



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

40

24

FACULTAD DE CIENCIAS

ANALISIS DEL PROCESO DE ENVEJECIMIENTO CELULAR

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE BIOLOGO PRESENTA FIDEL CONTRERAS REYES



DIRECTOR DE TESIS: DR. JESUS MANUEL LEON CAZARES

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

1996

DIVISION DE ESTUDIOS PROFESIONALES

FACULTAD DE CIENCIAS EDUCACION ESCOLAR



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CIUDAD UNIVERSITARIA



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS
División de Estudios
Profesionales
Exp. Núm. 55

M. EN C. VIRGINIA ABRIN BATULE
Jefe de la División de Estudios Profesionales
Universidad Nacional Autónoma de México.
P r e s e n t e .

Por medio de la presente, nos permitimos informar a Usted, que habiendo
revisado el trabajo de tesis que realiz^ó el pasante FIDEL
CONTRERAS REYES

con número de cuenta 7504091-0 con el título: "ANALISIS DEL
PROCESO DE ENVEJECIMIENTO CELULAR"

Consideramos que reúne los méritos necesarios para que pueda conti-
nuar el trámite de su Examen Profesional para obtener el título de
BIOLOGO.

GRADO NOMBRE Y APELLIDOS COMPLETOS

FIRMA

DR. JESUS MANUEL LEON CAZARES

Director de Tesis

Q.B.P. ELVA MAYRA TOLEDO CUEVAS

DR. JOSE RAUL ARREDONDO PETER

BIOL. OLIVIA ALICIA REYNOSO DUCOING

Suplente

DR. JOSE EDGARDO ESCAMILLA MARVAN

Suplente

Ciudad Universitaria, D.F., a 4 de Julio de 1994

AGRADECIMIENTOS

Agradesco al Dr. Raúl Arredondo Peter su interés, motivación comprensión, apoyo y orientación para que pudiera realizarse este trabajo.

Al Dr. Jesús Manuel León Cásares, Q.B.P. Elva Mayra Toledo Cuevas, Biól. Olivia Alicia Reynoso Ducoing y al Dr. José Edgardo Escamilla Marván, por la valiosa revisión que realizaron del trabajo y sus importantes sugerencias para mejorarlo.

A todos aquellas personas que de alguna forma colaboraron en la elaboración de este trabajo.

DEDICATORIA

A mis padres que me han apoyado siempre con su cariño y comprensión, y por haberme brindado la ayuda necesaria para alcanzar este objetivo en mi preparación profesional: **Quintina Reyes G. y Guillermo Contreras R.**

A la familia que he tenido la suerte de tener y que ha sido la mayor motivación para mi superación: **Fila, Raúl Alejandro, Octavio y Kenya Isabel.**

Con cariño y estimación a cada uno de mis hermanos que de alguna forma siempre me han apoyado para que pudiera superarme: **Angel, Juan, Guadalupe, Guillermo, Georgina, Irma, Roberto, José Luis, Carlos y Leticia.**

Hacia el fin del milenio, se hace evidente que la fuerza que mueve y transforma al mundo no es la de las armas, la de las máquinas o la del dinero, más bien es la fuerza obtenida del conocimiento que surge de la ciencia y quién transmite y reproduce mejor el conocimiento, transforma el mundo en que vive, crea sociedades más justas, economías más productivas, instituciones más eficientes, en una palabra países más fuertes.

La vejez es solo una parte del ciclo de vida, que hace posible la continuidad de la especie y la variación biológica, por lo que no debemos temerle.

C O N T E N I D O

I RESUMEN	2
II INTRODUCCIÓN	3
a) Análisis del proceso de envejecimiento celular	3
III ENVEJECIMIENTO Y SENESCENCIA	6
a) Envejecimiento	6
b) Senescencia	10
IV TIPOS DE ENVEJECIMIENTO	11
a) Envejecimiento cronológico	11
b) Envejecimiento fisiológico	13
c) La teoría de los radicales libres	15
d) Mecanismos de desamidación	20
e) Mecanismos de glucosilación	20
V ENVEJECIMIENTO EN PROCARIOTES	48
VI ENVEJECIMIENTO EN EUKARIOTOS	50
a) Envejecimiento en los organismos del Reino Protista	52
b) Envejecimiento en los organismos del Reino Fungi	52
c) Envejecimiento en los organismos del Reino Plantae	54
d) Envejecimiento en los organismos del Reino Animal	57
VII ORIGEN Y EVOLUCIÓN DEL PROCESO DE ENVEJECIMIENTO	59
VIII MODELOS Y TÉCNICAS PARA EL ESTUDIO DEL ENVEJECIMIENTO	67
IX CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS	72
X BIBLIOGRAFÍA	76

I RESUMEN

Este trabajo presenta una recopilación de los estudios más sobresalientes, realizados por varios científicos sobre el proceso del envejecimiento en los sistemas biológicos; de manera que proporciona un panorama general del fenómeno que es parte del ciclo de vida de los organismos. Se manejan las causas del envejecimiento las cuales se sustentan básicamente en la producción de los radicales libres como el superóxido ($O_2^{\cdot-}$) y el hidroxil (OH^{\cdot}), que actúan en la estructura molecular de los sistemas vivientes y provocan cambios en su morfofisiología, por ejemplo la peroxidación de los lípidos, los rompimientos en la cadena del ADN, la glucosilación de los azúcares, la diamidación de las proteínas, la formación y acumulación de material peroxidado como las lipofuscinas, etc.

Dichos cambios se presentan constantemente, sin embargo se mantienen bajo control mediante los mecanismos de reparación de las células de cada individuo, los que a su vez se basan en la producción y acción de las sustancias antioxidantes, las cuales son enzimáticas como las catalasas y la superóxido dismutasa y no enzimáticas como el glutatión, el α -tocoferol y los carotenos.

El proceso se hace más notorio conforme avanza la edad del individuo, porque paulatinamente se pierde efectividad en los sistemas de defensa, entonces los daños se incrementan, el organismo envejece y finalmente muere. Se ha podido determinar que el proceso está regido por un control genético, sin embargo es importante mencionar que las condiciones ambientales en que se desarrollan los organismos, influyen de manera determinante en el proceso porque pueden causarles un estrés fisiológico y como consecuencia experimentar un estímulo que encienda los genes del envejecimiento. En el proceso intervienen muchos más factores que se tratan en el desarrollo del trabajo.

II. INTRODUCCIÓN

a) ANÁLISIS DEL PROCESO DE ENVEJECIMIENTO CELULAR

El proceso del envejecimiento celular, es un fenómeno biológico común a todos los seres vivos, debido a que cumple con las fases propias de su ciclo de vida: nacer, crecer, reproducirse y morir. A través de la vida los organismos realizan sus funciones características, las cuales propician un deterioro físico e inician el proceso de envejecimiento que conduce a la muerte. La experiencia humana, con su capacidad para estudiar y analizar cualquier fenómeno natural, confirma que todo tiene un principio y un fin, de tal forma que el proceso del envejecimiento se explica como un suceso natural que siguen los organismos en su comportamiento biológico hasta que se presenta una muerte programada por el mismo sistema viviente.

El hombre ha mostrado siempre gran interés por el estudio e investigación de este fenómeno ya que desea tener los elementos necesarios para explicarse el fenómeno de la vejez y de la muerte.

Uno de los ejemplos más célebres lo muestra el premio Nobel Linus Pauling, quien intentó demostrar que el consumo abundante de vitamina C prolonga sensiblemente la duración de la vida. Pauling consumía diariamente varios miligramos de esta vitamina. Sus experimentos se basaron en la cualidad antioxidante que tiene la vitamina C; sin embargo no logró observar resultados positivos en el desarrollo de su vejez. A pesar de esto, se ha comprobado que en efecto, dicha vitamina es un elemento antioxidante en la sangre y se encuentra en cantidades apreciables de 0.9 ± 0.4 mg por cada 100 ml de sangre (Miquel, 1991).

Actualmente existe un gran interés por parte de la comunidad científica sobre el fenómeno del envejecimiento y por los mecanismos responsables del mismo; de tal forma que se creó una especialidad en la medicina que es la Gerontología, la cual estudia específicamente los mecanismos responsables del envejecimiento. Las investigaciones se han realizado en diferentes organismos (ratones, moscas, ratas y conejos) para obtener evidencias más determinantes sobre dicho fenómeno.

Sin embargo, la tarea más urgente de la Gerontología ha sido situar al fenómeno del envejecimiento en un campo en el que pueda cuantificarse con exactitud. La mayoría de los gerontólogos consideran que lo elemental es encontrar un tratamiento profiláctico que sirva para disminuir el ritmo normal de envejecimiento y como consecuencia, que los seres vivos sean más resistentes a un gran número de enfermedades comunes del proceso, tales como el cáncer y la arteriosclerosis, entre otras. Pero para esto es necesario que se conozcan con más detalle los mecanismos y rutas metabólicas del funcionamiento celular durante el envejecimiento, para poder instrumentar medidas apropiadas que ayuden

a mantener la esperanza de vida en los individuos, con una calidad de vida, en la que haya las condiciones de salud adecuadas en personas de edad avanzada. Actualmente el promedio de vida es de 70 ± 10 años.

Hoy en día existen varias teorías que intentan explicar el proceso del envejecimiento y el número se incrementa debido al rápido progreso de la investigación en esta área del conocimiento (Medvedev, Zh. 1990).

La primera teoría del envejecimiento la propuso Weisman en 1882. Esta no explica los mecanismos del envejecimiento, debido a que en su momento se consideró como un proceso necesario en la vida de los organismos y el cual al final de su ciclo provoca la muerte.

Actualmente este proceso se considera como un factor esencial en la evolución de las especies, ya que impide la competencia por el espacio y el alimento entre los progenitores y su descendencia; así que el envejecimiento y la muerte son fenómenos que suceden en los organismos como parte de sus características biológicas y su proceso de evolución.

Las primeras teorías sugieren que el envejecimiento es resultado del deterioro mecanoquímico del protoplasma celular, sin embargo actualmente se consideran obsoletas por lo que ya no se incluyen en las teorías fisicoquímicas, pues éstas proponen que el proceso de envejecimiento es el resultado del deterioro de la calidad y composición de las proteínas y ácidos nucleicos que constituyen a las células.

Existen diversas teorías que se basan en los cambios morfofisiológicos que se observan en los organismos durante sus diferentes etapas de desarrollo. La observación de estos cambios y las patologías que se presentan generalmente son comunes durante el ciclo de vida de los individuos; la mayoría de los científicos consideran a éstos como la causa principal de muerte (Medvedev, Zh. 1990).

Algunas de las teorías actuales que explican el fenómeno del envejecimiento se mencionan a continuación:

a) Teorías del programa genético, son las que consideran al envejecimiento como una continuidad de la morfogénesis del organismo, pero en forma destructiva.

b) Teorías evolutivas, son aquellas que explican la edad cronológica de las especies en la historia natural, desde el origen de la vida hasta la era actual con base en la variación de su longevidad y sus características, es decir muestran la naturaleza de las diferencias entre un ciclo de vida corto en comparación con un ciclo de vida largo, con base en el origen filogenético y

evidencias paleontológicas, anatómicas, fisiológicas, bioquímicas, genéticas y embriológicas.

c) Teorías del tejido específico, estas explican el envejecimiento con base en un patrón específico que se observa en las células y tejidos de forma individual, es único más no es generalizado; por ejemplo la teoría del colesterol, el origen de la arteriosclerosis, los cambios que experimentan las proteínas, el envejecimiento del cristalino y la cornea del ojo humano, la peroxidación de los lípidos en las membranas biológicas, el envejecimiento de los glóbulos rojos, etc.

Este trabajo de tesis se realizó con base en una minuciosa revisión de los artículos publicados por varios autores que han desarrollado importantes técnicas de investigación, en el campo de la gerontología.

El objetivo principal de dicho trabajo es proporcionar un panorama general de todos los aspectos más sobresalientes del proceso del envejecimiento en los organismos, para lo cual se hace un análisis de la información obtenida en las fuentes bibliográficas antes mencionadas.

Para explicar de una forma más completa el fenómeno del envejecimiento, a continuación se discuten las teorías que se consideran de mayor importancia en el proceso.

a) La existencia de un programa genético que es el que determina el proceso de envejecimiento y que se manifiesta a través del desarrollo normal de cada individuo (Medvedev, Zh. 1990).

b) La teoría de los rompimientos progresivos que ocurren en la estructura de las moléculas, especialmente las proteínas y el ADN (Medvedev, Zh. 1961, 1962, 1986 y 1990).

En general se menciona que ésta clase de fenómenos, los cuales ocurren en las moléculas de los organismos, son la base del proceso de envejecimiento, porque cada vez es más difícil restablecer las partes rotas por parte del sistema de reparación que tienen las células de los organismos, y así el envejecimiento se acentúa cada vez más conforme avanza el ciclo de vida de los individuos.

c) La teoría de la destrucción de los componentes del organismo por medio de su propio sistema inmune (Medvedev, Zh. 1990).

Se trata de una autodestrucción por parte del propio organismo, en donde intervienen todos los elementos del sistema inmunológico. Estos alteran los componentes celulares y así se destruye a las células, con un objetivo específico, como ocurre con la eliminación de algunas de ellas en los embriones durante el proceso de diferenciación de sus tejidos y órganos, un proceso parecido ocurre en la metamorfosis de los insectos, etc.

d) La teoría de los daños que causan los radicales libres que se producen en las células mediante el metabolismo del oxígeno, que participa en la respiración celular. Esta teoría apoya la idea de que la causa principal del envejecimiento es en el nivel bioquímico, en donde las moléculas reaccionan con los radicales libres, como son el superóxido: $\{ O_2^{\cdot -} \}$ y el hidroxilo: $\{ OH^{\cdot} \}$. A éstos se suman las influencias del factor genético y el medio en que se desarrollan los organismos (Harman, 1981).

Todas éstas teorías explican el proceso del envejecimiento desde puntos de vista diferentes, sin embargo al integrarse los conocimientos se obtiene una evaluación más completa del proceso, para proporcionar un panorama general del fenómeno y así cumplir con los objetivos que se pretenden en este trabajo.

El envejecimiento es el proceso en el cual los organismos sufren un deterioro morfofisiológico que disminuye lentamente su capacidad funcional hasta causar la muerte, sin embargo en el cuerpo sin vida las células se mantienen vivas unas horas más, para posteriormente morir. Estos fenómenos son de gran interés, así que en este trabajo se consideró que debían tratarse los estados de vida y de muerte para aclarar más ampliamente el proceso de envejecimiento a través del análisis que se efectúa.

Por lo tanto se toman en cuenta una serie de características que hacen diferentes a los organismos vivos de los no vivos y que a continuación se mencionan:

En la materia viva la célula es la unidad fundamental del sistema célula-medio ambiente, en donde las células tienen un citoplasma con una estructura interna compleja en forma de red llamada citoesqueleto que se adapta a los cambios propios de su estado y así favorece las reacciones que se efectúan en el sistema

Todos los seres vivos están constituidos por células. cada una de ellas fundamenta su morfofisiología y una serie de propiedades que los diferencia de los seres inertes.

La vida tiene una serie de características que le confieren la capacidad para responder a las condiciones ambientales en las que se desarrolla y el sistema se comporta termodinámicamente, de tal forma que es un sistema abierto que mantiene un orden al ser capaz de alimentarse y retroalimentarse.

Por lo tanto la célula tiene la capacidad para:

- 1) Estar en continuidad fisiológica con su entorno.
- 2) Intercambiar materia y energía con su medio.
- 3) Biosintetizar.
- 4) Reproducirse.

Los organismos tienen un complejo bioquímico constituido por moléculas que son fundamentales en su morfofisiología, tales como carbohidratos, lípidos, proteínas y ácidos nucleicos. Todas ellas intervienen de diversas formas en la realización de una serie de reacciones metabólicas que conforman el metabolismo celular, como ocurre con la oxidación de la glucosa, la glucólisis o fermentación. Estos mecanismos son los que producen la energía de la célula que mantiene el estado de desequilibrio termodinámico que caracteriza a la vida, a partir de sustratos oxidables que obtiene del medio.

En los procesos metabólicos las células requieren de la intervención de varias enzimas, que catalizan o aceleran las reacciones bioquímicas, que son la esencia de la vida de los organismos vivos.

Por lo tanto, los organismos son sistemas que tienen propiedades individuales determinadas por un programa genético que se hereda a la descendencia por medio del ADN y de éste dependen básicamente todos los procesos vitales.

En forma general para todos los sistemas existe una tendencia hacia el caos, llamado efecto de la entropía, el cual se define como la cantidad termodinámica que se usa para medir el caos o desorden de un sistema.

De tal forma que a mayor desorden, mayor es la entropía, así lo estableció Ludwig Boltzmann (1844-1906), citado en Holm, 1977. Sin embargo los sistemas vivientes muestran estabilidad a pesar de que funcionan en contra de la segunda ley de la termodinámica, y contrario a lo que ocurre con los sistemas inertes.

La teoría de Harman (1981) acerca de la muerte celular, menciona que los organismos en la fase final de su ciclo de vida, presentan un proceso de decadencia lento que caracteriza al periodo de envejecimiento el cual a su vez está asociado a la acumulación progresiva de cambios deletéreos que causan la muerte cuando se debilitan las células y llegan hasta un estado en el que pierden una o más actividades vitales que las lleva por debajo de un nivel crítico (Harman, 1981).

Otra de las teorías, menciona que la muerte de las células está determinada en su propio programa genético, sin embargo no todas las células de un mismo individuo tienen la misma duración, ya que algunos tejidos envejecen y mueren más pronto que otros.

Por ejemplo en el cuerpo de los mamíferos los eritrocitos son de vida corta si se comparan con otros tipos de células como los miocitos, osteocitos o neuronas.

Un ejemplo de muerte celular lo representa la apoptosis o muerte celular programada la cual se explica a continuación.

La muerte celular programada es un fenómeno que se observa en varios tipos de células, sin embargo resulta muy importante para los procesos de

diferenciación y formación de órganos, así como para el desarrollo embrionario de los organismos. Las células se someten a un proceso de diferenciación para formar a los diferentes órganos, aparatos y sistemas del nuevo individuo. En este proceso mueren un gran número de células, ha éste se le ha llamado apoptosis (fig. 1) (Miquel, 1991). Este tipo de muerte, también resulta importante en el proceso de diferenciación de tejidos, órganos y en la regeneración o renovación parcial de tejidos en el cuerpo de los organismos, para mantenerlos en un equilibrio funcional.

La muerte del organismo completo ocurre cuando se mueren los órganos vitales y ya no existe ningún intercambio de nutrientes en el medio intercelular, sin embargo ya se comentó antes que algunos tejidos se mantienen vivos unas horas después, porque no se asfixian al mismo tiempo, entonces su vitalidad se mantiene hasta que ya no hay los elementos necesarios en el medio circundante.

En apoyo a todas éstas ideas que se han manejado, se hizo un estudio que se realizó con embriones de mamíferos, en donde se observó que mediante el programa genético se induce la producción de células secundarias que ayudan en los procesos de diferenciación del nuevo individuo y después de ser útiles mueren, así sucede con muchas de las neuronas que desaparecen antes del nacimiento (Miquel, 1991). Algo similar ocurre con los esbozos de algunas estructuras en el embrión de pollo, donde también desaparecen algunas células para darles la forma adecuada y constituir al nuevo ser durante el proceso de la organogénesis. Este tipo de muerte celular afecta únicamente a ciertos grupos de células en forma muy precisa.

XIII - ENVEJECIMIENTO Y SENESCENCIA

En la bibliografía que se revisó sobre el proceso del envejecimiento se detecta que existe confusión en los términos de envejecimiento y senescencia, entre la mayoría de los autores, debido a que utilizan indistintamente los dos términos para referirse al mismo fenómeno, por lo tanto se ha considerado en este trabajo especificar cada uno de ellos para evitar confusiones.

a) Envejecimiento

El proceso del envejecimiento en todos los organismos, se considera como un fenómeno innato porque es una acumulación progresiva de alteraciones morfofisiológicas a nivel celular que afectan el funcionamiento general del organismo. Las causas de éstos efectos están asociadas con factores endógenos y exógenos que actúan sobre los organismos y activan el proceso tarde o temprano.

El proceso del envejecimiento ha sido objeto de considerables especulaciones dentro y fuera de la investigación científica. Sin embargo, la información que se maneja actualmente sobre el proceso en el campo de la ciencia, asegura que se debe principalmente a la acción de los radicales libres

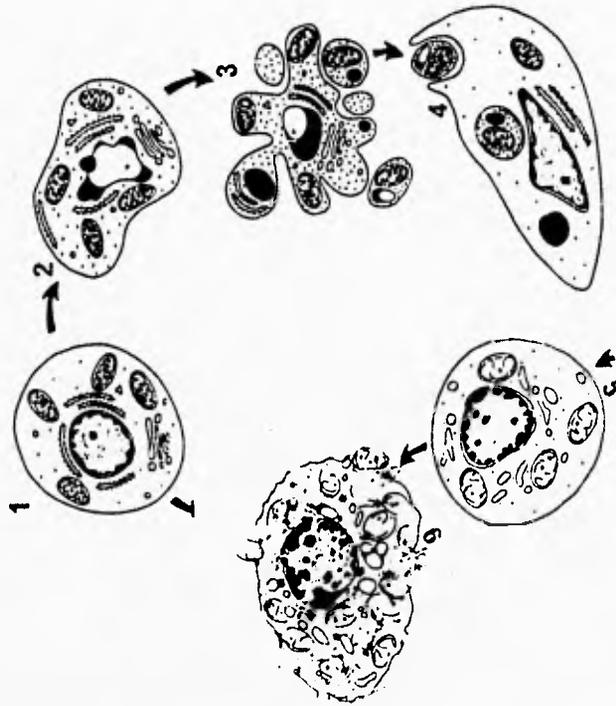


Figura 1 - El esquema muestra los cambios que se realizan en el interior de las células que experimentan la apoptosis o muerte celular programada, en células de timo.

- 1 - Se observa una célula normal.
- 2 - Se inicia la apoptosis con una serie de cambios bruscos en la masa de la cromatina, fenómenos de segregación y compactación que hacen perder a la célula la integridad de su membrana nuclear. El citoplasma se condensa y en el núcleo se forman circunvoluciones de poca intensidad, el proceso se efectúa rápidamente.
- 3 - El núcleo se fragmenta y en la membrana celular se forman lóbulos o protuberancias que cambian su morfología externa. Al final se separan porciones del interior de la célula que atraviesan la membrana, las cuales son fagocitadas y digeridas por las células adyacentes.
- 5 - El núcleo presenta la cromatina bien definida, mientras que la matriz de las mitocondrias cambia su apariencia.
- 6 - Finalmente se rompe la membrana y la célula se desintegra al final de la apoptosis.

que se generan en el funcionamiento metabólico de las células. Nos referimos especialmente a la teoría de los radicales libres propuesta por Harman en 1956. Esta teoría menciona que los radicales libres muestran una gran actividad química, reaccionan con las moléculas y cambian su estructura y funcionalidad dentro del sistema celular, como consecuencia se presentan daños, tales como: la peroxidación de los lípidos en las membranas celulares, el rompimiento de las cadenas del ADN, la diamidación de las proteínas, etc. Más adelante se explicará con más detalle la teoría de los radicales libres.

Las causas exógenas del envejecimiento celular se derivan de los elementos que forman el ambiente externo tales como la temperatura, el alimento, la salinidad, el pH, la competencia por el espacio, etc. Estos factores pueden variar drásticamente y alcanzar niveles intolerables por los individuos, que se ven sujetos a un estrés fisiológico que desen-cadena el proceso del envejecimiento, así que su crecimiento y desarrollo se suspenden y el individuo puede morir. Un ejemplo de esto es el caso de un animal silvestre que se tiene en cautiverio o enclaustrado a un lugar que no cuente con las condiciones a las que esté acostumbrado. También una planta mesófila que se ubica en un ambiente con escasez de humedad, experimenta un estrés por falta de agua, envejece y muere relativamente rápido.

Senescencia

La senescencia en los organismos vivos, es un conjunto de procesos degenerativos que se presentan en su funcionamiento y son controlados genéticamente, así que persisten en los individuos hasta causar la muerte de ciertos tejidos o de todo el cuerpo. Este proceso es muy común en los vegetales, donde participan mecanismos de regulación del estado fisiológico al producirse fitohormonas, hormonas vegetales y radicales libres. A diferencia del proceso del envejecimiento la senescencia comprende un amplio grupo de procesos degenerativos que incluyen en forma total o parcial al cuerpo del organismo. Dichos procesos pueden ser inducidos por factores endógenos, exógenos y o genéticos (Ponce de León *et al.*, 1992).

Por lo tanto en el proceso de envejecimiento, cuando participan los factores del medio ambiente directamente se trata de envejecimiento fisiológico, en cambio la senescencia es un proceso que puede mantenerse latente y se desencadena solo en el momento en que el organismo alcanza una nueva etapa en la que es necesario cambiar algunos tejidos, para darle la forma y función a las partes del cuerpo o para renovar su ciclo de reproducción. Por lo que senescencia es un término que se usa comúnmente en el envejecimiento y muerte parcial del cuerpo de las plantas, tales como el envejecimiento de las hojas, los tallos, las flores y otros órganos. Por lo tanto, con base en lo expuesto anteriormente se reafirma que la senescencia es un proceso controlado genéticamente en cada individuo. La mayoría de los científicos en éste campo cuando lo relacionan con los animales, dicen que es un envejecimiento cronológico, más sin embargo, en muchos casos utilizan los dos términos para referirse al mismo fenómeno.

IV - TIPOS DE ENVEJECIMIENTO

El envejecimiento en los organismos se da como un fenómeno inherente a su propia naturaleza, existen diferencias en la velocidad del proceso a nivel de tejidos y órganos del mismo individuo, sin embargo los efectos y consecuencias son los mismos. También se observan éstas diferencias en la velocidad del envejecimiento entre individuos de diferentes especies, porque la longevidad de cada una es variable. Como ya se mencionó anteriormente, el envejecimiento es inducido por factores exógenos y endógenos, que intervienen en los sistemas vivientes y generan los cambios deletéreos característicos del proceso y con base en éstos factores se dice que el envejecimiento es de tipo fisiológico y cronológico, ambos se explican con detalle a continuación.

a) **Envejecimiento cronológico:** Es el que está determinado en el programa genético del organismo, porque cada célula tiene en su programa genético contemplado el proceso del envejecimiento y también el momento en el que debe mostrarse. Cuando las defensas antioxidantes del organismo son insuficientes para evitar el daño a nivel celular se presentan cambios a nivel estructural y funcional, por ejemplo la peroxidación de los lípidos, la alteración química de los ácidos nucleicos y de las proteínas. Este proceso se inicia tarde o temprano con base en la longevidad del individuo, la cual depende de las características biológicas y evolutivas de su especie. La longevidad es una característica que se encuentra programada en el material genético de las células y está determinada por los genes *lode*, (Cutler, 1991) los cuales también controlan la velocidad del envejecimiento a través del ciclo de vida, por lo tanto el proceso es cronológico, porque actúa en función del tiempo.

Por ejemplo el **modelo de la célula espiral** (fig. 2) muestra la existencia de una coordinación sucesiva de ciclos, en donde de forma inherente cada célula tiene una longevidad determinada. Se ha propuesto que la esperanza de vida depende de un accionar estocástico que activa una región específica del programa genético y así se desencadena el envejecimiento el cual finalmente conduce a la muerte celular (Jazwinski *et al*, 1989).

Este modelo explica que los ciclos celulares son sucesivos y coordinados, de tal forma que los acontecimientos se dan en un punto específico de la espiral de la célula, los cuales al propagarse generan fenómenos posteriores dentro de la espiral, que multiplican las células. Existen evidencias sobre la coordinación de los ciclos celulares sucesivos en las levaduras, éstos están implícitos en su régimen biológico, debido a que la coordinación de dichos ciclos es controlada por el programa genético, en el que se incluye específicamente al gene *cdc* que sintetiza las moléculas requeridas para mantener varios ciclos celulares, el proceso se rige bajo las condiciones de una memoria molecular que previamente indica los ciclos de la célula (Byers y Sowder, 1980; Sciafani *et al*, 1988).

En los animales el proceso de envejecimiento está relacionado con varios factores, uno de ellos es la actividad hormonal que se asocia al proceso, como se observa en un estudio sobre el patrón de cambios que muestran las proteínas,

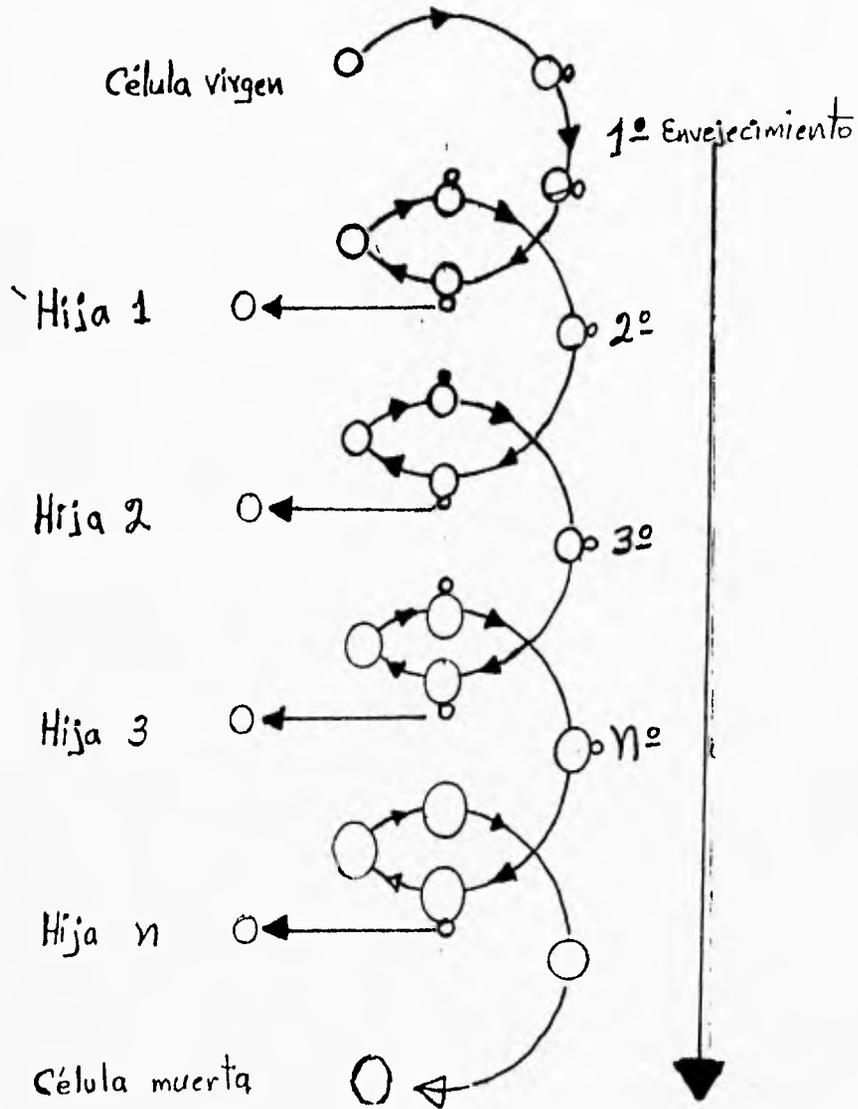


Figura 2 - El esquema muestra el modelo de la célula espiral. Este se inicia con una nueva célula que experimenta un ciclo celular sucesivo en el que se generan en forma consecutiva células hijas, el proceso de división se detiene hasta que la célula envejece y finalmente muere. Los ciclos celulares muestran una buena coordinación a través del mecanismo en espiral. Tomado de (Jazwinski, 1990).

que fueron utilizadas como marcadores del envejecimiento en el hígado de rata, por ejemplo la SMP2 en la que se pudieron observar una serie de cambios en los niveles de producción de dicha proteína y a los cuales se deben ciertas modificaciones que se presentaron en la sensibilidad del hígado hacia las hormonas andrógenas.
(Demyan et al, 1989).

Al estudiar la secuencia reguladora de los genes que codifican para la síntesis de la proteína SMP2, se encontró que contienen elementos que sirven para la especificidad de su expresión en los hepatocitos, así como la acción de los andrógenos influye para que se expresen otros genes que inducen la síntesis de dicha proteína.

Por lo tanto el envejecimiento cronológico es el que se muestra de forma innata en el ciclo de vida de los organismos, con base en el programa genético que poseen y en relación al tiempo de vida, observándose un patrón de comportamiento regular del proceso en todos los individuos.

Con los planteamientos que se han expuesto se reafirma que el envejecimiento y muerte de las células están bajo el control de su propio programa genético.

b) **Envejecimiento fisiológico:** Este se presenta cuando los organismos experimentan el proceso del envejecimiento como consecuencia del funcionamiento de sus células, tejidos, órganos, aparatos y sistemas; lo cual al sumarse al tipo cronológico constituyen en forma global el envejecimiento del individuo.

El proceso fisiológico se da en los organismos como consecuencia del deterioro funcional, que se debe a la interacción con los factores ambientales de su entorno, esto es a la influencia de factores exógenos como la temperatura, la salinidad, el alimento, la humedad, entre otros. Las condiciones del medio ambiente son las que determinan en gran parte el desarrollo del proceso, de tal forma que lo pueden inducir y acelerar cuando no son las más apropiadas para el crecimiento y desarrollo de los individuos.

Sin embargo los organismos responden a las condiciones críticas que enfrentan y generalmente controlan su funcionamiento para adaptarse, siempre y cuando no se rebasen los límites tolerables, si es así experimentan un estrés fisiológico que propicia su envejecimiento y muerte.

Un ejemplo de esto lo representa el estudio que realizó Sohal et al, (1989) en la mosca *Drosophila melanogaster*, encontró que la tasa de consumo de oxígeno se conserva en relación directa con la temperatura del ambiente y su tiempo de vida se relaciona inversamente con la temperatura. Por lo tanto el ciclo de vida de la mosca es más corto si vive en un ambiente con temperatura elevada y su consumo de oxígeno es más alto, en cambio cuando la temperatura del ambiente es más baja, el consumo de oxígeno es menor y como consecuencia su ciclo de vida se alarga.

Los resultados obtenidos en éstos experimentos por Sohal, muestran que hay una correlación entre la longevidad de la mosca y la velocidad metabólica que desarrolla durante su ciclo de vida, ya que se observa la existencia de una cantidad finita de gasto total de energía durante la vida del organismo. Por lo tanto el programa genético del envejecimiento cronológico registra el paso de los fenómenos metabólicos más que el paso del tiempo. Es decir, que el tiempo de vida de la mosca está controlado por cierto número de ciclos metabólicos y si éstos se efectúan con rapidez por la influencia de la temperatura, entonces su esperanza de vida se acorta.

Sohal (1986) establece que el mecanismo principal mediante el cual la velocidad metabólica ejerce influencia en la velocidad de envejecimiento de los organismos es el que corresponde a la producción de los radicales libres e hidropéroxidos como mediadores.

Sohal *et al.* (1989), proponen la hipótesis del estrés oxidativo del envejecimiento con base en la teoría de Harman (1981), aseguran que el incremento de radicales libres acelera el estrés oxidativo conforme a la edad de cada individuo y que se manifiesta por medio del estado de redox el cual se vuelve cada vez más oxidante, es decir menos reductor durante el proceso del envejecimiento.

El estrés oxidativo se caracteriza por sufrir una disminución en la relación de NADPH/NADP; glutatión reducido/glutatión oxidado y por un aumento en los niveles de peróxido de hidrógeno. Los cambios que se presentan en el estrés oxidativo se deben principalmente a la disminución de los mecanismos antioxidantes de defensa y a un aumento en la producción de radicales libres y peróxido de hidrógeno.

La hipótesis de Sohal establece que el estrés oxidativo actúa fisiológicamente al inducir y conservar el proceso de diferenciación celular, porque se ha propuesto con base en evidencias experimentales que los radicales libres propician un estado de reducción óptimo que induce y mantiene el estado celular diferenciado (Sohal *et al.*, 1989). Por ejemplo el estrés oxidativo induce las expresiones de los genes *oxiR* en *Salmonella sp* y en *Escherichia coli*, en donde se ha podido identificar una proteína relacionada con dichos genes, y participa en la regulación positiva de los genes inducidos por el estrés oxidativo.

Así que las bacterias responden a los productos de la oxidación peróxidos y superóxidos, al estimular la expresión de genes reguladores como el *oxiR* y el *soxRS*. Los cuales inducen la producción de catalasas y de superóxido dismutasa, su papel es ayudar a nivelar los efectos del estrés oxidativo. A este proceso se suman las endonucleasas que son sintetizadas y actúan en conjunto con las otras hormonas para conformar los mecanismos de reparación de los daños causados por los radicales libres (Farr y Kogoma, 1991).

En otros trabajos de investigación, se logró purificar la proteína que es originada por medio de la expresión del gene *oxiR* y se encontraron dos variantes de la misma, una de ellas oxidada y la otra reducida, se pudo observar que sólo la forma oxidada activa la transcripción *in vitro*, de los genes inducidos por el

estrés oxidativo. La conversión *in vitro* de la proteína reducida a su forma oxidada es rápida y reversible. Los resultados obtenidos en esta investigación son la base que sirve para proponer que la oxidación directa de la proteína, le proporciona un cambio conformacional que a su vez propicia en los genes *oxiR* su expresión y así transducen la señal del estrés oxidativo a la enzima ARN polimerasa (Stortz *et al.*, 1990).

Como ya se mencionó anteriormente en el proceso del envejecimiento la teoría de los radicales libres es fundamental para su comprensión por lo tanto se tratan aspectos fundamentales de la misma a continuación.

c) La teoría de los radicales libres.

Fue planteada por primera vez en 1956 por Harman. La producción de radicales libres es un proceso bioquímico común en el funcionamiento biológico de todos los organismos. Su producción y sus efectos se controlan mediante el programa genético en el que también se incluyen los mecanismos de defensa. Su acción causa el estrés oxidativo el cual a su vez sirve de estímulo para que se expresen ciertos genes que están relacionados con la síntesis de enzimas reguladoras del estrés como las catalasas y la superóxido dismutasa.

Por lo tanto los radicales libres son generados por el metabolismo celular, y éstos a su vez reaccionan químicamente con los componentes de la célula, tales como: ácidos nucleicos, proteínas, lípidos y carbohidratos a los que les causan daños irreversibles, ya que no es posible que sus moléculas regresen por sí mismas a la forma que tenían antes de la reacción. Estos cambios modifican la morfología de la célula al producir, por ejemplo, la peroxidación de los lípidos, los rompimientos sencillos y dobles en las cadenas de nucleótidos del ADN, entre otros; como consecuencia se presentan enfermedades que caracterizan al envejecimiento, de los organismos, como la arteriosclerosis, artritis reumatoide, desordenes inflamatorios del intestino, mutagénesis y producción de tumores (Farr y Kogoma, 1991).

Harman, (1980, 1981) explica en forma razonable la presencia de las reacciones de los radicales libres en los procesos bioquímicos con base en un análisis de la teoría de la evolución de la vida, y establece los siguientes fundamentos: La vida se originó hace unos 3500 millones de años mediante una serie de reacciones químicas al azar, que experimentaron los radicales libres que existían en la tierra primitiva, los cuales seguramente se habían formado como consecuencia de los efectos que causó la radiación ionizante del Sol, entonces se seleccionaron al azar las reacciones químicas que resultaron de mayor importancia para formar y mantener los sistemas moleculares más viables como las microesférulas o los coacervados y posteriormente los protobiontes.

Entre las primeras moléculas que se sintetizaron se encontraban ciertos aminoácidos y proteínas de bajo peso molecular las cuales seguramente

desarrollaron una función de gran importancia en la morfofisiología y metabolismo de los primeros sistemas moleculares que constituyeron.

Actualmente se ha podido demostrar que las reacciones entre los radicales libres se presentan al estar expuestos a la radiación ionizante (Altman *et al.*, 1970). También se generan a través de reacciones enzimáticas y no enzimáticas. Particularmente en los dos procesos con mayor ganancia de energía que se realizan en los sistemas biológicos: La fotosíntesis y la respiración celular (Mead, 1976), (Loach y Hales, 1976), y (Chance *et al.*, 1979).

Los radicales libres también pudieron generarse a partir de los residuos moleculares producidos por los aceptores de electrones que se encuentran en los organismos anaerobios como el radical $-NO$ que se encuentra en las bacterias fijadoras de nitrógeno (Gottschalk y Andressen, 1979; Ljones y Burris, 1980); el CO_2 en las bacterias metanógenas y el $=SO_2$, presente en las bacterias sulfurosas (Gottschalk y Andressen, 1979).

Lo más probable es que de la gran cantidad de reacciones con radicales libres, algunas hayan formado enzima que a su vez desarrollaron funciones de mantenimiento en los sistemas, mientras que otras pudieron en un principio provocar cambios al azar en las estructuras orgánicas y posteriormente ya intervenir en reacciones enzimáticas.

Con base en lo anterior se deduce que los radicales libres se originaron conjuntamente con los sistemas biológicos, por lo que han sido piezas fundamentales de su morfofisiología y son los causantes directos de su envejecimiento y muerte.

Los daños que causan los radicales libres dentro de los sistemas biológicos se presentan en sitios específicos de las moléculas, al reaccionar químicamente con sus componentes y dichas reacciones químicas son catalizadas principalmente por los iones metálicos Cu^{II} y Fe^{II} .

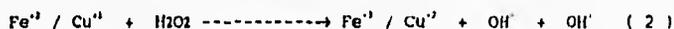
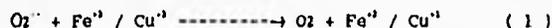
Los iones de cobre y hierro se unen a sitios específicos de las moléculas y actúan como un centro de producción repetitiva de los radicales hidróxido, por que facilitan las reacciones entre las moléculas y los radicales libres, así los radicales hidróxido son producidos en la reacción de Fenton o de Haber-Weiss, la cual incluye una serie de reacciones, en donde se reduce el oxígeno y se originan sus productos intermedios que son el radical superóxido (O_2^-), y el radical hidroxil (OH^{\cdot}).

Los iones metálicos de cobre y hierro se encuentran en cantidades suficientes para catalizar las reacciones químicas con los radicales libres y propiciar efectos deletéreos en las células. En el cuerpo humano el cobre y el hierro existen en una relación de $Fe/Cu=80/1$ (p/p). El cobre y el hierro son elementos fundamentales, porque actúan como mediadores en la toxicidad que generan los radicales libres (Chevion, 1988).

La acción catalítica de los metales de transición, particularmente el hierro y el cobre, fueron relacionados con las reacciones de los radicales libres desde la década de 1970. Algunos datos que se obtuvieron de los trabajos experimentales que realizaron Gille y Joenge en 1992 y en el cual utilizaron cultivos de células para demostrar el estrés oxidativo, se pudo corroborar que el peróxido de hidrógeno penetra fácilmente la membrana celular, pero ya en el interior es destruido principalmente por las catalasas, de tal forma que la sensibilidad hacia los efectos deletéreos del H₂O₂ en la célula está correlacionado inversamente con la actividad de las catalasas.

El peróxido de hidrógeno por sí mismo es un compuesto poco reactivo, sus efectos dañinos se deben a que es el precursor directo de la producción de radicales hidroxil. Y es en este proceso en el que se requiere necesariamente de los metales de transición que catalizan las reacciones químicas llamadas de Haber Weiss. Los metales se encuentran en forma reducida y ésta condición es la que asegura la producción continua de radicales hidroxil. Los metales catalizadores se mantienen en forma reducida gracias a la actividad del radical superóxido que se produce a través de la reacción de Haber Weiss, y por otros agentes reductores como el ascorbato y/o la GS (glutation sintetasa).

Uno de los sitios en donde se encuentran los metales de transición es en la cromatina, esto se explica porque existe una gran abundancia de rompimientos sencillos en la cadena de ADN y gran cantidad de peróxido de hidrógeno (Mello-Filho *et al.*, 1984). Por lo que se deduce que las trazas de hierro y/o cobre solubles son capaces de catalizar la reacción de un radical anión superóxido O₂⁻ hasta convertirlo en radical hidroxil OH[•] el cual es muy activo químicamente, según la reacción de Haber Weiss o de Fenton:



Como los iones metálicos son insolubles en condiciones fisiológicas, permanecen en la célula al aumentar la complejidad y el peso molecular de los componentes celulares, así que se comportan como un centro catalítico que genera continuamente radicales libres. El cobre forma complejos moleculares estables con muchas proteínas y el hierro se estabiliza al reaccionar con los nucleótidos, difosfatos y trifosfatos; también es desplazado parcialmente de las moléculas orgánicas por los aniones hidróxido y forma el ion Fe(OH)⁺ que se incorpora oportunamente a la reacción de Fenton (Chevion, 1988).

Los mecanismos de sitio específico se plantean a partir de la suposición de que el hierro y el cobre son los mediadores del daño producido por los radicales libres. Los sistemas de oxidación catalizada por los metales (OCM) tienen la función de generar H₂O₂ y Fe²⁺ (fig 3). Las evidencias que existen indican que

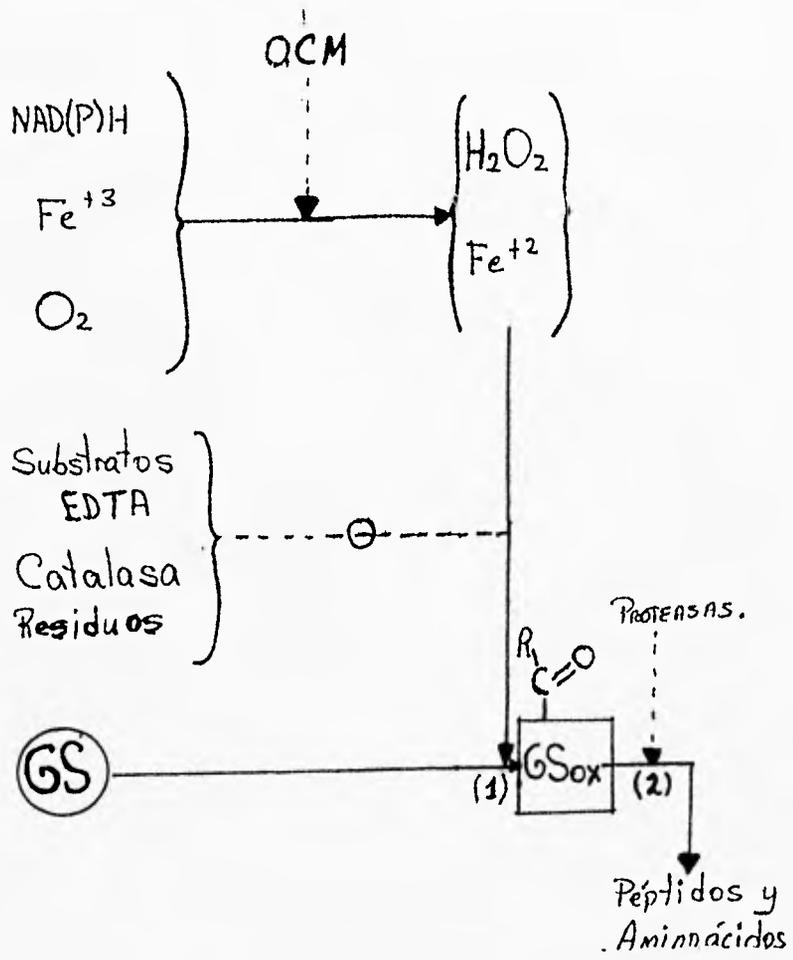


Figura 3 - El esquema muestra los dos pasos del mecanismo de degradación de las enzimas: GS, sintetasa glutamina hasta Gsox, sintetasa glutamina oxidada. El OCM es la (Oxidación catalizada por los metales). Tomado de (Stadman, 1992).

estos productos reaccionan en un sitio específico y modifican ciertos aminoácidos de las proteínas al formar enlaces químicos con el metal mediante una serie de reacciones en cadena que ocurren en los sistemas (OCM) (figura 4).

Otras observaciones que se hicieron en relación a dichos sistemas (OCM) son: a) En todos estos sistemas las modificaciones oxidativas de las proteínas son las más apropiadas para catalizar la reducción del O_2 hasta H_2O_2 y el Fe^{II} a Fe^{III} (Stadman, 1992). b) Una mezcla de peróxido de hidrógeno y Fe^{2+} inhibe el daño oxidativo en las proteínas, en cambio cuando se mezclan el peróxido de hidrógeno con el Fe^{II} se facilita el proceso de la catálisis oxidativa. c) Las catalasas son las enzimas que inhiben la modificación oxidativa de las proteínas en todos los sistemas (OCM) examinados (Stadman, 1992). d) Los quelatos de fierro (EDTA, o-fenantrolina) impiden la inactivación de las enzimas que se probaron excepto la creatinina quinasa y la deshidrogenasa glucosa-6-fosfato (G6PDH).

Las sustancias queladas estimulan la oxidación de las dos enzimas antes mencionadas, se creó que esto se debe a la presencia de un sitio de enlace para el complejo Fe-quelato.

Por lo tanto estos mecanismos producen el radical hidroxil al reaccionar el Fe^{II} con el peróxido de hidrógeno. Los iones metálicos están sujetos a una reducción y a una reoxidación cíclica, en donde los agentes reductores son el ascorbato, el isouramil, el glutatión y otros compuestos, que transforman los iones metálicos fierro y cobre a un estado de reducción, en el cual son capaces de reaccionar con el peróxido de hidrógeno en la reacción de Fenton y generar radicales hidroxil.

Las características del mecanismo de daño en sitios específicos del metal mediador son los siguientes:

1- Los agentes químicos poco activos como el superóxido y el ascorbato, tienen un tiempo de vida larga que les permite prevalecer y migrar hasta encontrar un metal reductor activo para reaccionar, esto es generalmente con los iones metálicos que están unidos a alguna proteína en el sitio específico de reacción donde causan el daño (fig. 5).

2- Se presenta un cambio en los radicales superóxido y ascorbato, de un estado sin actividad, hasta formas de reactividad alta, que inducen la formación de radicales hidroxil de alta energía cinética que reaccionan químicamente con una gran variedad de moléculas en las que causan rompimientos de enlaces químicos en las cadenas de los polímeros y así ganan átomos de hidrógeno o se unen a un doble enlace, para así alterar las características y funciones de la célula.

3- Los iones de fierro y cobre se unen químicamente al sitio específico, después de haber pasado por un proceso de reducción y reoxidación. En cada ciclo los radicales hidroxil se relacionan con el proceso de óxido-reducción y se generan múltiples radicales hidroxil con gran actividad química que causan daño

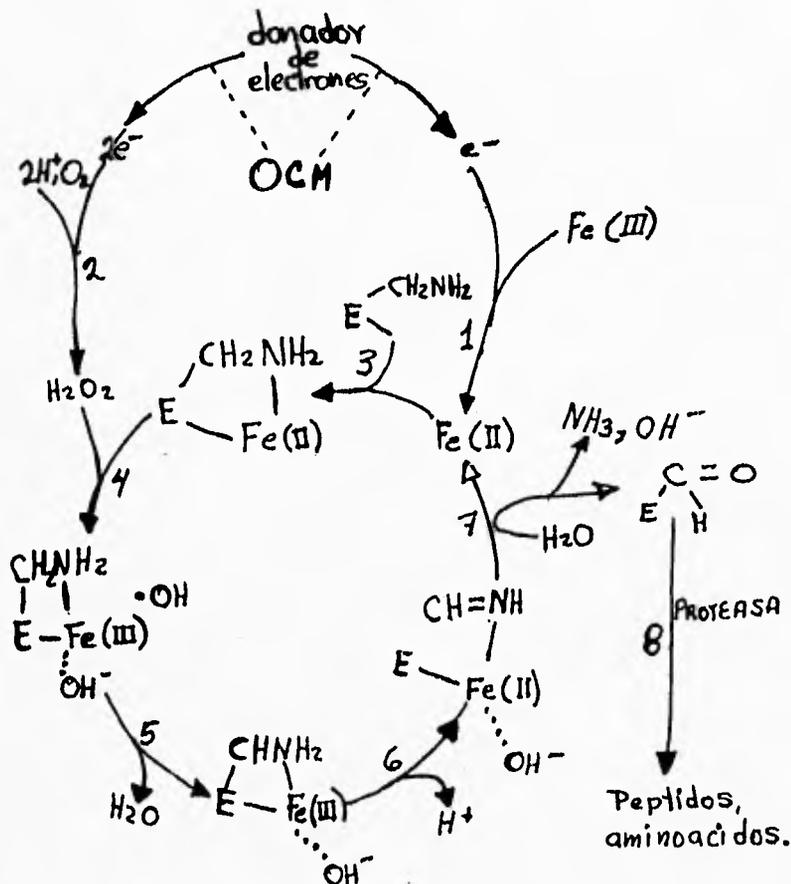


Figura 4 - El esquema muestra el mecanismo de sitio específico, que se relaciona con la oxidación de las proteínas, mediante la catálisis de los sistemas OCM que presentan una cadena de reacciones químicas como sigue: En la primera el $\text{Fe}+3$ se reduce a $\text{Fe}+2$. En la segunda reacción el O_2 se reduce hasta H_2O_2 . En la tercera el grupo amino de un residuo de lisil ($-\text{CH}_2\text{NH}_2$) sirve como sitio de enlace del $\text{Fe}+2$. En la cuarta reacción se efectúa la oxidación de la proteína en el sitio de enlace del $\text{Fe}+2$ a través del H_2O_2 , lo que lleva a la producción de OH y OH^- . En la quinta reacción el OH reacciona con un átomo de hidrógeno del residuo de lisil y forma un radical alquil. En la sexta reacción se transfiere un electrón del $\text{Fe}+3$ al radical alquil para formar $\text{Fe}+2$ y generar un grupo amino. En la séptima reacción el grupo amino experimenta una hidrólisis espontánea de la que se libera $\text{Fe}+2$ y se forma un grupo aldehído que se deriva del lisil. Finalmente la proteína modificada es degradada por las proteasas intracelulares. E = enzima. OCM = Oxidación catalizada por los metales. Tomado de (Stadtman, 1992).

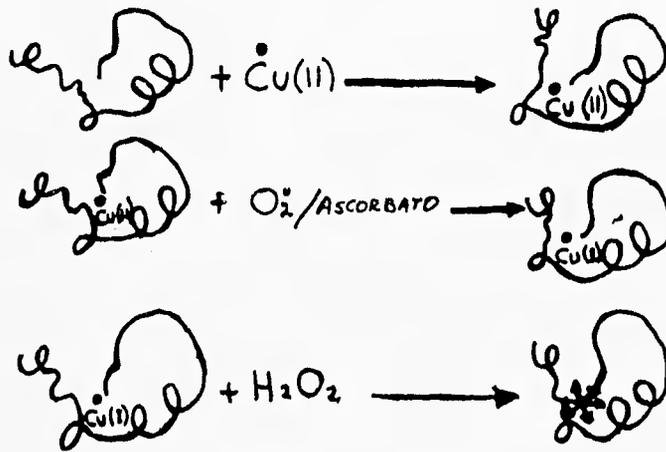


Figura 5 - El mecanismo de sitio específico que inactiva las proteínas y en el cual actúa el ion cobre como mediador.

Cada una de las flechas muestra como se forman radicales hidroxilo, por cada ciclo de reducción y reoxidación que experimenta el metal mediador y las consecuencias del múltiple daño que causa en el sitio de enlace del metal en la molécula de la proteína. Tomado de (Chevion, 1988).

en los sitios de reacción de las moléculas, entonces se amplifican los efectos deletéreos en la morfofisiología celular porque se inducen cambios en el nivel bioquímico mediante su acción.

En contraste con lo anterior, si el metal se une químicamente a un sitio de poca importancia para las funciones biológicas, el daño que les causan a las moléculas disminuye notablemente.

Un ejemplo del gran daño que causan los radicales libres a la estructura química de los organismos es el que se observa en el ADN con algunas variantes, por ejemplo la depurinación y la despirimidación. En ocasiones se presentan modificaciones en la estructura de las bases nitrogenadas o en el azúcar desoxirribosa.

Cuando el radical hidroxil se une al polímero del ADN se inducen rompimientos en su cadena. Este mecanismo incluye la reacción del radical OH[•] con el doble enlace C=C o el átomo de hidrógeno que se desliga del carbono 2, 3, 4, de la molécula de azúcar.

En las células el rompimiento simple de la cadena del ADN es corregido por los mecanismos de reparación, como ocurre con los efectos sencillos en los que no hay rompimiento del enlace fosfodiéster, así como la monomerización de los dímeros de pirimidina mediante una reacción enzimática que depende de la luz con una longitud de onda mayor a los 300 nm llamada fotorreactivación donde se remueven los grupos metil y se reajustan los rompimientos sencillos de la cadena.

Otros mecanismos de reparación incluyen la escisión y reemplazo de uno o más nucleótidos. Existe un tercer tipo de reparación en el ADN, se trata de una recombinación en la que también se da una reparación de daños, sin embargo la ruta metabólica no ha sido aún caracterizada bioquímicamente. Es probable que éste modo de reparación sea menos significativo en las células postmitóticas como las neuronas en donde un mecanismo de postduplicación aporta un medio para corregir los errores que suceden durante la duplicación del ADN (Linn, 1982), de tal forma que una baja incidencia de ésta clase de daños se toleran. Sin embargo cuando el daño en el ADN es de uno o varios rompimientos, en el mismo sitio de la doble cadena es muy difícil que se puedan corregir (fig. 6) (Chevion, 1988).

Este mecanismo se pudo comprobar al usar *in vitro* muestras de ADN purificado, que se expusieron a una mezcla de ascorbato y cobre. El ascorbato interviene en el proceso y realiza un doble papel, produce H₂O₂ al ser catalizada la reacción con cobre y a su vez lo reduce para que reaccione con la molécula de ADN, así que sirve como centro específico en la producción de radicales hidroxil. Este mecanismo genera una alta incidencia de dobles rompimientos en la cadena del ADN (fig. 6) y sus efectos son comparables con la radiación ionizante, en el experimento se usaron muestras de ADN obtenidas de *Escherichia coli* (Chevion, 1988).

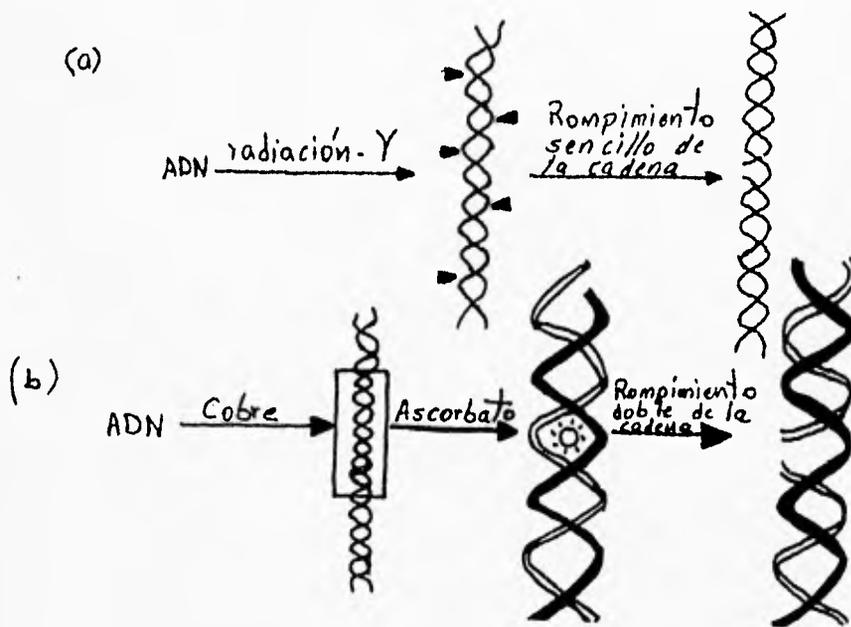


Figura 6 - El esquema muestra el rompimiento que sufre la cadena del ADN al azar, a través del mecanismo de sitio específico.

En (a) se observan rompimientos sencillos, los cuales son reparados con eficiencia por la célula.

En (b) se muestra la acción de los metales de transición que al actuar en presencia del ascorbato, propician un doble rompimiento en la cadena del ADN. Como consecuencia es muy difícil de reparar y puede perderse eventualmente una parte de la información genética. Tomado de (Chevion, 1988)

Los rompimientos sencillos de la cadena del ADN se reparan con eficiencia, mientras que los dobles rompimientos en el mismo sitio, causan la pérdida de información genética y eventualmente la muerte celular, no pueden ser reparados porque el daño causado rebasa cualquier posibilidad de respuesta por parte de la célula.

Los daños causados en la cadena del ADN son sólo una parte de los efectos negativos a que están expuestas las moléculas celulares, por otra parte los radicales libres inducen el proceso del envejecimiento y muerte de los organismos.

En apoyo a la teoría de los radicales libres, Miquel *et al.* (1980) explican que los radicales libres son fundamentales en el proceso de la respiración celular, debido a que se generan básicamente durante el fenómeno y pueden afectar directamente en la degeneración de las mitocondrias por lo que también se consideran efectos clave del envejecimiento celular.

En los trabajos realizados por Harman (1981) se encontró que los radicales que se derivan del oxígeno son de gran actividad química y como consecuencia inducen una desorganización gradual en las membranas celulares y subcelulares, porque tienen gran cantidad de lípidos propensos a la peroxidación.

Por lo tanto de acuerdo con Miquel, (1991) la causa fundamental del proceso de envejecimiento es una reacción química que se presenta entre los componentes de las membranas celulares con los radicales que se derivan del oxígeno, de forma similar a lo que ocurre con el enranciamiento de las grasas alimenticias.

Miquel *et al.* (1980), propusieron una hipótesis alternativa con base en su trabajo experimental para explicar porque la célula no repara el daño que causan los radicales libres, es muy probable que el daño tenga lugar en los genes de la mitocondria y esto propicie que el orgánulo agote su capacidad de multiplicación, perdiéndose así la capacidad de regeneración de las mitocondrias.

Esto puede deberse a que sus genes se encuentran próximos a las membranas que producen los radicales libres durante la respiración celular, de tal forma que el ADN de la mitocondria es la estructura molecular más vulnerable de todas las moléculas de la célula. Luego, la pérdida progresiva de las mitocondrias es el común denominador del envejecimiento celular, considerándose actualmente como la causa principal de la degeneración fisiológica de la célula.

Así que Miquel toma fundamentalmente a la peroxidación de los lípidos como la base del daño que causan los radicales libres en las membranas celulares.

Se ha podido demostrar que los ácidos grasos polinsaturados son los más susceptibles a la peroxidación porque tienen dobles enlaces, que a su vez son menos estables químicamente y como consecuencia se rompen fácilmente al reaccionar con los radicales libres que propician la peroxidación (Gutteridge y Halliwell, 1990).

Por lo tanto la peroxidación se inicia con la actividad química de los radicales libres, porque reaccionan con el doble enlace de la cadena de carbonos de los lípidos y se desprenden los protones.

Es muy probable que en las células aeróbicas se presente un rearrreglo molecular seguido de una reacción con O_2 para producir un radical peroxil que a su vez reaccione con las proteínas de la membrana, o con átomos de hidrógeno de las cadenas de carbono adyacentes de los ácidos grasos que están en la estructura de la membrana, así que se propaga la reacción de peroxidación de los lípidos (fig. 7) y el daño a las proteínas de la membrana, entre las que se incluyen las acarreadoras, ATPasas o citocromos. También se forman entrecruzamientos en las cadenas de los ácidos grasos de los fosfolípidos, por lo que disminuye la fluidez de la membrana.

Estudios sobre la peroxidación de los lípidos muestran que la participación de los iones metálicos hierro y cobre son fundamentales en el proceso, porque se adhieren a los liposomas, a las membranas biológicas de los microcuerpos, a las mitocondrias y a la membrana plasmática para inducir la peroxidación. Las formas oxidadas de los iones, Fe^{3+} y Cu^{2+} , aceleran la peroxidación siempre que esté presente algún agente reductor como el ascorbato que se caracteriza por encontrarse en grandes cantidades en las mitocondrias.

En algún momento se puede realizar la reducción de los iones metálicos en la membrana, con la participación de los grupos $-SH$ de las proteínas que la forman, reduciéndose el Cu^{2+} a Cu^{+} y si se agrega NADPH a la cadena de transporte de electrones se reduce el $Fe^{3+}-ADP$ a $Fe^{2+}-ADP$.

Se han detectado radicales hidroxil en ésta mezcla de reacciones y en algunas fracciones de membrana, frecuentemente se reduce el O_2 hasta radical superóxido ($O_2^{\cdot -}$) quien a su vez forma H_2O_2 , el cual reacciona con los iones Fe^{2+} y Cu^{+} para formar radicales hidroxil (OH^{\cdot}).

En la (figura 8) se muestran algunas reacciones del proceso de peroxidación (Gutteridge y Halliwell, 1990).

Otro de los daños que experimentan los organismos al estar expuestos a la acción de los radicales libres es a nivel de las isoproteínas, las cuales presentan cambios que caracterizan y determinan en parte los procesos de degeneración celular propios del envejecimiento. Muchos cambios acontecen *in vivo* y se acumulan en las células envejecidas, como la desamidación específica, las oxidaciones y la glucosilación que son de los más conocidos actualmente (Gracy et al, 1990).

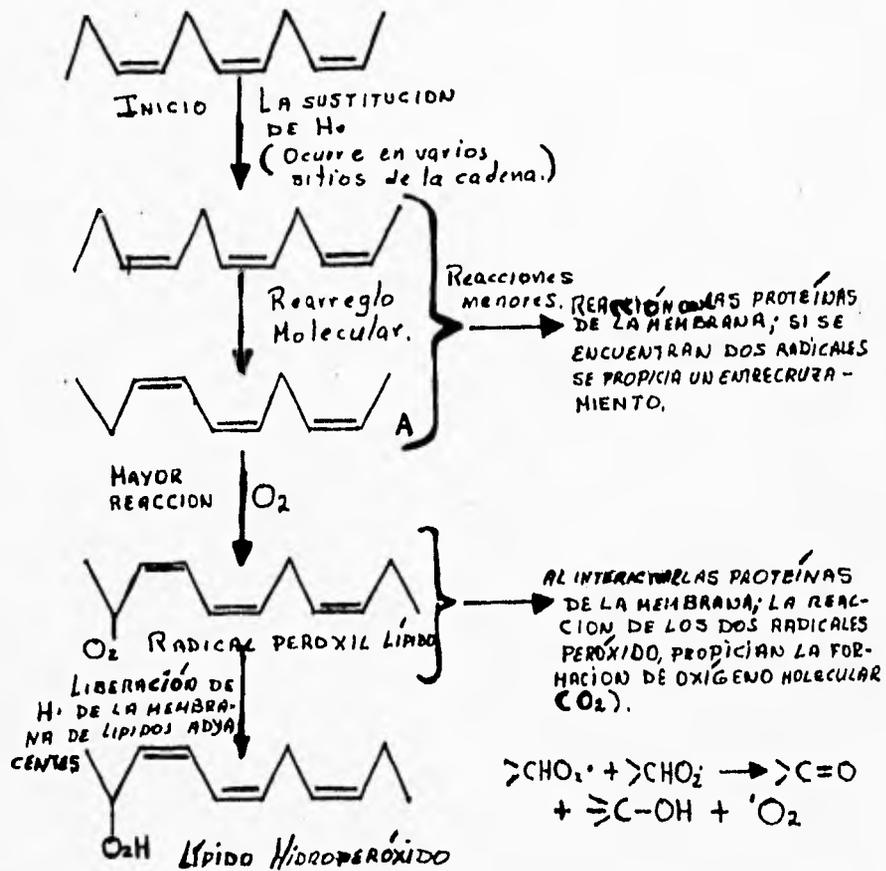


Figura 7 - El esquema muestra un perfil del mecanismo de peroxidación de los lípidos.

Los átomos de hidrógeno son liberados del doble enlace de la cadena de los ácidos grasos, este fenómeno provoca un rearrreglo de las moléculas que al estar en presencia de oxígeno aceleran la reacción y pueden combinarse con las proteínas de la membrana. Se forman radicales peroxil en los lípidos que a su vez reaccionan con los átomos de hidrógeno de los lípidos adyacentes de la membrana y los transforman en lípidos hidroperóxidos. Tomado de (Gutteridge y Halliwell, 1990).

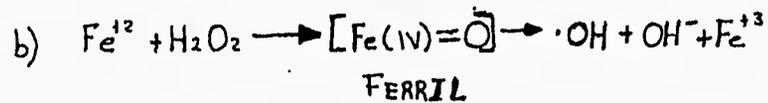
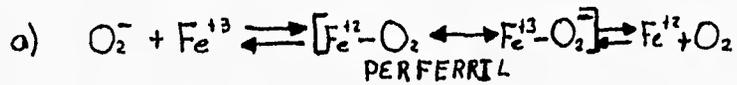


Figura 8 - La producción de los radicales hidroxil ($\cdot OH$) y otras clases de iones reactivos depende de la participación del ion Fe^{+2} en el sistema de membranas biológicas.

a)-Se efectúa una reducción del Fe^{+3} a Fe^{+2} , mientras que el perferril es un intermediario. La reducción directa se realiza en las membranas o mediante la presencia de agentes reductores como la cisteína o el ascorbato

b)-Se observa la reacción de Fenton, en donde el ferril es un intermediario en la formación del radical $OH\cdot$ a partir del H_2O_2 y del Fe^{+2}

Tomado de (Gutteridge y Halliwell, 1990).

d) MECANISMOS DE DESAMIDACION

La desamidación se presenta cuando los residuos de glicina y asparagina pierden el grupo amino. La desamidación es más rápida en la asparagina, en comparación con la glicina; éste fenómeno se atribuye a que se forma con mayor facilidad la 5-succinimida en comparación con la 6 glutanimida (figura 9).

Robinson y Rudd en (1974), experimentaron con péptidos sintéticos, y descubrieron que la desamidación depende en gran parte de la estructura primaria de la proteína, porque se presenta en los aminoácidos con carboxilo terminal como la asparagina que inmediatamente presenta desamidación cuando el residuo es pequeño y flexible como el de la glicina o la serina. Entonces se propuso que la secuencia específica de los aminoácidos es la que constituye el reloj biológico que se dispara e inicia el proceso de la destrucción de las proteínas.

La hidrólisis de la succinimida se presenta en el péptido aspártico y en el isospártico, llevándolos a la racemización.

e) MECANISMOS DE GLUCOSILACION

La glucosilación es otro de los procesos bioquímicos que se observan en las isoproteínas durante el proceso del envejecimiento. La glucosilación se inicia mediante la reacción de Maillard (Maillard, 1912) (Figura 10) Donde el grupo ϵ -amino de la lisina o el amino terminal de la proteína, reaccionan con un azúcar reductor. La glucosilación es un proceso no enzimático que se presenta en las proteínas cuando se mezclan con altos niveles de azúcares libres, en el suero de la matriz extracelular o dentro de la célula, por ejemplo el proceso que incluye los productos de glucosilación de la hemoglobina (Hb1a-c) y la albúmina del suero en la diabetes (Iberg y Fluckiger, 1986; Jhonson y Baker, 1986). De una forma similar los productos de la glucosilación se acumulan en el proceso de envejecimiento (Cerami *et al.*, 1987; Oimomi *et al.*, 1988), por ejemplo las isoproteínas que han sufrido la glucosilación se acumulan en las células viejas del cristalino en el ojo humano y causan la catarata senil, su concentración está en relación con la edad de las células.

Las proteínas que experimentan la glucosilación no son inertes, reaccionan químicamente y forman multímeros (McPherson *et al.*, 1988). La glucosa y otros α -hidroxialdehídos están propensos a la oxidación que cataliza un metal de transición, como el Cu^{+} en la que se genera H_2O_2 y otras sustancias intermedias muy activas químicamente como el radical hidroxil y los cetoaldehídos.

La concentración de iones cobre (Cu^{+}), se incrementa con relación a la edad del individuo y al combinarse con grandes cantidades de azúcares se presenta la modificación oxidativa que causa la fragmentación de los péptidos

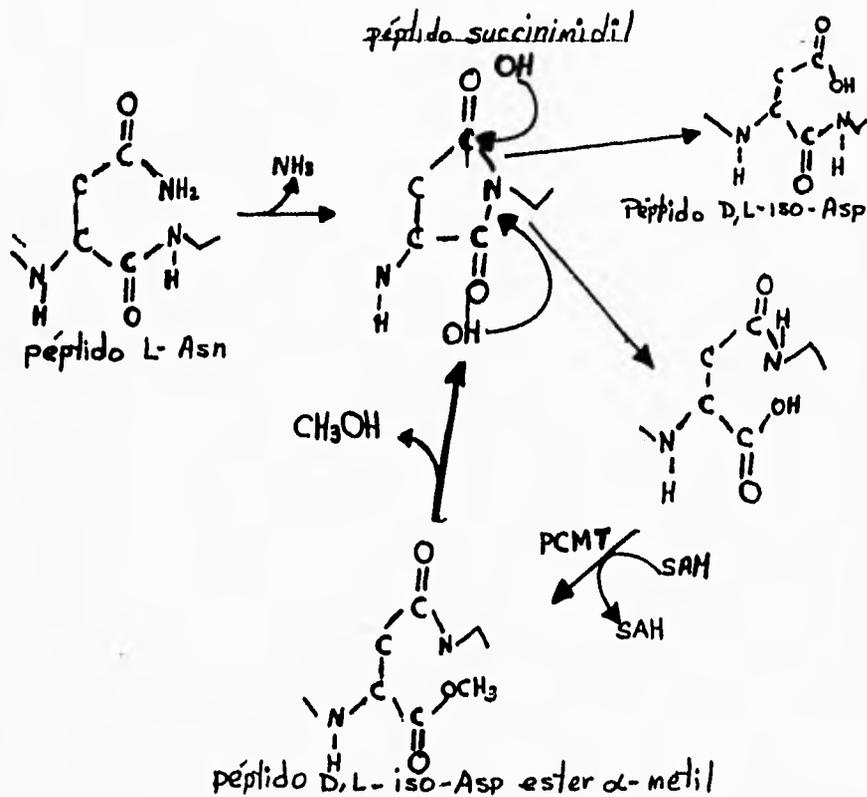


Figura 9 - Mecanismo de diamidación en los residuos de asparagina. El mecanismo fue revisado por primera vez en 1970 por Bornstein, en relación con las secuencias de la reacción Asn-Gln, conjuntamente con las rutas metabólicas que incluyen la modificación, la racemización y la formación de isopéptidos. Todos los pasos de la reacción se realizan espontáneamente y sin la participación de las enzimas, excepto en el paso de la metilación que es catalizada por una enzima, todo lo demás depende únicamente del pH.
 PCMT: Proteína metil transferasa carboxil.
 SAM: S-adenosil-L-metionina.
 SAH: S-adenosil-L-Homocisteína.
 Tomado de (Gracy *et al.*, 1990).

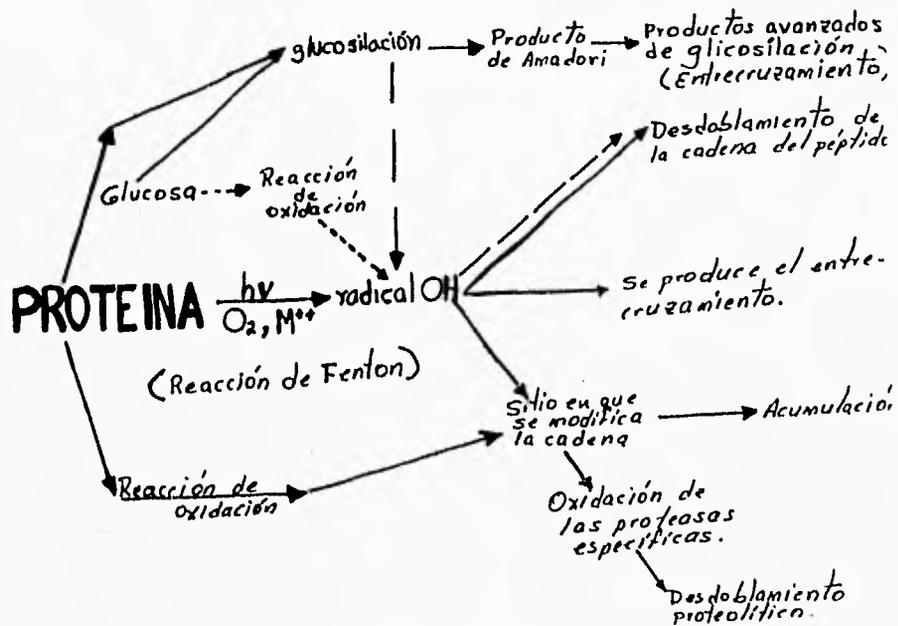


Figura 10 - Pasos de la reacción de Maillard.
 La reacción se inicia *in vivo* porque se condensa una amina con un azúcar, un aldehído o una acetona, así se forman los productos de Amadori, que son muy estables químicamente. Las evidencias obtenidas *in vivo* muestran que pueden ser moléculas de glucosa, galactosa, fructuosa o cualquier pentosa. Los productos de Amadori causan modificaciones en sus moléculas y así alteran su función, de tal forma que están relacionadas con enfermedades como la diabetes y las cataratas. Tomado de (Monnier et al. 1990).

(Munt *et al*, 1988); la oxidación de la glucosa y la producción de los radicales hidroxil, contribuyen a la modificación de las proteínas (Figura 11).

Las proteínas modificadas cambian sus propiedades fisiológicas y bioquímicas y al acumularse en algunos sitios de la célula propician situaciones de desequilibrio en su funcionamiento. Por ejemplo las isoenzimas que envejecen muestran alteraciones en su velocidad catalítica o en su especificidad sobre los sustratos, y así se altera su ruta metabólica normal.

Los cambios estructurales en las proteínas afectan la permeabilidad de la célula y sus organelos, también se altera su capacidad de reparación, los efectos de todos esos daños pueden observarse en las proteínas del cristalino del ojo humano, que causan opacidad en la lente cuando sufren modificaciones, ya que pierden la capacidad de reparación o de rearreglo.

La acumulación de las proteínas modificadas está en relación con la edad del individuo, se incrementa a mayor edad y contribuye a una ineficiente comunicación celular, que puede propiciar consecuencias catastróficas porque se pierde la protección del organismo contra los factores ambientales que causan el estrés.

Sobre los efectos causados por las proteínas alteradas se descubrió que la piel humana cambia su fisiología, porque las proteínas modificadas afectan la permeabilidad del tejido que se daña con mayor facilidad debido a los efectos de la radiación ultravioleta y otros factores ambientales.

Además se observó que existe un incremento significativo en la hidrofobicidad de los aminoácidos libres y de las proteínas solubles. (Gómez y Berman 1985; Fenske y Lober 1986; Gilchrest 1986).

Cerami *et al* (1987), propuso que la arteriosclerosis tiene su origen en la glucosilación de las proteínas del sistema vascular.

Cuando las proteínas de la membrana celular cambian su estructura química se altera su permeabilidad y selectividad específica. El estudio de Aminoff (1988), sobre las bases bioquímicas que se relacionan con el cambio que experimenta la membrana de los eritrocitos con relación a su edad demostró que el transporte selectivo del ácido siálico desde la glicoforina, es un fenómeno primario que guía a un reconocimiento y lleva a una destrucción inevitable a los eritrocitos viejos.

La acumulación de las isoproteínas modificadas en la célula también causan pérdida de capacidad para responder a los factores del medio, por lo que se reduce la posibilidad de adaptación metabólica (Kester *et al*, 1977).

Por lo tanto los radicales libres con su participación en los procesos metabólicos de la célula, causan severas lesiones en la estructura de las moléculas a través del tiempo, todo esto propicia cambios deletéreos que

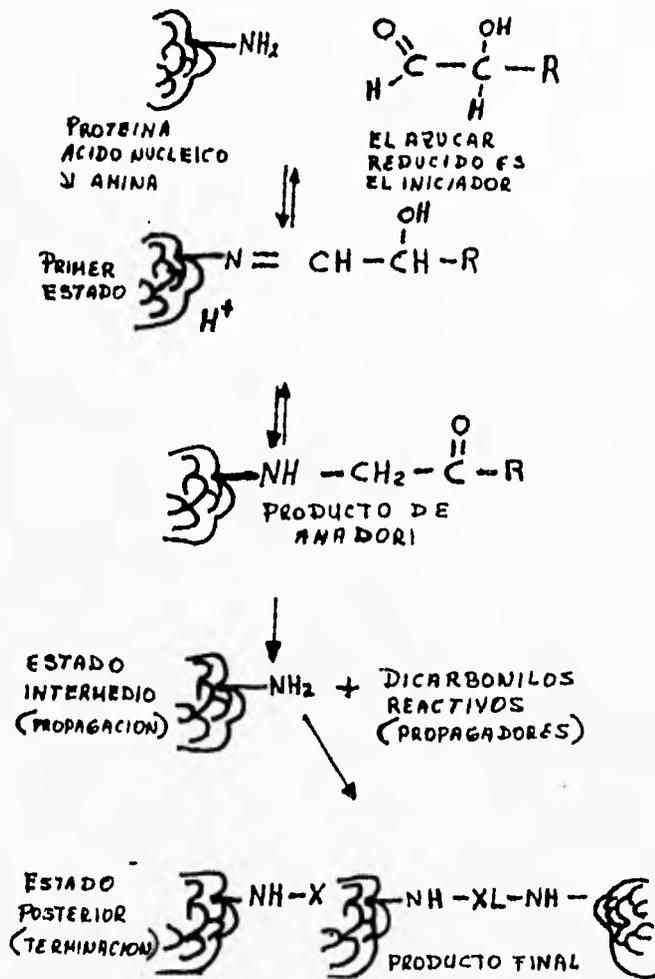


Figura 11 - La modificación oxidativa de las proteínas.

El esquema muestra varias rutas de oxidación que llevan hasta la formación de las isoproteínas. Una proteína, un ácido nucleico o una amina reaccionan con un azúcar reducido que es el iniciador de la ruta metabólica. Después del primer estado se forma el producto de Amadori. Un estado intermedio de la proteína puede también reaccionar con los dicarbonilos que actúan propagando la reacción. El estado posterior de la proteína o producto final es la producción de las isoproteínas. Tomado de (Gracy *et al.*, 1990).

experimentan los organismos al envejecer, porque el deterioro que se genera en su estructura y funciones es en realidad el envejecimiento, que al final los aniquila.

Los mecanismos de defensa que los organismos poseen para defenderse de la acción química de los radicales libres, sirven para disminuir o evitar su acción destructiva, porque mantienen los daños en niveles tolerables para el sistema biológico.

Las enzimas peroxidasas realizan un trabajo fundamental, frente a la acción oxidante de los radicales libres en los procesos metabólicos, porque su acción antioxidante es una defensa muy importante que ayuda a conservar la homeostasis fisiológica de cada individuo. Por ejemplo la enzima glutatión peroxidasa, contiene selenio y sirve para disminuir la actividad química de los radicales libres, al reducir el peróxido de hidrógeno hasta agua, debido a que generalmente los hidroperóxidos se reducen hasta alcoholes, así que la acción de ésta enzima propicia que los daños causados por los radicales libres sean tolerados por las células.

El selenio es un elemento químico fundamental en la función antioxidante de la enzima glutatión peroxidasa, al respecto existe un estudio que realizó Shamberger, (1976) en el que menciona que en algunas áreas pobladas de los Estados Unidos, donde el consumo de selenio es alto en relación con otras áreas, la incidencia de algunas formas de cáncer es menor, por lo que se creó que la razón principal es la presencia de mayor cantidad de enzima y selenio como factores de defensa antioxidantes.

La enzima superóxido dismutasa (SOD) es una molécula sintetizada por el sistema anabólico de la célula, y actúa con una gran capacidad antioxidante, para mantener la cantidad de radicales libres en una concentración tolerable que genere el menor daño posible al sistema. es considerada la más importante de las defensas antioxidantes de las células.

En la actualidad las investigaciones que se han realizado en relación con la participación de la SOD en los mecanismos antioxidantes intracelulares, que protegen a la célula de la acción oxidante del oxígeno que genera radicales superóxido ($O_2^{\cdot -}$) y peróxidos de hidrógeno (H_2O_2), los cuales son muy peligrosos por la gran actividad química que presentan, causan daños irreversibles en varias clases de moléculas (Fridovich, 1978)

La enzima SOD se encuentra presente en todas las células aeróbicas, su acción principal es convertir el radical superóxido, en peróxido de hidrógeno y oxígeno molecular.



La SOD se encuentra dentro de la célula en dos sitios diferentes: en el citosol y adentro de la mitocondria. En las células eucariotes la SOD de la mitocondria contiene Mn^{+2} , y es muy similar a la SOD de muchas bacterias por el contenido de Mn^{+2} y gran homología en la secuencia de aminoácidos.

La SOD del citosol tiene una secuencia de aminoácidos muy diferente a la que tienen las bacterias porque tiene Cu^{+} y Zn^{+} . La concentración de éstas enzimas es alta y son de gran actividad química, debido a que los radicales superóxido se producen en forma continua durante la reducción enzimática del O_2 , así que son removidos rápidamente. De la actividad de la SOD se derivan gran cantidad de peróxidos de hidrógeno que a su vez son degradados por la enzima catalasa.

La catalasa es una proteína que tiene un grupo hemo en su estructura química y se localiza dentro de los peroxisomas de la célula (Tolmasoff *et al*, 1980). Son las enzimas que catalizan la reacción en la que se descompone el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno. Esta enzima tiene el grupo porfirina-ferro que activa su función catalítica y le proporciona la capacidad de conservar en equilibrio las moléculas que son dañadas por los peróxidos.

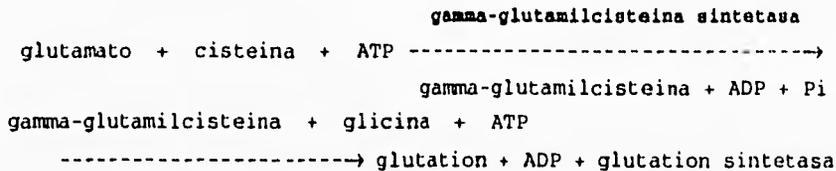
Los organismos también tienen en su sistema biológico una serie de sustancias químicas no enzimáticas, que les protegen de los procesos oxidantes propiciados por los radicales libres al reaccionar con las moléculas; de las defensas más importantes en éste aspecto son el α -tocoferol, el glutatión y los carotenos.

El α -tocoferol es la vitamina E y se le atribuye una acción antioxidante, porque impide la autooxidación de los ácidos grasos insaturados cuando están en presencia del oxígeno molecular. La autooxidación se presenta durante la polimerización de los ácidos grasos insaturados a través de un proceso similar al que ocurre cuando se seca la pintura de aceite de linaza y forma un polímero duro e insoluble.

Algunos de los síntomas que causa la deficiencia del α -tocoferol en los animales, se previenen con otras sustancias que tienen acción antioxidante, como el N-dimetil-p-fenilenediamina, el cual no tiene similitud estructural con el α -tocoferol (fig 12), pero protege los ácidos grasos insaturados que forman parte de la estructura de las membranas celulares, de los efectos deletéreos que causa el oxígeno molecular. Normalmente la autooxidación de los lípidos insaturados no sucede en los tejidos, sin embargo cuando existe una deficiencia de alfa-tocoferol, la autooxidación se detecta en los depósitos de lípidos del hígado y en otros órganos del cuerpo de los mamíferos.

El glutatión es una molécula simple que corresponde a un tripéptido que se localiza en los tejidos animales, además de ser un componente en el ciclo del gamma-glutamil en el transporte de aminoácidos, también es activador de ciertas enzimas y protege a los lípidos de la autooxidación. Se sintetiza en la célula

mediante dos etapas a partir del alfa-glutamato, la L-cisteína y la glicina (fig 13). Se hidroliza una molécula de ATP por cada péptido que se sintetiza.



Existen otras sustancias no enzimáticas que tienen efecto antioxidante en las células; algunas de ellas son: los carotenos, el ureato, el ascorbato, el ácido cítrico, el ácido úrico y algunas hormonas de vegetales como el etileno, las auxinas, las giberelinas y el ácido absísico.

Los mecanismos antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos son los que conservan en equilibrio a los sistemas biológicos, al impedir que los radicales libres causen daños a las moléculas; se suman a éstos los mecanismos de reparación de los efectos deletéreos inducidos por los mismos radicales, que a su vez pueden provocar un ambiente de hiperoxia en los sistemas biológicos, y propicia condiciones de estrés oxidativo, el cual puede acelerar el proceso de envejecimiento y muerte de los organismos.

Una de las formas más útiles para cuantificar el grado de avance y efectos del envejecimiento en los seres vivos, es mediante los pigmentos llamados lipofuscinas que se acumulan en los tejidos de los animales.

Las lipofuscinas son un agregado de lípidos que están presentes principalmente en el pigmento del epitelio de la retina del humano, sus granulaciones son de color pardo-amarillo y producen fluorescencia cuando se exponen a la luz ultravioleta (Feeney, 1978).

Las lipofuscinas son pigmentos que se forman mediante la polimerización oxidativa de los lípidos, que ocurre principalmente en las mitocondrias Harman, (1992).

Strehler, (1964); Brizzee y Ordy, (1981); Donato y Sohal, (1981) son autores que definen las lipofuscinas como el pigmento de la edad, material fluorescente que se acumula progresivamente conforme avanza la edad, en los lisosomas secundarios de las células postmitóticas de vida larga en los animales.

Las lipofuscinas son el producto final de la peroxidación de los lípidos, y una combinación de lipoproteínas insolubles que no son degradadas, por lo tanto se acumulan a nivel celular conforme a la edad del individuo y eventualmente llegan a causar daños en el funcionamiento de las células.

Probablemente éste fenómeno sea utilizado como marcador e índice del envejecimiento. Sin embargo al analizar la heterogeneidad que presentan las lipofuscinas en estructura, composición y velocidad de acumulación en los diferentes tipos de células y especies de organismos, se ha optado por no utilizar a dichos pigmentos como indicadores, especialmente en estudios donde se comparan los diferentes tejidos de los animales que se someten a varias condiciones dietéticas.

Estudios recientes al respecto indican que el estrés oxidativo y la autofagocitosis que realizan los lisosomas, son los dos factores que producen las lipofuscinas, porque se ha visto una gran variación en las cantidades acumuladas. (Brunk *et al*, 1992). Pero su acumulación no depende solamente de la edad de los organismos, también se descubrió que se forman y se acumulan en el lumen de los lisosomas secundarios como resultado de su actividad hidrolítica (Marzabadi *et al*, 1991).

Los lípidos polinsaturados de las membranas reaccionan con los radicales superóxido que se producen, se les sustraen átomos de hidrógeno del sitio de doble enlace y se forman los lípidos peroxidados, éstos compuestos son los precursores en la formación de las lipofuscinas y también se descomponen por acción de calor, ácidos y iones fierro, en éste proceso intervienen sustancias reactivas inductoras como el ácido tiobarbitúrico (TBA). Las reacciones continúan y se forman carbonilos como el malondialdehído (MDA). Este a su vez genera tres productos diferentes de acuerdo con el pH existente en el medio, si es ácido bases schiff, si es neutro lipofuscinas y cuando es variable produce dímeros del MDA (figura 14) (Brunk *et al*, 1992).

La digestión intracelular de las sustancias se efectúa en forma primaria dentro de los lisosomas que son los que degradan las moléculas y orgánulos del citoplasma en forma constante, realizan una autofagia (Ericsson, 1969). El sistema lisosomal es el sitio más adecuado en la célula para degradar las proteínas del medio intracelular. Sin embargo se sabe que algunas proteínas son degradadas en el citoplasma por proteasas neutras en donde la ubiquitina es el mediador del sistema (Veno y Kominami, 1991). Una cualidad del control de la función es degradar algunas proteínas antes de ir al retículo endoplásmico. En la degradación que realizan los lisosomas, actúan más de 40 enzimas hidrolíticas, como: proteasas, nucleasas, glicosidasas, lipasas, fosfolipasas, fosfatasa y sulfatasas (De Duve, 1969).

Algunos científicos como (Thaw *et al*, 1984; Marzabadi *et al*, 1988; Sohal *et al*, 1989) han realizado estudios sobre la lipofuscínogenesis, en condiciones de estrés variadas, sus experimentos fueron practicados en cultivos de células cardíacas de rata neonatal, que se colocaron en un ambiente de oxígeno variable. Se manejaron concentraciones del 5%, 20% y 40%. La cuantificación de la cantidad de lipofuscinas acumuladas en las células se hizo mediante la técnica de microespectrofluorometría, la lipofuscina formada se evidenció por una autofluorescencia de color amarillo-naranja que se incrementó en relación directa a la concentración de oxígeno y a la edad del cultivo (Fig. 15).

LÍPIDOS POLINSATURADOS

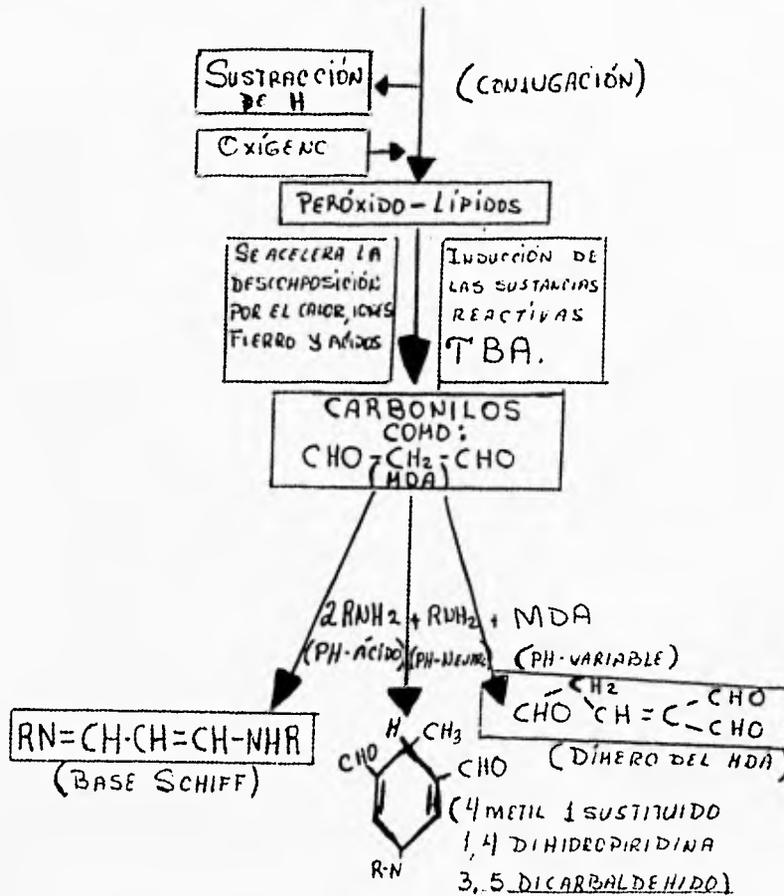


Figura 14 - Muestra la secuencia que sigue la producción de materiales fluorescentes (lipofuscinas) mediante las reacciones de peroxidación de los lípidos, catalizadas por los iones de fierro.

La reacción se inicia con los lípidos polinsaturados de las membranas celulares que están expuestos a la acción de los radicales libres del oxígeno. Así se efectúa la peroxidación de los lípidos al separarse los átomos de hidrógeno de sus moléculas; su descomposición es acelerada por calor, ácidos y iones fierro. También el ácido tiobarbitúrico (TBA) induce las reacciones. Así se generan grupos carbonil por ejemplo el malondialdehído OHC-CH₂-CHO (MDA). Los cuales a su vez generan por un lado bases schiff como el Aminoiminopropeno (RN=CH-CH=CH-NHR) y por otro lado Lipofuscinas como el 4-metil 1-sustituido 1,4 dihidropiridina 3,5 dicarbaldehído. También se producen dímeros del malondialdehído.

Tomado de (Brunk et al. 1992).

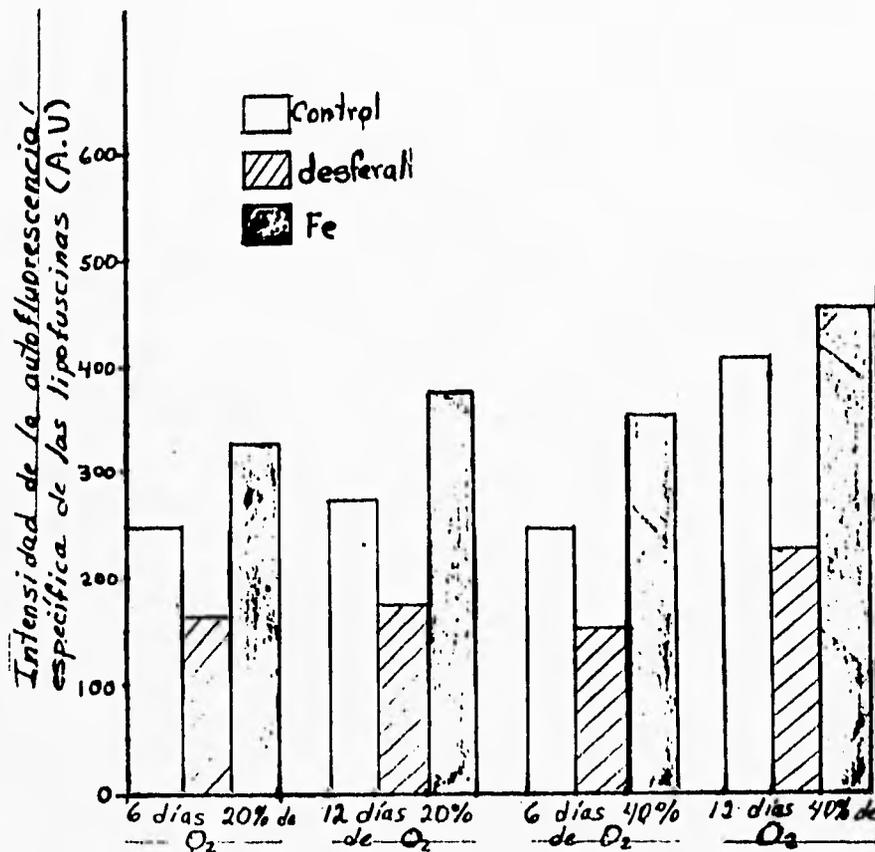


Figura 15 - La gráfica muestra que el incremento en la producción de lipofuscinas es mínimo en los cultivos de miocitos neonatales de 6 y 12 días de edad expuestos a una concentración del 20 y 40% de oxígeno. Y en presencia de la desferroxiamina (desferal) o FeCl₃. En comparación con el cultivo control el cual muestra un incremento significativo en el de 12 días y expuesto a un 40% de oxígeno, ya que en el de 6 días con el 20% de oxígeno muestra un incremento más bajo. En cambio los cultivos con las mismas condiciones, pero en presencia de iones hierro (Fe) si muestran diferencias significativas entre ellos y con los demás cultivos.
Tomado de (Brunk et al, 1992).

En el experimento se compararon de forma independiente tres cultivos: uno control, otro con desferroxiamina (desferal) el cual es un quelante férrico capaz de bloquear la reacción de Fenton, mecanismo que genera los radicales hidroxil y el otro con iones fierro. Los resultados que se obtuvieron muestran que la lipofuscínogenesis se incrementa al exponer el cultivo a una mayor concentración de oxígeno por más tiempo. Comparados con el cultivo control, el de la desferroxiamina presenta menor acumulación de lipofuscinas, esto se explica con base en la acción de este producto (fig 15).

En otros experimentos se estudio la acción de los antioxidantes que inhiben la síntesis de lipofuscinas y se encontró que en los cultivos de miocitos cardiacos expuestos a la acción del α -tocoferol, se observa una disminución de la lipofuscínogenesis, en comparación con los cultivos que se expusieron al E-64 que es una proteasa con la acumulación más alta y al lote control, expuestos a un ambiente con el 20 y el 40% de oxígeno y en tiempos de 7 y 14 días (fig. 16). Los resultados nos muestran la efectividad de la vitamina E en su acción antioxidante en el medio intracelular.

Cuando las células necesitan suplir grandes cantidades de enzimas hidrolíticas, en sistemas con una alta concentración de lipofuscinas que a su vez participan en el proceso, el daño causado es precisamente la disminución de la concentración efectiva de las enzimas que intervienen en la hidrólisis (Brunk y Collins, 1981). Por otro lado la eficiencia de los lisosomas para controlar el material peroxidado que se forma durante el estrés oxidativo, disminuye notablemente por lo que se propicia un aumento en la concentración de los productos que se generan en la peroxidación de los lípidos, como es el malondialdehído que actúa en las funciones de las mitocondrias y causa alteraciones.

Las lipofuscinas en un principio sirven como defensas antioxidantes porque captan los materiales peroxidados, sin embargo cuando la carga celular de cada material excede un umbral, los materiales interfieren las funciones esenciales y la célula se sale de la homeostasis (Brunk y Cadenas, 1988). La degradación de las moléculas y membranas se retrasa mediante la autofagocitosis, entonces se generan otros efectos celulares que impiden un reciclaje básico de materiales, el cual es indispensable para que se mantenga el estado de homeostasis celular.

Las lipofuscinas contienen cantidades considerables de fierro el cual es posible que esté unido parcialmente a moléculas reactivas, por lo que se infiere que el radical hidroxil OH \cdot se produce en grandes cantidades dentro de los lisosomas secundarios que contienen a las lipofuscinas. Esta producción se incrementa con el contenido de los lisosomas que se vacía en el citoplasma debido a la fragilidad de sus membranas, a éste fenómeno se le ha llamado integridad estructural de la membrana lisosomal. Es posible que el funcionamiento de los lisosomas sobrecargados con lipofuscinas constituyan una amenaza para las funciones que regularmente realizan las células y como

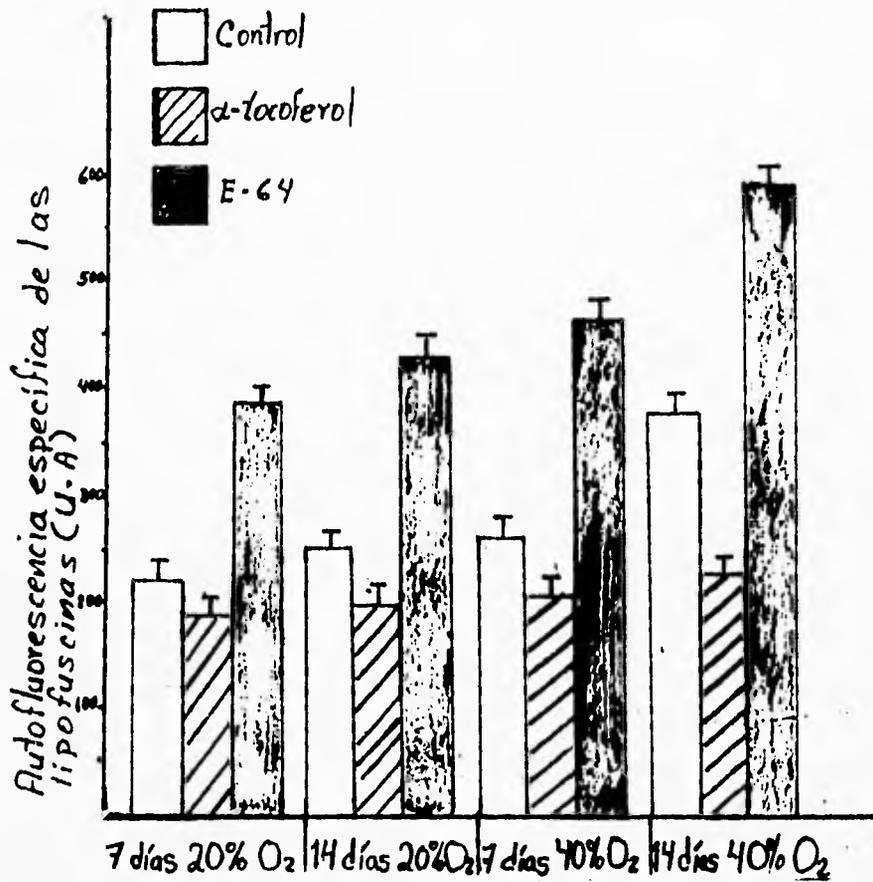


Figura 16 - En esta gráfica se observan los resultados obtenidos en los cultivos de miocitos neonatales de 7 y 14 días en relación a la acumulación de lipofuscinas, los cuales fueron puestos en un ambiente con el 20 y el 40% de oxígeno y expuestos a una proteasa o inhibidor (E-64) y por otro lado la vitamina E o α - tocoferol.

El cultivo control muestra un incremento en la acumulación de lipofuscinas con base en el tiempo de exposición al oxígeno, y en relación a su concentración. Con el inhibidor pasa algo muy similar, solo que la cantidad de lipofuscinas es muy superior. En cambio en los cultivos que tienen vitamina E se conservan casi las mismas proporciones de lipofuscinas, lo que nos muestra que es un buen antioxidante y previene la formación del pigmento de la edad. Tomado de (Brunk et al, 1992).

consecuencia se presente una baja resistencia hacia el estrés oxidativo (figura 17).

En un estudio reciente se compararon las características espectrales y morfológicas de los gránulos de melanina y lipofuscina en el epitelio de la retina del ojo humano. Los cambios que se observaron tienen relación con la edad del donador y se distinguieron incrementos que se perciben con facilidad en relación con las características del espectro obtenido de los pigmentos. Por ejemplo la melanina presenta una fluorescencia débil, la emisión del color azul disminuye al incrementarse la edad del donador. (Boulton *et al.*, 1990).

La melanina del epitelio retinal del ojo humano en un grupo experimental de donadores de 5 a 29 años mostró una baja intensidad de fluorescencia en todos los casos en cambio las lipofuscinas, incrementaron la intensidad de fluorescencia en relación con la edad avanzada de los donadores (Docchio *et al.*, 1991).

La melanina y las lipofuscinas son pigmentos granulares que se acumulan en las células nerviosas y en otros tejidos del cuerpo de los mamíferos, sin embargo su función específica no está todavía bien comprendida. La melanina absorbe la luz por lo que se cree que interviene en forma de un polímero biológico para el intercambio de electrones y a su vez, es un sitio de depósito de electrones porque actúa al oxidar o reducir la hidroquinona para convertirla en quinona (Ings, 1984).

Algunos pigmentos fluorescentes se acumulan en los tejidos de los organismos y su concentración aumenta con respecto a la edad. Uno de éstos es el grupo de las pteridinas, cuyo nombre se debe a que éstos compuestos son los responsables de la coloración de las alas de las moscas de la familia Pteridae. La primera pteridina fue descubierta por Pirman en 1940 y se la llamó leucopterina; a partir de entonces se han aislado estos pigmentos en plantas y animales, sin embargo en la clase insecta es donde se encuentra la mayor concentración y diversidad de pteridinas, con excepción de algunos anfibios y reptiles (Fox, 1976).

Las pteridinas son compuestos muy versátiles que participan en diversas reacciones dentro del organismo, su acción es importante al conjugarse con las moléculas de los organismos por ejemplo actúan como cofactores de enzimas, entre ellos está el ácido tetrahidrofólico que se deriva de las pteridinas y es cofactor de las enzimas que intervienen en las reacciones de transferencia con grupos monocarbonados donde el carbono es transportado junto con un átomo de nitrógeno N5, el N10 o ambos (Stryer 1988).

Las pteridinas al encontrarse en solución presentan fluorescencia al exponerse a radiaciones ultravioleta con una longitud de onda de 365 nm (Fox, 1976).

MITOCONDRIA : OXIDASAS DEL CITOSOL ;
 PEROXISOMAS ; SISTEMA ENDOPLASMICO P-450. 41

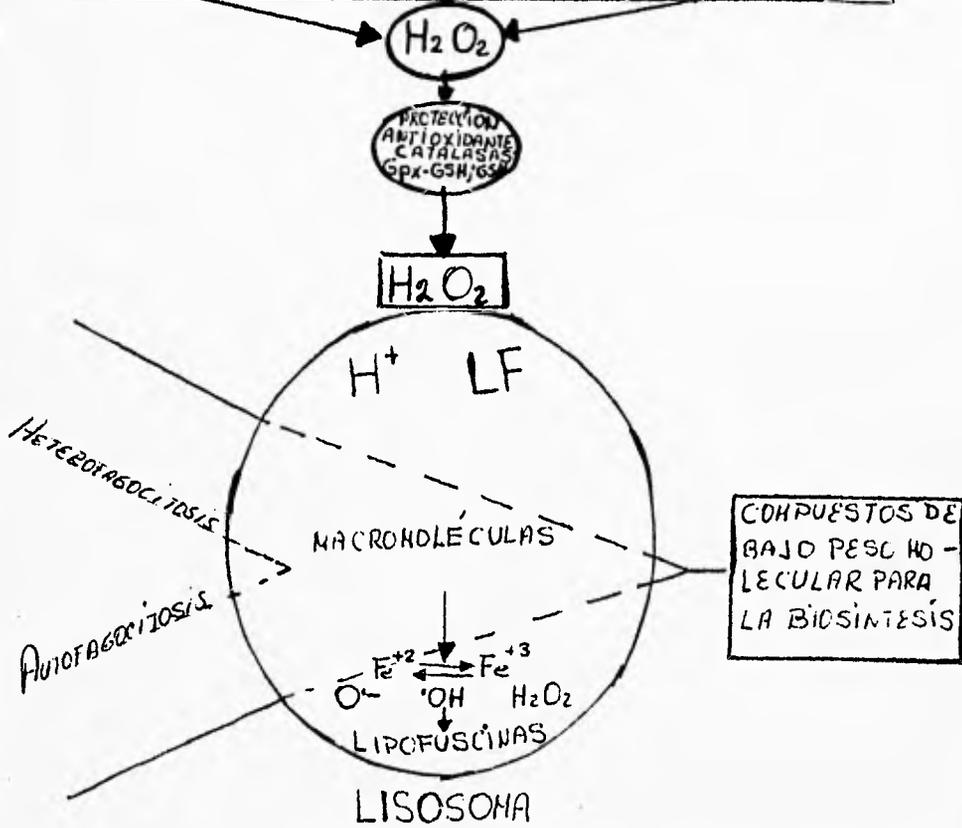


Figura 17 - En el esquema se muestra un modelo hipotético de la lipofuscínogenesis, el cual se basa en una combinación del papel que desempeñan en la célula los lisosomas y los radicales libres. Los lisosomas son los lugares en donde se reciclan los orgánulos celulares, mediante la autofagocitosis y heterofagocitosis, éstos se degradan y los productos obtenidos son reutilizados en la biosíntesis celular. Uno de los efectos del reciclaje es la formación de lipofuscinas, porque en el proceso intervienen los radicales libres. Las mitocondrias, las oxidasas del citosol, los peroxisomas y el sistema endoplasmico del P-450 intervienen en una serie de procesos relacionados directamente con la producción de peróxido de hidrógeno (H_2O_2). En el proceso intervienen una serie de sustancias antioxidantes que protegen la estructura y función celular de la acción de los radicales libres, tales como las catalasas, la glutatión peroxidasa en conjunción con la glutatión sintetasa (Gpx-GSH), y la glutatión sintetasa (GSH). EN los lisosomas se efectúan los procesos de auto y heterofagocitosis de las moléculas que forman parte del citosol así como de los organelos, para mantener en una continua renovación a la célula, el resultado de este proceso es que se generan radicales libres y éstos al reaccionar con las moléculas causan efectos deletéreos y producen materiales peroxidados como las lipoproteínas, que son los principales componentes de las lipofuscinas quienes a su vez son muy difíciles de digerir y entonces se acumulan en los lisosomas. LF = lipofuscinas. Tomado de (Brunk et al. 1992).

Algunas pteridinas se conjugan con proteínas y sirven como coenzimas. También son sustancias quimiotáctiles llamadas acrasinas, una de ellas fue aislada de *Dictyostellium lacteum* y se identificó como un derivado de las pteridinas que muestra una actividad quimioatrayente (Van Haastert *et al.*, 1982).

Otra de las funciones en las que intervienen las pteridinas es en el sistema inmunológico de los organismos, porque se ha observado en experimentos *in vitro* que los macrófagos son estimulados con el sobrenadante de un cultivo de linfocitos T activos en donde la concentración de neopterinas alcanza hasta 10 veces más del nivel basal que mantienen las células no estimuladas. Esta característica se usa para determinar el nivel de neopterinas en la sangre y poder detectar algunas enfermedades asociadas a estados hiperinmunes (Schoendon *et al.*, 1987).

Las pteridinas actúan como pigmentos biológicos en algunos insectos. En las células epidérmicas forman cristales que dan la apariencia oscura y al ser penetradas por la luz dan tonalidades brillantes y vistosas. Los patrones de coloración sirven para reconocer a los individuos de su especie o como mecanismo de defensa contra los depredadores al producir coloraciones que sirven para alertar a los demás individuos.

Las pteridinas se han utilizado para determinar la edad en algunos animales, como sucedió en el caso de Camín *et al.* (1991) quienes realizaron un estudio experimental para determinar bioquímicamente la edad de la mosca adulta *Ceratitis capitata* al cuantificar espectrofluorométricamente las pteridinas que se acumulan en la cápsula de la cabeza de las moscas, con edades de 0 a 28 días. Los resultados que se obtuvieron muestran que existe una diferencia significativa en el nivel de fluorescencia en relación con la edad. Esta técnica también se ha utilizado en otros insectos (Mail *et al.*, 1983; Lehane y Mail, 1985). Mediante éstos procedimientos es posible distinguir las moscas viejas de las jóvenes porque el nivel de fluorescencia es mayor conforme a la edad del individuo.

La acumulación de las pteridinas en los tejidos que forman la estructura del organismo se ha relacionado con el proceso de envejecimiento cronológico porque están en proporción con los eventos o ciclos metabólicos del organismo. Lehane y Mail (1985) encontraron un incremento en los niveles de pteridinas en las moscas que se expusieron a un estrés fisiológico al variar la temperatura, por lo que se desarrolla un tipo de envejecimiento fisiológico, al intervenir en el proceso los factores ambientales.

En la mayoría de los insectos la velocidad metabólica depende de la temperatura del ambiente en el que se desarrollan (Sohal, 1986).

Camín *et al.* (1991), demostraron el envejecimiento cronológico en la mosca *Ceratitis capitata*, al realizar un experimento en el que las moscas fueron expuestas a una temperatura constante de 22°C. Los resultados obtenidos indican

que la síntesis de pteridinas se incrementa en relación con la edad, por lo que es posible que en condiciones naturales de desarrollo las pteridinas sean útiles para marcar la edad de los individuos, esto es su edad cronológica. En cambio las lipofuscinas, que se acumulan como consecuencia del estrés, pueden ser las que indiquen el envejecimiento fisiológico, como lo menciona Sohal (1986), en su artículo sobre la teoría de la velocidad de lo viviente la cual se fundamenta en dos aspectos principales:

- 1- La existencia de un potencial metabólico predeterminado.
- 2- La presencia de una relación inversa entre la velocidad metabólico y el proceso de envejecimiento.

Se han realizado varios intentos para determinar el potencial metabólico de los organismos de una misma especie, en condiciones experimentales variables. Se pudo observar que las condiciones de desarrollo influyen al provocar alteraciones en la velocidad metabólica y en el tiempo de vida.

Con frecuencia se han elegido las variaciones de temperatura para poder cuantificar el potencial metabólico. Northrop en 1926 midió la cantidad total de CO₂ que produce la mosca Drosophila melanogaster, al someter a un cultivo de éstos organismos adultos a diferentes temperaturas de 15, 26 y 30°C en un ambiente oscuro. Otros cultivos fueron expuestos a temperaturas de 22 y 26°C en un ambiente iluminado. Los resultados obtenidos indican que en el medio oscuro la mayor cantidad de CO₂ se produjo en el medio de cultivo expuesto a 15°C esto indica que el factor oscuridad influye positivamente en la velocidad metabólica de las moscas en medios con una temperatura media como ocurre con la de 15°C. Y en el medio iluminado se dió una mayor producción de CO₂ en comparación con el medio oscuro, así como los valores más altos de CO₂ se registraron en el medio con la temperatura más alta

Gowen (1931) midió la velocidad de producción del CO₂ en 4 grupos diferentes de moscas Drosophila melanogaster las cuales tenían una constitución cromosómica variable. En sus resultados observó que cuando existe una alta velocidad de producción de CO₂ la esperanza de vida se hace más corta en los organismos y la cantidad de CO₂ producido por las moscas no fue cuantitativamente igual en los grupos con diferente genotipo.

La esperanza de vida para la mosca domestica está relacionada directamente con sus defensas antioxidantes e inversamente relacionada con los niveles de peróxido de hidrógeno, de tal forma que una población de moscas viejas es fácil de reconocer porque pierden su capacidad para volar y se encuentran cerca de la muerte. (Sohal Y Buchan, 1981).

Mc Arthur y Sohal (1982) realizaron experimentos similares con la chinche de la hierba lechera, Oncopeltus fasciatus; los cultivos se expusieron a un ambiente con temperatura variable de 18, 25 y 30°C; los resultados obtenidos mostraron que el potencial metabólico es muy similar en los tres cultivos, sin

embargo la velocidad metabólica es mayor en el que se expuso a mayor temperatura.

Los resultados obtenidos por Sohal en este campo de la ciencia, muestran que los compuestos que se acumulan más frecuentemente en los tejidos de los insectos y mamíferos, durante el proceso del envejecimiento son: las lipofuscinas, el material fluorescente soluble en cloroformo y el ácido tiobarbitúrico.

Se han encontrado evidencias de que el daño oxidativo es el causante de los cambios que experimentan los organismos en relación con la edad y que es el resultado de la acción química de los radicales libres sobre los lípidos polinsaturados y otras moléculas de la estructura química de los organismos (Tappel, 1975 y 1980). Lo que se plantea en éste párrafo únicamente reafirma las bases de la teoría de los radicales libres expuesta anteriormente.

De tal forma que, si la velocidad metabólica se acelera, aumenta la producción de radicales libres y los daños son mayores a la vez que se acorta la esperanza de vida de los individuos, luego, el proceso de envejecimiento se acelera porque se debilitan las defensas antioxidantes de los organismos, lo más probable es que se deba a un mecanismo que actúa bajo control genético. Toda la suma de éstos fenómenos propicia un incremento en la concentración de los productos que se forman por la acción química de los radicales libres, entonces se produce un deterioro fisiológico que origina la muerte de los organismos por envejecimiento.

Así que, la velocidad de envejecimiento en los organismos está relacionada directamente con la producción de radicales libres y los daños que causan, los cuales se ven incrementados conforme a la edad porque los niveles de antioxidantes disminuyen y entonces el daño causado es mayor, se acumula e induce el envejecimiento de todos los individuos.

V - ENVEJECIMIENTO EN PROCARIOTOS

Los organismos procariotos como las bacterias y las cianobacterias son los seres vivos con el nivel de organización celular menos complejo. Son los organismos más antiguos que se conocen y fueron los primeros pobladores de nuestro planeta. Sin embargo también envejecen y las causas de éste proceso son muy similares a como ocurre en el resto de los organismos, porque se encuentran bajo un programa genético que rige el proceso, de tal forma que su envejecimiento es cronológico, ahora que si los factores ambientales son desfavorables sufren un estrés fisiológico que acelera su envejecimiento.

Los organismos procariotos forman el reino mónera, el cual incluye básicamente dos clases de microorganismos, los aerobios que requieren de O_2 para respirar y los anaerobios, que no consumen oxígeno en sus procesos energéticos, por que están adaptados a vivir en un ambiente anoxigénico y utilizan otras sustancias como sustratos para la respiración. Por ejemplo las bacterias sulfurosas y las metanógenas que utilizan la oxidación del azufre y algunos compuestos orgánicos para obtener la energía necesaria, en un proceso metabólico que se representa químicamente como sigue:



Por lo tanto éste tipo de microorganismos procariotos no liberan radicales libres que se produzcan del metabolismo del oxígeno, como consecuencia sólo presentan un envejecimiento cronológico que actúa en relación a la edad del individuo el cual renueva su ciclo de vida al duplicarse. Sin embargo cuando éstos microorganismos se exponen a un ambiente con oxígeno atmosférico experimentan graves daños en su estructura química, como resultado del proceso de oxidación que sufren a tal grado que pueden morir; ante tal situación han desarrollado algunos mecanismos de defensa contra los efectos de la oxidación.

De las defensas más conocidas son: La formación de esporas, éstas son estructuras de alta resistencia que protegen a la célula bacteriana de las condiciones ambientales desfavorables como la sequía y las temperaturas extremas, así como de la acción oxidante de la atmósfera. La célula queda envuelta en una pared gruesa y conserva un metabolismo basal que la mantiene con vida en estado latente, hasta encontrar algún lugar que tenga las condiciones favorables para su desarrollo.

Otros microorganismos como las mixobacterias son capaces de sintetizar una goma gelatinosa, que es un polisacárido el cual forma una cubierta protectora y mantiene unidas las células de la colonia para impedir que el oxígeno se filtre hacia la matriz, de tal forma que ellas mismas conservan un ambiente anoxigénico adecuado para su desarrollo (Cronquist, 1977).

Entre las bacterias fijadoras de nitrógeno algunas son aerobias como Nitrobacter, Nitrosomonas y Azotobacter son generos de bacterias que forma esporas, éstas oxidan compuestos nitrogenados de donde obtienen su energía metabólica. Otras son bacterias anaerobias, como las saprófitas que se alimentan de materia muerta y viven en el suelo; como Clostridium, que también forma esporas.

Existen otros grupos de bacterias como las que viven en simbiosis, del género Rhizobium y forman nódulos en las raíces de plantas superiores: como las leguminosas, dichas bacterias realizan sus funciones metabólicas en presencia de una baja tensión parcial de oxígeno que se propicia al vivir en simbiosis, por lo tanto son aerobias, de tal manera que si pierden ésta condición mueren y sucede lo mismo si se exponen a las condiciones aeróbicas normales del oxígeno directamente en la atmósfera, por lo tanto su condición de vivir en simbiosis las protege.

Un fenómeno biológico de gran importancia en el proceso de la evolución de los organismos sin lugar a dudas fue la fotosíntesis primitiva anaeróbica, en la que pudo originarse la clorofila a partir del citocromo, éste experimentó la sustitución del hierro por el magnesio en el centro del anillo de la porfirina.

Los primeros organismos que efectuaron la fotosíntesis probablemente usaron azufre en el proceso, de una forma similar a como se observa actualmente en algunas bacterias.

A la fotosíntesis bacteriana que no produce oxígeno se le ha considerado el precursor evolutivo de la fotosíntesis que se observa en las plantas inferiores y superiores.

Por lo tanto se considera que la respiración aeróbica apareció en los organismos hasta que en el ambiente se acumuló una cantidad considerable de oxígeno atmosférico producido por la fotosíntesis. Sin embargo en trabajos de investigación recientes sobre éste aspecto mencionan, que pudieron haber existido desde un principio organismos procariontes de respiración aerobia, con base en las pequeñas cantidades de oxígeno existentes en la atmósfera primitiva y que pudo ser además una forma de adaptarse más fácilmente a las cantidades crecientes de oxígeno en el ambiente.

Por otro lado a las bacterias anaeróbicas reductoras de sulfatos se les considera actualmente como los ancestros de todos los organismos fotosintéticos y lógicamente de todos los eucariotes.

El otro tipo de microorganismos es el de las bacterias aeróbicas, quienes se adaptaron paulatinamente a un ambiente con mayor cantidad de oxígeno generado por los organismos fotosintéticos, de tal forma que el ambiente era cada vez más oxidante y así como consecuencia de la acción del oxígeno en el metabolismo aeróbico se generaron los radicales libres, que por su parte al actuar químicamente dentro de los mesosomas de la célula producen los cambios y

alteraciones que caracterizan el proceso del envejecimiento, al inducir daños a nivel molecular, como resultado de todo este proceso los organismos experimentan un envejecimiento fisiológico y en conjunto con el cronológico determinan el avance total del proceso en relación con la edad del individuo.

Por su parte las bacterias aeróbicas han desarrollado también mecanismos antioxidantes de defensa para ayudarse fisiológicamente a conservar el equilibrio y retardar el envejecimiento; estos mecanismos se han desarrollado como respuesta a las condiciones del medio oxidante. Se trata de una serie de sustancias enzimáticas que destruyen los radicales libres y nulifican su acción.

Por ejemplo se examinaron células bacterianas de Escherichia coli y se encontró que tienen dos clases de enzima superóxido dismutasa (SOD), una de ellas contiene manganeso y se encontró en la matriz celular, la otra contiene hierro y se encontró en el espacio periplásmico.

La SOD y las peroxidasas son sustancias enzimáticas que en conjunción con las sustancias antioxidantes no enzimáticas, confieren a los organismos procariotes aeróbicos la capacidad de adaptación a la presencia de oxígeno, el cual es un elemento determinante en los procesos metabólicos que le dan a cada célula la energía necesaria para sus funciones, y sin embargo genera los cambios característicos del envejecimiento (Fridovich, 1974).

VI - ENVEJECIMIENTO EN ORGANISMOS EUKARIOTOS

Los organismos eucariotes están constituidos por células que tienen un nivel de organización más complejo al de las células procariotes.

Todos los eucariotes son de respiración aeróbica, porque utilizan el oxígeno en sus procesos metabólicos, por lo tanto generan radicales libres que causan daño en su estructura molecular y como consecuencia participan en el proceso de envejecimiento.

Los eucariotes están clasificados actualmente en cuatro reinos, el Protista en el que se incluyen únicamente organismos unicelulares llamados protozoarios. Los reinos Fungi, Vegetal y Animal incluyen básicamente organismos pluricelulares.

Los eucariotes son organismos que han podido adaptarse a las condiciones ambientales existentes, como a la atmósfera oxidante, mediante la evolución de sus estructuras celulares y los mecanismos necesarios para un metabolismo que requiere de oxígeno. Una adaptación de suma importancia al respecto ha sido sin duda la presencia de las mitocondrias, un orgánulo especializado en la función de la respiración celular.

El origen de las mitocondrias se explica principalmente con base en la teoría de la endosimbiosis, que se sustenta en la hipótesis de que una bacteria pudo quedar dentro de otra y se especializó en el proceso de la respiración, a la vez que conservó su propio ADN, consolidándose como el organelo celular que obtiene la energía metabólica mediante el proceso de la fosforilación oxidativa, que guarda la mayor parte de energía de los procesos de oxidación a los que se someten las sustancias nutritivas asimiladas por la célula.

El origen de los cloroplastos en las células vegetales se explica de una forma similar, al considerar que es otro de los organelos celulares fundamentales en los procesos de evolución de los organismos por estar relacionado directamente con la fotosíntesis.

Los especialistas en este campo de la ciencia consideran que el mayor daño que sufren las células eucariotas, se localiza en las membranas y el ADN de las mitocondrias, por ser este el sitio donde se producen los metabolitos intermediarios con actividad oxidante y como consecuencia donde se realiza la acción química de los radicales libres (Miquel, 1992).

La cadena respiratoria produce un flujo de oxiradicales en los sitios cercanos al genoma de la mitocondria. Aproximadamente el 1% del oxígeno que utiliza la mitocondria es convertido en radicales superóxido ($O_2^{\cdot-}$) los cuales son controlados por la enzima superóxido dismutasa (SOD-Mn). Sin embargo el proceso de detoxificación no es total (Fridovich, 1974).

Por medio de esta acción enzimática se produce H_2O_2 , el cual es controlado por las catalasas y las peroxidasas. Sin embargo el peróxido que no se destruye reacciona con el superóxido y forma radicales hidroxil, quienes a su vez reaccionan con los lípidos y propician la peroxidación, estas reacciones son las que principalmente causan el daño en la morfofisiología de la célula.

Como consecuencia de la acción química mencionada, se generan lesiones en el ADN mitocondrial (ADN mt) éstas pueden ser escisiones sencillas y entrecruzamientos que se corrigen, sin embargo en algunos casos el daño persiste y provoca fenómenos de mutagénesis intrínseca en las mitocondrias (Miquel, 1992).

En general, los organismos eucariotes tienen diferentes sustancias antioxidantes que forman parte de los mecanismos de defensa en contra de la acción de los radicales libres que causan el envejecimiento, como las enzimas catalasas y peroxidasas. En los procariontes los mecanismos de acción son similares, sin embargo en los eucariotes existen sustancias no enzimáticas que se suman a los mecanismos antioxidantes para evitar el daño causado por los radicales libres, como los carotenos, el α - tocoferol, el glutatión, etc.

A continuación se comentan algunos aspectos de importancia en el envejecimiento de los diferentes grupos de eucariotes.

A) ENVEJECIMIENTO EN PROTISTOS.

Son organismos unicelulares que experimentan el fenómeno del envejecimiento de una forma similar a los procariotes, sin embargo en los protozoarios se producen radicales libres que causan daño a las moléculas de sus células porque son de respiración aerobia, esto es que requieren de oxígeno en el proceso que genera la energía metabólica, como sucede en los procariotes aerobios.

Sin embargo existen algunas diferencias importantes en las características morfofisiológicas de los protozoarios, en comparación con los procariotes: porque éstos ya presentan células eucariotas. Pero lo que más ha llamado la atención a los investigadores es que algunos tienen células multinucleadas y aparentemente no muestran procesos de envejecimiento, la causa principal es que al encontrarse en medios favorables presentan ciclos reproductivos indefinidos sin observar un deterioro aparente, ya que en cada ciclo renuevan sus células, por lo tanto el envejecimiento es parcial y rejuvenecen mediante la división celular. Estos fenómenos son muy similares a lo que sucede en las bacterias, pero cuando están en condiciones ambientales limitadas disminuye su capacidad de reproducción envejecen y mueren.

Danielli y Muggleton (1959), realizaron algunos experimentos con cultivos de *Amoeba proteus* y de *Amoeba discoides*, descubrieron que su comportamiento es muy similar al de los protozoarios con células multinucleadas. Sin embargo las amibas son mesocariotes y carecen de mitocondrias, por lo tanto se deduce que los niveles de producción de radicales libres debe de ser menor al de los demás eucariotes y como consecuencia el daño deberá ser menos fuerte.

Otra de las características de los protozoarios es la acumulación de mutaciones deletéreas en el ADN de poblaciones que se reproducen asexualmente, porque con el tiempo degeneran y mueren, esto es debido a que no existe una renovación continua de su material genético, no cambia y además es afectado por la acción de los radicales libres que causan daños y desencadenan el proceso de envejecimiento celular.

b) ENVEJECIMIENTO EN HONGOS (FUNGI)

Los hongos son organismos heterótrofos, unicelulares y multicelulares que se agrupan en el reino Fungi, sus células son aerobias y tienen mitocondrias, así que el proceso de envejecimiento en estos organismos es similar al de los prototistas en relación a sus causas, efectos y mecanismos de defensa característicos.

Se ha podido observar el proceso de envejecimiento en varias especies de hongos, dos de ellas son: *Podospora anserina* y *Aspergillus glaucus* (Félix, 1973). En las dos especies se presenta una interrupción en el crecimiento vegetativo después de cierto tiempo de desarrollo, se le llama senectud o muerte

vegetativa. Como el fenotipo en las dos especies es muy similar y ambas son homotálicas, se considera que la causa es la misma. En las dos especies el grado de crecimiento vegetativo se mantiene constante durante cierto tiempo, sin embargo se interrumpe súbitamente. Previo a este fenómeno se observan deformaciones, hinchamientos y otras alteraciones morfofisiológicas en los extremos de las hifas que proceden a la muerte de las células en la zona de crecimiento del micelio. Se piensa que estos mecanismos son desencadenados por los genes del envejecimiento que propician el proceso y muerte de la colonia.

En las dos especies se practicó la prueba del heterocarión (combinación de hifas normales con hifas longevas), ésta sirvió para demostrar que los procesos del envejecimiento son el producto de factores citoplasmáticos, porque cuando las hifas jóvenes se unen a las hifas longevas (viejas), el factor que causa el envejecimiento se propaga por todo el micelio. Y en estudios complementarios se ha podido demostrar por medio de micelios que portan marcadores genéticos apropiados, que la infección en *Aspergillus* no está asociada a la migración de núcleos procedentes de las hifas longevas a las hifas jóvenes y en *Rodospira* la infección no se transmite mediante los gametos masculinos.

Estas evidencias apoyan la teoría de la acumulación de errores en algunas moléculas enzimáticas y en general del daño que causan en todas las moléculas de la estructura celular del citoplasma longevo. Todos los daños son transmitidos al aparato fisiológico del individuo generándose un espectro amplio de alteraciones morfofisiológicas en las etapas finales del crecimiento (Félix, 1973).

Orgel (1963), señaló que el fracaso para mantener la precisión requerida en la síntesis de proteínas podría ser la causa principal del envejecimiento celular, porque si el programa genético proporciona la información precisa para la síntesis, es de esperarse que ocurran errores ocasionales en la transcripción y traducción de la información (Lofffield, 1963). Por lo tanto los errores ocurridos se incrementan conforme a la edad de los individuos y el envejecimiento se hace más patente.

El daño se incrementa cuando las moléculas afectadas pertenecen al grupo de las enzimas que intervienen en la transcripción y traducción de las claves genéticas, por ejemplo la ARN polimerasa y la aminoacil sintetasa del ARN de transferencia (ARNt), por que entonces disminuye la especificidad de las moléculas defectuosas considerablemente y los errores son más frecuentes en los organismos diferenciados, debido a que el grado de renovación celular se reduce conforme a la edad.

Orgel sugirió una prueba experimental para demostrar su hipótesis, ésta consiste en inducir un incremento artificial de la frecuencia de errores en la síntesis de proteínas al tratar las células con cantidades no tóxicas de aminoácidos o análogos de bases del ARN. El experimento se realizó en *Propiophila melanogaster*, los resultados fueron positivos. Es posible que los aminoácidos análogos ocupen el lugar de los aminoácidos naturales, como consecuencia

disminuyó la especificidad enzimática, porque el tratamiento efectuado redujo la vida media de la mosca de la fruta.

Posteriormente se realizaron otras pruebas en cultivos de *Podospora* a los cuales se les agregó una muestra de aminoácidos análogos no tóxicos para incrementar la frecuencia natural de errores durante la síntesis de proteínas y al incorporarse los aminoácidos análogos a las proteínas, inhibieron el crecimiento del hongo (Holliday, 1969).

También se realizaron pruebas en cultivos de *Neurospora*, sin embargo el envejecimiento no se presenta de la misma forma que en *Podospora* y *Aspergillus* (Mc Dougall y Pittenger, 1966) debido a que en *Neurospora crassa* en condiciones normales, actúan factores selectivos en favor de la longevidad como reproducirse solo como un organismo aloploide y así genera esporas haploides que a su vez se multiplican en células haploides que posteriormente pueden fusionarse y así experimentar un proceso breve de reproducción sexual, dentro de un ciclo vital que se sustenta principalmente en una reproducción asexual.

Por otra parte, *Podospora* y *Aspergillus* son especies homotálicas que realizan continuamente ciclos reproductivos sexuales que impiden la continuidad del proceso de envejecimiento. Sin embargo existen variantes genéticas en *Neurospora* que tienen vida corta y propiedades similares a las de especies homotálicas. Un mutante de este tipo es la nd (natural death) que se desarrolla de forma similar a las especies silvestres, pero su crecimiento se interrumpe súbitamente y como consecuencia se muere el micelio. Es probable que la mutación propicie la falta de precisión en la síntesis de proteínas y genere una catástrofe de errores metabólicos, que causen la muerte prematura de las células.

Si el envejecimiento en *Podospora* y la muerte vegetativa en *Aspergillus* se deben a una disminución progresiva en la fidelidad de la síntesis de proteínas, entonces éstos ejemplos son la prueba de la existencia de la herencia citoplasmica que es el producto de la acumulación de errores a nivel molecular.

c) ENVEJECIMIENTO EN PLANTAS.

Los vegetales presentan un tipo de envejecimiento cronológico, es decir senescente, porque si bien los factores ambientales pueden establecer condiciones de estrés fisiológica, también sirven en la mayoría de las especies como un estímulo para desencadenar los mecanismos de envejecimiento parcial o total que experimentan, estos efectos dependen fundamentalmente de las características biológicas que están programadas genéticamente en cada individuo. Por ejemplo, en una planta anual se desarrollan todas las fases del ciclo de vida en un año, siempre y cuando las condiciones ambientales sean las más favorables para cada especie, de tal forma que el estrés que les afecta sirve como mecanismo para generar los cambios durante su ciclo de vida, en conjunción con el programa genético que tienen sus células.

Por ejemplo en las plantas perennes, como los robles que tienen ciclos de vida muy largos se nota la influencia de las condiciones ambientales, porque florecen sólo cuando dichas condiciones son más propicias, como durante la primavera.

Otro punto importante es que en las plantas caducifolias se presentan mecanismos de envejecimiento parcial, que se observan en la caída de las hojas, y en general en la floración y en la madurez de los frutos (Noodén y Leopold, 1988). Por lo tanto el envejecimiento de los vegetales, en la mayoría de los casos es parcial, debido a que se presenta en los diferentes tejidos. Sin embargo cuando las condiciones de estrés rebasan el límite de tolerancia, los vegetales envejecen y mueren rápidamente.

Por ejemplo, las plantas leñosas presentan tejidos que envejecen y mueren, sin embargo siguen funcionando, así pasa con los tejidos que forman parte de los vasos leñosos, la corteza y el súber de los árboles, arbustos y matorrales quienes en general experimentan un envejecimiento cronológico, el cual es llamado en el caso de los vegetales fenómeno de senescencia.

En todos los procesos de senescencia intervienen los fitorreguladores, éstos son sustancias químicas producidas por la misma planta, que regulan todos los procesos de crecimiento, de desarrollo y diferenciación del organismo, así como los mecanismos de defensa antisenescentes y las respuestas a los estímulos provocados por los factores ambientales.

Existen fitorreguladores que aplicados exógenamente, retardan el envejecimiento y existen otros que lo inducen, por ejemplo el etileno está relacionado con el proceso de senescencia, porque promueve la madurez de los frutos y genera una respuesta análoga al climaterio en algunas flores (Solomos, 1988; Reid, 1987). El etileno es el que induce la pérdida de clorofila, la cual a su vez propicia el envejecimiento de los cloroplastos, para a su vez causar el envejecimiento y caída de las hojas.

Estudios realizados sobre la función que desempeña el etileno en las funciones vegetales y los fenómenos de senescencia, indican que es el fitorregulador de mayor acción, ya que además interactúa con otras hormonas o fitorreguladores tales como: las giberelinas, las citoquininas, las auxinas y el ácido abscísico al intervenir en las características morfológicas del vegetal.

El etileno influye en los cambios de velocidad de la respiración y en los cambios de permeabilidad de las membranas, porque interviene en el proceso de peroxidación de los lípidos (fig. 18) en el cual se observa como el etileno estimula la generación de fosfolipasas las cuales dejan ácidos grasos libres que son atacados por la lipoxigenasa, en este proceso se liberan los radicales superóxido que causan la peroxidación y desestabilizan la bicapa de fosfolípidos, la cual pierde flexibilidad y con ello se pierde su función

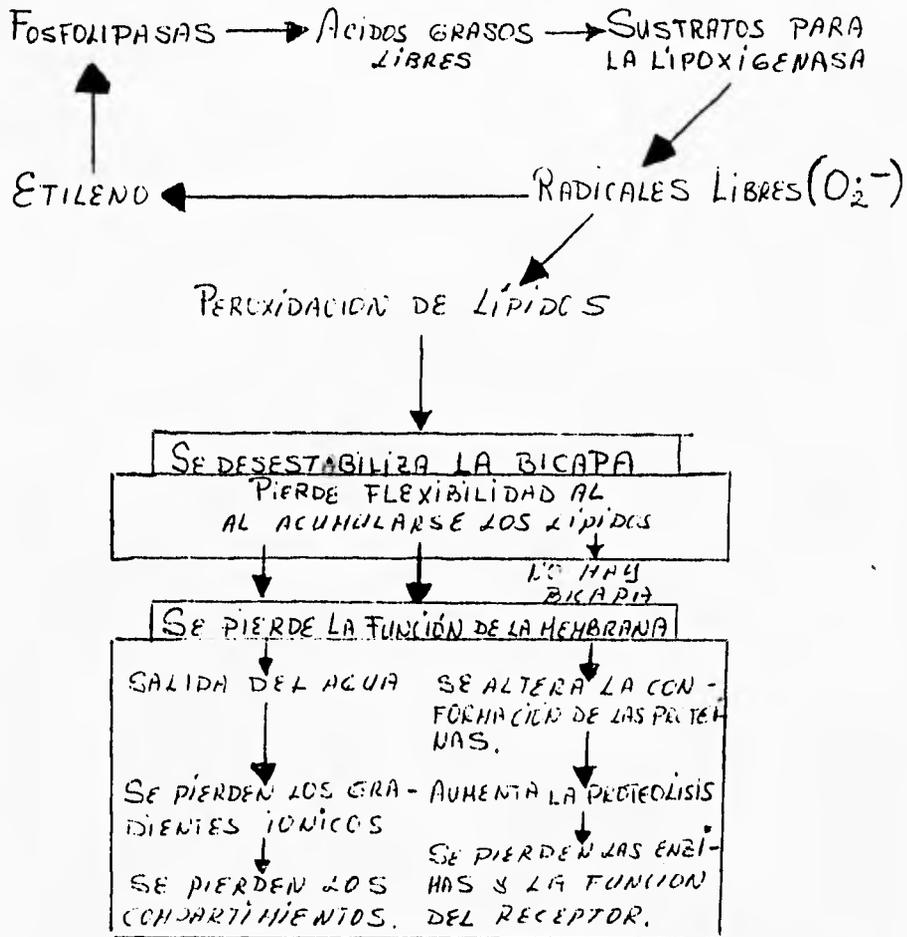


Figura 10 - El esquema es de un modelo que representa, una propuesta de la secuencia de fenómenos que conducen a la desintegración de las membranas celulares de células vegetales durante el proceso de envejecimiento.

El etileno activa la formación de fosfolipasas las cuales a su vez actúan sobre las moléculas y producen ácidos grasos libres, éstos son el sustrato de la lipoxigenasa que al desintegrarlos genera radicales libres superóxido (O₂⁻), los cuales por un lado activan la formación de etileno y así se continúa el ciclo, y por otro lado causan la peroxidación de los lípidos de la membrana, como consecuencia se desestabiliza la bicapa de fosfolípidos, pierde flexibilidad porque se acumulan los lípidos, y se pierde la función de la membrana, al alterarse la conformación de las proteínas, se aumenta la acción proteolítica, se pierden las enzimas y la función del receptor. Estos son los principales efectos de la acción de los radicales libres en las membranas celulares de los vegetales durante el proceso del envejecimiento. Tomado de (Noodén y Leopold, 1988).

primordial, finalmente se altera la conformación de las proteínas, aumenta la proteólisis y se pierden los gradientes iónicos.

El etileno también interviene en la destrucción de la clorofila, en la síntesis de pigmentos, en la transferencia y metabolismo de los carbohidratos, ácidos orgánicos y proteínas, así como en el ablandamiento de los frutos y la producción de sustancias químicas que proporcionan el sabor, olor característico de cada especie de vegetal (Gane, 1934).

Las citoquininas son hormonas vegetales relacionadas con los procesos de envejecimiento, actúan al retardar el proceso a través de un recambio de las proteínas que constituyen las membranas celulares y así reducen el daño causado por los radicales libres.

Las giberelinas son otra clase de fitorreguladores los cuales inducen la formación de yemas o la aparición de filotaxia juvenil en los árboles viejos. También retrasan el proceso de lignificación que acompaña al fenómeno de especialización de las células del xilema, la conversión de los cloroplastos a cromoplastos y el desarrollo de la capa de abscisión en los cítricos (Noodén y Leopold, 1978).

Mediante estudios complementarios se ha podido demostrar que las giberelinas retardan la pérdida de clorofila en algunos órganos como los frutos, en las partes apicales de raíces, en los cotiledones y en los tallos de las flores. Intervienen al retardar el envejecimiento de los pétalos y los peciolo, también promueven el rompimiento de las sustancias de reserva y la movilización de los nutrientes en los tejidos de las semillas, además de ser inhibidores de los procesos en los que se rompen las moléculas del ARN y de las proteínas que están asociadas con el envejecimiento del vegetal. Como consecuencia de todas estas funciones, las giberelinas son conocidas con el nombre de hormonas del rejuvenecimiento.

Existen otras hormonas vegetales como las auxinas, que se producen en pequeñas cantidades en las hojas maduras y promueven la formación de etileno. En forma general retrasan el proceso del envejecimiento, sin embargo en algunos órganos del vegetal como el xilema y las estructuras florales se acelera el proceso (Noodén y Leopold, 1988).

4) ENVEJECIMIENTO EN LOS ANIMALES.

Los metazoarios vertebrados e invertebrados presentan un proceso de envejecimiento muy similar al de los grupos anteriores. Debido a que experimentan una serie de cambios deletéreos irreversibles a nivel molecular, en la estructura de sus células, éstos se incrementan conforme a la edad y afectan sus funciones biológicas.

Como consecuencia de los daños mencionados, los organismos disminuyen su capacidad de respuesta y son presa de enfermedades propias de la vejez, así que

sus probabilidades de vida son menores y su capacidad reproductiva también disminuye porque sus ciclos son menos frecuentes.

Conforme avanza el proceso en los animales varía su desarrollo y muestran cambios morfofisiológicos característicos, que pueden ser utilizados en muchos casos para determinar la edad cronológica de los individuos a simple vista, al compararlos con otros más jóvenes.

Los daños son causados básicamente por la acción química de los radicales libres que se generan mediante el metabolismo del oxígeno en el proceso de la respiración celular, como ya se explicó anteriormente en este trabajo.

En el reino animal existe una gran diversidad y abundancia de especies y con fines científicos se han utilizado varias de ellas como modelos de envejecimiento, de tal forma que han servido para identificar los aspectos de más trascendencia en el estudio del proceso de envejecimiento.

Como gran parte de las generalidades que se comentan en las secciones anteriores se basan en modelos animales, en esta sección sólo se describen algunos ejemplos específicos del proceso de envejecimiento.

Las investigaciones realizadas en varias especies de dípteros a nivel de cutícula, revelaron que existen diferencias en la composición y cantidad de hidrocarburos con base en el sexo y edad de los individuos. El estudio se realizó con grupos experimentales de animales de ambos sexos y las edades eran de 3, 6, 24, 48, 72, 96 y 120 horas. La medición fue realizada mediante técnicas bioquímicas (Jackson y Arnold, 1981).

En Drosophila melanogaster el dimorfismo sexual se puede observar un día después de la eclosión. Los individuos jóvenes de ambos sexos tienen cadenas de hidrocarburos con 29 y 31 carbonos, mientras que los individuos viejos tienen hidrocarburos de 23, 25 y 27 carbonos. Durante la madurez sexual las hembras tienen abundantes moléculas con 27 carbonos, y los machos tienen más moléculas con 23 carbonos. Estas diferencias probablemente se deben a los ciclos reproductivos y en general al estado fisiológico de las diferentes etapas del desarrollo que pueden servir para detectar la edad y el sexo de los individuos.

En general el reino animal es el que ha dado el mayor cúmulo de conocimientos sobre el proceso del envejecimiento, por ejemplo los insectos como la mosca de la fruta y la mosca doméstica se han utilizado en muchos estudios sobre el proceso. Un gran número de especies de mamíferos también han servido en diferentes estudios del envejecimiento.

Como lo muestran los estudios realizados por Cutler (1991), quien menciona que la velocidad de envejecimiento es proporcional a la velocidad metabólica del organismo y que la longevidad de cada especie está en relación directa con la velocidad de desarrollo fisiológico de los individuos. Así que si los radicales libres, son los factores causales del envejecimiento, entonces los

organismos tienen diferentes estrategias activas para disminuir los efectos tóxicos de dichos radicales, luego, la longevidad de las especies, estará determinada por el mismo proceso.

Estos conceptos se probaron al comparar los tejidos de varias especies de mamíferos en relación a la concentración endógena de sustancias antioxidantes, en función de su máximo potencial del tiempo de vida (MLSP) y la velocidad metabólica específica (SMR).

En un estudio realizado con la enzima superóxido dismutasa (SOD), se registro una relación en la que a mayor concentración de la misma, se incrementa el promedio del potencial máximo de esperanza de vida (longevidad) de los organismos en función del (SMR) (fig. 19).

Existen otros antioxidantes que muestran una correlación similar con base en el tiempo de vida de las especies, tales como el α -tocoferol, los carotenos y el ureato. Se realizaron algunas pruebas en diferentes especies de primates, incluido el hombre, quien por cierto muestra los valores más altos y mayor resistencia al proceso de envejecimiento, esto probablemente se debe a que tiene un promedio de vida superior a los demás primates y a que su desarrollo morfofisiológico es más lento, en la gráfica obtenida del estudio se observa una mayor concentración de sustancias antioxidantes como la vitamina E, en el plasma sanguíneo de los organismos conforme aumenta su longevidad (MLSP). (fig. 20).

VII. ORIGEN Y EVOLUCIÓN DEL PROCESO DE ENVEJECIMIENTO.

El fenómeno del envejecimiento es característico de todos los organismos, como consecuencia todas sus estructuras orgánicas experimentan un deterioro morfofisiológico que se hace patente conforme a la edad.

Actualmente, en el mundo de la ciencia al deterioro morfofisiológico se le relaciona con la producción de los radicales libres que se producen en el metabolismo celular, como ya se explico en el capítulo IV y mediante los mecanismos genéticos que gobiernan el trabajo metabólico en las células.

Así que los organismos son sistemas biológicos que conservan el equilibrio funcional, en relación con los procesos que efectúan, porque funcionan bajo un sistema de control predominantemente genético, el cual es estable y a la vez flexible, para ser capaz de responder adecuadamente a la variación que experimentan los factores del medio ambiente. Por lo tanto el proceso de envejecimiento se presenta en forma lenta y paulatina, como respuesta al tiempo de vida de los sistemas orgánicos, a través de una serie de mecanismos inducidos por el programa genético y por los factores ambientales.

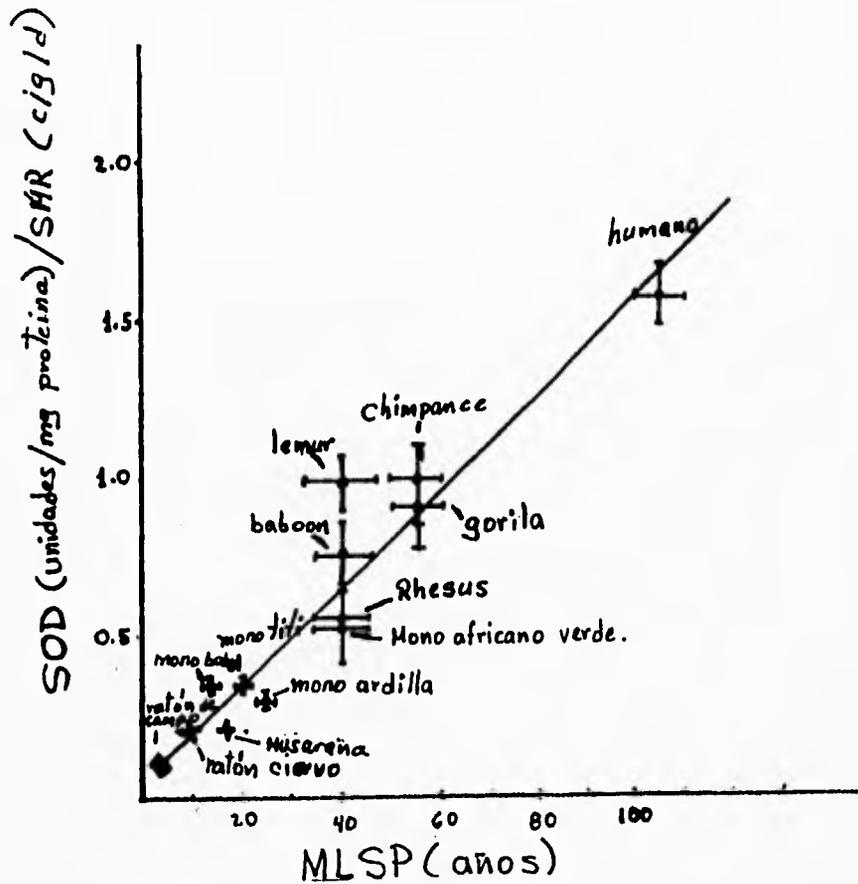


Figura 19 - La gráfica muestra los resultados obtenidos por Cutler al comparar la concentración de la enzima superóxido dismutasa con el SMR, en el hígado de diferentes especies de primates y en función del MLSP. Se observa que la concentración de la enzima y el SMR se incrementan conforme a la longevidad de cada especie, esto es que a mayor longevidad mayor es la concentración de la superóxido dismutasa.
 SMR = velocidad metabólica específica.
 MLSP = potencial máximo de esperanza de vida.
 Tomado de (Cutler, 1991).

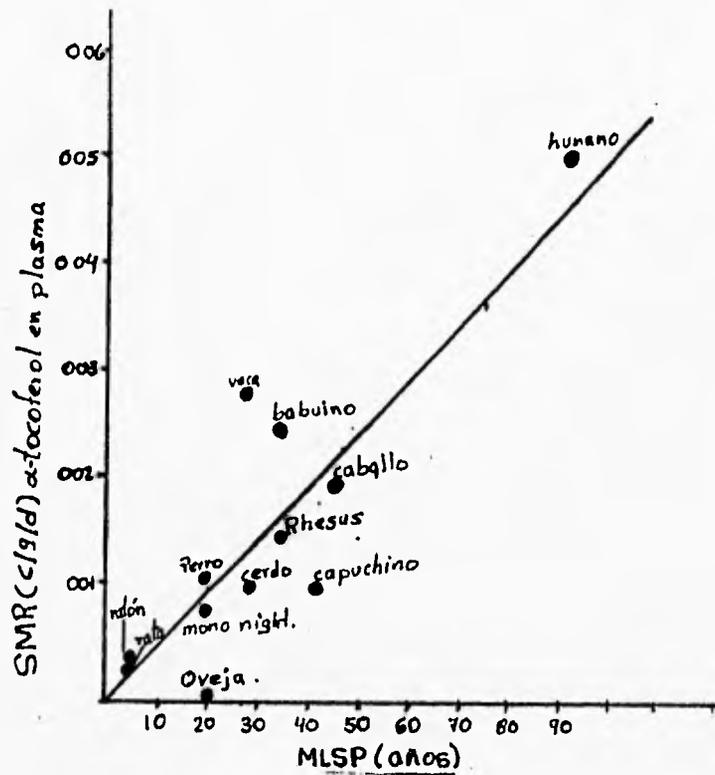


Figura 20 - La gráfica muestra la concentración de vitamina E o α -tocoferol, en el plasma de varias especies de mamíferos en conjunción con el SMR y en función del MLSP.

Los resultados obtenidos muestran que la concentración de vitamina E y el SMR aumentan en función del incremento del MLSP o sea la longevidad de cada especie.

SMR = velocidad metabólica específica.

MLSP = potencial máximo de esperanza de vida.

Tomado de (Cutler, 1991)

Y se reafirma que el envejecimiento es una propiedad inherente al origen y evolución de los seres vivos, los cuales surgieron como el producto de una serie de reacciones químicas entre los radicales libres, para dar forma a los sistemas moleculares primitivos y así originar a los primeros organismos (Harman, 1992).

Posteriormente pudieron evolucionar hasta sistemas más complejos, mediante un programa genético que les proporcionó los medios necesarios para tener un ciclo de vida finito y así producir nuevas generaciones con mejores posibilidades para adaptarse a las condiciones ambientales existentes y ser la esencia del proceso de evolución, en el cual se sustenta la gran diversidad biológica que se observa actualmente entre los organismos.

En el presente la mayoría de los hombres de ciencia consideran que los organismos son los únicos que experimentan el proceso de envejecimiento y que los seres inanimados sólo se deterioran con el paso del tiempo, mediante la acción de los factores ambientales como la luz, la humedad, la acción química del oxígeno etc. Por ejemplo se dice que las rocas envejecen al estar expuestas a las reacciones de oxidación-reducción por medio de los factores del ambiente (Miquel, 1991). Sin embargo sólo se transforman en otras sustancias o materiales al estar sujetas al proceso de intemperismo que las convierte en fracciones más pequeñas a través del tiempo.

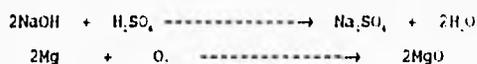
Con base en la bibliografía revisada para la elaboración del presente trabajo y los conceptos que se manejan al respecto, se ha considerado que los cuerpos inanimados no envejecen, sólo son objeto de simples cambios en su estructura química, en donde los átomos y moléculas que los forman reaccionan con otros que existen en el medio en el que se encuentran, por ejemplo el oxígeno que origina un ambiente oxidante que deteriora a todos los objetos, en este proceso también intervienen factores como la temperatura, la humedad, el viento y la luz, quienes con su acción alteran las condiciones de la materia en general a través del tiempo.

Así que el aspecto interno y externo de la materia inerte cambia con el paso del tiempo, porque carece de mecanismos propios para mantener sus características y no tiene ninguna defensa en contra de la transformación, por lo que se presenta el proceso de cambio sin que pueda evitarse.

Por lo tanto los objetos inanimados no envejecen sólo se transforman, como ocurre con el planeta Tierra quien a partir de su origen ha experimentado un proceso de evolución a través del tiempo hasta adquirir las características que muestra actualmente. En comparación los organismos vivos, tienen un ciclo de vida y una longevidad propia de cada especie y en ellos puede observarse, experimentarse y medirse la velocidad de envejecimiento, además de cuantificarse los mecanismos de defensa con base en los antioxidantes que ellos mismos producen.

Un ejemplo tangible de lo que ocurre con los cuerpos inanimados, se observa en una simple reacción química entre sustancias inorgánicas, en donde

ocurre un cambio en los componentes originales que se transforman en otros, sin que haya alteración en la proporción de los elementos que forman los reactivos ni en los productos de la reacción. En cambio los organismos vivos tienen sistemas de control que se aplican mediante mecanismos propios como ya se explicó antes y en el caso de la materia inerte se comprenden como simples cambios químicos en los cuales no hay sistemas de control inherente a su naturaleza, más bien obedecen a las leyes físicas y químicas propias al comportamiento general de la materia. Por ejemplo las reacciones que se presentan a continuación:



Actualmente se considera que el proceso del envejecimiento se originó en forma conjunta con la vida misma y que al evolucionar todos los sistemas vivientes también ocurrió lo mismo con el proceso, el cual en un principio fue únicamente cronológico y posteriormente la acción de los factores ambientales propició la aparición del proceso por desgaste fisiológico, especialmente por la influencia del oxígeno cuando éste pudo ser utilizado en los procesos metabólicos.

En consecuencia la presencia y evolución del envejecimiento en los organismos es una adaptación trascendente para ellos mismos, debido a que es la forma natural de finalizar un ciclo de vida y a su vez que exista una continuidad generacional, que permita al proceso de evolución hacerse evidente; como consecuencia las especies de organismos han podido mantenerse vivas a través de millones de años.

Si estos fenómenos no ocurrieran, se detendría la producción de nuevas especies y las ya existentes degenerarían y tenderían a desaparecer por no tener la capacidad de respuesta a la variación de los factores ambientales.

La muerte es otro de los fenómenos que caracteriza a los seres vivos, como ya se mencionó en el capítulo III. En cambio los cuerpos inanimados no mueren sino que se mantienen en una continua transformación, fenómenos que muchas personas confunden con envejecimiento.

En los organismos anaerobios obligados el proceso de envejecimiento cronológico es un mecanismo de defensa contra la muerte, esto es un mecanismo propio del ciclo vital que impide la destrucción de las células, porque los lleva a un rejuvenecimiento que se presenta a través de su ciclo reproductivo, el cual desencadena los procesos de fisión binaria y parasexualidad, que forman dos células con nuevas perspectivas genéticas y un nuevo ciclo de vida. Este mecanismo produce generaciones consecutivas de organismos que con el material genético recombinado se reafirma el proceso de evolución y se propician mayores

posibilidades de adaptación en los nuevos organismos no importa que el ambiente cambie sus condiciones bruscamente.

Existen casos patológicos en ciertos tejidos del cuerpo de algunos individuos, en los que se han observado fenómenos de inmortalidad, como sucede cuando ocurren cambios en el programa genético de las células. Estas alteraciones pueden servir en la degeneración de las funciones elementales que pueden propiciar una fase de reproducción continua en la que los tejidos no envejecen y forman una masa celular en la que no se detectan procesos de envejecimiento. Como consecuencia se forman tumores cancerosos que crecen en forma desmedida y causan un desorden total en la fisiología del organismo que termina con la muerte del individuo.

Los mecanismos de defensa que presentan los organismos son parte in-nata de sus características biológicas, ya que se originaron y evolucionaron conjuntamente con el proceso de envejecimiento, determinándose así las expectativas de vida y longevidad para cada especie.

Estudios realizados sobre la longevidad de los organismos, en varias especies, muestran que las más longevas son las que tienen los mecanismos antioxidantes y anticancerígenos de mayor eficiencia, debido a que también disminuyen el estrés oxidativo. Estas características se han cuantificado en los grupos de mamíferos, donde se ha visto que sus defensas antioxidantes retardan el envejecimiento en mayor grado que en los organismos de menor longevidad, el ser humano es de las especies con mayor longevidad (Cutler, 1991).

La figura 21 es una gráfica que muestra algunas características que se relacionan con sustancias antioxidantes y la longevidad de la mosca doméstica. Se comparan diferentes concentraciones de antioxidantes endógenos en los tejidos de la mosca y su disminución en función de la edad de la misma. Se analizan las cantidades de antioxidantes en relación con la protección que les dan a los tejidos en contra de la cantidad de oxirradicales producidos y el avance del proceso de envejecimiento en las especies.

La figura 22 muestra como se incrementan con respecto a la edad, todos los productos que participan a nivel celular en la producción de los radicales libres como el ácido tiobarbiturico (TBA), n-pentano, glutation...

Se ha detectado que los procesos de envejecimiento han evolucionado paralelamente con los mecanismos de defensa, debido a que existe un equilibrio que se ha inclinado ligeramente en favor de los mecanismos de defensa, para así retrasar el proceso en las formas de vida más complejas, como consecuencia han desarrollado los elementos necesarios que les proveen una mayor longevidad. Dichos mecanismos son tan eficientes que algunas especies viven hasta 1000 o más años sin sufrir cambios aparentes en su morfofisiología, por ejemplo mamíferos como el hombre y el elefante; reptiles como la tortuga y muchas especies de árboles, son de gran longevidad.

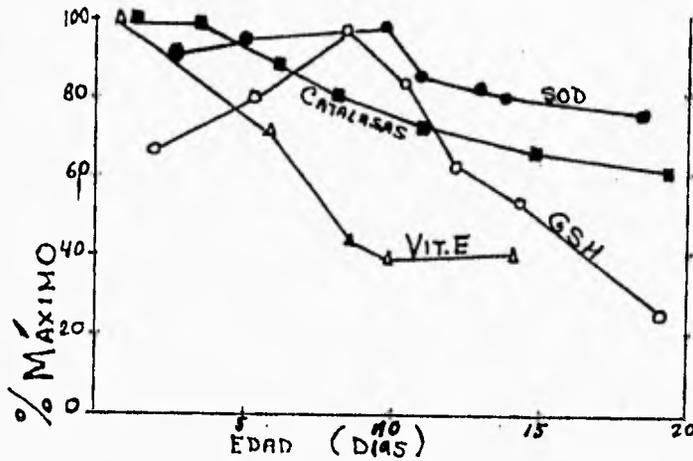


Figura 21 - La gráfica muestra los resultados obtenidos por Sohal al cuantificar la cantidad de cada uno de los antioxidantes en los tejidos de la mosca doméstica macho conforme a su edad. Los antioxidantes considerados fueron la SOD superóxido dismutasa; GSH Glutacion sintetasa; catalasas y vitamina E. Las catalasas y la vitamina E en general tienden a disminuir conforme a la edad de los individuos. En cambio la SOD y la GSH se incrementan en los primeros 9 o 10 días, después tienden a disminuir conforme a la edad de los individuos. Este análisis nos permite inducir que los organismos jóvenes tienen mejores defensas en contra del envejecimiento y conforme aumenta su edad las defensas disminuyen y los daños causados por todo el aparato del envejecimiento son cada vez mayores por la disminución que experimentan las defensas antioxidantes del individuo.
tomado de (Sohal *et al.*, 1984).

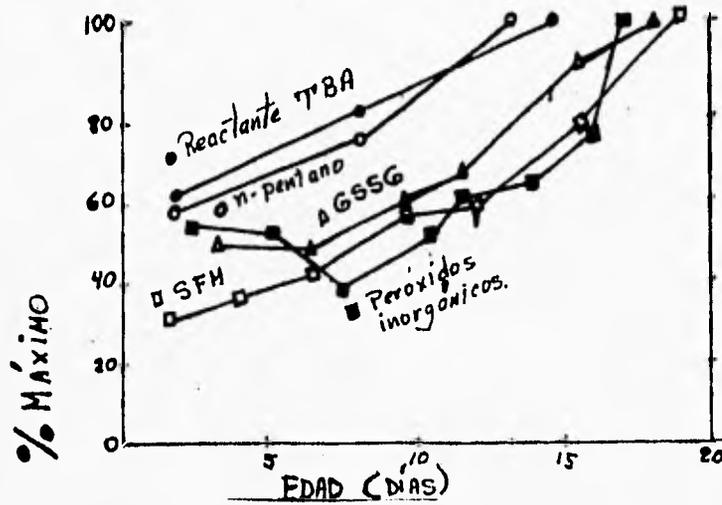


Figura 22 - La gráfica muestra los resultados obtenidos por Sohal y colaboradores, al cuantificar las variaciones que experimentan los productos de reacción a nivel celular, que participan directamente en la producción de los radicales libres del oxígeno en los tejidos de la mosca doméstica conforme a su edad. Los productos cuantificados fueron: reactivos del ácido tiobarbitúrico R-TBA; n-pentano; peróxidos de hidrógeno; material fluorescente soluble SFM y glutatión oxidado. En general todos estos productos se incrementan en las células conforme a la edad de los individuos. Tomado de (Sohal, 1986).

Entonces los ciclos de vida largos y cortos dependen básicamente del programa genético de cada individuo, debido a que rige y controla todos los aspectos biológicos tales como el desarrollo, la reproducción, el crecimiento, la longevidad, las defensas antioxidantes y el proceso de envejecimiento (Cutler, 1991).

VIII. MODELOS Y TÉCNICAS PARA EL ESTUDIO DEL ENVEJECIMIENTO

Todos los estudios realizados sobre el proceso del envejecimiento, se sustentan en diferentes organismos que se han usado como modelos y en los cuales también se han puesto en práctica diferentes técnicas. Como consecuencia, mediante la observación y la experimentación de dicho proceso se han logrado establecer sus bases.

Organismos como la mosca *Drosophila melanogaster* y la *Musca domestica* han sido de gran utilidad en la investigación del envejecimiento, debido a que las características que presentan en relación con sus ciclos de vida y su capacidad de adaptación a las condiciones del laboratorio permiten con más facilidad realizar dichos estudios (Sohal, 1986).

Existen otros organismos que también han sido buenos modelos para el estudio del envejecimiento, por ejemplo diferentes especies de mamíferos tales como ratas y ratones en los que puede observarse y medirse el proceso mediante diferentes técnicas, porque su ciclo de vida es relativamente corto y se adaptan fácilmente a las condiciones que existen en los laboratorios.

La gran variedad de modelos que existen permite a los investigadores seleccionar a los más apropiados para que mediante la observación y la experimentación, con las técnicas más adecuadas puedan estudiar, analizar y cuantificar los diferentes aspectos del envejecimiento. Por ejemplo resulta relativamente fácil estudiar los pigmentos visuales de los insectos, no así los pigmentos visuales de los mamíferos.

Sin embargo también han sido utilizados muchos grupos de mamíferos en el estudio de los diferentes aspectos del envejecimiento, por ejemplo varias especies de primates entre las que se incluye la del hombre, y las que se mencionaron antes, entre otras. La tabla 1 muestra algunos grupos de organismos que se han utilizado en el estudio del envejecimiento.

Tabla 1. Algunos organismos que han sido utilizados como modelos en el estudio del proceso del envejecimiento.

GRUPOS	ORGANISMOS
BACTERIAS	<i>Escherichia coli</i>
PROTOZOARIOS	<i>Amoeba proteus</i> , <i>Amoeba discoides</i> <i>Rodospira sp.</i> , <i>Neurospora sp.</i>
HONGOS	<i>Aspergillus sp.</i> <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .
VEGETALES	Avena, trigo, frutales, plantas anuales y perennes como caducifolias y de ornato.
ANIMALES	Invertebrados: rotíferos, esponjas, moluscos, equinodermos e insectos tales como: <i>Drosophila melanogaster</i> y <i>Musca domestica</i> . Vertebrados mamíferos como: roedores, lagomorphos, primates y otros.

Actualmente existen un gran número de técnicas de estudio que se utilizan para investigar el proceso del envejecimiento, existen las que se relacionan con la morfología, éstas se apoyan en la observación de los cambios que experimentan los organismos en su apariencia externa, por ejemplo el amarillamiento y caída de las hojas en los vegetales (Noodén y Leopold, 1978).

El envejecimiento cronológico de los organismos se detecta generalmente mediante una serie de cambios morfológicos a nivel físico que se observan a simple vista, por ejemplo la presencia de arrugas en la piel, el deterioro de la dentadura de los mamíferos, la disminución de la pigmentación del cabello, etc. (Miquel, 1991).

Otra técnica de estudio es la que se sustenta en los cambios fisiológicos que experimentan los organismos, los cuales están en relación con la edad del individuo, por ejemplo los ciclos reproductivos, el ciclo de vida en general, la longevidad, cambios hormonales, disminución de la capacidad respiratoria, problemas de circulación, disminución de reflejos, la osificación de los huesos en los vertebrados, etc. Todos estos cambios son los que propician el cambio característico en la conducta de los individuos viejos que se agrava en la última fase del ciclo de vida y termina por matarlos.

La prueba de la geotaxis negativa es una muestra de lo que ocurre con los individuos de edad avanzada. El experimento se realizó con una población de 50 moscas jóvenes de 7 días de edad y 50 moscas con 84 días de edad, cada una de las poblaciones se introdujo en una probeta diferente, el comportamiento que observaron fue el siguiente: Las moscas jóvenes en general se mueven hacia la parte superior de la probeta, en cambio las moscas viejas permanecen en el fondo, esto se debe a que la disminución de vigor y la falta de actividad exploratoria son características del envejecimiento de los organismos (fig. 23) (Miquel, 1991).

La microscopía electrónica es otra de las técnicas que se usan en el estudio e investigación del envejecimiento celular, esta se sustenta en el uso del microscopio electrónico para observar y analizar los numerosos cambios que experimentan las células conforme a su edad, por ejemplo el crecimiento y la capacidad de reproducción en las levaduras.



Figura 23 - La prueba de la geotaxis negativa. Muestra como disminuye el vigor y la actividad exploratoria en los organismos viejos. En éste caso se colocó una población de 50 moscas viejas de 84 días de edad en la probeta de la izquierda y en la de la derecha se puso otra población de moscas jóvenes de 7 días de edad. Al comparar ambas poblaciones se observa que las moscas jóvenes tienden a acumularse en la boca de la probeta, mientras que las moscas viejas en su mayoría permanecen en el fondo. Tomado de (Miquel, 1991).

Recientemente se han podido estudiar las mutaciones espontáneas en las células somáticas, mediante la técnica de tipificación bidimensional del ADN, que se utilizó para el análisis de las clonas en cultivos primarios de fibroblastos, obtenidos por biopsias de piel que se practicaron en ratas de edades diferentes (Slagboom *et al.*, 1992).

También las técnicas bioquímicas son de gran utilidad para el estudio del proceso de envejecimiento, mediante éstas se analizan los cambios que experimentan las moléculas conforme a la edad, se cuantifica la producción de radicales libres en relación con la concentración de antioxidantes, a diferentes edades de los individuos, y así obtener las bases que sirvan para evaluar el proceso a nivel molecular.

Un ejemplo son las roturas espontáneas que sufre la molécula del ADN en las neuronas del cerebro de rata durante su desarrollo y envejecimiento. El experimento que se realizó, consistió en medir el nivel de rompimientos espontáneos del ADN en núcleos aislados de la corteza cerebral de embriones de rata con 12, 15 y 19 días de gestación, y otros con 24 días, 6 y 36 meses de edad. Se encontró que existe una constante de bajo nivel en los rompimientos espontáneos del ADN en el cerebro durante el desarrollo del embrión desde los 12 hasta los 24 días de edad. Estos resultados se demuestran al comparar los núcleos celulares de la corteza cerebral y cerebelo en animales de 6 hasta 36 meses de edad. A diferencia de este comportamiento, las células del hígado de animales con la misma edad tienen un nivel superior de rompimientos del ADN, confirmando un nuevo descubrimiento en las células hepáticas aisladas, así que los cambios que se presentaron en el nivel de rompimientos del ADN en las células del cerebro de rata, realmente no se efectuaron durante el desarrollo y envejecimiento, sino que se acumularon rápidamente en el período de postmortem. Los cambios que pudieron observarse en las células del hígado, se debieron a la activación de las endonucleasas de restricción, que son parte del proceso de la autofagocitosis que se presenta en las células, después de la muerte y en el cual se liberan las enzimas de los lisosomas. *In vivo* no ocurre lo mismo porque se conservan activos los mecanismos de reparación y la acción de las sustancias antioxidantes de la célula (Mullart *et al.*, 1990).

El comportamiento de los diferentes tejidos del cuerpo en relación con los daños que sufre el ADN es variable porque sus funciones y su longevidad varían determinándose un desarrollo y envejecimiento característico, por ejemplo la vida corta que tienen las células de la piel y los eritrocitos, en comparación con las neuronas y los osteocitos.

Por lo tanto las técnicas más utilizadas en el estudio e investigación del proceso de envejecimiento celular son las que se mencionan a continuación: inmunohistoquímicas, bioquímicas, cultivo de tejidos, microscopía electrónica, cromatografía y espectrofluorometría.

Así que muchos de los estudios que se han realizado mediante técnicas inmunohistoquímicas y bioquímicas han servido para aclarar importantes aspectos

relacionados con el proceso del envejecimiento a nivel molecular y funcional, tal es el caso de el análisis que se realizó con el receptor de la transferrina en el hígado de rata, donde pudo demostrarse el efecto del almacenamiento del fierro en relación con la edad del individuo. Los receptores hepáticos de la transferrina se estudiaron en ratas machos de 1 a 59 semanas de edad después del destete. El número de receptores medidos y su función disminuye muy rápido *in situ* durante las primeras 10 semanas de vida, posteriormente disminuyen más lentamente (Sciôt *et al*, 1990).

La fluorescencia es una técnica que ha sido utilizada en muchos estudios de investigación, uno de ellos es el que se hizo con eritrocitos humanos en poblaciones jóvenes y viejas, éste sirvió para evaluar los cambios morfofisiológicos que se presentan a nivel de membrana celular. Los resultados obtenidos sirvieron para establecer que existe un aumento significativo en la rigidez de la membrana de los eritrocitos conforme a la edad, esto es que se trata de un cambio relacionado con la edad de los eritrocitos que en promedio es de 120 días. El estudio se basó en tres pruebas: DPH, 3-PM y FLUORESCAMINA (Gareau *et al*, 1991).

Las técnicas de fluorescencia también fueron utilizadas para caracterizar los pigmentos fluorescentes que se encuentran en la cabeza de la mosca Ceratitis capitata, los pigmentos fueron extraídos y separados mediante la técnica de cromatografía en papel, mientras que otros se caracterizaron a través de procedimientos espectrofotométricos.

Dos de los pigmentos principales extraídos presentaron una absorción máxima, que es característica de la piridina y la pirazina. Los resultados obtenidos apoyan y reafirman que los pigmentos son pteridinas, las cuales como ya se mencionó antes son pigmentos que se acumulan en los tejidos de los organismos conforme a la edad, por lo que son marcadores del envejecimiento cronológico.

El número de pigmentos de diferentes clases encontrados en la mosca, disminuye conforme a la edad de los individuos, por lo que se considera una forma potencial para determinar la edad cronológica de los organismos (Camín *et al*, 1991).

IX - CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

El proceso de envejecimiento es exclusivo de los seres vivos; las evidencias acumuladas hasta ahora muestran que se trata de un fenómeno controlado genéticamente, el cual puede variar de acuerdo con las condiciones ambientales que existan.

El resultado final del envejecimiento celular es la muerte de las células; así que son dos fenómenos fundamentales en el ciclo biológico de los organismos, debido a que intervienen en la diferenciación celular, la formación de los

órganos durante la embriogénesis, en los fenómenos de la metamorfosis de algunas especies, en la renovación de los tejidos y en el proceso de la evolución orgánica.

La inmortalidad de las células no necesariamente es la vida eterna, sino que más bien puedan conservar su capacidad para dividirse. En cambio la mortalidad de una población de células se basa en su capacidad de diferenciación y a la subsecuente caída de sus posibilidades para dividirse. Por ejemplo las neuronas son células que se han especializado tanto en su función que han perdido su capacidad para dividirse y sin embargo su ciclo de vida es largo en comparación con otras células del cuerpo (Oberley y Oberley, 1968).

En los vegetales también se observan estos fenómenos, la diferenciación de los tejidos vasculares del xilema mueren pero conservan su función.

En otros casos se desarrollan lóbulos foliares en donde degeneran y mueren un gran número de células que participan en la formación de los órganos del embrión y el gametofito femenino (Fahn, 1978).

A nivel poblacional, el envejecimiento y muerte de los individuos después de haber cumplido con su ciclo reproductivo, es un mecanismo que sirve para promover la renovación continua de su genotipo al presentarse una recombinación genética en los nuevos organismos que así obtienen nuevas características. Dicho mecanismo también sirve para asegurar la discontinuidad de la existencia individual, en favor de la supervivencia de la especie.

Los mecanismos que intervienen en el proceso del envejecimiento están sujetos a la acción de los factores endógenos y exógenos que participan activamente en el desarrollo del proceso, mientras que los mecanismos de regulación propios de cada organismo son los encargados de mantener en equilibrio la morfofisiología de cada individuo, que puede verse afectada por la acción de los radicales libres superóxido e hidroxil los cuales influyen y cambian la estructura y funcionalidad de las moléculas que forman los sistemas biológicos. Como ya se comentó anteriormente, estos radicales son generados por las células, al utilizar el oxígeno en sus funciones metabólicas que les proveen de energía y cuyas reacciones bioquímicas se efectúan principalmente en las mitocondrias.

En general el proceso de envejecimiento presenta patrones muy regulares de comportamiento, por lo que se acepta que está bajo el control de la expresión de genes específicos como el lata y cdc.

También es importante comentar que la mayor parte de los estudios realizados en este campo de investigación se han hecho con animales y plantas de importancia social y económica, sin embargo hay mucho camino que recorrer, debido a que en la mayoría de los grupos de organismos invertebrados, protozoarios y hongos no hay suficiente información sobre el proceso de

envejecimiento. Por lo que es una buena alternativa para efectuar estudios posteriores que ayuden a esclarecer el fenómeno.

Las diferentes especies de organismos presentan una característica llamada vida media, que es el promedio del periodo en que se desarrolla el ciclo de vida de los individuos de una especie, ésta corresponde a su proceso de evolución y a los mecanismos de selección natural a los que a estado sujeta, para mantenerse en armonía con su capacidad de reproducción y con la tasa de reemplazamiento.

Actualmente se plantea que uno de los objetivos principales del estudio del envejecimiento es alargar la vida media de las especies para aumentar su rendimiento, esto puede ser posible, sin embargo podría causar un desequilibrio entre los factores que intervienen en el proceso de la evolución y el resultado sería una extinción prematura o por el contrario aumentar considerablemente sus probabilidades de supervivencia.

Desde siempre el hombre ha sido capaz de influir en el equilibrio ecológico, en la actualidad este fenómeno se ha dado en gran escala y ha propiciado que muchos de los individuos de especies silvestres no alcancen su vida media, la consecuencia de estas alteraciones ha sido que en las últimas décadas se han extinguido un gran número de especies y ecosistemas de importancia estén en peligro de extinción como selvas, bosques, y arrecifes coralinos.

En cuanto a las especies cultivadas, algunas alcanzan la vida media, mientras que otras son destinadas al consumo de animales domésticos y del humano antes de cumplir con su ciclo reproductivo, además la mayoría de éstas se encuentran sujetas a los intereses humanos y así pierden la riqueza de su patrimonio genético, su plasticidad adaptativa es reducida y algunas especies no son capaces de sobrevivir fuera de las condiciones artificiales establecidas por el hombre para su cultivo.

La manipulación del proceso del envejecimiento en las especies de organismos sería de gran utilidad. Por ejemplo las comestibles podrían someterse a un control genético de los mecanismos que intervienen en la madurez de los frutos, el crecimiento y desarrollo de las hortalizas, el incremento en la longevidad de las semillas y de los granos almacenados, la creación de gramíneas perennes de alta productividad; la producción de animales con un mayor número de ciclos reproductivos que incrementen su rendimiento por ejemplo: cerdos, reses, gallinas, etc.

Como parte de la aplicación de los conocimientos y técnicas en lo que concierne al proceso del envejecimiento, hay que analizar y resolver los problemas que se generen en la variabilidad genética de las poblaciones y su respuesta a las condiciones ambientales; por lo tanto representa otra perspectiva de estudio interesante y fundamental que deberá tomarse en cuenta en el futuro para integrar los intereses del hombre con la homeostásis de la biosfera; también se propone como una alternativa la producción de programas que ayuden a crear una conciencia ecológica en las personas que estén relacionadas

directamente con el proceso del envejecimiento, porque las modificaciones genéticas que pudieran inducirse en los mecanismos de la herencia biológica, podrían alterar ese equilibrio natural que conservan los ecosistemas, podría evitarse este fenómeno, si son cuidadosamente analizadas antes de que se pongan en práctica.

Y sin embargo, a pesar de que en la especie humana existe la motivación principal de incrementar las expectativas de vida de la misma, aun no se han hecho experimentos en forma directa, porque los conocimientos que se tienen actualmente en este campo de investigación se consideran insuficientes, para ser aplicados en beneficio directo de nuestra especie, por lo tanto su aplicación es otra buena alternativa de estudio e investigación.

Sobre el proceso, se sabe que está controlado genéticamente por lo que el campo de investigación del mismo deberá ser tratado a fondo, mediante técnicas y métodos de estudio desarrollados por la ingeniería genética, sólo así se encontrarán las bases que sirvan para modificar los programas genéticos y llegar al objetivo deseado, para lo cual es necesario continuar la misma línea de trabajo y hacer buen uso del conocimiento en pro de la vida humana y en defensa de la conservación del equilibrio ecológico.

En conclusión, se espera que la revisión y análisis que se efectuó en este trabajo sobre el proceso del envejecimiento, sirva de base para realizar estudios adicionales que aporten más información y así puedan entenderse de mejor forma los diferentes aspectos del proceso, en beneficio de nuestra especie. Y no se trata de alargar el ciclo de vida sino más bien proporcionar los elementos necesarios para que las etapas finales se vivan con un mejor nivel de vida esto es en condiciones favorables de salud, por lo menos en lo que concierne a la especie humana.

X - BIBLIOGRAFÍA

- Altman, K Y., G B Gerber y S A Okada (1970) *Radiation Chemistry*, Vols: 1 y 2 Acad Press, New York, N Y.
- Aminof, D (1988) The role of sialoglycoconjugates in the aging and sequestration of red cells frau circulation. *Blood Cells* 14: 229-257.
- Boulton, M F., P Docchio., D Barker., R Ramponi y R Cabeddu (1990) Age-related changes in the morfology, absoption and fluoreescense of melanosomes and lipofuscin granules of the retinal pigment epithelium. *Vis Res* 30 1291-1303.
- Brizsee, K R y J M Ordy (1981) *Age pigment, cell loss, and fundamental implications in the brain*. In *Age Pigment* (Edited by R S Sohal). Elsevier/ North Holland Biomed Press, Amsterdam. pp 314-317.
- Brunk, U T y V P Collins (1981) *Lysosomes and age pigment in cultured cells*. En R. S. Sohal (Ed). *Age pigments*. Elsevier. Amsterdam. pp 243-264.
- Brunk, U T y E Cadenas (1988) The potencial intermediate role of lysosomes in oxigen free radical pathology. *APMIS* 26: 3-13.
- Brunk, U T., C B Jones y R S Sohal (1992) A novel hypothesis of lipofuscinogenesis and cellular aging based on interactions between oxidative stress and autophagocytosis. *Mut Res* 275: 395-403.
- Byers, B y L Sowder (1980) *Gene expression in the yeast cell cycle* *J Cell Biol* 87: 6a.
- Camin, V., P Baker., J Carey., J Valenzuela y R Arredondo (1991) *Biochemical Age Determination for Adult Mediterranean Fruit Flies (Diptera: Tephritidae)*. *J Econ Entomol.* 84 (4): 1283-1288.
- Cerami, A., H Vlassara y M Brownlee (1987) *Glucose and aging* *Sci American* 256: 90-96.
- Chance, B., H Sies y A Boveris (1979) *Hidroperoxide metabolism in mammalian organs*, *Physiol. Rev* 59: 527-605.
- Chevion, M (1988) A site-specific mechanism for free radical induced biological damage: The essential role of redox-active transition metals. *Free Radical Biology Medicine*. Vol 5: 27-37.
- Cronquist, A (1977) *Introducción a la botánica*. C.E.C.S.A., México. pp 98-109.
- Cutler, R G (1991) *Antioxidants and aging*. *Am J Clin Nutr* 53. Suppl 1: 3738-3798.
- Danielli, J F y A Muggleton (1959) Some alternative states of amoeba, with special reference to life-span. *Gerontol* 1: 76-90.
- De Duve, C (1969) *The lysosome in retrospect*, en: J T Dingle and H B Fell (Ed), *Lysosomes in Biology and pathology*. North-Holland. Amsterdam. 1: 3-40.
- Demian, W F., P H Sarkar., C V R Murty y A K Roy (1989) Purification and inmunochemical caracterizacion of the cytoplasmic androgen-binding protein of rat liver *Biochem* 28: 1732-1736.
- Docchio, F., M Boulton., R Cabeddu., R Ramponi y P D Barker (1991) Age - related changes in the fluoreescense of melanin and lipofuscin granules of the retinal pigments epithelium: a time - resolved fluoreescense spectroscopy study. *Photochemm Photobiol* 54: 247-253

- Donato, H J y R S Sohal (1981) *Lipofuscin*, en: J Florini: (ed) Handbook of biochemistry in Aging. CRC Press Boca Raton FL pp 221-227.
- Ericsson, J L E (1969) *Mechanisms of cellular autophagy*, en: J T Dingle and H B Fel (Eds) *Lysosomes In Biology And Pathology*. Holland Amsterdam. 2: 345-394.
- Farr, S B y T Kogoma (1991) Oxidative stressresponses in *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium*. *Microbiol-Rev* 55 (4): 561-585.
- Feeney, L (1978) Lipofuscin and melanin of human retinal pigment epithelium. Fluorescence, enzyme cytochemical and ultrastructural studies. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 17: 563-600.
- Félix, E R (1973) El envejecimiento y los errores en la biosíntesis de las proteínas. *Biología. México.* 1: 201-205.
- Fenske, N A y C M Lober (1986) *Structural and functional changes in normal aging skin* *J Amer Academ Dermatol* 15: 571-585. (
- Fhan, A (1978). *La flor*. Anatomía Vegetal. Blume, España. pp. 505-519.
- Fox, D L (1976) *Animal biochromes and structural colours*. University of California Press. USA pp 293-300.
- Fridovich, I (1974) *Superoxide y evolution*. *Horizons Biochem Biophys* 1: 1-37.
- Fridovich, I (1978) *The biology of oxigen radicals*. *Science* 202: 875-880.
- Gane, R (1934) Production of ethylene by some ripening fruit. *Nature* 114: 1008.
- Gareau, R., H Goulet., C Chenard., C Caron y G R Brisson (1991) *Fluorescence studies on aged and young erythrocyte populations*. *Cell- Moll-Biol* 37(1): 9-15.
- Gilchrist, G A (1986) *The Aging Skin*. *Dermatol Clin Vol 4* Philadelphia: WB Saunders Co.
- Gille, J J P y M Joenje (1992) Cell culture models for oxidative stress: superoxide and hidrogen peroxide versus normobaric hiperoxia. *Mut Res* 275: 405-414.
- Gómez, E C y B Berman (1985) *The aging skin*. *Clin Geriat Med* 1: 285-305
- Gottschalk, G y J R Andressen (1979) *In International Review of Biochemistry, microbial Biochemistry*. De Quayle, J R (University Park Press, Baltimore, MD), Vol 21: 85-115.
- Gowen, J W (1931) Metabolism as related to chromosome structure and the duration of life. *J Gen Physiol* 14: 463-472.
- Gracy, R W., K Yuksel., M L Chapman y S D Dimitrijevic (1990) Isoprotein changes in aging: Biochemical basis and physiological consequences. *Isozymes: Structure Function, and use in Biology and Medicine*. USA pp 787- 817.
- Gutteridge, J M C y Halliwell (1990) *The measurement and mechanisms of lipid peroxidation in biological systems*. *Trends Biochem Sci* 15: 129-135.
- Harman, D (1956) Aging: A theory based on free radical and radiation chemistry, *J Gerontol.*, 11 298-300.
- Harman, D (1980) *Free radical theory of aging: origin of life, evolution and aging*. *Age*, 3: 100-102.
- Harman, D (1981) *The Aging process*. *Natl Acad Sci USA* 78: 7124-7128.
- Harman, D (1992) *Free radical theory of aging: history*, en: I Emerit and B Chance (Eds), *Free Radicals and aging*. *Hirrh user Basel* 275: 257-266.
- Holum, J (1977) *Fisicoquímica, Química organica y Bioquímica*. Editorial Limusa. México. pp. 218-220.

- Holliday, R (1969) Errors in protein synthesis and clonal senescence in fungi. *Nature* **221**: 1224-1228.
- Munt, J V., R T Dean y S P Wolff (1988) *Hidroxy radical production and autoxidative glycosilation*. *Biochem J* **256**: 205-212.
- Iberg, M y R Fluckiger (1986) *Nonenzimatic glycosilation of albumin in vivo*. *J Biol Chem* **261**: 13542-13545.
- Ings, R M (1984) The melanin binding of drugs and its implications. *Drug Metab Rev* **15**: 1183-1212.
- Jackson, L L y T Arnold (1981) Surface lipids of *Drosophila melanogaster*: Comparison of the lipids from female and male wild type and sex linked yellow mutant. *Insect Biochem* **11**: 87-91.
- Jawinski, S M., N K Egilmez y J B Chen (1989) *Replication control and cellular life span*. *Exp Gerontol* **24**: 423-436.
- Jawinski, S M (1990) Aging and senescence of the budding yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Molecular Microbiology* **4**(3): 337-343.
- Johnson, R M y J R Baker (1986) The alkaline reducing activity of glycosilated serum proteins and its relevance to diabetes mellitus. *Clin Chem* **32**: 368-370.
- Kester, M V., T L Phillips y R W Gracy (1977) Changes in glycolytic enzyme levels and isozyme expression in human lymphocytes during blast transformation. *Arch Biochem Biophys* **181**: 700-709.
- Lehninger, L A (1978) *Biochemistry*. Worth Publishers, Inc New York NY pp 352-357.
- Lehane, M J y T S Mail (1985) Determining the age of the adult male and female *Glossina morsitans morsitans* using a new technique. *Ecol Entomol* **10**: 219-224.
- Linn, S (1982) *Nucleases involved in DNA repair*, en: S Linn and R J Roberts (Eds), *Nucleases*. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY pp 59-83.
- Ljones, T y R H Burris (1980) *Biochem. Biophys Res Commun* **80**: 22-25.
- Loach, P A y B J Hales (1976) *Free radicals in photosynthesis*, en: W A Pryor Editores. *Free radicals in Biology*. Academic Press. New York NY **1**: 199-237.
- Loftfield, R B (1963) The frequency of error in protein biosynthesis. *Biochem. J.* **82**: 82-92.
- Mail, T S., J Chadwick y M J Lehane (1983) Determining the age of adults of *Stomoxys calcitrans* (L) (*Diptera: Muscidae*). *Bull Ent Res* **73**: 501-525.
- Maillard, M L C (1912) Action des acides amines sur les sucres: Formation des melanoidines par voie thodique. *CR Hebdomadaires des Seances Acad Sci* **154**: 66-68.
- Marsabadi, M R., R S Sohal y V T Brunk (1988) Effect of ferric iron and desferrioxamine on lipofuscin accumulation in cultured rat heart myocytes. *Mech Ageing Dev* **46**: 145-157.
- Marsabadi, M R., R S Sohal y V T Brunk (1991) Mechanisms of lipofuscinogenesis: Effect of the inhibition of lysosomal proteases and lipases under varying concentrations of ambient oxygen in cultured rat neonatal myocardial cells. *APMIS* **99**: 416-426.
- McArthur, M y R S Sohal (1982) Relationship between metabolic rate, aging, lipid peroxidation and age pigment in milkweed bug *Oncopeltus fasciatus* (Hemiptera). *J Gerontol* **37**: 268-274.

- McDougall, K M y T H Pittenger (1966) A cytoplasmic variant of *Neurospora crassa*. Genetics 54: 551-565.
- McPherson, J D., B H Shilton y D J Walton (1988) Role of fructose in glycation and crosslinking of proteins. Biochem 22: 1901-1907.
- Mead, J P (1976) Free radical mechanisms of lipid damage and consequences for cellular membranes, en: W A Pryor (Ed). Free radicals in biology. Academic Press. New York NY 1: 51-68.
- Medvedev, Zh A (1961) Ageing of organism at the molecular level. Uspekhi soubremennoi biologii (Moscow) 51: 299-316.
- Medvedev, Zh A (1962) Ageing at the molecular level. In Biological aspects of aging (ed N W Shock) Columbia University Press. New York. pp 255-266.
- Medvedev, Zh A (1986) Age-related changes of transcription and RNA processing. In drugs and ageing (ed D Platt). Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg. pp 1-19.
- Medvedev, Zh. A (1990) An attempt at a rational classification of theories of ageing. Genetics Division, National Institute for medical Research. Hill Hill London NW7 1AA, U K 65: 375- 398.
- Mello-Filho, A C., M E Hoffman y R Meneghini (1984) Cell killing and DNA damage by hydrogen peroxide are mediated by intracellular iron. Biochem J 218: 273-275.
- Miquel, J., A C Economos., J Fleming y J E Johnson Jr (1980) Mitochondrial role in cell aging Exp. Gerontol 15: 575-591.
- Miquel, J (1991) Envejecimiento: ciencia y ficción. Mundo científico 2 (1): pp 794-804.
- Miquel, J (1992) An update on the mitochondrial-DNA mutation hypothesis of cell aging Mut Res 275: 209-216.
- Monnier, V M., D S Sell., S Miyata y R H Nagaraj (1990) The Maillard reaction as a basis for a theory of aging. Birkhauser Verlag Basel. pp 393-414.
- Mullart, E., M E Boerrigter., G J Boer y J Vijg (1990) Espontaneous DNA breaks in the rat brain during development and aging. Mut Res 237: 9-15.
- Woodán, L D y A C Leopold (1978) Phytohormones and related compounds: A Comprehensive treatise, DS Latham, PB Goodwin y TJV Higgins (Eds) Elsevier, Amsterdam, pp 329- 369.
- Woodán, L D Y A C Leopold (1988) Senescence and aging in plants. Academic Press Inc USA pp 65-77.
- Northrop, J H (1926) Carbon dioxide production and duration of life of *Drosophila* cultures. J Gen Physiol 2: 319-324.
- Oberley, L W y T D Oberley (1988) Moll and cell. Biochem 84: 147-153.
- Oinomi, M., Y Maeda., F Hata., Y Kitamura., S Matsumoto., S Baba., T Iga y M Yamamoto (1988) Glycation of cataractous lens in non-diabetic senile subjects and in diabetic patients. Exp Eye Res 46: 415-420.
- Orgel, L E (1963) The maintenance of the accuracy of protein synthesis and its relevance to ageing. Proc Natl Acad Sci USA 67: 1476.
- Ponce de León, G T., F L Pérez., Z C Pelayo y M E Bósquez (1992) El proceso de senescencia. Ciencia 45: 121-126.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

- Reid, M S** (1987) Ethylene in plant growth development and senescence, plant hormones and their role in plant growth and development. PJ Davies (Ed) Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht Paises bajos. pp 257-279.
- Robinson, A B y Rudd C J** (1974) Deamidation of glutaminyl and asparaginy residues in peptides and proteines. En Current topics in cell Regulation. Horecker BL, Stadtman E R New York: Acad Press Inc p: 247-295.
- Sciot, R., G Verhoeven., P Van Eyken., J Cailleau y V J Desmet** (1990) Transferrin receptor expression in rat liver: Immunohistochemical and biochemical analysis of the effect of age and iron storage. *Hepatology* 11(3): 416-427.
- Sciafani, R A., M Patterson., J Rosamond y W L Fangman** (1988) Differential regulation of the yeast *CDC7* gene during mitosis and meiosis. *Mol Cell Biol* 8: 293-300.
- Shamberger, R J** (1976) In proceedings Symposium Selenium Tellurium in the Environment (Pittsburg, PA), pp 253-267.
- Schoendon, G., J Troppmair., A Fontana., Ch Hube., H C Curtius y A Niederwieser** (1987) Biosynthesis and metabolism of pterins in peripheral blood mononuclear cells and leukemia lines in man mouse. *Eur J Biochem* 165: 303-310.
- Sohal, R S y P B Buchan** (1981) Relationship between fluorescent age pigment, physiological age and physical activity in the housefly (*Musca domestica*). *Mech Ageing Dev* 15: 243-249.
- Sohal, R S., K J Farmer., R J allen y M R Cohen** (1984) Effect of age on oxigen consumption superoxide dismutase, catalase, glutathione, inorganic peroxides and chloroform-soluble antioxidants in the adult male housefly (*Musca domestica*). *Mech Ageing Dev* 24: 185-195.
- Sohal, R S** (1986) The rat of living theory: a contemporary interpretation. In *Insect Aging* Editado por Kollatz K G and Sohal R S Springer, Berlin pp 22-44.
- Sohal, R S., D Marzabadi., Galaris y U T Brunk** (1989) Effect of ambient oxigen concentration on lipofuscin accumulation in cultured rat heart myocytes: a novel *in vitro* model of lipofuscinogenesis. *Free Radical Biol. Med.* 6: 23-30.
- Slagboom, P E., E Mullaart., S Droog y J Vijg** (1992) Somatic mutations and cellular aging: two-dimensional DNA typing of rat fibroblast clones. *Mutat- Res* 256(2-6) pp 311-321.
- Solomos, T** (1988) Respiration in senescencing plants organs: its nature regulation, and phisiological significance, senescence and aging plants. LD Noodén y AC Leopold (Academic Press, Berkeley.) USA pp 112-137.
- Stadtman, E R** (1992) Protein Oxidation and aging. *Science* 257: 1220-1224.
- Storts, G., L A Tartaglia y B M Ames** (1990) Transcriptional regulators of oxidative stress-inducible genes: direct activation by oxidation. *Science* 248: 189-194.
- Strehler, B L** (1964) On the histochemistry and ultrastructure of age pigment, en: B L Strehler (De). *Advances in Gerontological Research*. Academic Press. New York, NY 1: 343-384.
- Strehler, B L., G Hirsch., D Gussek., R Jhonson y M Bick** (1971) Codon - restriction theory of aging and development. *Journal of theoretical biology* 11: 429-474.

- Strehler, B L** (1980) *A critique of theories of biological aging*. In *Aging-Its Chemistry* (ed A A Dietz), pp 25-45. The American Association of Clinical Chemistry, Washinton.
- Stryer, L** (1980) *Biochemistry*. W H. Freeman, NY pp 580-583.
- Tappel, A L** (1975) *Lipid peroxidation and fluorescent molecular damage to membranes*. En: Trump BF, Arstila AV (Eds) *Pathobiology of cell membranes*. Academic Press. London New York 1: 145-172.
- Tappel, A L** (1980) *Measurement and protection from in vivo lipid peroxidation*. En: Pryor WA (De.) *Free radicals in biology* Academic Press, London New York 4: 1
- Thaw, H H., U T Brunk y V P Collins** (1984) Influence of oxigen tension, pro-oxidants and antioxidants on the formation of lipid peroxidation products (lipofuscin) in individual cultivated human glial cells. *Mech. Ageing Dev* 24: 211-223.
- Tolmasoff, J M., T Ono y R G Cutler** (1980) Superoxide dismutase: correlation with life span and specific metabolic rate in primate species. *Proc Natl Acad Sci USA* 77: 2777-2781.
- Van Haastert, P J., W De Witt., A D Grijpma y T M Konijn** (1982) *Identification of a Pterin as the acrasin of the cellular slime mold Dictyostelium lacteum*. *Proc Natl Acad Sci USA* 79: 6270-6274.
- Vano, T y E Kominami** (1991) Mechanism and regulation of lysosomal sequestration and proteolysis. *Blomed Biochem Acta* 50: 365-371.