

## 2 Daño oxidativo, sistemas de defensa y reparación del DNA en el envejecimiento

*Armando Luna López<sup>1</sup> y Delia Magdalena Namihira Guerrero<sup>1,2</sup>*

### Resumen

**E**l envejecimiento puede definirse como la disminución de las funciones fisiológicas, bioquímicas y moleculares a lo largo de la vida de un individuo. Durante décadas se ha relacionado al envejecimiento con el daño oxidante generado por las especies reactivas de oxígeno (ERO) que son producidas por el metabolismo aeróbico de los organismos. Las defensas antioxidantes que han desarrollado los organismos aeróbicos resultan ser insuficientes frente a los retos ambientales y propios del metabolismo, de tal manera que se genera un desbalance conocido como estrés oxidante. Este desbalance tiene como consecuencia daños oxidantes en las principales biomoléculas, como lo son lípidos, proteínas y DNA. El daño oxidante principal es en el DNA nuclear ya que al alterarse las secuencias génicas se disminuyen las funciones fisiológicas y estructurales de los individuos. Existen diferentes daños al DNA como son los rompimientos de SSB y DSB, las mutaciones y la producción de aductos de DNA. Entre los sistemas de reparación del DNA que se han reportado por estar relacionados con el envejecimiento se encuentran el MMR, BER y la enzima ATM.

---

<sup>1</sup> Departamento de Investigación Básica, Instituto de Geriátría (INGER), SSA, México DF.

<sup>2</sup> Universidad Autónoma Metropolitana – Iztapalapa

## Especies reactivas de oxígeno

Los radicales libres (RL) pueden ser definidos como átomos o moléculas con uno o más electrones desapareados en alguno de sus orbitales electrónicos (Halliwell y Gutteridge, 1999). Este electrón generalmente es el que le proporciona su alta capacidad reactiva. El oxígeno molecular (dioxígeno) tiene una configuración electrónica única y es por sí mismo considerado un radical, por lo que los RL derivados del oxígeno producidos por los seres vivos son considerados los radicales más importantes (Miller *et al.*, 1990). Las especies reactivas de oxígeno (ERO) son ubicuas, altamente reactivas, de tiempo de vida media muy corto, se producen en el metabolismo del oxígeno en los sistemas biológicos aeróbicos y reaccionan con las moléculas que se encuentran a su alrededor, empezando con aquéllas que se encuentran muy cercanas a su sitio de formación. Las ERO incluyen al radical superóxido ( $O_2\bullet$ ), al radical hidroxilo ( $OH\bullet$ ) y al peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ). Además habría que considerar entre las ERO a las especies reactivas de nitrógeno (ERN), que poseen tanto átomos de oxígeno como de nitrógeno, e incluyen al óxido nítrico (NO) y al radical peroxinitrito ( $ONOO\bullet$ ) entre las más importantes. Las ERN también participan en diferentes procesos biológicos, como en el funcionamiento de los tejidos vasculares. Las ERO/ERN han sido consideradas dañinas por su reactividad, sin embargo, bajos niveles de éstas son necesarias para que se lleven a cabo diferentes procesos bioquímicos, entre los que se encuentran la señalización intracelular, la diferenciación, el control del ciclo, la apoptosis, el sistema inmune, la defensa contra los microorganismos (Ghosh, 1998; Tohyama y Yamamura, 2004; Bae *et al.*, 1997; Lee *et al.*, 1998).

## Antioxidantes

La exposición a las ERO producidas por los procesos fisiológicos o ambientales ha llevado a los organismos a desarrollar mecanismos de defensas (Cadenas, 1997). Los organismos se protegen contra el estrés oxidante inducido por las ERO con mecanismos que pueden ser preventivos, de reparación, defensas físicas y defensas antioxidantes.

Este último es uno de los más importantes y está compuesto por enzimas antioxidantes entre las que se encuentran la superóxido dismutasa (SOD), glu-

tación peroxidasa (GPx) y la catalasa (CAT) y otros compuestos no enzimáticos entre los que se encuentran el ácido ascórbico (vitamina C),  $\alpha$ -tocoferol (vitamina E), glutatión reducido (GSH), carotenoides, flavonoides y otros antioxidantes.

Las ERO pueden causar la muerte celular vía apoptosis y/o necrosis en algunos tipos celulares, las cuales pueden ser disminuidas o eliminadas por los sistemas antioxidantes (Carmody y Cotter, 2001; Kim *et al.*, 2001; Jang y Surh, 2003). La concentración de las ERO y el microambiente celular parecen ser importantes en determinar el tipo de muerte celular (Kim *et al.*, 2001). En condiciones normales siempre existe un balance entre las ERO y las defensas antioxidantes para que los organismos se encuentren en homeostasis.

### Estrés oxidante

Las ERO son producidas en todos los organismos aeróbicos y normalmente están en la célula en un estado balanceado con las moléculas antioxidantes. El estrés oxidante se presenta cuando este balance es perturbado por la falta de antioxidantes, por la generación excesiva de ERO o por ambas. Así que, cuando los antioxidantes se encuentran en bajas proporciones y/o se incrementa la formación de ERO, se incrementa la respuesta celular para tratar de contrarrestar este evento hasta que se puede controlar o cuando la célula no lo puede controlar, entonces activa el proceso de muerte. El estrés oxidante puede generar un ambiente muy adverso o condiciones extremas en los sistemas biológicos. Un rápido indicador de que el sistema se encuentra en estrés oxidante es determinar el incremento en la respuesta antioxidante y/o un incremento en los niveles de ERO endógenos. La formación de ERO se incrementa como una consecuencia de diferentes condiciones de estrés ambiental, entre las que se encuentran la radiación electromagnética UV, la exposición a herbicidas, temperaturas extremas, toxinas como la cercosporina y aflatoxina, contaminantes ambientales, metales y xenobióticos. Cuando el estrés oxidante se presenta, la función de la célula es contrarrestar los efectos oxidantes y restaurar el balance redox tratando de alcanzar los parámetros homeostáticos. Este último evento de la respuesta celular puede activar o silenciar genes que codifican para enzimas de defensa, factores de transcripción y proteínas estructurales (Dalton *et al.*, 1999; Scandalios, 2004).

En los eucariontes superiores, tanto plantas como animales, la respuesta al estrés oxidante es muy compleja y está modulada por diferentes reguladores (Scandalios, 1997). El estado redox dependiente de ERO que modifica el reciclamiento de los tioles de los residuos de cisteínas es sumamente importante para establecer las interacciones proteína-proteína y proteína-DNA que son fundamentales para los procesos de transducción de señales y para la regulación de la actividad de algunos factores de transcripción (Dalton *et al.*, 1999; Scandalios, 2004; Storz e Imlay, 1999; Kiley y Storz, 2004; Ruis y Schuller, 1995; Moradas-Ferreira y Costa, 2000; Delaunay, Isnard y Toledano, 2000), como es el caso de la activación del factor NF- $\kappa$ B y la proteína AP-1, conocidos por tener una participación fundamental en procesos como la proliferación, diferenciación y morfogénesis, los cuales pueden ser estimulados por diferentes agentes que convergen en un mecanismo común que involucra la producción de ERO. Un mecanismo que se ha descrito consiste en que al incrementarse la producción de  $H_2O_2$  se tiene como consecuencia la activación redox de NF- $\kappa$ B y en el cual participa una forma activa de la proteína Rho que es una GTPasa que responde a la modificación del estado redox celular (Gabbita *et al.*, 2000). Las fuentes de ERO, tanto extracelulares como intracelulares, son capaces de modular la expresión de genes. Dosis bajas de  $H_2O_2$  ( $<20\mu M$ ) pueden producir cambios en la fosforilación de proteínas reguladoras específicas, entre las que se encuentra la proteína cinasa B también conocida como Akt. La acción directa de la señalización por  $H_2O_2$  en la regulación diferencial de genes antioxidantes en plantas y animales es debida a las interacciones proteína-DNA en la región del elemento de respuesta antioxidante (ARE; TGA CTCA), NF- $\kappa$ B y el elemento de respuesta al ácido abscísico (ACGT) en los promotores de estos genes. Además la inducción de la expresión de genes de defensa, otros papeles del desbalance redox en plantas incluyen muerte directa de patógenos, la modificación de la estructura de la pared celular y la inducción de la muerte celular programada (Scandalios, 1997). En levaduras y animales, el estrés oxidante puede llevar a la detención de la división celular y a la progresión del ciclo celular (Paulovich *et al.*, 1997). Un claro ejemplo de como las ERO pueden tener un papel benéfico fue la observación de que el  $O_2$  desempeñaba un rol importante en la infección por microbios, en donde su actividad puede ser comparada con la de un antibiótico de amplio espectro (Babior 1984). En plantas, la respuesta a la invasión por patógenos también involucra un desbalance redox que tiene que ver con un aumento transitorio de grandes cantidades de ERO (Doke 1997).

El estado de estrés oxidante generado por el incremento de ERO desempeña papeles diferentes, y en ocasiones opuestos, durante diferentes procesos celulares. Por ejemplo, el  $H_2O_2$  puede actuar de una manera relevante en los procesos de transducción de señales por medio de la activación de NF- $\kappa$ B, mientras que en condiciones patológicas de estrés oxidante el  $H_2O_2$  puede inducir la apoptosis o la necrosis. El estado estable de los niveles de ERO en las células es crítico y es crucial para determinar si la célula debe incrementar los niveles de ERO o activar mecanismos que modulen la respuesta antioxidante celular.

### Estrés oxidante y envejecimiento

Durante décadas se ha estudiado la relación que existe entre la generación de especies reactivas de oxígeno (ERO) con la acumulación de biomoléculas oxidadas, que son una de las características que se presentan durante el proceso de envejecimiento; esta propuesta es una de las más aceptadas para tratar de explicar la disminución en las funciones fisiológicas, bioquímicas y moleculares que se presentan en el envejecimiento y fue formulada por Harman en 1956.

Se han realizado una extensa cantidad de trabajos que apoyan esta teoría, entre ellos los realizados en nematodos, en donde se encontró que una mutación en una subunidad del complejo II de la cadena de transporte de electrones, la enzima succinato deshidrogenasa, incrementó la producción de ERO, se disminuyó la respiración y se acortó el tiempo de vida de este organismo especialmente en ambientes con altas concentraciones de oxígeno, demostrando una correlación entre las ERO y el tiempo de vida de un individuo (Ishii *et al.*, 1998); en otro trabajo, en donde se utilizó moscas como modelo de estudio, se encontró que al disminuirse los niveles de expresión de la enzima superóxido dismutasa tipo II (SOD2), la cual se encuentra localizada en la mitocondria, se disminuía la locomoción y el tiempo de vida (Martin *et al.*, 2009), mientras que al incrementarse los niveles de expresión de SOD2 se incrementa la longevidad de las moscas (Sun and Tower, 1999). En algunos trabajos en mamíferos se ha demostrado que al sobre-expresar la enzima catalasa en la mitocondria, reduce los niveles de estrés oxidante e incrementa el tiempo de vida. Sin embargo, la sobre-expresión de la catalasa en el núcleo o en los peroxisomas no afecta el tiempo de vida; se propone que la mitocondria es un participante muy importante en el metabolismo

oxidante y en la regulación del tiempo de vida de un organismo (Schriner *et al.*, 2005).

El estrés oxidante es uno de los eventos principales que se encuentra asociado con el daño celular estrechamente relacionado con la progresión de algunas enfermedades y con el envejecimiento. El daño ocasionado por las ERO es muy extenso e inespecífico y los mecanismos involucrados en la reparación del daño son ubicuos para proteínas, lípidos y DNA. Las proteínas oxidadas son reducidas por enzimas como la metionin sulfóxido reductasa (Alamuri y Maier, 2004) y la sestrina (Budanov *et al.*, 2004) o degradadas en sistemas especializados como lo es el proteosoma o los lisosomas, así como por diferentes proteasas. Los peróxidos de ácidos grasos en los fosfolípidos de las membranas son eliminados por la fosfolipasa A2 y reducidos a alcohol por la enzima glutatión peroxidasa (GPx); sin embargo, cuando los peróxidos reaccionan con metales complejos, se forman diferentes aldehídos como el malondialdehído y 4-hidroxinonenal, así como otros hidrocarburos como el etano y el pentano, todos ellos son productos finales del proceso de lipoperoxidación. Finalmente cabe destacar que estos aldehídos pueden reaccionar con los grupos tioles y amino de las proteínas lo que producirá un daño estructural y funcional de las proteínas. Entre los daños que se presentan en el DNA se encuentran los rompimientos de cadena, las modificaciones estructurales en las bases nitrogenadas y los diferentes tipos de mutaciones en la secuencia del DNA, éstas son reparadas por diferentes mecanismos como la unión de fragmentos terminales no homólogos (NHEJ), la recombinación homóloga (HR), la reparación por escisión de bases (BER), la reparación por escisión de nucleótidos (NER) y el sistema de reparación por mal apareamiento (MMR). Se ha reportado que la respuesta en la reparación del DNA juega un papel importante en la estabilidad del genoma, la activación de la apoptosis o la supervivencia y el envejecimiento prematuro.

### **Sistemas de reparación del DNA en el envejecimiento**

El mantenimiento óptimo del DNA nuclear es crítico para el funcionamiento celular, es por ello que los organismos han desarrollado numerosos sistemas de reparación para los diferentes tipos de lesiones que se presentan en el DNA. Los rompimientos de doble cadena (DSB) y los rompimientos de cadena sen-

cilla (SSB) son reparados a través de los sistemas NHEJ y HR; mientras que los daños ocasionados por efecto de las ERO, en donde se producen aductos de DNA como lo son la 8-hidroxidesoxiguanosina, la timina glicol y algunos otros productos de alquilaciones, son reparados a través del sistema BER y NER (Lombard *et al.*, 2005). Finalmente las mutaciones que se presentan en la secuencia de DNA, que son detectadas como malos apareamientos de las cadenas homólogas del DNA, son reparadas por el sistema MMR. Cabe destacar que la diversidad de mutaciones, como lo son las inserciones, deleciones, transversiones y transiciones, pueden ser producto del estrés oxidante. Para la reparación del DNA existen diferentes pasos, el primero es la detección de las lesiones del DNA por sensores moleculares, en segundo lugar está la activación de proteínas de señalización que sirven de moléculas transductoras y finalmente el agrupamiento de las proteínas efectoras de la reparación del DNA. Las ERO producen al aducto 8-hidroxidesoxiguanosina y lesiones DSB, estas lesiones en el DNA son detectadas por dos enzimas muy importantes: la ataxia telangiectasia mutada (ATM), que es una de las proteínas mas importantes en la detección de lesiones DSB, y la 8-hidroxidesoxiguanosin DNA glicosilasa (Ogg-1), que se encarga de sensar al aducto 8-hidroxidesoxiguanosina, así como de activar al sistema BER. Se ha reportado que mutaciones en estas proteínas que participan en la reparación del DNA presentan fenotipos de envejecimiento prematuro.

### **Ataxia telangiectasia mutada (ATM)**

ATM es uno de los principales guardianes de la integridad del genoma. Esta proteína cinasa multifuncional es la encargada de organizar intrincadas respuestas celulares al daño en DNA del tipo DSB. La ausencia o la disfunción de ATM origina desordenes genéticos pleiotrópicos, como la ataxia telangiectasia (AT), patologías relacionadas a la degeneración neuronal, inmunodeficiencia, envejecimiento prematuro y susceptibilidad al cáncer (Shiloh y Kastan, 2001). ATM se activa por la aparición de DSB y por la fosforilación de diferentes sustratos involucrados en las respuestas de reparación del DNA, la apoptosis y la detención del ciclo celular; por lo tanto, ATM es una molécula clave en la estabilidad del genoma, incluyendo la reparación del DNA y los sitios de regulación de la detención del ciclo celular. Recientemente se ha reportado que el estrés oxidante facilita la deficiencia en

la función de ATM, lo que sugiere que se encuentra involucrada en la respuesta antioxidante. La presencia de DSB activa a ATM mediante una autofosforilación en el residuo de Ser-1981, produciendo una disociación dimérica (Bakkenist y Kastan, 2003). Aunque el mecanismo preciso de activación de ATM es todavía incierto, se ha reportado que el complejo Mre11/Rad50/Nbs1 está involucrado en la autofosforilación de ATM ( Lee y Paull, 2005). ATM activada es una cinasa que se caracteriza por fosforilar a la proteína fosfatidil inositol-3- cinasa (PI3K) en su región carboxilo terminal, además de fosforilar numerosas proteínas como H2AX, una de las isoformas de histonas que forman el nucleosoma como H2A, la proteína p53, la cual juega un papel importante en la respuesta celular a diferentes genotóxicos, puede ser fosforilada por ATM en el residuo Ser-15, lo cual tiene como consecuencia el incremento en la transcripción de diferentes genes involucrados en procesos como la detención en el ciclo celular, la apoptosis y la senescencia en respuesta al daño por DSB (Barzilai, 2007; Meek, 2004). Mutantes de diferentes moléculas involucradas en la estabilidad del genoma se han reportado por presentar fenotipos de envejecimiento prematuro. En ratones, la disfunción de Atm, DNA-PKcs, KU86, p53, Wrn y XpdTTd/XPA, las cuales participan en la respuesta de reparación del DNA, causan fenotipos de envejecimiento prematuro en diferentes tejidos y órganos, sugiriendo que las moléculas involucradas en la reparación del DNA tienen un papel importante en el proceso normal de envejecimiento. En los humanos, la patología de AT incluye entre sus características un envejecimiento acelerado. La inestabilidad genómica y defectos en la reparación del DNA como producto de la deficiencia de ATM podrían contribuir al fenotipo de envejecimiento prematuro, ya que ATM participa en el mantenimiento de los telómeros (Hande, 2004; Pandita, 2002). Se ha observado que células que presentan AT, muestran telómeros acortados, además de un incremento en las fusiones teloméricas. Pacientes con AT pueden presentar envejecimiento prematuro, al menos en parte, como consecuencia de la disfunción telomérica.

### **8-Hidroxi-desoxoguanosina-DNA glycosilasa (Ogg 1)**

El daño en el DNA se ha relacionado con la etiología de diferentes enfermedades y el envejecimiento. La reparación de bases oxidadas en todos los organismos se lleva a cabo por medio del sistema de reparación BER. El punto principal en



el sistema BER es el reconocimiento de las bases oxidadas, que posteriormente serán removidas por una enzima DNA glicosilasa. Existen 2 tipos de DNA glicosilasas en los mamíferos, la OGG1 y una homóloga de la endonucleasa tipo III (NTH1), las cuales se ha descrito por tener una función en la remoción de daños oxidativos en las bases nitrogenadas (Hazra *et al.*, 2007). Los sustratos de estas DNA glicosilasas son altamente específicos, pero principalmente reconocen aductos de purinas y pirimidinas. NTH reconoce una gran cantidad de aductos de pirimidinas, como es el caso del aducto Timidina glycol, 5-hidroxidesoxicitosina, dihidrouracil y al menos otras 6 pirimidinas oxidadas. La OGG1 es la principal enzima que remueve los daños oxidantes en los residuos de guanina, entre los que destaca el aducto 8-hidroxidesoxiguanosina (8-OHdG). Se ha reportado que la capacidad de reparación del sistema BER se presenta disminuida en el envejecimiento, y que además se ha observado que en organismos envejecidos disminuye la actividad de OGG1. Consecuentemente con esta disminución en la actividad del sistema BER, se ha observado un incremento en los niveles de concentración del aducto 8-OHdG durante el envejecimiento (Chen *et al.*, 2003). Por otra parte, se ha reportado que en la enfermedad de Huntington, las mutaciones somáticas asociadas a la progresión de la enfermedad se originan en una acumulación del triplete CAG, esta acumulación, a su vez, se debe a una incapacidad del sistema para remover los daños en las bases oxidadas (Kovtun *et al.*, 2007). La acumulación del daño oxidativo debido a la acumulación del aducto 8-OHdG es dependiente del envejecimiento y podría ser la causa en el incremento de los tripletes CAG mediados por la reacción de reparación, lo que nos sugiere que la enfermedad de Huntington es dependiente de la edad.

## MSH2

En nuestro equipo de trabajo, en un modelo murino de la cepa CD-1, se determinó que el daño oxidante en el DNA se incrementa en el envejecimiento. Estos daños oxidativos se presentan por la acumulación del aducto 8-OHdG y por la presencia de rompimientos del tipo SSB y DSB (López-Diazguerrero, 2005). Esta acumulación del daño en el DNA podría ser por una disminución en los niveles de expresión del sistema de reparación MMR, en donde la enzima MSH2 desempeña un papel fundamental durante la reparación del DNA. Los niveles de expre-

sión de la enzima MSH2 se observan disminuidos en diferentes tejidos como el hígado, corazón y ovario de ratones envejecidos de la cepa CD-1. La disminución en la expresión de MSH2 es el resultado de una regulación epigenética, en donde observamos que el promotor de la enzima MSH2 se encuentra metilado en mayores proporciones en los individuos envejecidos en comparación con los individuos sanos (Conde-Perezprina, 2008). Finalmente, en recientes trabajos de nuestro grupo observamos que existe una disminución en los niveles de expresión de la enzima MSH2 dependiente de la edad en dos diferentes tipos de murciélagos, *Desmodus Rotundus* (hematófago) y *Myotis* (insectívoro) y que esta disminución en la expresión de MSH2 tiene como consecuencia un incremento en el daño al DNA evaluado por la aparición de secuencias satelitales, que es un mecanismo alternativo para evaluar el daño oxidativo al DNA.

## Conclusión

El estrés oxidante es un factor importante en la acumulación de biomoléculas oxidadas durante el proceso de envejecimiento. Los perjuicios que destacan en las biomoléculas es el daño al DNA, que puede presentarse en diferentes formas como la aparición de aductos, los rompimientos de SSB y DSB, así como los diferentes tipos de mutaciones. Los sistemas de reparación del DNA cuya disminución se ha observado durante el envejecimiento son el BER, MMR y la enzima ATM. Es evidente que la falla en los sistemas de reparación del DNA tiene consecuencias graves en el funcionamiento bioquímico, estructural y molecular de los individuos, lo que sin duda es una de las características del proceso del envejecimiento. ¿Cómo podremos disminuir los daños oxidantes al DNA? ¿Será esta la alternativa que estamos buscando para aminorar los efectos del envejecimiento? Son algunas de las cuestiones que debemos resolver para comprender el proceso del envejecimiento. Para ello es necesario que desarrollemos modelos biológicos en donde se pueda aumentar la respuesta para contrarrestar el daño oxidante al DNA, tal vez incrementando la expresión de enzimas como Ogg1, ATM o MSH2, o quizá tratando de disminuir los niveles de ERO o aumentando la respuesta antioxidante. Para ello podemos utilizar las herramientas moleculares con las que contamos hasta hoy. En los últimos tiempos han surgido nuevas estrategias para el estudio del envejecimiento, entre las que destacan los modelos horméticos que

se basan en adaptar los modelos biológicos a condiciones ligeras de estrés oxidante, lo que se ha observado es un incremento en la respuesta antioxidante que le confiere protección ante restos letales. Éstos y otros modelos por investigar son los que debemos desarrollar para generar más conocimiento sobre el proceso de envejecimiento.

## Referencias

- Alamuri P, Maier RJ. Methionine sulphoxide reductase is an important antioxidant enzyme in the gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *Mol Microbiol* 2004; 53: 1397–1406.
- Babior BM. The respiratory burst of phagocytes. *J Clin Inv*, 1984; 73: 599-601.
- Bae YS, Kang SW, Seo MS, Baines IC, Tekle E, Chock PB, Rhee SG. Epidermal growth factor (EGF)-induced generation of hydrogen peroxide. Role in EGF receptor-mediated tyrosine phosphorylation. *J Biol Chem*. 1997; 272: 217–221.
- Bakkenist CJ, Kastan MB. DNA damage activates ATM through intermolecular autophosphorylation and dimer dissociation. *Nature* 2003; 421: 499–506.
- Barzilai A. The contribution of the DNA damage response to neuronal viability. *Antioxid Redox Signal* 2007; 9: 211–218.
- Budanov AV, Sablina AA, Feinstein E, Koonin EV, Chumakov PM. Regeneration of peroxiredoxins by p53- regulated sestrins, homologs of bacterial AhpD. *Science* 2004; 304:596-600
- Cadenas E. Basic mechanisms of antioxidant activity. *Biofactors*. 1997, 6:391–397.
- Carmody RJ, Cotter TG. Signalling apoptosis: a radical approach. *Redox Rep*. 2001; 6:77–90.
- Chen SK, Hsieh WA, Tsai MH *et al*. Age-associated decrease of oxidative repair enzymes, human 8-oxoguanine DNA glycosylases (hOgg1), in human aging. *J Radiat Res* 2003; 44: 31–35.
- Conde-Perezprina JC, Luna-López A, López-Diazguerrero NE, Damián-Matsumura P, Zentella A, Königsberg M. Msh2 promoter region hypermethylation as a marker of aging-related deterioration in old retired female breeder mice. *Biogerontology* 2008; 9(5):325-334
- Dalton TP, Shertzer HG, Puga A. Regulation of gene expression by reactive oxygen. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*. 1999; 39: 67-101.

- Delaunay A, Isnard A, Toledano MB. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sensing through oxidation of the Yap1 transcription factor. *EMBO Journal*. 2000; 19: 5157-5166.
- Doke N, Scandalios JG. The oxidative burst: roles in signal transduction and plant stress. In: *Oxidative Stress and the Molecular Biology of Antioxidant Defenses*. Cold Spring Harbor. 1997; 785-813.
- Harman, D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J. Gerontol*. 1956; 11, 298–300.
- Gabbita SP, Robinson K, Stewart C, Floyd R, Hensley K. Redox regulatory mechanisms of cellular signal transduction. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 2000; 376: 1-13.
- Ghosh JMC. Inhibition of arachidonate 5-lipoxygenase triggers massive apoptosis in human prostate cancer cells. *Proceedings of The National Academy of Sciences* 1998; 95: 13182–13187.
- Halliwell B, Gutteridge J M C. *Free radicals in biology and medicine* (3rd ed.) Oxford University Press. 1999; pp. 1-42
- Hande MP. DNA repair factors and telomere-chromosome integrity in mammalian cells. *Cytogenet Genome Res* 2004; 104: 116–122.
- Hazra TK, Das A, Das S, Choudhury S, Kow YW, Roy R. Oxidative DNA damage repair in mammalian cells: a new perspective. *DNA Repair (Amst)* 2007; 6: 470–480.
- Ishii, N., Fujii, M., Hartman, P.S., Tsuda, M., Yasuda, K., Senoo-Matsuda, N., Yanase, S., Ayusawa, D., and Suzuki, K. A mutation in succinate dehydrogenase cytochrome b causes oxidative stress and ageing in nematodes. *Nature* 1998;394, 694–697.
- Jang HH, Surh YJ. Protective effects of resveratrol on  $\beta$ -amyloid induced oxidative PC12 cell death. *Free Radic Biol Med*. 2003;34:1100–10.
- Kiley PJ, Storz G. Exploiting thiol modifications. *PLoS Biol*. 2004; 2:1714-1717.
- Kim HJ, So YJ, Jang JH, Lee JS, Oh YJ, Surh YJ. Differential cell death induced by salsolinol with and without copper: possible role of reactive oxygen species. *Mol Pharmacol*. 2001;60:440–9
- Kovtun IV, Liu Y, Bjoras M, Klungland A, Wilson SH, McMurray CT. OGG1 initiates age-dependent CAG tri-nucleotide expansion in somatic cells. *Nature* 2007; 447: 447–452.
- Lee JH, Paull TT. ATM activation by DNA double-strand breaks through the Mre11-Rad50-Nbs1 complex. *Science* 2005; 308: 551–554. 17
- Lee YJ, Galoforo SS, Berns CM, Chen JC, Davis BH, Sim JE, Corry PM, Spitz DR. Glucose deprivation-induced cytotoxicity and alterations in mitogen activated protein kinase activation are mediated by oxidative stress in multidrug-resistant human breast carcinoma cells. *Journal of Biological Chemistry*. 1998; 273: 5294–5299.

- Lombard DB, Chua KF, Mostoslavsky R, Franco S, Gostissa M, Alt FW. DNA repair, genome stability, and aging. *Cell* 2005; 120: 497–512.
- López-Diazguerrero, NE, Luna-López A, Gutiérrez-Ruiz MC, Zentella Dehesa A, Konigsberg Fainstein M. Susceptibility of DNA to oxidative stressors in young and aging mice. *Life Sci* 2005; 77:2840-2854.
- Martin, I., Jones, M.A., Rhodenizer, D., Zheng, J., Warrick, J.M., Seroude, L., and Grotewiel, M. Sod2 knockdown in the musculature has whole organism consequences in *Drosophila*. *Free Radic. Biol. Med.* 2009; 47, 803–813.
- Meek DW. The p53 response to DNA damage. *DNA Repair (Amst)* 2004; 3: 1049–1056.
- Miller D.M, Buettner GR, Aust SD. Transition metals as catalysts of “autoxidation” reactions. *Free Radic Biol. Med.* 1990;8: 95–108.
- Moradas-Ferreira P, Costa V. Adaptive response of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* to reactive oxygen species: defenses, damage and death. *Redox Report.* 2000;5:277-285.
- Pandita TK. ATM function and telomere stability. *Oncogene* 2002; 21: 611–618.
- Paulovich AG, Toczysky DP, Hartwell LH. When checkpoints fail. *Cell.* 1997;88:315-321.
- Ruis H, Schuller C. Stress signaling in yeast. *BioEssays.* 1995;17: 959-965.
- Scandalios JG. Oxidative Stress and the Molecular Biology of Antioxidant Defenses. Cold Spring Harbor Laboratory Press Plainview NY U.S.A. 1997; 240-425
- Scandalios JG. Genomic responses to oxidative stress. In: Meyers RA (Editor), *Encyclopedia of Molecular Cell Biology and Molecular Medicine*. Vol. 5. 2nd edn. Wiley-VCH Weinheim Germany. 2004;489-512.
- Schriner, S.E., Linford, N.J., Martin, G.M., Treuting, P., Ogburn, C.E., Emond, M., Coskun, P.E., Ladiges, W., Wolf, N., Van Remmen, H., *et al.* Extension of murine life span by overexpression of catalase targeted to mitochondria. *Science* 2005;308, 1909–1911.
- Shiloh Y, Kastan MB. ATM: genome stability, neuronal development, and cancer cross paths. *Adv Cancer Res* 2001; 83: 209–254.
- Storz G, Imlay JA. Oxidative stress. *Current Opin Microbiol.* 1999;2:188-194.
- Sun, J., and Tower, J. FLP recombinase-mediated induction of Cu/Zn-superoxide dismutase transgene expression can extend the life span of adult *Drosophila melanogaster* flies. *Mol. Cell. Biol.* 1999;19, 216–228.
- Tohyama YTT, Yamamura HB. Cell responses to oxidative stress. *Curr Pharma Design.* 2004;10: 835–839.