

AGENTES OXIDANTES E ANTIOXIDANTES*

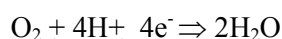
Introdução

As moléculas de oxigênio diatômico na atmosfera terrestre são as maiores promotoras de reações nas células vivas. Exceto aqueles organismos que são especialmente adaptados para viver sob condições anaeróbicas, todos os animais e plantas requerem oxigênio para uma eficiente produção de energia (Halliwell & Gutteridge, 1989).

O surgimento do oxigênio deve ter sido acompanhado pelo aparecimento da camada de ozônio (O₃) na alta atmosfera, e a absorção dos efeitos danosos da radiação ultravioleta pela camada de ozônio provavelmente permitiu a evolução dos mais complexos organismos terrestres (Halliwell & Gutteridge, 1989). O oxigênio é o elemento que, na classificação periódica dos elementos químicos, pertence à família 6A, cujo número atômico e massa atômica são 8 e 16, respectivamente, e que possui 8 elétrons distribuídos nas suas camadas orbitárias.

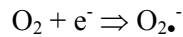
Metabolismo do oxigênio

Normalmente, em torno de 95 a 98% do oxigênio absorvido pelos organismos aeróbicos é reduzido, formando-se água na cadeia respiratória através do transporte de elétrons na mitocôndria, bem como no retículo endoplasmático, onde o sistema enzimático citocromo, no processo de fosforilação oxidativa, procede a redução tetravalente do O₂ pelo sistema citocromo oxidase, fornecendo simultaneamente 4 elétrons para o oxigênio, que se reduz diretamente à água:



As fontes que cedem os cátions de hidrogênio e os elétrons para a reação são, basicamente, o NADH, o FADH e a ubiquinona ou coenzima Q (Halliwell & Gutteridge, 1989). Todavia, como já referido, de 2 a 5% do O₂ é reduzido univalentemente, processo em que uma molécula recebe apenas um elétron, o qual vai ocupar um dos orbitais externos, ao mesmo tempo em que o outro continua não parelhado, produzindo intermediários altamente reativos, denominados Espécies Reativas de Oxigênio - ERO, que algumas vezes constituem os radicais livres. Forma-se então a primeira espécie tóxica reativa de oxigênio, o superóxido, conforme esquema:

* Seminário apresentado pelo aluno FERNANDO KUSS na disciplina BIOQUÍMICA DO TECIDO ANIMAL, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, no primeiro semestre de 2005. Professor responsável pela disciplina: Félix H.D. González.



Radical livre

Um Radical Livre nada mais é do que qualquer átomo, molécula ou íon que possui um ou mais que um elétrons livres na sua órbita externa. Essas partículas, formadas por elétrons livres ou não pareados tem uma instabilidade elétrica muito grande, e por esta razão, mesmo tendo meia vida muito curta, apresentam grande capacidade reativa, o que pode acontecer com qualquer composto que esteja próximo, a fim de captar um elétron desse composto para sua estabilização, independente de ser uma molécula, uma célula, ou tecido do organismo, a partir do que, acontecem reações em cadeia de lesão celular. Devido a esta característica, é denominado de substância oxidante. O oxigênio tem a sua atividade fundamental no metabolismo celular aeróbico. Desta forma, a formação de Radicais Livres pelo organismo em condições normais é inevitável, pois são necessários no processo de respiração celular que ocorre nas mitocôndrias ("usinas energéticas") das células, a fim de gerar o ATP (energia). Também os Radicais Livres, produzidos pelos macrófagos e neutrófilos (glóbulos brancos de defesa), são usados contra bactérias e fungos invasores do organismo, produzindo ação lesiva à estes microrganismos.

Um elétron desemparelhado pode se associar com átomos isolados (hidrogênio ou íons metálicos), ou, ainda, com moléculas (açúcares, proteínas, lipídeos, DNA), o que resulta em um processo de relevância biológica (Slater, 1984; Halliwell, 1987). Por outro lado, os radicais livres já foram relacionados a várias doenças humanas e participam como componentes fundamentais em muitas, o que mostra quão grande é o dano oxidativo causado por eles (Halliwell & Gutteridge, 1985).

A formação dos ERO se dá primeiramente pelo o radical superóxido ($\text{O}_2^{\cdot -}$), que pode ser dismutado em peróxido de hidrogênio (H_2O_2) ou mesmo através de ação catalítica, pela atuação da enzima superóxido dismutase (SOD). No organismo existem duas SODs principais, uma citoplasmática, que é a CuZnSOD e outra, mitocondrial, que é a MnSOD, esta contendo Manganês e aquela contendo Cobre-Zinco na mesma molécula. A importância da SOD pode ser demonstrada pelo fato de ser a enzima mais abundante do organismo, ao mesmo tempo em que também é a quinta proteína mais abundante neste mesmo organismo (Halliwell & Gutteridge, 1989). O gráfico seguinte demonstra como ocorre a formação das ERO.

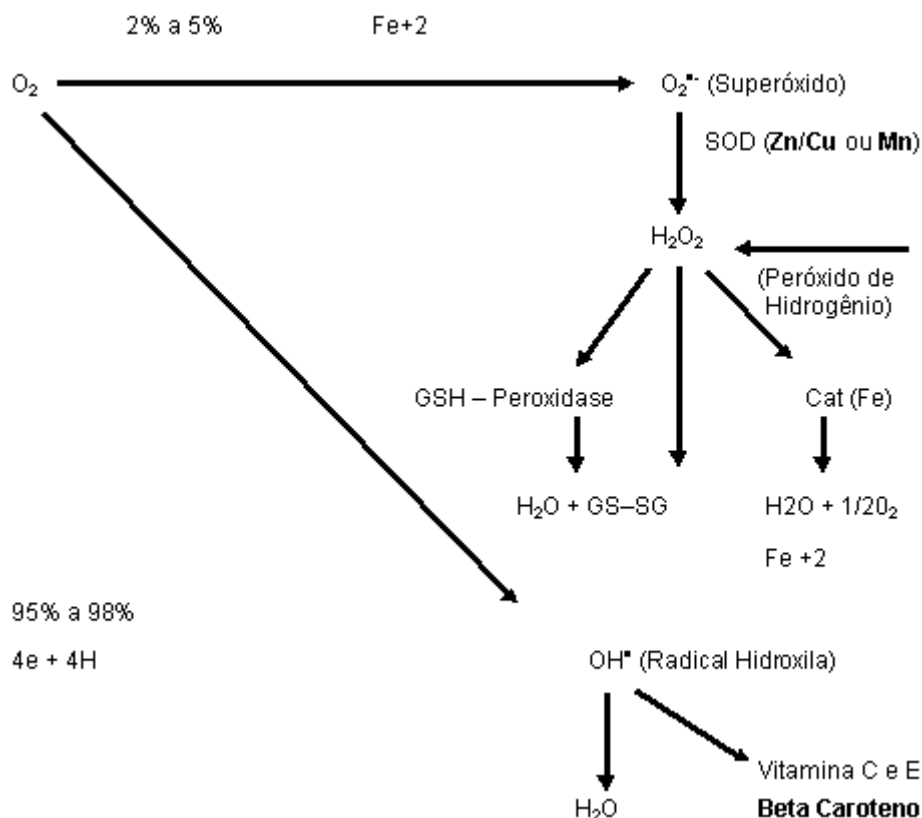


Figura 1, Formação das EROS

SOD – Superóxido dismutase, Cat – Catalase, $O_2^{\bullet-}$ – Superóxido, O_2 – Oxigênio, GSSH – Glutathione Oxidada, GSH – Glutathione Peroxidase, H_2O – Água, OH^{\bullet} – Radical Hidroxila, GSH – Glutathione Reduzida, H_2O_2 – Peróxido de Hidrogênio.

Tabela 1: Espécies reativas de oxigênio (ERO).

$O_2^{\bullet-}$	Ânion superóxido ou radical superóxido
HO_2^{\bullet}	Radical perhidroxil
H_2O_2	Peróxido de hidrogênio
OH^{\bullet}	Radical hidroxila
RO^{\bullet}	Radical alcóxil
ROO^{\bullet}	Radical peróxil
$ROOH$	Hidroperóxido orgânico (ex.: lipoperóxido)
1O_2	Oxigênio singlet
RO^{\bullet}	Carbonila excitada

Fonte: (Sies, 1991)

Antioxidantes

O organismo possui sistemas naturais de eliminação de Radicais Livres, enzimáticos ou não, que são os chamados "Varredores de Radicais Livres, produzindo a sua eliminação ou então impedindo sua transformação em produtos mais tóxicos para as células. O efeito prejudicial dos Radicais Livres ocorre quando eles estão em quantidade excessiva no organismo, ultrapassando a capacidade do organismo de neutralizá-los com os seus sistemas naturais. Esses sistemas enzimáticos de defesa são compostos pelas seguintes enzimas: Glutation-Peroxidase (que necessita do Selênio), Catalase, Metionina-Redutase e Superóxido-Dismutase (há vários tipos, e os 2 principais necessitam de Zinco e Cobre, e Manganês), os quais combatem, no organismo os seguintes Radicais Livres: Peróxido de Hidrogênio, Superóxido, Oxigênio Single, Íon Hidroxila, Óxido Nítrico e Óxido Nitroso.

Os Antioxidantes não enzimáticos, em sua maioria são exógenos, ou seja, necessitam ser absorvidos pela alimentação apropriada. Os principais podem ser divididos em: Vitaminas Lipossolúveis (vitamina A, vitamina E, beta-caroteno), Vitaminas Hidrossolúveis (vitamina C, vitaminas do complexo B), e os oligoelementos (Zinco, cobre, selênio, magnésio etc.), os bioflavonóides (derivados de plantas), etc. Segue Tabela 2 das ERO relacionadas aos seus respectivos antioxidantes.

Tabela 2. ERO e antioxidantes.

ERO	Antioxidantes	
	Endógenos	Exógenos
Superóxido ($O_2\cdot^-$)	Superóxido dismutase (SOD): a) citoplasmática: Zinco-Cobre b) mitocondrial: Manganês	Vitaminas, zinco, cobre, manganês, picnogenol, EDTA
Peróxido de hidrogênio (H_2O_2)	Catalase Fe_2^+	
Peróxido lipídico (COOH-)	Glutationa peroxidase, selênio, cisteína	Vitamina E, selênio
Radical hidroxila ($HO\cdot$)		Vitamina C, picnogenol, dimetil sulfóxido, EDTA, ácido dimercapto succínico e manitol
Oxigênio singlet (1O_2)		Betacaroteno

Ação das ERO nos sistemas biológicos

Peroxidação lipídica

A peroxidação lipídica é o processo através do qual as ERO atacam os ácidos graxos polinsaturados dos fosfolípidos das membranas das células, desintegrando-as e permitindo, desta feita, a entrada dessas espécies nas estruturas intracelulares. A fosfolipase, ativada pelas espécies tóxicas desintegra os fosfolípidos, liberando os ácidos graxos não saturados (Halliwell & Gutteridge, 1989), resultando nas seguintes ações deletérias dos peróxidos lipídicos:

- ⇒ Ruptura das membranas celulares (bombas Na/K e Ca/Mg);
- ⇒ Mutações do DNA - ácido desoxiribonucléico;
- ⇒ Oxidação dos lipídeos insaturados;
- ⇒ Formação de resíduos químicos como o malondialdeído;
- ⇒ Comprometimento dos componentes da matriz extracelular, proteoglicanos, colágeno e elastina.

Os peróxidos lipídicos possuem poder de ação maior do que as outras espécies tóxicas primárias de O_2 ($O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 , $OH\bullet$, O_2), atingindo facilmente alvos mais distantes. A lipoperoxidação deve ter também, um papel muito importante na proliferação celular, especialmente em células tumorais. Há autores que sugerem que os produtos da lipoperoxidação estão envolvidos no controle da divisão celular, sendo que a peroxidação de lipídeos está inversamente relacionada com o crescimento tumoral (Gonzalez, 1992).

Defesa antioxidante

Os antioxidantes que representam a defesa dos organismos contra as espécies reativas de oxigênio são divididos em dois tipos principais, os não enzimáticos e os enzimáticos.

Antioxidantes não-enzimáticos

Alguns nutrientes essenciais podem atacar diretamente os radicais de oxigênio. A vitamina E (alfa-tocoferol) é o maior antioxidante lipossolúvel presente em todas as membranas celulares e, portanto, atua na proteção contra a lipoperoxidação (Kay et al., 1986). Ela pode reagir diretamente com uma variedade de oxiradicais, como o superóxido, a hidroxila, etc., e também com o oxigênio singlet (Machlin & Bendich, 1987). A vitamina E foi primeiramente relatada em 1922, nos Estados Unidos, por Evaris e Bishop, que demonstraram ser lipossolúvel e também fator essencial para reprodução normal em ratos. A purificação deste fator revelou que ele é composto da família dos tocoferóis. Quatro tocoferóis são conhecidos, porém o alfa-tocoferol é o mais importante biologicamente e os termos alfa-tocoferol e vitamina E são quase intercambiáveis na literatura (Halliwell & Gutteridge, 1989).

Primeiramente, o alfa-tocoferol inativo reage com o oxigênio singlet e poderia, portanto, proteger a membrana contra essa espécie. Durante a sua ação antioxidante (destruindo a cadeia de lipoperoxidação) nas membranas, o alfa-tocoferol é consumido e convertido em forma de radical. A vitamina E pode também proteger contra a peroxidação modificando a estrutura da membrana (Halliwell & Gutteridge, 1989).

A vitamina E, localizada perto do citocromo P-450 no fosfolípido da membrana, varre os radicais livres formados no citocromo P-450. A seguir, a vitamina C reduz o radical tocoferil.

Os carotenóides, principalmente o beta-caroteno, podem funcionar como precursores da vitamina A. São absorvidos pelos intestinos, e devem também atuar como antioxidantes. Têm, portanto, duplo papel, diminuem a formação do oxigênio singlet *in vivo*, e ajudam a remover aqueles já formados (Halliwell & Gutteridge, 1989).

A vitamina A tem pouca ação antioxidante e é incapaz de agir sobre o oxigênio singlet, mas seu precursor, o beta-caroteno, é o mais eficiente ligante desta forma reativa de oxigênio encontrada na natureza e pode agir como antioxidante. O beta-caroteno, um pigmento presente em todas as plantas, pode ser encontrado em membranas celulares, inclusive nos lipossomos (Machlin & Bendich, 1987).

A vitamina C (ácido ascórbico), é hidrossolúvel e também age contra os radicais livres e o oxigênio singlet. O ácido ascórbico participa ainda da regeneração da forma reduzida e antioxidante da vitamina E (Halliwell & Gutteridge, 1985). O ácido ascórbico puro é sólido, branco, cristalino e muito solúvel em água. Plantas e animais podem sintetizá-lo, com exceção de humanos, primatas e cobaias, que não conseguem e necessitam obtê-lo na dieta (Halliwell & Gutteridge, 1989). O ácido ascórbico é necessário *in vivo* como cofator de várias enzimas, sendo as mais conhecidas a prolina-hidroxilase e a lisina-hidroxilase, envolvidas na biossíntese do colágeno. A deficiência do ascorbato na dieta humana causa o escorbuto. A mais impressionante propriedade química do ascorbato é a sua habilidade para agir como agente redutor (doador de elétrons).

Existe, ainda, uma série de outros antioxidantes não enzimáticos que participam da defesa contra as espécies reativas do oxigênio nos sistemas biológicos como, por exemplo, a ubiquinona, a ceruloplasmina, o ácido úrico, a taurina, os flavonóides e outros compostos fenólicos de origem vegetal (Halliwell, 1990; Sies, 1991).

A glutathiona (GSH) é um marcador da saúde celular e sua queda é indicativa de lesão oxidante. Seu déficit acarreta diminuição da resistência às drogas e radiações, da capacidade de reversão de tumores e da síntese do ascorbato em animais. A glutathiona é um tripeptídeo composto de aminoácidos não essenciais, descrita como um importante agente antioxidante (Halliwell & Gutteridge, 1985).

A melatonina é um antioxidante conhecido, produzido pela glândula pineal e seu principal hormônio foi descoberto por Lerner em 1958. Também é produzido em outros tecidos, tais como retina e intestino grosso (Guyton, 1973).

Recentemente, a melatonina foi descrita como participante da função imune dos organismos e como um potente antioxidante. Exercendo a função de antioxidante, a melatonina parece desencadear uma proteção substancial contra os radicais livres que são gerados em uma variedade de situações experimentais, incluindo a injúria por esquia/reperfusão. Por essa razão, ela vem sendo utilizada terapeuticamente em cirurgias e transplantes (Reiter & Maastroni, 1999).

Além destes, há vários nutrientes essenciais de origem mineral, que participam do processo antioxidante em associação com enzimas. São eles, zinco, cobre, manganês, selênio e ferro (Halliwell & Gutteridge, 1985).

Antioxidantes enzimáticos

Antioxidantes são quaisquer substâncias que, quando presentes em pequenas concentrações, comparadas com aqueles substratos oxidáveis, significativamente retardam ou inibem a oxidação deste substrato e podem agir em diferentes níveis da seqüência oxidativa. Em 1954, Gershman e Gilbert propuseram que a maioria dos efeitos danosos causados pelas concentrações elevadas de oxigênio nos organismos vivos podia ser atribuída à formação de radicais livres. Entretanto, essa idéia não despertou interesse de muitos pesquisadores até a descoberta, em 1968, de uma enzima que é específica para a remoção catalítica de um radical de oxigênio (Mc Cord & Fridovich, 1969). Essa enzima denominada superóxido dismutase, juntamente com outras duas – catalase e glutathione peroxidase – são as principais defesas antioxidantes que atuam nos organismos superiores (Halliwell & Gutteridge, 1989).

É possível que a superóxido dismutase (SOD) seja substância com efeitos anti-envelhecimento reais, podendo atuar positivamente sobre todos os processos degenerativos (Hendler, 1990). A superóxido dismutase (SOD) tem papel fundamental na defesa do organismo contra as espécies reativas de oxigênio, pois atua na remoção do radical superóxido. Antes da sua descoberta, a SOD já havia sido descrita por alguns autores como uma proteína que contém cobre, mas nenhuma atividade catalítica lhe havia sido atribuída (Halliwell & Gutteridge, 1985).

Após o trabalho de McCord (1969), entretanto, com a determinação de sua função na dismutação do radical superóxido ($O_2\cdot^-$), seu papel foi estabelecido, e até hoje, apesar de inúmeras pesquisas realizadas com esta enzima, nenhum outro substrato foi descrito, mostrando a sua especificidade para o superóxido (Halliwell & Gutteridge, 1985). A forma que contém cobre e zinco, denominada de superóxido dismutase cobre-zinco dependente (CuZnSOD), é muito estável e parece estar presente em praticamente todas as células eucarióticas (plantas ou animais). A CuZnSOD tem um peso molecular de 32000 e é constituída de duas subunidades

protéicas idênticas, com um átomo de cobre e um de zinco em cada uma delas. O Zn não funciona no sítio catalítico, mas aparece para estabilizar a enzima. Essa conclusão foi extraída de experiências nas quais os metais foram removidos dos sítios ativos e recolocados em outros, sozinhos ou em conjunto (Halliwell & Gutteridge, 1985).

A superóxido dismutase dependente do manganês (MnSOD) é uma proteína de cor rosa, cujo peso molecular é de 40.000 e que contém manganês nos sítios ativos. A sua atividade diminui em pH alcalino. Não é inibida pelo cianeto, nem pelo di-etil-di-hidrocarbonato. É destruída pelo clorofórmio + etanol (não sobrevive ao métodos típicos da purificação para a CuZnSOD). A atividade da MnSOD em relação a CuZnSOD depende do tecido e das espécies onde atuam. A remoção do Mn dos sítios ativos causa perda da atividade catalítica, não podendo ser repostos por nenhum íon de transição, pois perde a sua atividade funcional. As seqüências de aminoácidos de todas as MnSOD, em todas as espécies, são parecidas e não estão relacionadas com a CuZnSOD (Halliwell & Gutteridge, 1989). A forma CuZnSOD apresenta-se mais resistente à variações de temperatura e à desnaturação por substâncias como cloreto de guanidina, duodecil sulfato de sódio, ou uréia (Halliwell & Gutteridge, 1985).

Quanto a enzima glutathione peroxidase (GPx), esta foi descoberta por Mills em 1959, em tecidos de mamíferos. Não se observa sua presença em plantas ou bactérias, embora possa ser encontrada em algumas algas e fungos (Halliwell & Gutteridge, 1985). As células animais contêm dois tipos de glutathione peroxidase, sendo que um deles é selênio dependente, enquanto o outro não.

O primeiro tipo é capaz de reduzir qualquer hidroperóxido orgânico, além do H_2O_2 . Essa forma possui peso molecular de 81.000, é uma proteína tetramérica e possui um átomo de selênio em cada subunidade. O segundo tipo, que não depende do selênio, tem peso molecular de 35.000, é dimérico e está apto a reduzir qualquer hidroperóxido orgânico, menos o H_2O_2 .

A GPx encontra alta atividade no fígado, moderada atividade no coração, pulmão e cérebro, e baixa atividade nos músculos (Halliwell & Gutteridge, 1989). Na maioria dos animais, a enzima dependente de selênio é responsável pela maior parte da atividade da GPx, mas a proporção entre as duas formas varia muito entre as diferentes espécies, bem como de tecido para tecido em uma mesma espécie. Em ratos, a distribuição da GPx tem sido extensamente estudada e, em hepatócitos a GPx selênio dependente está localizada principalmente no citosol e na matriz mitocondrial (Mannervik, 1985). O pH ótimo para a GPx é próximo de 8,0, mas a enzima continua ativa com valores elevados. Sua atividade é mínima em pH abaixo de 6,0 (Mills, 1959).

A enzima catalase esta presente na maioria das células aeróbicas, sendo que em animais se encontra principalmente no fígado, rins e eritrócitos. Órgãos como cérebro, coração e músculo esquelético contém, no entanto, pequenas quantidades da enzima (Halliwell & Gutteridge, 1985). Os nutrientes mais importantes coadjuvantes da catalase são o ferro e os

tocoferóis (vitamina E), que se acham distribuídos na membrana celular, na fase hidrofóbica. A catalase evita o acúmulo de metahemoglobina e decompõe o peróxido de hidrogênio, um produto tóxico do metabolismo, em água e oxigênio molecular (Gaetani et al., 1989). Além de seu papel como espécie reativa de oxigênio, e, portanto, causador de estresse oxidativo, o H_2O_2 em excesso causa oxidação da hemoglobina e, conseqüentemente, diminuição das concentrações de oxigênio, o que pode acarretar infecções, formação de úlceras e até necrose (Wieacker et al., 1980).

A enzima catalase tem peso molecular de 240.000 e, quando purificada, apresenta quatro subunidades, cada uma contendo um grupamento (Fe III – protoporfirina), ligado ao seu sítio ativo (Wieacker et al., 1980). Com relação ao pH, pode-se observar uma diminuição da atividade da enzima abaixo de pH 4,0. Na faixa de 4,0 a 8,5, a atividade da catalase permanece constante, sendo que acima desse valor volta a decair (Chance, 1952). Experimentos têm sido realizados para avaliar a competição entre as enzimas catalase e glutatona peroxidase em eritrócitos. Segundo alguns autores, a catalase é a enzima que se encarrega de fazer a conversão de altas concentrações de H_2O_2 em água e oxigênio. Quando o peróxido de hidrogênio está presente em baixas concentrações (condições fisiológicas normais), entretanto, a glutatona peroxidase é que se encarrega de transformá-la em água (Halliwell & Gutteridge, 1985).

Abreviaturas e símbolos

CuZn SOD = Superóxido dismutase dependente de cobre e zinco

DNA = Ácido desoxiribonucléico

ERO = Espécies reativas de oxigênio

GPx = Glutaciona peroxidase

GSH = Glutaciona reduzida

GSSG = Glutaciona oxidada

H_2O_2 = Peróxido de hidrogênio

HO• = Hidroxila

Mn SOD = Superóxido dimutase dependente de manganês

NADP = Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato, forma reduzida

NADPH = Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato, forma oxidada

O_2 = Dioxigênio; oxigênio molecular

$O_2^{\cdot-}$ = Superóxido

1O_2 = Oxigênio Singlet

RNA_m = Ácido ribonucleico mensageiro

RO• = Radical alcóxil

ROO• = Radical Peroxil

ROOH = Hidroperóxido Orgânico

SOD = Superóxido dismutase

Literatura citada

- GAETANI, G.F.; GALIANO, S.; CANEPA, L.; FERRARIS, A.M.; KIRKMAN, H.N. Catalase and glutathione peroxidase are equally active in detoxification of hydrogen peroxide in human erythrocytes. **Blood**, v.73, p. 334-339, 1989.
- GONZALEZ, M.J. Lipid peroxidation and tumor growth: an inverse relationship. **Med. Hypotheses**, v.38, p. 106-110, 1992.
- GUYTON, A. C. **Tratado de Fisiologia Médica**. 4.^a edição. Rio de Janeiro. Ed. Guanabara Hoogan S/A, 1973. 974 p.
- HALLIWELL, B. **Oxidants and human disease: some new concepts**. FASEB J., 1 ed., 1987, p. 358-364.
- HALLIWELL, B. How to characterize a biological antioxidant. **Free Rad. Res. Commun.**, v.9, p.1-32, 1990.
- HALLIWELL, B. & GUTTERIDGE, J.M.C. **Free radicals in Biology and Medicine**. Oxford: Clarendon Press, 1989, 543 p.
- HENDLER, S.S. **Vitamin and mineral encyclopedia**. San Diego, Simon e Schuski, 1990, 576 p.
- KAY, M.M.B.; BOSMAN, G.J.C.G.M.; SHAPIRO, S.S.; BENDICH, A.; BASSEL, P.S. Oxidation as a possible mechanism of cellular aging: Vitamin E deficiency causes premature aging and IgG binding to erythrocytes. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v.83, p.2463-2467. 1986.
- MACHLIN, L.J. & BENDICH, A. **Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients**. FASEB J. 1 ed., 1987, p. 441-445.
- MANNERVIK, B. Glutathione peroxidase. **Methods Enzymol.**, v.113, , p.490-495. 1985.
- McCORD, J.M. & FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase an enzymic function for erythrocyte (hemocuprein). **J.Biol.Chem.**, v.244, p. 6049-6055, 1969.
- MILLS, G.C. The purification and properties of glutathione peroxidase of erythrocytes. **J.Biol.Chem.**, v.234, p.502-506, 1959.
- REITER, J. R. & MAESTRONI, G. J. M. Melatonin in relation to the antioxidative defense and immune systems: possible implications for cell and organ transplantation. **J. Mol. Med.**, v.77, p.36-39, 1999.
- SLATER, T.F. Free radical mechanisms in tissue injury. **Biochem. J.**, v.222, p.1-15, 1984.
- SIES, H. Oxidative stress: from basic research to clinical application. **Am.J.Med.**, v.91 (suppl 3C): p.31S-38S, 1991.
- WIEACKER, P.; MUELLER, C.R.; MAYEROVA, A.; GRZESCHIK, K.H.; ROPERS, H.H. Assignment of the gene coding for human catalase to the short arm of chromosome 11. **Ann.Génét.**, v.23, p.73-77, 1980.