industria cosmética con un amplio espectro de aplicaciones. Entre ellas los archi-nombrados SPF (solar protection factor) factor de protección solar³⁹.

Dentro de la amplia variedad de formulaciones disponibles, existen tres tipos básicos de ingredientes; el componente químico, el biológico y el físico. Los compuestos químicos absorben la radiación UV eficazmente, pero una vez excitados, ellos no sufren ninguna reacción o transfieren esa energía y la desactivan por vía de algún proceso como isomerización. La misma molécula puede pasar por muchos ciclos de absorción y de desactivación, entre ellas energía vibracional (calor). La piel cubierta con este compuesto químico se encuentra protegido ya que la radiación está siendo preferencialmente absorbida por este componente⁴⁰.

Los componentes físicos como aditivos a las cremas protectoras solares se han popularizado en los últimos años debido a su gran demanda y efectividad como protectores del fotoenvejecimiento, lo cual ocurre a causa de la exposición a la radiación UV-A. Es interesante resaltar que así como los óxidos de zinc y de titanio son buenos agentes dispersadores del UVA, ambos son además materiales semiconductores. En el caso de dióxido del titanio, tiene una vacancia que corresponde a la energía de luz en la región de UVA del espectro. La absorción de luz UVA por las partículas de dióxido de titanio en un medio acuoso oxigenado genera ERO como los radicales hidróxilo, el anión superóxido y el peróxido de hidrógeno. Estas especies se conocen por ser tóxicas a varios componentes celulares. El dióxido del titanio, entonces, no puede estar actuando meramente como un agente esparcidor de luz UVA dentro de una crema solar. Este juega un papel como iniciador de la generación catalítica de especies oxigenadas reactivas tóxicas al organismo, en especial a la actividad enzimática de las células. Esto ha determinado ampliar más aún los temas de investigación relacionados con las teorías sobre el envejecimiento⁴¹.

Conclusión

Las especies reactivas de oxígeno y nitrógeno están directamente involucradas en el envejecimiento celular. Cada día existen más evidencias que demuestran que la acumulación de la oxidación del ADN, proteínas y lípidos por radicales libres, son los responsables de la degeneración funcional presente en el cerebro de personas de avanzada edad. Además, los productos de peroxidación lipídica, como MDA y HNE, reaccionan con el ADN y proteínas para inducir aún más daño. Por lo tanto, el impacto de los radicales libres sobre el envejecimiento del cerebro es pronunciado.

Se ha estimado que 10.000 interacciones oxidativas ocurren entre el ADN y los radicales libres generados de forma endógena, por célula humana por día, y que por lo menos una de cada tres proteínas es disfuncional, por estrés oxidativo, en animales de edad avanzada⁴². Esto, aunado a otros factores que pudieran contribuir con el

envejecimiento celular, apunta a la importancia de descubrir nuevas estrategias para tratar cada una de estas alteraciones. Por el momento, podemos decir que la ingesta de antioxidantes exógenos pudiera reducir los daños causados por radicales libres, esto es mientras estamos a la espera de otras estrategias más poderosas.

Los individuos con Alzheimer's se caracterizan clínicamente por la pérdida de la memoria, razonamiento y habla. Al parecer, el daño oxidativo parece ejercer un papel importante en la patología de la enfermedad, pues las reacciones oxidativas del ADN, proteínas y peroxidación lipídica, así como la formación del radical peroxinitrilo⁴³ y disfunción mitocondrial⁴⁴ están presentes en las células de estos pacientes. Presentan un aumento de la producción de ERO en sus fibroblastos, a pesar de que son resistentes al estrés oxidativo, indicando que sus células se resisten al proceso de apoptosis⁴⁵.

De esta manera, hemos ejemplificado los daños causados por los radicales libres, donde la reacción de éstos con los diferentes componentes celulares, pueden dar lugar a enfermedades neurodegenerativas, e incluso inflamatorias, como la Artritis Reumatoide, haciendo hincapié en la importancia de mantener un balance redox estrictamente regulado para prevenir estas enfermedades, aún cuando su origen sea de carácter genético.

Referencias:

- 1.- Ross, I. K. Mitochondria, sex, and mortality. **Annals of the New York Academy of Sciences** **1019** (Strategies for Engineered Negligible Senescence), 581-584 (2004).
- 2.- Calabrese, V., Maines, M. D. Antiaging medicine: Antioxidants and aging. **Antioxidants & Redox Signaling**, (3-4), 362-364 (2006).
- 3.- Cutler, R. G., Mattson, M. P. Introduction: the advertising of aging. **Ageing Res. Rev.**, 5(3), 221-238 (2006).
- 4.- Devasagayam, T. P., Tilak, J. C., Bloor, K. K., Sane, K. S., Ghaskadbi, S. S., Lele, R. D. Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. **J. Assoc. Physicians India** **52**, 794-804 (2004).
- 5.- Sohal, R. S., Weindruch, R. Oxidative stress, caloric restriction, and aging. **Science**, **273**, 59-63 (1996).
- 6.- well, J. C. Guttendge, Free Radicals in Biology and Medicine; first ed.; Clarendon Press: Oxford, p 331, (1985).
- 7.- Izakovic, M., Mazur, M., Rhodes, C. J., Telser, J. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. **Mol. Cell. Biochem.**, **266**, 7-56 (2004).
- 8.- Hulbert, A. J. On the importance of fatty acid composition of membranes for aging. **J Theor. Biol.**, **234**, 277-288 (2005).
- 9.- Jacob, R. F., Mason, R. P. Lipid peroxidation induces cholesterol domain formation in model membranes. **J. Biol. Chem.** **280**, 39380-39387 (2005).
- 10.- Traverso, N., Menini, S., Maineri, E. P., Patriarca, S., Odetti, P., Cottalasso, D., Marinari, U. M., Pronzato, M. A. Malondialdehyde, a lipoperoxidation-derived aldehyde, can bring about secondary oxidative damage to proteins. **J. Gerontol. Am. Biol. Sci. Med. Sci.** **59**, B890-895 (2004).
- 11.- Kang, Z., Li, H., Li, G., Yin, D. Reaction of pyridoxamine with malondialdehyde: Mechanism of inhibition of formation of advanced lipoxidation end-products. **Amino Acids**, **30**, 55-61 (2006).
- 12.- Lee, J. Y., Je, J. H., Kim, D. H., Chung, S. W., Zou, Y., Kim, N. D., Ae Yoo, M., Suck Baik, H., Yu, B. P., Chung, H.Y. Induction of endothelial apoptosis by 4-hydroxyhexenal. **Eur. J. Biochem.**, **271**, 1339-1347 (2004).
- 13.- Bennaars-Eiden, A., Higgins, L., Hertzfel, A. V., Kappahn, R. J., Ferrington, D. A., Bernlohr, D. A. Covalent modification of epithelial fatty acid-binding protein by 4-hydroxynonenal in vitro and in vivo. Evidence for a role in antioxidant biology. **J. Biol. Chem.**, **277**, 50693-50702 (2002).
- 14.- Brand, M. D., Affourtit, C., Esteves, T. C., Green, K., Lambert, A. J., Miwa, S., Pakay, J. L. and Parker, N. Mitochondrial superoxide: production, biological effects, and activation of uncoupling proteins. **Free Radic. Biol. Med.**, **37**, 755-767 (2004).
- 15.- Bergamini, E., Bizzarri, R., Cavallini, G., Cerbai, B., Chiellini, E., Donati, A., Gori, Z., Manfredi, A., Parentini, I., Signori, F. Tamburini, I. Ageing and oxidative stress: a role for dolichol in the antioxidant machinery of cell membranes?. **J. Alzheimers Dis.**, **6**, 129-135 (2004).
- 16.- Girotti, A. W., Kriska, T. Role of lipid hydroperoxides in photo-oxidative stress signaling. **Antioxid. Redox Signal**, **6**, 301-310 (2004).
- 17.- Stadtman, E. R., Levine, R. L. Free radical-mediated oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins. **Amino Acids**, **25**, 207-218 (2003).
- 18.- De la Fuente, M., Hernanz, A., Guayerbas, N., Alvarez, P., Alvarado, C. Changes with age in peritoneal macrophage functions. Implication of leukocytes in the oxidative stress of senescence. **Cell. Mol. Biol.**, **683-690** (2004).
- 19.- Koc, A., Gasch, A. P., Rutherford, J. C., Kim, H. Y., Gladyshev, V. N. Methionine sulfoxide reductase regulation of yeast lifespan reveals reactive oxygen species-dependent and -independent components of aging. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** **101**, 7999-8004 (2004).
- 20.- Petropoulos, I., Friguete, B. Protein maintenance in aging and replicative senescence: a role for the peptide methionine sulfoxide reductases. **Biochim Biophys Acta**, **1703**, 261-266 (2005).
- 21.- Moskovitz, J. Methionine sulfoxide reductases: ubiquitous enzymes involved in antioxidant defense, protein regulation, and

- prevention of aging-associated diseases. **Biochim Biophys Acta**, 1703, 213-219 (2005).
- 22.- Nystrom, T. Role of oxidative carbonylation in protein quality control and senescence. **EMBO J.**, 24, 1311-1317 (2005).
- 23.- Davies, K. J., Shringarpure, R. Preferential degradation of oxidized proteins by the 20S proteasome may be inhibited in aging and in inflammatory neuromuscular diseases. **Neurology**, 66, S93-S96 (2006).
- 24.- Viteri, G., Carrard, G., Birlouez-Aragon, I., Silva, E. and Friguat, B. Age-dependent protein modifications and declining proteasome activity in the human lens. **Arch Biochem Biophys**, 427, 197-203 (2004).
- 25.- Bulteau, A. L., Szweda, L. I. and Friguat, B. Mitochondrial protein oxidation and degradation in response to oxidative stress and aging. **Exp. Gerontol.**, May 3, (2006).
- 26.- Bode-Böger, S. M., Martens-Lobenhoffer, J., Täger, M., Schröder, H., Scalera, F. Aspirin reduces endothelial cell senescence. **Biochem Biophys Res Comm.**, 334, 1226-1232 (2005).
- 27.- Haendeler, J. Nitric oxide and endothelial cell aging. **Eur J Clin Pharmacol.**, 62, 137-140 (2006).
- 28.- Yudoh, K., van Trieu, N., Nakamura, H., Hongo-Masuko, K., Kato, T. and Nishioka, K. Potential involvement of oxidative stress in cartilage senescence and development of osteoarthritis: oxidative stress induces chondrocyte telomere instability and downregulation of chondrocyte function. **Arthritis Res. Ther.**, 7, R380-R391 (2005).
- 29.- Brand, M. D., Affourtit, C., Esteves, T. C., Green, K., Lambert, A. J., Miwa, S., Pakay, J. L. and Parker, N. Mitochondrial superoxide: production, biological effects, and activation of uncoupling proteins. **Free Radic. Biol. Med.**, 37, 755-767 (2004).
- 30.- Zhu, X., Smith, M. A., Perry, G. and Aliev, G. Mitochondrial failures in Alzheimer's disease. **Am. J. Alzheimers Dis. Other Demen.**, 19, 345-352 (2004).
- 31.- Harman, D. Aging: a theory based of free radical and radiation chemistry. **J Gerontol.**, 11, 298-300 (1956).
- 32.- Harman, D. Aging: overview. **Annals of the New York Academy of Sciences**, 928, 1-21 (2001).
- 33.- Nohl, H. Involvement of free radicals in ageing: a consequence or cause of senescence. **Free Rad Med.**, 49, 653-667 (1993).
- 34.- Wood, L. G., Gibson, P. G., Garg, M. L. A review of the methodology for assessing in vivo antioxidant capacity. **J. Sci. Food and Agr.**, 86, 2057-2066 (2006).
- 35.- De Gray, A. D. Free radicals in aging: Causal complexity and its biomedical implicactios. **Free Radical Research**, 40, 1244-1249 (2006).
- 36.- Afanasev, I. B. Free radical mechanisms of aging processes under physiological conditions. **Biogerontology**, 6, 283-290 (2005).
- 37.- Vargas, F., Rivas, C., Cortéz, M., Zoltan, T., Izzo, C., López, V., Gómez, L., Cárdenas, Y. Protectores solares: son fotoestables, fototóxicos??? **Dermatología Venezolana**, in press. (2006)
- 38.- Vargas, F., Zoltan, T., Rivas, C., Salazar, F. Photoinduced apoptosis by photosensitizer drugs. For invitation to publish in the series: New Cell Apoptosis Research. Nova Science Publishers, Inc. Hauppauge, NY 11788, U.S.A. ISBN: 1-60021-450-9, cap. 7 (2007).
- 39.- Heenen, M. Photoprotection, cancer protection and solar protection factor. **Revue medic. de Brux.**, 20, 143-146 (1999).
- 40.- Roscher, N. M., Lindemann, M. K. O., Kong, S. B., Cho, C. G., Jiang, P. Photodecomposition of several compounds commonly used as sunscreen agents. **J. Photochem. Photobiol. A: Chem.**, 80, 417-421 (1994).
- 41.- Dunford, R., Salinaro, A., Cai, L., Serpone, N., Horikoshi, S., Hidaka, H., Knowland, J. Chemical oxidation and DNA damage catalyzed by inorganic sunscreen ingredients. **FEBS Lett.**, 418, 87-90 (1997).
- 42.- Poon, H. F., Calabrese, V., Scapagnini, G., Butterfield, D. A. Free radicals and brain aging. **Clin Geriatr Med.**, 20, 329-359 (2004).
- 43.- Aslan, M., Ozben, T. Reactive oxygen and nitrogen species in Alzheimer's disease. **Curr Alzheimer Res.**, 1, 111-119 (2004).
- 44.- Zhu, X., Smith, M.A., Perry, G., Aliev, G. Mitochondrial failures in Alzheimer's disease. **Am J Alzheimers Dis Other Demen.**, 19, 345-352 (2004).
- 45.- Naderi, J., Lopez, C., Pandey, S. Chronically increased oxidative stress in fibroblasts from Alzheimer's disease patients causes early senescence and renders resistance to apoptosis by oxidative stress. **Mech Ageing Dev.**, 127, 25-35 (2006).