

3 51262



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
"ZARAGOZA"

*SIMILITUD DE DAÑO AL ADN EN  
ALCOHÓLICOS JÓVENES Y ADULTOS  
MAYORES CLÍNICAMENTE SANOS*

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
MAESTRA EN CIENCIAS  
(*BIOLOGÍA DE LOS SISTEMAS HUMANOS*)

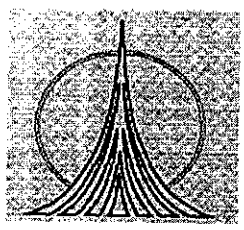
PRESENTA

RAQUEL RETANA UGALDE DE ESTUDIOS  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES



DIRECTOR DE TESIS: DR. MARIO ALTAMIRANO LOZANO

DIVISION DE ESTUDIOS  
DE POSGRADO E  
INVESTIGACION



Unidad en la Diversidad:  
Zaragoza Frente al Siglo XXI

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

ABRIL 2002



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## DEDICATORIAS

Papi: para ti donde quiera que estes.  
nunca te olvidare.

Mami: gracias a todo el amor que me has  
dado y a tu apoyo se ha podido cumplir  
otra meta.

A David por darle sentido a mi vida,  
te amo bebé.

A Paco por estar a mi lado y enseñarme  
que si hay amor hay esperanza.

A mis hermanos Tavo, Lalo, Ricki a mi  
cuñada Sele y al pequeño Kenjiro por  
estar siempre a mi lado. Gracias de todo  
corazón

A mi abuelita y a mi tía Licha por su  
apoyo incondicional, las quiero mucho

Gracias por todo lo que me han dado

Raquel

---

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

## AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Mario Altamirano por abrirme  
las puertas de su laboratorio, su paciencia  
y sus enseñanzas

Al Dr. Juan Garduño Espinosa por  
aceptar ser parte del comité tutorial  
y a su valiosa asesoría.

A la Dra. Rocío Ortiz y al Dr. Miguel Betancourt  
por sus atinados comentarios

Al Dr. Víctor Mendoza por su apoyo en  
la revisión y asesoría de este trabajo  
pero sobre todo por su amistad.

A la Mtra. Bertha Molina por la capacitación  
en la técnica de electroforesis unicelular alcalina,  
su apoyo y su amistad.

A Martha Sánchez por que sé que  
siempre cuento contigo, gracias por  
tu apoyo y amistad.

---

A Elsa Correa por estar siempre a mi lado  
y a esa invaluable amistad.

A Alicia Arronte por su apoyo y su  
amistad.

A Mirna Ruíz por la realización de este trabajo,  
tu apoyo y amistad.

A todos los miembros de laboratorio de  
citogenética por dejarme ser parte de  
ustedes

A toda la Unidad de Investigación en Gerontología  
por enseñarme que el trabajo en equipo es lo mejor.

---

---

## ÍNDICE

I. Resumen	1
II. Introducción	2
III. Marco Teórico	3
III.1 Alcoholismo	4
III.2 Metabolismo del etanol	6
III.3 Efectos bioquímicos y fisiológicos del etanol	8
III.4 Alcohol y radicales libres	9
III.5 Envejecimiento y radicales libres	14
III.6 Alcohol, envejecimiento y daño al ADN	26
III.7 Alcohol y factores de riesgo asociados	28
IV. Problema	30
V. Hipótesis	31
VI. Objetivos	32
VII. Material y Métodos	33
VII.1 Población y Diseño	33
VII.2 Variables	34
VII.3 Técnicas	36
VII.4 Diseño Estadístico	38
VIII. Resultados	42
IX. Discusión	62
X. Conclusiones	68
XI. Perspectivas	69
XII. Referencias	70
XIII. Anexos	82

---

## I. Resumen

**ANTECEDENTES.** El consumo crónico de alcohol causa alteraciones bioquímicas en el metabolismo de lípidos, proteínas y ácidos nucleicos así como un deterioro celular generalizado, el cambio en los mecanismos celulares durante el consumo del etanol es explicado por medio de la generación de radicales libres al oxidarse el etanol, cuyas alteraciones bioquímicas y celulares son muy similares al envejecimiento normal, de ahí que se establezca que el alcoholismo crónico es causa de envejecimiento prematuro o acelerado

El tiempo de exposición, la cantidad de alcohol ingerida y la respuesta individual son factores importantes en el desarrollo de los cambios fisiológicos y psicosociales producidos por el alcohol.

**OBJETIVO.** Detectar y analizar la similitud de daño al ADN entre alcohólicos jóvenes y adultos mayores clínicamente sanos de la ciudad de México, así como la asociación de este daño con los factores de riesgo asociados a los individuos

**METODO.** Se llevó a cabo un estudio analítico de tipo prolectivo, transversal y comparativo en una muestra de 53 alcohólicos jóvenes, 26 adultos mayores ( $\geq 60$  años) sanos desde el punto de vista gerontológico y 20 adultos jóvenes sin adicción al alcoholismo aparentemente sanos, residentes de la ciudad de México

Las variables independientes fueron la edad la graduación de la bebida la cantidad de alcohol ingerida, tabaquismo, ingesta de café y ocupación pro-oxidante; la variable dependiente fue daño al ADN evaluado por la técnica de electroforesis unicelular alcalina. Los datos fueron analizados a través de las pruebas  $\chi^2$  al 95%  $\chi^2$  de tendencias, t de student al 95% Razón de Momios con intervalo de confianza de 95% y regresión logística. Para tal efecto se utilizaron los paquetes estadísticos Epi-info 6.0 y SPSS 10.0.

**RESULTADOS.** La frecuencia de daño al ADN observada en el presente estudio en alcohólicos jóvenes y adultos mayores no mostró diferencias estadísticamente significativas (adultos mayores 62% vs alcohólicos jóvenes 55%;  $p > 0.05$ ).

Las bebidas que ingieren los alcohólicos crónicos de alta graduación con respecto al daño al ADN obtuvo una razón de momios de 2.89 (IC<sub>95%</sub> 0.75-11.45) con una  $\chi^2$  de tendencia estadísticamente significativa, por lo que entre mayor sea la graduación de alcohol de las bebidas que ingieren se presenta mayor daño.

En el análisis multivariado de regresión logística se observó un riesgo de daño al ADN relacionado con la ingesta de alcohol de RM = 2.28 (IC<sub>95%</sub> 1.1-4.73), por lo que el consumo de etanol constituye un factor de riesgo independiente para producir daño al ADN.

**CONCLUSIONES.** La prevalencia de daño al ADN no mostró diferencia estadísticamente significativa entre los adultos mayores y los alcohólicos crónicos jóvenes, por lo que se concluye que el alcoholismo crónico produce daño al ADN de manera similar al que ocurre durante el envejecimiento.

Los resultados obtenidos mostraron que entre mayor sea la graduación de la bebida ingerida se presenta mayor daño al ADN encontrando diferencias estadísticamente significativas.

## II. Introducción

El abuso del alcohol desde el punto de vista bioquímico puede originar numerosas modificaciones funcionales de los constituyentes celulares tales como lipoperoxidación de membranas degradación de proteínas y oxidación del ADN, lo cual causa una acumulación de daño oxidativo irreversible en las células (estrés oxidativo) provocando características muy similares a las que ocurren en el envejecimiento celular normal.

Al respecto, una de las teorías más aceptadas para explicar este proceso es la de radicales libres que propone la acumulación de daño oxidativo en órganos y sistemas a causa de procesos bioquímicos donde interviene el oxígeno, lo que da como resultado biomoléculas oxidadas que se acumulan y que puede dar origen a la vejez.

Por otro lado es en la molécula de ADN donde se encuentran los genes involucrados en la regulación del proceso de envejecimiento, no obstante las influencias ambientales, así como las mismas reacciones endógenas generadoras de radicales libres que pueden modificar en cierta medida a la molécula de ADN causando un daño oxidativo que puede ser permanente debido a deficiencias en los mecanismos de reparación de la misma molécula, lo cual puede comportarse de manera similar en los alcohólicos. En este sentido, esta molécula constituye un marcador biológico aceptable de posible afectación homeostática.

Por tal motivo, con el presente estudio se pretende evaluar el daño al ADN en alcohólicos jóvenes y adultos mayores así como los posibles factores de riesgo asociados al consumo de alcohol que propician dicho daño, ya que no todos los alcohólicos ni todos los adultos mayores presentan este marcador de estrés oxidativo, por lo que una detección oportuna de este desequilibrio homeostático podría indicar esquemas terapéuticos antioxidantes que permitan potencialmente mejorar el estado de salud de ambos grupos.

---



### **III. MARCO TEÓRICO**

La Organización Mundial de la Salud<sup>1</sup> señala que el proceso de envejecimiento es secuencial, acumulativo e irreversible, que deteriora al organismo progresivamente hasta hacerlo incapaz de enfrentar las circunstancias y condiciones de su entorno. no obstante existen factores genéticos y ambientales que determinan la longevidad y las manifestaciones clínicas que caracterizan a los adultos mayores<sup>2</sup>; por lo que se puede aseverar que, aunque dicho proceso ocurre en todos los humanos, existe la posibilidad de identificar factores que limiten el deterioro biológico, psicológico y social, o por el contrario lo aceleren como en el caso del alcoholismo el cual es un padecimiento destructivo que afecta de manera directa o indirecta células órganos y sistemas. Los órganos que se ven afectados por el alcohol son el hígado, páncreas, riñones, corazón, vasos sanguíneos, huesos, pulmones etc y a nivel metabólico altera a las proteínas, ácidos nucleicos lípidos, carbohidratos, electrolitos, enzimas hepáticas, entre otros.

Asimismo el consumo de alcohol incrementa la producción de radicales libres en el organismo, los cuales son responsables del envejecimiento de las células, al respecto se han encontrado jóvenes alcohólicos con alteraciones neurológicas semejantes a las que se presentan en el envejecimiento normal, de ahí que algunos investigadores aseguren que el alcoholismo provoca envejecimiento prematuro, sin embargo no todos los alcohólicos presentan el mismo grado de deterioro.

Por lo anterior, resulta de gran interés conocer los factores que se asocian con el alcoholismo y que pueden ocasionar en algunos sujetos envejecimiento prematuro, así como analizar si existe alguna similitud en el daño al ADN entre estos dos grupos. De tal manera que se puedan indicar esquemas terapéuticos en los alcohólicos que permitan potencialmente mejorar su estado de salud.

A continuación se presentará la fundamentación teórica sobre la relación del consumo de alcohol, su metabolismo y el proceso normal de envejecimiento con el fin de precisar el problema y la hipótesis de nuestra investigación.

### **III.1 Alcoholismo**

El alcoholismo es considerado como una enfermedad por la Organización Mundial de la Salud desde 1952 y define a los alcohólicos como bebedores en exceso cuya dependencia al alcohol ha llegado a tal extremo que existe un trastorno en sus relaciones sociales y laborales <sup>3</sup>

El alcoholismo ocupa actualmente el tercer lugar de las drogas de elección y se presume que hay 28 millones de bebedores aproximadamente, de los cuales un 16.2% lo consume de una a cuatro veces por semana como mínimo, en México es un problema de salud pública, ya que su magnitud asciende al 7.3% en la población de 12 a 65 años, es decir una de cada 14 personas de este grupo tiene problemas relacionados con el abuso del alcohol<sup>4-7</sup>.

En cuanto a la dosis diaria de alcohol, algunos autores admiten como peligroso un consumo superior a 80g, otros consideran que el riesgo de que aparezcan lesiones orgánicas aumenta con un consumo mantenido de 40 a 60g/día en los hombres y de 20g/día en las mujeres <sup>3,8</sup>.

Sin embargo, en el sistema de atención médica los pacientes con problemas relacionados con el consumo excesivo de alcohol no son diagnosticados oportunamente sino hasta que presentan complicaciones graves y tienen que ser hospitalizados, sólo uno de cada 10 pacientes alcohólicos son detectados a tiempo, mientras que cerca del 25% de todas las hospitalizaciones son debidas, de manera directa o indirecta, al consumo de alcohol, por ello con el fin de mejorar el diagnóstico del alcoholismo se han introducido una serie de marcadores bioquímicos y numerosos cuestionarios diagnósticos<sup>9</sup>.

En este sentido, en México De la Fuente en 1991 validó un instrumento de fácil aplicación para detectar el alcoholismo, que se denomina AUDIT (Alcohol Use Disorders Identification Test), es una prueba útil con validez transcultural para identificar el consumo excesivo de alcohol. Este instrumento está compuesto de 10 preguntas, las tres primeras se refieren a la frecuencia y a la cantidad del consumo de alcohol, la cuatro, cinco y seis exploran la posibilidad de que haya dependencia al alcohol y de la siete a la diez se refieren a un consumo dañino de alcohol<sup>9</sup>.

En este instrumento una calificación igual o mayor a ocho es suficiente para considerar a los sujetos como "positivos". Tiene una sensibilidad del 80%, una especificidad del 89%, y ha sido validado y aceptado como útil para el diagnóstico del alcoholismo por investigadores de la Universidad de Wisconsin USA<sup>10 11</sup>

El alcoholismo se puede definir como una enfermedad crónica, progresiva y potencialmente fatal, que se caracteriza por la tolerancia y la dependencia física o alteraciones orgánicas, patológicas o ambas, como consecuencia directa o indirecta del alcohol ingerido sin embargo se desconoce con precisión las repercusiones biológicas y psicosociales de dicha adicción ya que la mayoría de estudios sólo evalúan los factores de riesgo y las secuelas físicas muy aparentes como son la cirrosis hepática, la pancreatitis y la demencia alcohólica entre otras; esto en cierto sentido es erróneo, ya que el alcohol llega a todas las células del organismo alterando el metabolismo de lípidos, proteínas y ácido nucleicos e impide el uso adecuado del oxígeno, afectando órganos como el hígado, páncreas, pulmones, huesos, aparato gastrointestinal, riñones etc.<sup>6 12</sup>

Asimismo algunos autores aseguran que produce deterioro celular generalizado propiciando un envejecimiento celular prematuro y acelerado, puesto que los cambios bioquímicos que provoca el alcohol en la célula son muy similares a los que ocurren en el envejecimiento celular normal<sup>12-14</sup>.

### III.2 Metabolismo del etanol

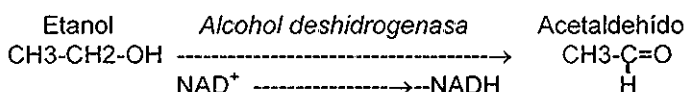
Para entender la relación entre el envejecimiento celular prematuro y el alcoholismo es necesario conocer el metabolismo del etanol.

El etanol se absorbe rápidamente en el estómago, intestino delgado y colon éste debido a sus características fisicoquímicas (molécula relativamente pequeña, sin carga, completamente soluble en agua pero sólo parcialmente en grasas), se distribuye con bastante uniformidad en todas las células y líquidos del cuerpo. Aproximadamente del 90 al 98% del alcohol que entra en el organismo es oxidado completamente en el hígado, el restante 2 a 10% es eliminado por pulmón o riñón<sup>15-19</sup>

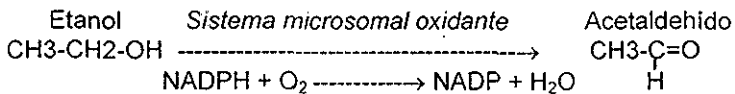
El hepatocito posee tres sistemas enzimáticos importantes para metabolizar al alcohol etílico y todos catalizan la conversión de éste a acetaldehído:<sup>20</sup>

- 1) El sistema de la deshidrogenasa alcohólica, localizada en el citosol
- 2) El sistema microsomal oxidante del etanol, situado en el retículo endoplásmico liso
- 3) El sistema de la catalasa, ubicado en los peroxisomas

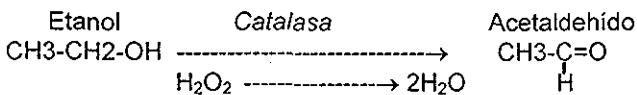
**El sistema de la deshidrogenasa alcohólica** es el que se encarga de metabolizar prácticamente la totalidad del etanol cuando las concentraciones en sangre son moderadas y más de 70% cuando son altas; esta enzima pertenece al grupo de las deshidrogenasas piridínicas, que catalizan reacciones de oxido-reducción o intercambio de electrones entre diversos sustratos además utiliza como coenzima al dinucleótido de nicotinamida y adenina ( $\text{NAD}^+$ ) generándose acetaldehído y dinucleótido de nicotinamida y adenina reducido ( $\text{NADH}$ )<sup>19 21-24</sup>



**El sistema microsomal oxidante del etanol (MEOS)** esta relacionado funcionalmente con el citocromo P450, específicamente con el CYP2E1 y es relativamente pobre cuando los niveles séricos de etanol son bajos pero su actividad puede **contribuir** hasta en un 50% cuando es alta. Este sistema tiene la ventaja metabólica de que no genera equivalentes reductores, sino que los utiliza en forma de NADPH produciendo la coenzima oxidada y agua<sup>19 22</sup>.



**La catalasa** también es capaz de oxidar al etanol, esta enzima cataliza una reacción química que requiere de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y en la cual no participan coenzimas piridínicas<sup>19 22</sup>

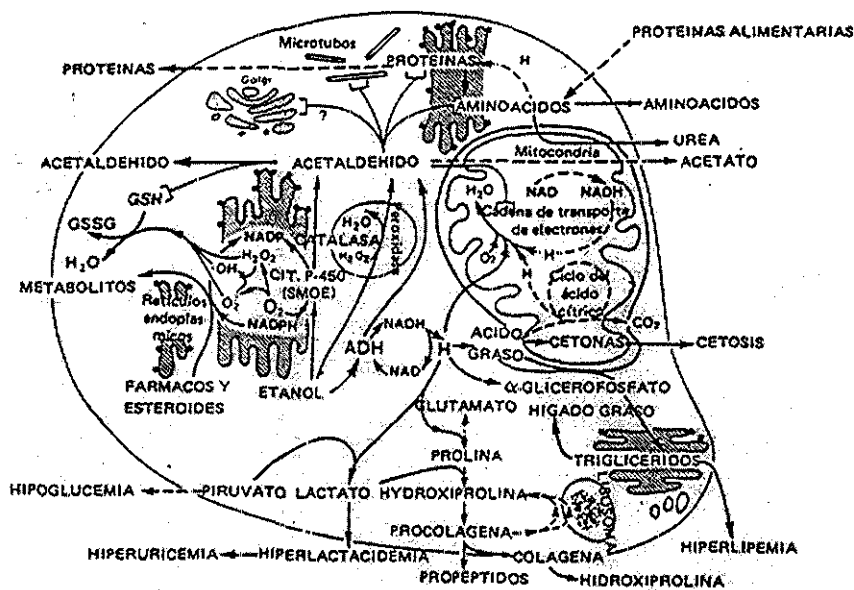


El acetaldehído generado por cualquiera de estas tres formas de oxidación viaja a la mitocondria donde la enzima acetaldehído deshidrogenasa lo convierte en acetato con generación de NADH, el cual es utilizado en la mitocondria para la generación de energía o la reducción de metabolitos. El acetato activo, en presencia de la enzima acetil-CoA sintetasa, aporta el grupo acilo necesario para la esterificación de la coenzima A, de manera que se obtiene acetil coenzima A.

La acetil coenzima A es la encargada de introducir el acetato al ciclo de los ácidos tricarboxílicos en donde se transforma en dióxido de carbono e hidrógeno, a su vez éste reacciona con oxígeno para dar lugar a la formación de agua.

El agua obtenida en la última reacción se incorpora a la reserva orgánica de agua y el bióxido de carbono es transportado por la sangre en forma de bicarbonato hasta que se elimina como bióxido de carbono en el aire espirado<sup>23-25</sup> (Figura 1)

Figura 1. Oxidación del etanol en el hepatocito.



Tomado de Lieber C. En Clínicas Médicas de Norteamérica 1984

### III.3 Efectos bioquímicos y fisiológicos del alcohol

El consumo de etanol lleva al organismo a un estado de oxido-reducción alterado responsable de anomalías metabólicas como hiperlactacidemia, ya que el piruvato formado tiende a convertirse en lactato lo que contribuye a la acidosis y reduce la capacidad del hígado para excretar ácido úrico además el alcohol produce cetosis cuando la Acetil-CoA es canalizada a la formación de cuerpos cetónicos aumentando el rompimiento de purinas y por lo que la hiperuricemia es inevitable<sup>22 25</sup>

Asimismo durante el metabolismo del mismo en el tejido hepático el  $\text{NAD}^+$  es un importante acarreador de electrones y es vital para mantener el equilibrio ácido-base intracelular normal. La disminución del  $\text{NAD}^+$  hacia  $\text{NADH}$  da como resultado una disminución en la disponibilidad de ATP así como interferencia en la respiración celular con repercusiones en múltiples conversiones metabólicas y funciones de síntesis<sup>18</sup>

El consumo inmoderado de alcohol provoca daño en los tejidos intestinales por irritación directa. Interfiere en el peristaltismo normal, llega a provocar anomalías esofágicas y duodenales, y provoca pancreatitis aguda y crónica. Al mismo tiempo se ha observado una deficiencia en la absorción de calcio, magnesio, sodio, potasio y vitaminas<sup>26-27</sup>

El etanol atraviesa la barrera placentaria y hematoencefálica por lo que se pueden producir anomalías y disfunciones durante el desarrollo y maduración del sistema nervioso central en los embriones de madres alcohólicas. Además en el sistema nervioso central el alcohol altera los mecanismos de neurotransmisión y de neuromodulación provocando daños a nivel cerebral<sup>28-29</sup>.

Por otro lado el hepatocito es capaz de autorregular su volumen acuoso cuando se presenta un estrés osmótico provocado por el consumo de etanol que interfiere con el proceso de comunicación intracelular del hígado, provocando cambios en la conductancia del  $\text{K}^+$  afectando la membrana; asimismo se vuelve más sensible al responder a diversas citocinas como la interleucina 1 (IL-1), factor de necrosis tumoral ( $\text{TNF-}\alpha$ ) e interleucina 6 (IL-6), lo que provoca inflamación hepática y hepatomegalia<sup>30-31</sup>.

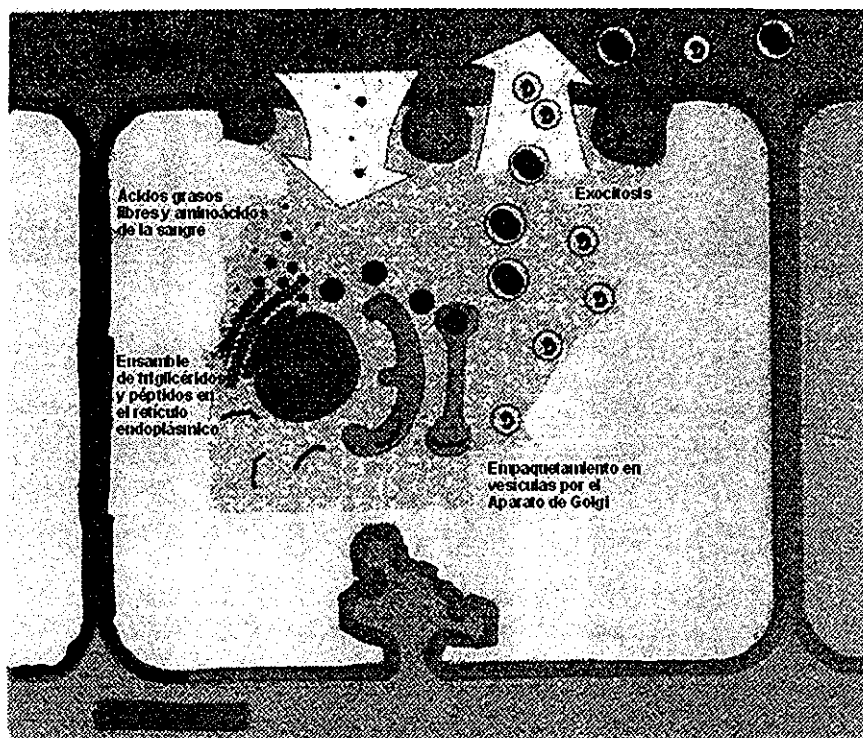
### ***III.4 Alcohol y Radicales libres***

Durante el metabolismo de los lípidos el alcohol se convierte en un problema ya que incrementa la síntesis de triglicéridos a partir de ácidos grasos

---

libres y acetato provocando un incremento en la movilización de ácidos grasos de la periferia; así como un transporte intracelular defectuoso al ensamblar triglicéridos en el retículo endoplásmico rugoso y en especial una gran interferencia en la producción de las membranas vesiculares en el Aparato de Golgi donde se empaquetan los triglicéridos y péptidos para que salgan por exocitosis (Figura 2) Los hepatocitos por lo tanto acumulan largos glóbulos de grasa, los cuales coalescen y comprimen severamente los alrededores del citoplasma<sup>18</sup>.

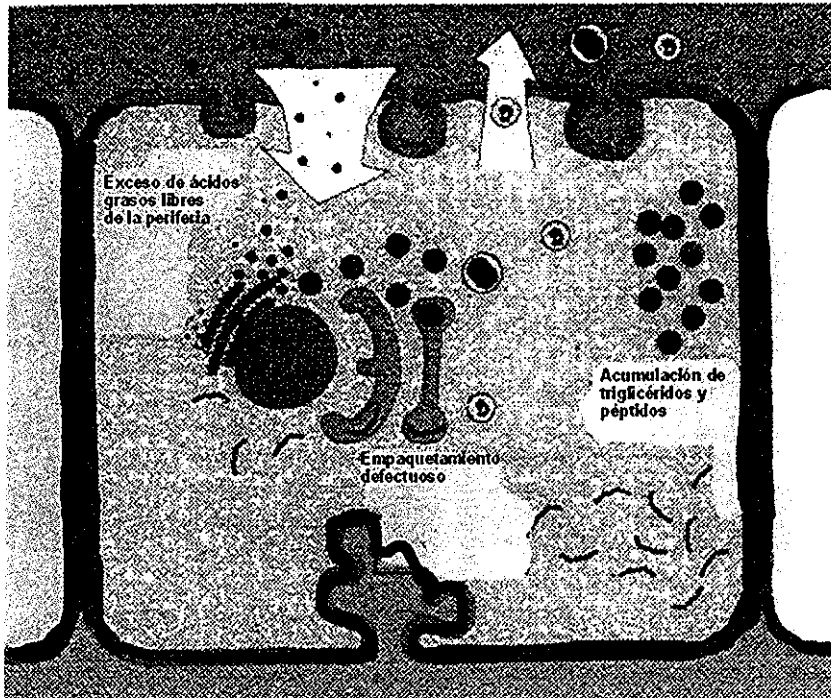
**FIGURA 2. Síntesis de triglicéridos.**



La figura indica la síntesis en un hepatocito sano donde se importan los ácidos grasos libres (verde) de la sangre, el proceso de síntesis comienza en el retículo endoplásmico rugoso (azul) y continúa en el aparato de Golgi (lila) donde se producen las membranas vesiculares y se exportan con los triglicéridos empaquetados.



En la figura muestra lo que sucede en un hepatocito con abuso de etanol donde hay exceso de ácidos grasos libres y defecto al empaquetar las vesículas con los triglicéridos.



Tomado de Achord J. (1995).

La acumulación de esos triglicéridos en los hepatocitos se convierten en citotóxicos, la grasa en la célula escapa hacia el citoplasma y sirve como sustrato para su peroxidación, formando por lo tanto radicales libres<sup>18</sup>

Cuando la vía metabólica del etanol es el sistema microsomal oxidante incluye la utilización del citocromo P450(isoforma 2E1) el cual tiene la capacidad de convertir muchos xenobióticos en metabolitos altamente tóxicos, de activar

numerosos agentes hepatotóxicos y de inhibir el metabolismo de diversos medicamentos por lo que existe una destoxificación parcial cuando se consume alcohol y medicamentos; además la relación etanol-citocromo P450 actúa como catalizador en la formación de radicales libres cuando en el retículo endoplásmico provoca una producción endógena de radical hidroxietil ( $\text{CH}_3\text{-C HOH}$ ) así como de radicales derivados del oxígeno<sup>22-24</sup>

El acetaldehído producto del metabolismo del etanol, es un compuesto muy reactivo capaz de formar enlaces con los grupos amino y sulfhidrilo libres de la hemoglobina y de proteínas microsomales provocando efectos tóxicos, asimismo es capaz de inducir entrecruzamientos en el ADN, formar aductos con las proteínas, es decir, uniones irreversibles con residuos de lisina en especial con tubulina que es una proteína que al polimerizarse participa en la formación de los microtúbulos del citoesqueleto<sup>16-17 32-33</sup>

Los aductos formados entre el acetaldehído y las proteínas (llamados bases de **Schiff**) tienen la capacidad de generar una respuesta inmune generando anticuerpos contra este complejo además de que activa al sistema del complemento causando daño celular<sup>33-35</sup>

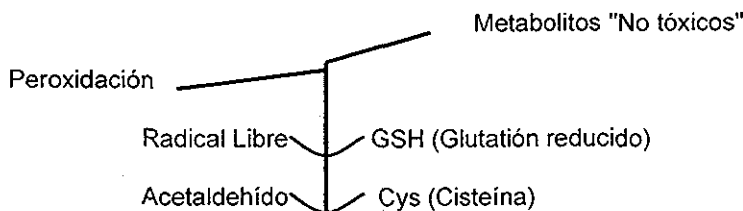
Por otro lado es posible que en la intoxicación alcohólica el exceso de acetaldehído sea oxidado por vías alternativas tal como la xantina oxidasa y la aldehído oxidasa con producción del radical superóxido el cual aumenta la cantidad de radicales libres en el hepatocito provocando daño en el mismo<sup>22</sup>

Asimismo, el acetaldehído se conjuga con el glutatión hepático (enzima que permite la eliminación de radicales libres tóxicos) estableciendo uniones de tipo hemiacetal con el aminoácido L-cisteína el cual forma parte de la molécula de glutatión y cuya forma de citotoxicidad es muy semejante a la teoría de los radicales libres propuesta para explicar el envejecimiento celular<sup>12 20 25 36</sup> (**Figura 3**) modificando los microtúbulos disminuyendo la secreción de proteínas y

provocando la degeneración globosa del hepatocito, al mismo tiempo esta sustancia es tóxica respecto a otras funciones celulares clave particularmente en la mitocondria, y puede fomentar la peroxidación de las membranas celulares<sup>20 25</sup>

Además, el consumo excesivo de alcohol produce una disminución de antioxidantes como son la vitamina C E y  $\beta$ -caroteno (por mala absorción) lo cual acelera el daño que causan los radicales libres produciendo el envejecimiento de la célula<sup>36-39</sup>

**FIGURA 3.**

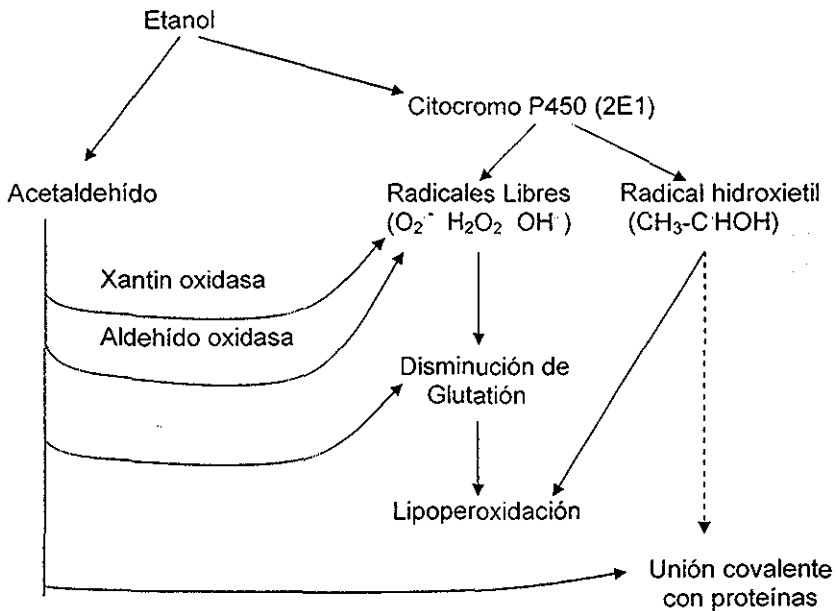


El acetaldehído establece uniones hemiacetal con la cisteína y el glutatión por lo cual disminuye la cantidad de glutatión disponible para la detoxificación de radicales libres

Tomado de Velasco R (1988)

Tomando en cuenta lo anterior es evidente que la toxicidad por ingesta de etanol, y su consecuente metabolismo da como resultado el incremento de radicales libres así como la disminución de las defensas antioxidantes, provocando un desbalance entre estos dos sistemas que da lugar a lo que se conoce como estrés oxidativo provocando como resultado biomoléculas oxidadas que se acumulan y que pueden dar origen al envejecimiento (**Figura 4**)

**FIGURA 4. Posible mecanismo de producción de radicales libres en el metabolismo del etanol**



Tomado de Poli G (1993)

### III.5 Envejecimiento y Radicales libres

El envejecimiento es un proceso de la vida del ser humano durante el cual ocurren modificaciones biológicas psicológicas y sociales. Este proceso implica cambios celulares, tisulares, orgánicos y funcionales y se manifiesta de diferente manera en cada persona.

Para poder explicar este complejo proceso se han planteado diversas teorías que están centradas alrededor de la relación edad-deterioro tanto en la modificación funcional de sus constituyentes celulares, como en su estructura; de

entre ellas la de radicales libres explica que la producción de estos radicales es la causa de un daño oxidativo crónico y acumulativo a las biomoléculas que puede dar a la célula características de haber envejecido prematuramente o que incluso la puede llevar directamente a la muerte.

Afortunadamente los organismos poseen un sistema antioxidante que por diversos mecanismos de defensa limitan los niveles de moléculas reactivas oxidantes permitiendo la homeostasis de los mismos, sin embargo cuando existe un desequilibrio en favor de los factores pro-oxidantes sobre el sistema antioxidante se produce lo que llamamos estrés oxidativo.

Por lo anterior es la teoría de los radicales libres la que explica la producción de moléculas oxidantes como causa de ese desequilibrio homeostático en los organismos, dicha teoría fue propuesta a mediados de los 50's con los trabajos de Denhan Harman quien observó que muchas reacciones biológicas generan dichas partículas químicas hiperreactivas<sup>40-42</sup> (Figura 5).

El término "radical libre" se refiere a un átomo o molécula que tiene un electrón desapareado en su órbita externa, lo cual le confiere cierta inestabilidad y con esto la posibilidad de oxidar y dañar al ADN, proteínas, lípidos y otras moléculas del cuerpo; de tal manera que la acumulación de este daño oxidativo irreversible en las células y tejidos se traduce como vejez<sup>40-41 43-44</sup>

La presencia de uno o más electrones desapareados causa en las especies una reactividad muy alta, asimismo existen factores tanto exógenos como endógenos que pueden participar en la formación de radicales libres, sin embargo se ha observado que *in vivo* la fuente más importante de radicales libres son las reacciones bioquímicas de oxidación-reducción que envuelven al oxígeno, y que pueden ser formados de la siguiente manera<sup>45</sup>

FIGURA 5. Radicales Libres.



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

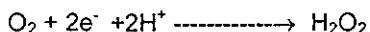
La teoría más aceptada para explicar el proceso de envejecimiento, mantiene que el cuerpo humano es deteriorado porque continuamente se generan potenciales destructivos por agentes oxidantes llamados radicales libres; el ataque oxidativo se da en todos los niveles sobre lípidos, proteínas, carbohidratos y ADN alterando las funciones bioquímicas de la célula.

Tomado de Weiss R. (1997).

Reducción del oxígeno por la transferencia de un electrón produciendo el anión superóxido



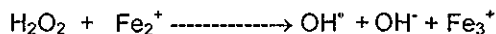
Una reducción de dos electrones de oxígeno produciendo peróxido de hidrógeno.



La generación de peróxido de hidrógeno en los sistemas biológicos via producción de superóxido, en donde dos moléculas de superóxido pueden reaccionar juntas para formar peróxido de hidrógeno y oxígeno.



El peróxido de hidrógeno no es un radical libre, pero cae en la categoría de especies reactivas de oxígeno (ROS), además es un compuesto importante en la bioquímica de los radicales libres porque puede descomponerse fácilmente, particularmente en presencia de metales de transición, para producir el más reactivo y dañino radical libre de oxígeno, el radical hidroxilo ( $\text{OH}^{\cdot}$ )<sup>43,45</sup>.



Como puede observarse, el oxígeno es potencialmente tóxico y es generado *in vivo* como producto normal de los procesos metabólicos<sup>46-48</sup> (Cuadro 1).

### Cuadro 1. Algunas fuentes fisiológicas del ión superóxido.

FUENTE	COMENTARIO
Cadena de transporte electrónico mitocondrial	Pérdida de electrones en sitios especiales: NADH-Coenzima Q reductasa y forma reducida de la coenzima Q: $O_2 + e \longrightarrow O_2^{\cdot -}$
Auto-oxidación de oxihemoglobina	$Hem-Fe^{2+} + O_2 \longrightarrow Hem-Fe^{3+} + O_2^{\cdot -}$
Reticulo endoplásmico	$O_2^{\cdot -}$ se forma durante la oxidación de una gran variedad de sustratos endógenos y exógenos
Auto-oxidación de moléculas pequeñas	Muchas moléculas pequeñas como adrenalina tiolos flavin mononucleótido y flavin adenin dinucleótido
Acción enzimática (xantina oxidasa)	Es particularmente importante durante la reperusión del tejido después de la isquemia $Xantina + O_2 \longrightarrow \text{Ácido úrico} + O_2^{\cdot -}$
Estallamiento respiratorio por fagocitosis	$2O_2 + NADPH \longrightarrow O_2 NADP^+ + O_2^{\cdot -}$

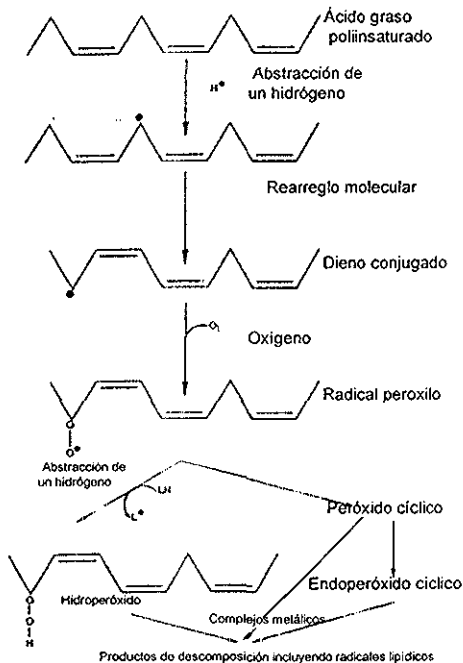
Tomado de Bunker V W (1992).

De todas las biomoléculas que pueden ser atacadas por radicales libres, los lípidos son probablemente los más susceptibles. Las membranas celulares son ricas en ácidos grasos poliinsaturados que son fácilmente oxidables. La destrucción oxidativa de éstos ácidos grasos se conoce como peroxidación lipídica. Este proceso daña directamente la estructura de la membrana celular e indirectamente a otros componentes celulares por la producción de aldehídos reactivos<sup>45</sup>.



La oxidación de los lípidos de la membrana se inicia por la generación de las especies reactivas del oxígeno, como el radical hidroxilo ( $\text{OH}^\bullet$ ) este radical es capaz de abstraer un átomo de hidrógeno ( $\text{H}^\bullet$ ) de la cadena del ácido graso poliinsaturados como el ácido araquidónico que conforma a las membranas celulares; formando un radical de ácido graso ( $\text{L}^\bullet$ ) Este último puede sufrir un rearrreglo molecular y presentarse en la forma de dieno conjugado que puede reaccionar con el oxígeno para formar el radical ácido graso peroxil ( $\text{LOO}^\bullet$ ), el cual es capaz de sustraer otro hidrógeno de los ácidos grasos provocando una reacción en cadena que produce una mayor cantidad de radicales libres dañando así a las membranas celulares<sup>26 43 46 49-51</sup> (Figura 6).

**Figura 6. Cadena de oxidación de ácidos grasos poliinsaturados (lipoperoxidación)**



Tomado de Bunker VW (1992).

Por otro lado, aunque al parecer las proteínas son menos susceptibles al ataque de los radicales libres, cuando son oxidadas dan como resultado la fragmentación y entrecruzamiento con la subsecuente pérdida de funcionalidad; en condiciones fisiológicas las proteínas de un organismo están continuamente expuestas a factores oxidantes endógenos y exógenos, la oxidación e inactivación de estas proteínas también pueden ser provocadas por radicales libres, generados en proceso intracelulares y pueden ser catalizados por sistemas de oxidación que envuelven diferentes reductasas y oxidasas<sup>52</sup> (Cuadro 2).

Las alteraciones estructurales introducidas en las proteínas por oxidación pueden dar como resultado agregación, fragmentación desnaturalización y distorsión de la estructura secundaria y terciaria incrementando así la susceptibilidad proteolítica de las proteínas oxidadas<sup>52</sup>.

**Cuadro 2. Lista de enzimas que son inactivadas o desnaturalizadas después de su oxidación.**

---

Gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa  
6-fosfogluconato deshidrogenasa  
Glutamina sintetasa  
Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa  
Fructuosa-1,6-difosfatasa  
Lactato deshidrogenasa  
Ornitin descarboxilasa  
Enzima hepática málica  
Superóxido dismutasa

---

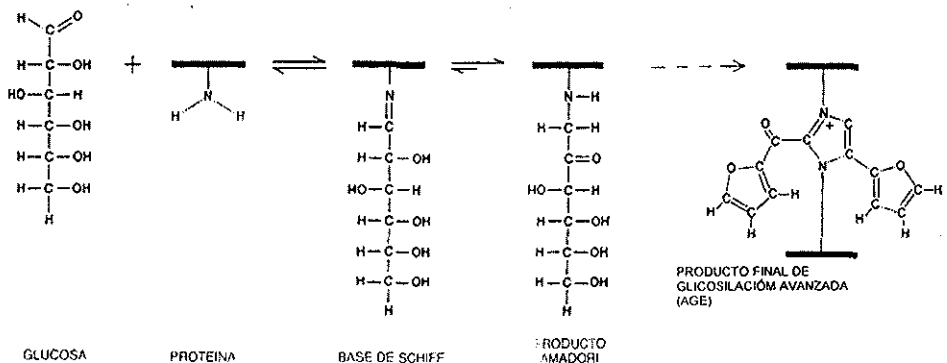
Tomado de Rattan S. (1992)

Tal vez una de las reacciones que se da con más frecuencia es entre las proteínas y la glucosa causando entrecruzamientos que provocan pérdida de funcionalidad de las proteínas, esta reacción se lleva a cabo entre un grupo

aldehído (CHO) de la glucosa y un grupo amino (NH<sub>2</sub>) de una proteína. Las moléculas se combinan y forman lo que se conoce como base de Schiff producto inestable que rápidamente y de modo espontáneo pasa a formar un compuesto reversible conocido como producto de Amadori<sup>40 53</sup>

Si la proteína permanece en el organismo durante meses o años, algunos de esos productos de Amadori se van deshidratando poco a poco lo que da lugar a formas irreversibles que se han denominado productos finales de glucosilación avanzada (AGEs)<sup>53</sup> (Figura 7).

**Figura 7. Unión de la glucosa con las proteínas para formar los productos de glucosilación avanzada (AGEs)**



Tomado de Cerami A (1998)

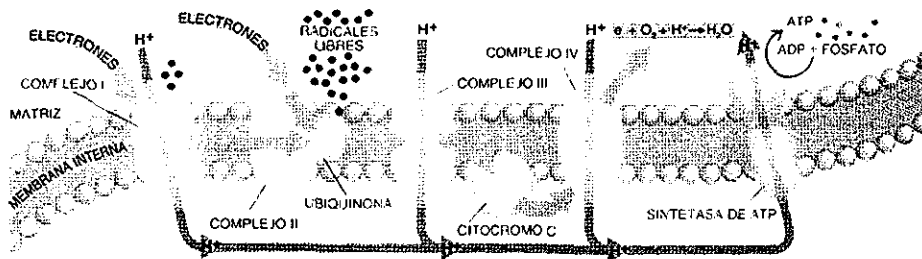
Por otro lado bajo circunstancias normales, la mayor fuente de radicales libres en las células es el "derrame de electrones" de las cadenas de transporte de los mismos, que se lleva a cabo en el retículo endoplásmico, pero principalmente en la mitocondria<sup>45 51</sup>. Particularmente la respiración mitocondrial produce moléculas del ión superóxido y de peróxido de hidrógeno, que generados en

grandes cantidades producen estrés oxidativo.<sup>51</sup> que causa un extenso daño a las macromoléculas biológicas como:<sup>45 51 54</sup>

- ◆ Peroxidación de las cadenas de ácidos grasos poliinsaturados de las membranas.
- ◆ Carboxilación y pérdida de sulfhidrilos en proteínas que ocurre en ciertos residuos de aminoácidos cercanos a los sitios de unión con metales de transición, causando una inactivación enzimática y aumentando la probabilidad de proteólisis.
- ◆ La oxidación de hidratos de carbono puede producir fragmentación y pérdida de la función.
- ◆ Modificación del ADN incluyendo alteraciones en las bases, rompimiento de las hebras de los constituyentes, intercambio de cromátidas hermanas y entrecruzamiento de proteínas-ADN.

Asimismo, se ha estimado que del 2 al 3% del oxígeno consumido por las células aeróbicas genera ión superóxido y peróxido de hidrógeno y que una célula típica puede recibir 10,000 "golpes o ataques" oxidativos al ADN por día y aproximadamente el 10% de las proteínas pueden exhibir modificaciones a los carboxilos.<sup>54</sup> Se ha descrito que la velocidad de generación de ión superóxido y de peróxido de hidrógeno por la mitocondria se incrementa con la edad en diferentes órganos de animales e insectos, observándose que un mecanismo que contribuye al incremento de especies reactivas de oxígeno (ROS) es el daño a la membrana interna mitocondrial, lo cual induce una retroalimentación positiva incrementando la generación de ROS, ya que los radicales libres interfieren eventualmente con la eficiencia en la producción de ATP e incrementa la producción de más radicales libres<sup>54-56</sup> (Figura 8).

**Figura 8. Obtención de ATP en la cadena respiratoria de la membrana interna de la mitocondria con la consecuente producción de radicales libres.**



Tomado de Weindruch R. (1998)

Así, como el genoma mitocondrial es especialmente vulnerable al daño oxidativo y sufre deleciones durante el envejecimiento, también ha sido posible observar que el estrés oxidativo tiene un profundo efecto en el metabolismo de los telómeros y el envejecimiento celular, por lo que el incremento en la respuesta al estrés en función de la edad puede reflejar una desregulación en los genes<sup>37</sup>. Así mismo se señala que el envejecimiento se acompaña de mayor producción de radicales libres y consecuentemente mayor daño al ADN<sup>46 58</sup>.

Considerando que el envejecimiento puede ser descrito como un fenómeno que resulta de efectos dañinos acumulados al azar, es evidente que también disminuye la habilidad del organismo para mantener la homeostasis; Esto nos puede ilustrar la dificultad para diferenciar si un exceso de radicales libres amenaza la homeostasis celular o si la existencia de radicales libres incrementados ocurre como consecuencia de una alteración<sup>51</sup>.

Lo que sí está claro es que individuos con la misma edad cronológica pueden tener diferente edad "biológica" (fisiológica). Esto ha sido demostrado en experimentos con *Drosophila melanogaster* (mosca de la fruta) cuyo tiempo de vida es corto y ha las cuales se les ha modificado su tiempo de vida máximo al

disminuir la generación de ión superóxido y peróxido de hidrógeno mitocondrial y, por lo tanto, el daño oxidativo<sup>54</sup>

Las reacciones de radicales libres pueden producir cambios adversos progresivos que con la edad se acumulan continuamente en el organismo. lo que permite explicar el llamado "envejecimiento prematuro" en el cual pueden observarse cambios fisiológicos compatibles con senectos, cuando el sujeto es cronológicamente más joven. Esto es explicable por los factores ambientales y los patrones genéticos que modulan el daño por radicales libres<sup>59</sup>

La teoría de radicales libres predice que el tiempo de vida máximo con apreciable salud puede ser incrementado por la disminución deletérea de las reacciones por radicales libres mientras no interfieran significativamente con la economía de las células y tejidos<sup>42</sup>.

Por lo cual como ya se había descrito, el estrés oxidativo es consecuencia de un desbalance entre los pro-oxidantes y los antioxidantes, es decir, que existen reacciones que dañan a las moléculas del cuerpo y diferentes mecanismos de defensa antioxidante y de reparación molecular que permiten la homeostasis de los organismos<sup>54</sup>.

Un antioxidante es una molécula química que a bajas concentraciones retarda o previene la oxidación de un sustrato incluyendo lípidos, proteínas, carbohidratos y ADN<sup>43</sup>.

El sistema antioxidante constituye uno de los moduladores homeostáticos fundamentales del organismo, y se ha clasificado de la siguiente manera:

- Antioxidantes primarios - Neutralizan radicales libres o limitan la actividad de los mismos originando moléculas menos perjudiciales<sup>41</sup>.
  - ❖ Superóxido dismutasa (SOD)

- ❖ Glutati3n Peroxidasa y Glutati3n reductasa (GSH-Px)
  - ❖ Catalasa
  - ❖ Proteínas de uni3n a metales: Transferrina y Ceruloplasmina
- Antioxidantes secundarios - Capturan radicales libres evitando las reacciones en cadena
- ❖  $\beta$  Carotenos (Vitamina A )
  - ❖  $\alpha$ - tocoferol (Vitamina E)
  - ❖ Ácido asc3rbico (Vitamina C)
  - ❖ Albúmina
  - ❖ Ácido úrico
  - ❖ Melatonina
- Antioxidantes terciarios.- Degradan, reparan o remplazan las biomoléculas dañadas
- ❖ Enzimas reparadoras de lípidos
  - ❖ Enzimas reparadoras de proteínas
  - ❖ Enzimas reparadoras de ADN

Por lo expuesto anteriormente es claro que la producci3n de radicales libres es la causa del daño celular que puede dar a la célula características de haber envejecido, asimismo es de vital importancia que los mecanismos de defensa antioxidante y de reparaci3n sean eficaces para mantener la homeostasis de la misma, al respecto si el consumo de etanol provoca estrés oxidativo y por lo tanto generaci3n de gran cantidad de radicales libres y disminuci3n de antioxidantes, la teoría de radicales libres podría explicar el envejecimiento prematuro de algunos alcoh3licos

### **III.6 Alcohol, envejecimiento y daño al ADN**

Cambios en el nivel de oxido-reducción de la célula, es decir con estrés oxidativo provoca alteraciones en el balance iónico intracelular y en las propiedades estéricas de la cromatina por formación de puentes disulfuro y enlaces iónicos entre las proteínas. Asimismo la expresión génica está ligada con el grado de condensación de la cromatina, por lo que el aumento de estrés oxidativo en la célula ejerce cierta influencia en la expresión de los genes al cambiar su configuración espacial<sup>60-61</sup>

Por otro lado el envejecimiento se caracteriza por un desgaste gradual del genoma al disminuir el número de receptores celulares, aparición de proteínas anormales, alteración en la regulación de los oncogenes disminución de la transcripción traducción y procesamiento del ARN<sup>60-61</sup>

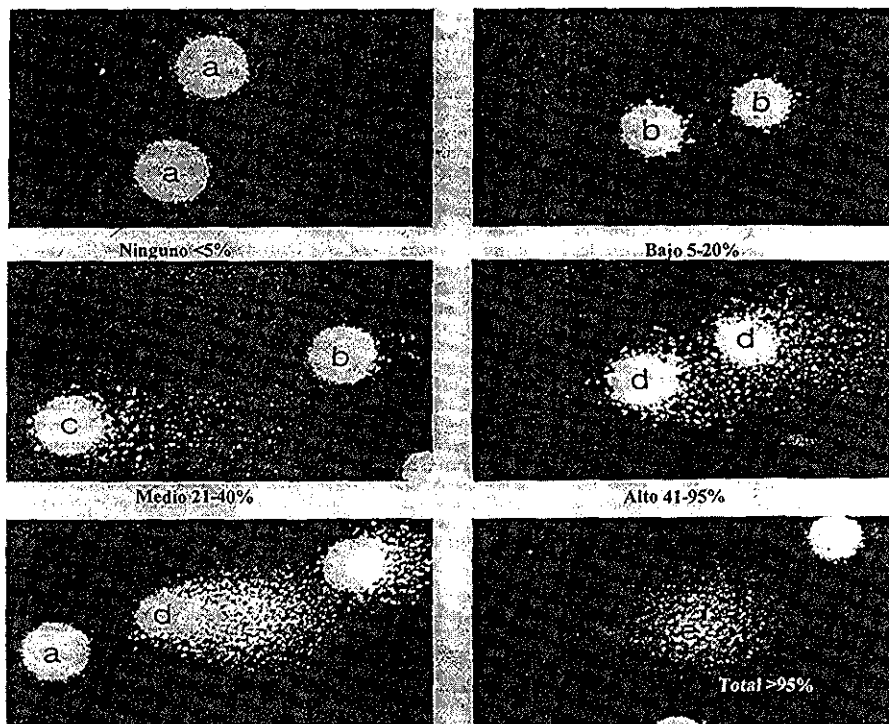
Al respecto las evidencias del acumulo de daño oxidativo con la edad en el ADN van desde el número de enlaces iónicos entre proteínas no histonas y grupos fosfatos del ADN, aumento en la concentración de aductos desoxiguanosina-malondialdehídos, aumento de 8 hidroxiguanosina (8-OhdG) tanto en el ADN nuclear como en el mitocondrial<sup>60 62 63</sup>. A nivel citogenético se han reportado un incremento de alteraciones cromosómicas de linfocitos humanos como isocromosomas, deleciones cromosomas en anillo, el intercambio asimétrico<sup>64-66</sup>. Estos efectos son posibles de medir utilizando diversos parámetros como la frecuencia de aberraciones cromosómicas, la inducción de cromátidas hermanas, el índice mitótico, la cinética de ciclo celular y la electroforesis unicelular alcalina<sup>64-67</sup>.

En los últimos años se ha propuesto una técnica que cuantifica el nivel de daño en el ADN de células individuales, a la cual se conoce como "Ensayo Cometa" o "Electroforesis Unicelular Alcalina" (SCGE) esta técnica cuantifica



directamente en células individuales la frecuencia de rompimientos de ADN en cadena sencilla y/o los sitios álcali lábiles, dando con esto una alta sensibilidad<sup>68</sup>; además esta técnica tiene varias ventajas, entre otras que requiere de un volumen de muestra muy pequeño, se utilizan de 5 a 10µl de sangre se realiza en poco tiempo y en general su costo es bajo; permite analizar e identificar subpoblaciones celulares con ADN afectado en el envejecimiento y, cuando las células están expuestas a diferentes químicos como el alcohol, el acetaldehído, diversas drogas y radiaciones<sup>68-73</sup> (Figura 9)

**Figura 9. Clasificación de D. Anderson (1994), para el daño al ADN a través de la técnica de ensayo cometa.**



Tomado de Anderson D (1994)

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

### ***III.7 Alcohol y factores de riesgo asociados***

Dentro de los factores que se han estudiado en combinación con el alcoholismo se encuentran: el estado de nutrición, tabaquismo e ingesta de medicamentos que son considerados como factores de riesgo pro-oxidantes lo cual da como resultado un aumento en la cantidad de radicales libres generados y por lo tanto mayor daño oxidativo a la biomoléculas

Al respecto el humo del cigarro contiene más de 3800 compuestos, incluyendo potentes carcinógenos y sustancias formadoras de radicales libres como a hidroquinona<sup>74</sup>, el daño oxidativo es debido a la acción de los radicales OH<sup>•</sup> Formados durante la disociación de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub><sup>75</sup>, por lo que diversos autores coinciden en que el humo del cigarro induce daño oxidativo al ADN en relativamente poco tiempo<sup>74 76-77</sup>. de ahí que exista una relación entre la ingesta de alcohol y tabaquismo.

Se sabe que el metabolismo de muchas drogas así como de otros xenobióticos produce O<sup>•-</sup> y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, además la toxicidad de la gran mayoría de estos compuestos es mediada por especies reactivas de oxígeno en interacciones celulares en particular con el citocromo P-450 generando electrones desapareados por reacciones de oxidación o de reducción<sup>78</sup>.

En relación al estado de nutrición se ha encontrado que los obesos tienen más riesgo de tener daño oxidativo que los no obesos. esto debido muy probablemente al tipo de dieta rica en grasas y xenobióticos y pobre en alimentos antioxidantes<sup>79-80</sup>.

Por otro lado, estudios epidemiológicos y clínicos muestran que la ocupación puede ser un factor de riesgo para presentar genotoxicidad de ahí que existan diversas clasificaciones para catalogar a los grupos ocupacionales con mayor exposición a sustancias peligrosas, sin embargo para que la asociación de

estos factores muestren una fuerte evidencia de toxicidad como causa de la exposición tiene diversas fallas y algunas limitantes ya que es necesario identificar la exposición y el efecto, así como el control del grupo expuesto por largos periodos de tiempo<sup>81</sup>.

De lo anterior podemos señalar que el envejecimiento prematuro y el daño al ADN no es una característica constante de todos los alcohólicos de ahí la importancia de su evaluación y/o detección oportuna independientemente de que se encuentren en algún grupo para control de esta enfermedad, ya que se puede detectar cierta fragilidad fisiológica similar a la que se presenta en los adultos mayores, por lo que se pueden indicar esquemas terapéuticos antioxidantes que permitan potencialmente mejorar su estado de salud.

## IV Problema

El consumo crónico de alcohol causa alteraciones bioquímicas y de integridad estructural en todas las células, estos cambios se asocian a un incremento en la incidencia de una variedad de enfermedades. El tiempo de exposición, la cantidad de alcohol ingerida y la respuesta individual son factores importantes en el desarrollo de los cambios fisiológicos y psicosociales producidos por el alcohol.

Asimismo el cambio en los mecanismos celulares durante el consumo del etanol es explicado por medio de la generación de radicales libres al oxidarse el etanol, cuyas alteraciones bioquímicas y celulares son muy similares al envejecimiento normal, de ahí que se ha considerado que el alcoholismo crónico es causa de envejecimiento prematuro o acelerado. Sin embargo los estudios al respecto muestran inconsistencia, ya que no todos los alcohólicos presentan los mismos efectos biológicos. Por tal motivo se plantearon las siguientes preguntas:

¿El alcohol produce envejecimiento prematuro?

¿Cuál será el grado de similitud de daño al ADN en alcohólicos jóvenes y adultos mayores clínicamente sanos de la ciudad de México?

¿Cuáles serán los posibles factores de riesgo asociados al consumo de alcohol que propician daño al ADN?

## V Hipótesis

Considerando que el envejecimiento y el consumo crónico de alcohol producen una gran cantidad de radicales libres, propiciando daño celular generalizado y por consiguiente daño al ADN. suponemos que esta alteración será similar entre los alcohólicos jóvenes y los adultos mayores clínicamente sanos.

Tomando en cuenta que la cantidad ingerida de alcohol, la graduación de la bebida, el tabaquismo, la ingesta de café y una ocupación pro-oxidante son considerados factores de riesgo para aumentar la producción de radicales libres, suponemos que los alcohólicos jóvenes con mayor número e intensidad de dichos factores tendrán mayor proporción magnitud y grado de daño al ADN.

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

## VI Objetivos

### *General*

Detectar y analizar el daño al ADN entre alcohólicos jóvenes y adultos mayores clínicamente sanos de la ciudad de México así como la relación de este daño con los factores de riesgo asociados a los individuos.

### *Específicos*

Evaluar la magnitud y grado de daño al ADN en jóvenes alcohólicos y adultos mayores clínicamente sanos utilizando la técnica de electroforesis unicelular alcalina

Identificar los factores de riesgo asociados al consumo de alcohol que propician daño al ADN.

## VII Material y Métodos

### VII.1 Población y Diseño

Se llevó a cabo un estudio analítico de tipo prolectivo, transversal y comparativo en una muestra de 53 alcohólicos jóvenes, 26 adultos mayores ( $\geq 60$  años) sanos desde el punto de vista gerontológico y 20 adultos jóvenes sin adicción al alcoholismo, aparentemente sanos, residentes de la ciudad de México

Los sujetos fueron seleccionados conforme a los siguientes criterios de inclusión:

#### Grupo A (Alcohólicos jóvenes)

- Sujetos de 25 a 45 años residentes en la ciudad de México en los últimos 5 años o más
- Sin distinción de sexo
- Positivos al AUDIT
- Abstemios en la ingesta de alcohol en los últimos 30 días
- Sin padecimientos crónicos incapacitantes
- Negativos a otras adicciones (excepto tabaquismo)

#### Grupo B (Adultos mayores)

- Sujetos mayores de 60 años, residentes en la ciudad de México en los últimos 5 años o más
  - Sin distinción de sexo
  - Negativos al AUDIT
  - Ingesta ocasional de alcohol (menos de 8 copas o cervezas al mes)
  - Clínicamente sanos desde el punto de vista gerontológico (sin padecimientos crónicos agudizados y con funcionalidad física y mental adecuada para su edad, para su sexo y su participación en actividades socioculturales)
-

### Grupo C (Adultos jóvenes)

- Sujetos de 25 a 45 años residentes en la ciudad de México en los últimos 5 años o más
- Sin distinción de sexo
- Negativos al AUDIT
- Ingesta ocasional de alcohol (menos de 8 copas o cervezas al mes)
- Aparentemente sanos

## VII.2 Variables

### VII 2.1 Independientes

- Edad: Tiempo cronológico transcurrido desde el nacimiento hasta la captación del sujeto en estudio
  - ❖ Años Cumplidos: Adultos Jóvenes: 25-45 años. Alcohólicos crónicos: 25-45 años y Adultos mayores: más de 60 años
- Graduación de la bebida: Consumo de una o más variedades de bebidas alcohólicas de diferente graduación.
  - ❖ Se conformaron dos categorías de graduación alcohólica.  
Graduación baja entre 5 y 10% de alcohol (cerveza y pulque)  
Graduación alta más de 10% de alcohol (brandy tequila, vodka, mezcal, aguardiente o ron)
- Cantidad de alcohol ingerida: Ingesta de alcohol en sus diferentes variedades (cerveza, brandy, tequila, pulque, vodka, mezcal, aguardiente o ron)
  - ❖ Se conformaron dos categorías para cuantificar la cantidad promedio por día de bebida ingerida. Menor o igual a 1,500 mL por día y más de 1,500 mL por día.



- Tabaquismo: Adicción al tabaquismo al momento del estudio
- Ingesta de café: Adicción a la cafeína al momento del estudio.
- Ocupación pro-oxidante: actividad que realiza o realizó que tuviera exposición a sustancias generadoras de radicales libres.
  - ❖ Se conformaron dos grupos uno con actividad pro-oxidante (albañil, pintor, chofer, carpintero, mecánico y obrero); y otro sin actividad pro-oxidante (ama de casa, maestro(a), secretaria, comerciante, empleado).

### VII.2.2 Dependientes

- Daño al ADN: Ruptura de cadena doble y/o sencilla de ADN de linfocitos. Cantidad de ADN roto para formar la cola del cometa (estela)
  - ❖ Porcentaje de células con daño
  - ❖ Para el grado de daño al ADN se utilizaron los criterios de D. Anderson (1974)<sup>73</sup> y la variable se reagrupó de la siguiente manera:
 

✓ Sin daño <5%	}	◆ 5≤40%
✓ Daño bajo 5-20%		
✓ Daño medio 20-40%		
✓ Daño alto 40-95%	}	◆ > 40%
✓ Daño total (nubes) < 95%		
  - ❖ Para la magnitud de daño al ADN la variable se agrupó en dos categorías: de 1-5 células y de 6 y más células con daño.

## VII.3 Técnicas

### VII.3.1 Daño al ADN

Para la determinación del daño al ADN a los sujetos de cada grupo les tomó una muestra sanguínea entre 7-9 AM con un ayuno de 8 horas en tubos al vacío con heparina.

La técnica de electroforesis unicelular alcalina o ensayo cometa se realizó acorde a Singh (1988)<sup>68</sup>

Para preparar las laminillas se utilizaron portaobjetos esmerilados a los cuales se les colocó una capa de 120µl de agarosa regular (0.75% disuelta en PBS libre de  $\text{Ca}^{+2}$  y  $\text{Mg}^{+2}$ ) hasta que solidificaron. A continuación cada muestra de sangre de 10µl se mezcló con 75 µl de agarosa bajo punto de fusión (0.5% disuelta en PBS libre de  $\text{Ca}^{+2}$  y  $\text{Mg}^{+2}$ ) y se colocó sobre los portaobjetos preparados con la capa anterior, una vez solidificada la mezcla se agregó otra capa de 75µl de agarosa de bajo punto de fusión. Finalmente las laminillas se sumergieron en solución fresca de lisis fría (1% lauril sarcosinato de sodio, 2.5M NaCl, 10mM  $\text{Na}_2$  EDTA, 10mM Tris-HCl pH 10, 1% tritón y 10% DMSO) y se colocaron a 4°C por lo menos una hora.

Posteriormente las laminillas se colocaron en una cámara de electroforesis, la cual contenía un amortiguador pH 13 (1mM  $\text{Na}_2$  EDTA, 300mM NaOH) que cubría totalmente las laminillas permitiendo que el ADN se desenrollara por 20 minutos, después se ajustó la fuente de poder a 25 volts y 300 miliámpers para efectuar la electroforesis por 20 minutos (es importante señalar que los pasos anteriores se realizaron protegidos de la luz). Una vez apagada la fuente de poder se retiraron cuidadosamente las laminillas de la cámara de electroforesis y se lavaron tres veces con amortiguador de neutralización (0.4 M Tris-HCl, pH 7.5) durante 5 minutos.

Se escurrieron las laminillas del exceso de amortiguador y se tñieron con 50µl de bromuro de etidio 1x (1mL de "stock" 10x [1mg/10mL] con 9mL de H<sub>2</sub>O) cubriendo cuidadosamente con un cubreobjeto, para después colocar la laminilla en una cámara húmeda y refrigerarla hasta su observación al microscopio de fluorescencia.

Las laminillas se observaron al microscopio de fluorescencia con un filtro de excitación de 515-560nm utilizando un aumento de 40X. Finalmente con un ocular graduado y calibrado, se midió el diámetro del núcleo y la longitud de la estela del cometa de 50 células.

Para conocer si la técnica se llevó a cabo correctamente en cada corrida en la cámara de electroforesis se incluyó una laminilla de un control negativo y una de un control positivo. El control negativo es la muestra sanguínea de un sujeto adulto del grupo C. El control positivo se realizó al exponer una muestra de sangre del mismo sujeto a peróxido de hidrógeno 0.5mM por 30 minutos, sumergida en agua fría, posteriormente se centrifugó a 3000rpm por 3 min para retirar el sobrenadante, inmediatamente se preparó la laminilla con agarosa de bajo punto de fusión para continuar con la técnica del ensayo cometa.

Los resultados se analizaron de dos maneras: a) tomando en cuenta las estelas de los cometas y el núcleo, y b) solamente las estelas de los cometas. debido a que el manejo de los datos es similar en ambos casos se decidió trabajar con las estelas de los cometas y los núcleos.

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

## VII.4 Diseño estadístico

Los datos fueron analizados a través de medidas descriptivas de resumen y las pruebas estadísticas  $\chi^2$ ,  $\chi^2$  de tendencias, t de student, análisis de riesgo univariado y regresión logística, asumiendo una significancia estadística de  $p < 0.05$ , para lo cual se utilizaron los paquetes estadísticos Epi-info 6.4 y SPSS 10.0

a) Para evaluar la asociación del daño al ADN en sus modalidades nominal, magnitud de daño y grado de daño en los grupos de alcohólicos y adultos mayores se aplicó la prueba  $\chi^2$  con un 95% de confianza

b) En el análisis de daño al ADN por sujeto los resultados se presentaron a través de medidas descriptivas de resumen (promedio  $\pm$  DE)

c) Para comparar las diferencias del grado de daño al ADN entre los grupos de alcohólicos crónicos y adultos mayores se aplicó t de student con una confiabilidad del 95%

d) La medición del efecto del alcoholismo y de la cantidad de bebida ingerida sobre el daño al ADN en los sujetos de estudio se midió a través de la prueba  $\chi^2$  de tendencias con un 95% de confianza.

e) La relación de la graduación y la cantidad de la bebida alcohólica respecto a la magnitud y grado de daño al ADN se analizó a través de  $\chi^2$  con un 95% de confianza.

f) Para identificar la influencia de los principales factores de riesgo de manera independiente que pueden propiciar daño al ADN se realizó la evaluación por medio de Razón de Momios (RM) con intervalo de confianza del 95% y se llevó a cabo un análisis de regresión logística.

### Prueba $\chi^2$

Para las variables cualitativas se obtuvieron frecuencias y porcentajes comparando los grupos por medio de  $\chi^2$ . Esta prueba evalúa el grado de correspondencia entre los resultados observados y los esperados de acuerdo a la hipótesis nula.

$$\chi^2 = \frac{\sum(O_i - E_i)^2}{E_i}$$

Con k-r grados de libertad

Donde:

$O_i$  = frecuencia observada

$E_i$  = frecuencia esperada

k = número de eventos o categorías

r = número de restricciones

### Prueba $\chi^2$ de tendencias

Esta prueba permite observar la tendencia de incremento o disminución de la probabilidad de presentar la enfermedad o la consecuencia dependiendo de la dosis o la intensidad de la variable independiente.

$$\chi^2 = \frac{[T_1 - (n_1 T_2/n)]^2}{V}$$

Donde:

$$V = n_1 n_2 (n T_3 - T_2^2) / n^2 (n-1)$$

$n_1$  = Total de casos

$n_2$  = Total de controles

n = Total de casos + controles

$$T_1 = \sum a_i x_i$$

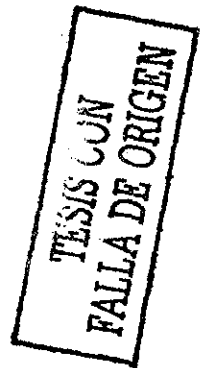
$x_i$  = nivel de exposición

$a_i$  = número de casos

$$T_2 = \sum m_i x_i$$

$x_i$  = nivel de exposición

$m_i$  = la suma de los casos y los controles en el nivel de exposición



$$T_3 = \sum m_i x_i^2$$

$x_i$  = nivel de exposición

$m_i$  = la suma de los casos y los controles en el nivel de exposición al cuadrado.

### Prueba "t" de student

La prueba t de student es la indicada cuando se desea comparar dos grupos independientes

$$t = \frac{\bar{x} - \bar{y}}{\sqrt{\frac{s^2_1}{n_1} + \frac{s^2_2}{n_2}}}$$

Donde:

$\bar{x}$  = promedio muestral II

$\bar{y}$  = promedio muestral I

$s^2_1$  = varianza muestral I

$s^2_2$  = varianza muestra II

$n_1$  = número de elementos muestra I

$n_2$  = número de elementos muestra II

### Razón de Momios = RM

La razón de momios o de productos cruzados es considerada como una medida de la fuerza de la asociación de la variable independiente (factor de riesgo) y la dependiente (consecuencia o enfermedad), es decir la magnitud con que se incrementa el riesgo de desarrollar un efecto cuando se presenta una exposición.

El intervalo de confianza nos dice el rango dentro del cual asumimos que el resultado es verdadero en la población estudiada, nos indica que tan grande o pequeña es la probabilidad del efecto.

		Enfermedad	
		Presente	Ausente
Factor de evaluación	Presente	A	B
	Ausente	C	D

$$RM = (A) (D) / (C) (B)$$

$$\text{Intervalo de confianza (95\%)} = \exp [ \ln RPC \pm 1.96 \sqrt{1/A + 1/B + 1/C + 1/D} ]$$

### Regresión logística

El modelo de regresión logística permite predecir o estimar la probabilidad de que un individuo presente la variable dependiente en función de varias independientes; la variable dependiente es dicotómica y las independientes pueden estar en cualquier tipo de escala

$$\text{Prob (evento)} = \frac{e^z}{1 + e^z} = \frac{1}{1 + e^{-z}}$$

Donde "z" es la combinación lineal:

$$z = B_0 + B_1X_1 + B_2X_2 \dots B_nX_n$$

$$\text{Prob (evento)} = \frac{1}{1 + e^{-(B_0 + B_1X_1)}}$$

"B<sub>0</sub> + B<sub>1</sub>" son coeficientes estimados de los datos

"X" es la variable independiente

"e" es la base del logaritmo natural 2.718 aproximadamente

## VIII. Resultados

### VIII.1 Daño al ADN

De los 20 adultos jóvenes sin adicción al alcohol ninguno presentó daño al ADN. De los 53 alcohólicos jóvenes 29 (55%) y 16 (62%) de los 26 adultos mayores presentaron daño al ADN (Tabla 1). Asimismo observamos que el grado de daño al ADN en los grupos de alcohólicos jóvenes y de adultos mayores estadísticamente fue similar ( $p > 0.05$ ) (Tabla 1). Esto se corrobora en la Gráfica 1, ya que la distribución del porcentaje de células de ambos grupos es similar y se agrupa entre los 10 y los 65 micrómetros de migración.

### VIII.2 Porcentaje de células dañadas

En cuanto al porcentaje de células dañadas se observó un porcentaje similar entre ambos grupos. Sin embargo la media de migración es mayor en los alcohólicos jóvenes ( $52.91 \pm 33.38$ ) que en los adultos mayores ( $33.61 \pm 26.21$ ) (Tabla 2 y 3). Asimismo cuando se observan los datos de migración por paciente, estos muestran como en los adultos mayores el mayor número se agrupa entre 30 y 55 micrómetros (Gráfica 2) y en los alcohólicos jóvenes se agrupan entre 55 y 90 micrómetros de migración (Gráfica 3).

Por otro lado al comparar los totales de migración de la estela del cometa sin considerar el núcleo y la migración total de ambos grupos se observaron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) (Tabla 4)

---



### VIII.3 Magnitud de células dañadas

De los 16 adultos mayores con daño, el 44% presentó una magnitud de 1 a 5 células con migración en comparación del 66% en los alcohólicos jóvenes. Para más de 6 células con daño los adultos mayores presentaron un porcentaje de 56% y los alcohólicos jóvenes de 35%, no encontrando diferencias estadísticamente significativas (Tabla 5).

### VIII.4 Grado de daño al ADN

En relación al grado de daño al ADN, observamos que para más del 40%, los alcohólicos jóvenes presentan un 94% de daño al ADN y en los adultos mayores este porcentaje fue de 86%, no encontrando diferencias estadísticamente significativas (Tabla 6).

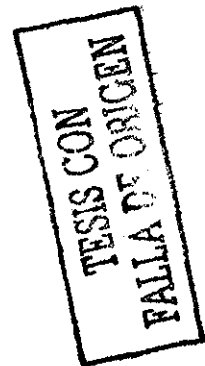
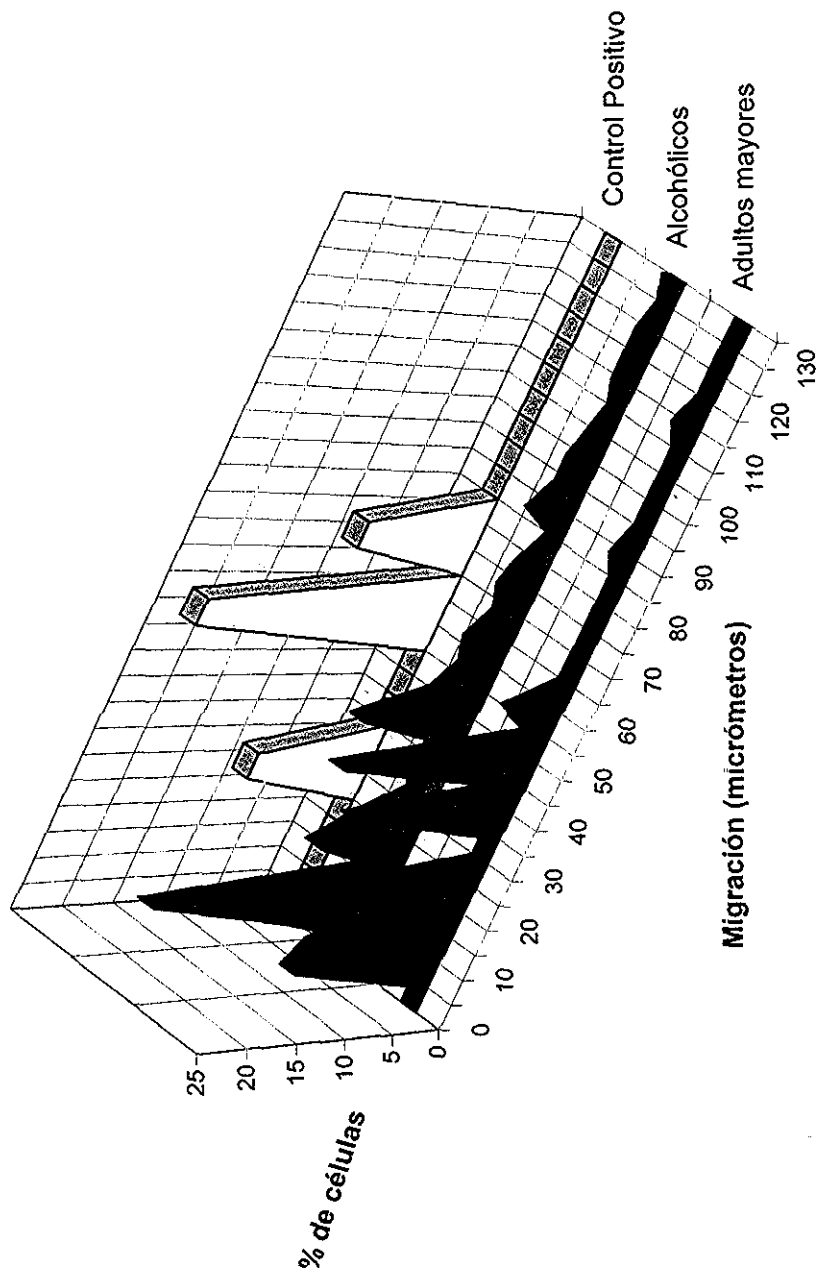


Tabla 1. Frecuencia de daño al ADN en alcohólicos jóvenes, jóvenes clínicamente sanos y adultos mayores.

	Individuos con daño al ADN		
	Positivo (%)	Negativo (%)	Total (%)
Alcohólicos jóvenes ( $\bar{X}$ edad = $36 \pm 5.4$ años)	29 (55)*	24 (45)	53 (100)
Adultos mayores ( $\bar{X}$ edad = $70 \pm 7.8$ años)	16 (62)*	10 (38)	26 (100)
Jóvenes clínicamente sanos ( $\bar{X}$ edad = $31 \pm 5.5$ años)	0 (0%)	20 (100%)	20 (100%)

\*  $\chi^2$  al 95% p = 0.565 Alcohólicos jóvenes vs Adultos mayores

Gráfica 1 Distribución de daño al ADN en Adultos mayores y Alcohólicos

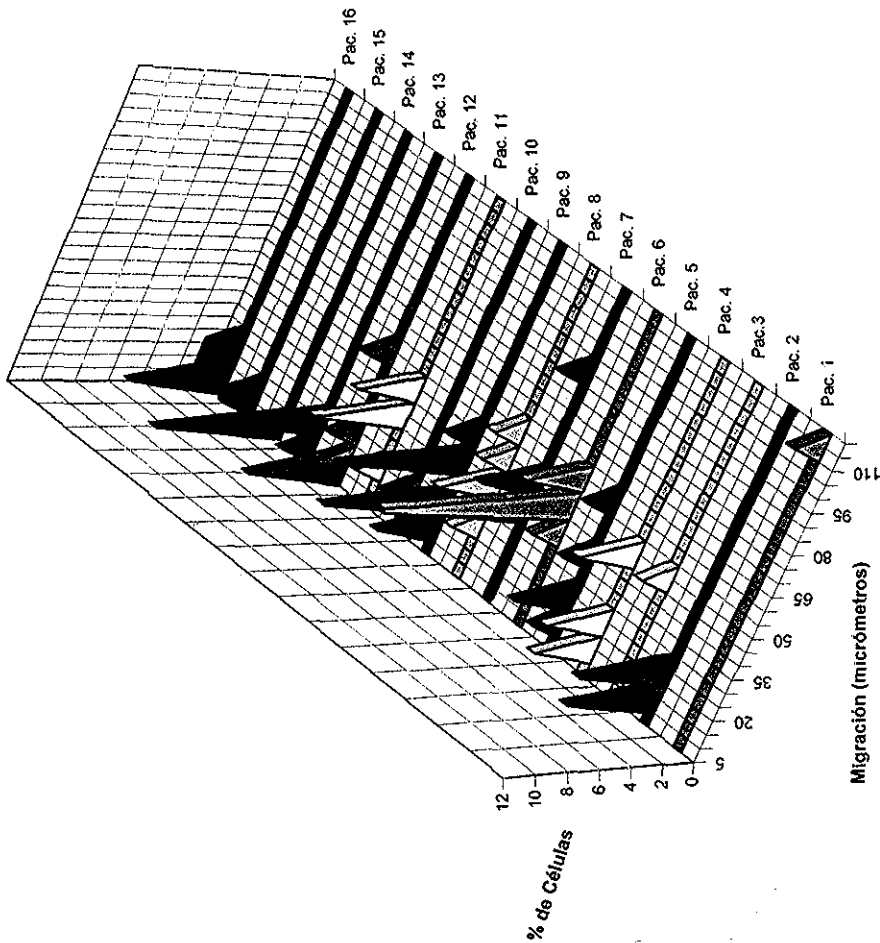


TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Tabla 2. Porcentaje de células con daño y sin daño al ADN en adultos mayores.

Paciente	No. De células sin daño (%)	No. De células con daño (%)	Migración estelas s/núcleo	Migración total
1	49 (98)	1 (2)	115.44 ± 0.0	140.44 ± 0.0
2	44 (88)	6 (12)	18.75 ± 6.25	43.75 ± 6.25
3	49 (98)	1 (2)	51.06 ± 0.0	76.06 ± 0.0
4	43 (86)	7 (14)	28.57 ± 14.51	53.57 ± 16.96
5	45 (90)	5 (10)	32.50 ± 16.96	57.50 ± 16.96
6	40 (80)	10 (20)	51.25 ± 6.73	76.25 ± 6.73
7	43 (86)	7 (14)	48.21 ± 16.94	73.21 ± 16.94
8	38 (76)	12 (24)	41.07 ± 11.00	66.07 ± 11.00
9	39 (78)	11 (22)	29.54 ± 11.01	54.54 ± 11.01
10	49 (98)	1 (2)	17.50 ± 0.0	42.50 ± 0.0
11	44 (88)	6 (12)	38.33 ± 10.86	63.33 ± 10.86
12	44 (88)	6 (12)	18.75 ± 16.31	43.75 ± 16.31
13	46 (92)	4 (8)	16.25 ± 3.75	41.25 ± 3.75
14	46 (92)	4 (8)	7.50 ± 0.0	32.50 ± 0.0
15	48 (96)	2 (4)	10.00 ± 2.5	35.00 ± 2.5
16	44 (88)	6 (12)	13.13 ± 6.87	38.33 ± 6.87
	Σ 711/800 (88.87)	Σ 89/800 (11.12)	$\bar{X}$ = 33.61 ± 26.21 Σ 537.85	$\bar{X}$ = 58.62 ± 26.20 Σ 938.05

Distribución de daño al ADN en Adultos Mayores

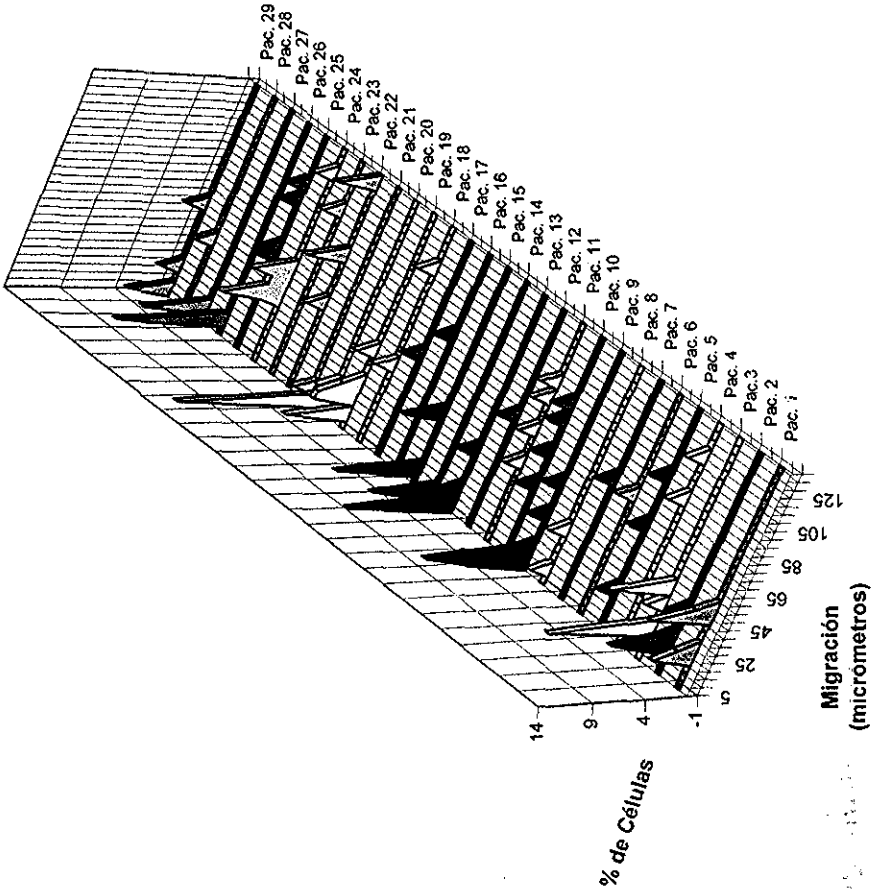


**TFEIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

Tabla 3. Porcentaje de células con daño y sin daño al ADN en jóvenes alcohólicos.

Paciente	No. de células sin daño (%)	No. de células con daño (%)	Migración estelas sin núcleo	Migración total
1	43 (86)	7 (14)	40.71 ± 12.37	65.71 ± 12.37
2	43 (86)	7 (14)	34.28 ± 8.31	59.28 ± 8.31
3	41 (82)	9 (18)	34.72 ± 11.45	59.72 ± 11.45
4	48 (96)	2 (4)	110.00 ± 13.2	135.00 ± 13.2
5	47 (94)	3 (6)	65.83 ± 28.6	90.83 ± 28.6
6	49 (98)	1 (2)	81.45 ± 0.0	106.45 ± 0.0
7	49 (98)	1 (2)	81.45 ± 0.0	106.45 ± 0.0
8	48 (96)	2 (4)	25.00 ± 12.5	50.00 ± 12.5
9	36 (72)	14 (28)	18.18 ± 14.85	43.18 ± 14.85
10	45 (90)	5 (10)	66.66 ± 15.59	91.66 ± 15.54
11	46 (92)	4 (8)	81.87 ± 18.82	106.87 ± 18.82
12	49 (98)	1 (2)	75.00 ± 0.0	100.00 ± 0.0
13	42 (84)	8 (16)	15.40 ± 11.89	40.40 ± 11.89
14	47 (94)	3 (6)	11.00 ± 0.0	36.00 ± 0.0
15	44 (88)	6 (12)	25.00 ± 17.67	50.00 ± 17.67
16	49 (98)	1 (2)	90.50 ± 0.0	115.50 ± 0.0
17	49 (98)	1 (2)	75.00 ± 0.0	100.00 ± 0.0
18	48 (96)	2 (4)	85.97 ± 31.67	110.97 ± 31.67
19	41 (82)	9 (18)	25.83 ± 12.8	56.83 ± 12.8
20	42 (84)	8 (16)	14.06 ± 4.13	39.06 ± 4.13
21	49 (98)	1 (2)	12.50 ± 0.0	37.50 ± 0.0
22	45 (90)	5 (10)	101.80 ± 28.0	126.80 ± 28.0
23	49 (98)	1 (2)	111.10 ± 0.0	136.10 ± 0.0
24	41 (82)	9 (18)	63.06 ± 22.47	88.06 ± 22.46
25	46 (92)	4 (8)	86.86 ± 19.63	111.86 ± 19.63
26	43 (86)	7 (14)	12.50 ± 0.0	37.50 ± 0.0
27	47 (94)	3 (6)	12.50 ± 0.0	37.50 ± 0.0
28	49 (98)	1 (2)	50.00 ± 0.0	75.00 ± 0.0
29	46 (92)	4 (8)	26.25 ± 21.97	51.25 ± 21.97
	Σ 1321/1450 (91.10)	Σ 129/1450 (8.90)	Σ 1534.48 X̄ = 52.91 ± 33.38	Σ 2266.02 X̄ = 78.13 ± 33.20

Distribución de daño al ADN en pacientes alcohólicos



EN  
FALLA DE ORIGEN

Gráfica 3

Tabla 4. Promedio de migración por daño al ADN.

Migración en micrómetros	Alcohólicos jóvenes*	Adultos mayores	Valor de p <sup>†</sup>
Estelas sin núcleo	52.91± 33.38	33.61± 26.21	0.01
Migración total	78.13± 33.20	58.62± 26.20	0.01

\* Promedios ± DE, † prueba t de student al 95%

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



Tabla 5. Magnitud de daño al ADN en Adultos mayores y alcohólicos jóvenes.

	Magnitud de daño al ADN* (%)		
	1-5 células	6 y más células	Total
Alcohólicos jóvenes	19/29 (66%)	10/29 (34%)	29 (100%)
Adultos mayores	7/16 (44%)	9/16 (56%)	16 (100%)

\*Porcentaje de células con daño al ADN por individuo

$\chi^2$  al 95%  $p = 0.157$

Tabla 6. Grado de daño al ADN( $\mu\text{m}$ ) en Adultos mayores y alcohólicos jóvenes.

	Grado de daño al ADN*	
	5 $\leq$ 40%	> 40 %
Alcohólicos jóvenes	8 (6%)	121 (94%)
Adultos mayores	12(14%)	77(86%)

\* Porcentaje de células con daño  
 $\chi^2$  al 95% p = 0.067

---

### VIII.5 Daño al ADN y la graduación de la bebida ingerida

Al agrupar las bebidas que ingieren los alcohólicos crónicos en aquellas de baja graduación y alta graduación con respecto al daño al ADN se obtuvo una razón de momios de 2.89 (IC<sub>95%</sub> 0.75-11.45) y de 2.70 (IC<sub>95%</sub> 1.00-7.39) respectivamente, con una  $\chi^2$  de tendencia estadísticamente significativa (Tabla 7).

En cuanto a la magnitud de daño y la graduación de la bebida, para la graduación baja el 9% presentó de 1 a 5 células con migración y un 11% para más de 6 células en comparación la graduación alta con el 36% que presentó una magnitud de 1 a 5 células y un 18% para más de 6 células, diferencias que no fueron estadísticamente significativas (Tabla 8)

Para el grado de daño y la graduación de la bebida se observó un 5% para un nivel de daño de  $5 \leq 40\%$  y un 31% para  $>40\%$  con respecto de el nivel de graduación bajo, para el nivel de graduación alto se encontró un 3% en el nivel de  $5 \leq 40\%$  y un 61% en el de  $>40\%$ , no encontrado diferencias estadísticamente significativas (Tabla 9)

### VIII.6 Daño al ADN y la cantidad de bebida ingerida

En cuanto a la cantidad de alcohol ingerida con respecto al daño al ADN se encontró en los alcohólicos que consumen una cantidad menor o igual a 1,500 mL una razón de momios de 2.73 (IC<sub>95%</sub> 0.96-7.86) y en los que ingieren más de esta cantidad un valor de 2.55 (IC<sub>95%</sub> 0.8-8.23) con una  $\chi^2$  de tendencia estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ) (Tabla 10).

En relación a la magnitud de daño y la cantidad de bebida ingerida el 12% presentó de 1 a 5 células con migración y un 16% para más de 6 células cuando se ingieren  $\leq 1,500$  mL. en comparación con un 18% que presentó una magnitud

---

---

de 1 a 5 células y un 11% para más de 6 células cuando se ingiere por arriba de 1 500 mL diferencias que no fueron estadísticamente significativas (Tabla 11)

Para el grado de daño y la cantidad de bebida ingerida se observó un 3% para un nivel de daño de  $5 \leq 40\%$  y un 51% para  $>40\%$  cuando el consumo es de menor o igual a 1 500 mL para un consumo mayor se encontró un 5% en el nivel de  $5 \leq 40\%$  y un 41% en el  $>40\%$  no encontrando diferencias estadísticamente significativas (Tabla 12).

### VIII.6 Factores de riesgo asociados al daño al ADN

En el análisis multivariado de regresión logística se observó un riesgo de daño al ADN relacionado con la ingesta de alcohol de  $RM = 2.28$  ( $IC_{95\%} 1.1-4.73$ ), edad  $RM = 1.06$  ( $IC_{95\%} 1.02-1.11$ ), ocupación pro-oxidante  $RM = 2.9$  ( $IC_{95\%} 1.0-8.45$ ), tabaquismo  $RM = 1.45$  ( $IC_{95\%} 0.5-4.17$ ) y la ingesta de café  $RM = 1.78$  ( $IC_{95\%} 0.67-4.71$ ), siendo las tres primeras estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) (Tabla 13)

---

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

*Tabla 7. Daño al ADN con respecto a la graduación de la bebida ingerida.*

Graduación de la bebida	Daño al ADN (%)		RM	IC <sub>95%</sub>	Valor de p
	Positivo	Negativo			
No alcohol	12 (12.1)	27 (27.3)	1.00	-----	-----
Graduación baja <sup>†</sup>	9 (9.1)	7 (7.1)	2.89	0.75-11.45	0.070
Graduación alta <sup>†</sup>	24 (24.2)	20 (20.2)	2.70	1.00-7.39	0.029

$\chi^2$  de tendencias = 0.03

<sup>†</sup> Bebidas alcohólicas que contienen entre 5-10% de etanol; <sup>‡</sup> Bebidas alcohólicas que contienen más del 10% de etanol.

RM = razón de productos cruzados, IC<sub>95%</sub> = Intervalo de confianza al 95%.

*Tabla 8. Magnitud de daño al ADN con respecto a la graduación de la bebida ingerida.*

Graduación de la bebida	Magnitud de daño al ADN*		Valor de p**
	1-5 células	6 y más células	
No alcohol	6 (13%)	6 (13%)	
Graduación baja†	4 (9%)	5 (11%)	0.80
Graduación alta‡	16 (36%)	8 (18%)	0.33

\* Porcentaje de células con daño al ADN por individuo

\*\* Prueba  $\chi^2$  al 95% no alcohol vs graduación baja; no alcohol vs graduación alta

† Bebidas alcohólicas que contienen entre 5-10% de etanol; ‡ Bebidas alcohólicas que contienen más del 10% de etanol.

Tabla 9. Grado de daño al ADN( $\mu\text{m}$ ) con respecto a la graduación de la bebida ingerida.

Graduación de la bebida	Grado de daño al ADN*	
	5 $\leq$ 40%	> 40 %
Graduación baja <sup>†</sup>	7 (5%)	48 (31%)
Graduación alta <sup>‡</sup>	5(3%)	94(61%)

\* Porcentaje de células con daño al ADN

$\chi^2$  al 95% p = 0.08

<sup>†</sup> Bebidas alcohólicas que contienen entre 5-10% de etanol; <sup>‡</sup> Bebidas alcohólicas que contienen mas del 10% de etanol.

Tabla 10. Daño al ADN con respecto a la cantidad de bebida ingerida.

Cantidad de bebida ingerida	Daño al ADN (%)		RM	IC <sub>95%</sub>	Valor de p
	Positivo	Negativo			
No alcohol	13 (13.1)	28 (28.3)	1.00	-----	-----
≤ 1,500 mL	19 (19.2)	15 (15.2)	2.73	0.96-7.86	0.035
> 1,500 mL	13 (13.1)	11 (11.1)	2.55	0.8-8.23	0.074

$\chi^2$  de tendencias = 0.05

RM = razón de productos cruzados, IC<sub>95%</sub> = Intervalo de confianza al 95%.



Tabla 11. Magnitud de daño al ADN con respecto a la cantidad de bebida ingerida.

Cantidad de bebida ingerida	Magnitud de daño al ADN*		Valor de p†
	1-5 células	6 y más células	
No alcohol	6 (13%)	7 (16%)	-----
≤ 1,500 mL	12 (26%)	7 (16%)	0.34
> 1,500 mL	8 (18%)	5 (11%)	0.43

\* Porcentaje de células con daño al ADN por individuo

† Prueba  $\chi^2$  al 95% no alcohol vs ≤ 1,500 mL; no alcohol vs > 1,500 mL

*Tabla 12. Grado de daño al ADN( $\mu\text{m}$ ) con respecto a la cantidad de bebida ingerida.*

Cantidad de bebida ingerida	Grado de daño al ADN*	
	5 $\leq$ 40%	> 40 %
$\leq$ 1,500 mL	4 (3%)	81(51%)
> 1,500 mL	8(5%)	65(41%)

\* Porcentaje de células con daño al ADN  
 $\chi^2$  al 95% p = 0.139

Tabla 13. Regresión logística de los factores de riesgo asociados a daño al ADN\*

Variable	RM	IC <sub>95%</sub>	Valor de p
Ingesta de alcohol	2.28	1.10-4.73	0.026
Edad	1.06	1.02-1.11	0.001
Tabaquismo	1.45	0.5-4.17	0.492
Ingesta de café	1.78	0.67-4.71	0.247
Ocupación pro-oxidante	2.90	1.00-8.45	0.050

R<sup>2</sup> = 0.297

\* Análisis de regresión logística

RM = Razón de momios, IC<sub>95%</sub> = Intervalo de confianza al 95%. R<sup>2</sup> = pseudo R<sup>2</sup> del modelo.

## IX. Discusión

El alcohol actúa de forma muy variada dentro del organismo y el consumo crónico de éste se asocia con un incremento en la incidencia de una variedad de enfermedades que van desde la hepatitis hasta el cáncer. Se ha podido observar que el alto consumo de etanol da como resultado un aumento en el estrés oxidativo con formación de radicales libres y peroxidación de lípidos, cuyo proceso produce envejecimiento celular.

Asimismo a nivel neurológico el alcoholismo provoca envejecimiento acelerado debido a los cambios bioquímicos que provoca el etanol en la célula nerviosa, cuyas alteraciones son muy semejantes a las que ocurren en el envejecimiento normal<sup>12 13 82</sup>.

Hoy sabemos que el desbalance a favor de los radicales libres, es decir el estrés oxidativo (EOx), es un fenómeno con el cual es posible relacionar múltiples padecimientos crónico-degenerativos, como la diabetes mellitus, cáncer, artritis reumatoide, aterosclerosis, cataratas y la enfermedad de Alzheimer. El EOx provoca daño a las células de los diferentes órganos como el riñón, corazón, cerebro e hígado, de la misma manera que ocurre en el envejecimiento de sistemas, en lo cual la ingesta crónica de alcohol, puede favorecer dichos procesos<sup>26 51 83</sup>.

Por otro lado, se ha demostrado que la evaluación del daño al ADN es un buen marcador biológico de EOx, por lo que se le considera como un indicador de fragilidad para los adultos mayores, el cual puede ser útil para detectar el daño celular producido por el consumo de etanol<sup>84 85</sup>. Al respecto algunos estudios *in vitro* muestran que el consumo crónico de etanol aumenta el daño al ADN en linfocitos y que es el acetaldehído producto del metabolismo del etanol el que lo causa, asimismo el mecanismo que se propone es el de la generación de radicales libres<sup>86</sup>.

---

---

Respecto al EOX los resultados reportados en la literatura científica no son del todo consistentes. sobre todo en población gerontológica, ya que hay autores que señalan que el envejecimiento en sí mismo se acompaña de EOX y por lo tanto hay un mayor daño a biomoléculas en comparación con los adultos jóvenes<sup>87-89</sup>. Sin embargo, esto no se puede generalizar, ya que un alto porcentaje de adultos mayores no presentan ésta característica, e incluso Betti<sup>90</sup> en un estudio de 100 sujetos normales no encontró diferencias significativas entre el daño al ADN en adultos mayores y adultos jóvenes

En cuanto a los estudios reportados para pacientes alcohólicos se ha encontrado elevación de aberraciones cromosómicas, inducción de intercambio de cromátidas hermanas y rompimiento de las cadenas de ADN. Asimismo se han estudiado los mecanismos de inducción de daño cromosómico por etanol y acetaldehído sin embargo los resultados son inconsistente ya que hay autores que mencionan que el etanol es un antioxidante y el daño es causado sólo por el acetaldehído, así como que el etanol es mutagénico, carcinogénico y teratogénico en el hombre<sup>86 91-93</sup>.

El interés del presente trabajo fue el de conocer si las características citogenéticas del proceso normal de envejecimiento son similares a las de los alcohólicos crónicos como consecuencia de la acción radicales libres y por lo tanto de estrés oxidativo para ambos grupos, utilizando como marcador el daño al ADN, además de identificar los factores de riesgo asociados a dichos procesos con el fin de aportar conocimientos nuevos que en un futuro permitan proponer estrategias para mejorar la calidad de vida de los grupos de estudio

La frecuencia de daño al ADN observada en el presente estudio en alcohólicos jóvenes y adultos mayores no mostró diferencias estadísticamente significativas (adultos mayores 62% vs alcohólicos jóvenes 55%;  $p > 0.05$ ), al respecto Varga<sup>83</sup> señala que la exposición crónica al alcohol propicia envejecimiento prematuro, ya que la condensación de masa intracelular observada

---

---

durante el envejecimiento coincide con la acumulación de lípidos y proteínas observados en un hígado dañado por el alcohol

Al observar la migración de daño al ADN de forma individual en los grupos tenemos que los adultos mayores presentan una migración más compacta entre 35 y 60  $\mu\text{m}$  (Gráfica 1), a diferencia de los alcohólicos crónicos donde se tiene una migración que se ve desplazada a un intervalo entre 50 y 90  $\mu\text{m}$  (Gráfica 2) En este sentido se sabe que durante el metabolismo celular normal el proceso oxidativo provocado por la peroxidación de lípidos, el entrecruzamiento de proteínas y el daño al ADN, se produce continuamente y que se va acumulando a lo largo del tiempo, de tal forma que en los adultos mayores se da un proceso de adaptación, cuyos cambios ocurren de manera gradual, sin embargo en los alcohólicos crónicos, la exposición intensa y continua al estrés oxidativo provocada por el alcohol no permite que el organismo responda de manera efectiva provocando muerte celular y por lo tanto envejecimiento acelerado<sup>59 83</sup>.

De lo anterior al analizar los resultados obtenidos de la media total de migración de daño al ADN (Tabla 4) para los adultos mayores se encontró que fue de  $33.61\mu\text{m}\pm 26.21$ , valor que como se había indicado anteriormente es más bajo que para los alcohólicos jóvenes que mostraron un valor de  $52.91\mu\text{m}\pm 33.38$ , cuya diferencia que fue estadísticamente significativa ( $p = 0.01$ ); lo que hace suponer que a pesar de que algunos autores reportan que el daño al ADN se incrementa con la edad<sup>67 94</sup> y con la exposición a etanol y acetaldehído<sup>86 95</sup> el grado de daño no es el mismo, ya que en los adultos mayores este daño va siendo regulado de forma gradual a medida que avanza la edad para mantener la homeostasis de cada individuo, en cambio en los alcohólicos la exposición crónica al etanol provoca que ese equilibrio homeostático no se recupere y por lo tanto el daño acumulado es mayor

---

El análisis de la magnitud de daño y grado de daño al ADN (tablas 5 y 6) observamos que el 66% de los alcohólicos presentaron daño de 1 a 5 células y el 94% de esas células tienen más de un 40% de daño, sin embargo en los adultos mayores el 44% mostró daño en 1 a 5 células y el 86% de ellas tienen más de un 40% de daño, diferencias no estadísticamente significativas ( $p > 0.05$ ). Estas evidencias confirman en lo general nuestra hipótesis, sin embargo, la exposición crónica al etanol provoca un daño mayor que podría ser irreversible aunque en un menor número de células ya que se observa una tendencia a que esto suceda al observar el valor de  $p=0.067$  obtenido. Al respecto algunos autores indican que es debido a que la activación metabólica de altas concentraciones de etanol está mediada por el sistema microsomal oxidante (MEOS) en el retículo endoplásmico, induciendo la expresión del citocromo P450 en su isoforma 2E1 que tiene una alta actividad de NADPH-oxidasa y por lo tanto una alta capacidad de generar especies reactivas de oxígeno, como ión superóxido y peróxido de hidrógeno, provocando que el sistema de antioxidante disminuya su eficacia<sup>39 92 96-98</sup>.

Al agrupar a los pacientes alcohólicos dependiendo de la graduación del tipo de bebida que ingieren con respecto al daño al ADN (Tabla 7) se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ), por lo que entre mayor sea la graduación de alcohol de las bebidas que ingieren se presenta mayor daño, obteniendo una razón de momios de 2.70 (IC<sub>95%</sub> 1.00-7.39), al respecto se sabe que la exposición a altas dosis de etanol incrementa el número de rompimientos de cadena sencilla y de cadena doble en el ADN, disminuyendo la eficiencia del sistema antioxidante al afectar la producción de glutatión hepática y la superóxido dismutasa citoplásmica y el aumento de la superóxido dismutasa mitocondrial, lo que muestra un mecanismo de defensa celular por el incremento del estrés oxidativo causado por el consumo de etanol<sup>37 63 99-103</sup>.

En cuanto a la magnitud de daño con respecto a la graduación de alcohol en la bebida no se encontraron diferencias estadísticamente significativas pero el 36% tiene de 1 a 5 células dañadas y el 18% tiene más de 6 células dañadas en la

---

graduación alta, valores mayores que los encontrados para la graduación baja; en lo que se refiere al grado de daño la graduación baja mostró que el 31% de las células tenía más del 40% de daño y la graduación alta un 61%, de ahí que entre más expuestas estén las células al etanol presentaran un daño mayor, cuyos datos concuerdan con lo reportado por Singh<sup>86</sup> en un estudio *in vitro* donde encontró diferencias significativas ( $p < 0.001$ ) de daño al ADN entre linfocitos expuestos a acetaldehído comparado con linfocitos no expuestos. Asimismo en otro estudio Singh<sup>95</sup> encontró diferencias significativas ( $p < 0.025$ ) de daño entre un grupo de ratas antes y después de exponerlas a la administración de etanol.

Los resultados de daño al ADN con respecto a la cantidad de bebida ingerida mostraron una razón de momios de 2.73 (IC<sub>95%</sub> 0.96-7.86) cuando la ingesta es  $\leq 1,500$  mL y un valor de 2.55 (IC<sub>95%</sub> 0.8-8.23) cuando se ingiere más de esta cantidad, de tal manera que la ingesta crónica de alcohol aún  $\leq 1,500$  mL propicia daño al ADN, lo cual concuerda con lo ya antes mencionado, donde en la biotransformación del etanol a acetaldehído genera diversos radicales libres que disminuyen el potencial del sistema antioxidante para contrarrestar el daño, incluso se ha reportado que junto con las enzimas antioxidantes, la vitamina E se encuentran disminuidas cuando hay una excesiva ingestión de etanol<sup>97, 104</sup>.

En cuanto a la magnitud y grado de daño al ADN en relación a la cantidad de bebida, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el número de células dañadas o el nivel de daño, de ahí que al parecer no importa la cantidad de etanol consumida, la sola exposición crónica del mismo provoca daño celular.

Para realizar un análisis de regresión logística de los factores de riesgo asociados a daño al ADN (Tabla 13) se incorporaron al modelo los siguientes: la ingesta de alcohol, la edad, el tabaquismo, el consumo de café y la ocupación demostrando que el consumo de etanol constituye un factor de riesgo independiente para producir daño al ADN, cuyo mecanismo fisiopatológico se

---



explica por la acción acetaldehído que genera radicales libres, provocando estrés oxidativo y por lo tanto daño al ADN, asimismo este desbalance propicia una disminución en la eficiencia del sistema antioxidante dando lugar a la acumulación de daño oxidativo y como resultado características similares al envejecimiento<sup>105</sup>.

Por otro lado el tabaquismo no resulto ser un factor de riesgo, al respecto no hay consistencia en lo reportado en la literatura, ya que algunos autores señalan que el tabaco es productor de radicales libres y por lo tanto de daño al ADN<sup>74 76-77</sup>, sin embargo otros que no existe dicha relación, debido a que el daño es en el ADN mitocondrial y no en el nuclear sin afectar a los sistemas de reparación<sup>105-108</sup>.

Finalmente existen investigaciones que demuestran que la ingesta de suplementos antioxidantes como vitamina C (ácido ascórbico) y vitamina E ( $\alpha$ -tocoferol) pueden prevenir el daño oxidativo o reforzar las defensas naturales antioxidantes, con el fin de mejorar la funcionalidad del tejido dañado por el consumo de alcohol<sup>37 99 100 109</sup>, por lo que su indicación en alcohólicos crónicos podría ser una opción presuntiva y/o terapéutica para el EOx

Los resultados obtenidos en la presente investigación, justifican el continuar trabajando sobre EOx en alcohólicos crónicos y envejecimiento acelerado, así como sus posible marcadores biológicos, como la lipoperoxidación de membranas, asimismo en la evaluación de sistema antioxidante cuantificando la actividad de la enzimas glutatión peroxidasa, superóxido dismutasa, la capacidad antioxidante total y la evaluación de la capacidad de reparación del ADN; a través de estudios epidemiológicos longitudinales en los que se incluyan un mayor número de variables independientes pro-oxidantes.

---

## X. Conclusiones

### *Hipótesis*

*Considerando que el envejecimiento y el consumo crónico de alcohol producen una gran cantidad de radicales libres propiciando daño celular generalizado y por consiguiente daño al ADN, suponemos que esta alteración será similar entre los alcohólicos jóvenes y los adultos mayores clínicamente sanos*

### *Conclusiones*

**La prevalencia de daño al ADN no mostró diferencia estadísticamente significativa entre los adultos mayores y los alcohólicos crónicos jóvenes, por lo que se concluye que el alcoholismo crónico produce daño al ADN de manera similar al que ocurre durante el envejecimiento.**

**Debido a que en el grupo control de adultos jóvenes no se observó daño al ADN se concluye que el daño observado en los alcohólicos es debido al consumo crónico de etanol.**

### *Hipótesis*

*Tomando en cuenta que la cantidad ingerida de alcohol, la graduación de la bebida, el tabaquismo, la ingesta de café y una ocupación pro-oxidante son considerados factores de riesgo para aumentar la producción de radicales libres, suponemos que los alcohólicos jóvenes con mayor número e intensidad de dichos factores tendrán mayor proporción magnitud y grado de daño al ADN.*

### *Conclusiones*

**Los resultados obtenidos mostraron que entre mayor sea la graduación de la bebida ingerida se presenta mayor daño al ADN encontrando diferencias estadísticamente significativas.**

**La ingesta crónica de alcohol aún en bajas cantidades propicia daño al ADN.**

**El tabaquismo y la ingesta de café no se comportaron como factores de riesgo.**

---

## XI. Perspectivas

♣ Es conveniente ampliar la muestra procurando una distribución estratificada homogénea entre los posibles factores de riesgo a evaluar, con el fin de que los resultados permitan establecer conclusiones de mayor peso.

♣ Se debe completar el estudio con la evaluación de otros marcadores de daño oxidativo (lipoperóxidos), del sistema antioxidante total, de las enzimas antioxidantes y de la capacidad de reparación del daño al ADN, con el fin de discriminar entre daño reversible e irreversible.

♣ Se debe considerar la posibilidad de diseñar ensayos clínicos que permitan demostrar in vivo la utilidad de la administración de antioxidantes vitamínicos ( $\beta$ -carotenos,  $\alpha$ -tocoferol y ácido ascórbico) sobre la prevalencia de estrés oxidativo y sobre la prevención y/o recuperación de daño al ADN, así como sus repercusiones clínicas

---

## XII. Referencias

- 1 Organización Mundial de la Salud La salud de las personas de edad Ginebra: OMS Serie Informes Técnicos No 779,1989
  - 2 Brink JJ, Reicher W. Cell biology and physiology of aging. En: Care of Elderly. Clinical aspects of aging. 4a. Ed. Baltimore: Williams and Wilkins; 1985. p 472-475
  3. Nada J, Estes RN Heinemann E. Alcoholismo, desarrollo consecuencias y tratamiento. España: Interamericana; 1989 p 60-157
  4. Solache-Alcaráz G, Tapía-Conyer R, León G Lazcano F, Borjav V. Encuesta nacional de salud El consumo de bebidas alcohólicas. Boletín Mensual de Epidemiología 1990; 5: 1-10.
  - 5 Bernal-Sánchez G, Bernal-Trujillo L. El alcoholismo en México. Gaceta Médica del ISEM 1991; 1: 80-91
  6. Morse MR, Flavin KD. La definición de alcoholismo JAMA 1993; 6: 354-357.
  7. Cravioto P. Epidemiología del alcoholismo Boletín Mensual de Epidemiología Sistema Nacional de Salud 1992; 9:168-169.
  - 8 Caballería J, Parés A, Caballería R, Deulofeu R, Rodes J El diagnóstico del paciente alcohólico. Formación continua del médico práctico 1989; 3:42-43.
  - 9 De la Fuente JR, Kershenobich D El alcoholismo como problema médico. Rev Fac Med UNAM 1992; 35:47-51.
  10. Babor F, De la Fuente JR, Saunders J, Grant M. The alcohol use disorders identification test (AUDIT) Organización Mundial de la Salud 1992; 1-23.
-

- 
11. Barry LC, Fleming FM. The alcohol use disorders identification test (AUDIT) and the SMAST-13: Predictive validity in rural primary care sample. *Alcohol Alcohol* 1993; 28:33-42
  12. Trujillo SJ, Espinosa VG. La ingestión crónica de alcohol provoca atrofia cito y ultraestructural en corteza cerebral de ratas. ¿Envejecimiento Acelerado?. *Revista Mexicana de Geriátria y Gerontología* 1992; 167-169
  13. Ryan C. Alcoholism and premature aging: A neuropsychological perspective, alcoholism. *Clin Exp Res* 1982; 6:22-30.
  14. Jiménez H F, Alcoholismo en la vejez. En: Salgado A, Guillen F. *Manual de geriatría* Barcelona: Salvat; 1992. p. 150-156.
  15. Woodhouse WK, James WOF. Alcoholic liver disease in the elderly: presentation and outcome. *Age and Ageing* 1985; 14: 113-118.
  16. Tatame GG, Toranzo MI. Alcohol y aparato digestivo en el anciano. *Geriatrika* 1988; 4:34-39.
  17. Nelson ED, Sattin WR, Langlois AJ, De Vito AC, Stevens AJ. Alcohol as a risk factor for fall injury events among elderly person living in the community. *JAGS* 1992; 40: 658-661
  18. Achord J. Alcohol and the liver. *Science and Medicine, Scientific American*. 1995; 16-25.
  - 19.- Lieber SC, Baraona E. Metabolism and metabolic effects of ethanol, including interaction with drugs, carcinogens and nutrition. *Mutat Res* 1987; 186: 201-233.
-

- 
20. Lieber CS Metabolismo y efectos metabólicos del alcohol En: Clínicas médicas de norteamérica. México: Nueva Editorial Interamericana; 1984. p 3-32.
  - 21 Velasco FR. Alcoholismo visión integral. México: Editorial Trillas; 1988.
  22. Lieber SC Ethanol metabolism, cirrhosis and alcoholism. Clin Chim Acta 1997; 257:59-84.
  - 23 Sherman DY, Willias R. Liver damage: mechanisms and management. British Med Bull 1994; 50:124-138.
  24. Veshima Y, Matsuda Y, Wang BY, Takase A. Ethanol and acetaldehyde metabolism in culture rat hepatocytes Alcohol Alcohol 1993; 28: 3-10.
  25. Piña-Garza E. Etanol: catabolismo y efectos metabólicos Gac Med 1983; 119:1-16.
  - 26 Poli G Liver damage due to free radicals. British Med Bull 1993; 49: 604-620.
  - 27 Roggin M, Kater R, Tobon F, Iber F. Malabsorption in the cronic alcoholic. Annals Int Med 1969; 70:1070-1075.
  - 28 Carpenter PS, Lasker MJ, Raucy LJ. Expression, inducción, and catalytic activity of ethanol-inducible cytochrome P450 (CYP2E1) in human liver and hepatocytes. Mol Pharmacol 1996; 49:260-268.
  29. Brailowsky S, García O. Ethanol, GABA and epilepsy Arch Med Res 1999; 30:3-9.

---

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

- 
30. Wondergem R, Davis J. Ethanol increases hepatocyte water volume. *Alcohol Clin Exp Res* 1994; 18:1230-1236.
  31. Arnon R, Esposti DS, Zern AM. Molecular biological Aspects of alcohol-induced liver disease. *Alcohol Clin Exp Res* 1995; 19:247-256.
  32. Behrens U, Hoerner M, Lasker J, Lieber C. Formation of acetaldehyde adducts with ethanol-inducible p450Ile1 in vivo. *Biochem Biophys Res Comm* 1988; 154:584-590.
  33. Sorrel FM, Tuma JD. The functional implications of acetaldehyde binding to cell constituents. *Ann NY Acad Sci* 1988; 50-61.
  34. Sillanaukee P, Seppa K, Koivula T, Israel Y, Niemela O. Acetaldehyde-modified hemoglobin as marker of alcohol consumption: Comparison of two new methods. *J Lab Clin Med* 1992; 120:42-47.
  35. Wehr H, Rodo M, Lieber SC, Baraona E. Acetaldehyde adducts and autoantibodies against VLDL and LDL in alcoholics. *J Lipid Res* 1993; 34:1237-1244.
  36. Rashba-Step J, Turro N, Cederbaum A. Increased NADPH- and NADPH-Dependent production of superoxide and hydroxyl radical by microsomes after chronic ethanol treatment. *Arch Biochem Biophys* 1993; 300:401-408.
  37. Bjorneboe A. Antioxidant status and alcohol-related diseases. *Alcohol Alcohol* 1993; 28:111-116.
  38. Rouach H, Fataccioli V, Gentil M, French WS, Morimoto M, Nordmann R. Effect of chronic ethanol feeding on lipid peroxidation and protein oxidation in relation to liver pathology. *Hepatology* 1997; 25:351-355.
-

- 
39. Omodeo-Sale F, Gramigna D, Campaniello R. Lipid peroxidation and antioxidant systems in rat brain effect of chronic alcohol consumption. *Neurochem Res* 1997; 22: 577-582.
  40. Bruce SK, y Byuny PY. An emerging hypothesis: synergistic induction of aging by free radicals and Maillard reactions. *J Gerontol* 1992; 47: B107-B114.
  41. Rusting LR. Why do we age. *Scientific American* 1992; 367:86-95.
  42. Harman D. The aging process. *Proc Natl Acad Sci* 1981; 78:7124-7128.
  43. Halliwell B. Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease. *Am J Med* 1991; 91(suppl 3c):14-22.
  44. Weiss R. Envejecer. *National Geographics* 1997; Noviembre: 10-31.
  45. Cheesman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *British Med Bull* 1993; 49:481-493.
  46. Bunker V. Free radicals, antioxidants and ageing. *Med Lab Sci* 1992; 49:299-312.
  47. Koltover V. Free radical theory of aging: View against the reliability theory. En *Free radicals and Aging. De Emerit and Chance*; 1992. p. 11-19.
  48. Harman D. Role of free radicals in aging and disease. En *Physiopathological processes of aging Annals of New York Academy of Sciences* 1992; 673:126-141.
  49. Zentella M, Díaz A, Rodríguez L, Corona S. Lipoperoxidación de las membranas de eritrocito como un posible indicador del estrés oxidativo en el paciente alcohólico. *Rev Med Hosp Gen* 1994; 57: 10-16.
-



- 
50. Halliwell B, Gutteridge JMC. Free radicals in biology and medicine. 2a Ed. Oxford: Clarenton Press; 1989.
  51. Nohl H. Involvement of free radicals in ageing: a consequence or cause of senescence. Br Med Bull 1993; 49: 653-667.
  52. Rattan S, Derventzi A, Clark B. Protein synthesis, posttranslational modifications, and aging. En: Aging and cellular defense mechanisms. Annals of New York Academy of Sciences. 1992; 663:48-62.
  53. Cerami A, Vlassara H, Brownlee M. Glucosa y envejecimiento. En: Biología del envejecimiento. Investigación y ciencia 1998; 11: 74-81.
  54. Sohal R, Weindruch R. Oxidative stress, caloric restriction, and aging. Science 1996; 273:59-63.
  55. Weindruch R. Caloric restriction and aging. Scientific American 1996; 274:32-38.
  56. Moratalla LN. La destrucción de los seres vivos. En: Biología del envejecimiento. Investigación y Ciencia 1998; 11: 4-8.
  57. Jazwinski SM. Longevity, genes and aging. Science 1996; 273: 54-58.
  58. Strauss E. Counting the lives of cell. Scientific American Presents 2000; 11:50-55.
  59. Harman D. Free radical theory of aging. Mutat Res 1992; 275:257-266.
  60. Rodríguez CK, Céspedes ME. Estrés oxidativo y envejecimiento. Rev Cubana Inves Biomed 1999; 18: 67-76.
-

- 
61. Arshag DM, Wong NC. Molecular Biology of aging Part II: A synopsis of current research. *JAGS* 1991; 39: 717-723
  62. Nishimura S. 8-Hidroxyguanine. DNA aduct formed by oxygen radicals. En Dizdaroglu M, Karakaya AE. *Advances in DNA damage and repair oxygen radical effects, cellular protection, and biological consequences* Series a Life Sciences New York: Plenum Publishers;1999 p 319-327.
  63. Wieland P, Lauterburg B. Oxidation of mitochondrial proteins and DNA following administration of ethanol. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 213:815-819.
  64. Carrano AV, Natarajan AT. Considerations for population monitoring using cytogenetic techniques. *Mutat Res* 1988; 204: 379-406.
  65. Sinha A, Linscombe A, Gollapudi B, McClintock M. The incidence of spontaneous cytogenetic aberrations in lymphocytes cultured from normal human 48 and 72 h. *Can J Genet Cytol* 1984; 26: 528-531
  66. Bender MA, Preston JR. Chromosomal aberration and sister-chromatid exchange frequencies in peripheal blood lymphocytes of a large human population sample. *Mutat Res* 1988; 204: 421-433.
  67. Singh NP, Danner DB, Tice RR, Pearson JD, Brant LJ, Morrell CH, y Schneider EL. Basal DNA damage in individual human lymphocytes with age. *Mutat Res* 1991; 256: 1-6
  68. Singh NP, McCoy MT, Tice RR, y Schneider EL. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Exp Cell Res* 1988; 175: 184-185.
-

- 
69. Sigh NP, Tice R, Stephens R, Schneider E. A microgel electrophoresis technique for the direct quantitation of DNA damage and repair in individual fibroblasts cultured on microscope slides. *Mutat Res* 1991; 252: 289-296.
70. Gedik M, Ewen B, Collin R. Single cell electrophoresis applied to the analysis of UV-C damage and its repair in human cells. *J Radiat Biol* 1992; 62:313-320.
71. Mckelvey-Martin J, Green L, Schmezer P, Pool-Zobel L, De Meo P, Collins A. The single cell electrophoresis assay (comet assay): An European review. *Mutat Res* 1993; 288:47-67.
72. Ross M, Mcmillan J, Wilcox P, Collins R. The single cell microgel electrophoresis assay (comet assay): Technical aspects and applications report on the 5th LH Gray Trust Workshop, Institute of Cancer Research, 1994. *Mutat Res* 1995; 337: 57-60.
73. Anderson D, Yu TW, Phillips BJ, Schmezer P. The effect of various antioxidants and other modifying agents on oxygen-radical-generated DNA damage in human lymphocytes in the comet assay. *Mutat Res* 1994; 307: 261-271.
74. Lee HC, Lu ChY, Fahn H-J, Wei Y-H. Aging and smoking-associated alteration in the relative content of mitochondrial DNA in human lung. *FEBS Letters* 1998; 441: 292-296.
75. Leanderson P, Tagesson C. Cigarette smoke-induced DNA damage: role of hydroquinone and catechol in the formation of the oxidative DNA-adduct 8-hydroxydeoxyguanosine. *Chem Biol Interact* 1990; 75: 71-81.
76. Kiyosawa H, Suko M, Okudaira H, Murata K, Miyamoto T, Chung MH. Cigarette smoking induces formation of 8-hydroxydeoxyguanosine, one of the oxidative DNA damages in human peripheral leukocytes. *Free Radic Res Commu* 1990; 11:23-27.
-

- 
77. Zhu CQ, Lam TH, Jiang CQ, Wei BX, Lou X, Liu WW. Lymphocyte DNA damage in cigarette factory workers measured by the comet assay *Mutat Res* 1999; 444: 1-6.
  78. Knight AJ. Free radicals and the environment. En *Free radicals, antioxidants, aging and disease*. USA: American Association for Clinical Chemistry Inc.; 1999. p. 333-354.
  79. Mendoza-Nuñez VM, Retana-Ugalde R, Sánchez-Rodríguez M, Altamirano-Lozano MA. DNA damage in lymphocytes of elderly patients in relation with total antioxidant levels. *Mech Ageing Dev* 1999; 108: 9-23.
  80. Chen L, Bowen PE, Berzy D, Aryee F, Stacewicz-Sapuntzakis M, Riley RE. Diet modification affects DNA oxidative damage in healthy humans. *Free Radic Biol Med* 1999; 26: 695-703.
  81. Karayaka EA, Semra S, Burgaz S. Genotoxicity Test. Application to occupational Exposure as biomarkers. En *Advances in DNA damage and repair*. USA: Kluwer Academic/ Plenum Publishers; 1999. p. 181-191.
  82. Holden IK, McLaughlin JE, Reilly LE, Overall EJ. Accelerated mental aging in alcoholic patients. *J Clin Psych* 1988; 44:286-292.
  83. Varga M. How can free radicals cause damage to hepatic cells. A multidisciplinary approach. *Drug Alcohol Depend* 1991; 27: 117-119.
  84. Duthie SJ, Ma A, Ross MA, Collins AR. Antioxidant supplementation decrease oxidative DNA damage in human lymphocytes. *Cancer Res* 1996; 56: 1291-1295.
-

- 
85. Retana-Ugalde R, Altamirano-Lozano M, Mendoza-Núñez V, Molina-Álvarez B. Daño en el ADN como posible predictor de fragilidad en el proceso de envejecimiento. *Tópicos de Investigación y Posgrado* 1997; 5:180-184.
86. Singh PN, Khan A. Acetaldehyde: genotoxicity and cytotoxicity in human lymphocytes. *Mutat Res* 1995; 337: 9-17.
87. Pacifici E, Kelvin D. Protein, lipid and DNA repair system in oxidative stress: the free-radical theory of aging revisited. *Gerontology* 1991; 37: 166-180.
88. Markesbery WR. Oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease. *Free Radic Med* 1997; 23: 134-147.
89. Martín RH, Radmarker AW. The effect of age on the frequency of sperm chromosomal abnormalities in normal men. *Am J Hum Genet* 1987; 41: 484-492.
90. Betti C, Davini T, Giannessi L, Loprieno N, Barale R. Microgel electrophoresis assay (Comet test) and SCE analysis in human lymphocytes from 100 normal subjects. *Mutat Res* 1994; 307: 323-333.
91. Hayes S. Ethanol-induced genotoxicity. *Mutat Res* 1985; 143: 23-27.
92. Tavares DC, Cecchi AO, Jordão AA, Vannucchi H, Takahashi CS. Cytogenetic study of chronic ethanol consumption in rats. *Teratogenesis, carcinogenesis and mutagenesis* 2001; 21: 361-368.
93. Phillips JB, Jenkinson P. Is ethanol genotoxic? A review of the published data. *Mutagenesis* 2001; 16:91-101.
-

- 
94. Barnett YA, King CM. An investigation of antioxidant status, DNA repair capacity and mutation as a function of age in humans. *Mutat Res* 1995; 338: 115-128.
  95. Singh PN, Lai H, Khan A. Ethanol-induced single-strand DNA breaks in rat brain cells. *Mutat Res* 1995; 345: 191-196
  96. Navasumrit P, Ward T, Dood N, O'Connor P. Ethanol-induced free radicals and hepatic DNA strand breaks are prevented in vivo by antioxidants: effects of acute and chronic ethanol exposure. *Carcinogenesis* 2000; 21:93-99
  97. Iimuro Y, Bradford UB, Gao W, Kadiiska M, Mason PR, Stefanovic B, Brenner AD, Thurman GR. Detection of  $\alpha$ -hydroxyethyl free radical adducts in the pancreas after chronic exposure to alcohol in the rat. *Mol Pharma* 1996; 50: 656-661
  98. Mufti IS, Nachiappan V, Eskelson DC. Ethanol-mediated promotion of oesophageal carcinogenesis: association with lipid peroxidation and changes in phospholipid fatty acid profile of the target tissue. *Alcohol Alcohol* 1997; 32:221-231.
  99. Porta E. Dietary modulation of oxidative stress in alcoholic liver disease in rats. *J Nut* 1997; 127(5 suppl): 912S-915S.
  100. Olivares PI, Bucio L, Souza V, Cárabez A, Gutierrez-Ruiz MC. Comparative study of the damage produced by acute ethanol and acetaldehyde treatment in a human fetal hepatic cell line. *Toxicology* 1997; 120:133-144.
  101. Thome J, Foley P, Gsell W, Davids E, Wodarz N, Wiesbeck G, Böning J, Riederer P. Increased concentrations of manganese superoxide dismutase in serum of alcohol-dependent patients. *Alcohol Alcohol*. 1997; 32: 65-69.
-

- 
102. Thome J, Keinosuke N, Foley P, Gsell W, Wiesbeck G, Böning J, Riederer P. Time course of manganese superoxide dismutase concentrations in serum of alcohol-dependent patients during abstinence. *Drug Alcohol Depend* 1997; 44: 151-155.
103. Castro DG, Delgado de Layño AMA, Costantini MH, Castro JA. Rat ventral prostate xantine oxidase bioactivation of ethanol to acetaldehyde and 1-hydroxyethyl free radicals: Analysis of its potential role in heavy alcohol drinking tumor-promoting effects. Teratogenesis, carcinogenesis and mutagenesis 2001; 21: 109-119
104. Dupont I, Bodénez P, Berthou F, Simon B, Bardou LG, Lucas D. Cytochrome P-450 2E1 activity and oxidative stress in alcoholic patients. *Alcohol Alcohol* 2000; 35:98-103.
105. Mansouri A, Fromenty B, Berson A, Robin MA, Grimbert S, Beaugrand M. Multiple hepatic mitochondrial DNA deletion suggest premature oxidative aging in alcoholic patients. *J Hepatol* 1997; 27: 96-102
106. Wojewodzka M, Kruszewski M, Iwanenko T, Collins AR, Szumiel I. Lack of adverse effect of smoking habit on DNA strand breakage and base damage, as revealed by the alkaline comet assay. *Mutat Res* 1999; 440: 19-25
107. Brooks PJ. DNA damage, DNA repair, and alcohol toxicity-a review. *Alcohol Clin Exp Res* 1997; 21:1073-1082.
108. Mansouri A, Gaou I, De Kerguenec C, Amsellem S, Haouzi D, Berson A. An alcoholic binge causes massive degradation of hepatic mitochondrial DNA in mice. *Gastroenterology* 1999; 117: 181-190
109. Bendich A. Symposium: Antioxidants, immune response and animal function. *J Dairy Sci* 1993; 76: 2789-2794
-

## **XIII. ANEXOS**



**HOSPITAL GENERAL DE MEXICO**  
**CLINICA DE ATENCION DE LOS PROBLEMAS**  
**RELACIONADOS CON EL ALCOHOL (CAPRA)**

PATRONES DE BEBIDA

Nombre: \_\_\_\_\_ No. EXP. \_\_\_\_\_

1.- ¿A qué edad empezó a beber? \_\_\_\_\_

2.- ¿Sigue bebiendo actualmente? \_\_\_\_\_

3.- ¿A qué edad dejó de beber? \_\_\_\_\_

4.- ¿A qué edad empezó a perder el control de su forma de beber? \_\_\_\_\_

5.- ¿A qué edad empezó a tener problemas ocasionados por la bebida? \_\_\_\_\_

6.- Bebidas que ha acostumbrado:

TEQUILA - MEZCAL - GINEBRA - VODKA - CERVEZA

PULQUE - ALCOHOL - AGUARDIENTE - BRANDY - WHISKY

COGNAC - VINO DE MESA - OTRAS: \_\_\_\_\_

Solas \_\_\_\_\_ Mezcladas con: \_\_\_\_\_

7.- ¿Cuáles ha bebido más? \_\_\_\_\_

8.- Cantidad promedio \_\_\_\_\_

Destinados diario \_\_\_\_\_ Mensual \_\_\_\_\_

Cerveza o pulque diario \_\_\_\_\_ Mensual \_\_\_\_\_

9.- ¿Bebedor consuetudinario? \_\_\_\_\_

10.-Bebedor periódico \_\_\_\_\_

11.-Actividad de \_\_\_\_\_ días de descanso de \_\_\_\_\_

12.-¿Cada vez que bebia se emborrachaba? \_\_\_\_\_

13.-¿Cada cuando se emborrachaba? \_\_\_\_\_

ACLARACIONES: \_\_\_\_\_

Alcohol Use Disorders Identification  
Test (AUDIT)

1. ¿Qué tan frecuentemente ingiere bebidas alcohólicas?  
0 = Nunca  
1 = Una vez al mes o menos  
2 = Dos o cuatro veces al mes  
3 = Dos o tres veces por semana  
4 = Cuatro o más veces por semana
2. ¿Cuántas copas se toma en un día típico de los que bebe?  
0 = 1 ó 2  
1 = 3 ó 4  
2 = 5 ó 6  
3 = 7 a 9  
4 = 10 o más
3. ¿Qué tan frecuentemente toma 6 o más copas en la misma ocasión?  
0 = Nunca  
1 = Menos de una vez al mes  
2 = Mensualmente  
3 = Semanalmente  
4 = Diario o casi diario
4. Durante el último año, ¿le ocurrió que no pudo parar de beber una vez que había empezado?  
0 = Nunca  
1 = Menos de una vez al mes  
2 = Mensualmente  
3 = Semanalmente  
4 = Diario o casi diario
5. Durante el último año, ¿qué tan frecuentemente dejó de hacer algo que debería haber hecho por beber?  
0 = Nunca  
1 = Menos de una vez al mes  
2 = Mensualmente  
3 = Semanalmente  
4 = Diario o casi diario
6. Durante el último año, ¿qué tan frecuentemente bebió en la mañana siguiente después de haber bebido en exceso el día anterior?  
0 = Nunca  
1 = Menos de una vez al mes  
2 = Mensualmente  
3 = Semanalmente  
4 = Diario o casi diario
7. Durante el último año, ¿qué tan frecuentemente se sintió culpable o tuvo remordimiento por haber bebido?  
0 = Nunca  
1 = Menos de una vez al mes  
2 = Mensualmente  
3 = Semanalmente  
4 = Diario o casi diario
8. Durante el último año, ¿qué tan frecuentemente olvidó algo de lo que había pasado cuando estuvo bebiendo?  
0 = Nunca  
1 = Menos de una vez al mes  
2 = Mensualmente  
3 = Semanalmente  
4 = Diario o casi diario
9. ¿Se ha lastimado o alguien ha resultado lastimado como consecuencia de su ingestión de alcohol?  
0 = No  
1 = Sí, pero no el último año  
4 = Sí en el último año
10. ¿Algún amigo, familiar o doctor se ha preocupado por la forma en que bebe o le ha sugerido que le baje?  
0 = No  
1 = Sí, pero no el último año  
4 = Sí en el último año

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

**CUESTIONARIO PERSONAL DE SALUD**

Lea cuidadosamente cada pregunta y responda lo más directa y precisa posible. La información que nos proporcione es esta asociada con su nombre o con su número de identificación pública y solo será utilizada por el investigador principal a cargo de este estudio. Las respuestas que usted da de sermora para la interpretación de nuestros resultados. Por lo tanto agradecemos su valiosa información y colaboración. Gracias por su interés.

Fecha \_\_\_\_\_ Sexo \_\_\_\_\_

1. Identificación, Aspectos Sociales y Económicos

1.- Nombre \_\_\_\_\_

2.- Edad \_\_\_\_\_ 3.- Fecha de nacimiento \_\_\_\_\_

4.- Club/Año \_\_\_\_\_

5.- Sexo: \_\_\_\_\_ Masculino

6.- Edo. Civil: \_\_\_\_\_ Casado(s) \_\_\_\_\_ Divorciado(s) \_\_\_\_\_ Separado(s) \_\_\_\_\_ Viudo(s)

7.- Peso habitual: \_\_\_\_\_ Peso actual: \_\_\_\_\_ 8.- Talla habitual: \_\_\_\_\_ Talla actual: \_\_\_\_\_

9.- ¿Cuidado por bien? \_\_\_\_\_ 10.- Tipo de familia: \_\_\_\_\_ Vivienda Propia SI ( ) NO ( )

11.- Servicio Médico: NO ( ) SI ( ) Cuid: \_\_\_\_\_

12.- Actividades recreativas: NO ( ) SI ( ) Vices al día: \_\_\_\_\_

13.- Ingreso económico familiar: \_\_\_\_\_

14.- Ocupación \_\_\_\_\_

15.- Trabajo actualmente  SI  NO

**II. HABITOS HISTORIA DE FUMADOR**

20.- Siempre ha fumado  SI  NO

a) ¿Cuanto tiempo lleva fumando? \_\_\_\_\_ en años

b) Fuma actualmente  SI  NO

¿Cuanto dejó de fumar? \_\_\_\_\_ MES \_\_\_\_\_ AÑO

c) Normalmente fuma cigarros  SI  NO

Media Cajetilla

Una Cajetilla

Más de una Cajetilla

Si se eleva el No. de cajetillas indique cuántas por día \_\_\_\_\_

Fuma Cigarras con filtro  SI  NO

¿Cuántas fuma puro  SI  NO

¿Cuántos Puros fuma por día? \_\_\_\_\_

1 Puro

2-3 Puros

4 o más Puros

e) Usualmente fuma pipa  SI  NO

¿Cuántas Pipas fuma por día? \_\_\_\_\_

1 Pipe

2-3 Pipas

4 o más Pipas

Cigarras

Puros

Pipa

f) ¿Qué fumaba en el pasado? \_\_\_\_\_

22.- Ha estado tomando por más de un año algún medicamento prescrito por el médico (por ejemplo antihipertensivos, antibióticos, insulina, tranquilizantes, retajantes musculares etc.)

SI  NO

Si es si indique por favor

Tipo de Medicación      Dosis      Frecuencia por día      Período de Tiempo Comenzado Termino (Meses) (Meses)

24.- Ha tomado algún medicamento no prescrito por el médico (por ejemplo aspirinas, sulfadiazol, analgésicos, antálgicos etc.), durante el transcurso del año.

SI  NO

Si es si por favor indique

Tipo de Medicación      Dosis      Frecuencia por día      Período de Tiempo Comenzado Termino (Meses) (Meses)

25.- ¿Toma o ha tomado alguna de las siguientes vitaminas?

En los meses anteriores ha tomado alguna(s)  SI  NO

Si es si por favor indique

Que tipo de vitamina(s)      Dosis      Frecuencia por semana

¿Omní-¿Toma o ha tomado alguna de las siguientes enfermedades?

- Cáncer  SI  NO
- Hepatitis  SI  NO
- Mononucleosis  SI  NO
- Herpes  SI  NO
- AIDS  SI  NO
- Metástasis  SI  NO

¿Usualmente trabaja tabaco  SI  NO

¿Usualmente trabaja alcohol  SI  NO

**HISTORIA DE EXPOSICION (Relacionado con el trabajo o no)**

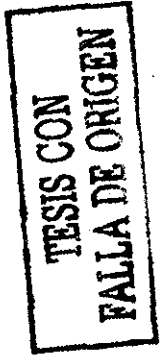
21.- ¿Esta frecuentemente expuesto en su trabajo a:

¿Cuando fue en primer exposición?       ¿Cuando fue en sus últimos exposiciones?       ¿Cuando empezó a usar la máscara respiratoria?

- Ambientes  SI  NO
- Radiación  SI  NO
- Productos de Carbón  SI  NO
- Polvos de Madera, piel, part. finas de metal  SI  NO
- Pesticidas  SI  NO
- Productos del petróleo  SI  NO
- Tintas  SI  NO
- Solventes orgánicos  SI  NO

22.- ¿Según se especifica ha estado expuesto a alguna química dentro de los últimos 10 años precediendo algún hobby o cualquier otra actividad fuera de sus horas de trabajo.

En el último año      ¿Con qué frecuencia estuvo expuesto? (En meses)      ¿Con qué frecuencia estuvo expuesto? (En meses)



Infecciones bacterianas o virales  SI  NO

Enfermedades Cardiovasculares  SI  NO  
 Diabetes  SI  NO

Otras Enfermedades Mayores  SI  NO

9) Si contesta si a alguna de las enfermedades anteriores, indique cuando y el tratamiento llevado a cabo.

Enfermedad	Periodo de la enfermedad (mes, año y día, año)	Tratamiento

1) Llene cualquier enfermedad y tratamiento que haya tenido en los 12 meses anteriores (incluyendo gripe, resfriado, etc.)

Enfermedad	Periodo de la enfermedad (mes, mes y año, año)	Tratamiento

5) Llene cualquier vacunación que haya recibido en los 12 meses anteriores.

Tipo de Vacunación	Fecha de Administración

6) Llene cualquier diagnóstico terapéutico donde se haya utilizado Rayos X en los últimos 10 años. Rango de la Utilización de Rayos X



1) Le han tomado radiografías dentales Si su respuesta es si radíque  SI  NO

El mes pasado  En los últimos 6 meses

Entre 6 y 12 meses  Más de un año

8) Tuvo alguna cirugía el año pasado Fecha: \_\_\_\_\_

1) Indique si tuvo fiebres altas el año pasado

Fecha: \_\_\_\_\_ Asociado a que enfermedad: \_\_\_\_\_

Medicaciones utilizadas: \_\_\_\_\_

**HISTORIA DIETETICA**

20.- ¿Es vegetariano?  SI  NO

21.- Come carne  SI  NO

a) ¿Si es si come que frecuencia la come? \_\_\_\_\_

Días/Semana	1-2	3-4	5-6	Todos los días
Ris	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Pescado	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Pollo	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Puerco	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Otro	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

b) ¿En qué término de cocción prefiere su carne? \_\_\_\_\_

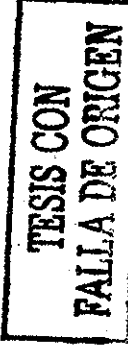
Poco cocida  Moderadamente cocida  Bien cocida

22.- a) Utiliza edulcorantes artificiales  SI  NO

b) ¿Cuándo por día? \_\_\_\_\_

23.- a) Toma bebidas o refrescos azucarados  SI  NO

b) ¿Cuándo por día? \_\_\_\_\_



1.- Comentarios pertinentes sobre su dieta (por ejemplo que sea alta en proteínas y baja en carbohidratos etc.)

5.- a) Tomen café  SI  NO

b) ¿Culavo por día?

c) Descafeinado  SI  NO

6.- a) Tomen M  SI  NO

b) ¿Culavo por día?

c) Tomen cerveza  SI  NO

¿Culavo consume?  1-6 botas por semana

7-12 botas por semana

13-24 botas por semana

Más de 24 botas por semana

6) Tomen vino  SI  NO

¿Culavo consume?  1-4 vasos por semana

5-8 vasos por semana

9-16 vasos por semana

Más de 16 vasos por semana

7.- Tomen otro tipo de licor  SI  NO

¿Culavo consume?  1-4 vasos por semana

5-8 vasos por semana

9-16 vasos por semana

Más de 16 vasos por semana

24.- Regularmente toma baños calientes o va al sauna

¿Ces qué frecuencia?  SI  NO, ¿Culavo fue el último

III. MORBILIDAD:

25. Actualizarse está bajo tratamiento médico de alguna enfermedad:

NO ( ) SI ( ) Cuid: \_\_\_\_\_

CARDIOVASCULAR Y RESPIRATORIO: (Especificar fecha de inicio)

29. Dismea NO ( ) SI ( ) (Especificar si es intermitente) \_\_\_\_\_

30. Palpitaciones NO ( ) SI ( )

31. Edema NO ( ) SI ( )

32. Cianosis NO ( ) SI ( )

33. Tos NO ( ) SI ( )

Otro: \_\_\_\_\_

34. T/A \_\_\_\_\_ Primera lectura

\_\_\_\_\_ Segunda lectura

\_\_\_\_\_ Tercera lectura

35. Colesterol: \_\_\_\_\_

NERVIOSOS:

36. Disminución del apetito visual SI ( ) NO ( )

37. Una letra SI ( ) NO ( )

38. Diplopía SI ( ) NO ( )

39. Escocomas SI ( ) NO ( )

40. Dolor ocular SI ( ) NO ( )

41. Hipocausa SI ( ) NO ( )

42. Oculgía SI ( ) NO ( )

43. Vertigo SI ( ) NO ( )

44. Alteraciones del olfato SI ( ) NO ( )

45. Alteraciones del gusto SI ( ) NO ( )

46. Alteraciones de la memoria SI ( ) NO ( )

47. Alteraciones del sueño SI ( ) NO ( )

48. Alteraciones de la sensibilidad SI ( ) NO ( )

49. Alteraciones de la estabilidad SI ( ) NO ( )

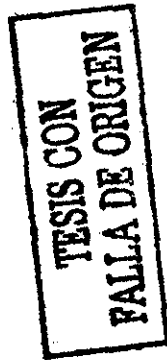
Otro: \_\_\_\_\_

ORTOARTICULAR:

50. Dolor muscular SI ( ) NO ( )

51. Dolor articular SI ( ) NO ( )

888



74.- Usado y se corrigió: has estado al gas la perilla de un bebé al lactar o que haya estado suero o un aborto espontáneo.

Si se respuesta es si, especifique: \_\_\_\_\_

SI  NO

75.- Tiene gemelos  SI  NO

**IV. EXAMENES DE ESCRUTINIO:**

**1. Perfil Bioquímico**

Bioesteria Hemática: \_\_\_\_\_

Química Sanguínea: \_\_\_\_\_

Bioestrólio: \_\_\_\_\_

Lípidos: \_\_\_\_\_

Censos y/uamitransapoidas: \_\_\_\_\_

2. Prueba de funcionalidad de Oriblasi: \_\_\_\_\_

3. Mutaciones de Follin: \_\_\_\_\_

4. Prueba de depresión de Ysaagar: \_\_\_\_\_

5. Agudeza visual: \_\_\_\_\_

**V. DIAGNOSTICO:**

Padecimiento crónico NO ( ) SI ( )

(Aparato o Sistema)

51. Inflamación anular SI ( ) NO ( )

Otros: \_\_\_\_\_

52. Duraña SI ( ) NO ( )

53. Dismenstruación del calibre del útero SI ( ) NO ( )

54. Dismenstruación de la fuerza del útero SI ( ) NO ( )

55. Urgencia urinaria SI ( ) NO ( )

56. Incontinencia urinaria SI ( ) NO ( )

57. Secreción vaginal SI ( ) NO ( )

58. Alteraciones en la emoción SI ( ) NO ( )

59. Alteraciones en la vitalidad SI ( ) NO ( )

60. Menstruación SI ( ) NO ( )

61. Disgustos SI ( ) NO ( )

62. Periodo latencia de peso SI ( ) NO ( )

Otros: \_\_\_\_\_

**DAGENTIVO:**

63. Creencia autocontrol SI ( ) NO ( )

64. Homocinética SI ( ) NO ( )

65. Convulsiones SI ( ) NO ( )

66. Inercia SI ( ) NO ( )

67. Dismenstruación SI ( ) NO ( )

68. Alteraciones de las heces SI ( ) NO ( )

69. Alteraciones de las heces SI ( ) NO ( )

**HISTORIA GENETICA**

71.- ¿Tiene conocimiento de algún defecto al nacimiento o de algún defecto genético o enfermedades hereditarias que haya sido a su familia, hermano, hermana o a sus hijos?

SI  NO

Si se respuesta es si, especifique: \_\_\_\_\_

72.- Usado y se corrigió: has estado dificultad para comer (por un periodo mayor de 12 meses) o alguno ha sido diagnosticado como tal?

SI  NO

Si se respuesta es si, especifique: \_\_\_\_\_

73.- Usado y se corrigió: has estado algún defecto al nacimiento o de algún defecto genético o enfermedades hereditarias.

SI  NO

Si se respuesta es si, especifique: \_\_\_\_\_

89

