

---

# HIPOTESIS GENERALES SOBRE EL ENVEJECIMIENTO Y SU RELACION CON EL ACORTAMIENTO DE LA VIDA DE LOS ORGANISMOS IRRADIADOS

---

RODOLFO FÉLIX E.  
Departamento de Radiobiología y  
Genética. Instituto Nacional de  
Energía Nuclear

## INTRODUCCIÓN

Los argumentos relativos a los procesos generales involucrados en el envejecimiento natural y a los factores analizables que los aceleran o retardan, pueden explicar asimismo, algunos de los aspectos comparativos de la senectud. Los datos incluidos dentro del presente contexto fueron extraídos, a juicio del autor, de la literatura tan abundante de que se dispone sobre las investigaciones y acerca de las teorías explicativas del envejecimiento en una multitud de especies. El propósito principal, no es la elaboración de un sumario comprensivo de los procesos que intervienen en el envejecimiento, sino la evaluación de algunas de las teorías más generalizables que se han formulado, así como de la evidencia que las apoya o las contradice.

Es notable la atención de que ha sido objeto la biología de la senectud y su modificación por factores externos durante la última década, como lo indica la abundante literatura sobre los variados aspectos del problema, discutida en numerosas reuniones de investigadores (Shock, 1960, 1962; Handler, 1961; Harris, 1962; Krohn, 1966; Lindop y Sacher, 1966). Los experimentos realizados en el ratón, en *Drosophila* y en otros insectos, son particularmente relevantes en ese orden de importancia, considerando las escasas conclusiones aceptadas para la formulación de hipótesis tendientes a la generalización.

Los investigadores que han dedicado un período valioso de su vida al estudio de los procesos del envejecimiento, comprometen su opinión entre los aspectos del problema que juzgan significativos y las nociones que a su criterio son aparentemente triviales. Por otra parte, la evaluación de los postulados está en función de los resultados experimentales, y su defensa no se funda necesariamente en las secuencias del tipo causa y efecto, ya que los mecanismos propuestos se derivan en algunos casos, a los procesos observables que son consistentes con la información aceptada. En la disponibilidad de varias hipótesis que cumplan con el criterio anterior, se favorecen aquellas que requieran el componente más reducido de suposiciones.

Previamente a la discusión, es conveniente recordar, que los postulados que tienden a la generalización de los conceptos biológicos, como ocurre con las hipótesis sobre el envejecimiento, deben confrontar, tanto los hechos pertinentes, como las observaciones experimentales. Las teorías enunciadas que incluyen, por ejemplo, la alteración de la colágena en relación con la edad, ciertos parámetros bioquímicos, el comportamiento celular en los cultivos de tejidos, etc., deben ser concordantes con las observaciones procedentes de otras líneas de investigación, ya que la literatura biológica es tan vasta, que mediante una selección apropiada (si bien inconscientemente predispuesta) de hechos, se puede sustentar cualquier teoría a condición de que se formule razonablemente.

Las numerosas observaciones y los resultados experimentales en el campo de la gerontología se pueden dividir, en aquellas que son pertinentes, y que por consiguiente contribuyen a la validez de lo que se considera admitido, y las que en relación con los postulados teóricos constituyen únicamente observaciones neutrales. Por ejemplo, la desnutrición durante las primeras etapas del desarrollo que prolonga significativamente la vida de algunos animales (Mc. Cay, 1952; Fanestil y Barrow, 1965), y las dosis relativamente bajas de irradiación que retardan el envejecimiento en el ratón y en *Drosophila* son observaciones que pueden clasificarse en relación con el problema, como descubrimientos neutrales.

En el estudio del envejecimiento es necesario distinguir claramente las modificaciones tisulares y la debilitación producida por los procesos básicos que caracterizan a la senectud, de los eventos patológicos que tienen una relación escasa con el envejecimiento. En el hombre y en varios animales del laboratorio se puede aminorar la interferencia del componente patológico gracias a lo que se conoce acerca de la incidencia natural de numerosas enfermedades al aumentar la edad, así como del debilitamiento observable en las poblaciones que se desarrollan en condiciones óptimas. En este respecto, es necesario evaluar con cierto rigor las conclusiones obtenidas

exclusivamente a partir de tablas de supervivencia de diferentes líneas de la misma especie con diversos periodos de vida. Por ejemplo, una línea de ratones cuyos individuos mueren de leucemia alrededor de los doce meses de edad, no puede considerarse como un ejemplo de la aceleración del envejecimiento, al compararla con otra línea cuyos individuos tienen un periodo de vida cercano a dos años y medio. En forma similar, cuando el periodo de vida se acorta mediante algún procedimiento experimental, las conclusiones sobre la posibilidad del envejecimiento precoz o del envejecimiento acelerado no se justifican si no se tiene un control sobre los factores patológicos que puedan modificar al proceso. El problema se simplifica en los estudios en *Drosophila* mediante una población testigo constituida por numerosos individuos, que desarrollándose en condiciones óptimas tienen una supervivencia media reproducible en cada experimento, que en ausencia de los factores externos que se analizan, representa el periodo de vida media óptimo para la línea que se investiga.

*La acumulación de productos dañinos del metabolismo, como causa del envejecimiento.* Ciertos productos como la colágena, se acumulan en algunos tejidos dando a los órganos la apariencia característica de órganos envejecidos. Mientras la acumulación ocurre en forma notable en algunos tejidos, en otros no tiene lugar; el envejecimiento de la piel constituye el ejemplo mas ilustrativo. Casarett (1964) señala que durante el envejecimiento normal de los mamíferos, tiene lugar un proceso dañino progresivo al nivel histopatológico definible como el incremento de la "barrera histohemática", cuyo principal constituyente es el tejido conectivo que separa a la sangre de las células del parénquima. A través de dicha barrera se efectúa el intercambio del oxígeno, del bióxido de carbono, de nutrimentos y de productos metabólicos. El espesado de la barrera histohemática involucra un aumento de la densidad fibrilar y de la colágena, con el descenso correspondiente en el componente básico del tejido conectivo, lo que origina la fibrosis arteriolocapilar.

Los investigadores en el campo de la biología celular reconocen que los procesos biológicos pueden ser modificados por el material no viviente que rodea a las células, aunque por otra parte, es frecuente que los gerontólogos no consideren el papel que desempeñan las sustancias extracelulares que intervienen en el envejecimiento, a pesar de que se ha demostrado repetidamente que las alteraciones que ocurren en las proteínas fibrosas del tejido conectivo pueden explicar una buena proporción de las manifestaciones del envejecimiento en los mamíferos.

Las principales proteínas fibrosas del tejido conectivo, que son la colágena, la elastina y la reticulina presentan alteraciones similares que contribuyen a las debilidades relacionadas con el envejecimiento. La colágena ha sido estudiada extensivamente considerándosele como un modelo del envejecimiento de las proteínas fibrosas estables. Dada su alta proporción y distribución en el organismo de los vertebrados en general, las alteraciones tan notables en su composición y en sus propiedades, producen efectos observables en el organismo. El papel biológico de la colágena depende de la distribución de la fuerza y de la elasticidad de las fibras maduras que la constituyen, ya que su distribución alrededor y a través de los órganos y de los vasos sanguíneos le permite soportar las tensiones y mantener la forma de los órganos (Oderr, 1964). Las células musculares, cuyo sarcolema contiene colágena, se contraen dentro de un almacén de colágena (Kono *et al.*, 1964). Varios investigadores han propuesto que la fuerza es transmitida de las células del músculo liso a otras células por medio de redes de colágena (Mullins y Guntheroth, 1965; Wiederhielm, 1965). Finalmente, se acepta que en las relaciones tisulares cualquier sustancia que pase entre las células y los vasos sanguíneos, debe hacerlo a través de la colágena.

Entre las causas principales de la muerte de los individuos de una población humana que envejece, se han propuesto secuencias de causa a efecto entre un tejido conectivo que se hace rígido y las lesiones patológicas inherentes. En resumen, la incidencia de la hipertensión y de la arterioesclerosis pueden ser explicados, por el incremento en la rigidez de los vasos más delgados, por la difusión disminuida de nutrimentos y de otros materiales a través de las paredes de los vasos, con la inflamación consecuente y por las complicaciones resultantes de la acumulación de sales minerales y de lípidos. Es probable que el descenso de la resistencia a la infección tenga su origen en la imposibilidad resultante para que las hormonas, nutrimentos y anticuerpos lleguen a los sitios críticos en las concentraciones necesarias, así como en la insuficiente eliminación de sustancias dañinas (Kohn, 1966).

En la actualidad parece evidente que la radiación no acelera la iniciación o el progreso del envejecimiento natural en todas sus manifestaciones. En efecto, en el hombre y en los mamíferos la radiación no abrevia el período de latencia de todas las enfermedades que caracterizan a la senectud, como sería de esperarse si todos los procesos de envejecimiento fueran acelerados (Alexander y Connell, 1963).

No obstante, es un argumento importante en contra de la hipótesis que se discute que las dosis de irradiación que acortan el periodo de vida no aceleran la agregación de la colágena, que aparentemente no muestra modificaciones en los animales irradiados (Connell y Alexander, 1959; Darden *et al.* 1963; Verzar, 1957). Además, los órganos como el músculo esquelético, que no acumulan los productos dañinos del metabolismo mencionados, se alteran notablemente con la edad, constituyendo, de hecho, uno de los síntomas más característicos del

envejecimiento.

Una de las alteraciones celulares más generales que se pueden relacionar con el envejecimiento consiste en la acumulación progresiva de gránulos de lipofucsina en ciertas células del organismo (De Robertis y Sáez, 1960; Bondareff, 1959; Bourne, 1957; Wilcox, 1959). Los gránulos de lipofucsina, que constituyen el llamado "pigmento del envejecimiento" se derivan de los productos de deshecho del citoplasma (Boyd, 1953).

Uno de los ejemplos más conocidos consiste en la llamada "atrofia parda del corazón", que es una característica visible de la vejez localizada en el miocardio. En las preparaciones histológicas, el pigmento se observa como resultado de una aglomeración de gránulos de color pardo en el músculo cardíaco y en otros tejidos como en las células nerviosas, en el *corpus luteum*, en la glándula prostática y en las células intersticiales de los testículos.

Sin embargo, se conoce relativamente poco acerca del significado del "pigmento del envejecimiento", cuya presencia debe ser especialmente significativa en las células de órganos como el corazón y en el sistema nervioso central. Los estudios más recientes, con aplicación de técnicas histoquímicas al nivel de resolución del microscopio electrónico, posibilitan una visión más directa de la significación funcional de estos gránulos pigmentados.

Se ha reunido evidencia en favor de que el pigmento del envejecimiento se relaciona con la estructura conocida como lisosoma. Según la opinión de De Duve (1959a) los lisosomas contienen la mayor parte de las enzimas celulares que pueden fragmentar prácticamente a cualquier sustancia presente en la célula. En circunstancias normales, las enzimas de los lisosomas tienen relación con los procesos de degradación orgánica necesarios para proveer a la célula con los nuevos materiales que se requieren para la reconstrucción de los componentes estructurales necesarios para el mantenimiento de algunos procesos metabólicos básicos (De Duve, 1959b). Los lisosomas se observan como bolsitas limitadas por su propia membrana, que contienen la mayor parte de las enzimas que al ser liberadas pueden causar la degradación fisiológica de los compuestos contenidos en la célula. La membrana que envuelve cada lisosoma evita que las enzimas actúen sobre las estructuras celulares, lo que daría lugar a alteraciones profundas, incluyendo a la muerte celular, ya que se tiene evidencia substancial sobre la posibilidad de que los lisosomas se activen bajo la influencia de una variedad de condiciones fisiológicas o patológicas y sobre la destrucción parcial o total de la célula bajo tales condiciones.

La activación de las enzimas digestivas de los lisosomas puede dar origen a los lisosomas secundarios o derivados; uno de estos, denominado vacuola autófaga, es de especial interés para el estudio del envejecimiento. Las vacuolas autófagas se han observado en una gran variedad de células en el transcurso de eventos metabólicos desfavorables que ocurren durante el ciclo celular, incluyendo a las condiciones patológicas resultantes del bloqueo o interferencia en las rutas metabólicas normales, por agentes como los rayos X y los compuestos alquilantes (Brandes y Anton, 1966). La mayor parte del material contenido en las vacuolas autófagas es digerido por las enzimas lisosomales, con excepción de algunos complejos lipoprotéicos. En este estado, las enzimas hidrolíticas tienden a desaparecer y parte del cuerpo celular queda ocupado por las vacuolas que contienen material indigerible. A estas estructuras se les denomina "cuerpos residuales" que no se pueden distinguir del pigmento del envejecimiento, por lo que De Duve (1964) ha sugerido que la acumulación de residuos de lípidos que tiene lugar durante el envejecimiento resulta de la actividad lipolítica limitada de los lisosomas.

Strehler *et al.* (1959) demostraron que el pigmento del envejecimiento (lipofucsina) se acumula siguiendo una relación cuantitativa con la edad. Dichos autores postulan que "dada su ausencia en los individuos muy jóvenes, su presencia casi sin excepción en los corazones envejecidos, la falta de correlación con alguna enfermedad cardíaca y su acumulación en el miocardio del hombre, cumple con los requerimientos que definen a un proceso básico de envejecimiento".

Como se señaló antes, es posible inducir rápidamente la formación de cuerpos intracelulares similares al pigmento del envejecimiento en individuos jóvenes, por agentes o procedimientos que bloqueen las rutas metabólicas normales. La irradiación produce el mismo efecto, por lo que el proceso puede considerarse como una manifestación del envejecimiento prematuro posterior a la irradiación en varios tipos de organismos.

Hochschild (1971) ha aportado evidencias experimentales en favor de que el deterioro de las membranas celulares, y en especial de la membrana de los lisosomas, puede ser un factor primario causante del envejecimiento. La acumulación gradual de gránulos de lipofucsina en varios tejidos, así como otras evidencias, sugieren que los procesos autocatalíticos constituyen el origen del daño a las membranas celulares. Strehler (1959) señala que dichos gránulos se acumulan en el miocardio humano en una proporción próxima al 0.6% del volumen intracelular total, por década. Se ha demostrado asimismo, que los sistemas de membranas de varios organelos, incluyendo a los lisosomas, se deterioran rápidamente *in vitro* cuando las condiciones ambientales favorecen a la

peroxidación de los lípidos (Packer *et al.*, 1967). Brunk y Brun (1972) reportan que las membranas lisosomales de las neuronas de ratas longevas son significativamente más permeables que las de los animales jóvenes. Asimismo, se ha comprobado un conjunto de sustancias cuyo efecto estabilizador de la membrana se sospecha que prolonga la vida de *Drosophila melanogaster* (Hochschild, 1971) así como de varios tipos celulares *in vitro* (Yuan y Chang, 1965). Hochschild ha sugerido que la membrana lisosomal es el blanco más importante de los agentes que dañan a las membranas y que el paso de enzimas hidrolíticas al citoplasma puede, en principio, ser el factor responsable de varios de los procesos definidos como factores primarios del envejecimiento, que incluyen al incremento de la tasa de mutación (Curtis, 1966) y a la reducción en la precisión en la síntesis de proteínas (Orgel, 1963).

*El envejecimiento producido por el uso y el desgaste orgánico.* La observación de que todos los objetos inanimados muestran un desgaste gradual, hizo pensar a algunos hombres de ciencia, que el envejecimiento podría interpretarse en términos similares. Los efectos de la tensión orgánica ("stress") sobre la salud fueron extensivamente analizados por Selye, quien propuso una relación entre el envejecimiento y los síndromes adaptativos que se desarrollan durante la tensión orgánica (Selye y Prioreshi, 1960).

El concepto de que una enfermedad pueda causar el acortamiento de la vida, aunque tenga lugar una recuperación completa, es muy antigua, empero, su demostración no ha sido posible. Jones (1956) y Comfort (1956) reunieron datos actuariales en favor de que el aumento en la incidencia de enfermedades en una población humana reduce la supervivencia que es de esperarse y que por consiguiente, tiene alguna relación tanto con el envejecimiento como con el aumento en la mortalidad a una edad específica, no implicando que la tensión orgánica acelere el envejecimiento sino que, la vida media de los individuos decrece cuando la probabilidad de un evento fatal aumenta.

En resumen mientras es obvio que la vejez disminuye la capacidad para soportar la tensión orgánica, no se ha demostrado que la misma constituya *per se* una causa significativa del envejecimiento.

Curtis (1961) y Stevenson y Curtis (1961) desarrollaron una serie de experimentos para la evaluación de la teoría del uso y desgaste orgánico y del grado en que la radiación puede considerarse como un tipo de tensión orgánica único, según los efectos generales que tiene en el ratón. En un experimento sometieron colonias de ratones a los efectos de algunos compuestos tóxicos como la mostaza de nitrógeno y el toxoide de la tifoidea, en dosis tan concentradas que aproximadamente la mitad de los animales murieron durante el primer día del tratamiento. Al comparar las curvas de supervivencia de los sobrevivientes con las de los animales que recibieron una dosis semiletal de rayos X, así como con las del grupo testigo, encontraron que los animales inyectados con los compuestos tóxicos mostraron una expectativa de vida semejante a la del grupo testigo, mientras que en los animales irradiados se observó una reducción en el período de vida proporcional a la dosis administrada. El experimento demostró en esta aproximación original al problema, que la tensión orgánica no es un elemento causativo importante que acelere el envejecimiento. Posteriormente, se hicieron otros experimentos para generalizar la conclusión anterior, administrando sustancias tóxicas durante períodos prolongados comparables algunas veces al de la vida del animal, estudiándose el efecto acumulativo de las tensiones repetidas durante la vida del ratón. Se aplicaron varios agentes químicos no específicos, incluyendo a la mostaza nitrogenada administrada por vía intravenosa e intraperitoneal, el toxoide del tétano, la toxina del tétano y el toxoide de la tifoidea, así como trementina por inyección subcutánea, que condicionó el desarrollo de grandes úlceras. Los agentes mencionados se aplicaron en la frecuencia mayor permisible que no matase a los ratones. En algunos casos se administró una dosis casi letal tres días por semana durante un periodo equivalente a las dos terceras partes de la vida de la población testigo, encontrándose en todos los casos, que a pesar de la severidad de los tratamientos, el período de vida no se modificó significativamente.

*La teoría de la mutación somática en relación con el envejecimiento.* La teoría de la mutación somática en relación con el envejecimiento postula que en las células postmitóticas de los organismos tiene lugar una acumulación de mutaciones espontáneas en relación con el incremento de la edad, lo que causa un decrecimiento progresivo en la capacidad funcional de las células afectadas. La tasa de mutación por generación (o durante una fracción equivalente del período de vida) es aproximadamente igual en los individuos de la misma especie bajo ciertas condiciones experimentales, tales como la temperatura en animales poiquiloterms.

El concepto enunciado como mutación somática incluye a todas las alteraciones del material genético contenido en los cromosomas de las células somáticas, que al ocurrir en la línea germinal son identificables como mutaciones génicas o como aberraciones cromosómicas. Mientras Curtis (1963) hace explícito el concepto de que las mutaciones implicadas en el envejecimiento son las que se acumulan en las células que no se dividen, la misma suposición está implícita en las teorías de Failla (1960) y de Szilard (1959).

A partir de las investigaciones iniciales sobre la mutagénesis natural e inducida que definieron algunas de las

metas por alcanzar en la radiobiología, se demostró paulatinamente que las mutaciones ocurren espontáneamente con una frecuencia específica que aumenta con el incremento de la temperatura, por la adición de ciertos compuestos químicos y por la exposición a las radiaciones ionizantes. El espectro de las mutaciones inducidas varía según el tipo y concentración o la dosis de cada agente mutagénico. Se trata de eventos esencialmente irreversibles, variando su grado de expresión desde la letalidad completa, hasta la heterosis. Dado que se acumulan gradualmente en función del tiempo, es de interés intrínseco conocer el grado de acumulación de las mutaciones en varios tipos celulares, así como el efecto que pueden tener sobre la célula afectada en sí misma y sobre el organismo considerado como una unidad constituida por sistemas interdependientes.

Hasta la década pasada, se careció de datos cuantitativos sobre la frecuencia de mutaciones espontáneas en varias especies en condiciones ambientales normales, disponiéndose de determinaciones muy escasas, a pesar de que la mutabilidad espontánea constituye el evento primario del que se derivan los cambios evolutivos.

El interés general sobre la mutagénesis química y sobre la radiogenética ha producido recientemente un aporte considerable de determinaciones exactas del incremento de la mutación espontánea resultante de la exposición a radiaciones ionizantes.

La tasa de mutación por locus y por rad, determinada experimentalmente en varios tipos celulares, se extiende dentro de un amplio rango (Abrahamson *et al.*, 1973). Por ejemplo, el grado de mutación por locus y por rad es  $1 \times 10^{-9}$  en *Escherichia coli* B/r en dos loci que confieren resistencia al fago T1;  $2.7 \times 10^{-9}$  en el locus ad3 de *Neurospora*;  $1.4 \times 10^{-8}$  en ocho loci específicos de *D. melanogaster*;  $1.7 \times 10^{-7}$  en doce loci específicos del ratón y  $1 \times 10^{-6}$  en tres loci de la cebada.

Por otra parte, la dosis letal media determinada al estimar la supervivencia de células irradiadas, depende de su propio contenido de ADN (Terzi, 1961; 1965). Abrahamson *et al.* (1973) compararon los datos reseñados sobre la tasa de mutación en organismos tan diferentes como las bacterias, los hongos, las plantas superiores, los insectos y los mamíferos, de los que se conoce además el contenido de ADN por núcleo. Cuando los datos anteriores sobre la tasa de mutación por locus y por rad, que difieren dentro de tres órdenes de magnitud se ajustan según el contenido de ADN por núcleo, normalizándose así en relación con un componente biológico común, las tasas de mutación resultantes son esencialmente iguales variando dentro de un factor de 1 a 3 en vez de 1 a 1,000 (en dos loci que confieren resistencia al fago T1 de *E. coli*:  $2.2 \times 10^{-7}$ ; en el locus ad3 de *N. crassa*:  $1.9 \times 10^{-7}$  en ocho loci específicos de *D. melanogaster*:  $2.4 \times 10^{-7}$ ; en espermatogonias de *Mus musculus* (ratón):  $2.2 \times 10^{-7}$ ; en tres loci de *Hordeum vulgare* (cebada):  $2.9 \times 10^{-7}$ ). Esta consistencia tan notable, presente en organismos tan diversos, afirma que la validez de la extrapolación directa de los organismos experimentales al hombre se pueda asegurar con confianza. La tasa de mutación normalizada según el contenido de ADN en células humanas es igual a  $2.6 \times 10^{-7}$ , por locus y por rad. Los datos examinados se refieren a mutaciones inducidas por irradiación aguda, ya que cuando la irradiación es crónica, o bien si se trata de células germinales durante diferentes estados de maduración, el grado de mutación puede diferir por un factor comprendido entre 3 y 4.

La vida de los animales se acorta cuando son expuestos a la irradiación, obteniéndose curvas sigmoides al graficar la supervivencia en función del tiempo transcurrido después del tratamiento. La supervivencia media disminuye al aumentar la dosis de exposición. Por otra parte, se ha demostrado una diferencia en la sensibilidad entre líneas diferentes de ratones (Grahm y Hamilton, 1957), que puede referirse a su vez, a la heterogeneidad de su composición genética.

Son numerosas las investigaciones, que en años recientes, analizan la reducción del período de vida en los mamíferos irradiados: Patterson *et al.* (1952); Kohn y Kallmann (1956); Sacher (1956); Curtis y Healey (1957); Failla y Clement (1957); Sacher (1957); Upton (1957); Curtis (1958); Curtis y Gebhard (1958); y Kallman y Kohn (1958); Connell y Alexander (1959); Lessler (1959); Szilard (1959); Whitfield y Rixon (1959); Alexander y Connell (1960); Failla (1960); Failla y Clement (1960); Upton (1960); Upton *et al.* (1960); Korenchevsky (1961); Lindop y Rotblat (1961); Lindop y Roblat (1962); Alexander y Connell (1963); Bender y Gooch (1963); Curtis y Crowley (1963); Darden *et al.* (1963); Kohn y Guttman (1963); Krohn (1963); Cassarett (1964); Curtis *et al.* (1964); Jones y Kimeldorf (1964); Hayflick (1965); Curtis *et al.* (1966); Kohn (1966); Kimeldorf *et al.* (1966); Krohn (1966); Lindop y Sacher (1965); Michaelson (1966); Yuhas (1967); Henschen (1968); Spalding *et al.* (1969); Sacher *et al.* (1970); Ordy *et al.* (1971); Storer (1971); Warren y Gates (1971).

Asimismo, la reducción del período de vida en insectos irradiados ha sido reseñada por numerosos autores: Timofeeff-Ressovsky (1939), Clark y Kelly (1950); Byers y Muller (1952); Muller (1954); Fahmy y Fahmy (1956);

Baxter y Tuttle (1957); Clark (1957); Blair (1958); Oster y Cicak (1958); Maynard Smith (1959); Oster (1959a), Oster (1959b); Ostertag y Muller (1959); Muller (1960), Shock (1960); Strehler (1960); Clark y Rubin (1961); Maynard Smith (1962); Shock (1962); Clark *et al.* (1963); Muller (1963), Nothel (1963); Orgel (1963); Sonnenblick y Grodis (1963); Sacher (1963); Crow y Temin (1964); O'Brien y Wolfe (1964); Strehler (1964); Clark y Maynard Smith (1966); Comfort (1966); Lindop y Sacher (1966); Maynard Smith (1966); Rockford (1966); Rockstein (1966); Austin (1967); Baxter y Blair (1967); Clark y Cole (1967); Sonnenblick y Gartner (1967); Comfort (1968); Nöthel (1968); Atlan *et al.* (1969); Lamb y Maynard Smith (1969); Menhinick y Crossley (1969); Baxter y Blair (1970) Gartner (1970-1971).

Al aplicar dosis subletales de electrones acelerados a imagos de *D. melanogaster* se derivan gráficas de supervivencia, cuyo análisis favorece a la hipótesis de la aceleración del envejecimiento causada por la irradiación, ya que el porcentaje de supervivencia media es independiente de la edad en la que se irradiaron los adultos (Félix; 1972a).

La expectativa de vida posterior a la irradiación es acortada en grado mayor en los machos que en las hembras, resultado que es congruente con la pérdida o inactivación celular diferencial debido a la haploidía de una quinta parte del genoma en el macho, que posibilita la expresión de los genes recesivos letales o detrimentales contenidos en el cromosoma X. Las dosis menores de irradiación alargan en algunos casos la expectativa de vida de *D. melanogaster*, lo que, en las hembras se ha atribuido a la esterilidad producida por el tratamiento (Félix, 1972a).

Con el propósito de investigar la relación entre el parentesco genético y la dosis letal media en cuatro especies de *Drosophila*, se irradiaron imagos en un gradiente de dosis de electrones acelerados entre los límites de 8.32 a 91.52 KR. Únicamente entre *D. melanogaster* y *D. simulans* no se encontró una diferencia significativa en el valor de la DL<sub>50</sub>. Ambas son especies muy emparentadas del grupo *melanogaster*, que tienen la misma constitución cromosómica y que pueden producir descendencia interespecífica (Félix y Ramírez, 1967).

La adición de los compuestos antioxidantes; hidroxitolueno butilado, hidroxianisol butilado y galato de propilo, al medio de cultivo, prolonga significativamente el periodo de vida media de algunos de los grupos de adultos así tratados. (Félix, 1972b). El efecto es más notable en los machos que en las hembras, lo que sugiere una protección contra algún tipo de daño genético inducido por los radicales libres que se generan espontáneamente en las células postmitóticas, dada la haploidía señalada antes, de una parte significativa del genoma de los machos.

Aunque se ha demostrado una relación lineal, dentro de ciertos límites entre la dosis de radiación gama y el acortamiento de la vida, la DL<sub>50</sub> aumenta con el fraccionamiento de las dosis (Paterson *et al.*, 1952). Con apoyo en los datos anteriores y en otras observaciones complementarias, Blair (1958) formuló una teoría sobre el acortamiento de la vida debido a la irradiación según los conceptos siguientes. El daño total causado por la irradiación es proporcional a la dosis. Mientras el daño inducido es en parte reparable, el daño irreparable se acumula en razón de la dosis fatal. Como ambos tipos de daño son aditivos, la muerte ocurre cuando la suma de ambos componentes alcanza un nivel crítico determinado, que tiene a su vez, un efecto inversamente proporcional con respecto a la edad de los animales irradiados.

Los demógrafos han reconocido desde hace tiempo, que el logaritmo de la mortalidad específica en función de la edad en una población (fuerza de mortalidad) graficado contra la edad en que ocurre la muerte, es aproximadamente lineal después de los primeros años de la infancia. Esta relación, conocida como función de Gompertz se aplica también a las poblaciones irradiadas (Sacher, 1956).

Dada la ignorancia que se tiene sobre las lesiones básicas que acortan la vida en los animales multicelulares, el efecto conocido de la radiación como un agente mutagénico promovió la especulación sobre la importancia de la mutación somática como un evento biológico fundamental determinante del envejecimiento. La idea implícita en este concepto es antigua en la biología, aunque la formulación de una teoría en términos definidos, es reciente. Curtis (1958), Szilard (1959) y Faila (1960), han señalado los efectos deletéreos posibles, resultantes de la mutación espontánea, que se acumulan tanto en las células somáticas en multiplicación, como en las que no se dividen. Por otra parte, está demostrado, a partir de abundante evidencia directa, que la gran mayoría de las mutaciones reducen el valor adaptativo del genoma, por lo que es explicable que los órganos de animales seniles, que han acumulado un número apreciable de células portadoras de mutaciones, manifiesten una menor eficiencia funcional a la que comparativamente tendrían en otras condiciones. A pesar de que la teoría es muy sugestiva, la evidencia en su favor fue únicamente fragmentaria antes de la última década.

Szilard (1959) postula a la mutación somática como la causa fundamental del envejecimiento, asumiendo que la muerte celular ocurre cuando dos genes homólogos que intervienen en una función esencial, son modificados por

la mutación. Cada mutación que hereda el individuo es designada por Szilard como una “falta”, que difiere en su momento de ocurrencia de la mutación espontánea o “impacto” que tiene lugar en las células somáticas del adulto. Szilard calculó, tanto el promedio de faltas acumuladas como los impactos inducidos por la radiación ionizante, determinando el acortamiento de la vida humana en función de ambos eventos.

Otro componente importante, a saber, los mecanismos posibles de reparación de las mutaciones, se desconoce en su mayor parte. Al respecto, es significativo que los intentos para acortar el período de vida mediante mutágenos que no tuvieron éxito en un principio (Curtis, 1958), dieron resultados positivos en experimentos posteriores (Alexander y Connell, 1960). En estos experimentos se examinaron los efectos radiomiméticos manifiestos en el acortamiento de la vida que producen los mutágenos químicos cuando son administrados al ratón.

Las técnicas desarrolladas durante la última década para la observación de los cromosomas humanos proporcionan otro enfoque aplicable a la resolución del mismo problema. Bender y Gooch (1963) demostraron que las células de la sangre procedente de individuos expuestos accidentalmente a dosis muy moderadas de irradiación, contienen cromosomas anormales aún varios años después de la exposición. Por otra parte, Jacobs *et al.*, (1961) descubrieron que en la sangre del hombre, las células con números anormales de cromosomas aumentan con la edad. En observaciones posteriores con el mismo propósito, Jacobs *et al.* (1964) encontraron un incremento en la frecuencia de leucocitos con anomalías cromosómicas en individuos a partir de los 65 años de edad.

Las observaciones anteriores son también relevantes a la selección celular que debe ocurrir en la médula ósea (Bender y Gooch, 1963). Desde este punto de vista, las aberraciones cromosómicas observadas por Jacobs *et al.*, (1961, 1964) deben corresponder a una pequeña proporción de las que tienen lugar espontáneamente, a no ser que las células con aberraciones tengan un valor adaptativo neutral o mayor al que exhibe el resto de la población, por lo que el efecto que tengan sobre el envejecimiento, según la teoría de la mutación somática, debe ser mínimo. Los órganos con proliferación celular activa como la médula ósea no envejecen, según dicho criterio. En las células de los órganos con actividad mitótica muy reducida, como el hígado de los mamíferos, las aberraciones cromosómicas se acumulan en función de la edad (Crowley y Curtis, 1963), por lo que se afirma legítimamente que el envejecimiento celular así considerado, tiene lugar en los órganos con división celular muy reducida, o nula como el hígado y el sistema nervioso, respectivamente.

La mayoría de las teorías que tratan de explicar los mecanismos básicos de los procesos de envejecimiento, son de carácter genético. Failla (1958, 1960) y Failla *et al.* (1957, 1960) propusieron que según el comportamiento estadístico de la mortalidad, ésta es resultante de la acumulación de mutaciones en células somáticas en función del tiempo. Si la mutación es un factor causativo del envejecimiento, es de esperarse una correlación positiva entre el grado de mutación y el grado de envejecimiento, sobre lo que se ha reunido evidencia considerable (Félix, 1972c).

*Importancia de los estudios sobre mutagénesis y envejecimiento en Drosophila.* La eficiencia biológica de los organismos y de las poblaciones se expresa como su propia adaptabilidad, por lo que la respuesta biológica a la irradiación se puede medir examinando la expresión de los propios componentes determinantes de la adaptabilidad. Los efectos no genéticos de la irradiación quedan limitados, por consiguiente a aquellos componentes involucrados al nivel individual, a saber la capacidad reproductiva, la velocidad del desarrollo y la duración de la vida. La capacidad reproductiva del individuo, es afectada principalmente por las mutaciones letales dominantes inducidas en las células y secundariamente por los eventos letales que tienen lugar en los trofocitos germinales (Demerec *et al.* 1944; Von Borstel y Rekemeyer, 1959; Lachance y Riemann, 1964; Erdman, 1965). La velocidad del desarrollo refleja la diferenciación anterior al imago o los procesos de envejecimiento en un sentido más general, mientras que la duración de la vida del adulto corresponde al envejecimiento natural *sensu stricto*. Por consiguiente los efectos de la irradiación en los insectos quedan comprendidos dentro del concepto “efectos de la irradiación sobre el envejecimiento”.

La sensibilidad de los estados sucesivos de desarrollo larvario y de la pupa a la radiación ionizante se evalúan simplemente por la supervivencia hasta alcanzar el estado adulto. El valor de la  $DL_{50}$  desde la emergencia del imago que en *Drosophila melanogaster* depende del estadio irradiado, varía desde 400R durante el desarrollo embrionario hasta 40,000R aproximadamente cuando se tratan los estadios de la pupa. Estas diferencias por un factor de 100, que fueron descritas por Mavor (1927), son prácticamente las mismas que las que corresponden a otros insectos. Por ejemplo se han encontrado valores similares en *Habrobracon* (Amy, 1959; Clark 1957; Erdman, 1961), en las especies de *Daucus* y *Ceratitis* (Balock *et al.*, 1963) y en *Anastrepha* (Benschoter y Telich, (1964). Por otra parte, la radiosensibilidad de los estadios de desarrollo de *Drosophila* es constante, si se mide en un sólo tipo celular, la espermatogonia, y en un sólo efecto, que en la inducción de letales recesivas (Nöthel, 1968).

Aunque se desconoce en qué grado los procesos causantes del envejecimiento de *Drosophila* son relevantes a los procesos similares que tienen lugar en los mamíferos, la similitud entre los resultados de experimentos análogos en insectos y en ratones justifica a la esperanza en favor de que la investigación en *Drosophila* contribuya a la resolución de algunos de los aspectos fundamentales involucrados en el envejecimiento natural del hombre.

El soma del imago de los insectos es un sistema postmitótico que constituye un material biológico especialmente adecuado para el estudio de los factores intrínsecos y extrínsecos determinantes de la duración de la vida, según los postulados por la teoría de la mutación somática en relación con el envejecimiento.

El incremento de la temperatura produce un aumento correspondiente en la frecuencia de mutaciones (Muller, 1928; Timofeef Ressovsky, 1939; Plough, 1942; Byers y Muller, 1952), así como una aceleración del envejecimiento en poblaciones experimentales de *Drosophila* (Pearl, 1928, Comfort, 1956; Strehler, 1959, 1960).

El grado de mutagénesis está relacionado en alguna forma con la edad del organismo y por analogía, con la edad de la célula en la que tiene lugar la mutación, Muller (1945) y Muller *et al.* (1961) descubrieron que la frecuencia de mutaciones varía marcadamente con la edad del espermatozoide en *Drosophila*, demostrando que las mutaciones espontáneas se acumulan en el espermatozoide maduro almacenado en la hembra, y que también se acumulan las mutaciones espontáneas letales recesivas ligadas al sexo en los espermatozoides almacenados en el macho.

Muller *et al.* (1961) interpretaron estos datos como una evidencia experimental en favor de su teoría acerca de que la mayoría de las mutaciones (espontáneas e inducidas) son el resultado de alteraciones en el gene "preexistente", esto es, que no se requiere la duplicación del gene para que se fije el evento mutagénico, por lo que es probable, que la mutagénesis en las células fijas, postmitóticas, sea resultante de procesos que no difieren esencialmente de los que concurren en la mutagénesis de las células que se replican.

Por otra parte, que las mutaciones ocurren tanto en células somáticas como en células germinales, es una deducción lógica derivada de la calidad del ADN, que es idéntica en las células somáticas y en las células germinales. Solamente la frecuencia y la expresión de las mutaciones, así como la supervivencia de las células que las contienen, pueden variar entre tipos celulares diversos.

El valor absoluto de la frecuencia de las mutaciones en células somáticas puede diferir tanto de un tejido a otro, como con respecto a la tasa de mutación de las células germinales, debido a la interacción diferencial entre el genotipo y el medio ambiente en cada caso. Muller (1954) reunió evidencia en favor de que la frecuencia de las mutaciones visibles en las células somáticas en los embriones de *Drosophila*, es del mismo orden de magnitud que la frecuencia del mismo evento en las células germinales.

A la fecha, son numerosos los hallazgos reunidos sobre la correspondencia entre las variaciones en las secuencias de aminoácidos de proteínas específicas y las modificaciones en el material genético. Una sola sustitución entre 146 aminoácidos (ácido glutámico por valina) en la cadena beta de la hemoglobina, es suficiente para que se altere notablemente el comportamiento bioquímico de la molécula completa. El genotipo anormal resultante es ampliamente conocido en la clínica como "anemia semilunar" (Ingram, 1963). Por otra parte, aunque la información genética se conserve íntegra pueden ocurrir eventualmente errores en la ejecución de las instrucciones genéticas dada la habilidad limitada de las superficies macromoleculares para discriminar entre moléculas muy semejantes.

La senectud es un proceso universal en los organismos vivos (Comfort, 1956; Bourliere, 1958; Dobzhansky, 1958; Strehler, 1960). El hecho de que la mayoría de las especies tienen períodos de vida bien definidos, parece ser relevante a la constancia de la información codificada en el ADN en cada especie. Williams (1957) ha propuesto que la senectud es un carácter evolutivo característico del soma de "individuos fisiológicamente definidos", siendo las mutaciones la fuente del cambio evolutivo. La información genética de la célula está almacenada dentro de la secuencia precisa de bases púricas y pirimídicas en la molécula del ADN. Los cambios, adiciones o deficiencias en esta secuencia de bases, ya sea por la reorganización especial o por la sustitución de formas tautoméricas, introducen errores en el contenido de información del genoma. Por ejemplo, el ácido nitroso es causante de la deaminación oxidativa de la citosina convirtiéndola en uracilo; el bromouracilo, que se aparea con la guanina, puede ser incorporado al ADN en lugar de la timina, transformando al par adenina-timina en el par guanina-citosina; y los colorantes de acridina pueden intercalarse entre las bases, incorporando bases adicionales al ADN durante la replicación (Harris, 1971). Dichas alteraciones en la molécula de ADN quedan incluidas dentro de lo que se define como mutaciones puntuales. Es razonable, dada la evidencia experimental tan abundante que se ha acumulado, adelantar la posibilidad de un desarreglo progresivo en las células somáticas con el aumento de la edad

cronológica, como resultado de la eficiencia decreciente del ADN, que es necesaria para la regulación de la síntesis proteica y para la supervisión de la actividad conjunta de las células, como consecuencia directa de la acumulación de las mutaciones en función del tiempo.

*La hipótesis de Orgel.* Algunos experimentos recientes (Johnson, 1963) indican que la frecuencia de errores en el ARN y en las proteínas puede ser de 10 a 100 veces mayor que el mismo parámetro en el ADN. La teoría de Failla (1958) predijo tal relación. Por otra parte, existen varios mecanismos de corrección de errores en la línea germinal, tales como la fecundación o la conjugación. Las células germinales, por consiguiente, tienen una capacidad de recuperación que se expresa en un grado mayor al que es de esperarse en las células somáticas. Según este principio, al nivel individual, los efectos de las mutaciones en las células somáticas son más significativas que en las células germinales.

Orgel (1963) señaló que el fracaso para mantener la precisión requerida en la síntesis de proteínas, podría causar envejecimiento celular. El material genético proporciona la información precisa para la síntesis de proteínas; no obstante, es de esperarse que puedan ocurrir errores ocasionales tanto en la transcripción como en la traducción de esta información (Lofffield, 1963). La presencia de unas cuantas moléculas de proteínas defectuosas, resultaría únicamente en un descenso pequeño en la eficiencia metabólica, pero la misma situación no sería trivial para el grupo de enzimas que se requieren para la transcripción o para la traducción de la información genética, (polimerasa del ARN, sintetasa-aminoacil-ARNt y probablemente otras enzimas que intervengan en las síntesis de los ácidos ribonucleicos). En este caso, una molécula defectuosa con especificidad disminuida, causaría la producción de moléculas defectuosas en proporción considerable. Orgel indicó que si bien la frecuencia inicial de errores en una célula puede ser pequeña, en la ausencia de división celular y de selección en favor de las células sin deficiencias enzimáticas, tendría lugar un aumento exponencial en la frecuencia de errores que conduciría a una "catástrofe de errores" y a la muerte celular. En organismos diferenciados en los que el grado de renovación celular se reduce al aumentar la edad, es de esperarse que aumente con el tiempo la proporción de células afectadas en esta forma. El mismo autor sugirió una prueba experimental para la validez de esta hipótesis, que consiste en aumentar artificialmente la frecuencia de errores en las síntesis de proteínas, mediante el tratamiento de células con cantidades no tóxicas de análogos de aminoácidos o de bases del ARN. Un sólo tratamiento iniciaría una catástrofe de errores incipiente, cuyos efectos serían manifiestos en la célula o en el organismo, tiempo después de la adición de los análogos. Harrison y Holliday (1967) llevaron al cabo el experimento con resultados positivos en *D. melanogaster*, que es un organismo particularmente adecuado para este tipo de investigación. Las larvas en crecimiento activo se alimentaron con los suplementos agregados al medio. Después de la metamorfosis hay una división celular muy reducida en el adulto, aparte de las células germinales, de manera que no hay probabilidad de selección de células saludables para substituir a las células que mueren debido a la síntesis de proteínas alteradas. Harrison y Holliday (1967) emplearon análogos de aminoácidos en vez de análogos de bases del ADN, porque éstos podrían incorporarse al ADN causando mutaciones somáticas, por lo que, el efecto en la longevidad por el tratamiento con análogos de bases podría atribuirse a mutaciones más bien que a un efecto en la síntesis de proteínas, ya que es poco probable que se puedan inducir mutaciones por adición de análogos de aminoácidos. Aunque no existe evidencia directa de que los análogos de aminoácidos se incorporan a las proteínas de *Drosophila*, es probable que ocurra dicho fenómeno, según los datos positivos obtenidos en otras células animales y en microorganismos (Richmond, 1962). Los análogos de aminoácidos pueden disminuir la especificidad de los aminoácidos naturales. El tratamiento redujo efectivamente la vida media de *Drosophila*. Tal descubrimiento no prueba necesariamente que la hipótesis de Orgel sea correcta, pero confirma una de sus predicciones principales, esto es, que el aumento en la frecuencia normal de errores en la síntesis de proteínas acorta el período de vida.

Otro experimento relevante es el de Clarke y Maynard Smith (1966), quienes demostraron que el grado de restitución de algunas de las proteínas en individuos longevos de *Drosophila* es 2 veces mayor con relación al que tiene lugar en los adultos jóvenes, resultado que puede ser explicado con base en la hipótesis de Orgel. Si algunas de las proteínas que se sintetizan en animales longevos son defectuosas, es muy probable que existan mecanismos de control compensatorios, de la síntesis de proteínas anormales, que en su mayor parte son desnaturalizadas y degradadas.

En contraste con otras teorías sobre el envejecimiento, la de Orgel tiene la virtud de definir claramente, en términos bioquímicos, una causa posible del envejecimiento celular.

*El envejecimiento al nivel celular.* Aunque el envejecimiento de los organismos complejos se origina al nivel celular, los eventos iniciales ocurren indudablemente al nivel molecular, puesto que la continuidad fisiológica de la célula normal requiere de un complemento de enzimas funcionando propiamente bajo mecanismos reguladores controlados.

En el pasado se consideró como un principio biológico demostrado experimentalmente, la capacidad

proliferativa ilimitada de la célula, citándose frecuentemente a la multiplicación indefinida de células aisladas procedentes de vertebrados, en medios de cultivos artificiales, como una evidencia en favor de la tesis que definía a la senectud en animales superiores como un fenómeno resultante de evento, al nivel supracelular. Esta noción influyó profundamente sobre varios conceptos biológicos fundamentales, incluyendo por supuesto, a las teorías generales sobre el envejecimiento. No obstante, el comportamiento *in vitro* de células somáticas normales, revela que dichas células tienen un período de vida finito.

La investigación en cultivo de tejidos proporciona una evidencia favorable la teoría del envejecimiento de las células individuales. Hayflick (1965) descubrió que las células procedentes de varios órganos en cultivo de tejidos, pueden dividirse aproximadamente de 50 a 70 veces antes de fragmentarse y morir, exceptuando la posibilidad de que tenga lugar una alteración no definida en el cultivo, que por su naturaleza, lo transforma en un cáncer. Asimismo, las células con que se inicia el cultivo procedentes de un animal longevo, pasan por un número menor de divisiones, que las obtenidas de un animal joven. En general, no se cuenta con ninguna prueba experimental en favor de que las células normales se puedan mantener en un estado de proliferación activa en cultivos de células durante un período de tiempo mayor al de la edad específica de la especie de la que se obtuvieron. Es significativo, que, según la evidencia experimental acumulada al comparar sistemas apropiados, los fenómenos de envejecimiento celular en los vertebrados *in vivo* no difieren de los que tienen lugar *in vitro*. Los experimentos de Hayflick (1965), constituyeron una de las evidencias más firmes en favor de la teoría sobre la muerte celular causada por la acumulación de mutaciones.

El envejecimiento y el período limitado de vida que exhiben las células normales, son resultantes de eventos programados que imponen un límite a la duración de la vida de un organismo, lo que indica, a su vez, que aunque fuera posible evitar todas las causas incidentales del envejecimiento los organismos sucumbirían inevitablemente, al cumplirse cierto lapso, debido al fracaso funcional de sus células somáticas.

Price *et al.* (1971) demostraron la fragmentación que tiene lugar en las moléculas del ADN durante el envejecimiento de las células del cerebro (neuronas, astrocitos y células de Kupffer), del hígado y del músculo cardíaco en el ratón, interpretando sus observaciones como resultantes de la acumulación de rupturas de la molécula de ADN en función del tiempo. Estos datos complementan a las teorías sobre el envejecimiento que implican mecanismos inductores de errores resultantes de un desarreglo progresivo, que se manifiestan como modificaciones, en ciertas poblaciones celulares.

A partir de las investigaciones de Woods (1940) sobre los mecanismos de acción de las sulfonamidas, se ha demostrado que algunos inhibidores de interés biológico, son análogos estructurales de algún metabolito esencial. Tales inhibidores compiten en algunos casos con el metabolito natural, en el centro activo de la enzimas. Este fenómeno es de cierta trascendencia, puesto que algunos análogos son tan similares al compuesto natural, que se incorporan a las proteínas en lugar de los aminoácidos naturales, resultando proteínas con actividad enzimática modificada. Uno de los efectos más notables derivados de dichas sustituciones es la inhibición del crecimiento que se ha observado en microorganismos.

En la mayoría de las especies investigadas no ha sido posible distinguir entre los cambios degenerativos nucleares y las modificaciones citoplásmicas causativas del envejecimiento. No obstante, en algunos hongos se puede hacer la distinción entre el control nuclear y el control citoplásmico de fenotipos específicos, evidenciándose en varias especies procesos de senectud clonal explicables según la hipótesis de Orgel. Dos de las especies estudiadas con este propósito son *Podospora anserina* y *Aspergillus glaucus* (Jinks, 1964). La interrupción del crecimiento vegetativo en la primera especie se denomina senectud, mientras que en la segunda se define como muerte vegetativa. Los fenotipos de ambas condiciones son muy semejantes en las dos especies, por lo que sería sorprendente que el mecanismo causativo no fuera el mismo. En las dos especies el grado de crecimiento vegetativo, que se mantiene constante durante cierto tiempo, es interrumpido repentinamente, observándose con anterioridad, deformaciones, hinchamientos y otras alteraciones morfológicas en los extremos de las hifas, que preceden a la muerte conjunta del citoplasma en la zona de crecimiento del micelio.

En ambas especies la prueba del heterocarión ha demostrado que la senectud es resultante de factores citoplásmicos, ya que, cuando las hifas normales se unen a hifas longevas el agente que causa la senectud se difunde infectando al micelio normal. En experimentos complementarios, se ha demostrado, mediante micelios portadores de marcadores genéticos apropiados, que la infección en *Aspergillus* no está asociada a la migración de los núcleos procedentes de las hifas longevas a las hifas jóvenes y que en *Podospora*, la infección nunca se trasmite por medio de los gametos masculinos.

La evidencia está en favor de la acumulación de errores en algunos tipos de moléculas enzimáticas debido a la inexactitud en su síntesis en el citoplasma longevo, ya que es demostrativo que tales moléculas transmiten dicho

defecto al pasar a un citoplasma normal. Al resultar varias proteínas afectadas, se produce un espectro amplio de alteraciones morfológicas, durante las etapas finales del crecimiento.

Como se señaló antes, al agregar al medio de cultivo de las larvas de *Drosophila* concentraciones no tóxicas de análogos de aminoácidos, para incrementar la frecuencia natural de errores durante la síntesis de proteínas, se reduce la longevidad de los adultos. Se hicieron experimentos similares para demostrar el mismo efecto en *Podospora*, ensayándose varios análogos de aminoácidos, cuya incorporación a proteínas se comprobó previamente (Holliday, 1969). Los resultados correspondieron a las premisas anticipadas, ya que varios de los análogos inhiben efectivamente el crecimiento de *Podospora*. Al agregar al medio de cultivo el metabolito natural, se interrumpe el efecto inducido por el análogo.

Posteriormente, se llevaron al cabo pruebas más definitivas sobre la misma hipótesis, en *Neurospora*. Los cultivos de *Neurospora* no envejecen en la misma forma regular y reproducible característica de *Podospora* y de *Aspergillus* (Mc. Dougall y Pittenger, 1966), lo que es de esperarse, dado que *Neurospora crassa* en condiciones silvestres, en las que operan factores selectivos en favor de la longevidad, se reproduce mediante procesos asexuales. Por otra parte, *Podospora* y *Aspergillus* son especies homotálicas que deben pasar continuamente por el ciclo sexual, proceso que les permite escapar de la senectud. No obstante, se dispone de variantes genéticas de *Neurospora*, que tienen vida corta, así como otras propiedades similares a las de las especies homotálicas. Un mutante de este tipo es el *nd* (natural death) cuyo crecimiento tiene lugar con la velocidad característica del tipo silvestre, interrumpiéndose súbitamente con la muerte consecuente del micelio. Es probable que la mutación *nd*, al reducir la precisión de la síntesis de proteínas conduzca a la muerte prematura del citoplasma.

El envejecimiento clonal se ha comprobado también en algunas especies de protozoarios. En *Paramecium aurelia*, estudiada extensivamente por Sonneborn y colaboradores, el envejecimiento se acompaña por un deterioro gradual del citoplasma, que es evitable, cuando menos parcialmente por la conjugación, siempre que la edad de los individuos conjugantes no sea muy avanzada. El citoplasma envejecido de *Paramecium* induce mutaciones en el micronúcleo manifiestas en su mayor parte como cambios estructurales (Sonneborn y Schneller, 1960a, 1960b).

Si la senectud en *Podospora* y la muerte vegetativa en *Aspergillus* se deben a una disminución progresiva en la fidelidad de las síntesis de proteínas se constituyen ejemplos de herencia citoplásmica resultante de la acumulación de errores al nivel molecular. Los ejemplos anteriores junto con los resultados experimentales señalados antes, en *Drosophila* (Harrison y Holliday, 1967) afirman indirectamente la hipótesis anticipada por Orgel.

La cinética del envejecimiento clonal que tiene lugar en las células diploides humanas, estudiadas por Hayflick (1965) es notablemente similar a la que opera en *Podospora*, en *Aspergillus* y en *Paramecium* lo que sugiere que durante la senectud de los organismos multicelulares operan factores similares a los determinantes del envejecimiento clonal.

*Resumen y conclusiones.* A partir de las investigaciones de Hayflick (1965) quien demostró la limitación del período de vida de los fibroblastos *in vitro*, son numerosos los investigadores que han utilizado dichas células como modelos posibles para el estudio del envejecimiento celular. Los fibroblastos humanos normales van mostrando gradualmente alteraciones notables con el paso del tiempo, cesando finalmente su crecimiento, después de 50 a 70 divisiones celulares. Hayflick (1965) y Martin *et al.* (1970) demostraron asimismo, una relación inversa entre el período de vida de los fibroblastos diploides humanos y la edad del donador. Además, los fibroblastos provenientes de niños con algunas de las enfermedades que se caracterizan por envejecimiento prematuro tienen un potencial para la división celular notablemente disminuido (Martin *et al.* 1970). Una condición hereditaria muy rara en el hombre, conocida como síndrome de Werner produce envejecimiento prematuro con síntomas clínicos muy similares a los del envejecimiento normal (Epstein *et al.*, 1966). Los fibroblastos tomados de pacientes con el síndrome de Werner pueden persistir únicamente durante un número limitado de subcultivos antes de morir. Estas observaciones están en favor de que la mortalidad de los fibroblastos está en alguna forma relacionada con la mortalidad del individuo, aunque no demuestran que la causa del envejecimiento del fibroblasto sea necesariamente la causa principal del envejecimiento individual.

Orgel (1963) propuso que la acumulación de errores durante la traducción de la información contenida en el ADN conduce eventualmente a una "catástrofe de errores", y que tales desarreglos involucran a los procesos de envejecimiento celular. Holliday y Tarrant (1972) y Lewis y Tarrant (1972) demostraron que los fibroblastos humanos acumulan enzimas lábiles al calor durante las últimas etapas de su vida en los cultivos.

Con respecto al evento inicial desencadenante del envejecimiento, los experimentos sobre la senectud clonal en los hongos (Jinks, 1964) y en las amibas (Muggleton y Danielli, 1968) son demostrativos de que los determinantes de la senectud se transmiten por el citoplasma, lo que a su vez comprueba que la acumulación de

proteínas defectuosas puede inducir envejecimiento en un citoplasma joven.

A juzgar por las publicaciones recientes sobre gerontología, la mayor parte de los investigadores en esta especialidad apoyan a una hipótesis general sobre el envejecimiento, que implica a la pérdida de información celular, probablemente en células fijas (postmitóticas). Dicha pérdida, por supuesto, tiene su origen al nivel molecular, siendo secundaria la dishomeotaxis de otros tipos, por la pérdida de información neuronal, neurocrina o inmunológica.

Si la pérdida de información molecular depende del ajuste en el regulador del reloj del envejecimiento, se tiene por consenso, a dos posibles hipótesis explicativas de dicha pérdida: a) que es causada por la acumulación al azar de “ruido molecular” en la información celular y que por consiguiente no está programada; b) que es una consecuencia intrínseca de la diferenciación producida por la interrupción de procesos sintéticos que no se pueden reanudar sin la pérdida consecuente en la diferenciación, o bien, que es resultante de la acumulación de los efectos de genes cuya expresión es tardía durante la vida de la célula y del individuo (Comfort, 1968). Anticipando que las dos hipótesis no se excluyen recíprocamente, es de importancia fundamental el reconocer, en el caso de que el envejecimiento en humanos no dependa de la pérdida de información genética; que la posibilidad del interferir con la producción, de ruido molecular puede ser accesible.

#### *a) Acumulación al azar de ruido molecular en la información celular*

Entre las fuentes del ruido molecular causativo del daño al azar acumulable en las células, se incluyen los impactos producidos por la irradiación (Failla, 1960; Szilard, 1959), las alteraciones de la colágena y las modificaciones del estado coloidal (Bjorksten, 1958; Verzár, 1963; Von Hahn y Verzár, 1963), el efecto de los radicales libres (Harman, 1962, 1968, 1969) y la difusión de las desoxirribonucleasas contenidas en los lisosomas (Allison, 1966; Comfort, 1968). Todos estos factores son observables y modificables. Una implicación primordial derivada de esta hipótesis sostiene, por ejemplo, la identidad utilizable entre las causas del envejecimiento de los imagos de los insectos y las que tienen lugar en las células fijas de los mamíferos, lo que aumenta el número de sistemas cuya interpolación es posible para complementar a las investigaciones sobre la senectud de los mamíferos.

La acumulación de mutaciones somáticas puntuales, que fue muy investigada como el factor causativo principal del envejecimiento, ha sido objetada con base en datos estadísticos y genéticos (Alexander y Connell, 1960, 1963; Maynard Smith, 1966), así como en el fracaso de los mutágenos químicos que no producen acortamiento de la vida, en una forma semejante a las radiaciones.

En los trabajos de Curtis *et al* (1964, 1966) la “mutación” como fuente de ruido en las células longevas incluye además de las mutaciones puntuales, a los rompimientos, y a las deficiencias en el genoma. Si bien, el grado de anomalías cromosómicas es mayor en líneas o en especies de mamíferos que tienen una vida corta, en comparación con los que tienen un período de vida normal (Crowley y Curtis, 1963), los únicos procesos de envejecimiento explicables en términos de mutaciones puntuales son la divergencia en la autoinmunidad (Comfort, 1964; Burnet, 1965, 1967; Walford y Troup, 1966) y probablemente algunos factores determinantes de malignidad celular (Comfort, 1964; Harrison y Holliday, 1967). No obstante se ignora el efecto que tienen la fragmentación del ADN en las células fijas, que es uno de los eventos genéticos demostrados en las células longevas (Price *et al.*, 1971).

#### *b) Pérdida de la información molecular*

Esta segunda hipótesis, propuesta por Medvedev (1967) implica la supresión parcial de la información contenida en el ADN, como el evento genético fundamental del envejecimiento. En favor de la misma está la identificación de materiales sin sentido (Orgel, 1963) y las síntesis compensatorias derivadas de la falta de precisión en traducción del ADN (Clarke y Maynard Smith, 1966; Samis *et al.*, 1964; Wulff, 1962; Maynard Smith, 1962) según la línea de investigación sugerida originalmente por Maynard Smith (1959, 1962). Dado que la producción de materiales sin sentido puede interpretarse también en concordancia con el daño estocástico que propone la primera hipótesis, resultan de importancia capital los experimentos que comprueben la posibilidad de proteger experimentalmente a la información celular, por ejemplo, mediante aquellas sustancias que prolonguen la vida de las células postmitóticas.

## BIBLIOGRAFÍA

- ALEXANDER, P. y D. I. CONNELL. 1960. Shortening of the life span of mice by irradiation with X-rays and treatment with radiomimetic chemicals. *Radiat. Res.*, 12: 38-48.
- . 1963. Differences between radiation-induced lifespan shortening in mice and normal aging as revealed by serial killing. In: *Cellular Basis and Aetiology of Late Somatic Effects of Ionizing Radiation*, R. J. C. Harris (Ed.), Academic Press, Inc., New York: 277-283.
- ALLISON, A. C. 1966. *Proc. Roy. Soc. Med.* 59: 867.
- AMY, R. L. 1955. A comparative study of the effects of beta rays, gamma rays and X-rays on development in *Habrobracon*. *Radiat. Res.*, 3: 166-181.
- ATLAN H., J. MIGUEL, y R. BINNARD. 1969. Differences between radiation-induced life shortening and natural aging in *Drosophila melanogaster*. *Jour. of Gerontology*, 24, 1: 1-4.
- AUSTIN, S. A. 1967. *Br. J. Radiol.* 40: 711.
- BALOCK, J. W., A. K. BURDITT Jr. y L. D. CHRISTENSON. 1963. Effects of gamma radiation on various stages of three fruit fly species. *J. Econ. Entomol*, 56: 183-204.
- BAXTER, R. C. y H. A. BLAIR. 1967. Kinetics of aging as revealed by X-ray-dose- lethality relations in *Drosophila*. *Radiat. Res.*, 30: 48-70.
- . 1970. *Radiat. Res.*, 30: 48.
- . y L. W. TUTTLE. 1957. Life span shortening in irradiated *Drosophila*. *Radiat. Res.*, 7: 303. (Abstract).
- BENDER, M. A. y P. C. GOOCH. 1963. Persistent chromosome Aberrations in irradiated Human Subject. *Radiat. Res.*, 16: 44-53.
- BENSCHOTER, C. A. y J. TELICH. 1964. Effect of gamma rays on immature stages of the mexican fruit fly. *J. Econ. Entomol*, 57: 690-691.
- BJORKSTEN, J. 1958. *J. Amer. Geriat. Soc.*, 6: 740.
- BLAIR, H. A. 1958. A formulation of the relation between radiation dose and shortening of lifespan. In: *Proc. 2nd. Int. Conf. Peaceful Uses Atomic Energy*, Ginebra, 11: 118-120.
- BONDAREFF, W. 1959. In: *Handbook of Aging and the individual*, J. E. Birren (Ed.), Univ. of Chicago Press, Chicago: 136-172.
- BOURLIERE, F. 1958. The comparative biology of aging. *J. Geront*, 13 (Suppl. 1): 16-24.
- BOURNE, G. H. 1957. In: *Modern Trends in Geriatrics*, W. Hobson (Ed.), Hoeben. New York: 22-49.
- BOYD, W. 1953. In: *A textbook of Pathology*, Lea and Febinger (Eds.), Philadelphia: 3 5.
- BRANDES, D. y E. ANTON. 1966. *Lab. Invest.*, 15: 987-1006.
- BRUNK, U. y A. BRUN. 1972. *Histochemie*, 30: 315.
- BURNET, J. M. 1965. *Brit. Med. J.*, 1: 338.
- . 1967. *Perspect. Biol. Med.*, 10: 141.
- BYERS, H. L. y H. J. MULLER. J. 1952. Influence of aging at two different temperatures on the spontaneous mutation rate in mature spermatozoa of *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 37: 570-571.

- CASARETT, G. W. 1964. Similarities and contrasts between radiation and time pathology. In: *Advances in Gerontological Research*, Vol. 1. B. L. Strehler (Ed.). New York and London, Acad. Press: 109-163.
- CLARK, A. M. 1957. The relation of genome number to radio-sensitivity in *Habrobracon*. *Am. Naturalist*, 41: 111-119.
- . y E. M. KELLY. 1950. Differential radiosensitivity of haploid and diploid prepupae and pupae of *Habrobracon*. *Cancer Research* 10: 348-352.
- . H. A. BERTRAND y R. E. SMITH. 1963. *Amer. Nat.* 47: 203.
- . y K. W. COLE. 1967. *Expl. Geront.* 2: 89.
- . y M. A. RUBIN. 1961. The modification by irradiation of the Life Span of Haploids and Diploids of the Wasp, *Habrobracon SP.* *Radiat. Res.* 15: 244-253.
- CLARKE, J. M. y J. MAYNARD SMITH. 1966. Increase in the Rate of Protein Synthesis with Age in *Drosophila subobscura*. *Nature*, 209: 627-629.
- COMFORT, A. 1956. In: *The Biology of Senescence*. Routledge and Paul Kegan, London.
- . 1964. *Aging, The Biology of Senescence*. Routledge and Paul Kegan, London.
- . 1966. *Lancet* 2: 1325.
- . 1968. Feasibility in aging research. *Nature* 217: 320-322.
- CONNELL, D. I. y P. ALEXANDER. 1959. The incidence of hepatomas in irradiated and non-irradiated CBA male mice as a criterion of aging. *Gerontologia* 3: 153-158.
- CROW, J. F. y R. G. TEMIN. 1964. Evidence for partial dominance of recessive lethal genes in natural populations of *Drosophila*. *Amer. Nat.*, 98: 21-33.
- CROWLEY, C. y H. J. CURTIS. 1963. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.* 49: 626-628.
- CURTIS, H. J. 1958. Comparison of Life-Shortening Effects of Toxic and Radiation Stresses. *Radiat. Res.*, 9: 104.
- . 1961. In: *Radiobiology*, D. L. T. Ilbery, (Ed.), Butterworth, London: 193.
- . 1963. Biological Mechanisms Underlying the Aging Process. *Science*, 141: 686-694.
- . 1966. In: *Biological Mechanisms of Aging*, 41: Charles C. Thomas, Springfield, Illinois.
- . y C. CROWLEY. 1963. Chromosome aberrations in liver cells in relation to the somatic theory of aging. *Radiat. Res.*, 19: 337-344
- . LEITH, y J. TILLEY. 1966. *J Geront.* 21: 268-270.
- . J. TILLEY y C. CROWLEY. 1964. In: *Biological Effects of Neutron and Proton Irradiation*, Vol. II. Vienna, IAEA: 143-155
- . y K. GEBHARD. 1958. The relative biological effectiveness of fast neutrons and X-rays for life shortening in mice. *Radiat. Res.*, 9: 278-284.
- . y R. HEALEY. 1957. Effects of radiation on aging. In: *Advances in Radiobiology* G. C. de Hevesy, A. G. Forssberg, y J. D. Abbatt (Eds.), Oliver and Boyd, Edinburgh: 261-265.
- DARDEN, E. B., M. BRADLEY y C. A. UPON. 1963. Influence of early sublethal whole body irradiation and of breeding status on thermal aging of collagen fibers in the mouse. *Radiat. Res.*, 19: 190-191.
- DE DUVE, C. 1959a. In: *Subcellular Particles*, T. Hayashi (Ed.), Ronald, New York: 128.
- . 1959b. *Exp. Cell Res.*, Suppl. 7: 169.

———. 1964. *Fed. Proc.*, 23: 5, 1045.

DEMEREK, M. y U. FANO. 1944. Frequency of dominant lethals induced by radiation in sperms of *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 29: 348-360.

DE ROBERTIS, N. y F. A. SAEZ. 1960. In: *General Cytology*, 3rd. Ed. Saunders, Philadelphia: 555.

DOBZHANSKY, TH. 1958. Genetics off homeostasis and of senility. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 71: 1234-1241.

EPSTEIN, C. J., G. M., MARTIN y A. L. SCHULTZ. 1966. Werner's syndrome: a review of its symptomatology, natural history, pathologic features, genetics and relationship to the natural aging process. *Medicine*, Baltimore 45: 177-221.

ERDMAN, H. E. 1961. Analysis of the differential radio-sensitivity of developing reproductive tissues in *Habrobracon juglandis* (Ashmead) to ionizing radiations. *Ins. J. Rad. Biol.*, 3: 183-204

———. 1965. Modifications of productivity in flour beetles, *Tribolium castaneum* Herbst, due to X-ray doses, hypothermia and the sex exposed: *Radiat. Res.*, 25: 341-351.

FAILLA, G. 1958. The aging process and cancerogenesis. *Proc. N. Y. Acad. Sci.*, 71: 1124-1140.

———. 1960. In: *The Biology of aging*, B. L. Strehler (Ed.), American Institute of Biological Sciences, Wash. D. C.: 170-175.

———. P. Mc. CLEMENT. 1957. The shortening of life by chronic wholebody irradiation. *Am. J. Roent., Rad. Ther., and Nuc. Med.*, 78: 946-954.

———. 1960. *Long-term effects of radiation*. In: *Transactions of IXth Intern. Cong Radiol*. Munich.: 1195-1203.

FANESTIL, D. D. y C. H. BARROW. 1965. *J. Geront.*, 27: 462-469.

FÉLIX, R. 1972a. Acortamiento de la vida media de *Drosophila melanogaster* por la irradiación con electrones acelerados. *Rev. Soc. Mex. Hist. Nat.*, 33: 173-200.

———. 1972b. Alargamiento de la vida media de *Drosophila melanogaster* por la adición de compuestos antioxidantes al medio de cultivo. *Rev. Soc. Mex. Hist. Nat.* 33: 201-214.

———. 1972c. La teoría de la mutación somática en relación con el envejecimiento. *Rev. Soc. Mex. Hist. Nat.* 33: 161-171.

———. J. RAMÍREZ. 1967. Differential life shortening induced by irradiation with electrons in species of *Drosophila*. *An. Inst. Biol. Units Nal. Autón. México* 38, *Ser. Biol. Exp.* (1): 5-10.

GARTNER, L. P. 1970. *J. Baltimore Coll. dent. Surg.*, 25- 64.

———. 1971. *Experientia* 27: 562.

GRAHN, D. y K. F. HAMILTON. 1957. Genetic variation in the lethal response of four inbreed mouse strains to whole body X-irradiation. *Genetics*, 42: 189-198.

HANDLER, P. 1961. Biochemical considerations of relationships between effects of time and of radiation on living systems. In: *Radiation aced Aging*, P. Handler (Ed.) *Fed. Proc.* 20 N<sup>o</sup>. 2 *Suppl.* 8: 8-13.

HARMAN, D. 1962. Role of Free Radicals in Mutation, Cancer, Aging and the Maintenance of Life. *Radiat. Res.* 16: 753-763.

———. 1968. Free Radical Theory of Aging: Effect of Free Radical Reaction Inhibitors on the Mortality Rate of Male LAF1 Mice. *J. Gerontol.* 23: 476-482.

———. 1969. Prolongation of Life: Role of Free Radical Reactions in Aging. *J. Amer. Geriat. Soc.* 17: 721-735

HARRIS, M. 1971. Mutagenicity of chemicals and drugs. *Science* 171: 51-52.

- HARRIS, R. J. C. (Ed.). 1962. *Cellular Basis and Aetiology of Late Somatic Effects of Ionizing Radiation*. Academic Press, Inc., New York.
- HARRISON, B. J. y R. HOLLIDAY. 1967. Senescence and the fidelity of protein synthesis in *Drosophila*. *Nature* 213: 990-992.
- HAYFLICK, L. 1965. The limited in vitro lifetime of human diploid cells strains. *Exp. Cell. Res.* 37: 614-636.
- HENSCHEN, F. 1968. *Morphological aspects on the process of aging. Cancer and aging* (Thule International Symposia). A. Engel y T. Larson (Eds.), Stockolm. Nordiska Bakhandelns Forlag: 61-82.
- HOCHSCHILD, R. 1971. *Exp. Geront.* 6: 133.
- HOFFMAN, J. J. 1968. Cell renewal patterns. *N. Engl. J. Med.* 279: 248-258.
- HOLLIDAY, R. 1969. Errors in protein synthesis and clonal senescence in fungi. *Nature* 221: 1224-1228.
- . G M. TARRANT. 1972. Altered enzymes in aging human fibroblasts. *Nature*. 238: 26-30.
- INGRAM, V. M. 1963. In: *The hemoglobines in genetics and evolution*. Columbia University Press, New York.
- JACOBS PATRICIA, A. BRUNTON y W. M. COURT BROWN. 1964. Cytogenetic Studies in leucocytes on the general population: subjects of 65 years or more. *Ann Hum. Genet.* 27: 353-365.
- . W. M. COURT BROWN y R. DOLL. 1961. *Nature* 191: 1178.
- JINKS, J. L. 1964. In: *Extrachromosomal inheritance*. Prentice Hall, New Jersey
- JOHNSON, H. A. 1963. Redundancy and biological aging. *Science* 141: 910-912.
- JONES, D. C. L. y D. J. KIMELDORF. 1964. *Radiat. Res.* 22: 106.
- JONES, H. B. 1956. In: *Advances in Biological and Medical Physics*, J. H. Lawrence y C. A. Tobias (Eds.), Academic Press, New York, Vol. 4: 281.
- KALLMAN, R. F. y H. I. KOHN. 1958. Life-shortening by whole and partial-body X-irradiation in mice. *Science* 128: 301-302.
- KIMELDORF, D. J., R. D. PHILLIPS y D. C. L. JONES. 1966. *J. Geront.* 21: 265.
- KOHN, H. I., y P. H. GUTTMAN. 1963. Age at Exposure and the Late Effect of X-Rays. Survival and Tumor Incidence in CAF1 Mice irradiated it 1 to 2 Years of age. *Radiat. Res.* 18: 348-373.
- . R. F. KALLMAN. 1956. Age, growth, and the LD50 of X-rays. *Science* 124: 1078.
- KOHN, R. R. 1966. A possible final common pathway for natural aging and radiation induced life-shortening. *Proc. Coll. Radiation and Aging*. P J. Lindop, y G. A. Sacher (Eds.), Taylor and Francis, Ltd., London: 373-392.
- KONO, T., F. KAKUMA, M. HOMMA y S. FUKUDA. 1964. The electron microscope structure and chemical composition of the isolated sarcolemma of the rat skeletal muscle cell. *Biochim. Biophys. Acta* 88: 155-175.
- KORENCHEVSKY, V. 1961. In: *Physiological and Pathological Aging*. Hafner Publishing Co. Inc., New York: 514.
- KROHN, P. L. 1963. *Proc. Roy Soc.*, B. 157: 128-147.
- . (Ed.). 1966. *Topics in the Biology of Aging*. A symposium Held at the Salk Institute for Biological Studies, John Wiley and Sons, Need York.
- LACHANCE, L E y J. G. RIEMANN. 1964. Cytogenetic investigations on radiation and chemically induced dominant lethal mutations in oocytes and sperm of the screwworm fly. *Mutation Res.* 1: 318-333.
- LAMB, M. J. 1966 The relationship between age at irradiation and life shortening in adult *Drosophila*. In: *Radiation*

- and Aging*. P. J. Lindop y G. A. Sacher (Eds.), London: Taylor y Francis.
- . J. MAYNARD SMITH. 1969. *Radiat. Res.* 40: 450.
- LESSLER, M. A. 1959. Low-Level X-ray damage to amphibian erythrocytes. *Science* 129: 1551-1553.
- LEWIS, C. M. y G. M. TARRANT. 1972. Error theory and aging in human diploid fibroblasts. *Nature* 239: 316-318.
- LINDOP, P. J., y G. A. SACHER (Eds.). 1966. *Radiations and Aging*. Proceedings of a Colloquy Held in Semmering, Austria, Taylor and Francis Ltd., London.
- . J. ROTBLAT. 1961. Long-term effects of a single whole-body exposure of mice to ionizing radiation. I. Life shortening. *Proc. Roy. Soc. B*154: 332-349.
- . 1962. The age factor in the susceptibility of man and animals to radiation. I. The age factor in radiation sensitivity in mice. *Brit. J. Radiol.* 35: 23-32.
- LOFTFIELD, R. B. 1963. The frequency of error in protein biosynthesis. *Biochem. J.* 89: 82-92.
- MARTIN, G. M., C. A. SPRAGUE y C. J. EPSTEIN. 1970. Replicative life-span of cultivated human cells: effects of donor's age, tissue and genotype. *Lab. Invest.* 23: 86-92.
- MAVOR, J. W. 1927. A comparison of the susceptibility to X-rays of *Drosophila melanogaster* at various stages of its life-cycle. *J. exp. Zool.* 47: 63-83.
- MAYNARD SMITH, J. 1959. *Nature* 184: 956.
- . 1962. *Proc. Roy. Soc.*, B157: 115.
- . 1966. In: *Topics in the Biology of Aging*. A Symposium Held at the Salk Institute for Biological Studies, John Wiley and Sons, New York: 9-36.
- McCAY C. M. 1952. In: *Cowdry's Problems of Aging*, 3rd. ed. A. L. Laming (Ed.), Williams and Wilkins New York: 139-202.
- McDOUGALL, K. M. y T. H. PITTINGER. 1966. A cytoplasmic variant of *Neurospora crassa*. *Genetics* 54: 551-565.
- MENHINICK, E. y J. CROSSLEY. 1969. *Ann. ent. Soc. Amer.* 62: 711.
- MICHAELSON, S. M. 1966. In: *Radiation and Aging*. P. J. Lindop and G. A. Sacher (Eds.). Taylor and Francis Ltd. London: 393.
- MUGGLETON, A. y J. F. DANIELLI. 1968. Inheritance of the "life-spanning" phenomenon in *Amoeba proteus*. *Exp. Cell. Res.* 49: 116-120.
- MULLER, H. J. 1928. The measurement of gene mutation rate in *Drosophila*, its high variability, and its dependence upon temperature. *Genetics* 13: 279-357.
- . 1945. Age in relation to the frequency of spontaneous mutations. In: *Drosophila Year Book of the American Philosophical Society*: 150-153.
- . 1954. The nature of the genetic effects produced by radiation. In: *Radiation Biology*, Vol. 1: *High Energy Radiation*, A. Hollaender, (Ed.), McGraw-Hill Co., Inc. New York: 351-473.
- . 1960. The chromosomal basis of the mortality induced by X rays in *Drosophila*. In: *Immediate and Low Level Effects of Ionizing Radiations*. Buzzati-Traverso A. A., (Ed.), London, England Taylor and Francis Ltd., Publishers: 321-325.
- . 1963. Mechanisms of life-span shortening. In: *Cellular Basis and aetiology of late somatic effects of ionizing radiation*. London, Academic Press: 235-245.
- . E. CARSON y A. SCHALET. 1961. Mutation by alteration of the already existing gene. *Genetics* 46: 213-226.

- MULLINS, G. L. y W. G. GUNTHEROTH. 1965. A collagen net hypothesis for transference of smooth muscle. *Nature* 206: 592-594.
- NÖTHEL, H. 1963. Different types of mortality including prolongation of female lifetime after X-raying *Drosophila melanogaster* imagines. (Abstr.) *Genetics Today. Proceedings of XI International Congress of Genetics*, The Hague, September. Vol. I. Geerts S. J. (Ed.), Oxford, Pergamon Press: 72-73.
- . 1968. Correlations, interactions and differences between radiation effects on longevity and natural aging. *Isotopes and Radiation in Entomology*. International Atomic Energy Agency, Vienna: 87-102.
- O'BRIEN, R. D. y L. S. WOLFE. 1964. *Radiation, radioactivity and insects*. New York y London: Academic Press.
- ODERR, C. 1964. Architecture of the lung parenquima, studies with a specially designed X-ray machine. *Amer. Rev. Resp. Dis.* 90: 401-410.
- ORDY, J. M., T. SAMORASKI, Y. J. HERSHBERGER, y H. J. CURTIS. 1971. *J. Gerontol.* 26: 194.
- ORGEL, L. E. 1963. The maintenance of the accuracy of protein synthesis and its relevance to aging. *Proc. U. S. Nat. Acad. Sci.* 49: 517-521.
- OSTER, I. I. 1959a. Genetic basis of X-ray induced somatic damage. In: *Radiation Biology: Proceedings of the Second Australasian Conference on Radiation Biology*. Martin J. H. (Ed.), New York, N. Y. Academic Press Inc., Publishers: 268-271.
- . 1959b. Evidence of genetic basis for X-ray induced life-shortening. *Science* 120: 1286-1287.
- . A. CIOK. 1958. Mortality of irradiated pre-imaginal stages of *Drosophila*. *Drosophila Information Service* 42: 143-144.
- OSTERTAG, W., y H. J. MULLER. 1959. Genetic basis of somatic damage produced by radiation. *Science* 130: 1422-1423.
- PACKER, L., D. W. DEAMER y R. L. HEATH. 1967. *Adv. Geront. Res.* 2: 77.
- PATTERSON, E. C., W. GILBERT y J. MATTHEWS. 1952. Time Intensity factors of whole-body irradiation. *Brit. J. Radiol.* 25: 427-433.
- PEARL, R. 1928. *The rate of living*. Knopf, New York.
- PLOUGH, H. H. 1942. Temperature and spontaneous mutation. In: *Biological Symposia*, Vol. VI, part I, *Temperature and Evolution*. J. Cattell, (Ed.), Jaques Cattell Press, Lancaster, Pa.: 9-20.
- PRICE, G. B., S. P. MODAK y T. MAKINODAN. 1971. Age associated changes in the DNA of mouse tissues *Science* 171: 917-920.
- RICHMOND, M. H. 1962. The effects of aminoacid analogues on growth and protein synthesis in microorganisms. *Bact. Rev.* 26: 398-420.
- ROCKFORD, D. L. 1966. Tesis, New Brunswick, New Jersey: Rutgers University.
- ROCKSTEIN, M. 1966. In: *Topics in the Biology of Aging*. Interscience Publishers, New York: 63.
- SACHER, G. A. 1956. On the statistical nature of mortality with special reference to chronic irradiation mortality. *Radiobiology* 67: 250-257.
- . 1957. Dependence of acute radio-sensitivity on age in adult female mouse. *Science* 125: 1039-1040.
- . 1963. *Physiol. Zool.* 36: 295.
- . D. GRAHAN, R. J. M. FRY y J. H. RUST. 1970. In: *Proceedings of the First European Symposium on Late effects of Radiation*. Comitato Nazionale per l'Energia Nucleare, Roma: 5.

- SELYE H. y P. PRIORESCHI. 1960. Stress Theory of Aging. In: *Aging, Some Social and Biological Aspects*. Symposia Presented at the Chicago Meeting. Pub. N° 65 of the Amer. Assoc. Adv. Sci., Wash. D. C.: 261-272
- SHOCK, N. W. (Ed.). 1960. *Aging, Some Social and Biological Aspects*. Symposia Presented at the Chicago Meeting, Pub. N° 65 of the Amer. Assoc. Adv. Sci., Wash., D. C.
- . 1962. *Biological Aspects of Aging*, Columbia University Press.
- SONNEBORN, T. M. y M. SCHNELLER. 1960a. Physiological basis of aging in *Paramecium*. In: *The Biology of Aging*. AIBS, Washington: 283-284.
- . 1960b. Age induced mutations in *Paramecium*. In: *The Biology of Aging*. AIBS, Washington: 286-287.
- SONNENBLICK, B. P. y J. GRODIS. 1963. *Drosoph. Inf. Serv.* 37: 130.
- . L. P. GARTNER. 1967. Lifespan studies with strains of gamma-irradiated *Drosophila* adults. (Abstr. Eb-3). *Radiation Res.* 31: 612.
- SPALDING, J. B., D. M. POPP y R. A. POPP. 1969. *Radiat Res.* 40: 37.
- STEVENSON, K. G. y H. J. CURTIS. 1961. Chromosomal Aberrations in Irradiated and Nitrogen Mustard Treated Mice. *Radiat. Res.* 15: 774-784.
- STORER, J. B. 1971. *Radiat. Res.* 47: 537.
- STREHLER, B. L. 1959. Origin and comparison of the effects of time and high energy radiations on living systems. *Quart. Rev. Biol.* 34: 117-142.
- . (Ed.). 1960. *The Biology of Aging*, Pub. N° 6, Amer. Inst. Biol. Sci. Wash., D. C.: 364.
- . 1964. *J. Geront.* 19: 83.
- . D. D. MARK, A. S. MILDVAN y M. V. GEE. 1959. *J. Geront.* 14: 430-439.
- SZILARD, L. 1959. On the nature of the aging process. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 45: 30-45.
- TIMOFEEFF-RESSOVSKY, N. W. 1939. Über die Wirkung der temperatur und den Mutationsprozess bei *Drosophila melanogaster* I. Versuche innerhalb normalen Temperatur-grenzen. *Z. Ind. Abst. Vererb.* 70: 125-126.
- UPTON, A. C. 1957. Ionizing radiation and the aging process. A review. *J. Gerontol.* 12: 306-313.
- . 1960. Ionizing radiation and aging. *Gerontologia* 4: 162-176.
- . A. W. KIMBALL. J. FURTH, K. W. CRISTENBERRY y W. H. BENEDICT. 1960. Some delayed effects of atom-bomb radiations in mice. *Cancer Research* 20: 1-62
- VERZAR, F. 1957. Studies on adaptation as a method of gerontological research. In: *Methodology of the Study of Aging*, G. E. W. Wolstenholme y M. O'Conner (Eds.), Little Brown, Boston, Mass. Vol. 3: 60-72.
- . 1963. In: *Experimental gerontology*. C. C. Thomas Co., Springfield, Illinois (Ed.)
- VON BORSTEL, R. C. y M. L. REKEMEYER. 1959. Radiation induced and genetically contrived dominant lethality in *Habrobracon* and *Drosophila*. *Genetics* 44: 1053-1074.
- VON HAHN, H. P. y F. VERZAR. 1963. *Gerontologia*.
- WALDFOR, R. L. y G. M. TROUP. 1966. In: *Perspectives in Experimental Gerontology*. N. Shock. (Ed.), C. C. Thomas Co., Springfield, Illinois.
- WARREN, S. y O. GATES. 1971. *Radiat. Res.* 47: 480.
- WHITFIELD, J. F., y R. H. RIXON. 1959. Effects of X-radiation on multiplication and nucleic acid synthesis and

- incorporation of P-32 in irradiated Ehrlich ascites cells. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 94: 83-86.
- WIEDERHIELM, C. A. 1965. Distensibility characteristics of small blood vessels. *Fed. Proc.* 24: 1075-1084.
- WILCOX, H. H. 1959. In: *The Process of Aging in the Nervous System*, J. E. Birren y W. F. Windle (Eds.), C.C. Thomas, Springfield, Illinois: 16-23.
- WILLIAMS. G. C. 1957. Pleiotropy, natural selection, and the evolution of senescence. *Evolution* 11: 398-411.
- WOODS, D. D. 1940. The relation of p-aminobenzoic acid to the mechanism of action of sulfanilamide. *Brit. J. Exptl. Pathol.* 21: 74-90.
- YUAN, G. C. y R. S. CHANG. 1965. *J. Geront.* 24: 82.
- YUHAS, J. M., y J. B. STORER. 1967. The effect of age on two modes of radiation death and on hematopoietic cell survival in the mouse. *Radiat. Res.* 32: 596-6-5.