



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

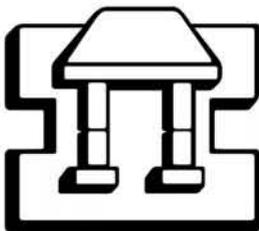
*"Efectos orgánicos de la exposición a ozono ( $O_3$ )  
con particular énfasis en el sistema nervioso central"*

**T E S I S I N A**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE BIÓLOGA  
P R E S E N T A

**KARLA PEREGRINA OROPEZA**

DIRECTORA Y ASESORA:  
DRA. LAURA COLÍN BARENQUE



LOS REYES IZTACALA, TLALNEPANTLA ESTADO DE MÉXICO, 2006.



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.

A:

Mi padre y mi madre ¡Gracias por todo; sé que siguen conmigo!

A mis hermanos, por apoyarme en todo y por su cariño incondicional.

A Mauricio, por ser la mitad del proyecto más ambicioso de mi vida.

## Agradecimientos:

A la Dra. Laura Colín Barenque, por ser mucho más que mi directora de trabajo de titulación. Ella merece al menos la mitad del crédito por este trabajo. ¡Gracias Laura!

A la Dra. María Rosa Ávila Costa, por que sin ella simplemente este trabajo no hubiera existido. Por sus valiosos comentarios.

Al M. en C. Jorge Gersenowies Rodríguez, por ser no sólo el más querido de mis profesores, sino por acompañarme a lo largo de todo este camino.

Al M. en C. Enrique Montiel Flores, por su amable disposición a colaborar en todo momento con este trabajo.

A la Biol. Laura Ramos Saucedo, por su amable disposición a colaborar en todo momento con este trabajo.

He tardado tanto en llegar a este momento, que mi lista de agradecimientos mundanos es interminable. Por tal motivo, ofrezco de antemano mis disculpas por las omisiones que involuntariamente cometeré.

A Marcos, gracias por demostrarme de la manera más fiel la amistad y el cariño que me tienes. ¡Muchas gracias por todo!

A Raulito Rocío y a mi tía Tere, por demostrarme que la familia es mucho más que sólo un vínculo de sangre.

A Memo, por regalarme tantos momentos reales e imaginarios, por las risas, por el cariño, por las locuras, pero sobre todo, por tu invaluable amistad.

A Griselda, una fuente de inspiración y de amor inagotable. ¡Gracias por ser como eres, gracias por ser mi amiga!

A Daniella y Aimee, por estar ahí en las buenas y en las malas, siempre dispuestas a salir al quíte. ¡Las quiero mucho!

A Nancy, Kor, Antígona, Luz María, Érika, Alpha, Karlita, Ale Casal, por concederme el privilegio de su amistad.

A Javier Cruz, por todas tus enseñanzas, por tu cariño, y hasta por tu humor negro a mis costillas.

A CCA, por mostrarme el camino a la esperanza.

## INDICE

INDICE .....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
LISTADO DE ABREVIATURAS.....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
RESUMEN:.....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
ABSTRACT: .....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
INTRODUCCIÓN .....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
OBJETIVO GENERAL .....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
OBJETIVOS PARTICULARES .....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
MATERIAL Y MÉTODOS.....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
ANTECEDENTES.....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
I. OZONO .....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
II. ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO (ROS).....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
III. ANTIOXIDANTES.....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
IV. DAÑO OXIDATIVO .....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
IV.I. <i>Procesos de muerte celular</i> .....	¡Error! Marcador no definido.
IV.I.I. <i>Apoptosis</i> .....	¡Error! Marcador no definido.
IV.I.II. <i>Necrosis</i> .....	¡Error! Marcador no definido.
IV.I.III. <i>Apoptosis versus necrosis</i> .....	¡Error! Marcador no definido.
IV.II. <i>Envejecimiento</i> .....	¡Error! Marcador no definido.
V. EFECTOS SISTÉMICOS DEL ESTRÉS OXIDATIVO.....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
V.I. <i>Efectos del ozono sobre el sistema respiratorio</i> .....	¡Error! Marcador no definido.
V.II. <i>Efectos sobre el resto del organismo</i> .....	¡Error! Marcador no definido.
VI. DAÑOS EN EL SNC .....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
VI.I. <i>Padecimientos neurodegenerativos</i> .....	¡Error! Marcador no definido.
VI.II. <i>Alteraciones estructurales en el SNC</i> .....	¡Error! Marcador no definido.
DISCUSIÓN.....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
<i>México: el escenario</i> .....	¡Error! Marcador no definido.
<i>Ozono, oxidación, enfermedad y terapias: una mirada al futuro basada en evidencia actual</i> .....	¡Error! Marcador no definido.
<i>Tejido nervioso</i> .....	¡Error! Marcador no definido.
<i>Antioxidantes suplementarios y dietéticos</i> .....	¡Error! Marcador no definido.
<i>Terapia celular y genómica, abordaje a futuro</i> .....	¡Error! Marcador no definido.
CONCLUSIONES .....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
REFERENCIAS .....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.

## Efectos orgánicos de la exposición a ozono (O<sub>3</sub>) con particular énfasis en el sistema nervioso central

### RESUMEN:

El ozono (O<sub>3</sub>) es el principal contaminante fotoquímico que se encuentra en el aire de las regiones industrializadas. Estudios epidemiológicos asocian la exposición a concentraciones elevadas de este gas con una serie de reacciones en cadena que involucran la liberación de cantidades importantes de especies reactivas de oxígeno que alteran la estructura y función de biomoléculas e incluso células completas, causando alteraciones en su estructura y función. El daño ocasionado por este gas se ha asociado con la aparición de diversos padecimientos --principalmente respiratorios, debido a que el O<sub>3</sub> ingresa en el organismo a través de tales vías--, como consecuencia de su alta reactividad oxidativa. Asimismo, una serie de evidencias asocian al estrés oxidativo con padecimientos neurodegenerativos, debido a la alta concentración de lípidos que constituyen al SNC. La relación entre la exposición a O<sub>3</sub> y daños en el SNC recién ha comenzado a ser abordada, y actualmente se cuenta con diversos estudios que demuestran la asociación entre ambas variables. La evidente correlación que existe entre el desarrollo de padecimientos crónicos y terminales, y la exposición a ozono ambiental, requiere de un abordaje regulatorio urgente y serio. Se propone que la prevención mediante la administración de antioxidantes, la identificación de genes asociados con la regulación de antioxidantes endógenos y el control de muerte celular, la terapia celular y de reemplazo, la estimulación de procesos plásticos neuronales, e incluso, el trasplante de células troncales se perfilan como campos de investigación promisorios para enfrentar el daño oxidativo causado por el ozono.

### ABSTRACT:

Ozone is the main photochemical pollutant found on industrialized regions air. Epidemiological studies associate the exposition to high concentrations of this gas, with a series of chain reactions involved with elevated quantities of reactive oxygen species which changes the structure and function of biomolecules and even, complete cells, causing alterations in its structure and function. The damage made by this gas has been associated with diverse diseases --mainly respiratory, due to O<sub>3</sub> accession to organism by such ways--. A series of evidences, as well, associate oxidative stress with neurodegenerative diseases, due to the high levels of lipids which constitutes CNS. The relation between ozone exposition and CNS damage has become recently a study object, and actually there are diverse studies showing a linkage between both variables. The evident correlation existing between chronic and terminal diseases development, and the exposition to environmental ozone, requires a serious and urgent regulatory approach. Prevention using antioxidants, the identification of genes associated with endogenous antioxidants and cell death control, cell and replacement therapy, stimulation of plastic neuron processes, and even stem cells transplantation are proposed as promissory research subjects to face ozone induced oxidative damage.

## INTRODUCCIÓN

Consecuencia inevitable del desarrollo industrial, la contaminación atmosférica se ha convertido en un problema global. Entre algunos de los contaminantes más importantes debido a su alta incidencia y toxicidad sobresale el Ozono ( $O_3$ ) que es uno de los contaminantes fotoquímicos que se encuentran en el aire. Este gas se forma cuando óxidos de nitrógeno, producidos por la combustión parcial de combustibles fósiles, reaccionan con la luz ultravioleta (87).

Hasta la fecha, se cuenta con numerosas evidencias que demuestran que el ozono ejerce una actividad deletérea sobre diversos sistemas biológicos. Por otro lado, existen evidencias que los efectos nocivos de este gas son consecuencia de su alta reactividad oxidante sobre los lípidos que constituyen las membranas celulares, además de ácidos nucleicos y proteínas (82, 133).

Durante su historia evolutiva y como una respuesta al estrés oxidativo, los sistemas biológicos han desarrollado diversos mecanismos de defensa antioxidante, basados en la producción de sustancias de origen endógeno que son capaces de contrarrestar los niveles de oxidación; sin embargo, en situaciones donde se pierde el balance entre sustancias prooxidantes y antioxidantes, los organismos se ven sometidos a condiciones de estrés oxidativo, mecanismo que ha sido asociado con una serie de efectos dañinos en los seres vivos (82, 136, 145, 56, 78).

En las últimas décadas debido al aumento vertiginoso registrado en la proporción de elementos oxidantes en el ambiente como consecuencia de la contaminación industrial, aunado a alteraciones nutricionales, los seres humanos se enfrentan a una pérdida importante del balance entre la presencia de agentes prooxidantes y antioxidantes, condición que compromete su estabilidad biológica.

El sistema respiratorio recibe la mayor cantidad del ozono que ingresa al organismo, sin embargo, se ha observado que tanto el daño, así como los productos derivados de la peroxidación del epitelio que recubre al aparato respiratorio son capaces de llegar hacia el sistema circulatorio, consiguiendo así que el torrente sanguíneo contribuya como un medio eficaz para el paso de especies reactivas de oxígeno o radicales libres al resto del organismo (98).

Los efectos deletéreos de las especies reactivas de oxígeno (ROS) sobre los sistemas celulares como consecuencia de la exposición a ozono, han sido identificados como un importante indicador de daño durante diversos procesos patológicos en todo el organismo. Bajo estas circunstancias ciertos ROS podrían actuar como importantes mediadores de daño celular cuyos efectos eventualmente contribuirían al desarrollo y/o exacerbación de diversas condiciones patológicas, entre las que sobresalen las enfermedades autoinmunes y el cáncer, así como algunas enfermedades neurodegenerativas. Día tras día continúan acumulándose evidencias que asocian al estrés oxidativo con el desarrollo de una serie de padecimientos ligados al sistema

nervioso central, entre los que sobresalen la enfermedad de Alzheimer, la Enfermedad de Parkinson y la de Huntington, así como la esclerosis múltiple.

Diversos estudios han documentado la existencia de una serie de daños dentro del sistema nervioso central que guardan una estrecha relación con los niveles de exposición a agentes prooxidantes, particularmente el ozono (105, 65, 106, 4, 18, 99, 50, 20, 107, 22, 85).

La gran concentración de ácidos grasos poliinsaturados que forman parte de las estructuras del sistema nervioso central, así como su baja concentración de enzimas antioxidantes, y sus altos niveles de actividad metabólica, hacen de éste un sistema altamente susceptible al estrés oxidativo que se desencadena una vez que el ozono ha ingresado al organismo.

Otros datos apuntan hacia la existencia de diversos mecanismos mediante los cuales algunas estructuras del sistema nervioso parecen responder por medio de la plasticidad neuronal a condiciones de estrés oxidativo a partir de procesos que actúan a nivel bioquímico y estructural. Kamsler & Segal (58) subrayan, en un artículo de revisión, la relevancia que tienen los niveles de peróxido de hidrógeno como promotores de la expresión de plasticidad sináptica, con el objeto de sobreponerse al daño celular exacerbado por eventos oxidativos.

Existe una fuerte corriente de investigación dirigida a comprender la manera en que el daño oxidativo puede ser revertido mediante una diversidad de alternativas terapéuticas que incluyen desde el diseño de dietas específicas ricas en antioxidantes, hasta la posibilidad de desarrollar terapias génicas a futuro con el fin de equilibrar y/o fortalecer los sistemas de defensa antioxidante.

Estos y otros hallazgos podrían conducir a un eventual entendimiento de los procesos que despliega el organismo para su autodefensa, así como a un virtual desarrollo de los mecanismos necesarios para contrarrestar o, en su caso, revertir los procesos degenerativos que caracterizan a los efectos del ozono y otros oxidantes que alteran la integridad del organismo, particularmente en el sistema nervioso central.

El presente trabajo pretende constituir un estudio exploratorio cuya principal utilidad sea aportar información reciente y confiable sobre la manera en que el ozono ejerce efectos sobre la salud a partir de la generación de condiciones de estrés oxidativo —principalmente a nivel del sistema nervioso central—, a partir de la búsqueda, recopilación y organización de información sustentada en investigaciones recientes sobre el tema.

Finalmente, es necesario mencionar que el objeto de este estudio es reflejar el trabajo de diversos grupos de investigación nacionales e internacionales que actualmente dedican esfuerzos y recursos a tratar de establecer los planteamientos que ya hemos mencionado, hechos que no sólo resultan relevantes en el contexto nacional y que, de alguna manera, constituyen un reto para la ciencia.

## Objetivo General

Recopilar material bibliográfico que permita reunir un cuerpo informativo sólido y actualizado en relación con las implicaciones que tiene el ozono sobre la salud, así como los mecanismos mediante los cuáles éste actúa, particularmente sobre el sistema nervioso central.

## OBJETIVOS PARTICULARES

- I. Reunir información relevante y actualizada que aborde los efectos que tiene el ozono sobre el organismo, así como los mecanismos que se asocian con este fenómeno dentro y fuera de los sistemas vivientes.
- II. Realizar una revisión de la literatura científica relacionada con los mecanismos antioxidantes, así como su posible relación con el estrés oxidativo causado a partir de la exposición a ozono.
- III. Obtener información reciente sobre hallazgos recientes que estén relacionados con los efectos que tiene el ozono sobre el sistema nervioso central.
- IV. Generar una discusión que más allá de una base de datos pueda ofrecer un panorama realista sobre las implicaciones de los hallazgos referidos, así como algunas alternativas a futuro.

## DISCUSIÓN

### *México: el escenario*

En los últimos diez años la Ciudad de México ha presentado concentraciones máximas de ozono ambiental, según cifras oficiales, de hasta 0.428 ppm. Si bien es cierto que en los últimos tres años la tendencia ha sido más bien a la baja, concentraciones recientemente registradas de hasta 0.300 ppm parecen ser suficientes para ser consideradas como un motivo de preocupación.

Información proporcionada por el Sistema Nacional de Información de la Calidad del Aire (SINAICA), del Instituto Nacional de Ecología, indica que las Normas Oficiales Mexicanas sobre Calidad del Aire fueron publicadas por la Secretaría de Salud el 23 de Diciembre de 1994 (26), sin embargo, debido a las evidencias acumuladas hasta ese momento sobre los efectos crónicos de la exposición a Ozono, en el año de 2002 se hizo una modificación a dichas normas (46), específicamente para la norma de ozono (28). Actualmente, el límite máximo de exposición a ozono permitido por la NOM-020-SSA1-1993, es de 0.11 ppm de ozono durante, máximo, una hora, y de 0.08 ppm durante 8 horas (27).

Es necesario reconocer que algunas de las limitaciones más fuertes que tiene el control de la contaminación ambiental, es el hecho de que este tema se encuentra estrechamente asociado con las políticas ambientales que dependen directamente de las decisiones y criterios de los gobiernos en turno.

Analizando el caso de la Cd. de México, desde 1979 fue implementado el Programa Coordinado para Mejorar la Calidad del Aire en el Valle de México (PCMCA) primer programa instaurado para abatir la contaminación atmosférica. Se considera que sus objetivos no fueron logrados, ya que la contaminación ambiental se elevó después de haber entrado en operación (67).

Luego de una media decena de programas para el mejoramiento de la calidad del aire en el Valle de México, a principios del año 2002 se inició el Programa PROAIRE 2002-2010, diseñado para reducir los niveles actuales de emisiones y evitar que la población se vea expuesta a concentraciones riesgosas de ozono y a partículas suspendidas (14, 80). Si bien es cierto que los programas más recientes han tenido un efecto en la disminución de los niveles de algunos contaminantes, las autoridades reconocen que la Zona Metropolitana del Valle de México sigue siendo una de las metrópolis más contaminadas, debido principalmente a sus elevados niveles de O<sub>3</sub>, así como de partículas suspendidas.

En términos incluso socio económicos, el hecho de que numerosas evidencias señalen que la exposición a concentraciones de ozono semejantes a las que se registran en las grandes urbes estén asociadas con un aumento en el registro de padecimientos respiratorios --asma, principalmente--, alteraciones del sueño,

disminución de la capacidad respiratoria, fatiga, letargia, cefalea e irritación de las mucosas respiratorias y nasales (25, 77, 91) puede convertirse en un factor que potencialmente consumiría recursos que bien podrían utilizarse para atender otras prioridades.

Asimismo, la evidente correlación que existe entre el desarrollo de padecimientos crónicos –e incluso terminales– y la exposición a ozono ambiental, requiere de un abordaje regulatorio urgente y serio.

En este sentido, debe quedar claro que la definición de políticas tendientes a abordar de manera práctica los problemas de salud pública derivados de la exposición a este gas, debería estar respaldada por iniciativas ambientales firmes, que garanticen una verdadera reconfiguración ambiental, libre de concentraciones riesgosas de ozono –y otros gases tóxicos– a corto plazo.

### *Ozono, oxidación, enfermedad y terapias: una mirada al futuro basada en la evidencia actual.*

Todo parece indicar que una vez que las personas entran en contacto con un ambiente contaminado por concentraciones elevadas de ozono, lo que continúa es la aparición de una serie de reacciones en cadena que involucran la liberación de cantidades importantes de especies reactivas de oxígeno que, como ya se ha mostrado, son capaces de alterar la estructura y función de biomoléculas e incluso células completas, causando que en muchas ocasiones que éstas pierdan su estructura y función (92). Conviene reiterar que los ROS han sido implicados en la patogénesis de cuando menos 50 enfermedades (3, 17) así como en la progresión de los procesos causantes del envejecimiento.

También hemos explicado que la formación de radicales libres es susceptible de ser controlada naturalmente a través de la liberación de antioxidantes de origen tanto endógeno como exógeno; sin embargo, cuando la disponibilidad de antioxidantes es limitada, el daño oxidativo puede volverse acumulativo y debilitante (92).

En la actualidad existe un cuerpo creciente de estudios animales y epidemiológicos así como tratamientos quirúrgicos que sugieren que los antioxidantes podrían coadyuvar en la prevención de padecimientos, particularmente cáncer y algunos males cardíacos (56, 2).

En el caso del cáncer, la explicación parece ser bastante sencilla. A lo largo de este trabajo se han mostrado evidencias que sugieren que diversas macromoléculas tales como proteínas y ADN son particularmente susceptibles a ser dañados por la actividad de los ROS. Dado que las mutaciones son consideradas un factor importante en la progresión de los procesos carcinogénicos, los antioxidantes podrían ejercer un efecto protector al disminuir

el daño oxidativo al ADN. En la actualidad existen más de un centenar de estudios que reportan que la reducción del riesgo de padecer cáncer se asocia con una dieta alta en vitamina C (140). Se cree que el efecto anticarcinogénico de los antioxidantes se asocia con un decremento en el daño oxidativo que sufre el ADN.

Por otro lado, las vitaminas C y E, así como el  $\beta$ -caroteno se asocian con una optimización en las funciones pulmonares (78 y 75).

### *Tejido nervioso*

Como se mencionó anteriormente, existe una variedad de padecimientos neurodegenerativos que sostienen una estrecha relación con niveles elevados de estrés oxidativo. Dada la importancia que reviste la integridad funcional y estructural del tejido nervioso para la calidad y duración de la vida de los seres humanos, es preciso establecer vínculos claros que permitan prevenir y, en su caso, remediar algunas de las condiciones que comprometen la estabilidad de estos tejidos, particularmente a la luz de las evidencias más recientes, que vinculan cada vez con mayor fuerza el estilo de vida actual, con el desarrollo de diversos padecimientos neurodegenerativos.

Mediante evaluaciones inmunohistoquímicas y morfológicas en mucosas respiratorias, bulbo olfatorio y estructuras corticales y subcorticales de perros mestizos de 2 y 4 semanas habitantes de la Zona Metropolitana del Valle de México, los hallazgos de Calderón-Garcidueñas y colaboradores, sugieren que los padecimientos neurodegenerativos podrían originarse desde edades tempranas, con contaminantes como el ozono, jugando un rol esencial (13).

Sung Noh y sus colaboradores (16) reportan que una serie de neurotransmisores de la familia de las catecolaminas –dopamina, epinefrina y norepinefrina, específicamente— son capaces de actuar como moduladores endógenos de los procesos de muerte celular en neuronas del *nucleus tractus solitarius* de primates infantiles previamente expuestos a ozono (0.5 ppm, 8 h/día por 5 días durante 14 días durante 11 episodios). Los autores advierten acerca de la promesa que podrían significar este tipo de sustancias como una alternativa para el tratamiento de los trastornos neurodegenerativos que se propagan a través del estrés oxidativo y la apoptosis generada por éste.

Por otro lado, se sabe que la inhibición de las enzimas superóxido dismutasa y glutatión deshidrogenasa también resulta en la inducción de muerte por apoptosis (116), hecho que se suma al cúmulo de evidencias que asocian a este fenómeno con procesos oxidativos.

Sin embargo, debido a que ciertas alteraciones en los procesos que regulan la muerte apoptótica puede traer consigo dramáticas consecuencias –ya sea que las células mueran de manera excesiva o bien, insuficiente—, el conocimiento adecuado del proceso de apoptosis adquiere dimensiones importantes al reconocer

su relación con el desarrollo de enfermedades neurodegenerativas como son las enfermedades de Parkinson y la de Alzheimer (122).

Sin duda, el reconocimiento de los genes que regulan el proceso de muerte celular así, como un minucioso conocimiento de su participación en el desarrollo de padecimientos neurodegenerativos en humanos, podría ser una alternativa promisoría para el desarrollo de futuras terapias diseñadas para tratar este tipo de patologías (122, 66).

### *Antioxidantes suplementarios y dietéticos*

Debido a que las personas hoy en día conviven en un medio con concentraciones más elevadas de elementos oxidantes, incluido el ozono, muchos expertos consideran que las recomendaciones nutricionales diarias que se emiten en los países (incluido México) a través de órganos oficiales de salud podrían ser inadecuados y, en algunos casos las necesidades podrían ser de varias veces más las dosis recomendadas (92). Como parte de un estilo de vida saludable así como de una dieta completa y balanceada, un adecuado suplemento de antioxidantes ha comenzado a ser considerado como un medio importante para prevenir la oxidación por radicales libres (63).

Se ha mencionado que, entre otros, los carotenoides han sido aceptados como factores importantes en la prevención del cáncer (117). Asimismo existe una fuerte necesidad de reconocer como nutrientes los ácidos grasos omega-3 y algunos elementos no nutritivos como la fibra dietética, así como ciertos factores protectores que se encuentran en alimentos ricos en sustancias fitoquímicas (Catequinas, Carotenoides no precursores de vitamina A, flavonoides y polifenoles, entre otros) y que son promotoras de salud (92).

Recientemente, Simoni y colaboradores (2005) reportaron que la actividad de Retinoides sintéticos parece tener efectos protectores en cultivos neuronales, previniendo la oxidación y los procesos apoptóticos (115).

A la luz de las evidencias, está claro que los beneficios en la salud que deriven de un adecuado suministro de antioxidantes, ya sea como terapia preventiva o incluso correctiva, en el caso de padecimientos asociados con el estrés oxidativo, podrían verse reflejados en un claro incremento de la calidad de vida, así como descensos substanciales en algunos gastos médicos. Por otro lado, la eficiencia de una inversión destinada a promover a la salud mediante el reemplazo de intervenciones ambientales de alto costo pero de beneficios limitados por prácticas económicas pero altamente benéficas basadas en estilos de vida saludables.

Sin embargo, debe revisarse la factibilidad de la hipótesis de Berry y Cohen (1999) que consideran la actuación de los LMWAs como un sistema análogo para

regular la relación ácido-base en el organismo, incluida la proporción de ROS. Según estos autores, este concepto podría explicar algunas contradicciones específicas asociadas con terapias antioxidantes (11).

### *Terapia celular y genómica, abordaje a futuro*

En la actualidad el estudio de la expresión genética y la regulación de los genes es crítica en el desarrollo de terapias génicas novedosas. Se sabe que las consecuencias de la exposición a ozono dependen no sólo de su concentración sino que también están influenciadas por factores genéticos (44). En este sentido, el reconocimiento de especies reactivas de oxígeno así como las proteínas que contribuyen a su reducción se yergue como un promisorio campo para el estudio de la regulación celular a través de factores de transcripción específicos que potencialmente podrían proporcionar una manera eficiente para controlar procesos patológicos relacionados con la oxidación por ROS (95).

A pesar de la variedad de factores implicados en la patogénesis de los padecimientos neurodegenerativos, hoy en día se reconoce que la genética juega un rol protagónico en la orquestación de estos y otros eventos patológicos (69). El reto de la farmacogenómica es hacer realidad la aplicación de estos conocimientos, en relación con la predisposición hereditaria a padecer algunos padecimientos, con el fin de elaborar tratamientos y terapias más efectivos, a partir del perfil de cada paciente (74).

En el caso específico de los padecimientos neurodegenerativos, los análisis genómicos, proteómicos y de bioinformática, han identificado un vasto número de genes cuya expresión se asocia con la patología de males específicos (74).

Recientemente y gracias a un sinnúmero de técnicas que ya se encuentran disponibles para llevar a cabo un análisis genético diferencial, se ha comenzado a acumular información altamente confiable acerca de, por un lado, cuáles son los genes que se expresan principalmente durante episodios de exposición de agentes estresores oxidativos como el ozono, así como las proteínas que a partir de éstos son manufacturadas dentro de la célula. (145, 94, 141, 19, 67). Esta información parece promisoria para el desarrollo de terapias génicas basadas en la estimulación de genes de defensa antioxidante.

Algunos especialistas aseguran que la terapia celular, basada en el reemplazo de células dañadas por células troncales, podría convertirse en una de las principales estrategias para el tratamiento de desórdenes neurodegenerativos, a corto plazo (125).

## ANTECEDENTES

El impacto de la contaminación ambiental sobre la salud pública es hoy en día un grave problema al que se enfrentan los países industrializados. Recientemente se ha registrado un incremento en la producción de gases atmosféricos que potencialmente ejercen un efecto deletéreo sobre la salud (91).

La ciudad de México y la Zona Metropolitana han experimentado desde hace más de una década algunos de los índices de concentración de contaminantes atmosféricos más dramáticos a nivel global (80).



### I. OZONO

El ozono ( $O_3$ ) es el principal contaminante fotoquímico que se encuentra en el aire (87). Éste se forma con facilidad en climas cálidos a partir de compuestos orgánicos volátiles y óxidos de nitrógeno que, al reaccionar en presencia de la luz ultravioleta (UV), contribuyen a la contaminación atmosférica de origen fotoquímico comúnmente conocida como *smog* (25). Otra gran contribución a la concentración de ozono en el ambiente es la que se genera cuando gases emitidos por motores de combustión (como por ejemplo los óxidos de nitrógeno NO) reaccionan con las radiaciones solares. (Fig. 1).

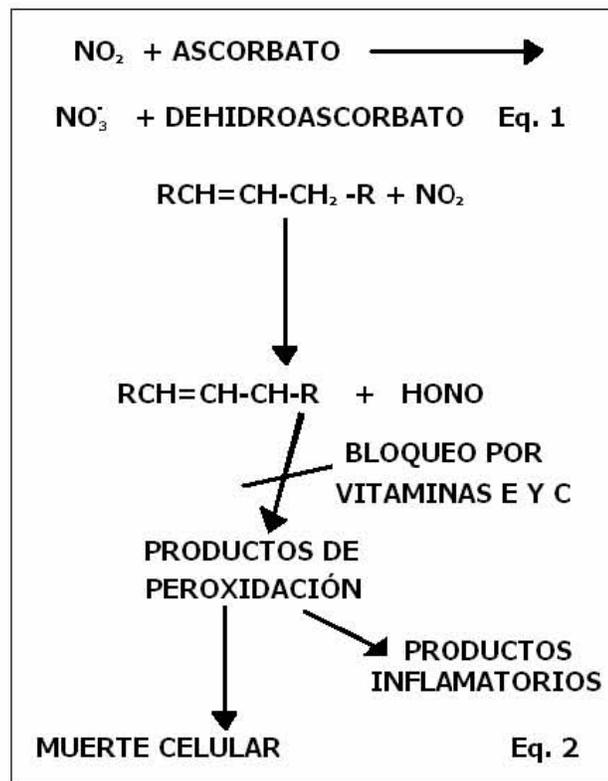
El ozono, al igual que otros tipos de contaminantes atmosféricos ingresa al organismo por medio de las rutas de inhalación (nariz y boca), así como por los ojos y la piel (25). Actualmente, se cuenta con evidencias que demuestran que el ozono es capaz de ejercer efectos tóxicos sobre la salud (91, 77, 105, 106, 4, 18, 37).

Estudios epidemiológicos han demostrado que los individuos expuestos a concentraciones elevadas de este gas suelen presentar enfermedades respiratorias —asma, principalmente— alteraciones del sueño, disminución de la capacidad respiratoria, fatiga, letargia, cefalea e irritación de las mucosas respiratorias y nasales (25, 77, 91). Por otro lado, investigaciones realizadas en modelos animales indican que períodos prolongados de exposición a 1 parte por millón (ppm) de ozono, podrían estar relacionados con el desarrollo y aparición de enfisema y bronquitis (76).

En condiciones normales, los sistemas biológicos cuentan con antioxidantes que son capaces de contrarrestar la acción oxidativa generada por radicales libres que se forman normalmente en el organismo como consecuencia del metabolismo celular (91). Sin embargo, diversos estudios han confirmado que el balance que puede hacer posible la eficacia de estos sistemas de defensa puede perderse

fácilmente como consecuencia de una exposición a cantidades importantes de moléculas oxidantes como lo son aquellas producidas por la contaminación ambiental, incluido el ozono (91).

Aire alrededor del 90% del fluido surfactante del tracto respiratorio está constituido por lípidos. Ciertamente, una pequeña porción del ozono que ingresa al tracto respiratorio es destruido por la acción de antioxidantes como ascorbato y glutatión, pero en casos en que la dosis de exposición excede ciertos límites, los radicales libres son liberados hacia los tejidos vecinos y flujo sanguíneo (98).



REACCIONES QUÍMICAS DEL NO<sub>2</sub>. La ecuación 1 representa la reacción del ascorbato con el NO<sub>2</sub>. La ecuación 2 representa la reacción del NO<sub>2</sub> con ácidos grasos insaturados vía un paso inicial de abstracción de hidrógeno (Menzel, 1994)

Debido a que el fluido que recubre las vías aéreas, así como el agente surfactante de los alvéolos pulmonares no están distribuidos de forma continua – más bien se distribuyen a manera de *patches*—, el ozono puede encontrar fácilmente sitios mediante los cuáles se deposita directamente sobre la membrana celular (77).

Ello ocurre a pesar de que empíricamente podría suponerse que la mayor parte del ozono que se inhala entra en contacto y reacciona con las moléculas de las mucosas nasal y faríngea, sin embargo, su grado de reactividad es tal que la reacción en esos tejidos cubre tan sólo el 50% del gas que ingresa por vía respiratoria. Una buena parte del ozono llega a alcanzar la región pulmonar debido a que cuenta con una baja solubilidad acuosa (39, 79).

A ese nivel, se ha demostrado que la exposición a ozono genera la liberación local de mediadores inflamatorios y estrés oxidativo, así como la activación de neuronas sensitivas (17). Algunas de esas alteraciones han sido relacionadas con una disminución del factor surfactante, como consecuencia de un déficit en la síntesis de fosfatidilcolina (5, 10).

En los alvéolos las lesiones se caracterizan por la destrucción necrótica de neumocitos tipo I y II (células escamosas y cuboidales alveolares, respectivamente), hiperplasia de neumocitos tipo II y acumulación de células inflamatorias especialmente macrófagos (34, 7).

Asimismo, se han reportado cambios morfológicos y en la actividad enzimática de células sanguíneas *in vivo*, e incluso, se ha propuesto monitorear el incremento en la adherencia y motilidad de los leucocitos como un indicador de los efectos tóxicos de este gas (91). Por otro lado, se ha documentado indirectamente que el estrés por ozono incrementa la sensibilidad del hospedero a infecciones virales (25, 87).

Actualmente la hipótesis más aceptada para explicar el mecanismo por el cual el ozono causa daño en el organismo sugiere que sus efectos tóxicos son producidos, por una cascada de productos de oxidación secundarios a la exposición a O<sub>3</sub> más que por la molécula por sí sola (97 y 132). En resumen, la exposición a ozono desencadena la formación de radicales libres que al ingresar al sistema circulatorio afectan a todo el organismo.

## II. ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO (ROS)

Las especies reactivas de oxígeno se forman como compuestos intermediarios en algunas de las reacciones que son catalizadas por enzimas. Asimismo, estas moléculas son subproductos de procesos endógenos como el transporte electrónico en la cadena respiratoria (3). Otras fuentes que contribuyen a la formación de ROS son las que ocurren a partir de la radiación ionizante, oxidasas endógenas, peroxidación de lípidos, algunos de los sistemas de oxidación que son catalizados por metales, además de la acción bactericida de neutrófilos y macrófagos (82).

Sin embargo, las especies reactivas de oxígeno cumplen con importantes roles dentro del metabolismo celular, actuando como mensajeros subcelulares en procesos tan complejos y relevantes como la transducción de señales mitogénicas, expresión genética, la regulación de la proliferación celular, senescencia replicativa, y apoptosis (31).

La secuencia de eventos mediante los cuáles el O<sub>3</sub> ejerce sus efectos oxidativos incluye peroxidación de lípidos y pérdida de grupos funcionales enzimáticos, alteraciones en la permeabilidad de la membrana y daño celular o muerte (84).

Se sabe que el efecto deletéreo del ozono sobre la salud es producido por la liberación de radicales hidroxilo y superóxido a través de un proceso inflamatorio (76). Pryor, (1995) postula que, no obstante que el ozono reacciona con las proteínas membranales, los ROS resultan ser los transmisores más eficientes del "mensaje" del ozono, ya que en su viaje por el tracto respiratorio, éste entra en contacto con una

Cantidad considerable de lípidos, cuya peroxidación da como resultado aldehidos e hidroperóxidos (133) compuestos precursores de especies reactivas de oxígeno. (Ver recuadro: *Productos de ozonación de lípidos*).

En síntesis, un radical libre o ROS es una molécula o ión que contiene un electrón no apareado, cuya alta reactividad radica en el "deseo" intrínseco que experimenta su electrón no apareado de participar en un enlace covalente (98).

PRODUCTOS DE OZONACIÓN DE LÍPIDOS

TIPO DE COMPUESTO	LÍPIDO PRECURSOR	ESTRUCTURA	NOMBRE ABREVIADO
Aldehidos	Lípido c/ Palmitoléico	$CH_3(CH_2)_7CHO$	Ald-C7
	Lípido c/Oleico	$CH_3(CH_2)_7CHO$	Ald-C9
	1-2 Palmitoil- 2-sn-glicero- 3-fosfolina	$CH_3(CH_2)_7CO_2CH_2$ $OH(CH_2)_7CO_2CH$ $CH_2OP(O)_2(CH_2)_7N(CH_2)_3$	PC-Ald
Hidroxihiperóxidos	Lípido c/ Palmitoléico	$CH_3(CH_2)_7CH(OH)OOH$	HHP-C7
	Lípido c/ oleico	$CH_3(CH_2)_7CH(OH)OOH$	HHP-C9
	1-Palmitoil-2- sn-glicero-3- fosfolina	$CH_3(CH_2)_7CO_2CH_2$ $HOO(HO)HC(CH_2)_7CO_2CH$ $CH_2OP(O)_2(CH_2)_7N(CH_2)_3$	PC-HHP
Ozonuros de Criegee	1-Palmitoil- 2-oleoil- sn-glicero- 3-fosfolina	$CH_3(CH_2)_7CO_2CH_2$ $CH_3(CH_2)_7CO_2CH$ $CH_2OP(O)_2(CH_2)_7N(CH_2)_3$	POPC-Oz

Las reacciones de ROS son irreversibles y están caracterizadas por la presencia transitoria de intermediarios altamente reactivos (97). Estas reacciones se llevan a cabo continuamente dentro de células y tejidos a partir de reacciones enzimáticas y espontáneas (104). Sin embargo, los ROS también pueden originarse a partir de reacciones no enzimáticas donde el oxígeno reacciona con compuestos orgánicos, o incluso pueden formarse como producto de ciertas reacciones desencadenadas por la presencia de radiación ionizante (104).

Los ROS pueden alterar por oxidación las funciones de las moléculas de vida larga entre las que se encuentran proteínas tales como el colágeno, la elastina y el material cromosómico, debido a que diversos tipos de ROS tales como OH, O<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> reaccionan con las cadenas laterales de aminoácidos componentes protéicos tales como la lisina, arginina, prolina, treonina y ácido glutámico, dando lugar a la formación de derivados carbonílicos (120) una degradación de los mucopolisacáridos y la modificación de las propiedades de membranas celulares y organelos, principalmente mitocondrias y lisosomas, como consecuencia de la peroxidación de lípidos y los descensos en la actividad enzimática (104) causando incluso la muerte celular (116).

Día con día se incrementan las evidencias experimentales y epidemiológicas que relacionan a los ROS con la etiología de un sinnúmero de padecimientos, entre los que sobresalen el cáncer, algunas enfermedades neurodegenerativas, y los padecimientos autoinmunes (82).

Por otro lado, las especies reactivas de oxígeno han sido relacionadas con la etiología de diabetes *mellitus* además de que su producción se eleva en forma considerable en diversos desórdenes metabólicos (8). También se ha sugerido que estas moléculas están asociadas con la etiología padecimientos congénitos, por ejemplo aquellos producidos por la cocaína y la diabetes materna (144).

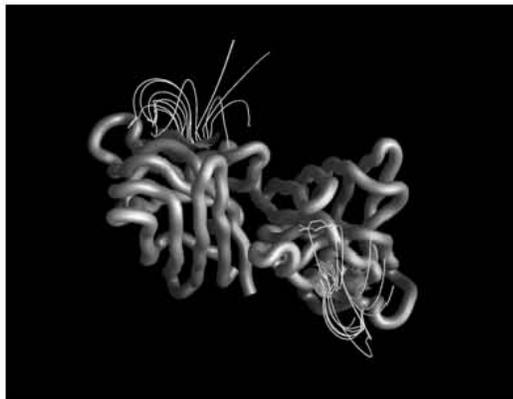
Diversos autores han propuesto que los cambios inducidos por la acción de los ROS colectivamente sobre los sistemas biológicos, están estrechamente relacionados con los procesos de envejecimiento y muerte, a través de la pérdida de la capacidad antioxidante y la acumulación de deterioro celular (104, 41, 73, 119, 103, 35, 82) vía estrés oxidativo.

El término estrés oxidativo, generalmente se utiliza para describir un estado continuo de daño en células, tejidos y órganos, causado por la actividad de especies reactivas de oxígeno a consecuencia de una producción excesiva de radicales libres y/o un descenso de los niveles antioxidantes (117). Esta condición, desencadena una variedad de cambios fisiológicos y bioquímicos que pueden culminar en muerte celular (3).

### III. ANTIOXIDANTES

En condiciones normales, existe una serie de antioxidantes que son inherentes a los sistemas biológicos y que proporcionan una valiosa protección en contra del daño oxidativo (91). Asimismo, mientras que continúa acumulándose evidencia experimental y epidemiológica que relaciona a los radicales libres y a las especies reactivas de oxígeno con una variedad de padecimientos y con el envejecimiento, el papel de los antioxidantes ha atraído la atención de los especialistas (129).

Se sabe que, en mamíferos, los ROS activan una serie de sistemas antioxidantes, entre los que destaca, por su nivel de importancia, la superóxido dismutasa (SOD) (Fig. 3) que produce peróxido de hidrógeno a partir de ROS; la catalasa (CAT) glutatión peroxidasa y glutatión reductasa (GSH-Px) a su vez, transmutan y restan toxicidad al peróxido de hidrógeno (105, 65, 106, 28).



**Figura 3.** Modelo tridimensional de la molécula Superóxido dismutasa.

En condiciones normales la concentración de antioxidantes endógenos en los tejidos es suficiente para equilibrar las concentraciones de superóxido, peróxido de hidrógeno y óxidos de nitrógeno. Si la proporción de estas especies reactivas es mayor a lo usual, entonces la respuesta de la célula es un aumento en la actividad de las enzimas protectoras, la activación de los sistemas de reparación y, si el daño no puede ser controlado, se presenta muerte celular (122).

Asimismo, existen otros tipos de antioxidantes exógenos de bajo peso molecular (LMWA, por sus siglas en inglés) que actúan directamente sobre ciertas ROS. Entre estos compuestos sobresalen la vitamina C, Ácido Úrico y vitamina E (113). Numerosas evidencias demuestran que la carencia de vitaminas C y E incrementan la toxicidad oxidativa del O<sub>3</sub> (77, 65, 105).

Otros antioxidantes que contribuyen a la remoción de ROS en los tejidos se encuentran, el urato  $\alpha$ -tocoferol y la taurina, presente en los leucocitos y en otras estructuras (25, 116, 105 y 65). Estudios previos han demostrado que la inhalación de ozono estimula la liberación de sustancias como el ácido aminobenzóico, sustancia que también es capaz de ejercer una importante actividad antioxidante (79).

#### **SISTEMA DE PROTECCIÓN ANTIOXIDANTE**

##### **Antioxidantes endógenos**

- Bilirrubina
- Tioles, (Ej. glutatión, ácido lipóico, N-acetil cisteína)
- NADPH and NADH
- Ubiquinona (coenzima Q10)
- Ácido úrico
- Enzimas:
  - Superóxido dismutasa (SOD) dependiente de cobre/zinc y manganeso
  - Catalasa dependiente de hierro
  - Glutatión peroxidasa dependiente de selenio

##### **Antioxidantes dietéticos (exógenos)**

- Vitamina C
- Vitamina E
- Beta caroteno y otros carotenoides y oxicarotenoides, (licopeno and luteína)
- Polifenoles, (Ej. flavonoides, flavonas, flavonoles, and proantocianidinas)

##### **Proteínas metalo -afines**

- Albumina (cobre)
- Ceruloplasmina (cobre)
- Metalotioneína (cobre)
- Ferritina (hierro)
- Mioglobina (hierro)
- Transferrina (hierro)

*(Mark Percival 1996)*

Diversas evidencias demuestran que antioxidantes como la vitamina E y la taurina son capaces de reducir los déficits de memoria producidos por la exposición a ozono a partir de una reducción en los índices de peroxidación de lípidos (65).

En 1993, Buettner (12) publicó un reporte que indica que las propiedades termodinámicas de algunas de las sustancias antioxidantes más importantes (vitaminas E y C) les permiten establecer relaciones sinérgicas entre sí con el fin de proteger a los lípidos de la peroxidación (12).

El mismo autor explica que a pesar de que la vitamina E se localiza principalmente en las membranas y la vitamina C en las interfases acuosas, esta última posee la capacidad de reciclar a la vitamina E, tal y como ocurre cuando la vitamina C repara al radical tocoferoxil (Cromanoxil) de la vitamina E, restaurando la capacidad que tiene la vitamina E de romper las cadenas de radicales libres y ejercer una función antioxidante (12).

Yu, *et al* (1998) documentó que la vitamina E es capaz de prevenir la muerte celular por apoptosis en neuronas de ratas que han sido sometidas a condiciones de hipoxia, seguida por reperfusiones de oxígeno. El mismo estudio demostró que la vitamina E previno también el daño neuronal por ROS (141). Otros estudios han demostrado que tanto la vitamina E como el  $\beta$ -Caroteno protegen a las neuronas de rata, del estrés oxidativo causado por la exposición a etanol (19).

En contraste con lo que ocurre con la vitamina E y con la C (12), la dinámica y el mecanismo a través del cual actúa el  $\beta$ -Caroteno como antioxidante, no está bien comprendida aún (129). Por ejemplo, la reactividad del  $\beta$ -Caroteno con respecto a los radicales, el número estequiométrico —número de radicales atrapados por cada molécula— así como la interacción del  $\beta$ -Caroteno con otros antioxidantes, aún no ha sido claramente establecida (129).

#### ALGUNOS ROS Y SUS RESPECTIVOS ANTIOXIDANTES NEUTRALIZANTES

ROS	ANTIOXIDANTES NEUTRALIZADORES
Radical hidroxilo	Vitamina C, glutatión, flavonoides, ácido lipóico
Radical superóxido	Vitamina C, glutatión, flavonoides, Superóxido dismutasa (SOD)
Peróxido de hidrógeno	Vitamina C, glutatión, beta caroteno, vitamina E, Coenzima Q-10 (CoQ10), flavonoides, ácido lipóico
Peróxidos lipídicos	beta caroteno, vitamina E, ubiquinona, flavonoides, glutatión peroxidasa

Otros estudios han propuesto que los radicales libres no solamente inducen la expresión de defensas antioxidantes o la reparación de proteínas, sino que también ejercen un rol en la señalización normal de ciertas funciones celulares (122)

En 1999, Berry y Cohen publicaron una interesante hipótesis que explica de qué manera podrían actuar en concierto los LMWAs como un sistema análogo para regular la relación ácido-base en el organismo. Las características teóricas de un sistema como el que se propone incluyen la regulación, inducibilidad e interactividad, así como el balance con las propiedades benéficas que tienen los ROS. Según estos autores, de aceptarse, este concepto podría contribuir a explicar las contradicciones que suelen relacionarse con las terapias antioxidantes y dar lugar al diseño de recomendaciones más apropiadas para el consumo dietético. Ello también podría esclarecer las contradicciones relacionadas con la manipulación de antioxidantes específicos para el conjunto de condiciones antioxidantes en la salud y la enfermedad (11).

En las últimas décadas, el aumento vertiginoso en la proporción de elementos oxidantes en el ambiente como consecuencia de la contaminación industrial ha rebasado las defensas antioxidantes con que cuentan los organismos. Sus efectos adversos pueden verse exacerbados a consecuencia de deficiencias nutricionales, el desempeño de actividades físicas extenuantes, lesiones y desórdenes hereditarios, así como la exposición a agentes ambientales físicos y químicos oxidantes, incluido el ozono (106, 21, 100, 101).

Dada la estrecha asociación que esta condición parece guardar con respecto a la estabilidad de los sistemas biológicos, es preciso que se mantengan e intensifiquen los esfuerzos por incrementar el nivel de entendimiento de estos procesos, así como las posibles alternativas para revertir sus consecuencias.

#### IV. DAÑO OXIDATIVO

Sin duda, la mayor parte de los estudios enfocados a conocer los efectos del ozono sobre el organismo de los mamíferos se ha concentrado alrededor del sistema respiratorio; sin embargo, particularmente en las últimas 2 décadas, se ha observado un incremento en las investigaciones que abordan los efectos de ese gas en otros tejidos, órganos y sistemas.

La oxidación de ácidos grasos poliinsaturados, lipoproteínas y lípidos de membrana se ha implicado en la patogénesis de diversos padecimientos (104, 41, 32). A nivel celular, entre las consecuencias potenciales de la peroxidación de lípidos de membrana sobresalen la pérdida de ácidos grasos poliinsaturados, descenso en la fluidez de los lípidos, alteraciones en la permeabilidad de la membrana, efectos sobre las enzimas asociadas a la membrana, alteraciones en el transporte de iones, pérdida de materiales de los compartimentos subcelulares y la generación de metabolitos citotóxicos (82, 117).

A nivel fisiológico, estas alteraciones tienen efectos sobre la estabilidad de la síntesis y secreción de hormonas, el control del crecimiento y proliferación de células sanguíneas y linfáticas, la actividad de algunas enzimas y bloqueo de la actividad de los macrófagos, entre otros (82, 21).

#### *IV.I. Procesos de muerte celular*

Una importante corriente de investigación sugiere que el estrés oxidativo está estrechamente relacionado con los fenómenos de muerte celular como apoptosis y necrosis.

##### *IV.I.I. Apoptosis*

La apoptosis es un proceso extremadamente complejo y altamente regulado en el que no sólo participan moléculas promotoras de la muerte, particularmente enzimas denominadas Caspasas, sino también genes que modulan a este proceso en su totalidad (122, 72).

Durante el proceso apoptótico, la célula se caracteriza por iniciar la activación de una serie de genes encargados de activar a las Caspasas, enzimas especializadas en la digestión de proteínas, y continuar con; condensación del material nuclear, formación de cuerpos apoptóticos cuyo destino final es ser fagocitados por macrófagos y otras células del sistema inmune. La apoptosis se caracteriza por una ausencia de daño sobre las células que rodean a la célula apoptótica (122, 72, 102, 121).

Sin embargo, algunos grupos de investigación parecen coincidir en que originalmente, la apoptosis ha sido *diseñada* como parte de un complejo sistema de mantenimiento celular. Por ejemplo, durante el desarrollo ontogenético de los organismos multicelulares, como el humano, se observa la generación de estructuras relativamente complejas que en un momento crítico del desarrollo requieren eliminar algunas células para alcanzar el número y organización adecuado para su funcionamiento. Este es el caso de la formación de extremidades y la maduración del sistema nervioso, cuando la muerte programada puede llegar a ser masiva, pero benéfica. En el adulto ocurre un proceso similar destinado también a mantener el número y la calidad de las células que lo constituyen (122).

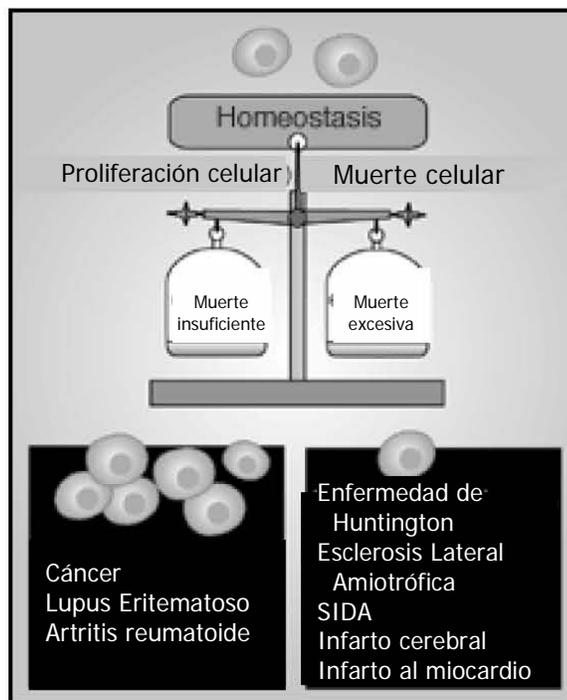
La inhibición de las enzimas superóxido dismutasa y glutatión deshidrogenasa también da como resultado la inducción de muerte por apoptosis (116) hecho que apoya la asociación de este fenómeno con los procesos oxidativos.

En este sentido, el proceso de muerte apoptótica parece estar estrechamente relacionado con el desarrollo de patologías como el VIH-SIDA, los infartos y algunas enfermedades neurodegenerativas, tales como el enfermedad de Parkinson y de Alzheimer, o bien por la ausencia de muerte en algunas células que deberían morir por presentar alguna alteración deletérea, como mutaciones o infecciones, como ocurre en el caso de algunas enfermedades autoinmunes y el cáncer (122) (*Ver figura 4*).

Se ha propuesto que el reconocimiento de genes específicos destinados a regular la muerte celular y su presencia en humanos podría abrir la puerta para el estudio de posibles terapias diseñadas para el tratamiento de algunas de las patologías en las que se sabe que existe una falla en el proceso de muerte celular programada y que representan un problema de salud, como las ya mencionadas (122, 66).

#### IV.I.II. *Necrosis*

La necrosis, suele considerarse como un proceso de muerte celular que se desarrolla bajo diversas condiciones. Es decir, la muerte de la célula generalmente es causada por algún agente en el medio extracelular. El proceso de muerte necrótica conlleva un proceso de degeneración que culmina con la muerte celular y con frecuencia se asocia con efectos colaterales hacia células vecinas (116, 102).



**Figura 4.** Padecimientos asociados con alteraciones en los mecanismos de muerte celular, tanto excesiva como insuficiente.

Se ha observado que la exposición de células a radicales superóxido es capaz de inducir muerte necrótica. Asimismo, se sabe que el proceso necrótico puede desencadenarse una vez que se rompe el balance que existe entre iones oxidantes y antioxidantes en las membranas celulares, como consecuencia de la acción de radicales libres sobre los lípidos que le constituyen y culmina, en casos extremos, con la ruptura de la membrana plasmática (116).

#### IV.I.III. *Apoptosis versus necrosis*

Empero una revisión publicada recientemente por Kanduc *et al* (2002) cuestiona severamente la concepción tradicional que ha comenzado a generalizarse en el ámbito de las ciencias biomédicas en relación con la definición de los términos apoptosis y necrosis.

Los autores de dicho documento cuestionan el hecho de que la literatura comience a acumular diversos conceptos que, desde el punto de vista de su análisis, son *incorrectos*.

a) la apoptosis es un método de eliminación celular genéticamente controlado y dependiente de energía que no produce inflamación (23) la necrosis, por el contrario tradicionalmente se asocia con inflamación (63).

b) la apoptosis ocurre como respuesta a algún ligero daño, mientras que se considera que la necrosis ocurre en respuesta a formas más severas del mismo tipo de daño (130).

c) la apoptosis ocurre mediante una ruta coordinada, predecible y predeterminada mientras que la necrosis es resultado del efecto aditivo de diversos eventos bioquímicos independientes que se activan por un consumo total de las reservas energéticas (36).

d) la necrosis es difícil de evitar mientras que la ruta apoptótica puede ser potencialmente modulada para mantener la viabilidad celular (24).

En síntesis, señala el grupo de Kanduc, suele asumirse que la necrosis es un tipo "ordinario" de muerte celular con las características de un proceso pasivo, mientras que la apoptosis es una forma "especial" de muerte celular con las características de un proceso activo, con lo que finalmente se concluye que tanto la necrosis como la apoptosis son simplemente dos formas diferentes de muerte celular (59).

Es en este punto en el que Kanduc y colaboradores lanzan una interesante reflexión que merece la pena ser considerada: "Preliminarmente sugerimos que comparar la apoptosis con la necrosis es científicamente injustificado. Es ilógico comparar el proceso mediante el cual mueren las células, con los cambios que experimentan células y tejidos posteriormente a la muerte celular, es decir, la necrosis". Aseguran que ambos procesos están desfasados temporalmente y representan los dos extremos de un continuo, es decir, que el proceso necrótico puede comenzar única y exclusivamente cuando la célula muere y es, por tanto, un proceso irreversible en la "vida" de la célula (59, 96).

En este sentido, Kanduc *et al* señalan que la inflamación observada durante la necrosis es principalmente causada por la fagocitosis de los restos celulares producidos por el proceso necrótico. Asimismo, la posibilidad de recuperación durante la apoptosis es sencillamente la capacidad de rescate de una célula que aún no ha muerto.

Con frecuencia se asume que la muerte celular puede ser un proceso pasivo, empero dicha revisión advierte que tal punto de vista *–no biológico–* ignora el papel que tiene la muerte celular en el desarrollo y adaptación celulares. Concluyen así, que no es posible asumir que la necrosis es un proceso pasivo mientras que la presunta forma *especial* de muerte celular o apoptosis es activa: ambas alteraciones, *ante y post mortem* son activas, ya que las dos son reacciones bioquímicas catalizadas enzimáticamente (59).

#### *IV.II. Envejecimiento*

En 1987 Denham Harman propuso la teoría del envejecimiento por radicales libres (43), en la cual menciona, que las reacciones de dichas moléculas sobre células y tejidos, causan una acumulación progresiva de alteraciones en su estructura y función que tienen lugar durante las fases posteriores a la madurez de los organismos (73) y que son responsables de la creciente posibilidad de decaimiento y muerte celular que irremediablemente acompaña al avance de la edad (9). Hoy en día, la evidencia parece confirmar que muchos de los mecanismos involucrados en la etiología del envejecimiento están estrechamente vinculados con el daño celular causado por ROS (49).

Junqueira et al (2004) realizó una extensa y completa revisión de la relación que existe entre los procesos de envejecimiento y el estrés oxidativo (56) y a lo largo del mismo, refuerza la hipótesis de que el envejecimiento es un proceso directamente relacionado con el estrés oxidativo sistémico.

Se han reconocido dos componentes del estrés oxidativo en el envejecimiento humano: por un lado un decremento en la disponibilidad de antioxidantes moleculares nutricionales y por el otro una acumulación de productos derivados de la oxidación de las componentes biológicos (56, 3). Asimismo, es conveniente considerar que los padecimientos que con frecuencia se asocian con la edad, tienen como uno de sus principales determinantes al estrés oxidativo (2, 140).

A la fecha, continúan acumulándose evidencias en la literatura que indican que la oxidación de las biomoléculas está relacionada con la susceptibilidad a padecer enfermedades, tales como cáncer y males cardíacos, además de considerarse asociada con el proceso de envejecimiento (56).

En 1996, Mezzetti et al demostró que los peróxidos del plasma, determinados a través de la medición de los productos fluorescentes de la peroxidación de lípidos, son más elevados en humanos ancianos que en jóvenes, e incluso mayor en octo-nonagenarios enfermos. Este incremento en la peroxidación de lípidos se correlacionó directamente con la edad, además de que se le asoció con descensos en los niveles de vitaminas E y C (78). Muchos otros estudios han encontrado una

estrecha asociación entre el envejecimiento y el descenso en los niveles de antioxidantes (56). Asimismo, luego de haber realizado diversos estudios en centenarios saludables, Mecocci et al (2000) concluyó que las vitaminas A y E son particularmente importantes para la longevidad, mientras que Paolisso et al (1998) corroboraron lo propio para las vitaminas C y E (75, 90).

Los estudios de Mecocci y su grupo (2000) han demostrado que la actividad de la superóxido dismutasa así como la glutatión peroxidasa en plasma y en eritrocitos se incrementan con la edad, como respuesta adaptativa al decremento en la cantidad de antioxidantes, resultando un incremento en los niveles de productos de oxidación.

Otras investigaciones han demostrado que adultos mayores incapacitados (80-90 años de edad) tienen niveles más bajos de vitaminas E y C que los adultos sanos (50 a 60 años). Estos estudios indican que un envejecimiento inadecuado implica un mayor grado de estrés oxidativo que un envejecimiento sano (78).

Por otro lado, se han identificado alelos humanos asociados con un incremento en la longevidad de ciertas poblaciones, como muestra el caso del loci genético ApoE  $\epsilon$ 2, que prevalece entre un buen número de centenarios. ApoE  $\epsilon$ 2 también se asocia con un descenso en la susceptibilidad a padecer enfermedad de Alzheimer, en contraste con el alelo  $\epsilon$ 4, que en estado homocigótico se asocia con la aparición de este padecimiento (123).

Debido a que, como ya se mencionó anteriormente, las especies reactivas de oxígeno alteran la estructura de las proteínas al reaccionar con diversos aminoácidos, dando origen a la formación de grupos carbonilo en las proteínas, diversos estudios han analizado el contenido de estos grupos funcionales en proteínas provenientes de individuos normales, córneas humanas (38) así como tejido cerebral humano (118) y han encontrado que la concentración de carbonilos aumenta en función de la edad. Moskovitz (2002) analizó las implicaciones de un modelo que relaciona la concentración de carbonilos, dependiente de la edad, con la susceptibilidad a padecer enfermedades neurodegenerativas y encontró evidencia que se correlaciona bastante bien con la participación de los radicales libres en el envejecimiento, así como en el desarrollo de diversos padecimientos.

Por otro lado, se han realizado innumerables estudios utilizando modelos animales en los que se ha verificado una y otra vez la estrecha relación que existe entre la acumulación de radicales libres y la senescencia (2, 3, 9, 49, 56,

#### ***Hechos que apoyan la teoría del envejecimiento por radicales libres***

1. La existencia de una relación inversa entre el tiempo promedio de vida de diversas especies de mamíferos y sus tasas metabólicas
2. El agrupamiento de enfermedades degenerativas en la parte terminal del ciclo de vida
3. La naturaleza exponencial de la curva de mortalidad
4. El incremento en la autoinmunidad que aumenta con la edad
5. El incremento en el período de vida estimulado por la restricción alimenticia
6. Los padecimientos juveniles asociados con degeneraciones análogas al envejecimiento están estrechamente relacionados con alteraciones en las defensas antioxidantes

64, 103, 119, 120, 140).

Diversos estudios realizados en *Drosophila melanogaster* han demostrado que la sub-expresión de aquellos genes que codifican para la expresión de una serie de antioxidantes está estrechamente asociada con un acortamiento en el ciclo de vida de la mosca, así como con una susceptibilidad excepcional a los agentes generadores de radicales libres (47, 89). Otros estudios han demostrado que los niveles de enzimas antioxidantes juegan un rol relevante en el envejecimiento retardado de este organismo (89).

En 1996, Martin *et al* (19) reportó la existencia de seis mutantes del gusano *Caenorhabditis elegans* con una longevidad entre 40 y 100 por ciento superior a la habitual. Todos los mutantes resultaron ser excepcionalmente resistentes a diversos factores de estrés ambiental como altas temperaturas (68) ROS (64, 135) y exposición a luz UV (83) sin embargo, se observó que los mutantes resistentes a la luz UV fueron los más longevos. Cabe mencionar que gran parte del deterioro causado por los rayos UV está mediada por ROS (57, 40) por lo que esta evidencia relaciona directamente a una resistencia a los efectos de los ROS con la longevidad.

Contrariamente a los estudios sobre longevidad en *C. elegans*, un grupo de investigadores japoneses ha publicado una extensa serie de artículos sobre un interesante proceso de senescencia acelerada en roedores causada por un agente retroviral (124). A la fecha, sus investigaciones han demostrado que estos organismos despliegan, aún mientras son jóvenes, una serie de características que normalmente sólo se observan como resultado de un proceso de envejecimiento. En consistencia con el postulado de Harman, se ha demostrado que estos roedores han sufrido alteraciones severas en algunos tejidos a causa del deterioro oxidativo como consecuencia de una alteración en los niveles de glutatión y de la superóxido dismutasa (126, 137).

La acumulación de evidencias hace innegable la existencia de una estrecha asociación entre el envejecimiento y los procesos relacionados con el estrés oxidativo, sin embargo, lo que parecen ser respuestas a una investigación, resulta ser sólo el principio del escrutinio de nuevos aspectos del problema.

## V. EFECTOS SISTÉMICOS DEL ESTRÉS OXIDATIVO.

Tras décadas de investigaciones para conocer cuáles son los efectos del estrés oxidativo sobre los sistemas biológicos, un gran número de autores ha sugerido que las ROS están involucradas en la etiología y/o progresión de diversas enfermedades.

### *V.I. Efectos del ozono sobre el sistema respiratorio*

Ya hemos mencionado que el ozono, así como muchos otros contaminantes atmosféricos, ingresa al organismo principalmente a través de rutas de inhalación. Además de los daños causados en mucosas, este gas comienza a ejercer sus primeros efectos sobre el sistema respiratorio.

A causa de la naturaleza del ozono, la mayor parte de los estudios relacionados con su toxicidad se han enfocado en la capacidad que tiene éste para afectar las funciones pulmonares así como las alteraciones en el tracto respiratorio de personas y animales expuestos a este gas (30).

Hoy en día, existe una amplia evidencia de que las exposiciones de corto plazo, a ozono, están asociadas a decrementos transitorios de las funciones pulmonares, así como con síntomas respiratorios exacerbados (51).

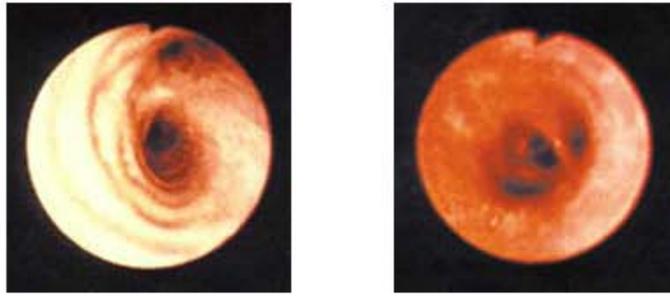
A pesar de ser las primeras estructuras que entran en contacto con el ozono una vez que éste ingresa al organismo, las regiones proximales del aparato respiratorio, se encuentran protegidas por el mucus nasal y laríngeo que las recubre (39). Así, algunas estimaciones indican que alrededor de un 50 por ciento del ozono que ingresa en el tracto respiratorio alcanza la región pulmonar (77). Asimismo, diversas investigaciones han demostrado que las células que recubren las uniones entre los bronquiolos y alvéolos pulmonares son particularmente susceptibles a sufrir alteraciones a causa de la acción oxidativa del ozono (77).

Exposiciones *in vitro* de células del sistema respiratorio a ozono, sugieren que las células epiteliales son los principales blancos de este gas. Dichas células responden produciendo diversos compuestos que pueden contribuir al daño e inflamación pulmonar: citocinas proinflamatorias, prostaglandinas, factor activador de plaquetas, fibronectina y factores de crecimiento hematopoyéticos, entre otros (25). Estos compuestos producidos por las células epiteliales, pueden iniciar una cascada de eventos que conducen a las células inflamatorias hacia el pulmón, dañando así otras células pulmonares. Mientras esto ocurre, la actividad de un gran número de enzimas del sistema respiratorio registra un incremento considerable. De esta manera, la actividad de enzimas como la succinato oxidasa y la succinato-citocromo C reductasa se incrementan de manera proporcional a la concentración de ozono dentro del sistema respiratorio (25, 45,6, 62).

Se ha observado que entre las principales alteraciones provocadas a la salud en sujetos expuestos a condiciones de ozono ambiental presentan una disminución en el desempeño de los atletas, tos, dolor retroesternal y resequedad de las vías olfativas, y mayor daño sobre quienes realizan ejercicio en éstas áreas, pacientes asmáticos, fumadores y personas de edad avanzada. Sin embargo, el primer síntoma que suele presentarse después de una exposición a ozono es una sensación de incomodidad en el pecho así como inhabilidad para tomar una profunda inspiración de aire (25).

A pesar de que la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA) establece que concentraciones mayores a 0.12 ppm de ozono podrían afectar a adultos sanos, la evidencia indica que concentraciones aún menores afectan a niños y adultos sensibles a ese gas (91, 77).

Un estudio realizado en la Ciudad de México (15) en niños de una zona cuya concentración de ozono promedio era de 0.12 ppm, reportó una disminución significativa de la capacidad vital forzada, luego de 6 meses de registros diarios. El mismo patrón se ha observado en niños de, cuando menos cuatro países (116). Por otra parte, recientemente Voter *et al.* (2001) evidenció que las vías aéreas de personas fumadoras expuestas experimentalmente a ozono presentan mayor daño por ROS que quienes no lo son (138).



**Figura 5.** Pulmón sano (izquierda) versus pulmón inflamado por contacto con contaminantes atmosféricos (derecha).

Un gran número de reportes describen daño celular a lo largo de las vías aéreas del tracto respiratorio como consecuencia de la inhalación de ozono (91, 1, 34, 7, 53). Biopsias de la mucosa nasal de individuos sanos no fumadores que viven en ciudades con elevados niveles de contaminación por este gas muestran evidencias de displasia caracterizada por un citoplasma distendido y morfológicamente irregular, además de un núcleo periférico hipercrómico y la presencia de células escamosas metaplásicas (91).

Estudios realizados por Pereira et al (2005), sugieren la posibilidad de que exista una relación entre la contaminación por ozono y la incidencia de neoplasias, aunque advierten que dichas evidencias no son concluyentes (93).

Asimismo, se ha observado que las ratas expuestas durante 4 horas a cantidades menores a 0.5 ppm de ozono, han manifestado incremento en las concentraciones de Cu/Zn y SOD en pulmón y cerebro, mientras que en los animales expuestos a 1.0 ppm, la concentración de estos antioxidantes, tiende a disminuir (106).

Recientemente Chen et al (2003) en un modelo de exposición a 0.5 ppm de ozono, 8 horas diarias durante 14 días en 11 episodios en monos infantiles, encontró que las neuronas del *nucleus tractus solitarius*, encargadas de coordinar el reflejo respiratorio motor, son capaces de adaptarse bioquímicamente —plasticidad— luego de verse sometidas a exposiciones repetidas a ozono, el sistema nervioso central responde causando una respiración rápida y agitada así como un descenso en la actividad pulmonar, lo que sugiere cambios en el sistema de señalización del sistema nervioso (16). Este hecho podría contribuir a explicar la adaptación de las respuestas motoras del sistema respiratorio al estrés por ozono inhalado.

## V.II. Efectos sobre el resto del organismo

Los efectos deletéreos de las especies reactivas de oxígeno sobre los sistemas celulares han sido identificados como un importante factor de daño durante los procesos de desarrollo de diversas enfermedades. Bajo tales circunstancias el superóxido y el peróxido de hidrógeno pueden actuar como

importantes mediadores de daño celular ya sea mediante la oxidación de membranas o bien por medio de la alteración de sistemas enzimáticos críticos (98, 97, 82). Esta sencilla pero elocuente relación, aunada a otros factores que ya se han mencionado a lo largo de este texto bien puede sentar una base que permita comprender el mecanismo mediante el cual los ROS se asocian con diversos daños en el organismo.

Algunos estudios han evidenciado que el daño provocado por la peroxidación de los epitelios del aparato respiratorio puede diseminarse hacia el torrente circulatorio al cruzar la barrera gaso-sanguínea (91). Por otro lado, se ha reportado una serie de cambios morfológicos y en la actividad enzimática de eritrocitos provenientes de ratones expuestos a 0.80 ppm de ozono durante cuatro horas (60). Otros estudios indican la formación de polímeros de metahemoglobina en aproximadamente el 50 por ciento de los eritrocitos de ratones que han sido expuestos a 0.85 ppm de ozono durante 4 horas (91). Asimismo, se ha reportado que la deficiencia de vitamina E incrementa la hemólisis en ratas expuestas a ozono (91).

Sin embargo, quizás uno de los hechos más relevantes en relación con los efectos de la exposición a ozono y el torrente sanguíneo, es el hecho de que éste último funge como el medio a través del cual es conducido el mensaje del ozono al resto del organismo mediante la formación de ROS.

Estudios previos sugieren que el ozono ejerce efectos sobre las funciones cardíacas y en general, sobre el sistema cardiovascular (99, 139, 69, 131 y 110).

Existen evidencias sobre la correlación entre concentraciones elevadas de ozono ambiental y el ingreso a hospitales por el desarrollo de afecciones cardiopulmonares (69). Ulrich *et al* (2002) explica que los sistemas reguladores de la presión sanguínea que dependen de la integridad pulmonar podrían estar involucrados en la progresión de padecimientos cardiovasculares (131) de manera que la causa de las alteraciones pulmonares sería el estrés oxidativo,.

Se ha demostrado a través de experimentos realizados con ratones, las primeras respuestas que se registran ante una elevación importante de contaminantes ambientales —semejantes a los que disparan los ingresos a hospitales por afecciones cardiovasculares— se caracterizan por decrementos importantes en los índices de la función cardíaca y termorregulatoria, aunado a bajas similares en las tasas metabólicas, ventilación, presión sanguínea y flujo cardíaco (139).

Como evidencias directas del daño ejercido por el estrés oxidativo, se ha reportado el desarrollo de daño celular en el corazón de ratones que han sido expuestos a 0.80 ppm de ozono (60). Estos organismos mostraron, asimismo, un decremento en la síntesis protéica del miocardio (60).

Ulrich *et al* (2002) analizó los niveles de expresión de varios genes involucrados en algunas afecciones pulmonares y cardiovasculares con el fin de elucidar su participación en el desarrollo de problemas cardiovasculares originados a partir de la exposición a contaminantes ambientales, incluido el ozono. Entre otros hallazgos, se demostró una elevación en los niveles de ARN mensajero de ratas expuestas a ozono, hecho que sugiere la existencia de un daño en el endotelio de los vasos sanguíneos del pulmón, en donde el aumento en la expresión de genes podría estar relacionado con el reemplazo de células y tejidos dañados (131). Los autores explican que dicho daño podría relacionarse con una excesiva concentración de ROS (131). Por otro lado, el mismo estudio reveló un incremento del 20% en los niveles de fibrinógeno en plasma, hecho que probablemente podría contribuir a un aumento en la viscosidad de la sangre, limitando el flujo sanguíneo hacia los tejidos. Estos y otros cambios podrían estar relacionados con las fallas cardíacas registradas en grupos poblacionales de alto riesgo, en episodios posteriores a un aumento en la contaminación ambiental (69, 131).

Morgan *et al* (1985) documentó una reducción en la elasticidad que caracteriza a los glóbulos rojos, y que les permite circular con mayor fluidez dentro de los capilares, para llevar a cabo el intercambio de gases en órganos, luego de una exposición a 1.0 ppm de ozono durante 4 h.

Una disminución importante en las defensas antioxidantes en el hígado ante exposiciones agudas y semicrónicas a ozono, ha sido documentada particularmente en los valores de las enzimas Cu/Zn y SOD (146).

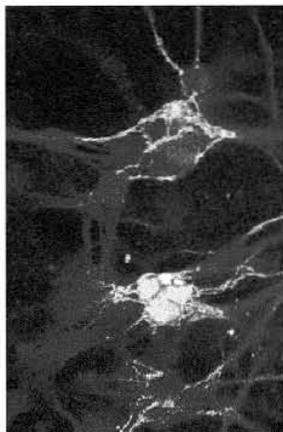
Luego de haber realizado diversas investigaciones sobre el metabolismo hepático en roedores, Graham *et al* (1981) concluyó que la administración de pentobarbital en condiciones elevadas de ozono ambiental, manifiesta alteraciones en éste órgano.

La evidencia acumulada hasta la fecha, parece indicar que, al estar constituidos como una serie de sistemas complejos que funcionan de manera organizada, los organismos superiores, incluidos los seres humanos, son altamente susceptibles a padecer los efectos del estrés oxidativo cuando se someten a condiciones ambientales altamente oxidantes, tales como la presencia de ozono, óxidos de nitrógeno u otros agentes oxidantes.

## VI. DAÑOS EN EL SNC

Se sabe que la alta concentración de lípidos que constituyen el SNC, así como su elevada tasa metabólica y su limitada concentración de catalasa, convierten al SNC en un sitio altamente susceptible a la oxidación (105, 117). Algunos estudios parecen indicar que los cambios que se registran en la barrera hemato-cefálica como consecuencia de una alteración vascular o debido a eventos inflamatorios, podrían tener una estrecha relación con la diseminación del estrés oxidativo hacia diversas estructuras del SNC .Cita

Asimismo, como ya se ha mencionado, el estrés oxidativo también se reconoce como un regulador de diversas funciones celulares críticas, tales como el programa de activación apoptótica, transporte de iones y movilización de calcio, así como excitotoxicidad (29), siendo esta última el resultado de una concentración excesiva de glutamato, que suele conducir a la muerte neuronal (33).



### Oxidación neuronal *in vivo*

La neurona más brillante muestra un incremento en la actividad de las ROS, que alcanzó su máximo tres horas después de de que las neuronas fueron privadas del factor de crecimiento neuronal. Esto sugiere que los radicales libres podrían tener participación en la muerte neuronal y, posiblemente, en algunos desórdenes neurodegenerativos. (Johnson, 1996)

**Figura 6.**

El daño oxidativo que presenta el SNC han sido determinado mediante el desarrollo de diversas técnicas consistentes en la Cuantificación de biomarcadores, específicamente peroxidación de lípidos, alteraciones en los niveles de antioxidantes tisulares, o bien, a través de la inhibición de sus efectos adversos por medio de agentes inhibidores y quelantes de ROS (41, 105, 65, 106). Recientemente, el análisis de las estructuras neuronales, así como la alteración de las funciones que dependen de éstas, es objeto de estudio (105, 65, 106, 4, 18).

#### *VI.I. Padecimientos neurodegenerativos*

Los desórdenes neurodegenerativos son un grupo heterogéneo de padecimientos del sistema nervioso central y se caracterizan por manifestar una serie de etiologías (117).

Neuropatológicamente, éstos padecimientos se caracterizan por anomalías en regiones relativamente específicas del cerebro, así como en poblaciones específicas de neuronas que forman estructuras cerebrales como hipocampo, amígdala, neocorteza, tallo encefálico, y estriado (117).

A la fecha, se cuenta con evidencias que asocian al estrés oxidativo con las enfermedades de Alzheimer, Parkinson, Huntington, y esclerosis lateral amiotrófica (116, 69, 117). Se ha observado, empero, que ciertas áreas del cerebro tales como el estriado, hipocampo y corteza frontal son selectivamente más vulnerables a padecer los efectos de los radicales libres (42, 134, 117, 54). (Ver Tabla 2).

La enfermedad de Alzheimer (EA) es el principal desorden demencial que afecta a los adultos mayores. Este padecimiento se caracteriza por la degeneración de neuronas, principalmente las piramidales del hipocampo, la corteza entorrinal y la neocorteza, así como de las neuronas colinérgicas de la parte media del cerebro anterior (116).

Una de las principales características del Alzheimer, es la presencia de placas extraneuronales tóxicas constituidas principalmente por el péptido  $\beta$ -amiloide ( $\beta$ -A). El estrés oxidativo manifestado mediante la oxidación y peroxidación de lípidos, entre otras alteraciones, es característico de la enfermedad de Alzheimer (136). La evidencia sugiere que dicho estrés oxidativo podría contribuir con la toxicidad del  $\beta$ -A. Incluso, algunas investigaciones parecen indicar que el  $\beta$ -A por sí solo, es capaz de generar radicales libres que potencialmente, podrían ejercer un daño neuronal (116).

Asimismo, estudios clínicos han demostrado que un gran número de eventos asociados con la enfermedad de Alzheimer son capaces de estimular la producción de radicales libres, así como una disminución en los niveles de antioxidantes (117). Sin embargo, hasta ahora, la evidencia que se tiene es insuficiente para poder discernir si el estrés oxidativo es causa o consecuencia de la neurodegeneración.

**Tabla 2. Rasgos característicos de algunos padecimientos neurodegenerativos. (Singh et al, 2004)**

Padecimiento	Rasgos clínicos	Neuropatología
Enfermedad de Alzheimer	Demencia, deterioro progresivo de la razón, el juicio, las habilidades del lenguaje, la percepción espacio-visual y el sentido del humor.	Atrofia cortical generalizada con un encogimiento en la amígdala y el hipocampo. Disfunción selectiva y muerte neuronal en neocórtex, hipocampo, amígdala, cerebro frontal basal, y tallo cerebral. Presencia de placa senil, depósito extracelular amiloide compuesto del péptido Ab derivado de una proteína precursora amiloide.
Esclerosis Lateral Amiotrófica	Debilidad progresiva y atrofia de los músculos esqueléticos. Debilidad en los músculos del pecho y el diafragma, así como disfunción muscular en laringe y faringe, que conducen a problemas respiratorios y muerte por bronconeumonía.	La fase terminal del padecimiento se caracteriza por la pérdida de las neuronas motoras primarias de la neocórtex. Las neuronas motoras presentan neurofilamentos anormales fosforilados.
Enfermedad de Huntington	Los pacientes desarrollan anomalías cognitivas (demencia) cambios en la personalidad, y una variedad de síntomas fisiológicos incluidas irritabilidad y depresión, hasta que, eventualmente pierden el habla.	Marcada atrofia del estriado (caudado y putamen) y atrofia cortical generalizada con descensos en el peso cerebral. Las neuronas muestran inclusiones intracelulares de fragmentos del gen mutante con repeticiones de tripletes expandidos.
Enfermedad de Parkinson	Lentitud en movimientos voluntarios (bradikinesia) rigidez y temblor, déficits cognitivos (demencia) como en el caso del parkinsonismo post encefálico.	Degeneración neuronal debido a la pérdida de neuronas dopaminérgicas de la <i>substantia nigra (pars compacta)</i> .

Viña et al (2004) menciona que los pacientes con enfermedad de Alzheimer presentan niveles elevados de peróxidos lipídicos —derivados del daño oxidativo que ejercen los ROS sobre las membranas celulares— en plasma, que podría traducirse en un estrés oxidativo en los sistemas celulares periféricos, producto de la cascada de daño oxidativo (137).

Varadarajan et al (2001) discute algunas evidencias que apoyan la noción de que un sólo residuo de metionina del péptido  $\beta$ -amiloide es suficiente para otorgar las propiedades neurotóxicas y oxidativas que caracterizan a dicho péptido. Incluso, apoyan la hipótesis de que péptidos  $\beta$ -amiloides solubles agregados, y no necesariamente las

fibrilas *per se* son necesarios para ejercer el daño oxidativo y la neurotoxicidad que se asocia con el  $\beta$ -A (136).

La enfermedad de Parkinson (EP) es el segundo padecimiento crónico degenerativo más común y afecta al 1 % de la población mayor de 65 años. Esta enfermedad se caracteriza por una pérdida progresiva de las neuronas dopaminérgicas que se localizan en la región compacta de la sustancia nigra, da lugar a una rigidez, lentitud en el movimiento, temblor incontrolable, alteración de la marcha (116).

A pesar de que estudios previos han identificado mutaciones en la  $\alpha$ -sinucleína en casos de EP familiar, se cree que la forma más común de éste padecimiento está asociada con el estrés oxidativo, así como con disfunciones en la actividad mitocondrial. Algunas investigaciones sugieren que las neuronas dopaminérgicas son particularmente susceptibles al estrés oxidativo, dada la gran cantidad de ROS que se generan normalmente durante el metabolismo de la dopamina así como a la limitada cantidad de antioxidantes que presentan (88). Asimismo, el metabolismo oxidativo de la dopamina está asociado con la formación de  $H_2O_2$  peróxido de hidrógeno y con la formación de la neurotoxina 6-hidroxidopamina (41).

Perry et al, (2002) menciona que las catecolaminas tales como la adrenalina, noradrenalina y dopamina, pueden autooxidarse y formar radicales libres, o bien pueden ser metabolizadas en radicales mediante enzimas endógenas tales como las monoamino oxidasas. En el SNC, una de esas regiones es la *substantia nigra*, donde se ha establecido una conexión entre la disminución de antioxidantes y la degeneración del tejido (94).

En el caso de la esclerosis lateral amiotrófica la degeneración se lleva a cabo de manera progresiva en las neuronas motoras de la corteza y médula espinal, así como en el tallo encefálico (116, 108). Numerosas evidencias han demostrado que las familias que padecen de la forma familiar de este padecimiento, presentan mutaciones en sistemas celulares antioxidantes, particularmente en la Cu/Zn SOD (108). Tal y como ocurre con otros desórdenes neurodegenerativos, la exacerbación del estrés oxidativo podría estar relacionado con el desarrollo de dicha condición.

## VI.II. Alteraciones estructurales en el SNC

Diversos autores han documentado la existencia de alteraciones estructurales en el SNC, cuyo origen parece estar estrechamente asociado a condiciones de estrés oxidativo.

Rivas Manzano y Paz (1999) encontraron una notable disminución en el tamaño del cerebelo de ratas neonatas que fueron expuestas a ozono durante la gestación (1.00 ppm 12h/día). Dichos organismos mostraron un alto índice de mortandad en las células de Purkinje. (107). Aparentemente, la reducción en el área cerebelar pudo deberse a un largo período apoptótico, inducido por la necrosis a corto plazo, precipitada por la alta

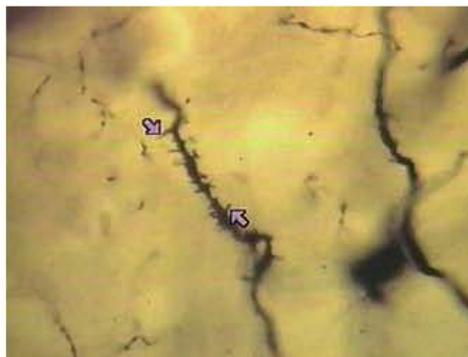
concentración de radicales libres que fue desencadenada a consecuencia de la exposición a ozono durante el período gestacional (107).

Otro tipo de alteraciones estructurales citológicas fueron registradas por Avila-Costa *et al* (1999) quien reportó una reducción significativa en la cantidad de espinas dendríticas en neuronas del núcleo estriado, así como en la corteza prefrontal del cerebro de ratas expuestas a 1 ppm de ozono durante 4 horas (4). Los organismos analizados en dicho estudio mostraron además alteraciones motoras.

Los autores sugieren que el deterioro del comportamiento motor pudo haberse dado como consecuencia de la disminución en la densidad de las espinas.

Por su parte Custodio-Ramirez y Paz (1997) registraron afecciones en los mecanismos de conducción y excitabilidad sináptica en la corteza visual así como en el cuerpo estriado de ratas expuestas a concentraciones de entre 0.75 y 3.00 ppm de ozono (22).

Una novedosa línea de investigación que pretende aportar elementos para la comprensión de los mecanismos de daño por los efectos tóxicos del ozono sobre el SNC apunta hacia el análisis de estructuras asociadas con la transmisión sináptica en diversos tipos neuronales. Entre estas estructuras se encuentran las espinas (4, 18) que son pequeños apéndices que se proyectan a partir de las ramificaciones dendríticas de algunos tipos neuronales, entre los que se encuentran las células granulares olfatorias, las neuronas piramidales del hipocampo y las espinosas medianas del estriado (55, 143).



**Imagen 7.** Espinas dendríticas.

Una gran parte de las conexiones sinápticas excitatorias tienen lugar en las espinas de las dendritas (114, 128, 109, 111, 142), que desempeñan un rol fundamental no sólo en la transmisión sináptica, sino también en algunos procesos que son dependientes de actividad neuronal. Entre estos sobresale la potenciación a largo plazo, proceso mediante el cual se consolida el aprendizaje a partir de la estimulación constante de las neuronas de la región CA1 del hipocampo, así como la depresión a largo plazo, que ocurre cuando a través de períodos prolongados las neuronas de la región CA1 del hipocampo solamente reciben débiles estímulos, lo que trae como consecuencia una reducción en sus niveles de sensibilidad (114, 128, 109, 111, 142, 81, 112).

Otras investigaciones indican que las espinas dendríticas tienen un papel relevante en la protección neuronal al funcionar como compartimientos para el almacenaje de  $\text{Ca}^{2+}$  durante eventos sinápticos excitatorios, además de otros eventos no necesariamente sinápticos, pero que también se caracterizan por la acumulación de calcio (111).

Se ha demostrado que las espinas dendríticas son sumamente sensibles a diversas condiciones patológicas e incluso que su desaparición puede ser predicha en los días posteriores a una lesión que haya destruido la terminal presináptica aferente (4, 18, 142, 111, 52).

Colin-Barenque *et al* (1999) registró alteraciones considerables en la morfología y ultraestructura de las células granulosas del bulbo olfatorio de ratas que fueron expuestas a 1 ppm de ozono durante 4 horas, mismas que mostraron una disminución en la densidad de las espinas dendríticas. Los especialistas saben que un síntoma característico de los pacientes con enfermedad de Alzheimer y Parkinson es la presencia de disfunciones olfativas (44, 95). Algunas alteraciones estructurales en el cerebro de estos pacientes pueden observarse en el bulbo olfatorio, núcleo olfatorio anterior y corteza prepiriforme, además de otras estructuras dentro y fuera del SNC (48, 86). Sin embargo, Nores *et al* (2000), sugiere que los profesionales de la salud deben estar alertas ante el hecho de que los desórdenes olfatorios son parte integral de ambos padecimientos (86).

Por otro lado, se sabe que el hipocampo juega un rol fundamental en el procesamiento y consolidación de la memoria. Asimismo, ya se ha mencionado que padecimientos relacionados con la oxidación de esta región del cerebro —entre otros, Alzheimer— se asocian plenamente con la pérdida de la memoria.

La región del cerebro conocida como hipocampo ha sido relacionada con algunas formas de memoria y aprendizaje. Por otra parte, se ha visto que la corteza entorrinal del hipocampo se ve afectada durante la enfermedad de Alzheimer. El hipocampo puede verse alterado también durante episodios de isquemia y anoxia, muy probablemente como consecuencia del estrés oxidativo entre otros mecanismos patofisiológicos (55 y 4).

Niño-Cabrera *et al* (2002) identificó alteraciones ultraestructurales producidas por estrés oxidativo inducido por la exposición aguda a ozono en el hipocampo así como en la corteza prefrontal de ratas viejas en comparación con ratas jóvenes luego de haber sido expuestas a 0.7 ppm de ozono durante 4 horas. Sus hallazgos parecen indicar que el estrés oxidativo exacerbó las alteraciones inducidas por el proceso de envejecimiento particularmente en aquellas áreas relacionadas con las funciones de memoria y aprendizaje (85).

## CONCLUSIONES

Los desórdenes neurodegenerativos continúan siendo una importante fuente de morbilidad y sufrimiento para la humanidad. El papel que tiene el daño oxidativo mediado por especies reactivas de oxígeno en padecimientos agudos del sistema nervioso incluidos el infarto y trauma cerebrales, así como los desórdenes neurodegenerativos crónicos apenas han comenzado a ser reconocidos recientemente.

A continuación, las conclusiones más relevantes que surgen a partir de este trabajo:

1. Actualmente se cuenta con un sólido cuerpo de evidencias que demuestran que el ozono ambiental es capaz de ejercer efectos tóxicos sobre la salud, como resultado de una cascada de productos de oxidación secundarios a la exposición a ozono, más que por la acción de la molécula en sí.
2. Los sistemas biológicos cuentan con complejos antioxidantes que son capaces de contrarrestar la acción oxidativa generada por radicales libres que se producen normalmente en el organismo como consecuencia del metabolismo celular, sin embargo, el balance que hace posible la eficacia de estos sistemas antioxidantes puede perderse fácilmente a causa de una excesiva concentración de agentes oxidantes.
3. Las especies reactivas de oxígeno (ROS) cumplen importantes roles dentro del metabolismo celular, actuando como mensajeros subcelulares en procesos como la mitosis, la expresión genética, la regulación de la proliferación celular, la senescencia replicativa y la apoptosis.
4. Es factible que la peroxidación de las células epiteliales del tracto respiratorio se disemine hacia el torrente circulatorio al cruzar la barrera gasosanguínea, convirtiendo al torrente circulatorio en el mensajero del ozono al resto del organismo.
5. La secuencia de eventos de oxidación desatados por la acción del ozono incluye la peroxidación de lípidos y pérdida de grupos funcionales enzimáticos, alteraciones en la permeabilidad de la membrana y daño o muerte celular.
6. Las reacciones de las ROS son irreversibles y se caracterizan por la presencia transitoria de intermediarios altamente reactivos. Estas reacciones pueden dar lugar a un estado de estrés oxidativo, es decir, un estado continuo de daño en sistemas vivos a causa de la actividad de ROS.
7. Los efectos de los ROS se han relacionado con la posible etiología de padecimientos como el cáncer, enfermedades neurodegenerativas y autoinmunes, *diabetes mellitus*, padecimientos congénitos, e incluso envejecimiento y muerte.
8. Diversos estudios han demostrado que la administración exógena, o bien, una dieta rica en antioxidantes, tiene como resultado una disminución en los

índices de estrés oxidativo, así como en sus efectos sobre la salud, incluida la posibilidad de tener senescencias más sanas.

9. A pesar de que las agencias de protección ambiental establecen que concentraciones mayores a 0.12 ppm de ozono podrían afectar a adultos sanos, las evidencias indican que concentraciones menores afectan a poblaciones susceptibles como niños, ancianos, y personas con padecimientos respiratorios.
10. Se ha observado que diversos tipos neuronales son capaces de adaptarse bioquímicamente al estrés por ozono, por medio de mecanismos de plasticidad neuronal.
11. Diversos estudios han registrado incrementos en los niveles de ARN mensajero en células endoteliales de ratas expuestas a ozono, lo que sugiere que la elevada expresión genética podría estar siendo estimulada para reemplazar a las células y tejidos dañados.
12. Se sabe que ciertas áreas del cerebro: estriado, hipocampo y corteza frontal, son selectivamente más vulnerables a padecer los efectos oxidativos de los radicales libres.
13. Se tienen evidencias que indican que formas comunes de las enfermedades de Alzheimer y Parkinson, están relacionadas con estrés oxidativo, mientras que la forma familiar de esclerosis lateral amiotrófica presenta mutaciones en sistemas celulares antioxidantes.
14. El daño oxidativo también genera alteraciones morfológicas, estructurales y ultraestructurales en el sistema nervioso central de humanos, monos y ratas, incluso en etapas previas al nacimiento.
15. La evidente correlación que existe entre el desarrollo de padecimientos severos y la exposición a ozono ambiental, requiere de abordajes regulatorios serios, sostenidos y urgentes.
16. Sin duda, la identificación de genes asociados con la regulación de antioxidantes y el control de muerte celular, la terapia celular y de reemplazo, la estimulación de procesos plásticos neuronales, e incluso, el trasplante de células troncales se perfilan como campos de investigación altamente promisorios para el establecimiento de futuros tratamientos.

Finalmente, a pesar del reconocimiento explícito e implícito de las autoridades regulatorias sobre los efectos que tiene sobre la salud el ozono, es imperante la necesidad de que científicos, profesionales de la salud, autoridades y sociedad civil establezcan lazos sólidos de colaboración que devengan en una prevención más real de los efectos sobre la salud de este gas, ya que, una vez que éstos inician, se complica tanto su diagnóstico, así como sus posibles tratamientos.

## LISTADO DE ABREVIATURAS

ADN	Ácido Desoxirribonucleico
ARN	Ácido Ribonucleico
CAT	Catalasa
Cu	Cobre
Cu/Zn SOD	Superóxido dismutasa dependiente de cobre y zinc
EA	Enfermedad de Alzheimer
ELA	Esclerosis Lateral Amiotrófica
EP	Enfermedad de Parkinson
EPA	Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos
GSH	Glutathión reductasa
HO <sub>2</sub>	Radical Hidroperoxi
LMWA	Antioxidantes de bajo peso molecular
NO	Óxido de Nitrógeno
O <sub>3</sub>	Ozono
OH	Radical Alcohol
ppm	Parte por millón
ROS	Especies Reactivas de Oxígeno
SIDA	Síndrome de Inmuno Deficiencia Adquirida
SNC	Sistema Nervioso Central
SOD	Superóxido dismutasa

## REFERENCIAS

1. Ahmad, S.; Ahmad, A.; McConville, G.; Scheider, B. K.; Allen, C. B.; Manzer, R.; Mason, R. J. and White, C. W. (2005) Lung epithelial cells release ATP during ozone exposure: Signaling for cell survival. *Free Radic Biol Med.* Jul 15;39(2):213-226
2. Ames, B.N., Shigenaga, M.K., Hagen, T.M. (1993) Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases in aging. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90, 7915-7922.
3. Augustyniak, A. and Skrzydlewska, E. (2004) Antioxidative abilities during aging. *Postepy Hig Med Dosw (Online)* Mar 30;58:194-201
4. Avila-Costa M. R., Colín-Barenque L., Fortoul T. I., Machado-Salas J. P., Espinosa-Villanueva J., Rugerio-Vargas C., Rivas-Arancibia S. (1999) Memory deterioration in an oxidative stress model and its correlation with cytological changes on rat hippocampus *CA1. Neurosci. Lett.* 270: 107-109.
5. Balis, J. U., Paterson, J. F., Lundh, J. M., Haller, E. M., Shelley, S. A., Montgomery, M. R. (1991) Ozone stress initiates acute perturbations of secreted surfactant membranes. *Am J Pathol* 138:847-857
6. Balis, J. U., Paterson, J. F., Lundh, J. M., Haller, E. M., Shelley, S. A., Montgomery, M. R. (1991) Ozone stress initiates acute perturbances of secreted surfactant membranes. *Am. J. Pathol.* 138:847
7. Basset, D.; Elboin-Copp, C.; Otterbein, S.; Barrclough-Mitchell, H.; Delorme, M. and Yang, H. (2001) Inflammatory cell availability affects ozone-induced damage. *J Toxicol Environ Health A.* Dec. 7;64(7):547-565
8. Baynes, J. W. and Thorpe, S. R. (1999) Role of oxidative stress in diabetic complications. *Diabetes.* 48: 1-9
9. Beckman, K.B., Ames, B.N. (1998) The free radical theory of aging matures. *Physiol Rev* 78, 547-581.
10. Bee, L., Haagsman, H. P., Golde, L. M. G., Rombout. P. J. A. (1998) Phosphatidilcholine synthesis in isolated type II pneumocytes from ozone-exposed rats. *Arch Toxicol* 61:224-228
11. Berry, E. and Kohen, R. (1999). Is the biological antioxidant system integrated and regulated? *Medical Hypothesis* 53:397-401
12. Buettner G. R. (1993) The Pecking Order of Free Radicals and Antioxidants: Lipid Peroxidation, -Tocopherol, and Ascorbate *Archives of Biochemistry and Biophysics* (300) 2:535-543
13. Calderon-Garcidueñas, L.; Azzarelli, B.; Acuna, H.; Garcia, R.; Gambling, T. M.; Oshaya, N.; Monroy, S.; DEL Tizapantzi, M. R.; Carson, J. L.; Villareal-Calderon, A. & Rewcastle, B. (2002) Air pollution and brain damage. *Toxicol Pathol* 30 (3):373-389
14. CAM (SEMARNAP, DDF, SMA, GEM) 1996, Programa para Mejorar la Calidad del Aire en el Valle de México 1995-2000.
15. Castillejos, M., Gold, D., Dockery, D., Tosteson, T., Baum, T., Speizer, F. (1992) Effects of ambient ozone on respiratory function and symptoms in Mexico City schoolchildren. *Am. Rev. Respir. Dis.* 145:276-282
16. Chen, C.Y., Bonham, A. C., Plopper, C. G. and Joad, J. P. (2003) *Plasticity in Respiratory Motor Control.* Selected Contribution: Neuroplasticity in nucleus

- tractus solitarius neurons after episodic ozone exposure in infant primates. *J Appl Physiol* 94: 819-827.
17. Coleridge JC, Coleridge HM, Schelegle ES, and Green JF. (1993) Acute inhalation of ozone stimulates bronchial C-fibers and rapidly adapting receptors in dogs. *J Appl Physiol* 74: 2345- 2352
  18. Colín-Barenque L., Avila-Costa M. R., Fortoul T., Rugerio-Vargas C., Machado-Salas J. P., Espinosa-Villanueva J., Rivas-Arancibia S. (1999) Morphologic alteration of the olfactory bulb after acute ozone exposure in rats. *Neurosci. Lett.* 274: 1-4
  19. Copp, R. P., Wisniewski, T., Hentatin, F. *et al.* (1999) Localisation of alphatocopherol transfer protein in the brains of patients with ataxia with vitamin E deficiency and other oxidative stress related neurodegenerative disorders. *Brain Res* 822(1-2): 80-7.
  20. Cottet-Emard, J. M., DalmaZ, Y., Pequignot, J., Peyrin, L. and Pequignot, J. M. (1997) Long-term exposure to ozone alters peripheral and central catecholamine activity in rats. *Europ. Jour. of Phys.* (433)6:744-749
  21. Cross, C. E., Resnick, A. Z., Packer, L., Davis, P. A., Susuki, Y. J., and Halliwell, B. (1992) Oxidative damage to human plasma proteins by ozone, *Free Radic. Res. Commun.* 15, 347-352
  22. Custodio-Ramirez V, Paz C. (1997) Ozone produces functional deficits in the rat visual pathway. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* (104) 3:269-73
  23. D'Amours, D., Sallmann, F. R., Dixit, V. M. and Poirier, G. G. (2001) Gain of function of poly(ADP-ribose) polymerase-1 upon cleavage by apoptotic proteases: implications for apoptosis. *J Cell Sci* 114: 3771-3778
  24. Denecker, G, Vercaemmen, D., Declercq, W. and Vandenberghe, P. (2001) Apoptotic and necrotic cell death induced by death domain receptors. *Cell Mol Life Sci* 58: 356-370
  25. Devlin, R. B., Raub, J. A. and Folinsbee, L. J. (1997) Health Effects of Ozone. *Scien. & Med.* May-June:8-17
  26. Diario Oficial de la Federación del 23 de Diciembre de 1994.
  27. Diario Oficial de la Federación del 30 de octubre de 2002.
  28. Dubick, M. A. Keen, C. L. (1983) Tissue trace elements and lung superoxide dismutase activity in mice exposed to ozone. *Toxicol Lett* 17:355
  29. Emerit, J.; Edeas, M. & Bricaire, F. (2004) Neurodegenerative diseases and oxidative stress. *Biomed Pharmacother* 58 (1):39-46
  30. Environmental Protection Agency (1997) Ozone Air Quality Criteria Exec. Summary. Air Quality Strategies & Standards Division USA ([www.epa.gov/ttn/oarpg/t1/reports/o3cdesum.pdf](http://www.epa.gov/ttn/oarpg/t1/reports/o3cdesum.pdf))
  31. Esposito, F.; Ammendola, R.; Faraonio, R. and Comino, F. (2004) Redox control of signal transduction, gene expression and cellular senescence. *Neurochem Res* Mar; 29(3):617-28
  32. Evans P. H. (1993) Free Radicals in brain metabolism and pathology. *British Medical Bulletin* (49) No. 3: 577-587.
  33. FaCheris, M.; Beretta, S. & Ferrarese, C. (2004) Peripheral markers of oxidative stress and excitotoxicity in neurodegenerative disorders: tools for diagnosis and therapy? *J Alzheimers Dis* 6(2):177-184

34. Fakhrazadeh, L. ; Laskin, J. D. and Laskin, D. L. (2002) Deficiency in inducible nitric oxide-synthase protects mice from ozone-induced lung inflammation and tissue injury. *Am J Respir Cell Mol Biol* Apr; 26(4):413-409
35. Feng R, He W, Ochi H. (2001) A new murine oxidative stress model associated with senescence *Mech Ageing Dev* 122(6):547-59
36. Fishelson. Z, Attali, G. and Mevorach, D. (2001) Complement and apoptosis. *Mol Immunol* 38: 207-219
37. Fortoul TI, Valverde M, Lopez Mdel C, Bizarro P, Lopez I, Sanchez I, Colin-Barenque L, Avila-Costa MR, Rojas E, Ostrosky-Shejet P. Single-cell gel electrophoresis assay of nasal epithelium and leukocytes from asthmatic and nonasthmatic subjects in Mexico City. *Arch Environ Health*. 2003 Jun;58(6):348-52.
38. Garland, D., Russell, P., and Ziegler, J. S. (Simic, M. G., Taylor, K. S., Ward, J. F., and von Sontag, V., Eds.) (1988) Oxygen Radicals in Biology and Medicine. 347–353, *Plenum, New York*
39. Gerrity, T. R., Weaver, R. A., Berntsen, J., House, D. E. and O'Neal, J. J. (1998) Extrathoracic and intrathoracic removal of O<sub>3</sub> in tidal-breathing humans. *J Appl Physiol* 65:393-400
40. Godar, D. E., Thomas, D. P., Miller, S. A., Lee, W. (1993) Long-wavelength UVA radiation induces oxidative stress cytoskeletal damage and hemolysis. *Photochem Photobiol*. 57(6):1018-1026
41. Hall E. D. (1994) Free radicals in central nervous system injury. Free Radical Damage and it's Control. C. A. Rice-Evans and R. H. Burdon (Eds.) 217-238.
42. Halliwell, B. (1989) Oxidants and the central nervous system: some fundamental questions. Is oxidant damage relevant to Parkinson's disease, Alzheimer's disease, traumatic injury or stroke? *Acta Neurol Scand Suppl* 126:23-33
43. Harman, D. (1987) The Free-Radical Theory of Aging. en Modern Biological Theories of Aging, warner et al. *Raven Press, N. Y.*
44. Hawkes, C.H.; Shephard, B. C. and Daniel, S. E. (1997) Olfactory dysfunction in Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1997 May;62(5):436-46.
45. Hazbun M. E., Hamilton R., Holian A., Eschenbacher W. L. (1993) Ozone-Induced Increases in Substance P and 8-Epi-Prostaglandin F<sub>2</sub> in the Airways of Human Subjects. *Am. J. Respir. Cell Mol Biol* 9: 568-572.
46. Hernández-Ávila M. (1997) Editorial. *Salud Pública de México*. 39, Sept. Oct. No. 5.
47. Hilliker, A. J., (1992) Urate-null rosy mutants of *Drosophila melanogaster* are hypersensitive to oxygen stress. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (89)10: 4343-4347
48. Hoogland, P. V.; van den Berg, R and Huisman, E. (2003) Misrouted olfactory fibers and ectopic olfactory glomeruli in normal humans and in Parkinson and Alzheimer patients. *Neuropathol Appl Neurobiol*. Jun; 29(3):303-311
49. Huang, H. and Manton, K. G. (2004) The role of oxidative damage in mitochondria during aging: a review. *Front Biosci* May 1;9:1100-1117
50. Huitrón-Reséndiz S., Custodio-Ramírez V., Escalante-Membrillo C., González Piña R., Paz C. (1994) Sleep alterations and barin regional changes of serotonin and it's metabolite in rats exposed to ozone. *Neurosci. Lett*. 177: 119-122.
51. Ito, K.; de Leon, S. F. and Lippman, M. (2005) Associations between ozone and daily mortality; analysis and meta-analysis. *Epidemiology*. Jul 16(4):446-457

52. Jiang, M., Chong, L. L., Smith, K. L. and Swann, J. W. (1998) Spine Loss and Other Persistent Alterations of Hippocampal Pyramidal Cell Dendrites in a Model of Early-Onset Epilepsy. *The Journal of Neuroscience*. (18)20:8356-8368
53. Joad, J. P.; Bric, J. M.; Weir, A. J.; Putney, L.; Hyde, D. M.; Postlethwait, E. M. and Plopper, C. G. (2000) Effect of respiratory pattern on ozone injury to the airways of isolated rat lungs. *Toxicol Appl Pharmacol*. Nov 15; 169(1):26-32
54. Johnson, M. E. (1996) Oxidative stress and brain disorders. *Brain Briefings*. Society for neuroscience, July, 1996. (<http://web.sfn.org/Splash.cfm>)
55. Johnston, D. and Amaral, D.G. Hippocampus. (1997) In: *Synaptic Organization of the Brain*. Shepherd, G.M. (ed.) Oxford University Press: New York
56. Junqueira, B. C. V.; Barros, B. M. S.; Chan, S. S.; Rodrigues, L.; Giavarotti, L.; Abud, L. R. and Deucher, G. P. (2004) Aging and oxidative stress. *Mol Asp Med*, 25 5-16
57. Jurkiewicz, B. A., Buettner, G.R. (1994) Ultraviolet light-induced free radical formation in skin: An electron paramagnetic resonance study. As a Rapid Communication in *Photochem Photobiol*. 59: 1-4
58. Kamsler, A.; Segal, M. (2004) Hydrogen peroxide as a diffusible signal molecule in synaptic plasticity. *Mol. Neurobiol*. Apr; 29 (2):167-178
59. Kanduc, D., Mittelman, L., Serpico, R., Sinigaglia, E. Sinha, A. A., Natale, C., Santacrose, R., Di Corcia, M. D., Lúchese, A., Dini, L., Pani, P. Santacrose, S. Simone S., Bucci, R. and Farber, E. (2002) Cell Death: Apoptosis Versus Necrosis (Review) *International Journal Of Oncology* 21: 165-170
60. Kelly, F. J., Birch, S. (1993) Ozone exposure inhibits cardiac protein synthesis in the mouse. *Free Rad. Biol. Med*. 14:443-446
61. Kelly, K. J., Plotkin, Z. and Dagher, P. C (2002) Guanosine supplementation reduces apoptosis and protects renal function in the setting of ischemic injury. *J Clin Invest* 108: 1291-1298
62. Kleeberger, S. R., Levitt, R. C., Zhang, L-Y. (1993) Susceptibility to ozone-induced inflammation. II Separate loci control responses to acute and subacute exposures. *Am. J. Physiol*. 264:L21
63. Lachance, P. A. (1996) Future Vitamin And Antioxidant Rdas For Health Promotion. *Preventive Medicine* 25, 46-47 (1996) Article No. 0016
64. Larsen, P. L. (1993) Aging and resistance to oxidative damage in *Caenorhabditis elegans*. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 90 8905-8909
65. Lechuga Guerrero A., Dorado-Martínez C., Rodríguez A., Pedroza-Ríos K., Bergonia-Perez G., Rivas-Arancibia S. (1999) Effects of vitamine E on ozone-induced memory deficits and lipid peroxidation in rats. *Neuro Report* 10: 1689-1692.
66. Lennon, S.V., Martin, S.J., Cotter, T.G. (1991) Dose-dependent induction of apoptosis in human tumor cell lines by widely diverging stimuli. *Cell Prolif* 24:203-214
67. Lezama de la Torre José Luis, 2000, Aire dividido: crítica a la política del aire en el Valle de México, 1979-1996, México, El Colegio de México.
68. Lightgow, G. J., White, T. M., Melov, S. & Johnson, T. E. (1995) Thermotolerance and extended life-span conferred by single-gene mutations and induced by thermal stress. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 92, 7540-7544
69. Mahadik, S. P. and Mukherjee, S. (1999) Free radical pathology and antioxidant defense in schizophrenia: A review. *Schizophrenia Research* (19) 1:1-17

70. Maimone, D.; Dominici, R. and Grimaldi, L. M. (2001) Pharmacogenomics of neurodegenerative diseases. *Eur J Pharmacol.* 9;413(1):11-29
71. Mann, J. K., Tager, I. B., Lurmann, F., Segal, M., Quesenberry, C.P. Jr., Lugg, M. M., Shan, J., Van Den Eeden, S. K. (2002) Air pollution and hospital admissions for ischemic heart disease in persons with congestive heart failure or arrhythmia. *Environ Health Perspect.* 110 (12):1247-52
72. Martin SJ, Green DR, Cotter TG. Dicing with death: Dissecting the components of the apoptosis machinery. *Trends Biochem Sci* 19(1):26–30, 1994.
73. Martin, G. M., Austad, S. N. & Johnson, T. E. (1996) Genetic analysis of ageing: role of oxidative damage and environmental stresses. *Nature Genetics*, May 13: 25-34
74. Mathisen, P. M. (2003) Gene discovery and validation for neurodegenerative diseases. *Drug Discov Today* 1;8(1):39-46
75. Mecocci, P., Polidori, M.C., Troiano, L., Cherubini, A., Cecchetti, R., Pini, G., Straatman, M., Monti, D., Stahl, W., Sies, H., Franceschi, C., Senin, U. (2000) Plasma antioxidants and longevity: a study on healthy centenarians. *Free Radic. Biol. Med.* 28, 1243–1248.
76. Menzel, D. B. (1993) The toxicity of air pollution in experimental animals and humans: the role of oxidative stress. *Toxicol. Lett.* 72: 269-267
77. Menzel, D. B. And Meacher, D. M. (1999) Ozone and Nitrogen Dioxide. (In *Reactive Oxygen Species in Biological Systems*. Gilbert & Corton Eds. Kluwer Academic / Plenum Publishers, New York) 335-361
78. Mezzetti, A., Lafenna, D., Romano, F., Costantini, F., Pierdomenico, S.D., Cesare, D.D., Cuccurullo, F., Rjario-Sforza, G., Zulliani, G., Fellini, R., 1996. Systemic oxidative stress and its relationship with age and illness. *J. Am. Geriatr. Soc.* 44, 823–827
79. Miller, F. J. (1995). Uptake and fate of ozone in the respiratory tract. *Toxicol. Lett.* 82-83, 277-285
80. Molina, T. L. & Molina, J. M. (2002) Air quality in the Mexico Megacity. Kluwer Academic Publishers
81. Moser, M.-B., Trommald, M. and Andersen, P. (1994) An increase in dendritic spine density on hippocampal CA1 pyramidal cells following spatial learning in adult rats suggests the formation of new synapses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 91:12673-12675
82. Moskovitz, J.; Bin-Yim, B.; and P. Boon-Chock, P. (2002) Free Radicals and Disease *Archives of Biochemistry and Biophysics* (397) 2:354–359, 2002
83. Murakami, S. & Johnson, T. E. (1996) A genetic pathway conferring life extension and resistance to UV stress in *Caenorhabditis elegans*. *Genetics* 143: 1207-1218
84. Mustafa MG (1990) Biochemical basis of ozone toxicity. *Free Radic Biol Med* 19(3):245-65
85. Nino-Cabrera HG, Colin-Barenque L, Avila-Costa MR, Espinosa-Villanueva J, Fortoul TI, Rivas-Arancibia S. (2002) Differences between hippocampus and cerebral cortex in aged rats in an oxidative stress model. *Int. J. Neurosci.* 112(4):373-81
86. Nores, J. M.; Biacabe, B. and Bonfils, P. (2000) Olfactory disorders in Alzheimer's disease and in Parkinson's disease. Review of the literature. (Article in French) *Ann Med Interne (Paris)* Mar;151(2):97-106
87. Oehme, F. W., Coppock, R. W, Mostrom, M. S. And Khan, A. A. (1996) A review of the Toxicology of air Pollutants: Toxicology of Chemical Mixtures. *Vet. Human Toxicol.* (38) 5: 371-377

88. Olanow, C., Arendash, G. (1994) Metals and free radicals in neurodegeneration. *Curr Opin Neurol* 7:548-558
89. Orr, W.C. & Sohal, R.S. (1994) Extension of life span by overexpression of superoxide dismutase and catalase in *Drosophila melanogaster*. *Science* 263, 1128-1130.
90. Paolisso, G., Tagliamonte, M.R., Rizzo, M.R., Manzella, D., Gambardella, A., Varricchio, M. (1998) Oxidative stress and advancing age: results in healthy centenarians. *J. Am. Geriatr. Soc.* 46, 833-838.
91. PaZ, T. C. (1997) Some consequences of ozone exposure on health. *Arch. Of Med. Res.* (28)2:163-170
92. Percival, Mark. (1996) Antioxidants *Clinical Nutrition Insights* Advanced Nutrition Publications, Inc. 1-4
93. Pereira, F. A.; de Assuncao, J. V.; Saldiva, P. H.; Pereira, L. A.; Mirra, A. P. and Braga, A. L. (2005) Influence of air pollution on the incidence of respiratory tract neoplasm. *J Air Waste Manag Assoc* Jan ;55(1):83-87
94. Perry, G.; Sayre, L. M. and Atwood, C. S. (2002) The role of iron and copper in the aetiology of neurodegenerative disorders: therapeutic implications. *CNS Drugs* 16 (5): 339-52.
95. Peters, J. M.; Hummel, T.; Kratzsch, T.; Lotsch, J.; Skarke, C. and Frolich L. (2003) Olfactory function in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: an investigation using psychophysical and electrophysiological techniques. *Am J Psychiatry*. 160(11):1995-2002
96. Popper H (1998) Hepatocellular degeneration and death. In: The Liver. Biology and Pathobiology. Raven Press Arias IM, Jakoby WB, Popper H, Schachter D and Shafritz DA (eds). Raven Press, New York, pp 1087-1103
97. Pryor, W. A. (1993) Ozone in all it's reactive splendor. *J Lab Clin Med* 122:483-486
98. Pryor, W. A., Squadrito, G. L. And Friedman, M. (1995) The cascade mechanisms to explain ozone toxicity: the role of lipid ozonation products. *Free Rad. Biol. & Med.* (19) 6:935-941
99. Rahman I., Massaro G. D., Massaro D. (1992) Exposure of rats to ozone: evidence of damage to heart and brain. *Free Radical Biol & Med* 12: 323-326.
100. Rahman, I-U, Clerch, L. B., Massaro, D. (1991) Rat lung antioxidant enzyme induction by ozone. *Am J Physiol* 260:412
101. Rahman, I-U, Massaro, D. (1992) Endotoxin treatment protects rats against ozone-induced lung edema with evidence of the role of manganese superoxide dismutase. *Toxicol Appl Pharmacol* 113:13
102. Ralf, M. C., Barres, B. A., Burne, J. S., Ishisaki, Y., Jacobson, M. D. (1993) Programmed cell death and the control of cell survival: lessons from the nervous system. *Science* 262:295-700
103. Rao, G., Xia, E. and Arlan, R. (1990) Effect of dietary restriction and aging on the expression of antioxidant enzymes. In *Molecular Biology of aging*. Alan R. Liss, Inc 391-404
104. Rice -Evans C. A. (1994) Formation of free radicals and mechanism of action in normal biochemical processes and pathological states. C. A. Rice-Evans and R. H. Burdon (Eds.) 131-151
105. Rivas-Arancibia S., Dorado-Martínez C., Borgonio-Pérez G., Hiriart-Urdanivia M., Verdugo-Díaz I., Duran-Vázquez A., Colín-Baranque L., Avila-Costa M. R. (1998)

- Effects of Taurine on Ozone-Induced Memory Deficits and Lipid Peroxidation Levels in Brains of Young, Mature, and Old Rats. *Envir. Res. Sect. A* 82: 7-17.
106. Rivas-Arancibia S., Vázquez-Sandoval R., González-Kladiano D., Schneider-Rivas S., Lechuga-Guerrero A. (1998) Effects of Ozone Exposure in Rats on Memory and Levels of Brain and Pulmonary Superoxide Dismutase. *Envir. Res. A* 76: 33-39
  107. Rivas-Manzano, P., Paz, C. (1999) Cerebellar morphological alterations in rats induced by prenatal ozone exposure. *Neurosci. Lett.* (276) 1:37-40.
  108. Rosen, D. R., Siddique, T., Patterson, D., Figlewics, D. A., Sapp, P., Henatati, A., Donaldson, D., Goto, J. O., Regan, J. P., Deng, H. X., Rahmani, Z., Krizus, A., McKenna-Yasek, D., Cayabyab, A., Gaston, S., Berger, M., Tanzi, R. E., Halperin, J. J., Herzfeldt, B., Van den Bergh, R., Hung, W. Y., Bird, T., Deng, G., Mulder, D. W., Symth, C., Laing, N. G., Soriano, E., Pericak-Vance, M. A., Haines, J., Rouleau, G. A., Gusella, J. S., Horvitz, Brown, R. H. Jr. (1993) Mutations in Cu/Zn superoxide dismutase gene are associated with familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nature* 362:59-62
  109. Sabatini, B.L., M. Maravall, and K. Svoboda. (2002) Ca<sup>2+</sup> signaling in dendritic spines. *Current Opinion in Neurobiology* 11: 349-356
  110. Saez, M., Ballester, F., Barcelo, M. A., Perez-Hoyos, S., Bellido, J., Tenias, J. M., Ocana, R., Figueiras, A., Arribas, F., Aragones, N., Tobias, A., Cirera, L., Canada, A. (2002) A combined analysis of the short-term effects of photochemical air pollutants on mortality within the EMECAM project. *Environ Health Perspect* 110(3):221-8
  111. Segal, M. (1995) Dendritic spines for Neuroprotection. *Trends in Neurosciences* (18) 11:468
  112. Segev, I. And Rall, W. (1998) Excitable dendrites and spines: earlier theoretical insights elucidate recent direct observations. *TINS* (21) 11:453
  113. Sharma, M. K., Buettner, G. R., Spencer, K., Kerber, R. E. (1994) Ascorbyl free radical as a real-time marker of free radical generation during myocardial reperfusion: An electron paramagnetic resonance study. *Circulation Res.* 74: 650-658.
  114. Shepherd, G. M. (1996) The Dendritic Spine: A Multifunctional Integrative Unit. *J Neurophysiol* (75) 6
  115. Simoni, D.; Giannini, G.; Roberti, M.; Rondanin, R.; Baruchello, R.; Rossi, M.; Grisolia, G.; Invidiata, F. P. Aiello, S.; Marino, S.; Cavallini, S.; Siniscalchi, A.; Gebbia, N.; Crosta, L.; Grimaldo, S.; Abadesa, V.; Di Cristina, A. and Tolomeo, M. (2005) Studies on the apoptotic activity of natural and synthetic retinoids: Discovery of a new class of synthetic terphenyls that potently support cell growth and inhibit apoptosis in neuronal and HL-60 cells. *J Med Chem* 30;48(13):4293-4299
  116. Simonian, N. A. and J. T. Coyle. (1996) Oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 36:83-106.
  117. Singh, P. R.; Sharad, S. & Kapur, S. (2004) Free Radicals and Oxidative Stress in Neurodegenerative Diseases: Relevance of Dietary Antioxidants *Jour, Ind Acad of Clin Med* 5(3): 218-225
  118. Smith, C. D., Carney, J. M., Starke-Reed, P. E., Oliver, C. N., Stadtman, E. R., and Floyd, R. A. (1991) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:10540-10543.
  119. Sohal, R. S. And Weindruch, R. (1996) Oxidative Stress, Caloric Restriction, and Aging. *Science* Vol. 273:59-63

120. Stadtman, E. R. and Berlett, B. S. (1991) Protein Oxidation in Aging, Disease, and Oxidative Stress. *Chem. Res. Toxicol.* 10:485-494
121. Steller, H. (1995) Mechanisms of genes and cellular suicide. *Science* 267:1445-1449
122. Stoian, I., Oros, A. and Moldoveanu, E. (1996) Apoptosis And Free Radicals. *Bioch and Mol Med* 59, 93-97
123. Strittmatter, W.J., and Roses, A.D. (1995) Apolipoprotein E and Alzheimer disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 92: 4725-4727
124. Takeda, T. (1994) SAM Model of Senescence: Proceedings of the First International Conference on Senescence, the SAM Model, Kyoto, 17-18 March, 1994 *Elsevier Science*
125. Tatard, V. M.,; Menei, P.; Benoit, J. P., Montero-Menei, C. N. (2005) Combyning polymeric devices. *Curr Drug Targ*, 6(1):81-96
126. Teramoto S, Fukuchi Y, Uejima Y, Teramoto K, Oka T, Orimo H. (1994) A novel model of senile lung: senescence-accelerated mouse (SAM). *Am J Respir Crit Care Med.* 150:234-44
127. Teramoto, S., Fukuchi, Y., Uejima, Y., Ito, H., Orimo, H. (1992) Age related changes in GSH content of eyes in mice – a comparison of senescence-accelerated mouse (SAM) and C57BL/6 mice. *Comp. Biochem. Physiol.* 102, 693-696
128. Trachtenberg, J. T., Chen, B. E., Knott, G. W., Feng, G., Sanes, J. R., Welker, E., and Svoboda, K. (2002) Long-term in vivo imaging of experience-dependent synaptic plasticity in adult cortex. *Nature* 420, 788-94
129. Tsuchihashi, H., Kigoshi, M., Iwatsuki, M. and Niki, E. (1995) Action Of B-Carotene as an Antioxidant Against Lipid Peroxidation *Archives of Biochemistry and Biophysics.* (323) 1:137-147
130. Uezono T, Maruyama W, Matsubara K, Naoi M, Shimizu K, Saito O, Ogawa K, Mizukami H, Hayase N and Shiono H (2001) Norharman, an indoleamine-derived beta-carboline, but not Trp- P-2, a gamma-carboline, induces apoptotic cell death in human neuroblastoma SH-SY5Y cells. *J Neural Transm* 108: 943-953
131. Ulrich, M. M., Alink, G.M., Kumarathasan, P., Vincent, R., Boere, A. J., Cassee, F. R. (2002) Health effects and time course of particulate matter on the cardiopulmonary system in rats with lung inflammation. *J Toxicol Environ Health* 65(20):1571-95
132. Uppu, R. M., Cueto, R., Squadrito, G. L., Pryor, W. A. (1995) What does ozone react with the air-lung interface? Model studies using human red blood cell membranes. *Arch Biochem Biophys* 319:257-266
133. Uppu, R. M., Pryor, W. A. (1994) The reactions with proteins and unsaturated fatty acids in reverse micelles. *Chem Res Toxicol* 7:47-55
134. Urano, S., Asai, Y., Makabe, S., Matsuo M., Izumiyama N., Otsubo K., and Endo T.: Oxidative injury of synapse and alteration of antioxidative defense systems in rats, and its prevention by vitamin E. *Eur. J. Biochem.*, 245, 64-70 (1997)
135. Vanfleteren, J. R. (1993) Oxidative stress and ageing in *Caenorhabditis elegans*. *Biochem J.* 292:605-608
136. Varadarajan S, Kanski J, Aksenova M, Lauderback C, Butterfield DA. (2001) Different mechanisms of oxidative stress and neurotoxicity for Alzheimer's A beta(1-42) and A beta(25-35). *J. Am. Chem. Soc.* 20:123(24):5625-31

137. Viña, J; Lloret, A.; Ortí, R. & Alonso, D. (2004) Molecular bases of the treatment of Alzheimer's disease with antioxidants: prevention of oxidative stress. *Mol Aspects Med* 25 117-123
138. Voter, K. Z., Whitin, J. C., Torres, A., Morrow, E. P., Cox, C., Tsai, Y., Utell, M. J., Frampton, M. W. (2001) Ozone Exposure and the Production of Reactive Oxygen Species by Bronchoalveolar Cells in Humans. *Inhalation Toxicology* (13)6:465 - 483
139. Watkinson, W. P., Campen, M. J., Nolan, J. P., Costa, D.L. (2001) Cardiovascular and systemic responses to inhaled pollutants in rodents: effects of ozone and particulate matter. *Environ Health Perspect* (109) 4:539-46
140. Wick, G., Jansen-Dürr, P., Berger, P., Blasko, I., Grubeck-Loebenstien, B.(2000) Disease of aging. *Vaccine* 18, 1567-1583
141. Yu, Z. F., Bruce-Keller, A. J., Goodman, Y. and Mattson, MP. (1998)Uric acid protects neurons against excitotoxic and metabolic insults in cell culture, and against focal ischaemic brain injury *in vivo*. *J Neurosci Res* 53 (5): 613-25.
142. Yuste, R. and Denk, W. (1995). Dendritic spines as basic functional units of neuronal integration. *Nature* 375: 682-684
143. Z.F. Mainen, T.J. Sejnowski. (1996) Influence of dendritic structure on "ring pattern" in model neocortical neurons, *Nature* 382 363:366
144. Zaken, V., Kohen, R. and Ornoy, A. (2000) The Development Of Antioxidant Defense Mechanism In Young Rat Embryos In Vivo And *in vitro*. *Early Preg: Biol. And Med.* 110-123
145. Zhang, Y., Dawson, V. L., Dawson, T. M. (2000) Oxidative stress and genetics in the pathogenesis of Parkinson's disease. *Neurobiol. Dis.* 7(4):240-50
146. Zidenberg-Cherr, S., Han B., Dubick, M. A., Keen, C. L. (1991) Influence of dietary-induced cooper and manganese deficiency on ozone-induced changes in lung and liver antioxidant systems. *Toxicol. Lett.* 57:81-90