

ENVEJECIMIENTO TISULAR Y RADICALES LIBRES: UNA REVISIÓN

TISSUE AGEING AND FREE RADICALS: A REVIEW

Jairo Márquez P*¹, Olga P. Márquez¹, Elkis Weinhold¹, Keyla Márquez²

Universidad de Los Andes, ¹Facultad de Ciencias, Departamento de Química, Laboratorio de Electroquímica, ²Facultad de Ingeniería, Núcleo Universitario Alberto Adriani . Mérida-Venezuela
Jokkmarquez82@gmail.com

Recibido: 28-07-20

Aceptado: 20-09-20

Resumen

Es numerosa y variada la literatura que asocia y confirma la pérdida de funcionalidad de moléculas presentes en el organismo humano y, en consecuencia, la pérdida de la homeostasis, como producto de un desbalance favorable a la producción orgánica de radicales libres. En síntesis, se ejemplifica con lipoperoxidación, oxidación de proteínas, carbohidratos, daños al ADN, cromosomas, etc. y por ende, afecciones a genes, células, órganos, tejidos y sistemas orgánicos. El daño tisular es serio, notorio y preocupante y presenta un gran interés. El envejecimiento tisular es irreversible e inevitable, y se debe plantear cómo asumirlo con naturalidad, en forma sana, equilibrada, agradable y feliz. Ello se intenta definir en este artículo, a la vez que se ejemplifican daños inducidos por radicales libres y cuál debe ser nuestra actitud y comportamiento al respecto.

Palabras clave: Daño tisular, Estrés oxidativo, radicales libres, lesiones en la piel

Abstract

The literature is rich and comprehensive and associates confirming the loss of functionality of molecules present in the human organism and, consequently, the loss of homeostasis, as a result of an imbalance favorable to the organic production of free radicals. In synthesis, it is exemplified with lipoperoxidation, oxidation of proteins, carbohydrates, damage to DNA, chromosomes, etc. and therefore, affections to genes, cells, organs, tissues and organic systems. Tissue damage is serious, notorious, and worrisome as well as of great concern. Tissue aging is irreversible and inevitable, and people must consider how to assume it naturally, in a healthy, balanced, pleasant and happy way. This is an attempt to define in this article, while exemplifying damage induced by free radicals and what our attitude and behavior should be in this regard.

Key words: Tissue damage, oxidative stress, free radicals, skin lesions

Jairo Márquez P: Ph.D. en Electroquímica (Univ. de Southampton, U.K.), licenciado en Química (UCV-ULA), miembro del personal docente y de investigación de la Facultad de Ciencias-ULA. Merida-Venezuela. **Email:** jokkmarquez@gmail.com. **Olga P. Márquez:** Ph.D. en Electroquímica (Univ. de Southampton, U.K.), licenciada en Química (UCV-ULA), miembro del personal docente y de investigación de la Facultad de Ciencias-ULA. Merida-Venezuela. **Email:** olgamq@gmail.com. **Elkis Weinhold:** Dra en Química Aplicada, opción Electroquímica (ULA), Licenciada en Química (ULA) , miembro del personal docente y de investigación de la Facultad de Ciencias-ULA Merida-Venezuela. **Email:** elkisweinhold@gmail.com. **Keyla Márquez:** Msc. en Electroquímica Fundamental y Aplicada (ULA), Ing. Industrial (IUP Santiago Mariño), miembro del personal docente y de investigación de la Universidad de Los Andes Núcleo Universitario Alberto Adriani. El Vigía estado Mérida, Venezuela **Email:**keylaenator@gmail.com

Introducción

El envejecimiento es un fenómeno natural, complejo, caracterizado por la pérdida progresiva de la capacidad para mantener las funciones vitales; es universal en seres vivos, degenerativo e irreversible [1].

Consideramos que el proceso es, y puede ser, acelerado debido a una acumulación progresiva de daños aleatorios en células y tejidos. El ritmo de envejecimiento varía entre especies e individuos de una misma especie; también en un mismo individuo, diferentes órganos y tipos celulares de un mismo tejido, pueden envejecer a ritmo diferente.

El envejecimiento es una consecuencia de la acumulación de cambios moleculares que ocurren en el organismo y que estarían causados con, por ejemplo, radicales libres al deteriorar estructural y funcionalmente las diferentes biomoléculas [2]. Estos radicales procederían de fuentes endógenas (subproductos del metabolismo celular) o exógena (químicos y fármacos, radiaciones, contaminantes, etc.).

En situación de estrés oxidativo, los oxidantes no neutralizados reaccionan con biomoléculas tales como, proteínas, lípidos, ADN, etc., dañándolas. Esta acumulación de lesiones celulares traería como consecuencia el deterioro de funciones celulares y tisulares con manifestaciones fenotípicas en forma de procesos degenerativos, disfunciones asociadas al envejecimiento, que provocarían una alteración irreversible [3]. Con el paso de los años, observamos cómo nuestros tejidos van sufriendo cambios notables.

Las estructuras subcelulares de formación de radicales libres incluyen las mitocondrias, los lisosomas, los peroxisomas, así como la membrana nuclear, citoplasmática y del retículo endoplasmático. Los radicales libres juegan un papel fisiológico clave en la homeostasis, pero el incremento de estos radicales conduce a un deterioro celular, que se refleja de manera pronunciada durante la vejez. La incidencia de radiación electromagnética en el cuerpo humano por tiempo prolongado es también una vía de

daño tisular por quemaduras y formación de radicales libres. La exposición solar es un factor importante, debido a la presencia de radiación UV, agente determinante externo de envejecimiento cutáneo. Los rayos UV-A dañan la piel, debilitan su función de barrera, son causa de envejecimiento prematuro, arrugas y manchas, y de provocar enfermedades graves como diferentes tipos de cáncer. La radiación UV-B se asocia a quemaduras cutáneas [4].

Nuestro cuerpo cuenta con una gran variedad de tejidos, con composición, propiedades y funciones diferentes, y que son afectados en situación de estrés, por diferentes razones y la influencia de diferentes agentes, tanto internos como externos. La teoría de los radicales libres tiene mucha aceptación y explica y evidencia, en muchos trabajos científicos, su papel en las condiciones antes descritas [3,5-8]. Nuestro cuerpo produce radicales libres en forma natural y necesaria, en procesos metabólicos y de defensa, sin embargo, esta producción de radicales libres y especies reactivas es excesiva en algunas ocasiones y se requiere de su inactivación mediante el establecimiento de un equilibrio oxidante-reductor con, por ejemplo, la incorporación de agentes antioxidantes.

Nuestro organismo cuenta con agentes antioxidantes endógenos (ej. Enzimas), e, incorpora exógenos mediante su alimentación (ej., Carotenos, luteína, licopeno, selenio, Vit A, Vit C, Vit E) y medicamentos [8-12]. En este artículo se presenta una revisión bibliográfica convincente sobre el papel de radicales libre en el daño tisular y pérdida de la homeostasis, la cual vinculamos a la química redox involucrada en su justificación. La gran variedad de tejidos corporales afectados, son deteriorados y se observa un envejecimiento acelerado, perceptible a simple vista, atribuible a daños y modificaciones sufridas. El envejecimiento es inevitable, pero podemos no acelerarlo.

Tejidos corporales

Consiste en la reunión de Células, por lo general, de aspecto y estructura semejante, y destinadas a una misma y determinada función. La tabla 1 muestra una breve

descripción de los tejidos corporales.

Tabla 1-. Tejidos corporales (Ref. 13)

Adiposo	Tejido conjuntivo formado por células de grasa
Cartilaginoso	Variedad de tejido conjuntivo que forma el cartílago. Constituido por hialina o fibrosa, que contiene condroplastos donde se alojan las células cartilaginosas
Celular	Tejido conjuntivo laxo que se encuentra debajo de la piel
Conjuntivo laminoso	Conglomerado de células y fibras destinadas a unir los tejidos y órganos entre sí. Cumple una función de relleno y sostén
Elástico	Variedad de tejido conjuntivo, constituido principalmente por fibras elásticas que se hallan principalmente en la túnica media de los vasos, ligamentos y tendones
Epitelial	Tejido cuya función es revestir el cuerpo, sus cavidades y cada uno de sus órganos
Esojoso	Porción esponjosa de los huesos
Fibroso	Variedad de tejido conjuntivo, principal elemento de los tendones, ligamentos y aponeurosis, y en el que predominan las fibras colágenas
Linfático	Formado por un estroma, en parte fibrilar y en parte fibroso, y numerosas células, la mayoría de las cuales son linfocitos. Constituye la porción principal de algunos órganos como los ganglios linfáticos
Muscular	Formado por células alargadas, limitadas exteriormente por una membrana y cuyo citoplasma presenta un estiramiento longitudinal debido a la presencia en su interior de miofibrillas
Nervioso	Constituye la sustancia propia del sistema nervioso
Óseo	Variedad de tejido conjuntivo compuesto de oseína y sales, y constituido esencialmente por fibras que con las sales forman laminillas óseas, entre las cuales existen espacios que alojan los osteoplastos
Plástico	El tejido conjuntivo embrionario
Sanguíneo	Tejido fluido que circula por el sistema vascular. Compuesto por un líquido fibroso (plasma) y corpúsculos (glóbulos rojos, leucocitos, plaquetas)

Formación de radicales libres (RL)

La producción de radicales libres en sistemas biológicos ocurre mediante procesos, bien

endógenos, bien exógenos, y detalles sobre su formación en el organismo está bien documentada en la literatura [3,5-8].

Formación de RL en el cuerpo humano

Factores endógenos

- Proceso Respiratorio
- Acción de Enzimas Oxidantes
- Células Fagocitarias
- Síntesis de Prostaglandinas
- Sistema Citocromo P-450
- Reacción de Oxígeno con Orgánicos

Factores exógenos

- Contaminación Atmosférica, Ambiental
- Químicos y Fármacos
- Radiaciones Ionizantes
- Alimentos, Bebidas, Drogas, Cigarro
- Óxidos de Nitrógeno
- Ozono

Algunos agentes capaces de actuar como iniciadores de formación de radicales libres son:



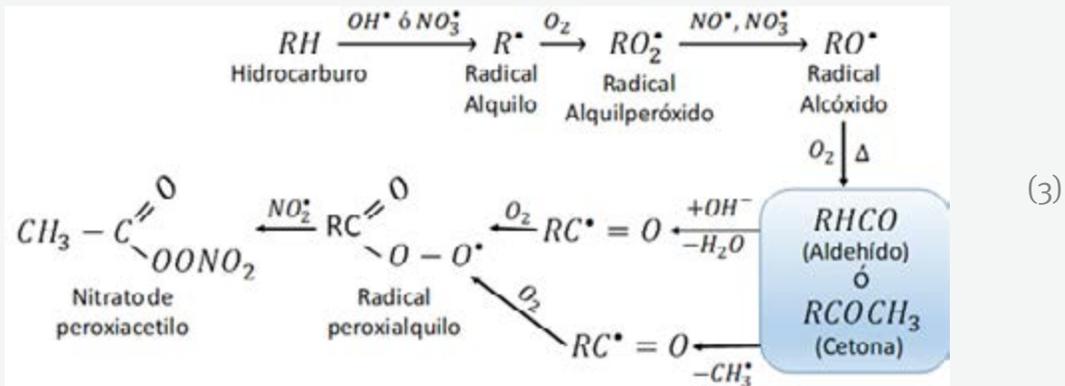
Absorción de energía radiante (rayos X, Rayos UVA)

Las radiaciones ionizantes pueden hidrolizar el agua en radicales libres, OH^\bullet , e hidrógeno, H^\bullet (ecuación 1), o también formar radical hidroxilo, OH^\bullet (ecuación 2), a partir del peróxido de hidrógeno (H_2O_2).



Agentes químicos exógenos

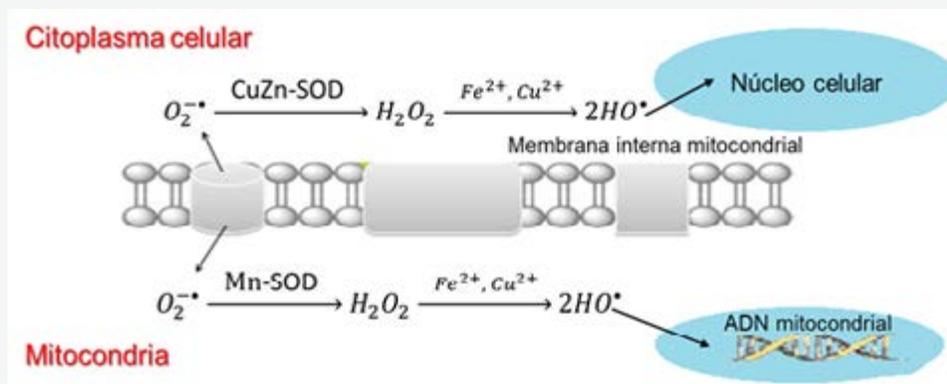
El metabolismo enzimático de alguna de estas sustancias es capaz de generar radicales libres. También en el caso de oxidación de orgánicos, ej. Oxidación de hidrocarburos saturados.



Reacciones de Oxidación-Reducción celulares

Durante los procesos metabólicos celulares, como en la respiración, el oxígeno molecular es reducido mediante la adición de cuatro electrones hasta producir agua. En el proceso se generan pequeñas cantidades de compuestos tóxicos intermedios: Radical

anión superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$); Peróxido de hidrógeno (H_2O_2); Radical libre hidroxilo (OH^\bullet). Los neutrófilos polimorfo nucleares activados en un foco de inflamación, son capaces de liberar gran cantidad de estos compuestos. Ej. Producción de radicales por la cadena de transporte de electrones, mitocondrial.



(4)

Metales

Algunos metales como el cobre y el hierro son capaces de donar o aceptar electrones y catalizar la formación de radicales libres. En la reacción de Fenton el ion ferroso, Fe^{2+} , reacciona con el peróxido de hidrógeno, H_2O_2 , dando como resultado la producción de ion férrico (Fe^{3+}), radical libre hidroxilo, OH^{\bullet} , e ion hidróxido OH^- (ecuación 5).



Reacción Fenton (5)

Formación de $O_2^{\bullet-}$ a partir de la hemoglobina (Hem)

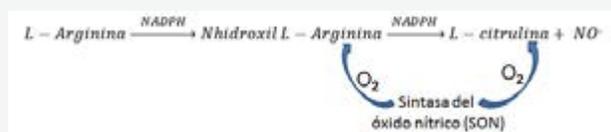


Óxido Nítrico (nitroxilo, NO^{\bullet})

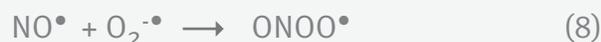
Es un mediador químico generado por macrófagos, neuronas y células endoteliales entre otras. Puede actuar como radical libre por sí mismo o puede convertirse en anión peroxinitrito, $ONOO^-$, en NO_2^{\bullet} o en NO_3^- . Producción del Radical NO^{\bullet} a partir de la Arginina [14,15]:

Producción en Tejidos y Macrófagos activados.

(7)

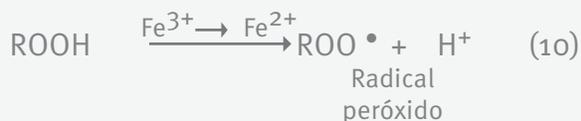
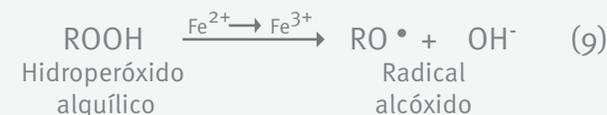


Formación de Peroxinitrito a partir del Radical NO^{\bullet} y Superóxido (En procesos Degenerativos).

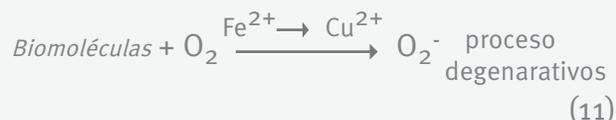


(Ej. de procesos: protonaciones, consumo de agentes antioxidantes celulares, oxidación de grupos $-SH$, oxidación de lípidos, nitración de aminoácidos aromáticos, nitración y desaminación de bases nitrogenadas en el ADN, rotura dúplex de ADN, etc.).

Radicales libres a partir de Sustratos Orgánicos.



Oxidación de Biomoléculas



Dianas de los radicales libres

Los RL causan la oxidación y peroxidación de lípidos, la desnaturalización de proteínas y la despolimerización de polisacáridos. Los RL alteran el ADN, rompen las membranas celulares, inactivan enzimas, interfieren con la inmunogenicidad y provocan

carcinogénesis. La tabla 2 muestra algunos Radicales Libres (RLO) y Especies Reactivas (ERO) de Oxígeno. En relación con las enfermedades, los RL son liberados durante la inflamación, isquemia o hipoxia de los tejidos [16-19].

Tabla 2.- Radicales Libres (RLO) y Especies Reactivas (ERO) de Oxígeno. Moléculas Diana (Ref, 20).

(RLO y ERO)	Nombre	Moléculas Diana
O ₂ ^{•-}	Superóxido	Enzimas
H ₂ O ₂	Peróxido de Hidrógeno	Ácidos grasos insaturados
OH [•]	Hidroxilo	Todas las moléculas
R [•]	R-ilo	Ácidos grasos insaturados
RO [•]	R-oxilo	Ácidos grasos insaturados
ROO [•]	R-dioxilo (Peroxilo)	Ácidos grasos insaturados
ROOH	Hidroperóxido	Ácidos grasos insaturados
¹ O ₂	Oxígeno Singlete	Distintas moléculas
NO [•]	Nitroxilo	Distintas moléculas
CCl ₃ [•]	Triclorometileno	Oxígeno

Ataque a tejidos

RLO y daño a Tejidos: La alteración de biomacromoléculas por especies reactivas de oxígeno, EROs, son considerados eventos esenciales en la etiopatogénesis de aquellas enfermedades en las cuales especies radicales libres, de oxígeno (RLO) están involucradas.

Las EROs, reaccionan in vitro con muchas moléculas biológicas, causando su degradación y destrucción. Esto nos sugiere que una excesiva producción de ERO in vivo es muy dañino a componentes integrales celulares, causando, en consecuencia, su disfunción.

Datos experimentales indican que la peroxidación lipídica, oxidación de proteínas y alteraciones oxidativas a los ácidos nucleicos son eventos cruciales de una desfavorable acción de los, EROs. Es abundante la evidencia experimental de la participación de RLO y especies reactivas de oxígeno ERO, en la etiopatogénesis de varias enfermedades. Las especies reactivas de oxígeno (RLO y ERO) reaccionan fácilmente con muchas macromoléculas biológicas causando su degradación y destrucción [16].

El término enfermedad por radical libre fue introducido para aquellos desordenes

donde las EROs han sido consideradas, juegan un papel causal en lesiones tisulares, provocando disfunción orgánica. Ello ha sido sugerido, por ejemplo, en el síndrome de “distress” respiratorio en adultos, arterioesclerosis, inflamación, artritis reumatoidea, enfermedades autoinmunes, desordenes degenerativos asociados con el envejecimiento, complicaciones diabéticas, daños inducidos por el estrés, procesos de mutagénesis y cancerogénesis, daños pos isquémico y pos hypóxico, complicaciones en el trasplante de órganos, etc. [17-19].

El daño a tejidos y su curación representa una secuencia de eventos, dependiendo de la lesión causada, por ejemplo, infección, inflamación, isquemia, intensidad del daño, tipo de tejido, condición orgánica, etc., [21].

El proceso de curación comienza desde el momento de la lesión y hay un patrón de reacciones tisulares, comunes a cualquier daño. Esto responde a un esfuerzo por eliminar daños y restaurar la integridad del tejido y su función, por remodelaje, de estructuras deterioradas. Las respuestas son mediadas por una variedad de mensajeros liberados durante el proceso lesión/sanado. La inducción y liberación de proteínas estresantes, proteínas apropiadas, quemoquinas, citoquinas, resulta en la activación del sistema inmune y ocurre en

estados tempranos.

La activación de fagocitos, productores de agentes citotóxicos, no solo previenen la infección, también remueven partículas celulares dañadas. La activación de los fagocitos depende en alto grado de su consumo de oxígeno (explosión oxidativa), durante la cual hay producción de EROs [22, 23]. Adicionalmente, para protección contra microbios invasores, las células fagocíticas poseen un mecanismo independiente del oxígeno, que incluyen la degranulación y secreción degradativa por enzimas tales como las proteasas, Fosfolipasas, hidrolasas, nucleasas, etc., [24].

Otros mediadores de daños a tejidos son, por ejemplo, el ácido araquidónico, potente modulador de la reacción inflamatoria. Interesantemente, se ha reportado la liberación de EROs como subproductos de la catálisis por ciclooxigenasa y por lipoxigenasa, que son también dependientes de la presión parcial de oxígeno [25]. Por ello, se considera que las EROs sirven como mediadores de procesos dañinos, pero también procesos de saneamiento.

El oxígeno es no solo un elemento esencial para organismos aeróbicos en procesos energéticos, pero también, debido a su alto potencial oxidativo hacia muchos compuestos orgánicos, es también causa de serios daños a la vida de estos organismos. Es por ello que las EROs han sido implicadas en el deterioro a constituyentes esenciales celulares [26].

Las EROs son generadas bajo condiciones basales como subproductos del metabolismo celular primariamente en la mitocondria. Cerca del 100% del oxígeno a ser utilizado, entra a la mitocondria donde es reducido a agua, en su paso por la cadena transportadora de electrones. Cerca de un 1% de los electrones transportados escapan, lo que permite la creación de intermediarios de oxígeno parcialmente reducidos, por ejemplo, radical anión superóxido, peróxido de hidrógeno, radical hidroxilo.

La cantidad de electrones escapando de la mitocondria y la cantidad de EROs formados,

son proporcionales a la presión parcial de oxígeno en el tejido. Otros mecanismos de producción de EROs son, sistema del citocromo P-450, enzimas oxidativas tales como xantina oxidasa, NAD(P)H oxidasas y mieloperoxidasas de células fagocíticas, y araquinodato oxigenasas [27]. En reacciones autooxidativas de sustancias endógenas tales como catecolaminas, o sustratos exógenos tales como xenobióticos, así como en la oxidación de metabolitos reducidos acumulados, se ha reportado la producción de EROs. También se ha demostrado que en la interacción del ácido araquidónico con la cadena de transporte mitocondrial promueve la generación de EROs.

Para la protección de efectos potencialmente dañinos de EROs, los organismos aeróbicos desarrollaron varios mecanismos especializados así, por ejemplo, para la detoxificación de EROs ellos usan sistemas de antioxidantes, incluyendo enzimas antioxidantes específicas tales como, superóxido dismutasa, catalasa, glutatión peroxidasa y antioxidantes no enzimáticos como glutatión, tocoferoles, ácido ascórbico, etc., [28].

Para remodelar constituyentes celulares deteriorados, se ha desarrollado un sistema mecanístico reparador, este consiste de especies, proteasas, peptidasas, fosfolipasas, aciltransferasas, endonucleasas, exonucleasas, polimerasas, ligasas, etc., para partir y reemplazar macromoléculas irreversiblemente dañadas [29]. Es importante, que los sistemas estén integrados, ellos trabajan en forma concertada y sus acciones interconectadas. El estrés oxidativo representa un desbalance entre la producción de EROs y su eliminación, a favor de los procesos prooxidativos. Hay muchas enfermedades en las cuales se considera que el estrés oxidativo tiene lugar y EROs median el daño tisular [26].

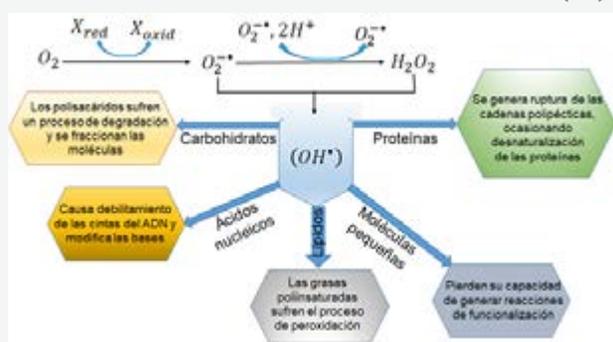
Resultados experimentales obtenidos, in vitro e in vivo, soportan la presencia y participación de radicales libres. Un papel causal de EROs se ha sugerido en daños por isquemia-reperfusión al cerebro, miocardio, hígado, riñones, intestino, etc., [30].

Procesos redox en daños moleculares.

Se toma como ejemplo el agresivo radical libre OH^\bullet y su dañina actividad, cuando está presente en exceso, en nuestro organismo. El radical (OH^\bullet) es muy inestable y reactivo, con una enorme capacidad de combinarse inespecíficamente en la mayoría de los casos, así como con una variedad de moléculas con diferente estructura molecular (lípidos, carbohidratos, proteínas, ácidos nucleicos y sus derivados) [5,31,32].

Actividad del radical OH^\bullet .

(12)



En síntesis, el radical hidroxilo ocasiona las siguientes situaciones:

- Actúa sobre los ácidos nucleicos, ocasionando la peroxidación de sus bases nitrogenadas, trayendo como consecuencia su modificación química.
- Actúa sobre las proteínas, oxidando los grupos sulfhidrilos o tioles (R-SH), dimerizándolos para formar puentes disulfuro (puentes s-s), los cuales se derivan de la fusión de dos grupos $-\text{SH}$.
- Actúa sobre las membranas celulares, reaccionando con los ácidos grasos insaturados, para generar hidroperóxidos que inhiben la permeabilidad y selectividad de dichas membranas.
- Produce alteraciones de la estructura del ADN.
- Fraccionamiento y degradación de polisacáridos.

Peroxidación de lípidos.

El radical libre (OH^\bullet) ataca un ácido graso en la membrana celular y/o mitocondrial, ocasionando una ruptura homolítica al sustraer un hidrógeno que forma agua al unirse al radical, mientras que el ácido graso es convertido en un radical, ello puede originar una reacción en cadena y productos tales como aldehídos, cetonas, ésteres, alcoholes. El proceso repetitivo conduce a la membrana a perder sus propiedades fisicoquímicas y posteriormente a la muerte celular. Con este proceso se asocian también, la arterioesclerosis, la artritis reumatoide, el enfisema pulmonar, cáncer y envejecimiento celular.

Oxidación de un ácido graso poliinsaturado

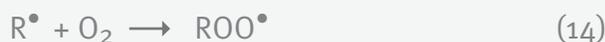
Iniciación:

Sustracción del hidrógeno del grupo metileno ($-\text{CH}_2$) para generar un radical ácido graso (RH^\bullet), dejando un electrón desapareado sobre el carbono (ecuación 13).

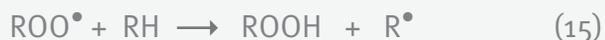


Propagación:

El lipo-radical RH^\bullet se combina con el oxígeno para formar el lipo-peróxido ROO^\bullet (ecuación 14).



Este peróxido es capaz de extraer un hidrógeno de otro carbono mediante un proceso autocatalítico, generando hidroperóxidos (ROOH) en la membrana (ecuación 15).



Terminación:

Este proceso de hiperoxidación se propaga, deteniéndose cuando dos moléculas de ROOH reaccionan para formar un tetróxido o cuando son neutralizados por un antioxidante, para formar aldehídos como, por ejemplo, el malondialdehído, MDA HO-CH=CH-CHO

(16)



Lipoperoxidación: Oxidación de ácidos grasos poliinsaturados

Oxidación de Proteínas: Las cadenas de aminoácidos, que forman parte de las proteínas, son susceptibles de ser atacadas por el radical OH^\bullet , por ejemplo las cadenas laterales de la tirosina, fenilalanina, histidina, metionina y cisteína [12, 33]. Estas modificaciones en la estructura terciaria pueden provocar la fragmentación química, incremento en ataques proteolíticos y pérdida de la función biológica. Sobre la oxidación de proteínas, se han podido documentar daños específicos incluyendo la oxidación de grupos sulfhidrilos, reducción de bisulfitos, aducción oxidativa de residuos de aminoácidos, reacción con aldehídos, fragmentación peptídica, etc., [34,35]. La figura 1 muestra un esquema de daños a la membrana (lipoperoxidación y oxidación de proteínas): pérdida de fluidez, permeabilidad, rotura y propiedades.

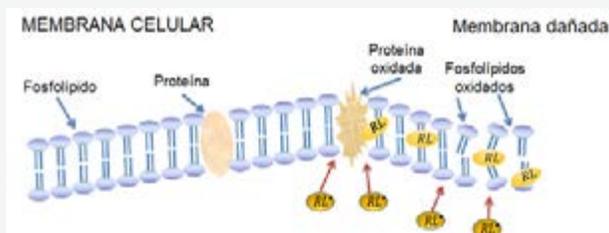


Figura 1.- Daños a la membrana (lipoperoxidación y oxidación de proteínas): pérdida de fluidez, permeabilidad, rotura y propiedades.

Oxidación de carbohidratos: Diversos polisacáridos actúan como agentes protectores celulares. La oxidación de carbohidratos puede dar lugar a la formación de moléculas que reaccionarían con los

grupos carbonilo de las proteínas. Por ejemplo, los monosacáridos de la glucosa, una vez oxidados por radicales libres, pueden combinarse con los grupos carbonilo de las proteínas.

El daño oxidativo a glúcidos reviste importancia cuando se trata de polisacáridos de función estructural, ya que los polisacáridos son despolimerizados por los radicales libres dando lugar a procesos degenerativos. Caso especial es el del ácido hialurónico cuya función estructural reside en mantener la viscosidad del fluido sinovial; la exposición a agentes oxidantes, ej. Superóxido, provoca su fragmentación, lo que conduce a la desestabilización del tejido conectivo y a la pérdida de viscosidad del fluido sinovial, como es el caso de la artritis reumatoide. Los glucosaminoglucanos (ej. Ac hialurónico), son susceptibles a su degradación en presencia de las especies reactivas de oxígeno, particularmente a los radicales superóxido e hidroxilo, lo que probablemente altera la función de los proteoglicanos de los que forman parte y esto se ha relacionado con la patogenia del proceso inflamatorio [36].

Se ha observado una relación directa entre los radicales libres y el estrés oxidativo con la diabetes Mellitus, enfermedad inicialmente caracterizada por pérdida en la homeostasis de la glucosa, así como también con las complicaciones diabéticas. Se postula que una anormal regulación en el metabolismo de los peróxidos y los metales de transición colabora en el establecimiento de la enfermedad, así como en las complicaciones que aparecen a largo plazo.

Ej. Fragmentación del ácido hialurónico (Figura 2): Pertenece a la familia de los glucosaminoglucanos y se encuentra en diversos tejidos extracelulares, incluyendo el líquido sinovial, la matriz extracelular de la piel y el cartílago. Se le atribuyen, mejoras en la viscosidad del líquido sinovial; mejoras en síntomas de artrosis, dolor e incapacidad funcional; efecto antiinflamatorio; inhibición de mediadores de la inflamación; reducción de NO, radicales libres y de la apoptosis; reducción de la proliferación, migración y fagocitosis leucocitaria, etc.

El ácido hialurónico del líquido sinovial es degradado por radicales libres (ej. radical superóxido), se despolimeriza, dando como resultado una disminución del peso

molecular y la viscoelasticidad (lubricante y amortiguador), aumentando entonces la susceptibilidad del cartílago a la lesión.

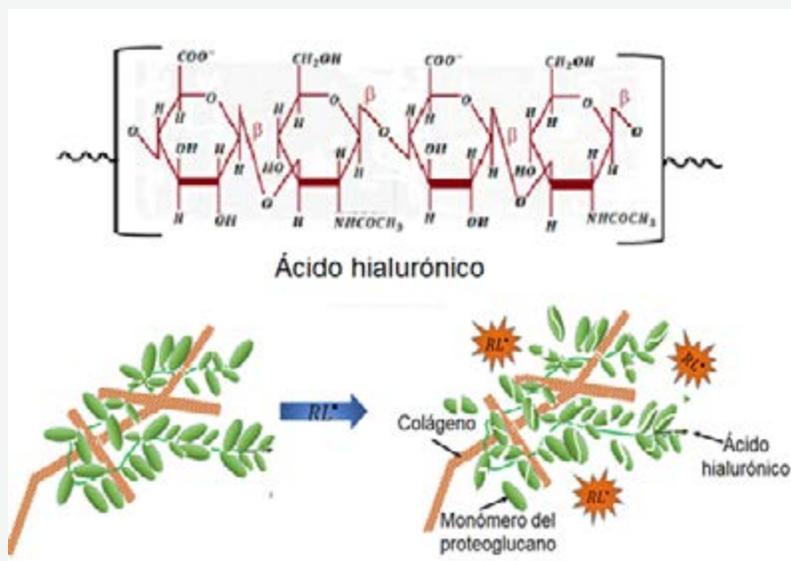


Figura 2.- Proceso de Fragmentación por radicales libres- El proteoglicano es ácido hialurónico unido a una proteína central, formando estructuras de gran tamaño.

Oxidación de ácidos nucleicos y nucleótidos.

El daño al ADN por radicales libres puede ocurrir de dos modos principales: i) Reacción con los residuos desoxirribosa. ii) Reacción con las bases del ADN.

Cuando un RL ataca a una desoxirribosa del ADN generalmente produce una ruptura de la hebra, sin embargo, la hebra dañada puede ser reparada por las enzimas reparadoras, el daño no es crítico en este caso, a no ser que haya una rotura cercana en las dos cadenas^[37].

La adición a las bases del ADN es más habitual que la ruptura de la cadena y da lugar a una gran variedad de productos derivados. El ADN también es susceptible de daño oxidativo en todos sus componentes. Se sabe que el oxígeno es capaz de adicionarse a las bases o al azúcar del ADN formándose radical peroxil. Las posteriores reacciones de estas especies radicalarias

en el ADN, dan lugar a un gran número de productos. El daño oxidativo asociado a proteínas y al ADN no deben ser considerados independientemente.

La acumulación de formas inactivas de enzimas reparadoras podría aumentar la acumulación de daño oxidativo en el ADN, por lo que se pueden potenciar entre sí. Cuando la replicación del ADN dañado tiene lugar antes de la reparación o cuando un ADN dañado se repara de manera incorrecta, tiene lugar una mutación^[37,38]. Por ello, las lesiones oxidativas al ADN parecen estar involucradas, no solo en el envejecimiento celular, sino también en la patogénesis de las enfermedades asociadas a la edad avanzada. El ADN dañado es reparado por enzimas que cortan la parte afectada, que es entonces excretada por la orina. Puesto que las enzimas reparadoras no llegan a eliminar todas las lesiones, se acumulan, con lo que el número de mutaciones aumenta con la edad^[38].

El ADN mitocondrial sufre mucho más daño oxidativo que el ADN nuclear. El genoma mitocondrial presenta ciertos rasgos que le hacen especialmente susceptible de ser atacado por agentes oxidantes: carece de histonas que pueden recibir el ataque en lugar del ADN; el sistema de reparación es poco efectivo y se encuentra muy cerca de la cadena de transporte mitocondrial. Adicionalmente, el ADN mitocondrial no posee intrones, de manera que la modificación de cualquier base afecta usualmente a una zona de ADN codificante y su repercusión suele ser por tanto, más importante [39].

La interacción de radicales libres con el ADN causa cambios conformacionales, alteración de bases y ruptura de cadena, pérdida de nucleótidos y posible mutación antes de la replicación. Esto conduce a la producción de genes mutados y en consecuencia de proteínas disfuncionales.

El radical hidroxilo $\text{OH}\bullet$, modificador de bases, puede atacar tanto purinas como pirimidinas, además de generar rupturas en las cadenas del ADN. Con la edad, el ADN mitocondrial sufre daño progresivo por los radicales libres en el músculo esquelético, diafragma, músculo cardíaco y cerebro.

Se ha propuesto que agentes bloqueadores de la cadena respiratoria, como la coenzima Q-10, vitaminas E y C, nicotinamida, podrían amortiguar efectos de las mitocondropatías y envejecimiento. También, se sugiere que la melatonina es un poderoso agente neuroprotector gracias a su poder antioxidante [40].

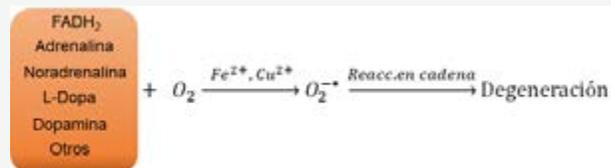
Todas estas oxidaciones pueden ser reducidas por distintos sistemas enzimáticos y por tanto pueden actuar como mecanismos de regulación de la función proteica. Entre las oxidaciones irreversibles tenemos una gran variedad de productos, destacando la formación de grupos carbonilo (aldehídos o cetonas) en lisina, prolina, arginina y treonina, que en la mayoría de los casos la inactivan.

Dado que no existen sistemas de reparación, estas proteínas oxidadas deben ser

degradadas. Cuando los sistemas de degradación, como el proteasoma, no son capaces de eliminarlas en forma adecuada, bien porque están en exceso o por deterioro del propio proteasoma, las proteínas oxidadas se acumulan en el interior celular, provocando toxicidad o muerte celular.

Procesos de autooxidación.

(17)



El envejecimiento se caracteriza por una acumulación de todas estas macromoléculas dañadas y un desgaste progresivo de los mecanismos de reparación y degradación. Esta situación de estrés oxidativo en la que la generación de ROS supera la capacidad antioxidante celular, puede explicar adicionalmente, la elevada incidencia de tumores a edades avanzadas o que el tejido cardíaco y el sistema nervioso estén especialmente afectados, dado que sus células no se dividen.

Se abordará ahora el tejido protector corporal, la Piel [41], cuyos cambios son el signo más visible de envejecimiento. Como evidencias se presentan, una piel flácida, con arrugas, manchas, encanecimiento del cabello y/o pérdida del mismo, también cambios visibles corporales. La piel es la barrera protectora del cuerpo humano contra agentes externos, constituida por infinidad de células y conformada por tres capas (Figura 3):

- **La Epidermis** (más externa). Contiene las células de la piel, pigmento y proteínas. Su función principal es la defensa del organismo de agentes externos.

- **La Dermis** (capa intermedia). Contiene los vasos sanguíneos, nervios, folículos pilosos, glándulas sebáceas, colágeno, creatinina, y suministra nutrientes a la Epidermis.

- **La Hipodermis** (o subcutánea, interna). Contiene glándulas sudoríparas, folículos pilosos, vasos sanguíneos y grasa.

dar soporte y fibras de elastina para dar flexibilidad y fuerza.

Cada capa contiene también Tejido Conectivo, con fibras de colágeno para

Como funciones de la piel, podemos citar (tabla 3):

Tabla 3.- funciones de la piel.

• Comunicación Corporal con Factores Externos
• Barrera Impermeable. Protección frente a agresores externos. Bacterias, virus y contaminación
• Regulación de la temperatura corporal
• Balance de líquidos y Electrolitos. Previene la pérdida de humedad
• Protección- Respuesta inmunitaria
• Favorece la Síntesis de Vitamina D (colecálciferol)
• Proporciona receptores para sensaciones como tacto, dolor, presión
• Protege contra radiaciones agresivas (limitada)

La piel protege nuestro cuerpo, pero las fuerzas variadas a que es sometida pueden impactar su estado y deteriorar sus defensas naturales. Esto puede afectar negativamente nuestra salud y volvernos más propensos a sufrir lesiones e infecciones, puede volverse seca, sensible e irritable, lo que afecta su aspecto y sensaciones, pudiendo influir negativamente en la autoestima.

factores que afectan negativamente su capacidad como barrera de protección. También afectan a la piel factores internos como la genética, envejecimiento, hormonas y problemas de salud como la diabetes.

Los cambios en la piel están relacionados con factores ambientales, constitución genética, nutrición, radiaciones y otros. Una dieta desequilibrada, la falta de ejercicio, el estrés, falta de sueño, fumar, deshidratación, determinados medicamentos, son otros

La exposición solar es un factor importante, debido a la presencia de radiación UV, agente determinante externo de envejecimiento cutáneo. Los rayos UV emitidos por el Sol, destruyen el colágeno y la elastina de nuestra piel. También actúan como motor productor de la pigmentación de la piel (melanina) que resultan en manchas de sol, manchas de la edad.

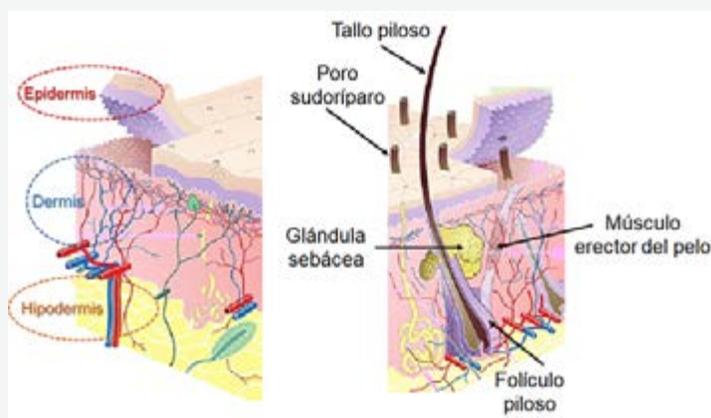


Figura 3.- Partes de la piel.

Una protección solar adecuada es importante. Los rayos UV-A dañan la piel, debilitan su función de barrera, son causa de envejecimiento prematuro, arrugas y manchas, y de provocar enfermedades graves como cánceres. La radiación UV-B se asocia a quemaduras cutáneas.

Radiación electromagnética.

Un importante efecto de las radiaciones electromagnéticas de alta energía (UV, Rayos X y Y) es el daño directo e indirecto sobre el ADN celular. Estas radiaciones tienen un efecto mutagénico, favorecen el desarrollo de tumores en organismos pluricelulares y cuando las mutaciones surgen en células germinales, pueden conducir a diversos desordenes genéticos. La frecuente exposición a radiación solar induce la reacción con moléculas celulares, como por ejemplo el ADN, y alteran su funcionamiento. Las EROs formadas, terminarán oxidando diferentes constituyentes celulares (lípidos, proteínas, ADN, etc.) [42]. Un daño severo celular puede conducir a la pérdida de sus funciones vitales y muerte. Con dosis más bajas, las mutaciones por ejemplo al ADN, pueden ser transmitidas a células hijas.

En el ADN está codificada la información necesaria para la producción de diferentes proteínas celulares y por tanto si se altera el ADN, todas las nuevas copias de esta proteína se producirán de manera errónea. Por otra parte, cuando una célula prolifera hace una copia del ADN para transmitir dos moléculas idénticas a las dos células hijas. Así pues, si hemos modificado el ADN, los errores pasan también a la descendencia de esta célula. Y por último, si la célula que ha tenido una alteración en el ADN es una célula de la línea germinal (la encargada de producir gametos, ya sean óvulos o espermatozoides), la mutación será transmitida a todas las células de la descendencia del individuo [43]. Al impactar los fotones de luz ultravioleta en el ADN se forman enlaces covalentes entre dos timinas consecutivas de la misma cadena del ADN; es lo que se llama dímeros de timina, eso provocará que estas bases no puedan emparejarse correctamente cuando este ADN se tenga que replicar, y por tanto se producirán errores. Por otra parte, la

exposición del ADN a las especies reactivas de oxígeno puede dar lugar a oxidación o incluso a pérdida de las bases nitrogenadas del ADN, eso también hará que no puedan emparejarse correctamente. También puede dar lugar incluso a rupturas en una o las dos cadenas del ADN.

Todas estas modificaciones causarán problemas en el momento de replicar el ADN e incrementará de manera muy sustancial la posibilidad de introducir cambios en la secuencia de ADN. El ADN es la molécula que contiene la información genética y por tanto estas alteraciones se traducirán en mutaciones que serán transmitidas a las células hijas.

Se han desarrollado mecanismos (proteína p53), que conducen a la muerte de la célula cuando el daño en el ADN no se ha podido reparar. De esta manera los errores no se transmiten a las células hijas. Esta muerte altruista y programada de la célula se llama apoptosis. En algunos casos, si la radiación es excesiva, todos estos mecanismos, incluido el de inducción de muerte, se ven sobrepasados. La consecuencia de eso es la aparición de mutaciones en el ADN sin que la célula se muera. Por lo tanto, las radiaciones, pese a los esfuerzos de la célula por evitarlo, acaban teniendo un claro efecto mutagénico. No sólo las radiaciones son las que pueden ocasionar una elevada tasa de mutación. Hay muchos productos químicos que también pueden alterar directamente el ADN o bien producir especies reactivas de oxígeno que serán, igual que en el caso de las radiaciones ionizantes, las encargadas de modificar la molécula de ADN. Estos productos químicos también son mutagénicos.

Los efectos de las mutaciones dependerán de qué células son las que han resultado afectadas y de qué zona del ADN es la que se ha mutado. Como se ha dicho, si las mutaciones aparecen en las células progenitoras de la línea germinal éstas pasarán a los gametos y de éstos a la descendencia, dando lugar a enfermedades genéticas que serán heredadas de padres a hijos. Si en cambio hablamos de mutaciones en células que no son de la línea germinal, como por ejemplo de la piel, neuronas,

del hígado, del intestino, de la sangre..., una elevada tasa de mutación estará directamente relacionada con el cáncer [44,45].

Envejecimiento.

Tal como se ha mencionado anteriormente, la acumulación de lesiones moleculares traería como consecuencia el deterioro de funciones celulares y tisulares con manifestaciones fenotípicas en forma de procesos degenerativos, disfunciones asociadas a envejecimiento, que provocarían una alteración irreversible de la homeostasis hasta un límite incompatible con la vida. En los individuos mayores sanos, muchas funciones fisiológicas se mantienen normales en un estado basal, pero al ser sometidos a estrés se revela la pérdida de reserva funcional^[46]. Los cambios que aparecen en el individuo a lo largo de la vida son consecuencia de la acción del tiempo sobre los seres vivos. Estos cambios son Bioquímicos, Fisiológicos, Morfológicos, Funcionales, Psicológicos y Sociales.

Las mutaciones genéticas se van acumulando con la edad, haciendo que las células se deterioren y comiencen a funcionar mal. Se asocian a causas de envejecimiento, el daño al ADN (en particular al mitocondrial) acumulado en los genes y los cambios en el genoma; el corto tamaño en telómeros (extremos de los cromosomas); presencia de proteínas defectuosas en el organismo; el agotamiento de células madre en los tejidos. Uno de los procesos característicos del envejecimiento es la pérdida progresiva de la funcionalidad mitocondrial, especie de reloj biológico del envejecimiento.

Cambios morfológicos y funcionales en las células con la edad.

- Acumulación de lipofuscina (pigmento del envejecimiento).
- Acumulación de pequeñas gotas de lípidos.
- Disminución de la respiración celular.
- Disminución del volumen celular.
- Disminución de sistemas enzimáticos (fosfatasa, esterasa,...).
- Aumento de Fe, K intracelular, colesterol

y proteínas insolubles.

- Aumento del calcio extracelular.
- Aumento de las uniones covalentes entre las fibras de colágeno (disminución en la solubilidad).
- Daño de las membranas celulares, con alteración en la distribución de fosfolípidos y colesterol.

Síntomas del envejecimiento (Pérdida de funcionalidad).

- Disminución del colágeno de la Piel y absorción de Proteínas: Aparición de las primeras arrugas. La piel pierde su elasticidad en algunas zonas y marca los signos de expresión faciales; con el paso del tiempo las arrugas se irán extendiendo a otras zonas del cuerpo humano.
- Pérdida de agilidad y de capacidad de reacción refleja: Con el paso de los años se va alargando el tiempo que necesitamos para responder a un estímulo. Las reacciones reflejas se vuelven más lentas y se requiere un mayor esfuerzo para realizar tareas.
- Disminución de la capacidad inmunitaria: Con el paso del tiempo es más fácil contraer enfermedades tipo contagiosas, como la gripe.
- Pérdida progresiva de sentidos, oído, gusto, vista. Los sentidos se van deteriorando con el tiempo, envejecen, y se van perdiendo capacidades para ver, degustar o escuchar con claridad.
- Aparición de demencias seniles: Los primeros síntomas del Alzheimer son características del envejecimiento. Pérdida de memoria a corto plazo, sufrir episodios de desorientación, lapsos mentales.

Retraso o conducción equilibrada del envejecimiento.

El envejecimiento es irreversible y por tanto debemos tratar de que el inevitable deterioro sea lo más homogéneo y lento posible a fin de evitar desequilibrios importantes del homeostasis orgánico; en ese sentido hay resultados promisorios, con un incremento en la síntesis por parte de las células, de enzimas inactivadoras de derivados tóxicos

del oxígeno. Hay también una clara relación entre restricción calórica y longevidad [47, 48]. Se plantea también la actuación sobre el ambiente y contaminación, modificación en hábitos de vida, control del estrés, de tal forma que, más que prolongar la longevidad, se logre que el individuo alcance esta en las mejores condiciones de salud. Numerosos resultados experimentales sugieren que el daño a biomoléculas inducido por RLO es un hecho asociado a la senescencia y probablemente una de las causas importantes de la misma [49]. También desempeña un papel decisivo, nuestra actitud y comportamiento social, es decir, el alimentar pensamientos negativos que nacen de la ira, los celos, la avaricia, el odio, la envidia, la ambición. Otros efectos deletéreos se deben a estrés emocional o causado por el dolor y al uso de ciertos medicamentos (ej., antiangina).

Características del envejecimiento.

- **Universal:** Propio de todos los seres vivos.
- **Irreversible:** No puede detenerse ni revertirse.
- **Heterogéneo e Individual:** Cada especie tiene una velocidad característica de envejecimiento, pero la velocidad de declinación funcional varía de sujeto a sujeto y dentro de la misma persona, de órgano a órgano.
- **Deletéreo:** lleva a una progresiva pérdida de función.
- **Intrínseco:** No debido a factores ambientales modificables.

Cambios por el envejecimiento.

Con el envejecimiento, la epidermis se adelgaza (tabla 4). Las células que contienen pigmento (melanocitos) disminuyen, pero los melanocitos aumentan de tamaño, la piel envejecida aparece más delgada, más pálida y traslúcida. Las manchas pigmentadas grandes o lentigos ocurren más a menudo en áreas de más exposición al sol. Los cambios en el tejido conectivo

reducen la resistencia y la elasticidad de la piel (elastosis) y es pronunciada en áreas expuestas al sol. Los vasos sanguíneos de la dermis se vuelven más frágiles, lo cual a su vez provoca equimosis y sangrado debajo de la piel. Las glándulas sebáceas producen menos aceite a medida que se envejece. La capa de grasa subcutánea, que facilita el aislamiento y amortiguación se adelgaza, incrementando el riesgo de lesiones a la piel y reduciendo la capacidad de mantener la temperatura corporal. Como hay menos aislamiento natural, en clima frío se puede presentar hipotermia.

Algunos medicamentos son absorbidos por la capa grasa y la pérdida de dicha capa cambia la manera en que esos medicamentos actúan. Las glándulas sudoríparas producen menos sudor, haciendo más difícil mantenerse fresco y que se incremente el riesgo de hipertermia o de insolación. La auto regeneración de la piel envejecida es más lenta que la de la piel joven, la curación de una herida puede ser hasta cuatro veces más lenta, situación que contribuye a la generación de úlceras por presión e infecciones.

Tabla 4.- Envejecimiento sano y situaciones a controlar.

• Estrés constante
• Mantener dieta sana, variada, equilibrada
• Deshidratación y descuido en el consumo de líquidos
• Trasnócho frecuente y el dormir poco
• Exposición a químicos y emisiones en general
• Sedentarismo e inactividad, en su lugar ejercicio moderado, caminatas
• Exposición directa y prolongada a radiaciones
• Abuso de licor, café, drogas, cigarro
• Enojo, irritabilidad, agresividad, depresión, tristeza, pesimismo
• Abuso de frituras, grasas, comida chatarra, alimentos alterados
• Uso excesivo de celulares, computadoras y equipos audiovisuales
• Prácticas de distracción, descanso, relajación, gimnasia, paseos, caminatas, reuniones sociales, viajes
• Prevenir enfermedades y atenderlas a tiempo
• Estudiar, leer, informarse, mantenerse activo, emprender tareas

Conclusiones

El proceso de envejecimiento está determinado por factores intrínsecos: genético, raza, sexo, personalidad, historia familiar, etc. y factores extrínsecos: ambiente, nutrición, educación, ejercicio físico, calidad de vida, trabajo, salud, vivienda, etc. Resultados científicos experimentales comprueban que es posible incrementar la longevidad, con el incremento de enzimas inactivadoras de derivados tóxicos del oxígeno (ERO, RLO) en células corporales.

Existe también una clara relación entre restricción calórica y longevidad, y en adición, otras evidencias experimentales confirman el daño a biomoléculas inducido por radicales libre de oxígeno y nitrógeno (RLO, RLN), hechos asociados a estrés oxidativo y envejecimiento. Siendo el envejecimiento un proceso irreversible, más que evitarlo, debemos tratar de asumirlo como inevitable, manejarlo acertadamente, conducirlo de manera equilibrada, lenta, hacerlo en condiciones saludables, agradables, de bienestar, tranquilidad y felicidad. Es necesario envejecer de manera saludable y para ello se necesita de buena salud física, funcional, cognitiva y social, actitud positiva, buena relación interpersonal, actividad mental, ejercicio físico, adecuada nutrición, manejo del estrés y la ansiedad, involucrarse en proyectos, actividades, planes y programas.

La presencia de ERO, ERN y RL en el organismo humano es también inevitable e imprescindible; variadas e importantes funciones orgánicas requieren la presencia de estas especies por su papel fisiológico clave en la homeostasis del organismo. Sí debemos evitar una producción excesiva, desequilibrante, dañina, de estas especies y esa situación debemos evitarla. Por ello mostramos como se producen estas especies, donde atacan, como lo hacen, como evitar su proliferación interna y la inducción externa, y medidas recomendables para un envejecimiento sano, agradable y feliz.

Referencias

- 1- Johnson FB, Sinclair DA, Guarente L. 1999. Molecular biology of aging. *Cell*. 96:291-302.
- 2- Harman D. 1956. Aging: A theory based on free radical and radiation chemistry. *J. Gerontol.* 11:298-300.
- 3- Finkel T, Holbrook NJ. 2000. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*. 408:239-247.
- 4- Neus AJ. 2009. Departamento de Biología Celular y Anatomía Patológica, Universitat de Barcelona. © Mètode, Anuario 2009.
- 5- Márquez OP, Márquez K, Weinhold E, Márquez J. 2019. Reacciones Redox: una revisión de la formación de oxidantes celulares. *Revista de Ingeniería y Tecnología Educativa (RITE)*. 2(1):8-19.
- 6- Balaban RS, Nemoto S, Finkel T. 2005. Mitochondria, oxidants and aging. *Cell*. 4:483-497.
- 7- Sarma AD, Mallick AR, Ghosh AK. 2010. Free radicals and their role in different clinical conditions: an overview. *Inter J Pharma Sci Res*. 1:185-192.
- 8- Halliwell B. 2011. Free radicals and antioxidants— quo vadis? *Trends Pharmacol Sci*. 32(3):125-130.

- 9- Núñez Sellés AJ. 2011. Terapia antioxidante, estrés oxidativo y productos antioxidantes: Retos y oportunidades. *Revista Cubana de Salud Pública*. 37:644-660.
- 10- Stanner SA, Hughes J, Kelly CNM, Buttriss J. 2004. A review of the epidemiological evidence for the 'antioxidant hypothesis', *Public Health Nutrition*. 7(3):407-422
- 11- Rafecas M. 2006. Antioxidantes para una mejor calidad de vida. *Acofar*. 454:28-30
- 12- Márquez K, Weinhold E, Márquez OP, Márquez J. 2020. Defensa antioxidante en el cuerpo humano: una revisión. *Revista de Ingeniería y Tecnología Educativa (RITE)*. 3(1):19-44.
- 13- Gran Sopena, Dicc. Ilustrado de la Lengua Española. Provenza, 95. Tomo 3, pag 2624
- 14- Moncada S, Higgs A. 1993. The L-arginine-nitric oxide pathway. *N. Engl. J. Med*. 329: 2002-2011.
- 15- Pacher P, Beckman JS, Liaudet L. 2007. *Physiological Reviews*. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. 87(1):315-424.
- 16- Medocci P, Fano G, Fulle S, MacGarvey U, Shinobu L, Polidori MC, Cherubini A, Vecchiet J, Senin U, Beal MF. 1999. Age-dependent increases in oxidative damage to DNA, lipids, and proteins in human skeletal muscle. *Free Radic. Biol. Med*. 26, 303-308.
- 17- Beckman KB, Ames BN. 1998. The free radical theory of aging matures. *Physiol. Rev*. 78:547-581.
- 18- Bauerova K, Bezek Š. 1999. Role of reactive oxygen and nitrogen species in etiopathogenesis of rheumatoid arthritis. *Gen. Physiol. Biophys*. 18 (Focus Issue), 15-20.
- 19- Baynes JW, Thorpe SR. 1999. Role of oxidative stress in diabetic complications: a new perspective on an old paradigm. *Diabetes* 48, 1-9
- 20- Galván C de T, Guisado BR, García MC, Ochoa J, Ocaña WJ. 2008. Antioxidants and physical exercise: the role of melatonin (Dianas de RL). *Revista Andaluza de Medicina del Deporte*. 1(2):61-72.
- 21- Chettibi S, Ferguson MWJ. (1999). Wound repair: an overview. In: *Inflammation, Basic Principles and Clinical Correlates* (Eds. J. I. Gallin and R. Snyderman), pp. 865-881, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia.
- 22- Klebanoff S. J. (1999): Oxygen metabolites from phagocytes. In: *Inflammation, Basic Principles and Clinical Correlates* (Eds. J. I. Gallin and R Snyderman.), pp. 721- 768, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia.
- 23- Leto TL. 1999. The respiratory burst oxidase. In: *Inflammation, Basic Principles and Clinical Correlates* (Eds. J. I. Gallin and R. Snyderman), pp. 769-786, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia.
- 24- Elsbach P, Weiss J, Levy O. 1999. Oxygen-independent antimicrobial systems of phagocytes. In: *Inflammation, Basic Principles and Clinical Correlates* (Eds. J. I. Gallin and R. Snyderman), pp. 801-818, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia.

- 25- Juranek I, Bauer V, Donnerer J, Lembeck F, Peskar BA. 2002. Severe hypoxia inhibits prostaglandin I(2) biosynthesis and vasodilatory responses induced by ionophore A23187 in the isolated rabbit ear. *Pharmacology* 66, 199-205.
- 26- Juránek I, Bezek Š. 2005. Controversy of Free Radical Hypothesis: Reactive Oxygen Species – Cause or Consequence of Tissue Injury?. *Gen. Physiol. Biophys.* 24:263-278.
- 27- GoldhaberJI, WeissJN. 1992. Oxygen free radicals and cardiac reperfusion abnormalities. *Hypertension* 20:118-127.
- 28- Gate L, Paul J, Ba GN, Tew KD, Tapiero H. 1999. Oxidative stress induced in pathologies: the role of antioxidants. *Biomed. Pharmacother.* 53:169-180.
- 29- Elliott R, Astley S, Southon S, Archer D. 2000. Measurement of cellular repair activities for oxidative DNA damage. *Free Radic. Biol. Med.* 28:1438-1446.
- 30- Bezek Š, Juranek I. 2000. Effects of stobadine on hypoxia and hypoxia/reoxygenation injury in isolated hepatocytes in fasted rats. *Biologia (Bratisl.)* 55 (8):15-18.
- 31- Lenaz G. 1998. Role of mitochondria in oxidative stress and ageing. *Biochim Biophys Acta.* 1366: 53-67.
- 32- Kehrer JP. 1993. Free radicals as mediators of tissue injury and disease. *Crit Rev Toxicol.* 23:21-48
- 33- es. Wikipedia.org. Peroxidación Lipídica
- 34- Diaz-Acosta E, Membrillo-Hernandez J. (2006). Consecuencias fisiologicas de la oxidacion de proteinas por carbonilacion en diversos sistemas biologicos. *TIP Revista Especializada en Ciencias Quimico-Biologicas*, 9(1):34-44
- 35- Stadtman R. (1990). Metal ion-catalyzed oxidation of proteins: biochemical mechanism and biological consequences. *Free Radic Biol Med.* 9:315–325
- 36- Moseley R, Waddington RJ, Embery G. 1997. Degradation of glycosaminoglycans by reactive oxygen species derived from stimulated polymorphonuclear leukocytes. *Biochim Biophys Acta* 1362: 221-31.
- 37- Breen AP and Murphy JA. 1995. "Reactions of oxyl radicals with DNA." *Free Rad. Biol. Med.* 18: 1033-1077.
- 38- Halliwell B and Auroma OI.1991. "DNA damage by oxygen derived species. Its mechanism of action and measurement in mammalian systems". *FEBS Lett.* 281: 9-19.
- 39- Ames BN, Shigenaga MK et al. (1993) "Oxidants, antioxidants and the degenerative diseases of aging". *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 90: 7915-7922.
- 40- Velázquez PM, Prieto GB, Contreras PR. 2004. El envejecimiento y los radicales libres. *Ciencia* 75:36-43.
- 41- Yamamoto MP. 2001. Fisiología de la Piel. *Revista Peruana de Dermatología.* 11(2): ISSN versión electrónica: 1609-7203.
- 42- Zglinicki T, Bürkle A, Kirkwood TBL. 2001. Stress, DNA damage an ageing, an integrative approach. *Exptl. Geront.* 36:1049-1062.

- 43- Friedberg EC, Walker GC, Siede W, Wood RD , Schultz RA, Ellenberger T. DNA Repair and Mutagenesis 2nd Edition. ASM Press. 1118 páginas.
- 44- Agell JN. 2020. Efectos biológicos de las radiaciones electromagnéticas de alta energía. Revista Mètode. España. 01-15.
- 45- Agell JN. 2011. Efectos biológicos de las radiaciones electromagnéticas de alta energía. Mètode. 57:44d. jpg/rokbox text. Univ. De Barcelona.
- 46- Finkel T, Holbrook J. 2000. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. Nature. 408:239-247.
- 47- Merry BJ. 2002. Molecular mechanisms linking calorie restriction and longevity. Int J. Biochem. Cell. Biol. 34:1340-1354.
- 48- Reverter-Branchat G, Cabiscol E, Tamarit J, Ros J. 2004. Oxidative damage to specific proteins in replicative and chronological-aged *Saccharomyces cerevisiae*: common targets and prevention by calorie restriction. J. Biol. Chem. 279:31983-31989.
- 49- Kehrer JP, Klotz LO (2015) Free radicals and related reactive species as mediators of tissue injury and disease: implications for Health, Critical Reviews in Toxicology, 45:9, 765-798, DOI: 10.3109/10408444.2015.1074159