

50387



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**POSGRADO EN CIENCIAS
BIOLÓGICAS**

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA

**ESTRÉS OXIDATIVO EN POBLACIONES
DE ANCIANOS CON RESIDENCIA EN
EL ÁREA RURAL VS. URBANA**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

DOCTORA EN CIENCIAS

P R E S E N T A

MARTHA ASUNCIÓN SÁNCHEZ RODRÍGUEZ

DIRECTOR DE TESIS: DR. VÍCTOR MANUEL MENDOZA NÚÑEZ

México, D.F.

Agosto 2005



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
COORDINACIÓN

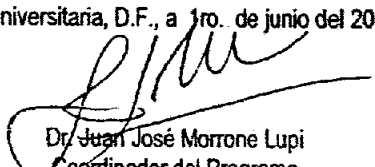
Ing. Leopoldo Silva Gutiérrez
Director General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Por medio de la presente me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 17 de enero del 2005, se acordó poner a su consideración el siguiente jurado para el examen de DOCTORA EN CIENCIAS de la alumna **SÁNCHEZ RODRÍGUEZ MARTHA ASUNCIÓN** con número de cuenta 73410982 y número de expediente 5932013, con la tesis titulada: "Estrés oxidativo en poblaciones de ancianos con residencia en el área rural vs. urbana", bajo la dirección del Dr. Víctor Manuel Mendoza Núñez.

Presidente:	Dr. Luis Alberto Vargas Guadarrama
Vocal:	Dr. Miguel Betancourt Rule
Vocal:	Dr. Héctor Bourges Rodríguez
Vocal:	Dr. José Luis Muñoz Sánchez
Secretario:	Dr. Víctor Manuel Mendoza Núñez
Suplente:	Dr. Mario Altamirano Lozano
Suplente:	Dr. Edelmiro Santiago Osorio

Sin otro particular, quedo de usted.

Atentamente
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, D.F., a 1ro. de junio del 2005.



Dr. Juan José Morrone Lupi
Coordinador del Programa

c.c.p. Expediente del interesado

RECONOCIMIENTOS

Para los estudios de DOCTORADO se recibió el apoyo de la Dirección General de Personal Académico (DGAPA), UNAM y del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) con número de registro 126123.

COMITÉ TUTORAL

DR. EDELMIRO SANTIAGO OSORIO

DR. LUIS ALBERTO VARGAS GUADARRAMA



Este trabajo fue realizado en:

Laboratorio de Gerontología Clínica
Unidad de Investigación en
Gerontología
Facultad de Estudios Superiores
Zaragoza, UNAM

DEDICATORIAS

A mi papá:

Este es un paso que siempre quiso ver,
por lo que espero haber cumplido con
sus expectativas y
porque todo el tiempo está a mi lado.

A mi mamá:

Que siempre me ha impulsado a seguir
adelante y, sobretodo, por su compañía
y apoyo durante estos años de estudio.

A Prisci y Ray:

Con todo mi cariño y agradecimiento
porque sin su apoyo y comprensión
no hubiera sido posible la culminación
de estos estudios.
Espero esto sea un aliciente en su vida.

A Ramón:

Con cariño y agradecimiento
por tu apoyo y confianza de siempre
para cumplir mis metas profesionales.

A mis hermanos:

Mario, Maria Elena, Lula, Juan,
Monse y Mauricio, porque somos
una gran familia.

A Arturo:

Bienvenido a nuestra gran
familia, que esto también sea
un ejemplo de que todo se puede.

A mis compañeras y amigas de la
Unidad de Investigación en Gerontología:
Alicia, Elsa, Irma, Marilú, Mirna, Raquel,
Ada y Juanita.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Víctor Manuel Mendoza Núñez:
Por tu atinada dirección en la Unidad de
Investigación, permitiendo el crecimiento
académico de sus integrantes,
particularmente por el apoyo que me
has brindado durante todo este tiempo.

Al Dr. Luis Alberto Vargas y
al Dr. Edelmiro Santiago Osorio:
Por todos sus conocimientos, aclaraciones
y enriquecedoras discusiones en el desarrollo
de este trabajo de investigación.

Al Dr. Miguel Betancourt Rule
Dr. Héctor Bourges Rodríguez
Dr. José Luis Muñoz Sánchez
Dr. Mario A. Altamirano Lozano
por sus atinados consejos que
enriquecieron el documento final.

ÍNDICE

Resumen	1
Abstract	2
I. Introducción	3
II. Marco Teórico	4
II.1. Envejecimiento	4
II.2. Estrés oxidativo	6
II.3. Factores pro-oxidantes del estilo de vida	11
II.4 Biomarcadores	13
II.5 Estrés oxidativo y envejecimiento	15
II.6 Ecología y envejecimiento	16
III. Planteamiento del Problema	22
IV. Hipótesis	23
V. Objetivos	24
VI. Material y Métodos	25
VI.1. Diseño de investigación	25
VI.2. Caracterización de las poblaciones	25
VI.3. Criterios de selección	26
VI.4. Variables	26
VI.5. Procedimientos	30
VI.6. Diseño estadístico	34
VI.7. Aspectos éticos	35
VII. Resultados	36
VII.1. Características bioquímicas	36
VII.2. Estrés oxidativo	36
VII.3. Estado de salud y estilo de vida	47
VIII. Discusión	57
VIII.1. Estrés oxidativo	57
VIII.2. Estado de salud y estilo de vida	61
IX. Conclusiones	65

X. Perspectivas	67
XI. Referencias	68
Anexos	79
Anexo 1. Cuestionario de factores de riesgo pro-oxidantes	80
Anexo 2. Cuestionarios de actividades de la vida diaria para ancianos en comunidad	87
Anexo 3. Miniexamen mental de Folstein (modificado)	93
Anexo 4. Productos de la investigación	99
<i>Antioxidant capacity in relationship to serum peroxides levels in healthy elderly of Mexico City. Acta Biochim Clin Latinoam</i>	
Propuesta de un constructo para evaluar integralmente el estrés oxidativo. <i>Bioquimia</i>	
<i>Efficient antioxidant capacity against lipid peroxide levels in healthy elderly of Mexico City. Environ Res</i>	
<i>Relationship between oxidative stress and cognitive impairment in community-dwelling elderly rural vs. urban. Manuscrito enviado.</i>	

RESUMEN

Introducción: Se ha reconocido al estrés oxidativo (EOx) como el desequilibrio bioquímico propiciado por la producción excesiva de especies oxidantes que provocan daño oxidativo a las biomoléculas y que no puede ser contrarrestado por los sistemas antioxidantes, el cual se ha relacionado con el envejecimiento y más de 100 padecimientos diferentes. El estilo de vida y los factores ambientales constituyen elementos determinantes del EOx, de tal manera que el estado de salud de los ancianos depende en gran medida de factores psicosociales cuyo mecanismo fisiopatológico ha sido evaluado parcialmente al no relacionarse directamente con los cambios a nivel molecular.

Objetivo: Evaluar la influencia de la edad y la contaminación ambiental sobre el EOx y su relación con las enfermedades crónico degenerativas en residentes de áreas rural y urbana.

Métodos: Se llevó a cabo un estudio transversal en una población de 200 adultos mayores (AM) de 60 a 80 años de edad, 112 residentes de la cd. de México y 88 de Actopan, Hgo., además de 75 adultos jóvenes (25-45 años), 38 de la cd. de México y 37 de Actopan, Hgo., como controles. A todos los sujetos se les tomaron muestras sanguíneas para determinar BH, química sanguínea y perfil lipídico como pruebas de tamizaje clínico; se les cuantificaron los niveles de lipoperóxidos plasmáticos [LPO] (método TBARS), la actividad de las enzimas antioxidantes SOD y GPx y la capacidad sérica antioxidante total [AT] por métodos colorimétricos comerciales (Randox Laboratories, Ltd.). También se les aplicó un cuestionario de factores de riesgo pro-oxidantes, 4 escalas de funcionalidad física y el Mini Examen Mental de Folstein (MMSE), y un examen clínico para determinar su estado de salud. Los datos de contaminación ambiental fueron obtenidos de la red de monitoreo local. Los resultados fueron analizados a través de *t* de Student y ANOVA de una vía con la prueba de Tukey como *posthoc* para las variables cuantitativas; χ^2 , razón de momios (RM) con su respectivo intervalo de confianza al 95% (IC_{95%}) para las cualitativas, además de análisis de regresión lineal simple, múltiple y logística.

Resultados: La concentración promedio anual de ozono para la cd. México fue de 0.155 ± 0.46 ppm vs. Actopan, Hgo. 0.070 ± 0.010 ppm ($p < 0.0001$). Los LPO se encontraron más altos en los dos grupos del área urbana que en los del área rural. El 55% de los AM del área urbana y el 40% de los del área rural presentaron EOx ($p < 0.05$). Encontramos que vivir en el área urbana, dormir ≤ 6 h/d y la edad ≥ 60 años fueron factores de riesgo para EOx (RM = 4.33, IC_{95%}: 2.15–8.72, $p < 0.0001$; RM = 2.21, IC_{95%}: 1.07–4.56; $p = 0.033$ y RM = 2.30, IC_{95%}: 1.04–5.11; $p = 0.041$, respectivamente). No se observó diferencia en cuanto a la frecuencia de padecimientos crónicos degenerativos en ambas áreas. Los AM residentes de la ciudad de México tienen menos limitaciones funcionales en las actividades de la vida diaria (AVD) que su contraparte del área rural. En la regresión múltiple los LPO correlacionaron con los factores pro-oxidantes ($R_{\text{urbana}} = 0.351$, $p = 0.028$ y $R_{\text{rural}} = 0.319$, $p = 0.083$), observando una correlación independiente positiva con la edad en ambas áreas ($p < 0.05$) y el IMC en el área urbana ($p = 0.001$); y con una correlación negativa con las horas de sueño en la rural ($p = 0.031$).

Conclusiones: La contaminación ambiental y el estilo de vida estresante de la ciudad de México son determinantes del mayor EOx en los AM residentes de la cd. de México, pero no influye significativamente en la prevalencia de padecimientos crónicos degenerativos en la población gerontológica. En cuanto a la funcionalidad física, se observaron mayores limitaciones en los residentes del área rural. El lugar de residencia urbano y dormir < 6 h/d, principalmente cuando se está en un ambiente “tranquilo no estresante”, constituyen factores de riesgo para LPO altos en los AM.

ABSTRACT

Introduction: Oxidative stress (OxS) has been recognized as serious imbalance between the reactive oxygen species (ROS) and the effective action of antioxidant system. It is a factor that contributes to aging and the development of more than a hundred different diseases. Lifestyles, as well as environmental factors are determinant elements of OxS. Health status in elderly is related in a great measure to psychosocial factors with only a partial physiological explanation. It has been partially evaluated since these factors can no be related with changes at molecular levels.

Objective: Evaluate the influence of age and pollution on OxS as well as its relation to chronic diseases in two sets of population; one living in an urban area, and other living in a rural area.

Methods: We conducted a cross-sectional study in population of 200 elderly people ranging from 60 to 80 years old. One hundred twelve of these people lives in Mexico City and 88 lives in Actopan, Hgo.; also 75 young adults (range 25 – 45 years old), 38 lives in Mexico City and 37 lives in Actopan, Hgo., as control group. We obtain blood samples from all subjects to determine a complete blood count, blood chemistry, and lipid profile in order to make a clinical screening. We quantify plasma levels of lipoperoxides [LPO] (TBARS assay), the activity of antioxidant enzymes SOD and GPx and total antioxidant status [TAS] by commercial colorimetric methods (Randox Laboratories, Ltd.). We also apply a questionnaire for pro-oxidant risk factors, 4 scales of physical functionality and the Mini Mental State Examination (MMSE); moreover, a clinical exam to evaluate health state. We collected air-pollution data from the regional quality network. Data were analyzed using Student *t* test and one-way ANOVA with Tukey *posthoc* test for quantitative variables; χ^2 and odds ratio (OR) with 95% confidence interval (95%CI) for qualitative variables; as well as simple linear, multiple and logistic regressions.

Results: Annual mean of ozone air in Mexico City was 0.155 ± 0.46 ppm and in Actopan, Hgo. 0.070 ± 0.010 ppm ($p < 0.0001$). Plasma LPO levels were found highest in two groups of people living in the urban area compared to the people living in rural areas. Fifty five percent of elderly living in urban areas and 40% of elderly living in rural areas have OxS ($p < 0.05$). We found that to live in urban area, to sleep ≤ 6 h/d and age ≥ 60 years old were risk factor to OxS (OR = 4.33, 95%CI: 2.15–8.72, $p < 0.0001$; OR = 2.21, 95%CI: 1.07–4.56; $p = 0.033$, and OR = 2.30, 95%CI: 1.04–5.11; $p = 0.041$, respectively). We did not find difference in the frequency of chronic diseases in both areas. Elderly living in Mexico City have less physical limitations in the activities of daily living (ADL) compared to elderly living in rural area. In the multiple regression, LPO levels correlates with pro-oxidant factors ($R_{\text{urban}} = 0.351$, $p = 0.028$ y $R_{\text{rural}} = 0.319$, $p = 0.083$), as a positive independent correlation with age in both areas ($p < 0.05$) and BMI in urban area ($p = 0.001$); sleep hours had negative correlation in rural area ($p = 0.031$).

Conclusions: Pollution and stressful life style in Mexico City were major determinants of OxS in elderly, but it does not significantly influence in the prevalence of chronic diseases in gerontologic population. Major physical limitations were observed more frequently in elderly from rural area. Living in an urban area, sleeping less than 6 h/d besides living in a stressing environment, constitutes main risk factors for high levels of LPO in elderly.

I. INTRODUCCIÓN

El proceso biológico de envejecimiento es individualizado y caracterizado por un declive funcional con la edad, por lo que podemos encontrar personas senectas con mínimas pérdidas fisiológicas y otras severamente dañadas. De aquí que se haya dividido el envejecimiento en tres estados: habitual, exitoso y con fragilidad. En el envejecimiento habitual se observan cambios determinados por el efecto combinado de la enfermedad y el estilo de vida sobre el proceso de envejecimiento intrínseco. El envejecimiento exitoso se refiere a los sujetos en los que se observa sólo el decremento funcional atribuible al proceso de envejecimiento y donde ni la enfermedad ni los factores ambientales o factores adversos en el estilo de vida complican o acrecientan el deterioro. El envejecimiento con fragilidad es una condición o síndrome que resulta de una reducción del multisistema en la capacidad de reserva homeostática para mantener los sistemas fisiológicos cercanos, o sobre, el umbral de la falla clínica sintomática; como consecuencia, en una persona frágil se incrementa el riesgo de incapacidad y muerte a un menor estrés externo.

Desde el punto de vista biológico se señala que el envejecimiento es consecuencia de la acumulación de daños aleatorios que limitan o afectan la formación o reparación del ADN, proteínas, carbohidratos y lípidos. La propuesta más aceptada indica que este daño es de tipo oxidativo, indicándose que hay un incremento en el llamado estrés oxidativo y, como consecuencia, el daño oxidativo altera el funcionamiento de las células, tejidos, órganos y sistemas, incrementando la vulnerabilidad a la enfermedad, lo cual se asocia a las manifestaciones características del envejecimiento, tales como: pérdida de masa ósea y muscular, disminución en el funcionamiento de todos los sistemas, alteraciones en el oído y la visión, y disminución en la elasticidad de la piel, entre otros.

El estilo de vida y los factores ambientales (físicos y sociales), constituyen elementos determinantes del estrés oxidativo, cuyo mecanismo fisiopatológico es causa de los padecimientos crónico-degenerativos de alta prevalencia e incidencia durante el envejecimiento, tales como: aterosclerosis, diabetes mellitus, cataratas, osteoporosis, artritis reumatoide, demencia de Alzheimer y diversos tipos de cáncer, por lo que resulta de particular interés conocer las variables psicosociales que influyen sobre el estrés oxidativo, con el fin de poder prevenir o intervenir sobre los factores de riesgo o protección de la fragilidad o recidivas de padecimientos crónico-degenerativos.

De tal manera que el estado de salud de los ancianos depende en gran medida de factores psicosociales cuyo mecanismo fisiopatológico ha sido evaluado parcialmente al no relacionarse directamente con los cambios a nivel molecular. Bajo este panorama, consideramos indispensable estudiar los factores ambientales y el estilo de vida, analizando su mecanismo fisiopatológico con énfasis en los cambios a nivel molecular, para entender mejor el proceso de envejecimiento y ofrecer una opción para conseguir un envejecimiento exitoso.

Es por ello que en este trabajo se evaluó la influencia del lugar de residencia y los componentes del estilo de vida sobre el estrés oxidativo y estado de salud de los adultos mayores, debido a que se ha determinado que no todos los ancianos presentan el mismo grado e intensidad de estrés oxidativo, como consecuencia de su estilo de vida y lugar de residencia, por lo que prevenir o intervenir sobre los factores de riesgo que provocan el incremento del estrés oxidativo, podría evitar y/o retrasar la aparición de enfermedades y trastornos incapacitantes.

II. MARCO TEÓRICO

En términos generales se señala que el envejecimiento es un proceso universal que ocurre en todas las especies, aunque no necesariamente al mismo ritmo, estableciéndose que la supervivencia máxima del humano es de 120 años, encontrándose casos extraordinarios por arriba de dicho límite. En función de esto, se puede aseverar que existe la posibilidad de identificar factores que limiten el deterioro bio-psico-social del humano para que el envejecimiento curse con una mejor calidad de vida.

La presente investigación se llevó a cabo con el fin de generar conocimientos científicos en el ámbito biológico con posibilidades de aplicación práctica, determinando los factores constituyentes del estilo de vida que producen estrés oxidativo en adultos mayores de un área rural y una urbana, con posibilidad de ser modificables, además de la mejoría del sistema antioxidante, para que potencialmente se garantice y/o favorezca un buen estado de salud en los ancianos.

A continuación se presentará la información teórica con el fin de fundamentar la investigación y precisar el problema y la hipótesis a desarrollar.

II.1. Envejecimiento

El envejecimiento es un proceso multifactorial que involucra mecanismos biológicos, psicológicos y sociales, de ahí que su presentación y evolución sea individualizada. En este sentido, los humanos envejecemos de manera distinta y la edad cronológica no siempre es representativa de la edad biológica¹.

Harman en 1981 definió el envejecimiento como la acumulación de déficits biológicos como consecuencia de la edad avanzada, que propician una mayor susceptibilidad a la enfermedad y a la muerte². Así mismo, Strehler y North en 1982 señalaron que el envejecimiento es deletéreo, progresivo, intrínseco (no puede ser modificado por agentes o condiciones ambientales) y universal, se caracteriza por una atrofia de todos los órganos y tejidos, generando una disminución de las funciones fisiológicas y una mayor vulnerabilidad a padecimientos infecciosos, metabólicos, autoinmunes, neoplásicos, respiratorios, osteoarticulares y cardiovasculares³.

En la Unidad de Investigación en Gerontología de la Facultad de Estudios Superiores ZARAGOZA, UNAM entendemos el envejecimiento como un *proceso gradual y adaptativo, caracterizado por una disminución relativa de la respuesta homeostática, debida a las modificaciones morfológicas, fisiológicas, bioquímicas y psicológicas, propiciadas por los cambios inherentes a la edad y al desgaste acumulado ante los retos que enfrenta el organismo a lo largo de la historia del individuo en un ambiente determinado.*

Esta definición se apoya en el enfoque teórico de la alostasis (*Allostasis*) o proceso de adaptación ante retos o desafíos estresantes. Esta teoría establece que el organismo responde de manera activa ante amenazas o retos estresantes con el fin de mantener la homeostasis, sin embargo el mecanismo de respuesta adaptativa denominado alostasis, representa un costo biológico, por lo que cuando ocurre en forma repetida, propicia una carga alostática (*Allostatic load*), haciendo menos eficiente el proceso y favoreciendo la aparición de padecimientos infecciosos y crónico-degenerativos⁴⁻⁸.

Como consecuencia, se puede inferir que el tiempo máximo de vida de un organismo es la suma de los cambios deletereos y el mantenimiento de los mecanismos de reparación en respuesta a ese daño⁹; de ahí que se haya dividido el envejecimiento en tres estados: habitual, exitoso y con fragilidad^{10,11,12}. En el envejecimiento habitual se observan cambios determinados por el efecto combinado de la enfermedad y el estilo de vida sobre el proceso de envejecimiento intrínseco¹⁰. El envejecimiento exitoso se refiere a los sujetos en los que se observa sólo el decremento funcional atribuible al proceso de envejecimiento y donde ni la enfermedad ni los factores ambientales o factores adversos en el estilo de vida complican o acrecientan el deterioro¹⁰. El envejecimiento con fragilidad es una condición o síndrome que resulta de una reducción del multisistema en la capacidad de reserva para mantener los sistemas fisiológicos cercanos, o sobre, el umbral de la falla clínica sintomática; como consecuencia en una persona frágil se incrementa el riesgo de incapacidad y muerte a un menor estrés externo^{11,13,14}.

Se han propuesto diversas teorías para explicar el envejecimiento, entre las que se pueden resaltar las siguientes: a) mutación somática y reparación de ADN, b) error catastrófico, c) modificación (alteración) de proteínas, d) identificación y expresión de genes de longevidad, e) neuroendocrina, f) inmunológica, g) senescencia celular, h) apoptosis e i) radicales libres (RL). Al respecto la teoría de los RL es considerada en la actualidad como la más plausible para explicar este proceso¹⁵.

La teoría de los radicales libres (RL) propone que el envejecimiento es el resultado de la acumulación de daño oxidativo a las células y tejidos del cuerpo que se produce como resultado del incremento en el metabolismo aeróbico y/o disminución relativa de la producción y acción eficiente del sistema antioxidante (estrés oxidativo). Al respecto, las evidencias propuestas para apoyar la hipótesis de los RL como factor causal del envejecimiento son las siguientes¹⁵:

- 1) La longevidad de las especies se correlaciona con la tasa metabólica y la actividad protectora de los antioxidantes.
- 2) El aumento en la expresión de las enzimas antioxidantes en animales de experimentación incrementa significativamente la longevidad.
- 3) Los niveles de daño celular por RL se incrementa con la edad.
- 4) La reducción de la ingesta calórica disminuye la producción de RL e incrementa la longevidad.

II.2. Estrés Oxidativo

Se define como estrés oxidativo (EOx) al desequilibrio bioquímico propiciado por la producción excesiva de moléculas o especies reactivas (ER) y radicales libres (RL) que provocan daño oxidativo a las biomoléculas y que no puede ser contrarrestado por los sistemas antioxidantes (AOx)¹⁶; siendo los RL especies químicas que poseen en el último orbital un electrón no apareado, por lo que son capaces de extraer un electrón de las moléculas vecinas para completar su orbital, convirtiéndose en componentes altamente reactivos y oxidantes. La mayoría de los RL son capaces de extraer un electrón de las moléculas vecinas para completar su orbital convirtiéndose en componentes altamente oxidantes¹⁷⁻¹⁹.

El oxígeno (O₂) contenido en el aire que normalmente respiramos es fundamental para la vida, sin embargo, muchas reacciones en las que participa el O₂ generan especies reactivas (ER), de ahí que el oxígeno es una sustancia potencialmente tóxica, y aunque es necesario para el metabolismo de los organismos aerobios, puede ser dañino a largo plazo; es por esto que a esta incongruencia en cuanto a la necesidad-toxicidad del oxígeno se le ha denominado "la paradoja del oxígeno".

La reducción tetravalente del oxígeno en la mitocondria para producir agua mediante la cadena de transporte de electrones es relativamente segura; no obstante, la reducción univalente de oxígeno genera intermediarios reactivos en una serie de reacciones de reducción que involucran cuatro electrones, generando tres compuestos denominados especies reactivas de oxígeno (EROs): anión superóxido (O₂⁻), peróxido de hidrógeno (H₂O₂) y radical hidroxilo (OH[•]) (Figura 1)¹⁷⁻²⁰. El H₂O₂ no es un RL, pero cae en la categoría de EROs por ser un compuesto intermediario e importante en la bioquímica de los RL, ya que se descompone fácilmente en presencia de metales de transición, para producir el más reactivo y dañino RL de oxígeno, el radical hidroxilo (OH[•])^{17,19}.

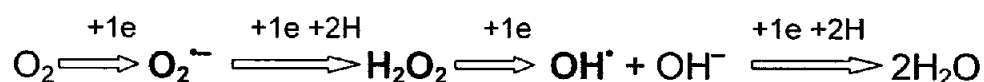


Figura 1. Los cuatro pasos de la reducción del oxígeno molecular a agua con la generación de tres especies reactivas de oxígeno (EROs). Tomado de Gutteridge, 1994.

Varios metales de transición reaccionan con el H₂O₂, pero al que se le ha puesto más atención es al hierro (Fe). En el mecanismo mediado por Fe, las sales ferrosas reaccionan con H₂O₂ para formar OH[•] por medio de una reacción llamada de Fenton^{16,17}.

Por su parte, el $O_2^{\cdot-}$ puede reducir ciertos quelatos férricos, interviniendo en la reacción de formación de OH^{\cdot} . La reacción condensada, sin los intermediarios del hierro, entre $O_2^{\cdot-}$ y H_2O_2 se conoce como reacción de Haber-Weiss (Figura 2)^{16,17}.

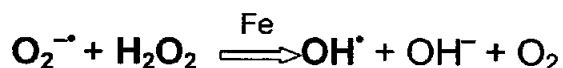


Figura 2. Reacción de Haber-Weiss catalizada por hierro.

Otra especie reactiva de oxígeno es el llamado oxígeno singulete (1O_2) que no es propiamente un RL porque no contiene un electrón impar, ya que los dos electrones de la última órbita ocupan el mismo orbital y tienen los spin paralelos, es decir están apareados. Es una molécula muy reactiva y capaz de oxidar rápidamente muchas otras, incluyendo ácidos grasos poli-insaturados. Se forma principalmente por reacciones fotoquímicas y en los eosinófilos^{21,22}.

Además de la cadena respiratoria, los RL son generalmente producidos por otras reacciones de transferencia de electrones que pueden ser mediadas por acciones enzimáticas que involucran a la fagocitosis, el sistema citocromo P450 (CYP), reacciones del retículo endoplásmico, la acción enzimática de xantina oxidasa (XO) y la síntesis de prostaglandinas; así como reacciones no enzimáticas del oxígeno con compuestos orgánicos o iniciadas por radiaciones ionizantes. Principalmente, son formados a través de reacciones de oxidación-reducción (*redox*)¹⁸⁻²¹, aunque se considera a la mitocondria como la principal fuente de RL, debido a que ahí es donde se produce la mayor parte de energía para la célula, produciéndose una oxidación en el ADN mitocondrial²².

Otra molécula capaz de formar RL es el nitrógeno, generando dos óxidos: óxido nítrico (NO^{\cdot}) y dióxido nítrico (NO_2^{\cdot}), conformando las llamadas especies reactivas del nitrógeno (ERNs). El NO^{\cdot} es un RL gaseoso derivado de la oxidación del nitrógeno guanido-terminal del aminoácido L-arginina en una reacción oxidativa que consume oxígeno molecular y reduce equivalentes en la forma reducida de la coenzima nicotinamida-adenina-dinucleótido fosfato (NADPH) para formar L-citrulina, esta reacción es catalizada por el complejo de enzimas óxido nítrico sintetasa (NOS)²³⁻²⁵. Es una molécula de bioseñal que juega un importante papel en la neurotransmisión, vasorelajación y respuesta inmune²⁶.

Los radicales OH^{\cdot} , $O_2^{\cdot-}$ y NO^{\cdot} son capaces de reaccionar con las biomoléculas produciendo RL orgánicos menos reactivos. El OH^{\cdot} reacciona con los carbonos centrales de las moléculas en forma RH, tales como proteínas, carbohidratos, lípidos y ácidos nucleicos, convirtiéndolas en radicales (R^{\cdot}), este radical libre carbono-central reacciona rápidamente con el oxígeno para formar un radical más estable llamado peroxilo (ROO^{\cdot}) que a su vez puede tomar parte en otras reacciones para producir radicales alcoxilos (RO^{\cdot}). Así mismo, los átomos de

azufre en forma de compuestos sulfhidrilo (RSH) también pueden ser convertidos en RL formando los radicales tiol (RS^{\bullet})¹⁸. Por otro lado, el $O_2^{\bullet-}$ reacciona con el NO^{\bullet} para formar peroxinitrilo ($ONOO^{\bullet}$), el cual es un poderoso oxidante que daña muchas moléculas biológicas y que a pH ácido se puede descomponer liberando pequeñas cantidades de OH^{\bullet} independientemente de la catálisis de metales^{16,17,19}. También, bajo ciertas condiciones, el NO^{\bullet} puede reaccionar con compuestos fenólicos como la tirosina formando nitrotirosina, molécula que produce inactivación enzimática^{23,24}.

De todas las biomoléculas que pueden ser atacadas por RL, los lípidos son probablemente los más susceptibles. Las membranas celulares son ricas en ácidos grasos poli-insaturados que son fácilmente oxidables por un proceso conocido como lipoperoxidación o peroxidación lipídica en el cual se forman dienos conjugados. Este proceso daña directamente la estructura de la membrana celular e indirectamente a otros componentes celulares por la producción de aldehídos reactivos^{23,27}.

Así mismo, el ADN no está exento del proceso oxidativo, tanto el nuclear como el mitocondrial²³. Al respecto Ames estimó que una célula humana recibe 10 000 impactos oxidativos en el ADN nuclear/d producidos por OH^{\bullet} ²⁸, es decir, de cada 10^{12} moléculas de oxígeno que entran a la célula/d, es posible que 1 en 200 dañen al ADN²⁹. Las EROs pueden causar entrecruzamiento de proteínas-ADN, intercambio de cromátides hermanas, daño a la estructura de desoxirribosa-fosfato y oxidación de las cuatro bases nitrogenadas²⁹⁻³¹. Las modificaciones oxidativas en las bases producen mutaciones, mientras que la oxidación de la desoxirribosa puede inducir liberación de bases y rompimiento de cadena sencilla de las hebras de ADN^{31,32}. Por lo general, los OH^{\bullet} producen múltiples productos de oxidación de las bases como 8-hidroxiadenina y timidina glicol; el 1O_2 preferentemente modifica la guanina por 8-hidroxilación formando los compuestos 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina (8OHdG) y su base libre 8-hidroxi-guanina (8OHG)³². La reactividad del OH^{\bullet} hacia la desoxirribosa varía considerablemente, siendo los carbonos 4 y 5 los más susceptibles³², la lesión predominantemente observada es el rompimiento de la hebra mediado por hierro y H_2O_2 ³³.

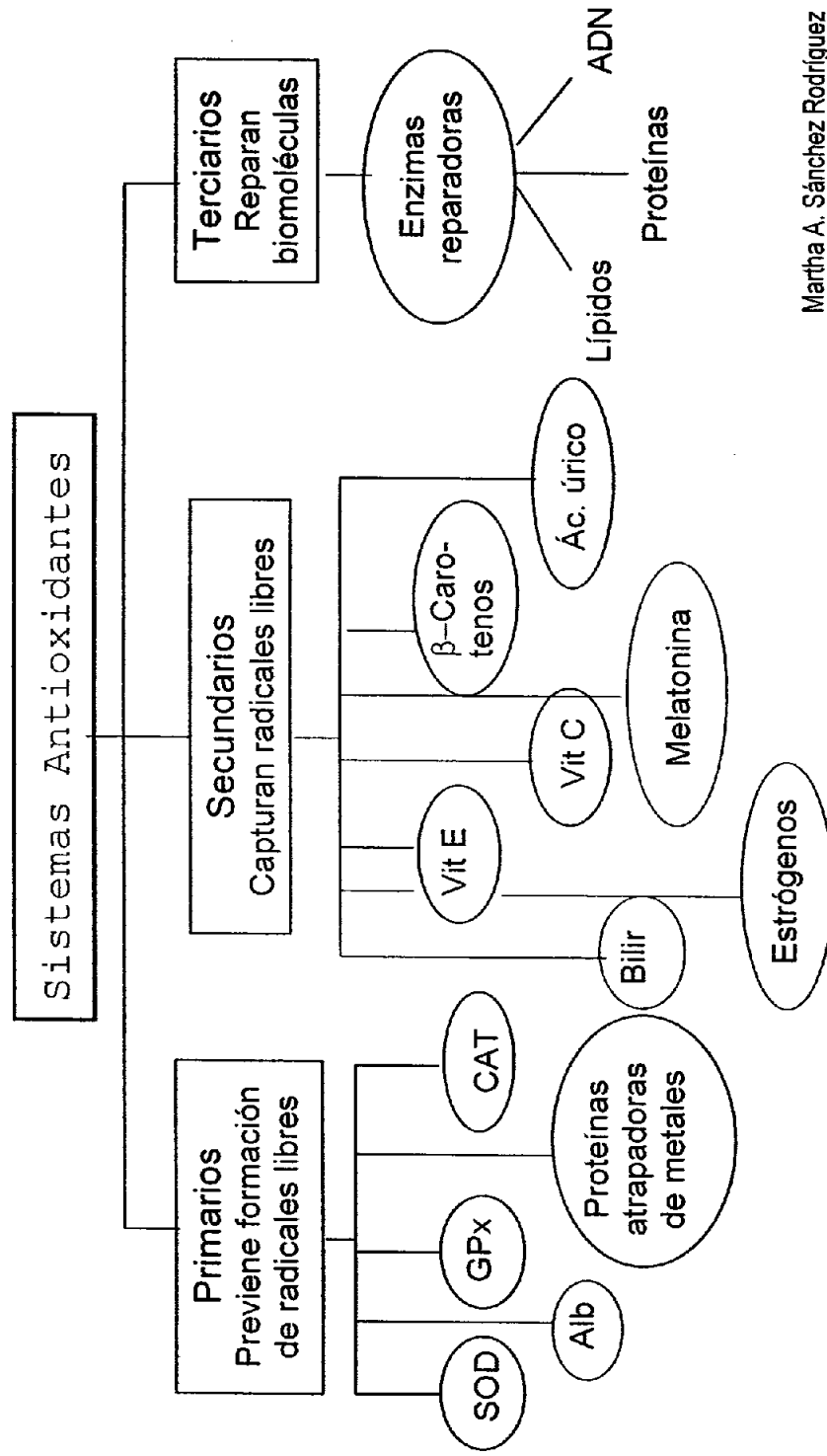
A pesar del posible efecto dañino que tienen las ER, es importante aclarar que son componentes normales de la fisiología celular e incluso tienen un papel fundamental en la homeostasis del organismo, como por ejemplo en los mecanismos inmunológicos, en la regulación del tono vascular y agregación plaquetaria, en la tensión de oxígeno en la ventilación pulmonar, en la producción de eritropoyetina, así como en la señalización de la transducción de receptores de membrana en varios procesos fisiológicos^{22,24}; por lo que debemos tener presente que altas concentraciones de RL, derivados de radicales y especies reactivas no radicales, son peligrosas para la vida de los organismos ya que dañan la mayoría de los constituyentes celulares; no obstante, concentraciones bajas o moderadas de ER, tales como NO^{\bullet} , $O_2^{\bullet-}$ y otras EROs juegan un importante papel en la homeostasis, debido a que protegen a la célula contra el EOx reestableciendo la denominada *homeostasis-redox*^{22,34}.

Para equilibrar la respuesta oxidante, el organismo dispone de una serie de sistemas antioxidantes para contrarrestar la generación de ER. Un antioxidante es una entidad química que a bajas concentraciones retarda o previene la oxidación de un sustrato incluyendo lípidos, proteínas, hidratos de carbono y ADN^{17,35}.

Debido a que el sistema antioxidante constituye uno de los moduladores homeostáticos fundamentales del organismo, se ha clasificado en tres grupos: antioxidantes primarios, secundarios y terciarios (Figura 3). Los antioxidantes primarios son los que previenen la formación de ER evitando así el daño oxidativo y representando el primer nivel de protección. A este grupo pertenecen las llamadas enzimas antioxidantes: catalasa (CAT) (EC 1.11.1.6), superóxido dismutasa (SOD) (EC 1.15.1.1) y glutatión peroxidasa (GPx) (EC 1.11.1.9), así como las proteínas atrapadoras de metales de transición: transferrina, ceruloplasmina, metalotioneínas y albúmina^{35,36}.

El papel de los antioxidantes secundarios es "atrapar" a los RL que se han formado cuando se ha rebasado la primera "barrera", impidiendo así la iniciación de una cadena oxidativa o interrumpiendo su propagación. En este grupo encontramos las vitaminas antioxidantes A, C y E; los componentes plasmáticos bilirrubina, ácido úrico y albúmina, además de la hormona melatonina y los estrógenos³⁶⁻³⁹.

Si los otros dos sistemas antioxidantes no han sido eficientes y las biomoléculas son oxidadas, todas las células tienen una serie de enzimas que conforman los llamados sistemas de reparación o antioxidantes terciarios. Los sistemas de reparación incluyen enzimas encargadas de restaurar directamente las biomoléculas a su conformación nativa, así como enzimas catabólicas que pueden específicamente degradar las moléculas no funcionales, esta degradación puede servir no sólo para removerlas del citosol, sino para rellenar el *pool* de precursores para resíntesis, encontrándose enzimas reparadoras de lípidos (aciltransferasas y fosfolipasas), proteínas (proteinasas, proteasas y peptidasas) y de ADN (exo- y endo-nucleasas, glicosilasas, polimerasas y ligasas)^{37,40}.



Martha A. Sánchez Rodríguez

SOD: superóxido dismutasa; GPx: glutatión peroxidasa; CAT: catalasa; Alb: albúmina; Bilir: bilirrubina

Figura 3. Clasificación de los sistemas antioxidantes.

II.3. Factores pro-oxidantes del estilo de vida

El proceso oxidativo puede ser favorecido o potencializado por diversos productores exógenos como: tabaquismo, ingesta de alcohol, contaminación ambiental, radiación ultravioleta, disminución en las horas de sueño, ejercicio físico extenuante, alimentación inadecuada, estrés psicológico, ingesta crónica de medicamentos y consumo de drogas, además del género masculino, todos generadores de RL y que conforman un estilo de vida; por ello, estos factores son considerados como pro-oxidantes^{2,15,16,22}. Hay evidencias científicas que indican que la vulnerabilidad al EOx se incrementa durante el envejecimiento, favoreciendo la aparición de padecimientos relativos al aumento de las EROs; en este sentido, en 1954 la argentina Rebeca Gerschman⁴¹ señaló por primera vez que los RL eran agentes tóxicos y generadores de enfermedades. Los factores pro-oxidantes más prevalentes durante el envejecimiento son el tabaquismo, ingesta de alcohol, mala alimentación, disminución en las horas de sueño y la ingesta crónica de medicamentos, además del género masculino, por lo que se mencionarán brevemente los mecanismos mediante los cuales generan RL.

El humo del cigarro contiene más de 3800 compuestos, incluyendo potentes carcinógenos, y elevadas cantidades de formadores de RL como la hidroquinona⁴², por lo que cada fumada de cigarro contiene alrededor 100 billones de RL en su fase de alquitrán y 1000 billones de RL en su fase gaseosa, señalándose al tabaquismo como uno de los principales factores de riesgo de EOx por la acción de los radicales OH[•] formados durante la disociación de H₂O₂ por la acción de fumar⁴³.

Respecto a los mecanismos fisiopatológicos del alcohol se ha demostrado que la ingesta aguda y crónica de bebidas alcohólicas incrementa la producción de EROs, propiciando la lipoperoxidación, oxidación de proteínas y del ADN, afectando la estructura y funcionamiento de las células, tejidos, órganos y sistemas⁴⁴; debido, probablemente, a los altos niveles del citocromo P450 (sistema microsomal encargado de la oxidación del etanol) que genera EROs durante el proceso oxidativo. La exposición crónica al etanol produce un incremento en la producción de H₂O₂ que puede reaccionar con iones metálicos, como el Fe, generándose grandes cantidades de OH[•] que oxidan a las biomoléculas⁴⁵.

La desnutrición calórico-proteica, altamente frecuente en los adultos mayores, favorece el EOx, debido al decremento de la reserva proteica y a la concomitante disminución en el consumo de antioxidantes vitamínicos (vitaminas A, C y E) y minerales (selenio, zinc y cobre)^{46,47}. Por otro lado, se ha demostrado que la restricción calórica reduce la generación de EROs y consecuentemente disminuye la lipoperoxidación y daño al ADN, no obstante la desnutrición propicia daño oxidativo al ADN, el cual acelera el acortamiento de los telómeros y consecuentemente limita la división celular^{48,49}.

El sueño es un estado fisiológico activo en el que se llevan a cabo funciones encaminadas a la recuperación y reparación de células, tejidos, órganos y sistemas, de ahí que se ha señalado que durante el sueño se incrementan los niveles séricos de antioxidantes con el fin de eliminar el exceso de RL generados durante el estado de vigilia. También se ha evidenciado que la privación de sueño inducida disminuye los niveles de glutatión en el tálamo e hipotálamo, demostrando el efecto

antioxidante del dormir⁵⁰. Un modelo que podría extrapolarse a lo que ocurre en cierta medida durante el sueño es el estado de hibernación fisiológico de algunos animales, en el que se alcanza el límite del funcionamiento biológico vital bajo, disminuyendo el metabolismo basal a los límites de supervivencia, en cuyo proceso biológico de restricción calórica máxima se ha mostrado un incremento de los niveles de antioxidantes principalmente de ascorbato, ácido úrico y enzimas SOD y GPx^{51,52}.

Con respecto a la ingesta de medicamentos se ha reportado que algunos analgésicos como el ácido acetilsalicílico y el paracetamol administrados a altas dosis incrementa las EROs, aunque también se ha descrito que el paracetamol a dosis bajas tiene un efecto antioxidante^{53,54}, lo cual apoya la propuesta de algunos investigadores respecto a que la función pro-oxidante o antioxidante de algunos compuestos depende de la dosis y el órgano o sistema donde actúan. Otros medicamentos ampliamente estudiados son los anti-neoplásicos, entre los que podemos destacar a la adriamicina o doxorubicina, agente quimioterapéutico contra una gran variedad de cánceres, del cual está plenamente demostrado su efecto pro-oxidante, de ahí que se recomienda su utilización conjunta con antioxidantes vitamínicos o dietéticos⁵⁵.

En la actualidad las evidencias científicas apoyan la propuesta de que el género masculino constituye un factor de riesgo para el EOx, independientemente del estilo de vida social que expone a los hombres a otros factores pro-oxidantes. Hay evidencias que demuestran que la mayor supervivencia de las mujeres podría estar ligada al cromosoma X, ya que se ha señalado que este cromosoma modula la producción de la glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa (G6PDH), la cual es fundamental en la producción de NADPH que mantiene el glutatión en estado reducido⁵⁶. Múltiples estudios reportan un efecto neuro-protector y cardio-protector de los estrógenos, ya que la estructura química del 17- β estradiol, además de ser un esteroide tiene un componente monofenólico similar al que tiene la vitamina E(α -tocoferol)^{57,58}. Por otro lado, en un estudio realizado en tejidos de neonatos humanos se comprobó que las células de las niñas son más resistentes al EOx que las de los niños, debido a una mayor concentración intracelular de glutatión⁵⁹. También se ha reportado que los niveles séricos de la enzima GPx son más altos en las mujeres que en los hombres a partir de los 20 años, mostrando una diferencia estadísticamente significativa en la década de 50 a 59 años⁶⁰, lo cual demuestra la ventaja biológica independientemente de la influencia que tienen los estrógenos antes de la menopausia. Con respecto a los adultos mayores, nuestro grupo de investigación encontró, en la ciudad de México, que los hombres tenían el 64% de daño al ADN en comparación con el 38 % en las mujeres, con una razón de momios (RM) de 2.86 (IC 95%: 1.31-6.32; $p < 0.05$) acompañado de una interacción de niveles bajos de antioxidantes totales con una RM = 2.5 (IC 95%: 1.33-4,68; $p = 0.004$)⁶¹.

Así mismo, el EOx constituye uno de los mecanismos fisiopatológicos más importantes involucrados en la génesis de los padecimientos crónicos degenerativos, como: aterosclerosis, artritis reumatoide, diabetes, cataratas, daño traumático o isquémico al sistema nervioso central, enfermedad de Parkinson, Alzheimer y cáncer^{18,62,63}, padecimientos altamente frecuentes en las etapas tardías de la vida (Figura 4).

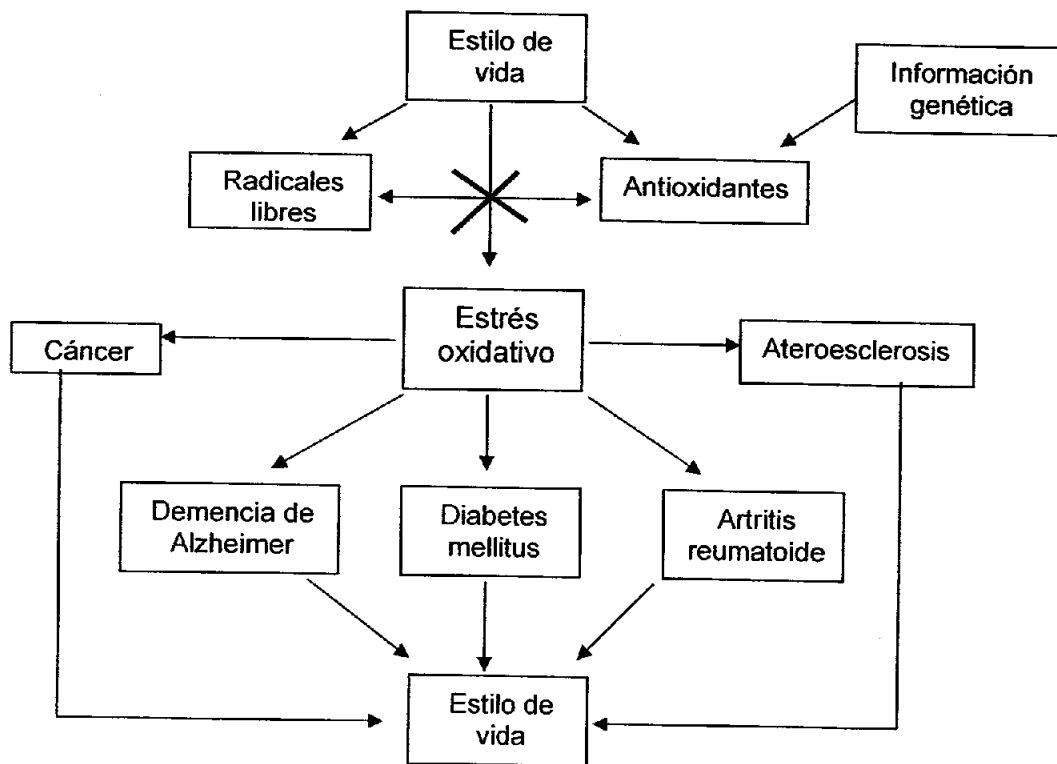


Figura 4. Interrelación entre el estilo de vida, estrés oxidativo y padecimientos crónicos degenerativos.

II.4. Biomarcadores de estrés oxidativo

En general, se define como biomarcador a "la respuesta biológica a compuestos químicos que dan una medida de exposición y, algunas veces, también un efecto tóxico"⁶⁴. De ahí que los biomarcadores reflejan los cambios en los sistemas biológicos que están relacionados a la exposición o efecto de los xenobióticos u otro tipo de factores o materiales tóxicos, por lo que constituyen el peso de una evidencia aproximada, con respecto a si los organismos han estado expuestos y si esa exposición está asociada con un deterioro en la salud. Se subdividen en al menos tres tipos: biomarcadores de exposición, biomarcadores de efecto y biomarcadores de susceptibilidad, siendo utilizados a nivel molecular, celular y fisiológico^{31,64}. Generalmente, es más útil considerar múltiples biomarcadores diseñados para caracterizar la relación entre el factor tóxico, su daño y los efectos adversos en la salud, que tomar en cuenta una sola respuesta⁶⁵.

Un biomarcador de efecto busca una valoración de efectos adversos tempranos o tardíos, provocados por un tóxico u otro factor en los sistemas fisiológicos, órganos u organismos. El primer propósito del uso de un biomarcador de efecto es la vigilancia, que es la identificación de individuos o poblaciones en riesgo de efectos adversos a la salud para tomar medidas preventivas. Un biomarcador de efecto ideal tiene al menos las siguientes características: a) alta especificidad para el efecto de interés, b) detección de un efecto temprano, c) análisis fácil y no costoso, d) técnicas de muestreo no invasivas, e) bajo nivel

antecedente del biomarcador en el fluido biológico de interés, f) una relación bien establecida entre la respuesta del biomarcador y la exposición, y, g) una relación bien establecida entre la respuesta del biomarcador y la inducción del daño³¹.

Una variedad de indicadores han sido desarrollados para determinar el daño mediado por ER o la generación de RL *in vivo*, de ahí que los biomarcadores del EOx integran el efecto de la exposición a oxidantes acoplado con los mecanismos protectores antioxidantes *in vivo*. Los biomarcadores que han sido estudiados incluyen las mediciones de lípidos, proteínas y ADN oxidados, cuyas metodologías han sido aplicadas a la investigación epidemiológica^{66,67}.

La peroxidación lipídica es probablemente el proceso inducido por RL más extensamente investigado. Los lipoperóxidos son compuestos inestables que tienden a degradarse rápidamente en una variedad de productos, que incluyen: dienos conjugados, alcanos (etano y pentano), productos aldehídicos (malondialdehído, n-aldehídos y aldehídos α,β -insaturados) e isoprostanos^{31,68}, aunque también pueden medirse directamente los hidroperóxidos⁶⁹.

Los productos de oxidación de proteínas y derivados carbonilados de éstas pueden resultar de modificaciones oxidativas en los aminoácidos terminales, desdoblamiento de péptidos mediados por EROs y reacciones secundarias entre los aminoácidos terminales y los lipoperóxidos. Se han desarrollado varios métodos analíticos para la medición de proteínas carboniladas en tejidos, pero estos compuestos son muy lábiles, dificultando los procedimientos, de tal manera que se ha argumentado que otras modificaciones de las proteínas, tales como la hidroxilación aromática de fenilalanina y la conversión de tirosina a di-tirosina y nitro-tirosina, son mejores marcadores del estrés oxidativo^{31,70}.

Las EROs pueden producir entrecruzamientos proteínas-ADN, daño a la estructura fosfato-desoxirribosa y modificaciones específicas a las bases púricas y pirimidínicas. La modificación a las bases puede producir mutaciones, mientras que la oxidación en la desoxirribosa puede inducir la liberación de bases o el rompimiento de la hebra del ADN. Así mismo, los OH[•] generan múltiples productos de las cuatro bases: 5-hidroxi-metil-uracilo, 8-hidroxiadenina, timidina glicol, 8-hidroxi-guanosina (8OHG) y su nucleótido 8-hidroxi-2'-desoxi-guanosina (8OHdG), siendo esta última medición la más ampliamente utilizada para valorar el daño oxidativo al ADN^{31,71}.

También se ha propuesto la llamada capacidad antioxidante total que considera la acción acumulativa de todos los antioxidantes presentes en el plasma y los fluidos corporales, siendo un parámetro integrado, más bien que una simple suma de antioxidantes medidos⁷². Los métodos desarrollados para medir la capacidad antioxidante total de las muestras biológicas valoran la habilidad de compuestos donantes de un H⁺ o electrón para oxidar las especies introducidas en el sistema de ensayo, por lo que son clasificados como métodos de inhibición o indirectos del poder antioxidante total^{73,74}. Aunque se han desarrollado un buen número de metodologías, la cuantificación de la capacidad antioxidante permanece como problemática.

Otro marcador biológico utilizado es el seguimiento de la actividad de las enzimas antioxidantes SOD, GPx y CAT. Para la SOD se emplea con mayor frecuencia un método indirecto, en este método se genera $O_2^{\cdot -}$ con la enzima xantina oxidasa (XO) a partir del sustrato xantina y la SOD compete con un colorante indicador (INT) por el $O_2^{\cdot -}$. La acción de la GPx puede ser valorada de diferentes maneras, ya sea midiendo la liberación de glutatión (GSSG) o por acción de la enzima en un hidroperóxido orgánico en presencia de H_2O_2 . En el caso de la actividad de la CAT se sigue la reacción de descomposición del H_2O_2 , por la pérdida de la absorción a 240 nm, o por la medición de la liberación de O_2 utilizando un electrodo de oxígeno⁷⁵. Así mismo, puede cuantificarse la concentración de vitaminas antioxidantes A y E, simultáneamente, por HPLC utilizando un detector de absorción ultravioleta-visible, permitiendo un análisis rápido y fácil⁷⁶; y la vitamina C por una variedad de métodos que incluyen una serie de reacciones: oxidación del ascorbato a ácido deshidroascórbico, reducción del ácido deshidroascórbico a ascorbato o absorción ultravioleta (UV) del ascorbato o ácido deshidroascórbico; siendo el método de elección el HPLC por ser más preciso y exacto⁷⁷.

La medición de la concentración de los minerales que forman parte de la estructura de las enzimas antioxidantes como son el selenio y el zinc, también han sido empleados como biomarcadores de EOX, siendo cuantificados a través de absorción atómica⁷⁸.

II.5. Estrés oxidativo y envejecimiento

Hasta el momento, hay suficiente evidencia que demuestra que el estrés oxidativo se incrementa con la edad, por ejemplo, Mecocci y cols. (1999)⁷⁹ reportan que hay un incremento en el daño oxidativo a lípidos, proteínas y ADN dependiente de la edad en el músculo esquelético humano y Muchová y cols. (2001)⁸⁰ encontraron en pacientes con síndrome de Down, un modelo de envejecimiento acelerado, como consecuencia del desbalance oxidativo.

En este sentido, Toussaint y cols. (1998)⁶² proponen que existe una relación recíproca entre el estrés no letal y el envejecimiento celular. El estrés genera daño que puede ser responsable del envejecimiento acelerado. Los sistemas de defensa y de reparación, en respuesta al estrés oxidativo, son un esfuerzo de protección para el organismo. Con el envejecimiento, la acumulación de daño puede dejar primero una disminución en la inducción o en el nivel constitutivo de defensas y, por lo tanto, una desorganización de los sistemas de defensa, por lo que, la estimulación del metabolismo energético y de los sistemas de defensa-reparación pueden prolongar los efectos en la vida.

Por otro lado, es bien conocido que el envejecimiento se asocia con un decremento sustancial en la actividad de numerosas enzimas y que muchas de ellas han sido oxidadas, produciéndose una actividad reducida o inactivación completa; además existe un aumento en la cantidad de proteínas carboniladas formadas por reacciones secundarias de los aminoácidos terminales de las proteínas con productos de la peroxidación lipídica o con productos de oxidación de glucosa (glucosilación)⁷⁰.

El ADN genómico también es continuamente dañado por el metabolismo oxidativo y los sistemas de reparación de esta biomolécula disminuyen con la edad⁸¹. Varias líneas de evidencia indican que los telómeros comprenden un mecanismo de control de la senescencia, ya que existe una oxidación en los residuos de guanina del ADN⁸² y rompimiento de la doble hélice que inducen su acortamiento y, por tanto, el envejecimiento celular⁸¹. Las evidencias indican que hay una correlación entre las deficiencias en la reparación del ADN, la longevidad y la funcionalidad celular^{83,84}, por lo que el síndrome de fragilidad geriátrica (disminución de la reserva homeostática), podría ser consecuencia del daño permanente al ADN debido a déficits en los mecanismos de reparación⁸⁵.

Por otro lado, aunque las evidencias científicas han demostrado que conforme aumenta la edad se incrementa el daño oxidativo y disminuyen los niveles de antioxidantes, en el caso de los adultos mayores sanos, a partir de la octava década y sobre todo en el grupo de los centenarios, se observa una disminución en el daño oxidativo acompañado de un incremento en la concentración de enzimas antioxidantes^{86,87}, de ahí que los senectos sanos, mayores de 80 años, son estudiados bajo la orientación teórica del envejecimiento exitoso⁸⁸. También se ha demostrado que la asociación daño al ADN-envejecimiento no es una característica del senecto^{61,89,90} y que los centenarios sanos muestran un perfil particular en los antioxidantes plasmáticos, principalmente un incremento de las vitaminas A y E que pueden ser una garantía para su extrema longevidad⁷⁹. Así mismo, Kagawa (1978)⁹¹ reportó que en la isla de Okinawa en Japón se concentra el mayor porcentaje de centenarios del país, y que en dicha región la población consume entre un 20 y 40% menos calorías que el promedio nacional, por lo que los factores ambientales y culturales pueden tener una influencia significativa en la longevidad.

Es por esto que la manera como el anciano estructura su vejez y la forma como percibe sus necesidades de salud en esta etapa son elementos a tener en cuenta si se quiere comprender el proceso de envejecimiento y, finalmente, lograr un envejecimiento exitoso.

II.6. Ecología y envejecimiento

La Ecología estudia la interacción de los organismos entre sí y con su ambiente. En este sentido, el ambiente o medio ambiente es un término que incluye todas las condiciones y factores externos que afectan a cualquier organismo o forma de vida⁹². Desde 1962 se desarrolla, a nivel mundial, una serie de investigaciones sobre ecología humana en diversos ecosistemas enmarcadas en el Programa Internacional Biológico (IBP del inglés *International Biological Program*). Parte de este programa se relacionaba con la adaptabilidad humana desde el punto de vista evolucionista, fisiológico, morfológico y genético, requiriendo que las poblaciones sean investigadas como entidades funcionales que interactúan con una gran variedad de hábitats y por lo tanto, ser entendidas en términos adaptativos y selectivos⁹³. En la actualidad, la ecología ha retomado su jerarquía en la historia natural, enfatizando la importancia de la integridad de los ecosistemas en la consideración de las interacciones humanas con el ambiente⁹⁴.

El crecimiento de la población humana ha provocado un desequilibrio ecológico, tanto regional como global⁹⁵. A su vez, la población mundial está envejeciendo como resultado de dos factores: el declive de la fertilidad y el incremento en la esperanza de vida; por lo que el mundo está experimentando una gradual transición demográfica de patrones de alta fertilidad y alta mortalidad a una baja fertilidad y retardo de la mortalidad, con el consecuente incremento en la proporción de adultos mayores con respecto a los jóvenes. De igual manera, mundialmente se está dando la llamada transición epidemiológica, en donde hay un cambio en las causas de muerte pasando de enfermedades infecto-contagiosas a crónico-degenerativas por el incremento de adultos mayores e impactando en la ecología⁹⁶. Todas las poblaciones son limitadas en su desarrollo por la sustentabilidad dependiente del ambiente, ya que proveen de alimentación y energía, y la extensión de la contaminación por el uso que de esas fuentes se produce y que se revierte sobre la población como una fuente de estrés.

El estrés físico y psicológico ha sido estudiado en poblaciones humanas en una amplia variedad de hábitats, intentando de esta manera descubrir cómo la variación en la constitución genética y la exposición a un ambiente determinado por largo tiempo, impone limitaciones y modificaciones de respuesta fenotípica y de comportamiento, lo que llevaría a determinar si las poblaciones con diferente constitución genética responden de igual manera a condiciones ecológicas similares⁹³.

Los biodemógrafos, demógrafos y epidemiólogos han identificado y verificado la importancia demográfica de las fuentes de variación individual (heterogeneidad) como: educación, estilo de vida, ingresos económicos y ocupación. Cuando se combinan con una extensiva variación biológica, estas fuentes de heterogeneidad tienen un potencial que ejerce una profunda influencia en la mortalidad diferencial de los individuos y las características biodemográficas de las poblaciones a las que pertenecen. Los longevos poseen características fisiológicas y psicológicas que los distinguen de los que mueren en edades más jóvenes, y es lo que los gerontólogos han diferenciado como envejecimiento exitoso. Algunos investigadores han sugerido que los genes son, probablemente, los que juegan un papel importante en el proceso de envejecimiento y en el envejecimiento exitoso, en particular, mientras que otros argumentan que los estilos de vida seleccionados son más importantes para el envejecimiento exitoso que la herencia⁹⁷.

Los estudios de la ecología y su relación con el envejecimiento comenzaron hacia finales de los años 60's, haciendo énfasis en la interrelación del ambiente con parámetros biológicos, sociales, económicos y de atención médica⁹⁸⁻¹⁰³. En este sentido se destaca la propuesta de dos modelos ecológicos de envejecimiento enfocados al comportamiento humano y la sensación subjetiva del bienestar, como un reflejo de la interacción social entre el individuo y su ambiente¹⁰⁴:

1. Modelo ecológico de envejecimiento de Lawton y Nahemow (1973) que caracteriza a los individuos como poseedores de varios grados de competencia en 4 esferas: 1) salud biológica (cantidad y severidad de condiciones médicas crónicas); 2) funcionalidad senso-motora (habilidad para llevar a cabo actividades de la vida diaria); 3) destreza cognitiva (habilidad para resolver problemas); y 4) fuerza del ego (autoestima).

2. Modelo ecológico urbano del envejecimiento que incorpora las 4 esferas de Lawton-Nahemow y corrige las limitaciones del modelo que: 1) incluye el ambiente suprapersonal y características físicas del vecindario; 2) da mayor especificidad al dominio del ambiente suprapersonal de la vecindad urbana; 3) estandariza los componentes conmesurados objetivos y percibidos para el ambiente suprapersonal.

Se ha sugerido que la aplicación del modelo ecológico urbano en las investigaciones del bienestar subjetivo de los adultos mayores en cuanto a su entorno, reduce la varianza inexplicada por el control de los efectos del ambiente suprapersonal a través de una variedad de lugares (comunidades urbanas, rurales o suburbanas)¹⁰⁴.

Con respecto a la cuestión biológica, las investigaciones se han enfocado a la adaptabilidad y al efecto de la contaminación ambiental. Para algunos autores, el envejecimiento representa una inadaptación, un declive en la habilidad para adaptarse al estrés ambiental; pero otros consideran que en el proceso de envejecimiento hay algunos ajustes psicológicos y fisiológicos que habilitan a la gente mayor para hacer frente a la regresión funcional. Aunque los niveles de equilibrio psicológico pueden no cambiar durante el envejecimiento, hay evidencia de un incremento en la inercia de los sistemas controlados, por lo que el organismo envejecido debe cambiar a una estrategia adaptativa⁹³.

El ambiente urbano es considerado como un factor pro-oxidante, promotor del envejecimiento y de las enfermedades crónico-degenerativas, debido a la presencia de cambios en la reserva de energía corporal por los patrones de actividad urbana y las dietas, el estrés psicológico, los gradientes sociales, el acentuado contacto entre grupos sociales que producen un aumento en la transmisión y evolución de enfermedades infecciosas y el incremento en la contaminación por efecto de la industria y el transporte¹⁰⁵.

Desde el punto de vista demográfico se define como área urbana a una ciudad con población >15000 habitantes,¹⁰⁶ no obstante esta definición no describe las características de infraestructura urbana, estilo de vida, grado de industrialización, tráfico vehicular y contaminación ambiental que muchas de las ciudades urbanas modernas presentan y que pueden influir en el proceso y tipo de envejecimiento de sus habitantes, de ahí que lo más adecuado sea describir las características de la población independientemente del criterio demográfico.

Por otro lado, la urbanización de un país es el porcentaje de la población que vive en un área urbana y el crecimiento urbano es la tasa de aumento de las poblaciones urbanas. Se conoce que las poblaciones urbanas crecen por aumento de la natalidad (más nacimientos que muertes) y por inmigración, además, de que la mayoría de las ciudades modernas utiliza recursos en forma ineficiente, desperdiciando más energía de la necesaria y produciendo contaminación del aire y del agua, así como desechos sólidos y peligrosos. De acuerdo con un modelo simple, la degradación del ambiente total y la contaminación (impacto ambiental de la población) en un área dada, depende de tres factores: el número de personas, número promedio de unidades de los recursos que cada persona emplea y el grado de degradación, y contaminación ambiental generados cuando se produce y usa

cada unidad de recursos⁹⁵. Por el contrario, las poblaciones rurales se caracterizan por emigración continua de los jóvenes y actividades económicas como agricultura, administración de granjas, comercio y artesanías, entre otras¹⁰⁶.

En la 2ª Conferencia Europea de Ambiente y Salud llevada a cabo en Helsinki en junio de 1994, se consideró que la salud urbana era un tema prioritario debido a la rápida urbanización y el incremento en el número de problemas ambientales, económicos y sociales, que impactan negativamente en la salud y bienestar de las ciudades¹⁰⁷. En este sentido, desde el punto de vista epidemiológico y antropológico, se prefiere estudiar los rasgos urbanos, puesto que se involucra el análisis y la medición de factores individuales que representan las dimensiones del urbanismo como: niveles de estrés, patrones de actividad, contaminantes específicos, etc., lo que hace que las investigaciones sean replicables y generalizables¹⁰⁵.

Uno de los problemas principales en las grandes urbes es la contaminación ambiental que surge cuando se produce un desequilibrio ambiental por la presencia en exceso, cuantitativa o cualitativa, de materia o energía¹⁰⁸. Diversos estudios han demostrado que los individuos más susceptibles al efecto dañino de la contaminación ambiental son los adultos mayores y los sujetos que tienen una enfermedad cardiovascular crónica o alguna condición que involucra la funcionalidad pulmonar, además de los niños¹⁰⁹⁻¹¹¹.

Los contaminantes individuales del aire pueden ejercer sus propios efectos tóxicos en los sistemas cardiovascular y respiratorio, el ozono (O₃), dióxido de nitrógeno (NO₂) y material particulado o partículas en suspensión (PM) comparten la propiedad común de ser potentes oxidantes, cada uno directamente a través de reacciones en los lípidos, proteínas y ADN, o indirectamente por la activación de vías intracelulares oxidantes¹¹². Las partículas ambientales del aire contaminado son medidas por una convención de muestreo global llamado PM₁₀ que mide la masa de partículas colectadas con un 50% de eficiencia para partículas aerodinámicas con diámetro de 10 µm, aunque hay unas más pequeñas^{111,112}. Se denomina fracción gruesa a las partículas suspendidas con un diámetro menor a 10 µm pero mayor a 2.5 µm (PM_{10-2.5}) cuyos componentes provienen de fuentes naturales como material geogénico y material biológico¹¹³. Las partículas ultrafinas (Uf) miden menos de 100 nm de diámetro y son producto de la combustión, condensación de especies volátiles y conversión gas-partícula¹¹⁴.

La exposición a varios contaminantes ambientales tales como O₃, NO₂ y PM, pueden inducir inflamación pulmonar acompañada de la liberación de niveles incrementados de mediadores inflamatorios como la prostaglandina E₂ (PGE₂), factor activador de plaquetas, citocinas, histamina, proteínas secretadas por los eosinófilos, proteasas, etc., e infiltración de leucocitos polimorfonucleares (PMN) y eosinófilos¹¹⁵. A nivel cardiovascular, la inhalación de PM_{2.5} y O₃ por corto tiempo produce vasoconstricción por alteraciones en el tono y la reactividad arterial¹¹⁶, así como el aumento de los niveles de PM_{2.5} se asocia con alteraciones pro-arrítmicas en el tono autonómico cardíaco, incremento de la presión sanguínea y aumento de la concentración de proteína C reactiva inducidos por el proceso inflamatorio pulmonar^{117,118}.

Aunque es evidente que existe una asociación (demostrada en diversos estudios epidemiológicos) entre el incremento de los contaminantes ambientales y diversos efectos adversos en la salud a corto y largo plazo^{109,110,114}, en realidad, la determinación de una exposición individual a los contaminantes del aire es dependiente de los patrones de actividad del individuo, lo cual está reflejado en el consumo de tiempo en diferentes microambientes (el domicilio, los vehículos, el ambiente urbano)¹²¹, es por ello que recientemente se ha estipulado que no es posible generalizar debido a que hay diferentes componentes en el aire contaminado a los cuales un individuo puede ser susceptible, además de haber una diferencia en la composición del aire exterior (la calle) e interior (domicilio, lugares de trabajo, etc.), conformándose los llamados microambientes¹¹⁹⁻¹²¹; definiéndose como microambiente el compartimiento físico o espacio definido con concentraciones de aire contaminado relativamente homogéneo¹²¹.

Con respecto al impacto de la contaminación en los adultos mayores, los estudios se han enfocado a determinar el efecto de los contaminantes en la mortalidad general y la morbi-mortalidad causa-específica por problemas pulmonares y cardiovasculares. En un metanálisis, en donde se incluyeron las principales investigaciones de series de tiempo de la variación diaria concomitante entre la calidad del aire y el número de muertes diarias durante los años 80 y 90 en América, Europa, Asia y Oceanía, llevado a cabo por Rosales-Castillo y cols. (2001)¹²² se reporta que la mortalidad general en los > 65 años incrementa 1.18%/10 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (IC_{95%} 0.66–1.57%) de PM₁₀ y 0.07%/0.01 ppm (IC_{95%} -2.15–2.29%) de O₃, ajustado por partículas. En México, Borja-Aburto y cols. (1997)¹²³ en un estudio de 1990–1992 reportan un riesgo relativo (RR) de 0.99 (IC_{95%} 0.95–1.04) en la mortalidad diaria asociada al aumento de 0.1 ppm/1 h de O₃ ajustado por temperatura y total de partículas suspendidas; y 1.026 (IC_{95%} 1.00–1.05) por 0.1 ppm de O₃ acumulado durante 3 días.

En cuanto a la morbilidad, la admisión hospitalaria derivada de la exposición a una contingencia ambiental se incrementa principalmente por problemas pulmonares y cardiovasculares; al respecto, Zanobetti y cols. (2000)¹²⁴ en Chicago observaron un incremento de 1.89%/10 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (0.8–3.0%) de PM₁₀ para enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), indicando que si pre-existe una enfermedad cardiovascular se aumenta sustancialmente el riesgo de admisiones respiratorias asociadas con las partículas ambientales. Por otro lado, Lerman y cols. (1998)¹²⁵ encontraron una prevalencia de diabetes mellitus más alta en ancianos con residencia en el área urbana (ciudad de México) en comparación con un grupo del área rural.

También se ha estudiado el impacto del urbanismo en la satisfacción de la vida de los adultos mayores, ya que algunos autores refieren que los senectos que habitan en áreas rurales expresan tener una gran satisfacción, observándose un efecto indirecto del urbanismo en la insatisfacción por la vida¹²⁶. En otra investigación de la influencia de factores sociales en un grupo de adultos mayores indigentes, se identificaron como aspectos dañinos del ambiente urbano: la distribución espacio-temporal, los factores del ambiente natural (temperatura, patrones de luz-obscuridad) y los factores del ambiente creados por el humano (tráfico y crímenes), además de patrones de comportamiento, como el abuso de

alcohol¹²⁷. Por lo que podemos decir que la esfera psico-social también se altera en los adultos mayores por la urbanidad.

Finalmente es importante resaltar la influencia del urbanismo sobre la funcionalidad física, psicológica y social de los adultos mayores, ya que un anciano funcional en el área rural puede presentar limitaciones funcionales en el área urbana, así mismo un adulto mayor con limitaciones funcionales en el área urbana puede ser totalmente funcional en el área rural, de ahí que el urbanismo sea un tópico de estudio de gran relevancia para la Gerontología social¹²⁸.

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los factores psicosociales que conforman un estilo de vida pueden actuar solos o combinados ejerciendo diferentes efectos en el transcurso de la misma, afectando la salud si estos comportamientos son adversos, como: fumar, ingerir alcohol, dieta deficiente, inactividad física y el lugar de residencia, prediciendo la habilidad de los adultos mayores para vivir independientemente en comunidad. Estos mismos factores se han relacionado con la producción en exceso de moléculas reactivas y/o la deficiencia en los sistemas antioxidantes, que aunados al proceso de envejecimiento, pueden llevar a cambios fisiopatológicos en los adultos mayores que los conducen a un estado de fragilidad.

Los ancianos de la ciudad de México están expuestos a mayor número de factores de riesgo pro-oxidantes en comparación con los que radican en ciudades menos urbanizadas o rurales del país, debido al estilo de vida agitado y a la contaminación ambiental que caracteriza a esta ciudad, esta posible relación ha sido abordada parcialmente en diferentes estudios, sin embargo, sólo se analiza el estrés oxidativo o únicamente el efecto del estilo de vida durante el envejecimiento para producir enfermedad o fragilidad, por lo que es necesario integrar los aspectos conductuales con los bioquímicos celulares, considerando al ser humano más holísticamente, de ahí que surgen las siguientes preguntas de investigación:

- ¿Los adultos mayores de la ciudad de México, sometidos a un mayor número de factores pro-oxidantes, presentan mayor estrés oxidativo y mayor frecuencia de padecimientos crónicos degenerativos, que los residentes de un área rural?
- ¿Existe asociación entre el grado de estrés oxidativo con el número de enfermedades y limitaciones en la funcionalidad física y cognitiva en los adultos mayores?
- ¿La residencia en el área urbana (ciudad de México) constituye un factor de riesgo para el estrés oxidativo en los adultos mayores?

IV. HIPÓTESIS

Considerando que la contaminación ambiental y el estilo de vida caracterizado por: tabaquismo, ingesta de alcohol, sedentarismo, pocas horas de sueño y obesidad, son factores pro-oxidantes, suponemos que los ancianos con residencia en la ciudad de México tendrán mayor estrés oxidativo y mayor frecuencia de padecimientos crónicos degenerativos que los ancianos con residencia en el área rural.

Tomando en cuenta la asociación de la producción excesiva de los radicales libres con la fisiopatología de los padecimientos crónicos degenerativos, suponemos que el grado de estrés oxidativo se asociará con el número y/o gravedad de la patología y el estado de salud de los ancianos en estudio.

Con fundamento en las evidencias científicas respecto a que la contaminación ambiental y el estilo de vida agitado de la ciudad de México incrementan el estrés oxidativo, suponemos que el lugar de residencia urbano constituye un factor de riesgo para niveles de lipoperóxidos plasmáticos altos con mayor predominio en los adultos mayores.

V. OBJETIVOS

General

Evaluar el estrés oxidativo en adultos mayores de un área rural y otra urbana y su relación con las enfermedades crónicas degenerativas características de esa edad.

Determinar si la contaminación ambiental de la ciudad de México es un factor pro-oxidante para sus residentes.

Particulares

- Comparar algunos marcadores relevantes de estrés oxidativo de adultos mayores residentes de la ciudad de México y de Actopan, Hgo. con un grupo de adultos jóvenes sin factores pro-oxidantes residentes del área rural y otro de residentes del área urbana.
- Comparar la frecuencia de estrés oxidativo y padecimientos crónicos degenerativos (diabetes mellitus e hipertensión arterial) en adultos mayores residentes de la ciudad de México y de Actopan, Hgo.
- Determinar la asociación entre los factores pro-oxidantes: edad, sexo, tabaquismo activo, ingesta de alcohol, inactividad física, obesidad, horas de sueño y niveles de glucosa con los marcadores de estrés oxidativo.
- Determinar la asociación entre los factores pro-oxidantes y el estado de salud de los adultos mayores.

VI. MATERIAL Y MÉTODOS

VI.1. Diseño de Investigación: Se llevó a cabo un estudio de tipo transversal analítico en una población de 200 adultos mayores de 60–80 años en una selección por cuotas, 112 con residencia en la ciudad de México con un promedio de estancia de 33.3 ± 17.9 años (edad 66.8 ± 6.4 años) y 88 de Actopan, Hgo. con promedio de residencia de 42.2 ± 22.6 años (edad 70.8 ± 8.4 años). Se incluyeron dos grupos de adultos jóvenes (25–45 años): 38 de la ciudad de México (edad 34 ± 6.2 años) y 37 de Actopan, Hgo. (edad 33 ± 6.4 años).

VI.2. Caracterización de las poblaciones

- Actopan, Hgo.:

Es un poblado perteneciente al valle de Mezquital, región situada en el occidente del estado, localizada al este del mismo¹²⁹. Se encuentra a 130 kilómetros al norte de la ciudad de México y es una de las poblaciones de mayor importancia en el estado de Hidalgo a 2,069 metros sobre el nivel del mar, con un clima templado seco y lluvias en verano. El municipio tiene una extensión de 280.10 km² y es la única ciudad hidalguense que se comunica con Pachuca, la capital del Estado, por una supercarretera¹³⁰. De acuerdo al monitoreo ambiental, tiene un promedio anual de 0.070 ± 0.010 ppm de ozono y 104 ± 47 µg/m³ de PM₁₀¹³¹. Una buena proporción de los pobladores tienen origen otomí o hñāhñü, por lo que sus principales actividades económicas son la agricultura y las artesanías, siendo el cultivo más importante el maguey, aunque también se produce: maíz, frijol, nopal, calabaza y garbanzo, que constituyen la base de su alimentación^{132,133}.

- Ciudad de México:

Capital del país que limita al norte, oeste y este con el estado de México y al sur con el estado de Morelos y representa el 1% de la superficie del país. Su relieve está conformado por una mitad norte plana, con una altitud superior a 2.200 m interrumpida por pequeñas elevaciones. Posee un clima templado semiseco en el noreste y templado subhúmedo en el centro y sur^{134,135}. El reporte de la red de monitoreo ambiental indica un promedio anual de 0.155 ± 0.46 ppm de ozono y 122 ± 27 µg/m³ de PM₁₀¹³¹. Es el principal centro industrial, comercial, de comunicaciones y transportes, demográfico, administrativo y cultural del país. Su industria está altamente diversificada y desarrollada. Son de primer orden las ramas metálica y sus productos derivados, el ensamblado de autos, así como las industrias de productos químicos, alimenticios, textiles, petrolíferos y eléctricos. En tan sólo el 1% del territorio se concentra aproximadamente el 20% de la población nacional (lo que supone una densidad de población de 5.494 hab/km²) y el 50% de la actividad industrial¹³⁵.

VI.3. Criterios de selección:

- Grupo de residencia urbana:
 - Inclusión:
 - Clínicamente sanos no importando el sexo.
 - Para el caso de los adultos mayores con enfermedades, que estén controlados bajo tratamiento médico sin descompensación en los últimos 6 meses.
 - Con residencia en la ciudad de México por más de cinco años.
 - Sin ingesta de antioxidantes: vitaminas A, C y/o E, y/o melatonina.
 - Exclusión:
 - Sujetos que no deseen participar en la investigación.
 - Sujetos que presenten cualquier tipo de cáncer y/o padecimientos psiquiátricos y/o padecimientos afectivos severos.
 - En el caso de los adultos, exposición a factores pro-oxidantes: tabaco, alcohol, sedentarismo, polifarmacia, obesidad e insomnio.
- Grupo de residencia rural:
 - Inclusión:
 - Clínicamente sanos no importando el sexo.
 - En el caso de los adultos mayores con enfermedades, que estén controlados bajo tratamiento médico sin descompensación en los últimos 6 meses.
 - Con residencia en Actopan, Hgo. por más de cinco años.
 - Sin ingesta de antioxidantes: vitaminas A, C y/o E, y/o melatonina.
 - Exclusión:
 - Sujetos que no deseen participar en la investigación.
 - Sujetos que presenten cualquier tipo de cáncer y/o padecimientos cardiovasculares y/o diabetes mellitus descompensada.
 - En el caso de los adultos, exposición a factores pro-oxidantes: tabaco, alcohol, sedentarismo, polifarmacia, obesidad e insomnio.

VI.4. Variables:

- VI.4.1. *Dependiente*: Estrés oxidativo.

Definición conceptual: Desequilibrio bioquímico producido por las especies reactivas, medido a través de los niveles de lipoperóxidos séricos, y los sistemas antioxidantes (enzimas antioxidantes SOD y GPx y capacidad sérica antioxidante total y antioxidantes no medidos)¹³⁶.

Definición operacional: Niveles de lipoperóxidos séricos, actividad de las enzimas antioxidantes SOD y GPx en eritrocitos, capacidad sérica antioxidante total y

antioxidantes no medidos, en una muestra sanguínea tomada con ayuno de 8 horas entre 7 – 9 am.

Niveles de medición: Todas las mediciones serán consideradas en dos niveles de medición:

- Escala de medición cuantitativa, obteniéndose los valores cuantitativos de cada una de las determinaciones descritas.
- Escala de medición cualitativa, considerándose positivo cuando los niveles de lipoperóxidos séricos son altos ($\geq 0.340 \mu\text{mol/L}$) y se tiene alguna deficiencia en el sistema antioxidante: deficiencia antioxidante enzimática (DAEN) si la razón SOD/GPx ≥ 0.023 y la defensa exógena se encuentra de acuerdo a los valores de corte (AT $\geq 0.90 \text{ mmol/L}$ y GAP $\geq 190 \mu\text{mol/L}$); deficiencia antioxidante exógena (DAEX) si los AT y GAP están disminuidos y la razón SOD/GPx por debajo del valor de corte; y, finalmente, deficiencia global del sistema antioxidante (DGSA) si los componentes de ambas partes se encuentran fuera de lo estipulado como valores de corte.

Los límites para definir estrés oxidativo se establecieron con los valores de corte del percentil 90, siguiendo el método de valores de referencia no paramétrico¹³⁷, de un grupo control de adultos jóvenes de Actopan, Hgo. (poblado con baja contaminación ambiental), clínicamente sanos, sin ingesta de complementos antioxidantes, sin exposición a factores pro-oxidantes (tabaquismo, ingesta de alcohol, actividad laboral con exposición a tóxicos), con actividad física moderada (caminata 30 min./día) y que duermen ≥ 6 h/día.:

- LPO $\geq 0.340 \mu\text{mol/L}$
- SOD $\leq 170 \text{ U/L}$
- GPx $\leq 5500 \text{ U/L}$
- AT $\leq 0.90 \text{ mmol/L}$
- SOD/GPx ≥ 0.023
- GAP $\leq 190 \mu\text{mol/L}$

● VI.4.2. *Independientes:*

○ Estado de salud

Definición conceptual: Capacidad funcional para llevar a cabo actividades de la vida diaria que le permiten vivir en comunidad y ausencia o mantenimiento del control de enfermedades crónico degenerativas¹³⁸.

Definición operacional: Capacidad funcional establecida a través de una serie de instrumentos de medición estandarizados y aplicados a los adultos mayores por personal capacitado, además del establecimiento de la severidad de enfermedades

crónicas, si las hubiera, relacionadas con el estrés oxidativo: diabetes mellitus e hipertensión arterial.

Niveles de medición: Escala de medición cualitativa con dos niveles:

- Pro-oxidantes si presenta alguno de los siguientes puntos:

a) Funcionalidad física establecida a través de los instrumentos:

- Escala funcional de salud de Rosow y Breslau, si es incapaz de realizar un trabajo pesado, caminar un km y subir y bajar escaleras.
- Índice modificado de Katz, si muestra dependencia para realizar actividades básicas de la vida diaria como: bañarse, alimentarse, vestirse, moverse, arreglo personal y caminar en casa.
- Cuestionario de actividades físicas de Nagi, si es incapaz de realizar funciones motoras.
- Actividades instrumentales de la vida diaria de Lawton y Brody, mostrando dependencia en 7 funciones básicas de la vida diaria.

b) Padecimientos crónicos degenerativos relacionados con el estrés oxidativo evaluados por el examen médico y la historia clínica orientada por problemas, clasificada como: enfermedades que causan estrés oxidativo que están provocando problemas moderados, enfermedades que provocan estrés oxidativo y no están controladas. Niveles de glucosa sérica ≥ 140 mg/dL.

c) Deterioro cognitivo establecido con el Mini Examen Mental de Fostein modificado considerándose positivo con una puntuación ≤ 23 .

d) Estado depresivo no patológico evaluado con la Escala de Depresión Geriátrica de Yesavage siendo positiva con una puntuación ≥ 11 .

- No pro-oxidante si presenta alguno de los siguientes puntos:

a) Funcionalidad física determinada a través de los instrumentos:

- Escala funcional de salud de Rosow y Breslau siendo capaz en las tres mediciones de la escala.
- Índice modificado de Katz, mostrando independencia en las actividades básicas de la vida diaria como: bañarse, alimentarse, vestirse, moverse, arreglo personal y caminar en casa.
- Cuestionario de actividades físicas de Nagi mostrando capacidad en las funciones motoras.
- Actividades instrumentales de la vida diaria de Lawton y Brody siendo independiente en 7 funciones básicas de la vida diaria.

b) Padecimientos crónicos degenerativos no relacionados con el estrés oxidativo evaluados por el examen médico y la historia clínica, clasificadas como: ausencia de enfermedad y enfermedades que no causan estrés oxidativo. Niveles séricos de glucosa ≤ 140 mg/dL.

- c) Estado cognitivo normal con una puntuación 24 – 30 en el Mini Examen Mental de Folstein modificado.
- d) Estado afectivo normal con una puntuación 0 – 10 en la Escala de Depresión Geriátrica de Yesavage.

o Estilo de vida

Definición conceptual: Comportamientos que tienen impacto en la salud, que incluye: tabaquismo, ingesta de alcohol, inactividad física, horas de sueño y obesidad.

Definición operacional: Presencia de factores de riesgo pro-oxidantes y la magnitud del factor, establecidos a través de una serie de instrumentos de medición estandarizados y aplicados a los adultos mayores por personal capacitado, clasificados como estilo de vida pro-oxidante y no pro-oxidante.

Niveles de medición: Escala de medición cualitativa con dos niveles:

- Pro-oxidantes si presenta alguno de los siguientes aspectos:

- a) El tabaquismo es positivo por más de 2 años, considerando el número de cigarrillos consumidos en un día.
- b) Ingesta de alcohol positiva por más de 2 años, considerando el número de copas ingeridas a la semana.
- c) Actividad física negativa, cuando se realice menos de 20 min. de actividad física aeróbica 3 veces a la semana¹³⁶.
- d) Dormir ≤ 6 h/ día.
- e) Obesidad se considera cuando el IMC ≥ 27 kg/m².

- No pro-oxidante si presenta alguno de los siguientes aspectos:

- a) El tabaquismo es negativo en los últimos 2 años.
- b) Ingesta de alcohol es negativa en los últimos 2 años o positiva en no más de 1 copa por semana.
- c) Actividad física positiva, realizando más de 20 min. de actividad física aeróbica 3 veces a la semana¹³⁹.
- d) Dormir > 6 h/d.
- e) Peso normal cuando el IMC < 27 kg/m².

o Lugar de residencia

Definición conceptual: Lugar donde han residido los participantes por más de 5 años.

Definición operacional: Área de residencia en el momento del estudio.

Niveles de medición: Escala de medición cualitativa nominal: urbana o rural.

- VI.4.3. *Basales*

- Edad

Definición conceptual: Tiempo cronológico transcurrido desde el nacimiento hasta la captación del senecto en el estudio.

Definición operacional: Edad en años cumplidos al momento de iniciado el estudio.

Niveles de medición: Tipo de escala cuantitativa, escala de medición de razón.

- Sexo

Definición conceptual: Características fenotípicas que distinguen al ser humano (femenino/masculino).

Definición operacional: Características externas que distinguen al sexo femenino del masculino.

Niveles de medición: Tipo de escala nominal, escala de medición dicotómica.

VI.5. *Procedimientos*

VI.5.1. *Descripción general del estudio:*

Como mediciones iniciales se les realizó, a todos los grupos, una historia clínica, exploración física y medidas antropométricas (peso y talla con el cálculo de los índices de masa corporal [IMC] y cintura-cadera [ICC]), y se les tomaron muestras sanguíneas en tubos al vacío con EDTA y heparina como anticoagulantes y sin anticoagulante, entre 7-9 am. con un ayuno de 8 horas y llevándose a cabo las determinaciones de biometría hemática completa, química sanguínea de 4 elementos, colesterol, triglicéridos, HDLc y albúmina, como pruebas de tamizaje clínico. El estrés oxidativo se cuantificó a través de las técnicas de peroxidación lipídica plasmática por el método del malondialdehído (MDA) midiendo TBARS¹⁴⁰; capacidad plasmática de antioxidantes totales y actividad de SOD y GPx en eritrocitos utilizando métodos comerciales (Randox Laboratorios, Ltd), todos en una muestra de sangre heparinizada. Los antioxidantes no medidos fueron calculados a través de la fórmula:

$$AT = ([\text{concentración de albúmina} \times 0.69] + [\text{concentración de ácido úrico}])$$

También se calculó la razón SOD/GPx realizando el cociente entre los valores de actividad enzimática obtenidos en U/L para las mencionadas enzimas y la brecha de antioxidantes (GAP) utilizando la operación¹⁴¹:

$$GAP = [AT - ((\text{albúmina} \times 0.69) + \text{ácido úrico})]$$

Tanto la albúmina como el ácido úrico deben estar expresados como $\mu\text{mol/L}$.

A los adultos mayores se les aplicaron los siguientes instrumentos: Cuestionario de factores de riesgo pro-oxidantes, Escala de Depresión Geriátrica de Yesavage (GDS), Mini Examen Mental de Folstein, Escala Funcional de Rosow y Breslau, Índice de Katz modificado, Cuestionario de Actividades Físicas de Nagi y Actividades Instrumentales de Lawton y Brody en tres sesiones, una para el cuestionario de factores de riesgo y la Escala de Depresión Geriátrica de Yesavage, otra para el Mini Examen Mental de Folstein, y una tercera para los índices de funcionalidad, todos por entrevista abierta.

Los datos de la contaminación atmosférica fueron tomados del informe anual de la Red de Monitoreo Atmosférico, reportándose para la ciudad de México 0.155 ± 0.46 ppm de ozono y para Actopan, Hgo. 0.070 ± 0.010 ppm ($p < 0.0001$); PM_{10} para la ciudad de México $122 \pm 27 \mu\text{g}/\text{m}^3$ y Actopan $104 \pm 47 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ($p = 0.064$)¹³¹.

VI.5.2. Técnicas:

- VI.5.2.1. Lipoperoxidación (Método de ácido tiobarbitúrico [TBARS] modificado)¹⁴⁰

Principio del análisis: El malonildialdehído (MDA), considerado un marcador de lipoperoxidación, reacciona con el ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) formando aductos (TBARS) que se miden espectrofotométricamente a 532 nm. Durante la reacción se incrementan los TBARS por auto-oxidación, agregando butiril-hidroxitolueno (BHT) se reduce la formación de lipoperoxidos *in vitro*.

Método: Preparar una curva de calibración de MDA por hidrólisis de tetrametoxipropano (TMP), a partir de una solución 0.2 mM de TMP, como sigue:

Tubo	MDA $\mu\text{mol/L}$	Solución TMP μL	H_3PO_4 1% mL	TBA 0.6% mL	H_2O mL
Blanco	0	0	3.0	1.0	1.00
1	0.2	5	3.0	1.0	1.00
2	0.4	10	3.0	1.0	0.99
3	0.8	20	3.0	1.0	0.98
4	1.2	30	3.0	1.0	0.97
5	2.0	50	3.0	1.0	0.95
6	2.8	70	3.0	1.0	0.93
7	4.0	100	3.0	1.0	0.90

Poner en un baño de agua a 90°C durante 45 min. en tubos tapados. Enfriar, extraer con 1.0 mL de n-butanol, tomar 500 μL de la fase de butanol y leer a 535 y 572 nm.

Las muestras sanguíneas heparinizadas se centrifugan a 1724.31 g (3000 rpm) durante 5 min., separar el plasma y agregarles 10 μ L de BHT en etanol (5 mmol/L), esto debe hacerse lo más rápido posible después de tomada la muestra.

Colocar 400 μ L de plasma, 50 μ L de BHT (5 mmol/L en etanol) y 400 μ L de ácido ortofosfórico (0.2 mol/L) en un tubo de 12X75 mm y mezclar en vortex durante 10 seg. Adicionar 50 μ L de TBA (0.11 mol/L en NaOH) y mezclar en vortex nuevamente. Colocar los tubos tapados en un baño de agua a 90°C durante 45 min. Después de ese tiempo, enfriar en hielo y extraer las TBARS con 1.0 mL de n-butanol. Centrifugar los tubos a 4789.75 g (5000 rpm) por 1 min. Tomar 600 μ L de la fase de butanol y leer en el espectro a 535 y 572 nm para corregir la absorción de la celda.

Cálculos: Construir una gráfica de absorción vs. concentración de TBARS, utilizando la diferencia de absorción entre las dos longitudes de onda. Interpolar los resultados de los problemas en la gráfica.

- VI.5.2.2. Glutación peroxidasa (Método cinético UV)

Principio del análisis: La glutación peroxidasa (GPx) cataliza la oxidación del glutación (GSH) por el hidroperóxido de cumeno. El glutación oxidado (GSSG) en presencia de glutación reductasa (GR) y NADPH es convertido en su forma reducida con una oxidación concomitante de NADPH en NADP^+ . Se mide la disminución de la absorción a 340 nm.

Método: Diluir 50 μ L de sangre heparinizada con 1.0 mL de solución diluyente, incubar durante 5 min. y añadir 1.0 mL de reactivo de Drabkin a doble concentración mezclando. Las muestras deben ser analizadas en los 20 min. después de la adición del reactivo de Drabkin.

Colocar en un tubo de ensayo de 12X75 mm 20 μ L de la muestra diluida a la cual se le agregan 1.0 mL de reactivo de [GSH (4 mmol/L)/GR (\geq 5 U/L)/NADPH (0.34 mmol/L)] y 40 μ L de hidroperóxido de cumeno (0.18 mmol/L). Mezclar y leer la absorción inicial a 340 nm al cabo de un minuto. Repetir la medición al cabo de 1 y 2 minutos después de la primera lectura. Preparar un tubo blanco con 20 μ L de agua destilada, 1.0 mL de reactivo y 40 μ L de hidroperóxido de cumeno y hacer las mismas mediciones. Restar el valor obtenido para el blanco a la muestra. Obtener el promedio de la diferencia de las absorciones/min. (ΔA)

Cálculos:

$$\text{GPx (U/L hemolisado)} = 8412 \times \Delta A$$

- VI.5.2.3. Superóxido dismutasa (Método cinético colorimétrico)

Principio del análisis: En este método se emplea xantina y xantina oxidasa (XO) para formar radicales superóxido, los cuales reaccionan con cloruro de 2-(4-yodofenil)-3-(4-

nitrofenol)-5-fenil tetrazolio (INT) para formar un colorante formazán rojo. Se mide la actividad de la enzima por el grado de inhibición de esta reacción.

Método: Centrifugar 500 μL de una muestra de sangre heparinizada durante 10 min. a 3000 rpm, separar el plasma y lavar los eritrocitos con 3 mL de solución salina fisiológica (NaCl 0.9%), centrifugando durante 10 min a 3000 rpm después del lavado. Repetir esta operación en 4 ocasiones.

Completar el paquete eritrocitario lavado con 2.0 mL de agua bidestilada fría, mezclar y dejar reposar durante 15 min. a 4°C. Diluir el lisado con una solución amortiguadora de fosfatos pH 7.0 para tener una dilución final 1:100.

Preparar una curva estándar a partir de una solución de Xantina (0.05 mmol/L) e INT (0.025 mmol/L), pH 10.2, con amortiguador de fosfatos pH 7.0 como sigue:

	Volumen de solución estándar	Volumen amortiguador
S6	Estándar sin diluir	---
S5	5 mL de S6	5 mL
S4	5 mL de S5	5 mL
S3	5 mL de S4	5 mL
S2	5 mL de S3	5 mL
S1	---	5 mL

Colocar en tubos de 12X75 mm 50 μL de la muestra diluida o los estándares (S1 – S6) y agregarles 1.7 mL de sustrato mixto de xantina/INT pH 10.2 y mezclar. Añadir 250 μL de solución de xantina oxidasa (80 U/L), mezclar y leer la absorción (A_1) a 505 nm al cabo de 30 seg. y cronometrar el tiempo simultáneamente. Leer nuevamente después de 3 min. de comenzada la reacción (A_2).

Cálculos: El índice de la muestra diluyente (S1) es equivalente al índice de la reacción sin inhibir (100%).

Obtener el promedio de la diferencia de las absorciones (ΔA):

$$\frac{A_2 - A_1}{3} = \Delta A$$

Todos los índices tanto de los estándares como de las muestras diluidas deben ser convertidos en porcentajes del índice del blanco y sustraídos del 100% para obtener el porcentaje de la inhibición:

$$100 - \frac{\Delta A_{\text{muestra/min}} \times 100}{\Delta A_{\text{S1/min}}} = \% \text{inhibición}$$

Realizar una gráfica con los porcentajes de inhibición de los puntos de la curva estándar contra el logaritmo (Log_{10}) de la concentración del estándar en unidades SOD/mL. Utilizar el porcentaje de inhibición de la muestra para obtener las unidades SOD de la curva estándar:

$$\text{SOD (U/mL de sangre entera)} = \text{SOD (U/mL) de la curva} \times 100$$

- VI.5.2.4. Capacidad sérica antioxidante total (Método colorimétrico reacción con ABTS)

Principio del análisis: Formación del radical catión ABTS^+ mediante la reacción entre peroxidasa (metamioglobina) con peróxido de hidrógeno y ABTS (2,2' -azido-di etilbenzotiazolin sulfonato). Este radical presenta una coloración verde-azulada que se mide a 600 nm, la presencia de antioxidantes en la muestra produce una supresión de la coloración, siendo proporcional a la concentración de antioxidantes.

Método: Para cada corrida se incluye un tubo blanco, un estándar y una muestra de control, los cuáles serán tratados igual que los problemas. Se colocan 20 μL de agua, estándar, muestra de control o problema en tubos de 12X75 mm identificados, agregar 1.0 mL del reactivo cromógeno (Metahemoglobina, 6.1 $\mu\text{mol/L}$; ABTS, 610 $\mu\text{mol/L}$), mezclar bien y leer la absorción a 600 nm (A_1). Después, añadir 200 μL del sustrato (H_2O_2 , 250 $\mu\text{mol/L}$), mezclar y cronometrar. Leer nuevamente la absorción al cabo de 3 min. exactamente (A_2).

Cálculos: Calcular la diferencia de las absorciones (ΔA) para el blanco (ΔB), el estándar (ΔE) y los problemas (ΔM):

$$\Delta A = A_2 - A_1$$

Obtener el valor del factor (F):

$$F = \frac{[\text{Estándar}]}{\Delta B - \Delta E}$$

Calcular la concentración de antioxidantes totales:

$$\text{AT (mmol/L)} = [\Delta B - \Delta M] F$$

VI.6. Diseño estadístico

Los datos fueron analizados utilizando medidas descriptivas, promedio y error estándar (EE) para las variables cuantitativas y frecuencias relativas para las cualitativas. Como pruebas de comparación se utilizó t de Student y ANOVA de una vía con la prueba de

Tukey como posthoc para las variables cuantitativas y χ^2 para las cualitativas. Se calculó la razón de momios (RM) con su respectivo intervalo de confianza al 95% (IC_{95%}), análisis de regresión lineal simple y múltiple como pruebas de asociación y regresión logística para el cálculo de los riesgos.

La regresión logística es un modelo multivariado que permite predecir o estimar la probabilidad de que un individuo presente la variable dependiente, la cual está en escala dicotómica (0 = ausencia, 1 = presencia del evento), en función de varias independientes. Una de las ventajas de los modelos logísticos es que los coeficientes de regresión pueden interpretarse en términos de riesgos, independientemente del diseño del estudio¹⁴².

Para todas las pruebas se consideró un valor de $p < 0.05$ como significancia estadística. Los cálculos fueron realizados con el paquete estadístico SPSS V. 10.0.

VI.7. Aspectos éticos

El estudio fue puesto a consideración del Comité de Ética de la FES Zaragoza que sigue los lineamientos de la Declaración de Helsinki y de la Ley General de Salud. Se solicitó a cada sujeto la firma de un consentimiento informado por escrito, en donde se comprometía a resolver todos los instrumentos necesarios y autorizaba la toma de las muestras sanguíneas.

VII. RESULTADOS

VII.1 Características bioquímicas

Las características bioquímicas de los cuatro grupos de estudio se presentan en el cuadro 1. Se observa que los adultos mayores de ambas áreas tienen niveles más altos de glucosa, urea, colesterol y triglicéridos que los jóvenes, sin embargo, la diferencia no es estadísticamente significativa ($p > 0.05$), así mismo, estos últimos de ambas áreas tienen los parámetros bioquímicos y hematológicos semejantes.

VII.2 Estrés oxidativo

Los niveles de lipoperóxidos plasmáticos (LPO) fueron similares en ambos grupos del área rural ($p > 0.05$); en el caso del área urbana, los adultos mayores presentaron niveles más altos de LPO comparados con los adultos jóvenes ($p < 0.0001$) (Cuadro 2). Igualmente, los LPO se encontraron más altos en los dos grupos del área urbana que en los sujetos del área rural ($p < 0.01$ en jóvenes y $p < 0.0001$ en mayores) (Gráfica 1). Por otro lado, los varones de ambas áreas presentaron los LPO más altos que las mujeres, encontrándose diferencia estadísticamente significativa entre las mujeres jóvenes y mayores del área rural contra los hombres mayores del área urbana ($p < 0.05$) (Cuadro 3). Estratificando por género, también se pudo observar que en ambos grupos de edad, los LPO fueron más altos en los sujetos del área urbana ($p < 0.05$) (Gráfica 2). De la misma manera, los LPO fueron más altos en los varones adultos jóvenes de la ciudad de México que en los adultos mayores de Actopan ($p < 0.05$) y en las mujeres adultas mayores del área urbana que en las jóvenes del área rural ($p < 0.001$) (Cuadro 3).

Con respecto a la capacidad sérica antioxidante total (AT), en el área rural no se encontró ninguna diferencia entre adultos jóvenes y mayores ($p > 0.05$), sin embargo, los adultos jóvenes del área urbana tuvieron AT más altos comparados con los respectivos adultos mayores ($p < 0.0001$) (Cuadro 2). Con relación al género y al área, ambos sexos de adultos jóvenes del área urbana presentaron AT más altos que los sujetos del área rural, indistintamente del grupo de edad ($p < 0.0001$) (Cuadro 3).

La actividad de la superóxido dismutasa (SOD) fue significativamente más baja en los adultos mayores que en los jóvenes de ambas áreas, notándose una mayor diferencia en el área urbana ($p < 0.0001$). De la misma manera, la SOD en los adultos mayores del área rural fue más alta que en los del área urbana ($p < 0.0001$) (Cuadro 2), y las mujeres jóvenes del área rural tuvieron esta actividad enzimática mayor que las ancianas del área urbana ($p < 0.01$) (Cuadro 3).

Cuadro 1. Características bioquímicas de los sujetos de estudio (Promedio \pm error estándar [EE]).

	Urbana		Rural	
	Jóvenes	Mayores	Jóvenes	Mayores
n	38	112	37	88
Glucosa (mg/dL)	91 \pm 3.9	112 \pm 5.2	89 \pm 2.9	106 \pm 3.9
Urea (mg/dL)	29 \pm 1.0	32 \pm 1.1	25 \pm 1.2	30 \pm 1.2
Creatinina (mg/dL)	0.99 \pm 0.04	0.87 \pm 0.03	0.87 \pm 0.03	0.90 \pm 0.04
Ácido úrico (mg/dL)	4.9 \pm 0.3	5.1 \pm 0.2	5.5 \pm 0.3	4.6 \pm 0.2
Colesterol (mg/dL)	191 \pm 5.8	213 \pm 4.1	189 \pm 5.6	205 \pm 4.4
Triglicéridos (mg/dL)	165 \pm 15.2	181 \pm 8.5	123 \pm 11.4	172 \pm 9.2
HDL (mg/dL)	51 \pm 1.9	50 \pm 1.6	59 \pm 5.0	49 \pm 1.3
Albúmina (g/dL)	4.4 \pm 0.06	4.5 \pm 0.06	4.0 \pm 0.05	4.2 \pm 0.05
Hemoglobina (g/dL)				
Mujeres	14.7 \pm 0.3	14.4 \pm 0.1	14.5 \pm 0.2	14.4 \pm 0.2
Hombres	16.7 \pm 0.3	16.6 \pm 0.3	16.9 \pm 0.3	15.5 \pm 0.2
Hematocrito (%)				
Mujeres	46 \pm 0.7	44 \pm 0.4	44 \pm 0.7	45 \pm 0.5
Hombres	52 \pm 0.9	50 \pm 0.7	52 \pm 0.9	47 \pm 0.8
Leucocitos totales/mm ³	7359 \pm 268	6440 \pm 120	6595 \pm 178	6521 \pm 160

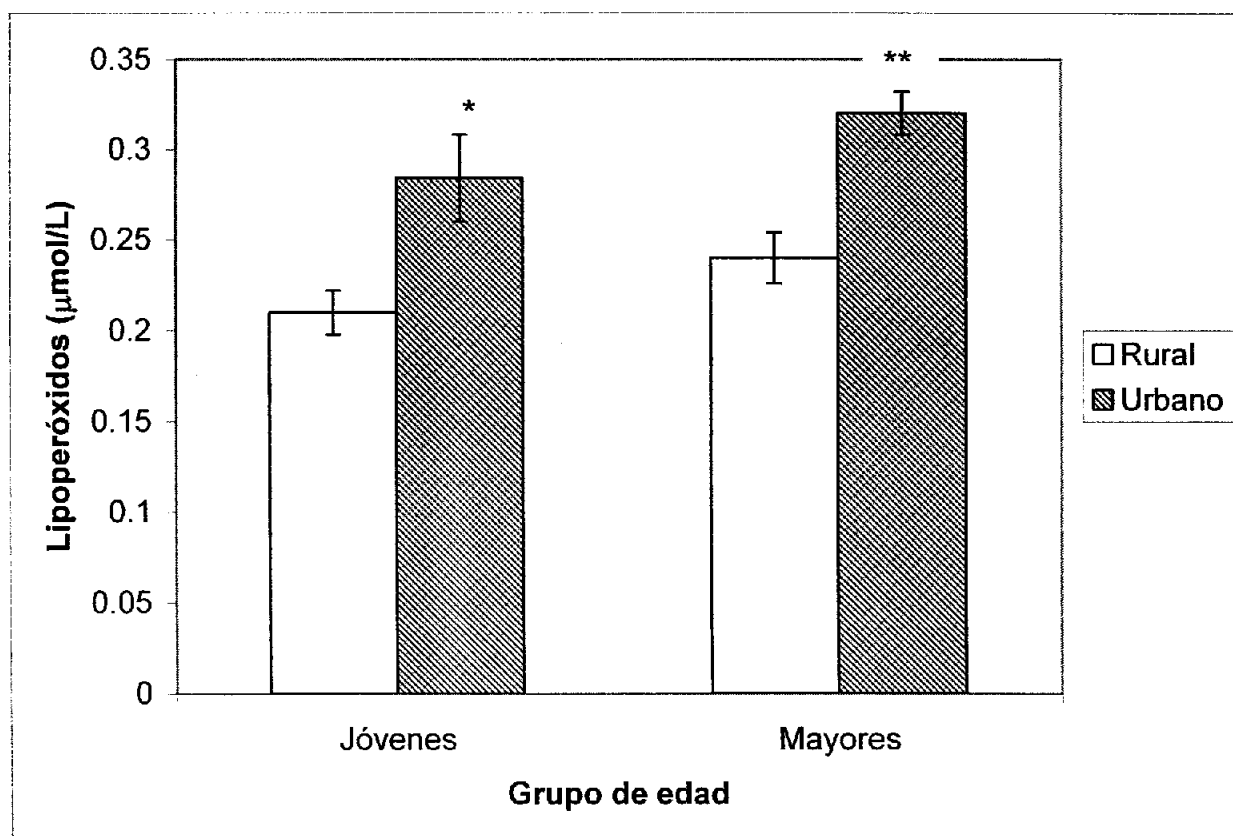
Cuadro 2. Promedio \pm EE* de lipoperóxidos plasmáticos, capacidad antioxidante total y actividad de enzimas antioxidantes (SOD y GPx) en adultos jóvenes y mayores de áreas urbana y rural.

	Urbana		Rural	
	Jóvenes	Mayores	Jóvenes	Mayores
n	38	112	37	88
Lipoperóxidos (LPO) ($\mu\text{mol/L}$)	0.284 ± 0.024^a	$0.320 \pm 0.012^{b,c}$	0.210 ± 0.012	0.240 ± 0.014
Capacidad antioxidante total (AT) (mmol/L)	$1.36 \pm 0.046^{d,e,f}$	1.12 ± 0.020	1.05 ± 0.025	1.05 ± 0.021
Superóxido dismutasa (SOD) (U/L)	$178 \pm 1.8^{g,h}$	165 ± 1.3^i	$175 \pm 1.0^{j,k}$	168 ± 0.8
Glutación peroxidasa (GPx) (U/L)	7868 ± 284^l	$6462 \pm 234^{m,n}$	7368 ± 407	7458 ± 308

*EE: error estándar.

ANOVA con prueba de Tukey. LPO: ^a jóvenes urbana vs. rural $p < 0.0001$, $p < 0.5$; ^b mayores urbana vs. rural, $p < 0.0001$; ^c mayores urbana vs. jóvenes rural $p < 0.0001$. AT: ^d jóvenes vs. mayores urbana, $p < 0.0001$; ^e jóvenes urbana vs. rural, $p < 0.0001$; ^f jóvenes urbana vs. mayores rural, $p < 0.0001$. SOD: ^g jóvenes urbana vs. mayores rural, $p < 0.0001$; ^h jóvenes vs. mayores urbana, $p < 0.0001$; ⁱ mayores urbana vs. jóvenes rural, $p < 0.0001$; ^j jóvenes vs. mayores rural, $p < 0.05$; ^k jóvenes rural vs. mayores urbana, $p < 0.0001$. GPx: ^l jóvenes vs. mayores urbana, $p < 0.0001$; ^m mayores urbana vs. rural, $p < 0.0001$; ⁿ mayores urbana vs. jóvenes rural, $p < 0.05$.

Gráfica 1. Niveles de lipoperóxidos por grupo de edad y área. Los datos muestran el promedio \pm EE.



EE: error estándar.

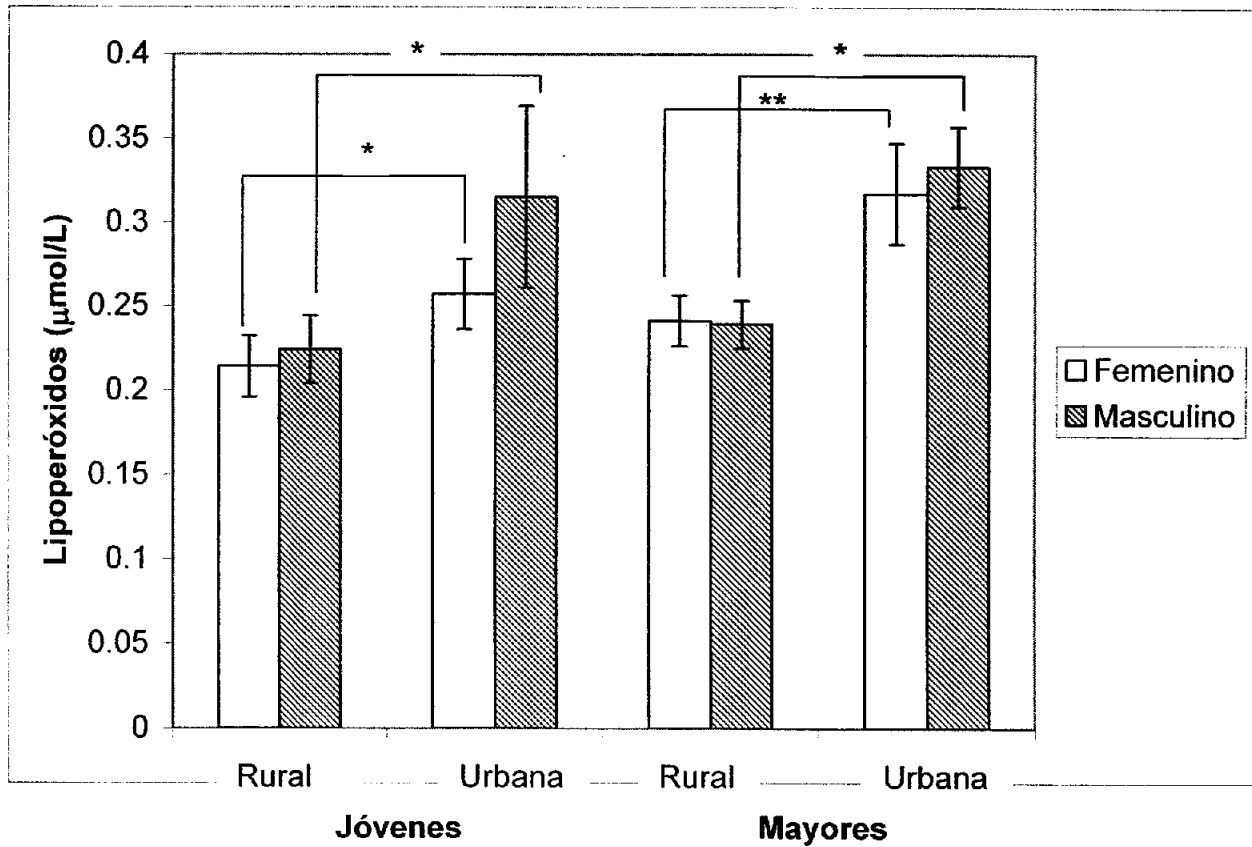
Prueba *t* de Student. * $p < 0.01$ rural vs. urbana; ** $p < 0.0001$ rural vs. urbana.

Cuadro 3. Promedio \pm error estándar [EE] de lipoperóxidos plasmáticos, capacidad antioxidante total y actividad de enzimas antioxidantes (SOD y GPx) en adultos jóvenes y mayores por área y género.

	Jóvenes				Mayores	
	Hombres	Mujeres	Hombres	Mujeres	Hombres	Mujeres
Urbana						
n	15	23	25	87		
Lipoperóxidos (LPO) ($\mu\text{mol/L}$)	0.315 \pm 0.054 ^a	0.257 \pm 0.020 ^b	0.333 \pm 0.024 ^c	0.317 \pm 0.014 ^{d,e}		
Capacidad antioxidante total (AT) (mmol/L)	1.47 \pm 0.078 ^{f,g,h}	1.31 \pm 0.056 ^{i,j,k}	1.19 \pm 0.042	1.09 \pm 0.022		
Superóxido dismutasa (SOD) (U/L)	179 \pm 3.1	178 \pm 2.3 ^l	169 \pm 2.7	164 \pm 1.5 ^m		
Glutación preoxidasa (GPx) (U/L)	8104 \pm 405 ⁿ	7767 \pm 403 ^o	6515 \pm 432 ^p	5875 \pm 274 ^q		
Rural						
n	12	25	27	61		
Lipoperóxidos (LPO) ($\mu\text{mol/L}$)	0.224 \pm 0.021	0.214 \pm 0.018	0.239 \pm 0.030	0.241 \pm 0.015		
Capacidad antioxidante total (AT) (mmol/L)	1.10 \pm 0.046	1.02 \pm 0.030	1.12 \pm 0.034	1.02 \pm 0.025		
Superóxido dismutasa (SOD) (U/L)	177 \pm 1.3	174 \pm 1.4	169 \pm 1.7	167 \pm 0.9		
Glutación preoxidasa (GPx) (U/L)	7432 \pm 889	7321 \pm 423	7445 \pm 575	7232 \pm 363		

ANOVA con prueba de Tukey. LPO: ^a hombres jóvenes urbana vs. hombres mayores rural, $p < 0.05$; ^b mujeres jóvenes vs. mayores urbana, $p < 0.05$; ^c hombres mayores urbana vs. rural, $p < 0.05$; ^d mujeres mayores urbana vs. mujeres jóvenes rural, $p < 0.001$; ^e mujeres mayores urbana vs. rural, $p < 0.01$. AT: ^f hombres jóvenes vs. mayores urbana, $p < 0.001$; ^g hombres jóvenes urbana vs. rural, $p < 0.0001$; ^h hombres jóvenes urbana vs. hombres mayores rural, $p < 0.0001$; ⁱ mujeres jóvenes vs. mayores urbana, $p < 0.0001$; ^j mujeres jóvenes urbana vs. rural, $p < 0.0001$; ^k mujeres jóvenes urbana vs. mujeres mayores rural, $p < 0.0001$. SOD: ^l mujeres jóvenes vs. mayores urbana, $p < 0.0001$; ^m mujeres mayores urbana vs. mujeres jóvenes rural, $p < 0.01$. GPx: ⁿ hombres jóvenes vs. mayores urbana, $p < 0.05$; ^o mujeres jóvenes vs. mayores urbana, $p < 0.05$; ^p hombres mayores urbana vs. rural, $p < 0.05$; ^q mujeres mayores urbana vs. rural, $p < 0.05$.

Gráfica 2. Niveles de lipoperóxidos por sexo, grupo de edad y área. Los datos muestran el promedio \pm EE. La comparación es entre áreas por género.



EE = error estándar.

Prueba *t* de Student. * $p < 0.05$, ** $p < 0.0001$.

La actividad de la glutatión peroxidasa (GPx) fue más baja en los adultos mayores del área urbana comparada con los jóvenes de la misma área ($p < 0.01$). Por otro lado, los adultos mayores de Actopan mostraron un incremento estadísticamente significativo en la actividad enzimática comparado con los del mismo grupo de edad de la ciudad de México ($p < 0.0001$) (Cuadro 2). Con respecto a la actividad de esta enzima por sexo y edad, se encontró un incremento significativamente mayor ($p < 0.05$) en ambos géneros de adultos mayores del área rural comparado con los sujetos de la misma edad y género del área urbana (Cuadro 3).

Como se mencionó en material y métodos, se establecieron los valores de corte para los biomarcadores de EOX al percentil 90, siguiendo el método para obtención de valores de referencia no paramétrico⁶⁸, observándose que 49 (44%) de los adultos mayores del área urbana presentan los LPO por arriba del valor de corte ($LPO \geq 0.340 \mu\text{mol/L}$), siendo estadísticamente diferente a la proporción del grupo de adultos jóvenes de Actopan considerados como grupo control ($p < 0.0001$); así mismo, 12 (32%) de los adultos jóvenes del área urbana tienen niveles altos de LPO. Por otro lado, se puede apreciar que los adultos mayores de ambas áreas tienen la actividad de la SOD por debajo de los adultos jóvenes control, siendo la proporción más alta en los habitantes de la ciudad de México. Con respecto a la GPx, el 47% (53/112) de los adultos mayores de la misma área muestran valores por debajo de los de corte ($p < 0.05$). Los adultos mayores de ambas áreas presentan un valor de la razón SOD/GPx mayor al valor de corte ($p < 0.0001$). Los demás componentes antioxidantes no mostraron diferencia significativa entre los grupos, exceptuando AT y GAP que en los jóvenes del área urbana fueron más altos aún que en el grupo control (Cuadro 4).

El sistema antioxidante (AOx) está conformado por las defensas celulares (enzimas) y las exógenas (capacidad antioxidante total y GAP), por lo que un buen sistema antioxidante debe mantener el equilibrio de ambas partes con bajos valores de la razón SOD/GPx y altos valores de GAP. En este sentido se observó una correlación negativa, en los adultos mayores, sin estratificar por área, entre la razón SOD/GPx y el GAP (Gráfica 3), con una $r = -0.209$, $r^2 = 0.044$, $p < 0.05$, confirmando esta aseveración.

Tomando en cuenta lo anterior, se definió como sistema antioxidante eficiente (SAE) cuando la razón SOD/GPx, AT y GAP se encontraban de acuerdo a los valores de corte; deficiencia antioxidante enzimática (DAEN) si la razón SOD/GPx estaba incrementada y la defensa exógena se encontraba dentro de los intervalos de referencia; deficiencia antioxidante exógena (DAEX) si los AT y GAP estaban disminuidos y la razón SOD/GPx por debajo del valor de corte; y, finalmente, deficiencia global del sistema antioxidante (DGSA) si los componentes de ambas partes se encontraban fuera de lo estipulado como valores de corte. Aplicando estos criterios, encontramos que una mayor proporción de los mayores del área urbana presentan valores que indican DAEN ($p < 0.01$) y que una mayor proporción de los mayores del área rural tienen SAE ($p < 0.01$) (Cuadro 5).

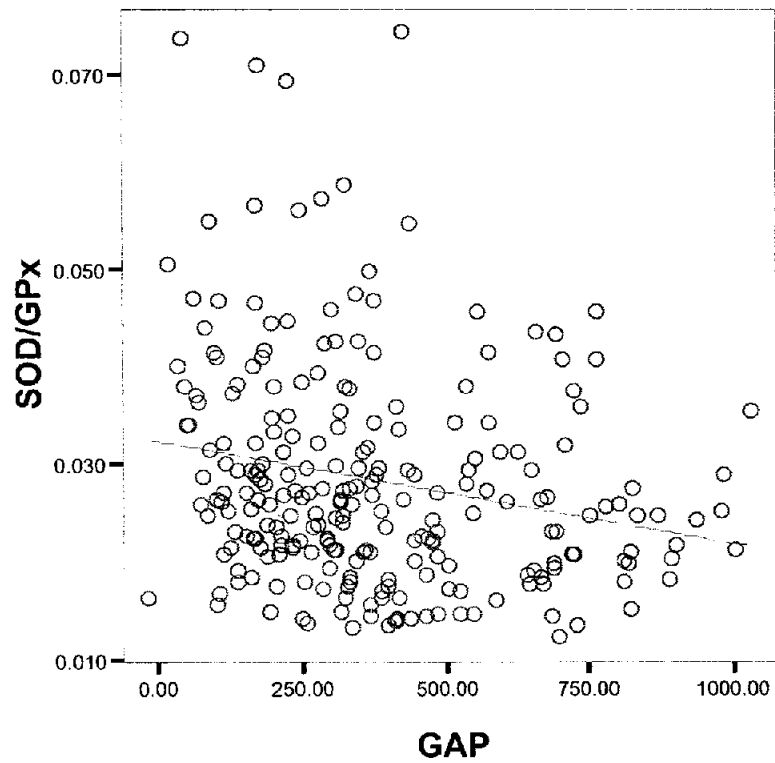
Cuadro 4. Frecuencias y porcentajes de sujetos con valores normales y no normales para los marcadores de estrés oxidativo en los grupos de estudio comparados contra los jóvenes del área rural.

Variable	Urbana		Rural	
	Jóvenes (n = 38)	Mayores (n = 112)	Jóvenes (n = 37)	Mayores (n = 88)
Lipoperóxidos (µmol/L)				
Normal < 0.340	26 (68%)	63 (56%)	34 (92%)	70 (79%)
Alto ≥ 0.340	12 (32%)*	49 (44%) [†]	3 (8%)	18 (21%)
SOD (U/L)				
Normal > 170	30 (79%)	29 (26%)	29 (78%)	42 (48%)
Bajo ≤ 170	8 (21%)	83 (74%) [†]	8 (22%)	46 (52%) [‡]
GPx (U/L)				
Normal > 5500	34 (89%)	59 (53%)	28 (76%)	61 (69%)
Bajo ≤ 5500	4 (11%)	53 (47%)*	9 (24%)	27 (31%)
Antioxidantes totales (mmol/L)				
Normal > 0.81	38 (100%)	96 (86%)	30 (81%)	70 (80%)
Bajo ≤ 0.81	0 (%)*	16 (14%)	7 (19%)	18 (20%)
SOD/GPx				
Normal < 0.023	20 (53%)	30 (27%)	27 (73%)	34 (39%)
Alto ≥ 0.023	18 (47%)	82 (73%) [†]	10 (27%)	54 (61%) [†]
GAP (µmol/L)				
Normal > 169	36 (97%)	83 (74%)	28 (76%)	66 (75%)
Bajo ≤ 169	1 (3%) [‡]	29 (26%)	9 (24%)	22 (25%)

SOD: superóxido dismutasa; GPx: Glutathion peroxidasa, SOD/GPx: razón SOD-GPx, GAP: brecha de antioxidantes plasmáticos.

Prueba χ^2 , *p < 0.05; [†]p < 0.0001; [‡]p < 0.01.

Gráfica 3. Correlación entre la razón SOD/GPx y el GAP.



$r = -0.209, r^2 = 0.044, p < 0.05.$

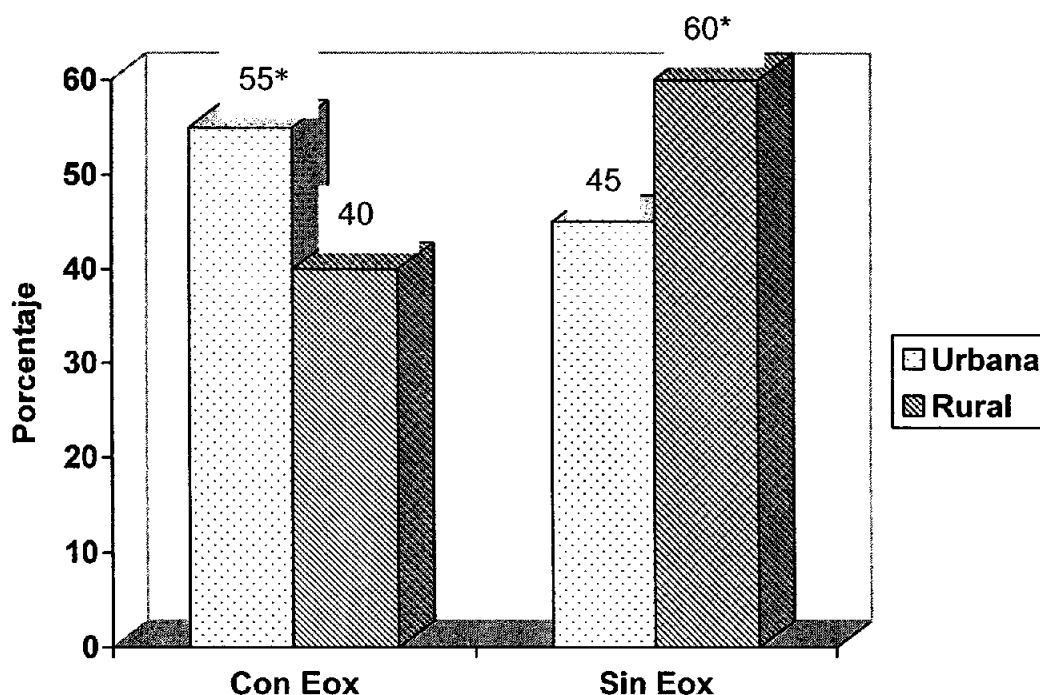
Cuadro 5. Frecuencia y porcentaje del estado del sistema antioxidante en los adultos mayores de ambas áreas.

	Urbana (n = 112)	Rural (n = 88)
Sistema Antioxidante		
Sistema antioxidante eficiente (SAE)	28 (25%)*	38 (43%)
Deficiencia antioxidante enzimática (DAEN)	53 (47%)*	24 (27%)
Deficiencia antioxidante exógena (DAEX)	4 (4%)	4 (5%)
Deficiencia global del sistema Antioxidante (DGSA)	27 (24%)	22 (25%)

Prueba χ^2 , * $p < 0.01$.

Con estos criterios, se denominó EOx si el valor de los LPO plasmáticos se encontraba $\geq 0.340 \mu\text{mol/L}$ y se tenía alguna deficiencia en el sistema antioxidante, observándose que el 55% de los adultos mayores del área urbana presentan estrés oxidativo comparado con el 40% de los del área rural, obteniéndose una razón de momios (RM)= 1.83 (IC_{95%}: 1.01–3.35, $p < 0.05$) en contra del área urbana (Gráfica 4).

Gráfica 4. Porcentaje de estrés oxidativo en adultos mayores de área urbana vs. área rural.



*Prueba χ^2 , $p < 0.05$. RM = 1.83, IC_{95%}: 1.01–3.35.

Considerando los potenciales factores de riesgo pro-oxidante, se llevó a cabo un análisis de regresión logística contra los niveles altos de LPO asumiendo que hay riesgo de estrés oxidativo si los valores son $\geq 0.340 \mu\text{mol/L}$, observándose en toda la población estudiada que el área urbana es el principal factor de riesgo con una RM = 4.33 (IC_{95%} 2.15–8.72; $p < 0.0001$). Otros factores significativos fueron dormir ≤ 6 h/d y la edad ≥ 60 años (RM = 2.21, IC_{95%} 1.07–4.56, $p < 0.05$ y RM = 2.30, IC_{95%} 1.04–5.11, $p < 0.05$; respectivamente). El género masculino tiene un comportamiento de riesgo con una significancia limítrofe ($p = 0.055$), los demás factores no se comportan como riesgo (Cuadro 6).

Cuadro 6. Factores de riesgo para niveles de lipoperóxidos (LPO) altos* considerando los 4 grupos de estudio.

Factor de riesgo	RM	IC_{95%}	Valor de <i>p</i>
Área (urbana)	4.33	2.15 – 8.72	< 0.0001
Horas de sueño (≤ 6 h)	2.21	1.07 – 4.56	0.033
Edad (≥ 60 años)	2.30	1.04 – 5.11	0.041
Sexo (masculino)	2.03	0.98 – 4.20	0.055
Obesidad (IMC ≥ 27 kg/m ²)	1.37	0.71 – 2.64	0.343
Sedentarismo	1.25	0.63 – 2.51	0.521

IMC: índice de masa corporal. *Riesgo si los LPO ≥ 0.340 μ mol/L. Regresión logística $R^2 = 0.205$, $p < 0.0001$.

Dado que la edad puede ser un factor de confusión, se realizó un análisis de regresión logística estratificando por grupo de edad en el cual se aprecia que el área urbana continúa siendo el factor de riesgo de mayor peso para los LPO altos. De los demás factores, dormir ≤ 6 h es un riesgo significativo para los adultos mayores ($p < 0.05$), mientras que el sexo masculino lo es para los jóvenes, aunque sin significancia estadística (Cuadro 7).

VII.3 Estado de salud y estilo de vida

Con relación al estado de salud, no se observó diferencia entre los grupos de estudio en cuanto a la frecuencia de enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo (diabetes mellitus (DM), hipertensión arterial (HTA) y la combinación de ambas (DM-HTA)), 49% en el área rural y 60% en la urbana; aunque se tiene una mayor proporción de hipertensos en la cd. de México (36% vs. 24%) sin ser estadísticamente diferente (Cuadro 8). Así mismo, estratificando por niveles de LPO, se encontró que éstos son más altos en los habitantes con DM y DM-HTA del área urbana, aunque la diferencia no es estadísticamente significativa (Cuadro 9). Por otro lado, no se observó una diferencia estadísticamente significativa en la frecuencia de estado depresivo no patológico y el deterioro del estado cognitivo de ambos grupos. De la presencia de variables de estilo de vida que se consideran pro-oxidantes, no se encontró ninguna diferencia entre los grupos (Cuadro 8).

Cuadro 7. Factores de riesgo para niveles de lipoperoxidos altos*, estratificando por grupo de edad.

Factor de riesgo	Jóvenes			Mayores		
	RM	IC _{95%}	Valor p	RM	IC _{95%}	Valor p
Área (urbana)	7.27	1.19 – 44.40	0.032	4.17	1.88 – 9.25	< 0.0001
Sexo (masculino)	2.89	0.61 – 13.77	0.183	1.85	0.81 – 4.24	0.147
Ingesta de alcohol	1.13	0.27 – 4.81	0.868	0.63	0.29 – 1.38	0.249
Obesidad (IMC \geq 27 kg/m ²)	1.03	0.23 – 4.58	0.967	1.53	0.72 – 3.25	0.265
Horas de sueño (\leq 6 h)	0.63	0.09 – 4.50	0.642	2.84	1.25 – 6.44	0.012
Sedentarismo	0.77	0.16 – 3.87	0.758	1.35	0.059 – 3.10	0.471

IMC: Índice de masa corporal. *Riesgo si los LPO \geq 0.340 μ mol/L. Regresión logística, jóvenes $R^2 = 0.199$, $p > 0.05$; mayores $R^2 = 0.200$, $p < 0.01$.

Cuadro 8. Estado de salud y variables del estilo de vida en los adultos mayores de áreas rural y urbana.

Variable	Urbana (n = 112)	Rural (n = 88)
Sin enfermedad [†]	45 (40%)	45 (51%)
Con diabetes mellitus [†]	15 (13%)	10 (12%)
Con hipertensión arterial [†]	41 (36%)	21 (24%)
Con diabetes mellitus e hipertensión arterial [†]	11 (10%)	12 (14%)
Deterioro cognitivo [†]	20 (18%)	10 (11%)
Humor depresivo [†]	25 (22%)	24 (27%)
Tabaquismo [†]	8 (7%)	4 (5%)
Ingesta de alcohol [†]	45 (40%)	38 (43%)
Sedentarismo [†]	69 (62%)	64 (73%)
Índice de masa corporal (kg/m ²) [‡]	27.58 ± 0.40	28.08 ± 0.39
Horas de sueño [‡]	7.45 ± 0.16	7.40 ± 0.17

* χ^2 en las cualitativas y prueba t de Student en las variables cuantitativas.

[†]Frecuencia (porcentaje), [‡]promedio ± error estándar.

Cuadro 9. Proporción de adultos mayores de áreas urbana y rural con lipoperóxidos plasmáticos altos y normales, por estado de salud.

Estado de salud	Urbana		Rural	
	LPO \geq 0.340 $\mu\text{mol/L}$	LPO $<$ 0.340 $\mu\text{mol/L}$	LPO \geq 0.340 $\mu\text{mol/L}$	LPO $<$ 0.340 $\mu\text{mol/L}$
Sin enfermedad	23 (51%)*	22 (49%)	11 (23%)	34 (77%)
Hipertensión arterial	15 (36%)	26 (64%)	5 (24%)	16 (76%)
Diabetes mellitus	4 (29%)	11 (71%)	0	10 (100%)
Diabetes mellitus + HTA	6 (55%)	5 (45%)	3 (27%)	9 (73%)
Total	48 (43%)*	64 (57%)	19 (22%)	69 (78%)

LPO: lipoperóxidos plasmáticos; HTA: hipertensión arterial.

*Prueba χ^2 , $p < 0.01$ comparando población urbana vs. rural.

En cuanto a la funcionalidad, se evaluó en los ámbitos de actividades de la vida diaria (Cuadro 10), de salud (Cuadro 11), física (Cuadro 12) e instrumental de la vida diaria (Cuadro 13), se observó que los adultos mayores de ambas comunidades son igualmente funcionales, excepto en:

- Arreglo personal, en cuyo caso el 9% de los mayores del área rural y el 2% de los del área urbana reconocen ser dependientes, sobretodo en el corte de las uñas de los pies, siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) e independiente de la edad.
- Capacidad de realizar trabajo pesado familiar, de lo cual el 28% de los del área rural y el 14% de los del área urbana dijeron no poder realizarlo, siendo también esta diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$); observándose que el 44% de los del área rural que no llevan a cabo esta actividad son mayores de 70 años vs. el 2% del área urbana ($p < 0.01$).
- Capacidad para subir y bajar escaleras, en cuyo caso el 9% de los del área rural indicó que no lo puede realizar y todos los del área urbana pueden hacerlo ($p < 0.01$). En donde el 15% de los mayores de 70 años del área rural no pueden hacerlo y el 100% de los sujetos de la misma edad del área urbana lo realizan ($p < 0.05$).
- Levantar objetos con peso mayor de 5 kg. de los cuales el 38% de los del área urbana y el 54% del área rural no lo puede hacer ($p < 0.05$); observándose que de los que tienen 70 años y más, el 62% del área rural no lo puede hacer vs. el 39% del área urbana ($p = 0.066$).
- Encorvarse, agacharse y arrodillarse no lo pueden llevar a cabo el 37% de los del área urbana y el 52% de los del área rural ($p < 0.05$); en cuyo caso también se encontró una diferencia en los mayores de 70 años ya que el 65% de los de Actopan no pueden hacerlo vs. el 36% de los de la cd. de México ($p < 0.05$).

Cuadro 10. Porcentaje de adultos mayores que realizan o no realizan las actividades de la vida diaria por grupo de estudio, de acuerdo a la escala de Katz.

Actividad	Urbana		Rural	
	Realiza	No realiza	Realiza	No realiza
Bañarse sin ayuda	100%	---	99%	1%
Vestirse sin ayuda	100%	---	96%	4%
Puede trasladarse de la cama a una silla	100%	---	99%	1%
Se alimenta sin ayuda	100%	---	100%	---
Efectúa su arreglo personal cortando las uñas	98%	2%	91%	9%*
Camina en un cuarto pequeño	100%	---	99%	1%

* $p < 0.05$, χ^2 .**Cuadro 11.** Porcentaje de adultos mayores que realizan o no realizan las actividades de evaluación de salud por grupo de estudio, según la escala de Rosow y Breslaw.

Actividad	Urbana		Rural	
	Realiza	No realiza	Realiza	No realiza
Efectúa trabajo familiar pesado (lavar ropa, cocina, pisos, barrer, arreglar jardín)	86%	14%	72%	28%*
Capacidad para caminar 10 cuadras, aprox.	98%	2%	93%	7%
Capacidad para subir y bajar escaleras	100%	---	91%	9%*

* $p < 0.05$, χ^2 .

Cuadro 12. Porcentaje de adultos mayores que realizan o no realizan las actividades físicas por grupo de estudio, conforme la escala de Nagi.

Actividad	Urbana		Rural	
	Realiza	No realiza	Realiza	No realiza
Extender los brazos por debajo de los hombros	95%	5%	95%	5%
Extender los brazos por arriba de los hombros	92%	8%	93%	7%
Levantar objetos de peso menor a 5 kg.	89%	11%	93%	7%
Permanecer sentado por más de una hora	86%	14%	90%	10%
Tomar y sostener objetos pequeños	94%	6%	96%	4%
Permanecer parado por más de 15 min.	87%	13%	84%	16%
Mover objetos grandes	64%	36%	64%	36%
Levantar objetos de un peso mayor a 5 kg.	62%	38%	46%	54%*
Encorvarse, agacharse y arrodillarse	63%	37%	48%	52%*

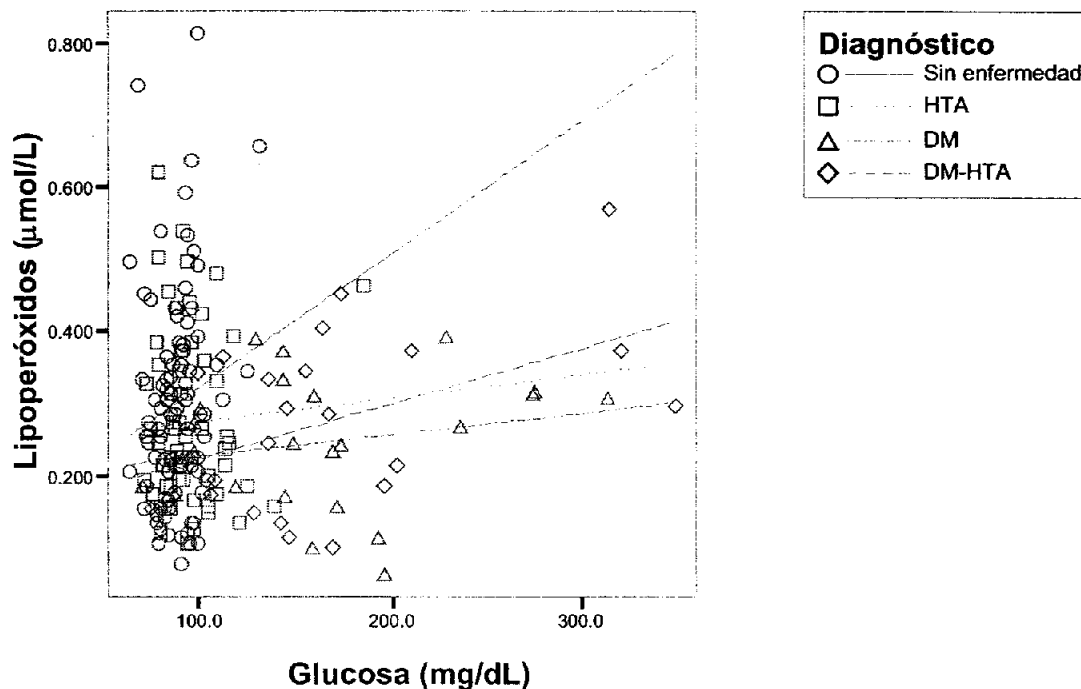
* $p < 0.05$, χ^2

Cuadro 13. Porcentaje de adultos mayores que realizan o no realizan las actividades instrumentales de la vida diaria, según Lowton y Brody, por grupo de estudio.

Actividad	Urbana		Rural	
	Realiza	No realiza	Realiza	No realiza
Capacidad de hacer y recibir llamadas telefónicas	86%	14%	86%	14%
Capacidad de conducir un automóvil o viajar solo en autobús o taxi	91%	9%	89%	11%
Hacer compras con independencia	89%	11%	89%	11%
Planea, prepara y sirve los alimentos solo	93%	7%	89%	11%
Capacidad de hacer quehaceres del hogar pesados	78%	22%	68%	32%
Capacidad de tomar sus medicamentos en dosis y tiempos correctos	92%	8%	90%	3%
Maneja asuntos de dinero con independencia	92%	8%	92%	8%

También se pudo apreciar que, independientemente de la presencia o no de alguna enfermedad crónico-degenerativa y el tipo de la misma, hay una correlación positiva entre los niveles de lipoperóxidos y de glucosa (Gráfica 5), observándose el mejor valor de regresión lineal en los adultos mayores diabéticos-hipertensos ($r = 0.454$, $p < 0.05$), seguido de los diabéticos ($r = 0.207$, $p > 0.05$).

Gráfica 5. Correlación entre niveles de lipoperóxidos y glucosa, por diagnóstico, en adultos mayores.



HTA: hipertensión arterial, $r = 0.049$; DM: diabetes mellitus, $r = 0.207$; DM-HTA: diabetes mellitus + hipertensión arterial, $r = 0.454$; sin enfermedad, $r = 0.148$.

Para establecer la relación entre los marcadores de EOX y los diferentes factores pro-oxidantes se llevó a cabo un análisis de regresión lineal múltiple con cada uno de sus componentes como variable dependiente: LPO, SOD, GPx, y AT, y como variables independientes las cuantitativas: edad, IMC, glucosa, número de cigarrillos que fuma, frecuencia de ingesta de alcohol y horas de sueño para cada área. Los únicos modelos que mostraron correlación estadísticamente significativa con las variables analizadas fueron los de LPO ($R_{urbana} = 0.351$, $p < 0.05$ y $R_{rural} = 0.319$, $p = 0.083$), observando una correlación independiente positiva con la edad en ambas áreas ($p < 0.05$), el IMC en el área urbana ($p < 0.01$) y las horas de sueño, con una correlación negativa, en la rural ($p < 0.05$) (Cuadro 14).

Cuadro 14. Valores de r y significancia estadística en el modelo de regresión lineal múltiple para lipoperóxidos plasmáticos por área, considerando los factores prooxidantes en adultos mayores.

Variable	Urbana		Rural	
	r	Valor p	r	Valor p
Edad (años)	0.201	0.016	0.167	0.041
IMC (kg/m ²)	0.298	0.001	0.131	0.088
Núm. Cigarros	-0.006	0.474	-0.046	0.317
Frec. Alcohol	-0.084	0.188	-0.016	0.435
Horas de sueño	-0.069	0.235	-0.258	0.003
Glucosa (mg/dL)	0.052	0.292	0.021	0.415

IMC: índice de masa corporal.

Rural: $R = 0.319$, $R^2 = 0.102$, $p > 0.05$; Urbana: $R = 0.351$; $R^2 = 0.123$, $p < 0.05$.

VIII. DISCUSIÓN

Es ampliamente aceptado que el envejecimiento está caracterizado por una alteración en la homeostasis, pero debido a la alta complejidad de los sistemas vivos, este proceso puede ser heterocrono, es decir, que varios órganos, tejidos y células del cuerpo humano pueden comenzar a envejecer a diferentes tiempos durante la vida del organismo. Es por esto que Semsei ha propuesto que el envejecimiento es multifactorial y está determinado por la suma de efectos de los factores internos (como el genoma) y externos (como los ambientales)¹.

También se ha descrito que algunos estilos de vida o hábitos de salud, tales como tabaquismo, ingesta de alcohol, sedentarismo, escasas horas de sueño y hábitos alimenticios deficientes, además de la contaminación ambiental, se vinculan directamente con la generación de entidades bioquímicas altamente reactivas denominadas RL, que dañan sustancialmente a las biomoléculas con consecuencias biológicas tangibles sobre el estado de salud de los individuos^{143,144}.

La influencia de los RL sobre el proceso de envejecimiento fue señalada desde 1956^{2,16}; así mismo, se ha demostrado en diversos experimentos la relación fisiopatológica de estos componentes con múltiples padecimientos crónicos degenerativos como: diabetes mellitus, aterosclerosis, artritis reumatoide, enfermedad de Alzheimer y diversos tipos de cáncer, entre otros^{18,19,21}, todas estas enfermedades relacionadas con el envejecimiento. De tal manera que el estado de salud de los ancianos depende en gran medida de factores ambientales y los que conforman el estilo de vida, cuyo mecanismo fisiopatológico debe relacionarse con los cambios a nivel molecular.

Para la evaluación del EOx en muestras biológicas se han propuesto diversos biomarcadores dentro de los cuáles los niveles séricos de lipoperóxidos (LPO) y la evaluación de los sistemas antioxidantes, tanto exógenos como endógenos, es ampliamente utilizada^{31,67,73,74,141}.

Es de particular interés en el estudio del envejecimiento conocer las variables del estilo de vida que se comportan como pro-oxidantes, además del efecto del lugar de residencia sobre el EOx en adultos mayores, con el fin de poder intervenir sobre éstos para prevenir la fragilidad o las recidivas de padecimientos crónicos degenerativos.

VIII.1. Estrés oxidativo

Sabemos que el envejecimiento es un proceso multifactorial y que se tiene suficiente evidencia para suponer que el EOx y la respuesta del organismo al mismo son la clave que determinan la longevidad^{1,22}, describiéndose dos rutas de influencia en el proceso, una que mantiene el nivel de información determinado genéticamente y otra que es la influencia externa que reta al organismo a llegar a un alto nivel de

organización desarrollándose estrategias que ayudan a excluir y/o eliminar los factores dañinos, es decir, los sistemas antioxidantes²².

Con relación al envejecimiento, hay evidencias científicas en el campo de la biogerontología con respecto a que el EOx se incrementa conforme aumenta la edad^{79,80,144}, sin embargo, existen estudios que se contraponen esta afirmación como lo reportado por King y cols (1997)⁸⁶ quienes observaron que los niveles de antioxidantes y la actividad de las enzimas GPx, catalasa (CAT) y ceruloplasmina fueron significativamente mayores en el grupo de sujetos de 75–80 años, comparados con los individuos de 35–39 años, 50–54 años y 65–69 años. Resultados similares fueron observados en nonagenarios y centenarios¹⁴⁶⁻¹⁴⁸. Estos resultados parecen indicar que hay una tolerancia o adaptación al incremento del EOx durante la vida, probablemente asociado a una mejor salud, suceso que ha sido demostrado por Kaphahi y cols., (1999) y Meewes y cols., (2001) en modelos animales y celulares, respectivamente^{149,150}. Así mismo, este proceso adaptativo podría explicarse bajo el enfoque teórico de la hormesis, en el que se establece que una exposición a dosis bajas de especies bioquímicas potencialmente dañinas como podrían ser los RL, favorecen la resistencia o adaptación al estímulo agresor¹⁵¹.

Los resultados muestran que los LPO plasmáticos en los adultos jóvenes y mayores del área rural son semejantes ($p > 0.05$), por lo tanto, el envejecimiento por sí mismo no parece ser la causa del incremento del EOx. En este sentido, King y cols. (1997)⁸⁶ encontraron que el promedio de los niveles basales del daño al ADN en linfocitos de los sujetos del grupo de edad de 75–80 años eran similares a los del grupo de 35–39 años ($p > 0.05$), y Rea y cols. (2004) observaron que los LPO no cambian a partir de los 70 hasta los 90 años ($p > 0.05$)¹⁴⁸. Por otro lado, los niveles de LPO fueron significativamente más altos en los adultos mayores que en los jóvenes con residencia en el área urbana, lo que concuerda con lo reportado por Gil y cols. (2002) en Madrid, España¹⁴⁵; con lo que se puede inferir que el ambiente urbano con altos niveles de contaminación y socialmente estresante de la ciudad de México es un factor prooxidante relevante para los senectos sanos. Al respecto Hicks y cols. (1996)¹⁵² mostraron un incremento en los LPO de los adultos recién llegados a la ciudad de México y Téllez-Rojo y cols. (2000)¹⁵³ encontraron una asociación significativa entre los niveles de contaminación ambiental y la mortalidad por enfermedades respiratorias en los adultos mayores.

Otro marcador que denota EOx es la relación SOD/GPx, propuesta por de Haan y cols. en 1995¹⁵⁴ como un indicador del dinamismo del sistema antioxidante celular partiendo del concepto teórico de que la SOD lleva a cabo el primer paso antioxidante produciendo H_2O_2 y la GPx es la encargada de la conversión de ese compuesto en H_2O , por lo que una disminución relativa de GPx lleva a un incremento de H_2O_2 , aún con actividad enzimática normal. Parece que la inclusión de la razón SOD/GPx es adecuada para medir el estrés oxidativo puesto que se ha demostrado que los cambios en la razón son el mejor indicador, desde el punto de vista de sensibilidad a las especies reactivas de oxígeno, que los valores absolutos de ambas enzimas, ya que se evalúa la actividad sinérgica de éstas en la destoxificación oxidativa⁸⁰. Como se puede

apreciar, la proporción de sujetos con $LPO \geq 0.340 \mu\text{mol/L}$ y razón SOD/GPx alta, es mayor en los habitantes del área urbana, lo que está hablando de un desbalance oxidativo.

Con relación a la capacidad sérica antioxidante total, se pudo observar que en el área rural no hay una diferencia estadísticamente significativa entre jóvenes y mayores; pero la AT de los adultos jóvenes del área urbana se encuentra incrementada con respecto a los adultos mayores ($p < 0.0001$) y a los habitantes del área rural. Esto puede deberse a que los sujetos jóvenes que viven en la ciudad de México están más expuestos a los factores pro-oxidantes urbanos, ya que realizan una actividad física y social mucho más activa que los ancianos, por su estilo de vida, lo que se traduce en una respuesta antioxidante aumentada para contrarrestar el EOx. En este sentido, Mastaloudis y cols. (2001)¹⁵⁵ demostraron que hay un incremento en el EOx en los atletas durante el ejercicio; así mismo, Laaksonen (1999)¹⁵⁶ observó un incremento en la actividad de GPx en sujetos con EOx durante el ejercicio inducido. Por otro lado, Aejmelaeus y cols. (1997)¹⁵⁷ mostraron un incremento relacionado con la edad de la AT en mujeres sanas (20–96 años) y hombres (20–74 años); esta diferencia con nuestros resultados puede ser debida a que los sujetos ≥ 60 años que viven en México presentan un aumento en el EOx por la exposición a la contaminación ambiental mostrando una disminución relativa en la capacidad antioxidante como consecuencia de la agresión permanente de RL. Aunque la AT de los jóvenes del área urbana es eficiente, parece posible que se desarrolle una capacidad adaptativa a la contaminación ambiental¹⁵⁸, respuesta que se pierde durante el envejecimiento en muchos sujetos debido a la carga alostática de los adultos mayores del área urbana^{4,8}.

La actividad de la SOD en los adultos mayores de ambas áreas es semejante ($p > 0.05$) y baja comparada con la de los jóvenes, pudiendo ser una respuesta ineficiente contra los altos niveles de LPO, sobretodo en el área urbana. En este sentido, Ösbay y Dülger (2002)¹⁵⁹ observaron que la actividad de SOD es más baja en los adultos mayores comparada con los niños y adultos jóvenes, además se ha reportado que existe un progresivo incremento en los niveles de LPO relacionados con la edad con un decremento de SOD ($r = -0.83$)¹⁶⁰. No obstante, Mecocci y cols. (2000)¹⁴⁷ observaron que la actividad de la SOD aumentaba proporcionalmente durante el envejecimiento, aunque disminuía en los centenarios; esto puede ser interpretado como una respuesta compensatoria del organismo a la elevación del EOx conforme se incrementa la edad, excepto en el caso de los centenarios. Este mismo comportamiento fue reportado por Okabe y cols. (1996)¹⁶¹. Por otro lado, Medina-Navarro y cols. (1997)¹⁵⁸ mostraron que la actividad de la SOD se incrementa inicialmente en una primera exposición a la contaminación ambiental para después disminuir en un 50% después de 4 meses de constante exposición. En este sentido, nuestros resultados demuestran una deficiente capacidad antioxidante en los adultos mayores probablemente debida a la interacción entre el envejecimiento y la exposición a los contaminantes del ambiente, aunque es posible interpretarla como una capacidad adaptativa a la contaminación del aire relacionada con la edad ya que el tiempo de vida de los adultos mayores habitantes de la ciudad de México es mayor que el de los de otros estados de la República Mexicana¹⁶². Así mismo, se ha demostrado que la

resistencia al EOX puede ser adquirida por cambios coordinados en múltiples vías antioxidantes¹⁶³. Al respecto, Yashin y cols. (2001)¹⁶⁴ señalan que el organismo puede mejorar la calidad de respuesta al estrés proporcionándole una ventaja en la supervivencia a mayor edad, ya que la acumulación de daño asociado con un exceso de actividad metabólica es menor en las poblaciones con individuos aparentemente más lábiles, encontrándose la evidencia de un incremento en la inercia de los sistemas controlados, por lo que el organismo envejecido debe cambiar a una estrategia adaptativa⁹³.

En el caso de la GPx, aunque King y cols. (1997)⁸⁶ y Mecocci y cols. (2000)¹⁴⁷ han reportado que la actividad de GPx se incrementa con la edad, nosotros encontramos que, en los adultos mayores del área urbana, es significativamente baja al compararla con los adultos jóvenes ($p < 0.001$) lo cual es concordante con lo observado para la población turca¹⁵⁹. En este sentido, la importancia de GPx para mantener la homeostasis en respuesta al incremento de los LPO fue demostrada por Laaksonen (1999)¹⁵⁶; por lo tanto, los niveles bajos de GPx en los adultos mayores de la ciudad de México, en comparación con los jóvenes, pueden deberse a una respuesta biológica deficiente o a un proceso adaptativo por la gran producción de EROs, a causa de la contaminación ambiental y al envejecimiento mismo.

La evaluación del EOX oxidativo en la mayoría de las investigaciones se hace por medio de biomarcadores aislados y de manera estática, por lo que quisimos proponer un constructo que fuera más dinámico, empleando los LPO y los componentes de los sistemas antioxidantes intracelulares y extracelulares más fácilmente medibles en una muestra sanguínea, utilizando los valores de corte obtenidos en una población de referencia. De tal manera que se conformó lo que denominamos como deficiencia del sistema antioxidante dividiéndolo en enzimático (DAEN), exógeno (DAEX) o global (DGSA) y lo relacionamos con los niveles altos de LPO ($\geq 0.340 \mu\text{M/L}$) partiendo del concepto de que un buen sistema de defensa antioxidante debe mantener valores bajos de la razón SOD/GPx y valores altos de AT y GAP, y que la evaluación de la razón SOD/GPx ofrece una mejor interpretación del equilibrio entre las enzimas^{80,154,165,166}. Bajo este contexto, se habla de un EOX a diferentes niveles, donde la situación más severa o de mayor riesgo es tener una DGSA, ya que se propiciaría una mayor oxidación de biomoléculas. En los resultados pudimos observar que son más los adultos mayores del área urbana con DAEN ($p < 0.01$), concordante con lo expresado anteriormente. Con esta propuesta, los resultados confirman que los habitantes mayores de la ciudad de México tienen 15% más EOX que en la rural y la razón de momios (RM) para el estilo de vida urbano es 1.83, estadísticamente significativa; por lo que nuestro constructo constituye una propuesta más holística ya que toma en cuenta el daño oxidativo y el balance del sistema antioxidante en sus dos niveles, enzimático y exógeno, confirmado lo observado con los biomarcadores de forma individual. En este sentido, Lasheras y cols. (2002)¹⁶⁷ analizaron la posible interacción entre los diferentes antioxidantes liposolubles considerando la actividad enzimática antioxidante, reportando que hay un efecto sinérgico *in vivo* entre los componentes liposolubles y la actividad alta de la SOD eritrocitaria, concordante con lo observado en nuestro estudio.

Analizando los factores de riesgo para LPO elevados, observamos que el sexo masculino es un factor de riesgo, aunque por el tamaño de la muestra no fue estadísticamente significativo. Al respecto, previamente en nuestro grupo de investigación se encontró que los hombres tienen significativamente mayor daño oxidativo al ADN en linfocitos que las mujeres⁶¹.

Por otro lado, con nuestros datos se confirma que la edad (≥ 60 años) es un factor de riesgo para los LPO altos, aunque el área urbana es el factor más importante. Cabe destacar que el dormir ≤ 6 h también es un factor de riesgo significativo. Debido a que la edad es un factor de confusión, se estratificó por grupo de edad conservándose el riesgo de vivir en la ciudad de México y dormir ≤ 6 h, por lo que constituyen factores de riesgo para los AM; de ahí que con estos resultados se establece que los adultos mayores residentes de la ciudad de México tienen una capacidad antioxidante baja con una elevación en la peroxidación lipídica y que probablemente han desarrollado una respuesta adaptativa al estilo de vida urbano, considerando que son sujetos supervivientes con condiciones de salud similares o mejores que los residentes de otros estados de la República Mexicana¹⁶². Así mismo, el riesgo para EOx se incrementa en los sujetos del sexo masculino, ≥ 60 años y que duermen ≤ 6 h.

Es importante señalar que aún con estos resultados desventajosos para los adultos mayores residentes de la ciudad de México, recientemente se ha reportado que el ozono, como principal contaminante, no muestra un efecto importante en la mortalidad, aún estratificando por condiciones socioeconómicas deficientes, debido a una variedad de interacciones individuales y de grupo que influyen el riesgo de muerte en un momento dado¹⁶⁸.

VIII.2 Estado de salud y estilo de vida

Las enfermedades crónicas en la vejez y sus repercusiones en la funcionalidad física, mental y social pueden constituir una carga sanitaria y financiera onerosa para la persona adulta mayor, la familia y el sistema de atención a la salud. En este sentido, la presencia de enfermedades y estado depresivo no patológico en los senectos de ambas áreas es semejante, por lo que tener una enfermedad relacionada con radicales libres o tener cambios de humor depresivo, no parecen mostrar diferencia en cuanto al EOx; sin embargo, la proporción de sujetos con hipertensión arterial (HTA) fue mayor en el área urbana que en la rural, sin ser esta diferencia estadísticamente significativa ($p > 0.05$). Al respecto, en la encuesta SABE, la HTA fue notificada por una de cada 2 personas de 60 años y más¹⁶⁹, y en México en la Encuesta Nacional de Salud (ENSA) 2000 se detectó una prevalencia de HTA del 57% y 60 % en hombres de 60 a 69 años y de ≥ 70 años respectivamente, así mismo en las mujeres de 60 a 69 se observó un 48%, en las de 70 a 79 un 46% y en las de 80 años y más un 43%¹⁷⁰, por lo que la proporción encontrada en este estudio está por debajo de la reportada a nivel nacional. Por otro lado, se reporta una prevalencia de 21.9% en una población rural marginada del estado de Durango, semejante a la observada en este trabajo (24%) e inferior a la reportada para áreas urbanas, por lo que los autores sugieren que la HTA se relaciona con el grado de desarrollo de las comunidades¹⁷¹.

Con respecto a la diabetes mellitus (DM), la proporción encontrada fue menor a la reportada a nivel nacional en la ENSA 2000, que indica una prevalencia en mujeres del 24% (60 a 69 años), 25% (70 a 70 años) y 15% (≥ 80 años) y en hombres un 20% (60 a 69 años), 19% (70 a 79 años) y 11% (≥ 80 años)¹⁷⁰. Así mismo, es discordante con lo reportado por Lerman y cols. (1998)¹⁷² que encontraron una mayor prevalencia de diabetes mellitus entre los adultos mayores residentes de la ciudad de México en contraste con los de un área rural.

De igual manera, con relación al estado cognitivo, en este estudio los resultados obtenidos confirman que los cambios en las funciones cognitivas que han sido reportados en la literatura como normales en el envejecimiento, se encuentran presentes en ambas poblaciones^{173,174}, sin mostrar una diferencia estadísticamente significativa, lo que contrasta con un estudio de tamizaje realizado por nuestro grupo de investigación en personas adultas mayores, aparentemente sanas, en donde se encontró un 13.5% de deterioro cognitivo en adultos mayores con residencia en el área urbana en comparación con un 3% del área rural¹⁷⁵. La proporción de senectos con deterioro cognitivo es también más elevada comparando con los resultados de la encuesta SABE que reporta para la ciudad de México el 8% en las personas de 60–74 años y 20% para las ≥ 75 años¹⁷⁶. A este respecto, recientemente McKahann (2002)¹⁷⁷ ha sugerido que la actividad física y el enriquecimiento ambiental que permite una actividad mental, mitigan el efecto del deterioro cognitivo por la edad a través de un proceso de neurogénesis, apoyando nuestros hallazgos puesto que los senectos de ambos grupos son funcionales. Por otro lado, se pudo observar que el EOx está relacionado con la presencia de enfermedades crónico-degenerativas, pero sólo en el área urbana, aunque analizando por enfermedad no se observa ninguna diferencia.

Por otro lado, la funcionalidad física de los adultos mayores del grupo urbano en todos sus componentes, paradójicamente es mejor que la del grupo rural; ésta es considerada más compleja que los mecanismos celulares o moleculares del envejecimiento debido a que involucra los componentes ambientales, genéticos y el estilo de vida, demostrándose que conforme aumenta la edad se va perdiendo la capacidad de ejecución principalmente en las actividades de la vida diaria (AVD)^{178,179}. En este trabajo encontramos que los habitantes de la ciudad de México eran funcionales del 98–100% y los de Actopan del 91–100% en las AVD; al respecto, en el estudio SABE, para la población mexicana, se reportó que del 80–90% de las personas de 60 a 74 años y del 61–76% de los ≥ 75 años no presentan limitaciones en las actividades básicas de la vida diaria (bañarse, vestirse, usar el inodoro, movilizarse y alimentarse)¹⁷⁶. También en este estudio se evaluaron los factores relacionados con el entorno físico, social y de actitudes que condicionan la funcionalidad de las personas adultas mayores, tales como dificultad para realizar trabajo familiar pesado, caminar un kilómetro, estar sentado por 1 hora, levantarse de una silla después de estar sentado por tiempo prolongado, subir las escaleras de uno o más pisos, agacharse y levantar 5 kilos de peso, reportando el mayor porcentaje de limitaciones físicas en lo referente a no poder levantar un objeto pesado (38 vs. 54%), seguido por la dificultad de agacharse (37 vs. 52%), con desventaja para los del área rural. En el estudio SABE, para la población mexicana, se reportó como primera dificultad no poder agacharse (33 a 56%),

seguido de levantarse de las silla después de estar sentado por tiempo prolongado (26 a 44 %) ¹⁷⁶; por lo que, aunque con más limitaciones los de la zona rural, los adultos mayores de nuestro estudio tienen menor dificultad que los del estudio multicéntrico. Por otro lado, Pennathur y cols. (2003) ¹⁷⁹ demostraron, en un grupo de adultos mayores México-norteamericanos, que la edad y el sexo tienen un efecto significativo en las AVD ya que, principalmente las mujeres, tienen dificultad para alcanzar las alacenas de la cocina, además de subir y bajar escaleras (70% y 53%, respectivamente); en nuestro estudio, dado el tamaño de la muestra, no se pudo establecer alguna diferencia al respecto. Es importante resaltar la necesidad de que los adultos mayores mantengan su funcionalidad física, pues en estudios recientes se ha demostrado que la inactividad física es un factor de riesgo para la discapacidad y la morbi-mortalidad ^{180,181}.

Con estos resultados se podría plantear la hipótesis de que los adultos mayores del área urbana se han adaptado al medio y a los altos niveles de EOX, manteniéndose funcionales. En este sentido, el estudio del envejecimiento a nivel rural y urbano es un tema de relevancia internacional sobretodo en países en desarrollo. Algunos mitos sobre la población adulta mayor residente en áreas rurales se han extendido, como el que establece que "los adultos mayores en áreas rurales tienen mejor salud y una vida con mayores satisfactores que la población de áreas urbanas, por lo tanto requiere de menor servicios"; sin embargo, Cowart y Krout (1998) ¹⁸², señalan que los adultos mayores de las áreas rurales de los Estados Unidos de Norteamérica, tienen más limitaciones funcionales de salud, más dificultades para realizar las actividades de la vida diaria, un mayor número de condiciones médicas y una más baja auto evaluación de salud que su contraparte del área urbana, debido a que en las áreas rurales se vive en comunidades donde el tejido social y la economía no pueden apoyar los servicios y las oportunidades necesarios para una total participación social de los mayores. Además muchas comunidades rurales han sufrido despoblamiento y pérdida de empleos y las economías han luchado ante el cambio del mercado nacional y global. Así mismo, Higgs (1999) ¹⁸³ en una revisión crítica de la literatura señala que la percepción de que los habitantes de áreas rurales tienen mejor salud se ha propuesto de manera muy simplista, ya que la tendencia actual es que los que viven en las áreas urbanas gozan de una salud aceptable.

Un hallazgo interesante fue la correlación positiva entre los niveles de lipoperóxidos y de glucosa, independientemente de la presencia o no de alguna enfermedad relacionada con el EOX. Existe basta literatura que muestra que los sujetos diabéticos tienen los niveles de LPO incrementados, pero son escasas las investigaciones con sujetos clínicamente sanos. Se observa una mejor correlación en los sujetos diabéticos-hipertensos ($r = 0.454$) y menor en los hipertensos, pero al final, todas son positivas. Al respecto, Trevisan y cols. (2001) ¹⁸⁴ reportaron una correlación fuertemente positiva ($r = 0.470$) entre ambos componentes, reconociendo que hay una gran asociación entre la distribución plasmática de glucosa y los marcadores de EOX. Una posible explicación de esta relación es que, por el proceso de envejecimiento, la glucosa no entra en suficiente cantidad a la célula y la poca que entra se utiliza para obtención de energía, que es el requerimiento principal en la célula, y muy poca se emplea en el ciclo de las pentosas que es la principal fuente de obtención de

compuestos reductores, provocando un déficit de éstos que lleva a un incremento en los LPO.

Del análisis de regresión lineal múltiple entre los marcadores de EOx y los factores pro-oxidantes observamos que las correlaciones son diferentes dependiendo del área y que el marcador más afectado es LPO. Los LPO de los mayores del área rural mostraron una correlación negativa con las horas de sueño, pudiéndose pensar que cuando se está en un ambiente "tranquilo no estresante" como el que se observa en el área rural, el no dormir más de 6 horas produce un incremento de LPO. En este sentido, es conocido que durante el sueño se elimina el exceso de RL generados durante el estado de vigilia y el papel más importante lo juega la hormona melatonina, de la cual se ha demostrado es un potente antioxidante involucrado en el proceso de envejecimiento cerebral. Al respecto, recientemente se ha reportado que la regulación del sueño puede depender críticamente del ambiente oxidativo en el cerebro, lo mismo que los procesos de aprendizaje y memoria¹⁸⁵, llevando a los adultos mayores a deterioro; además, se reporta que dormir sólo 5 o 6 h/noche provocan alteraciones en la funcionalidad psicomotora, el humor y la capacidad cognitiva¹⁸⁶. Así mismo, en un trabajo realizado previamente por nuestro grupo de investigación se encontró que dormir ≤ 6 h es un factor de riesgo para LPO altos en la etapa adulta, indistintamente de la edad¹⁸⁷.

Finalmente, los LPO correlacionaron estadísticamente con el IMC que se traduce en obesidad en el grupo urbano. Los factores considerados como tradicionalmente de riesgo (tabaquismo e ingesta de alcohol) no resultaron significativos; a este respecto, Trevisan y cols. (2001)¹⁸⁴ tampoco encontraron evidencia de asociación entre el tabaquismo y la ingesta de alcohol con los LPO, justificando que son pocos los estudios que han encontrado relación entre el EOx y el tabaquismo, y que los que han reportado asociación con la ingesta de alcohol lo han hecho en alcohólicos crónicos, características que no tienen las poblaciones de nuestra investigación ya que la mayoría de los AM ha dejado de fumar y la ingesta de alcohol es de tipo social. Además, es importante resaltar que el alcohol en dosis bajas (1–2 copas/día) puede ser benéfico ya que tiene un efecto de hormesis¹⁴⁹ y es considerado un antioxidante, ya que está científicamente aceptado que el efecto del alcohol en la mortalidad total sigue una curva de forma J, en la cual con una ingesta moderada de etanol se reduce ésta con relación a la ausencia o exceso de alcohol, en cuyos casos aumenta,^{188,189}

IX. CONCLUSIONES

Hipótesis

Considerando que la contaminación ambiental y el estilo de vida caracterizado por: tabaquismo, ingesta de alcohol, sedentarismo, pocas horas de sueño y obesidad, son factores pro-oxidantes, suponemos que los ancianos con residencia en la ciudad de México tendrán mayor estrés oxidativo y mayor frecuencia de padecimientos crónico degenerativos que los ancianos con residencia en el área rural.

Conclusiones

- Dado que no se encontró en la literatura un constructo para definir el estrés oxidativo, se denominó EOx si el valor de los lipoperóxidos plasmáticos se encontraba $\geq 0.340 \mu\text{mol/L}$ y se tenía alguna deficiencia en el sistema antioxidante, partiendo de los siguientes conceptos: sistema antioxidante eficiente (SAE) cuando la razón SOD/GPx, AT y GAP se encontraban dentro de valores de referencia (≤ 0.022 , ≥ 0.081 y $\geq 169 \mu\text{mol/L}$, respectivamente); deficiencia antioxidante enzimática (DAEN) si la razón SOD/GPx estaba incrementada y la defensa exógena se encontraba dentro de rango de referencia; deficiencia antioxidante exógena (DAEX) si los AT y GAP estaban disminuidos y la razón SOD/GPx en rango normal; y, finalmente, deficiencia global del sistema antioxidante (DGSA) si los componentes de ambas partes se encontraban en niveles más bajos de lo estipulado como valores de corte.
- Con este constructo se encontró que los habitantes de la ciudad de México presentan mayor estrés oxidativo que los residentes del área rural, principalmente los adultos mayores, que mostraron niveles de lipoperóxidos altos con una deficiente respuesta antioxidante enzimática.
- No se observó una diferencia en la frecuencia de padecimientos crónico degenerativos, aunque hay una tendencia de que en el área urbana la frecuencia de hipertensión arterial y diabetes mellitus es mayor.
- Aunque la contaminación ambiental y el estilo de vida estresante de la ciudad de México son determinantes del mayor estrés oxidativo en los adultos mayores residentes de la ciudad de México, éste no influye significativamente en la prevalencia de padecimientos crónicos degenerativos en la población gerontológica.

Hipótesis

Tomando en cuenta la asociación de la producción excesiva de los radicales libres con la fisiopatología de los padecimientos crónico degenerativos, suponemos que el grado de estrés oxidativo se asociará con el número y/o gravedad de la patología y el estado de salud de los ancianos en estudio.

Conclusiones

- No se encontró una asociación entre el grado de estrés oxidativo y la gravedad de los padecimientos crónico degenerativos, sin embargo se pudo observar que existe una tendencia para que los adultos mayores de la ciudad de México con alguna enfermedad crónico degenerativa tengan los lipoperóxidos por arriba del valor de corte ($0.340 \mu\text{mol/L}$). También se encontró una correlación positiva entre los niveles de lipoperóxidos y los de glucosa, independientemente de la presencia o no de patología relacionada con el EOx, lo que demuestra una asociación entre la distribución plasmática de glucosa y los marcadores de EOx.
- En cuanto a la funcionalidad física, se observaron mayores limitaciones en los residentes del área rural, por lo que inferimos que los adultos mayores del área urbana tienen una respuesta antioxidante eficiente, que se traduce en una mejor adaptación al medio ambiente con mayor funcionalidad física.

Hipótesis

Con fundamento en las evidencias científicas respecto a que la contaminación ambiental y el estilo de vida agitado de la ciudad de México incrementan el estrés oxidativo, suponemos que el lugar de residencia urbano constituye un factor de riesgo para niveles de lipoperóxidos plasmáticos altos con mayor predominio en los adultos mayores.

Conclusiones

- Los factores de riesgo para el estrés oxidativo evaluado a través de los niveles de lipoperóxidos altos ($\geq 0.0340 \mu\text{mol/L}$) fueron: el área urbana, edad ≥ 60 años y dormir ≤ 6 h/día. En el análisis multivariado cuantitativo se observó una correlación negativa con las horas de sueño.
- Con esto se confirma que el lugar de residencia urbano y no dormir más de 6 horas, principalmente cuando se está en un ambiente "tranquilo no estresante", constituyen factores de riesgo para lipoperóxidos altos en los adultos mayores.

X. PERSPECTIVAS

- Es conveniente llevar a cabo un estudio longitudinal haciendo el seguimiento de los marcadores de estrés oxidativo, incluyendo el daño al ADN y la capacidad de reparación, para determinar si el incremento en el estrés oxidativo de los habitantes del área urbana lleva a un mayor deterioro en el estado de salud y agravamiento de los padecimientos crónico degenerativos ya existentes en los adultos mayores.
- Una segunda parte de la investigación debe considerar la inclusión de adultos mayores con padecimientos crónicos degenerativos en diferentes estadios de gravedad para corroborar la relación entre éstos y el estrés oxidativo.
- Los resultados apoyan la posibilidad de llevar a cabo ensayos clínicos con el fin de evaluar la utilidad de antioxidantes suplementarios (vitaminas A, C y E) en grupos de ancianos con residencia en la ciudad de México y/o con padecimientos crónico degenerativos, para la prevención y/o recuperación del daño oxidativo, así como sus repercusiones clínicas.

XI. REFERENCIAS

1. Semsei I. On the nature of aging. *Mech Ageing Dev* 2000; 117:93-108.
 2. Harman D. The aging process. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981; 78:7124-7128.
 3. Strehler B, North D. Cell-type specific codon usage and differentiation. *Mech Ageing Dev* 1982; 18:285-313.
 4. Seeman TE, Singer BH, Riff CD, Love GD, Levy-Storms L. Social relationships, gender, and allostatic load across two age cohorts. *Psychosom Med* 2002; 64:395-406.
 5. McEwen BS. Allostasis, allostatic load, and the aging nervous system: role of excitatory aminoacids and excitotoxicity. *Neurochem Res* 2000; 25:1219-1231.
 6. McEwen BS. Sex, stress and hippocampus: allostasis, allostatic load and the aging process. *Neurobiol Aging* 2002; 23:921-939.
 7. Seeman TE, McEwen BS, Rowe JW, Singer BH. Allostatic load as a marker of cumulative biological risk: MacArthur studies of successful aging. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 4770-4775.
 8. Karlamangla AS, Singer BH, McEwen BS, Rowe JW, Seeman TE. Allostatic load as a predictor of functional decline MacArthur studies of successful aging. *J Clin Epidemiol* 2002; 55: 696-710.
 9. Johnson FB, Sinclair DA, Guarente L. Molecular biology of aging. *Cell* 1999; 96: 291-302.
 10. Rowe JW, Kahan RL. Human aging: usual and successful. *Science* 1987; 237: 143-149.
 11. Verbrugge LM. Survival curves, prevalence rates and dark matter therein. *J Aging Health* 1991; 3: 217.
 12. Buchner DM, Wagner EH. Preventing frail health. *Clin Ger Med* 1992; 8: 1-6.
 13. Campbell J, Buchner DM. Unstable disability and the fluctuations of frailty. *Age Ageing* 1997; 26: 315-318.
 14. Hamerman D. Toward an understanding of frailty. *Ann Intern Med* 1999; 130: 945-950.
 15. Wickens AP. Ageing and the free radical theory. *Respir Physiol* 2001; 128: 379-391.
 16. Harman D. Free radical theory of aging. *Mutat Res* 1992; 275: 257-266.
 17. Halliwell B. Reactive oxygen species in living systems: source biochemistry, and role in human. *Am J Med* 1991; 91 Suppl 3C: 14S-22S.
 18. Halliwell B, Gutteridge JMC, Cross CE. Free radicals, antioxidants, and human disease: Where are we now? *J Lab Clin Med* 1992; 119: 598-620.
 19. Chesseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull* 1993; 49: 481-493.
 20. Gutteridge J. Free radicals and aging. *Rev Clin Gerontol* 1994; 4: 279-288.
 21. Rodríguez-Perón JM, Menéndez-López JR, Trujillo-López Y. Radicales libres en la biomedicina y estrés oxidativo. *Rev Cubana Med Milit* 2001; 30: 36-44.
 22. Finkel T, Holbrook NJ. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature* 2000; 408: 239-247.
 23. Knight JA. Free radicals: their presence in biological systems. In: *Free radicals, antioxidants, aging, & disease*. Washington: AACC Press; 1999. p. 21-43.
-
-

24. Dröge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev* 2002; 82: 48-95.
25. Maxey K, Johnson J. NO: recent developments. *Cayman Currents* 2002; 11: 1-5.
26. Kumagai Y, Shimojo N. Possible mechanisms for induction of oxidative stress and suppression of systemic nitric oxide production caused by exposure to environmental chemicals. *Environ Health Prevent Med* 2002; 7: 141-150.
27. Gutteridge JMC. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem* 1995; 41: 1819-1828.
28. Ames BN, Shigenago MK, Hagen TM. Oxidants, antioxidants, and degenerative diseases of aging. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 7915-7922.
29. Aust AE, Eveleigh JF. Mechanisms of DNA oxidation. *Proc Soc Exp Biol Med* 1999; 222: 246-252.
30. Sohal RS, Weindruch R. Oxidative stress, caloric restriction, and aging. *Science* 1996; 273: 59-63.
31. de Zwart LL, Meerman JHN, Commandeur JNM, Vermeulen NPE. Biomarkers of free radical damage applications in experimental animals and in humans. *Free Radic Biol Med* 1999; 26: 202-226.
32. González-Torres MC, Betancourt-Rule M, Ortiz-Muñiz R. Daño oxidativo y antioxidantes. *Bioquímica* 2000; 25: 3-9.
33. Floyd RA, Carney JM. Free radical damage to protein and DNA: mechanisms involved and relevant observations on brain undergoing oxidative stress. *Ann Neurol* 1992; 32: S22-S27.
34. Holbrook NJ, Ikeyama Sh. Age-related decline in cellular response to oxidative stress: links to growth factor signaling pathways with common defects. *Biochem Pharmacol* 2002; 64: 999-1005.
35. Halliwell B. The definition and measurement of antioxidants in biological systems. [Letter] *Free Radic Biol Med* 1995; 18: 125-126.
36. Niki E. Action of antioxidants against oxidative stress. En: Dizdaroglu M, Karataya AE [Eds]. *Advances in DNA damage and repair*. New York: Kluwer Academic/ Plenum Publishers; 1999. p. 313-318.
37. Noguchi N, Niki E. Chemistry of active oxygen species and antioxidants. In: Papas AM. *Antioxidant status, diet, nutrition, and health*. New York: CRC Press; 1999. p. 3-20.
38. Sack RL. Melatonin. *Science & Medicine* 1998; 5 (5): 8-17.
39. Liehr JC, Roy D. Pro-oxidant and antioxidant effects of estrogens. In: Armstrong D [Ed]. *Free radical and antioxidant protocols*. New Jersey: Humana Press. 1998; p. 425-435.
40. Rusting LR. Why do we age? *Sci Am* 1992; 367 (6): 86-95.
41. Gerschman R. Oxygen poisoning and X-irradiation. A mechanism in common. *Science* 1954; 119: 623-626.
42. Lee H-C, Lu Ch-Y, 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.
43. Leanderson P, Tagesson C. Cigarette smoke-induced DNA-damage: role of hidroquinone and catechol in the formation of the oxidative DNA-adduct, 8-hidroxydeoxyguanosine. *Chem Biol Interact* 1990; 75: 71-81.

44. Cederbaum AI. Alcohol, oxidative stress and cell injury. *Free Radic Biol Med* 2001; 31: 1524-1526.
45. Brooks PJ. DNA damage, DNA repair, and alcohol toxicity-a review. *Alcohol Clin Exp Res* 1997; 21: 1073-1082.
46. Javanovic SV, Simic MG. Antioxidants in nutrition. *Ann NY Acad Sci* 2000; 899: 326-334.
47. Guo ZM, Yang H, Hamilton ML, Van Remmen H, Richardson A. Effects of age and food restriction on oxidative DNA damage and antioxidant enzyme activities in the mouse aorta. *Mech Ageing Dev* 2001; 122: 1771-1786.
48. Jennings BJ, Ozanne SE, Hales CN. Nutrition, oxidative damage, telomere shortening, and cellular senescence: individual or connected agents of aging? *Mol Gen Metab* 2000; 71: 32-42.
49. Cheng T, Zhu Z, Masuda S, Morcos NC. Effects of multinutrient supplementation on antioxidant defense systems in healthy human's beings. *J Nutr Biochem* 2001; 12: 388-395.
50. D'Almeida V, Hipólido DC, Lobo LL, de Oliveira AC, Nobrega JN, Tufik S. Melatonin treatment does not prevent decreases in brain glutathione levels induced by sep deprivation. *Eur J Oharmacol* 2000; 390: 299-302.
51. Drew KL, Toiren O, Rivera PM, Smith MA, Perry G, Rice ME. Role of the antioxidant ascorbate in hibernation and warning from hibernation. *Com Biochem Physiol Part C* 2002; 133: 483-492.
52. Drew KL, Rice ME, Kuhn TB, Smith MA. Neuroprotective adaptations in hibernation: therapeutic implications for ischemia-reperfusion, traumatic brain injury and neurodegenerative diseases. *Free Radic Biol Med* 2001; 31: 563-573.
53. Galunska B, Marazova K, Yankova T, Popov A, Frangov P, Krushkov I, Massa AD. Effect of paracetamol and proparacetamol on gastric mucosal damage and gastric lipid peroxidation caused by acetylsalicylic acid (ASA) in rats. *Pharmacol Res* 2002; 46: 141-148.
54. Minamide Y, Horie T, Tomaru, Awasu S. Spontaneous chemiluminescence production, lipid peroxidation, and covalent binding in rat hepatocytes exposed to acetaminophen. *J Pharm Sci* 1998; 87: 640-646.
55. Quiles JL, Huertas JR, Battino M, Mataix J, Ramírez-Tortosa MC. Antioxidant nutrients and adriamycin toxicity. *Toxicology* 2002; 180: 79-95.
56. Christensen K, Orstavic KH, Vaupel JW. The X chromosome and the female survival advantage. *Ann NY Acad Sci* 2001; 954: 175-183.
57. Lee T-M, Su Sh-F, Tsai Ch-Ch, Lee Y-T, Tsai CH-Her. Cardioprotective effect of 17 β -estradiol produced by activation mitochondrial ATP-sensitive K⁺ channels in canine hearts. *J Mol Cell Cardiol* 2000; 32: 1147-1158.
58. Green PS, Simpkins JW. Neuroprotective effects of estrogens: potential mechanisms of action. *Int J Devl Neuroscience* 2000; 18: 3471-3478.
59. Lavoie J-C, Chessex P. Gender and maturation affect glutathione status in human neonatal tissues. *Free Radic Biol Med* 1997; 23: 648-657.
60. Habif S, Mutaf I, Turgan N, Onur E, Duman C, Özmen D, Bayindir O. Age and gender dependent alterations in the activities of glutathione related enzymes in healthy subjects. *Clin Biochem* 2001; 34: 667-671.

61. Mendoza-Núñez VM, Sánchez-Rodríguez M, Retana-Ugalde R, Vargas-Guadarrama LA, Altamirano-Lozano M. Total antioxidant levels, gender, and age as risk factors for DNA damage in lymphocytes of the elderly. *Mech Ageing Dev* 2001; 122: 835-847.
62. Toussaint O. Brain cell death in stress and in aging: role of oxidative stress and energy metabolism. *Ann New York Acad* 1998; 851: 430.
63. Herbert J. Fortnightly review: stress, the brain, and mental illness. *Brit Med J* 1997; 315: 530-535.
64. Peakall DB, Walker CH. The role of biomarkers in environmental assessment (3). *Vertebrates. Ecotoxicology* 1994; 3: 173-179.
65. Handy RD, Galloway TS, Depledge MH. A proposal for the use of biomarkers for the assessment of chronic pollution and in regulatory toxicology. *Ecotoxicology* 2003; 12: 331-343.
66. Mayne ST. Antioxidant nutrients and chronic disease: use of biomarkers of exposure and oxidative stress status in epidemiologic research. *J Nutr* 2003; 133: 933S-940S.
67. Meagher EA, FitzGerald GA. Indices of lipid peroxidation in vivo: strengths and limitations. *Free Radic Biol Med* 2000; 28: 1745-1750.
68. Morrow JD, Roberts LJ. The isoprostanes: unique bioreactive products of lipid peroxidation. *Prog Lipid Res* 1997; 36: 1-21.
69. Moore K, Roberts II J. Measurement of lipid peroxidation. *Free Rad Res* 1998; 28: 659-671.
70. Stadman ER. Importance of individuality in oxidative stress and aging. *Free Radic Biol Med* 2002; 33: 597-604.
71. Halliwell B. Establishing the significance and optimal intake of dietary antioxidants: the biomarker concept. *Nutr Rev* 1999; 57: 104-113.
72. Ghiselli A, Serafini M, Natella F, Scaccini C. Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: critical view and experimental data. *Free Radic Biol Med* 2000; 29: 1106-1114.
73. Prior RL, Cao G. In vivo total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods. *Free Radic Biol Med* 1999; 27: 1173-1181.
74. Duthie GG. Determination of activity of antioxidants in human subjects. *Proc Nutr Soc* 1999; 58: 1015-1024.
75. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free radicals in Biology and Medicine*. 2nd Ed. London: Oxford University Press; 1995. p. 86-276.
76. Browne RW, Armstrong D. Simultaneous determination of serum retinol, tocopherols, and carotenoids by HPLC. In: Armstrong D [Ed]. *Free radical and antioxidant protocols*. New Jersey: Humana Press; 1998. p. 269-284.
77. Levine M, Rumsey S, Wang Y, Park J, Kwon O, Xu W, Amano N. Vitamina C. En Ziegler EE, Filer LJ. *Conocimientos actuales sobre nutrición*. 7^a Ed. Washington: OPS Publicación científica 565; 1997. p. 155-169.
78. Handelman GJ, Pryor WA. Evaluation of antioxidant status in humans. In: Papas AM. *Antioxidant status, diet, nutrition, and health*. Washington: CRC Press; 1999. p. 42-43.
79. Mecocci P, Fanó G, Fulle S, MacGarvey U, Shinobu L, Polidori MC, Cheribini A, Vecchiet J, Senin U, Beal MF. Age-dependent increases in oxidative

- damage to DNA, lipids, and proteins in human skeletal muscle. *Free Radic Biol Med* 1999; 26: 303-308.
80. Muchová J, Sustrová M, Garajová I, Liptáková A, Blazíček P, Kvasnicka P y cols. Influence of age on activities of antioxidant enzymes and lipid peroxidation products in erythrocytes and neutrophils of Down Syndrome patients. *Free Radic Biol Med* 2001; 31: 499-508.
 81. Yaar M. Mechanisms of aging. [Editorial] *Arch Dermatol* 2002; 138: 1429-1432.
 82. Kawanishi S, Hiraku Y, Oikawa S. Mechanism of guanine-specific DNA damage by oxidative stress and its role in carcinogenesis and aging. *Mutat Res* 2001; 488: 65-76.
 83. Tice RR. Aging and DNA-repair capability. En Schneider EL. *The genetics of aging*. New York: Plenum Press 1978; p. 53-81.
 84. Ganculy BB. Cell division chromosomal damage and micronucleos formation in peripheral lymphocytes of healthy donors: related to donor's age. *Mutat Res* 1993; 295: 165-179.
 85. Retana-Ugalde R, Altamirano-Lozano M, Mendoza-Núñez VM, Molina-Álvarez B. Daño al ADN como posible predictor de fragilidad en el proceso de envejecimiento. *Tópicos de Investigación y Posgrado* 1997; 5: 180-184.
 86. King CM, Bristow-Craig HE, Gillespie ES, Barnett YA. *In vivo* antioxidant status, DNA damage, mutation and DNA repair capacity in cultured lymphocytes from healthy 75-to 80 years-old humans. *Mutat Res* 1997; 377: 137-147.
 87. Klapcinsk B, Derejczyk J, Wieczorowska-Tobis K, Sobczak A, Sadowska-Krepa E, Danch A. Antioxidant defense in centenarians (a preliminary study). *Acta Biochim Pol* 2000; 47: 281-292.
 88. de Benedictis G, Rose G, Carrieri G, de Luca M, Falcone E, Passarino G, Bonafé M, Monti D, Baggio G, Bertolini S, Mari D, Matase R, Franceschi C. Mitochondrial DNA inherited variants are associated with successful aging and longevity in humans, *FASEB J* 1999; 13: 1532-1536.
 89. 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.
 90. Mendoza-Núñez 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.
 91. Kagawa Y. Impact of westernization on the nutrition of Japanese: Changes in physique, cancer, longevity and centenarians. *Prev Med* 1978; 7: 205-217.
 92. Miller GT Jr. Los ecosistemas: ¿qué son y cómo funcionan? En: *Ecología y medio ambiente*. México: Grupo Editorial Iberoamérica; 1994. p. 87-91.
 93. Collins KJ. Retrospective. Physiological variation and adaptability in human populations. *Ann Hum Biol* 1999; 26: 19-38.
 94. Benson KR. The emergence of ecology from natural history [Abstract]. *Endeavour* 2000; 24: 59-62.
 95. Miller GT Jr. Población, recursos, degradación ambiental y contaminación. En: *Ecología y medio ambiente*. México: Grupo Editorial Iberoamérica; 1994. p. 2-34.
 96. Goulding MR, Rogers ME. Public Health and aging: trends in aging—United States and worldwide. [Comment] *JAMA* 2003; 289: 1371-1373.

-
97. Carnes B, Olshansky SJ. Heterogeneity and its biodemographic implications for longevity and mortality. *Exp Gerontol* 2001; 36: 419-430.
 98. Blunkner M. Environmental change and the aging individual. *Gerontologist* 1967; 7: 101-105.
 99. Duncan LE Jr. Ecology and aging. *Gerontologist* 1968; 8: 80-83.
 100. Barrows CH Jr. Ecology of aging and of the aging process- biological parameters. *Gerontologist* 1968; 8: 84-87.
 101. Conner JF. The ecology of the aging process and of the aging human- medical care parameters. *Gerontologist* 1968; 8: 88-93.
 102. Albrecht RE. The sociological parameters in the ecology of the aging process and of the aging human. *Gerontologist* 1968; 8: 94-99.
 103. Osterbind CC. Economic parameters that are fundamental in the ecology of the aging human. *Gerontologist* 1968; 8: 100-103.
 104. Brown V. The effects of poverty environments on elders' subjective well-being: a conceptual model. *Gerontologist* 1995; 35: 541-548.
 105. Schell LW, Denham M. Environmental pollution in urban environments and human biology. *Annu Rev Anthropol* 2003; 32: 111-134.
 106. Resano-Pérez E, Olaiz-Fernández G. Las personas de 50 y más años. En: Salgado de Zinder VN, Wong R (Eds). *Envejeciendo en la pobreza. Género, salud y calidad de vida*. México: Instituto Nacional de Salud Pública; 2003. p. 23-36.
 107. Lawrence RJ. Urban health: an ecological perspective. *Res Environ Health* 1999; 14: 1-10.
 108. Vogel-Martínez E, Rivas-Rodríguez ER. Contaminación, contaminantes y ambiente. En: Enkerlin EC, Cano G, Garza RA, Vogel E. *Ciencia ambiental y desarrollo sostenible*. México: International Thomson Editores; 1997. p. 371-383.
 109. Schwartz J. Air pollution and daily mortality: a review and meta analysis. *Environ Res* 1994; 64: 36-52.
 110. Dockery DW, Pope CA III, Xu X, Spengler JD, Ware JH, Fay ME, Ferris Jr BG, Speizer FE. An association between air pollution and mortality in six cities. *N Engl J Med* 1993; 329: 1753-1959.
 111. Harrison RM, Thornton CA, Lawrence RG, Mark D, Kinnersley RP, Ayres JG. Personal exposure monitoring of particulate matter, nitrogen dioxide, and carbon monoxide, including susceptible groups. *Occup Environ Med* 2002; 59: 671-679.
 112. Donaldson K, Stone V, Clouter A, Renwick L, MacNee W. Ultrafine particles. *Occup Environ Med* 2001; 58: 211-216.
 113. Monn Ch, Becker S. Cytotoxicity and induction of proinflammatory cytokines from human monocytes exposed to fine (PM_{2.5}) and coarse particles (PM_{10-2.5}) in outdoor and indoor air. *Toxicol Appl Pharmacol* 1999; 155: 245-252.
 114. Stone V. Environmental air pollution. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162: S44-S47.
 115. Brunekreef B, Holgate ST. Air pollution and health. *Lancet* 2002; 360: 1233-1242.
-

-
116. Brook RD, Brook JR, Urch B, Vincent R, Rajagopalan S, Silverman F. Inhalation of fine particulate air pollution and ozone causes acute arterial vasoconstriction in healthy adults. *Circulation* 2002; 105: 1534-1536.
 117. Brook RD, Brook JR, Rajagopalan S. Air pollution: the "hearth" of the problem. *Curr Hypertens Rep* 2003; 5: 32-39.
 118. Pope CA III. Epidemiology of fine particulate air pollution and human health: biologic mechanisms and who's at risk? *Environ Health Perspect* 2000; 108 (suppl 4): 713-723.
 119. Suresh Y, Sailaja-Devi MM, Manjari V, Das UN. Oxidant stress, antioxidants and nitric oxide in traffic police of Hyderabad, India. *Environ Pollution* 2000; 109: 321-325.
 120. Abbey DE, Nishinc N, McDonnell W, Burchette RJ, Knutsen SF, Boesck WL, Yang JX. Long-term inhalable particles and other air pollutants related to mortality in nonsmokers. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159: 373-382.
 121. Levy JI, Houseman A, Ryan L, Richardson D, Spengler JD. Particle concentrations in urban microenvironments. *Environ Health Perspect* 2000; 108: 1051-1057.
 122. Rosales-Castillo JA, Torres-Meza VM, Olaiz-Fernández G, Borja-Aburto VH. Los efectos agudos de la contaminación del aire en la salud de la población: evidencias de estudios epidemiológicos. *Salud Publica Mex* 2001; 43: 544-555.
 123. Borja-Aburto VH, Loomis DP, Bangdiwala SI, Shy CM, Rascon-Pacheco RA. Ozone, suspended particulates, and daily mortality in Mexico City. *Am J Epidemiol* 1997; 145: 258-268.
 124. Zanobetti A, Schwartz J, Gold D. Are there sensitive subgroups for the effects of airborne particles? *Environ Health Perspect* 2000; 108: 841-845.
 125. Lerman IG, Villa AR, Llaca-Martínez C, Cervantes-Turrubiatez R, Aguilar-Salinas CA, Wong B, Gómez-Pérez FJ, Gutiérrez-Robledo LM. The prevalence of diabetes and associated coronary risk factors in urban and rural older Mexican populations. *J Am Geriatr Soc* 1998; 46: 1387-1395.
 126. Liang J, Warfel BL. Urbanism and life satisfaction among the aged. *J Gerontol* 1983; 38: 97-106.
 127. Reilly FE. An ecological approach to health risk: a case study of urban elderly homeless people. *Public Health Nurs* 1994; 11: 305-314.
 128. Fernández-Ballesteros R, Izal M, Montorio I, González JL, Díaz P. Ambiente y vejez. En: Evaluación e intervención psicológica en la vejez. Barcelona: Martínez Roca; 1992. p. 195-223.
 129. Guerrero-Guerrero R. Ecología del valle del Mezquital. En: Martínez-Assad C, Sarmiento S (Coord.) Nos queda la esperanza. El valle del Mezquital. México: Consejo Nacional para la Cultura y las Artes; 1991. p. 117-134.
 130. Ballesteros VM, Hernández-Hernández E, Mejía-Lugo JG. Actopan. Disponible en: <http://www.actopan.com/ppal.htm>. Martes 15 de junio del 2004.
 131. Centro Nacional de Investigación y Capacidad Ambiental. Almanaque de datos y tendencias de la calidad del aire en ciudades mexicanas. México: Dirección General de Gestión e Información Ambiental del Instituto Nacional de Ecología. 2000; p. 5-10.
-

132. Botho-Gazpar A. La cultura hñähñü. En: Martínez-Assad C, Sarmiento S (Coord.) Nos queda la esperanza. El valle del Mezquital. México: Consejo Nacional para la Cultura y las Artes. 1991. p. 249-256.
133. Vázquez-Valdivia H, Saldaña-Fernández MC. Comisión Nacional para el desarrollo de los pueblos indígenas. Monografías de los pueblos indígenas. Otomíes del Valle del Mezquital/Hñähñü. Disponible en: <http://www.cdi.gob/conadepi/index.php>. Martes 15 de junio del 2004.
134. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. Información geográfica. Distrito Federal. Disponible en: <http://www.inegi.gob.mx/geo/default.asp?t=&e=09>. Miércoles 5 de enero del 2005
135. Distrito Federal. Disponible en: <http://www.geocities.com/Athens/Parthenon/3234/df.htm>. Miércoles 5 de enero del 2005.
136. Knight JA. The aging process. En Knight JA. Free radicals, antioxidants, aging and disease. Washington: AACCC Press; 1999. p. 62.
137. Dybkar R, Solberg HE. Parte 6. Presentación de valores observados relacionados con los valores de referencia. Acta Bioq Clin Latinoam 1988; 22: 613-621.
138. Laukkanen P, Leskinen E, Kauppinen M, Sakari-Rantala R, Heikkinen E. Health and functional capacity as predictors of community dwelling among elderly people. J Clin Epidemiol 2000; 53: 257-265.
139. Pescatello LS. Exercising for health: the merits of lifestyle physical activity. West J Med 2001; 174: 114-118.
140. Jentzsch AM, Bachmann H, Fürst P, Biesalski HK. Improved analysis of malondialdehyde in human body fluids. Free Radic Biol Med 1996; 20: 251-256.
141. Miller NJ. Nonvitamin plasma antioxidants. En: Armstrong D (Ed). Free radical and antioxidant protocols. New Jersey: Humana Press; 1998. p. 285-297.
142. Jovell AJ. Análisis de regresión logística. Cuadernos Metodológicos. Barcelona: Centro de Investigaciones Sociológicas; 1995. p. 11-40, 61-76.
143. Hemingway H, Marmot M. Psychosocial factors in the aetiology and prognosis of coronary heart disease: systematic review of prospective cohort studies. BMJ 1999; 318: 1460-1467.
144. LaCroix AZ, Gursinik JM, Berkman LF, Wallace RB, Satterfield S. Maintaining mobility in late life. II. Smoking, alcohol consumption, physical activity, and body mass index. Am J Epidemiol 1993; 137: 858-869.
145. Gil P, Fariñas F, Casado A, López-Fernández E. Malondialdehyde: a posible marker of ageing. Gerontology 2002; 48: 209-214.
146. Paolisso G, Tagliamonte MR, Rizzo MR, Manzella D, Gambardella A, Varricchio M. Oxidative stress and advancing age: results in healthy centenarians. J Am Geriatr Soc 1998; 46: 833-838.
147. Mecocci P, Polidori MC, Troiano L, Cherubini A, Cecchetti R, Pini G, Stratman M, Monti D, Sthal W, Sies H, Franceschi C, Senin U. Plasma antioxidants and longevity: a study on healthy centenarians. Free Radic Biol Med 2000; 28: 1243-1248.

148. Rea IM, McMaster D, Donnelly J, McGrath LT, Young IS. Malondialdehyde and measures of antioxidant activity in subjects from the Belfast Elderly Longitudinal Free-living Aging Study. *Ann NY Acad Sci* 2004; 1019: 392-395.
149. Kapahi P, Boulton ME, Kirkwood TBL. Positive correlation between mammalian life span and cellular resistance to stress. *Free Radic Biol Med* 1999; 26: 495-500.
150. Meewes C, Brenneisen P, Wenk J, Kuhr L, Ma W, Alikoski J, Poswig A, Krieg T, Scharffetter-Kochanek K. Adaptive antioxidant response protects dermal fibroblasts from UVA-induced phototoxicity. *Free Radic Biol Med* 2001; 30: 238-247.
151. Bukowski JA, Lewis RJ. Hormesis and health: a little of what you Nancy may be good for you. *South Med J* 2000; 93: 371-374.
152. Hicks JJ, Medina-Navarro R, Guzmán-Grenfell A, Wachter N, Lifshitz A. Possible effect of air pollutants (Mexico City) on superoxide dismutase activity and serum lipoperoxides in the human adult. *Arch Med Res* 1996; 27: 145-149.
153. Téllez-Rojo MM, Romieu I, Ruiz-Velasco S, Lezana MA, Hernández-Avila MM. Daily respiratory mortality and PM10 pollution in Mexico City: importance of considering place of death. *Eur Respir J* 2000; 16: 391-396.
154. De Haan JB, Cristiano F, Iannello RC, Kola I. Cu/Zn-superoxide dismutase and glutathione peroxidase during aging. *Biochem Mol Biol Int* 1995; 35: 1281-1297.
155. Mastaloudis A, Leonard SW, Traber MG. Oxidative stress in athletes during extreme endurance exercise. *Free Radic Biol Med* 2001; 31: 911-922.
156. Laaksonen DE. Blood glutathione homeostasis as a determinant of resting and exercise induced oxidative stress in young men. *Redox Rep* 1999; 4: 53-59.
157. Aejmelaeus RT, Holm P, Kaukinen U, Metsa-Ketela TJ, Laippala P, Hervonen AL, Alho HE. Age-related changes in the peroxil scavenging capacity of human plasma. *Free Radic Biol Med* 1997; 23: 69-75.
158. Medina-Navarro R, Lifshitz A, Wachter N, Hicks JJ. Changes in human serum antioxidant capacity and peroxidation after four months of exposure to air pollutants. *Arch Med Res* 1997; 28: 205-208.
159. Ösbay B, Dülger H. Lipid peroxidation and antioxidant enzymes in Turkish population: relation to age, gender, exercise and smoking. *Tohoku J Exp Med* 2002; 197: 119-124.
160. Bhawat VR. Relationship of erythrocyte superoxide dismutase, serum lipid peroxides and age. *Indian J Med Sci* 1997; 51: 45-51.
161. Okabe T, Hamaguchi K, Inafuku T, Hara M. Aging and superoxide dismutase activity in cerebrospinal fluid. *J Neurol Sci* 1996; 141: 100-104.
162. FUNSALUD. Indicadores de salud de los adultos mayores en México. *Salud Publica Mex* 1996; 38: 541-546.
163. Sagara Y, Dargusch R, Chambers D, Davis J, Schubert D, Maher P. Cellular mechanisms of resistance to chronic oxidative stress. *Free Radic Biol Med* 1998; 24:1375-1389.
164. Yashin AI, Ukraintseva SV, De Benedictis G, Anisimov VN, Butov AA, Arbeev K, Jdanov DA, Boiko SI, Begun AS, Bonafe M, Franceschi C. Have the

- oldest old adults ever been frail in the past? A hypothesis that explains modern trends in survival. *J Gerontol* 2001 56A: B432-B442.
165. Amstad P, Moret R, Cerutti P. Glutathione peroxidase compensates for the hypersensitivity of Cu,Zn-superoxide dismutase overproducers to oxidant stress. *J Biol Chem* 1994; 269: 1606-1609.
166. de Haan JB, Cristiano F, Iannello R, Bladier C, Kelner MJ, Kola I. Elevation in the ratio of Cu/Zn-superoxide dismutase to glutathione peroxidase activity induces features of cellular senescence and this effect is mediated by hydrogen peroxide. *Hum Mol Gen* 1996; 5: 283-292.
167. Lasheras C, Huerta JM, González S, Braña AF, Patterson AM, Fernández S. Independent and interactive association of blood antioxidants and oxidative damage in elderly people. *Free Radic Res* 2002; 36: 875-882.
168. O'Neill MS, Loomis D, Borja-Aburto VH. Ozone, area social conditions, and mortality in Mexico City. *Environ Res* 2004; 94: 234-242.
169. Organización Panamericana de la Salud. La salud y el envejecimiento. Washington, DC: OPS CE130/15; 2002. p. 5-17.
170. Olaiz G, Rojas R, Barquera S, Shamah T, Aguilar C, Cravioto P, López P, Hernández M, Tapia R, Sepúlveda J. Encuesta Nacional de Salud 2000. Tomo 2. La salud de los adultos. Cuernavaca, Morelos, México: INSP; 2003. p. 106-114.
171. Guerrero-Romero JF, Rodríguez-Morán M. Prevalencia de hipertensión arterial y factores asociados en la población rural marginada. *Salud Publica Mex* 1998; 40: 339-346.
172. Lerman IG, Villa AR, Llaca-Martínez C, Cervantes-Turrubiatez R, Aguilar-Salinas CA, Wong B, Gómez-Pérez FJ, Gutiérrez-Robledo LM. The prevalence of diabetes and associated coronary risk factors in urban and rural older Mexican populations. *J Am Geriatr Soc* 1998; 46: 1387-1395.
173. Wechsler D, Wais R. Wechsler adult intelligent revisent. Orlando: The Psychological Corporation; 1985. p. 25-36.
174. Stevens F, Kaplan CD, Ponds RWH, Diederiks JPM, Jolles J. How ageing and social factors affect memory. *Age Ageing* 1999; 28: 379-384.
175. Arronte-Rosales A, Téllez-Vargas A., Guzmán-Sánchez MA, Martínez-Serrano ME, Mendoza-Núñez VM. Evaluación del estado afectivo y cognitivo en dos poblaciones de adultos mayores: urbana y rural. *Arch Geriatr* 2002; 5: 99-102.
176. Peláez M, Palloni A, Pinto G, Arias E. Encuesta multicéntrica. Salud bienestar y envejecimiento (SABE) en América Latina y el Caribe. OPS CAIS 36/2001.5. Washington, DC: OPS; 2001. p. 6-19.
177. McKahann GM. New neurons for aging brains. *Ann Neurol* 2002; 52: 133-134.
178. Laukkanen P, Leskinen E, Kauppinen M, Sakari-Rantala R, Heikkinen E. Health and functional capacity as predictors of community dwelling among elderly people. *J Clin Epidemiol* 2000; 53: 257-265.
179. Pennathur A, Sivasubramaniam S, Contreras LR. Functional limitations in Mexican American elderly. *Int J Indust Ergonomics* 2003; 31: 41-50.

-
180. Haveman-Nies A, De Groot LCPGM, van Staveren WA. Dietary quality, lifestyle factors and healthy ageing in Europe: the SENECA study. *Age Ageing* 2003; 32: 427-434.
 181. Gill TM, Allore HG, Holford TR, Guo Z. Hospitalization, restricted activity, and the development of disability among older persons. *JAMA* 2004; 292: 2115-2124.
 182. Cowart RT, Krout JA. Ageing in rural settings: life circumstances and distinctive features. New York: Springer Publishing Company; 1998.
 183. Higgs G. Investigating trends in rural health outcomes: a research agenda. *Geoforum* 1999; 30: 203-221.
 184. Trevisan M, Browne R, Ram M, Muti P, Freudenheim J, Carosella AM, Armstrong D. Correlates of markers of oxidative status in the general population. *Am J Epidemiol* 2001; 154: 348-356.
 185. Zucconi GG, Semprevivo M, Laurenzi MA, Giuditta A. Sleep impairment by diethyldithiocarbamate in rat. Protective effects of pre-conditioning and antioxidants. *Brain Res* 2002; 939: 87-94.
 186. Weinger MB, Ancoli-Israel S. Sleep deprivation and clinical performance. *JAMA* 2002; 287: 955-957.
 187. Ruiz-Ramos M. Factores de riesgo asociados al grado de lipoperoxidación, niveles séricos de antioxidantes totales, superóxido dismutasa y glutatión peroxidasa durante el proceso de envejecimiento. Tesis de Maestría en Ciencias Químico-biológicas. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN. 2004.
 188. Klatsky AL. ¿Beber a su salud? *Sci Am Mex* 2003; 1(10): 65-71.
 189. German JB, Walzem RL. The health benefits of wine. *Annu Rev Nutr* 2000; 20: 561-593.
-

ANEXOS

ANEXO 1

CUESTIONARIO DE FACTORES DE

RIESGO PRO-OXIDANTES



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES *ZARAGOZA*
UNIDAD DE INVESTIGACIÓN EN GERONTOLOGÍA

INSTRUCCIONES para el llenado del
CUESTIONARIO DE FACTORES DE RIESGO PRO-OXIDANTES

- El encuestador deberá llenar previamente los datos de información general que ya se conozcan.
- Llene los datos que se le solicitan **sin dejar ninguna pregunta sin contestar.**
- En la INFORMACIÓN GENERAL anote la fecha de nacimiento siguiendo el formato **día/mes/año.**
- En las preguntas donde encuentre un cuadrado, **marque** con una **X** la opción elegida.
- En las preguntas donde encuentre una línea continua, conteste con **letra legible** lo que se le pide.
- En el apartado de ASPECTOS DE SALUD, cuando las respuestas sean **NO, pase a la pregunta** que se le indica para continuar con la encuesta.
- En la pregunta **16**, anote el nombre de todos los medicamentos que está tomando, si fueron indicados por el médico o es automedicación, la dosis y el tiempo que lleva tomándolos.
- En la pregunta **17** se considera fumador pasivo cuando ha estado cerca de un familiar que fuma cotidianamente, por lo que debe poner una **X** en la opción seleccionada.
- En la pregunta **20B** poner una **X** en la opción correspondiente, pudiendo ser más de una.
- En las opciones de las preguntas **21** y **22** no olvide indicar cuántos días a la semana, el total de horas/día y los años que ha practicado la actividad señalada, poniendo en el paréntesis el número promedio de la actividad.



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES * Z A R A G O Z A *
UNIDAD DE INVESTIGACIÓN EN GERONTOLOGÍA

Clave:

Cuestionario de factores de riesgo pro-oxidantes

I. INFORMACIÓN GENERAL

Nombre(s)	Apellido Paterno	Apellido Materno
-----------	------------------	------------------

1. Fecha de nacimiento _____ Edad: _____

2. Sexo M F 3. Lugar de nacimiento: _____

4. Estado Civil: _____ 5. Religión: _____

6. Lugar de residencia en los últimos 5 años:

Urbano Suburbano Rural Cd. de México

Especifique el lugar: _____

¿Desde hace cuanto tiempo vive ahí? _____ años.

7. Escolaridad (Especificar lugar)

- Ninguna Otros _____
Especificar

- Sabe leer y escribir

- Primaria completa o incompleta

- Secundaria completa o incompleta

- Bachillerato completo o incompleto

- Carrera técnica completa o incompleta

- Estudios de licenciatura incompletos

- Estudios de licenciatura completos

8. Ocupación(es) anterior(es): _____
Por más de 5 años

9. Ocupación(es) actual(es): _____
Por más de 2 años

10. ¿Con quién vive?

- Solo

- Esposo(a)

- Hijo(a)(s)

- Nieto(a)(s)

- Otros familiares. Especifique: _____

- Amigos

- Otros. Especifique: _____

11. ¿Con cuántas personas vive?: _____

II. ASPECTOS SOCIOECONÓMICOS

12. Fuentes de ingreso económico:

- a) Aún trabaja
- b) Apoyo del esposo(a)
- c) Pensión de jubilación
- d) Pensión de invalidez
- e) Pensión de viudez
- f) Apoyo familiar
- g) Otros

13. Ingreso económico mensual: \$ _____

III. ASPECTOS DE SALUD

14. Tiene alguna enfermedad(es) actualmente SI NO

Si su respuesta es NO, pase a la pregunta 16.

15. Si su respuesta fue SI, ¿qué enfermedad(es) tiene?

- Diabetes mellitus
- Hipertensión arterial
- Cardiopatía
- Trastornos articulares
- Otros. Especifique _____

16. ¿Toma algún medicamento? (Considerar laxantes, antiácidos, vitamínicos específicos, homeopáticos y herbolaria).

Medicamento	Indicado para	Dosis	Indicado por	Tiempo de administración

IV. HÁBITOS Y EJERCICIO

17. ¿Ha fumado? SI NO

	Actualmente	En el pasado
Número de cigarrillos		
Tiempo de consumo		
Fumador pasivo		

18. Si ya no fuma, ¿cuánto hace que dejó de fumar? _____ años.

19. Ingesta de bebidas con cafeína. SI NO

	Actualmente		En el pasado	
	Tazas o vasos al día	Años de consumo	Tazas o vasos al día	Años de consumo
Café de grano				
Café soluble				
Café descafeinado				
Té negro				
Otros té. Especifique				
Refrescos de cola				

20. Ingesta de bebidas alcohólicas. SI NO

A) Frecuencia y cantidad de bebida. Anotar número de copas

	Actualmente	En el pasado
1 vez al mes o menos		
2 a 4 veces al mes		
2 a 4 veces por semana		
Diario		

B) Tipo de bebida.

Tipo de bebida	Actualmente	En el pasado
Brandy		
Alcohol al 95%		
Ron		
Tequila		
Cerveza		
Pulque		
Vino tinto		
Vino blanco		
Otros: Especifique		

21. Ejercicio y actividades físicas.

Ejercicio	Actualmente			En el pasado		
	Días/semana	Horas/día	Años	Días/semana	Horas/día	Años
Caminar: Km. ()						
Correr: Km. ()						
Gimnasia						
Yoga						
Natación						
Baile de salón						
Baile regional						
Otros. Especifique						

22. Actividades en el hogar.

Actividad	Actualmente			En el pasado		
	Días/semana	Horas/día	Años	Días/semana	Horas/día	Años
Subir y bajar escalones () escalones						
Barrer						
Trapear						
Sacudir						
Tender camas						
Lavar trastos						
Tender ropa						
Cortar leña						
Podas pasto						
Acarrear agua						
Preparar alimentos						
Cuidar animales						
Ir de compras. Número de cuadras que camina ()						
Llevar y/o traer a los nietos de la escuela. Número de cuadras que camina ()						

23. ¿Cuántas horas duerme al día (día y noche) en el último año? _____

De día: _____ De noche: _____

OBSERVACIONES:

GRACIAS POR SU COOPERACIÓN.

Encuestador: _____

Supervisor: _____

Fecha de aplicación: _____ (día/mes/año)

ANEXO 2

CUESTIONARIOS DE ACTIVIDADES DE LA VIDA DIARIA

PARA ANCIANOS EN COMUNIDAD



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES *ZARAGOZA*
UNIDAD DE INVESTIGACIÓN EN GERONTOLOGÍA

**INSTRUCTIVO para el llenado de los
CUESTIONARIOS DE ACTIVIDADES DE LA VIDA DIARIA
PARA ANCIANOS EN COMUNIDAD**

Los cuestionarios de actividades de la vida diaria (AVD) para ancianos en comunidad consideran la información relevante respecto a las AVD básicas e instrumentales, complementado con la escala funcional de salud y el potencial de actividades físicas de los adultos mayores. Tienen la finalidad de proponer programas de atención comunitaria gerontológica acordes con la funcionalidad física específica de la población, así como poder monitorear el impacto de las acciones de intervención.

Aquí se incluyen 5 instrumentos: Escala funcional de salud de Rosow y Breslau modificado, Índice de Katz modificado, Cuestionario de actividades físicas de Nagi, Actividades instrumentales de Lawton y Brody.

INSTRUCCIONES

- Los cuestionarios deben ser llenados por personal previamente capacitado.
- La evaluación preferentemente debe ser resultado de la observación y/o demostración de la acción.
- Marque con una cruz (X) en el cuadro que corresponda.
- En la **escala funcional de salud**, debe considerar el contexto sociocultural de la persona y la capacidad de realizarlo independientemente de si es una actividad habitual o no.
- En el **Índice de Katz** se asignará la calificación de independiente sólo cuando el individuo pueda realizar las 6 actividades sin ayuda, en el caso de dependencia especificar la(s) actividad(es).
- El **cuestionario de actividades físicas**, preferentemente debe ser demostrativo (excepto el permanecer sentado y parado).
- En el cuestionario de **Lawton y Brody** el uso del teléfono y los quehaceres del hogar deben evaluarse aunque no tengan el servicio en el domicilio para el primero y no sea una actividad habitual para el segundo, considerando su contexto sociocultural.



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES * Z A R A G O Z A *
UNIDAD DE INVESTIGACIÓN EN GERONTOLOGÍA

Clave: _____

**Cuestionarios de actividades de la vida diaria
 para ancianos en comunidad**

Nombre: _____

Edad: _____ Género: _____ Fecha: _____

A. ESCALA FUNCIONAL DE SALUD DE ROSOW Y BRESLAU MODIFICADA

ACTIVIDAD	LA PUEDE REALIZAR	NO LA PUEDE REALIZAR
1. Capacidad de realizar trabajo familiar pesado (lavar ropa, limpiar los pisos, limpieza de cocina y baño, limpieza de recamaras, barrer, arreglar el jardín.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2. Capacidad de caminar un kilómetro (10 cuadras aproximadamente)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3. Capacidad de subir y bajar escaleras.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Fuente: Rosow I, Breslau H, A Guttman Health scale for the aged. J Gerontology 1966; 21: 556- 559.

Calificación:

Trabajo familiar pesado		Caminar un Km		Subir y bajar escaleras	
Sí	<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>	Sí	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>

Evaluador: _____ Supervisor: _____

B. INDICE DE KATZ MODIFICADO

ACTIVIDAD	INDEPENDIENTE	DEPENDIENTE
I. BAÑARSE.	No necesita ayuda para bañarse en la tina o regadera, o sólo recibe ayuda para lavarse alguna parte del cuerpo. <input type="checkbox"/>	Necesita ayuda para entrar o salir de la tina o bañarse en la regadera, necesita vigilancia durante el baño, o recibe ayuda para lavarse más de una parte del cuerpo o es bañado por otra persona. <input type="checkbox"/>
II. VESTIRSE.	Se viste sin ayuda o sólo recibe apoyo para atarse los zapatos. <input type="checkbox"/>	Recibe ayuda y/o supervisión para ponerse alguna prenda o es vestido por otra persona. <input type="checkbox"/>
III. MOVILIZACIÓN.	No recibe ayuda para irse de la cama a una silla. <input type="checkbox"/>	Necesita ayuda o no puede trasladarse de la cama a una silla. <input type="checkbox"/>
IV. ALIMENTACIÓN.	Se alimenta sin ayuda o sólo necesita apoyo para cortar la carne o untar mantequilla en el pan. <input type="checkbox"/>	Recibe ayuda para comer parcial o totalmente. <input type="checkbox"/>
V. ARREGLO PERSONAL.	Se afeita, se peina o cepilla el pelo y se corta las uñas de los pies sin ayuda. <input type="checkbox"/>	Necesita ayuda para afeitarse, peinarse o cepillarse el pelo o cortarse las uñas de los pies. <input type="checkbox"/>
VI. CAMINAR EN UN CUARTO PEQUEÑO.	Es capaz de caminar en un cuarto pequeño sin ayuda. <input type="checkbox"/>	Necesita ayuda para caminar en un cuarto pequeño. <input type="checkbox"/>

Fuente: Branch L G, Katz, Kniepmann K, Papsidero JA. A Prospective study of functional status among community elders. Am J Public Health 1984; 74: 266 – 268.

Calificación:
Independiente:

Dependiente <input type="checkbox"/>	Bañarse <input type="checkbox"/>	Vestirse <input type="checkbox"/>	Movilización <input type="checkbox"/>	Alimentarse <input type="checkbox"/>	Arreglo personal <input type="checkbox"/>	Caminar en casa <input type="checkbox"/>
--------------------------------------	----------------------------------	-----------------------------------	---------------------------------------	--------------------------------------	---	--

Evaluador: _____ Supervisor: _____

C. CUESTIONARIO DE ACTIVIDADES FÍSICAS DE NAGI

ACTIVIDAD	CAPAZ DE REALIZARLA SIN DIFICULTAD	CAPAZ DE REALIZARLA CON DIFICULTAD	NO LA REALIZA
1. Extender los brazos por debajo de los hombros.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2. Extender los brazos por arriba de los hombros.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3. Levantar objetos de un peso menor de 5 Kg.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4. Permanecer sentado por más de una hora.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5. Tomar (agarrar y sostener) pequeños objetos.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6. Permanecer parado por más de 15 minutos.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
7. Mover objetos grandes.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
8. Levantar objetos de un peso mayor de 5 Kg.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
9. Encorvarse, agacharse y arrodillarse.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Fuente: Nagi SE. An epidemiology of disability among adults in the United States. Milbank Mem Fund Q Health a Society 1976: 54 (4): 439 - 468.

Calificación:

1	2	3	4	5	6	7	8	9
SI	DIF	NO	SI	DIF	NO	SI	DIF	NO
SI	DIF	NO	SI	DIF	NO	SI	DIF	NO

SI = Capaz de realizarlo sin dificultad
 DIF = Capaz de realizarlo con dificultad
 NO = No es capaz de realizarlo
 Evaluador: _____ Supervisor: _____

D. ACTIVIDADES INSTRUMENTALES DE LA VIDA DIARIA DE LAWTON Y BRODY.

ACTIVIDAD	INDEPENDIENTE	CON ASISTENCIA	DEPENDIENTE
1. TELÉFONO.	Capaz de identificar los números y marcar, hacer y recibir llamadas sin ayuda. <input type="checkbox"/>	Capaz de responder el teléfono, marcar un número en caso de urgencia, pero necesita ayuda para marcar algún número en particular. <input type="checkbox"/>	Incapaz de usar el teléfono. <input type="checkbox"/>
2. TRANSPORTE.	Capaz de conducir su propio auto o viajar solo en autobús o taxi. <input type="checkbox"/>	Capaz de viajar en autobús o taxi, pero acompañado. <input type="checkbox"/>	Incapaz de viajar en autobús o taxi. <input type="checkbox"/>
3. COMPRAS.	Realiza todas las compras con independencia. <input type="checkbox"/>	Realiza todas las compras pero necesita que lo acompañen. <input type="checkbox"/>	Incapaz de realizar sus compras. <input type="checkbox"/>
4. PREPARACIÓN DE ALIMENTOS.	Planea, prepara y sirve los alimentos (adecuadamente) solo. <input type="checkbox"/>	Capaz de preparar comidas sencillas, pero no puede cocinar todos los alimentos solo. <input type="checkbox"/>	Incapaz de preparar cualquier alimento. <input type="checkbox"/>
5. QUEHACERES DEL HOGAR.	Capaz de hacer quehaceres del hogar pesados como: fregar los pisos. <input type="checkbox"/>	Capaz de realizar quehaceres del hogar ligeros (lavar medias o calcetines), pero necesita ayuda con las tareas pesadas. <input type="checkbox"/>	Incapaz de llevar a cabo cualquier quehacer del hogar. <input type="checkbox"/>
6. MEDICACIÓN.	Capaz de tomar sus medicamentos en la dosis y tiempos correctos. <input type="checkbox"/>	Puede tomar sus medicamentos, pero necesita que se lo recuerden o que alguien se los prepare. <input type="checkbox"/>	No puede responsabilizarse de sus medicamentos. <input type="checkbox"/>
7. MANEJO DE DINERO.	Maneja los asuntos de dinero con independencia (cobra, elabora cheques, realiza pagos en el banco, realiza sus compras.) <input type="checkbox"/>	Puede realizar sus compras cotidianas, pero necesita ayuda para elaborar cheques o cualquier trámite de banco y pago de servicios. <input type="checkbox"/>	Incapaz de manejar su dinero. <input type="checkbox"/>

Fuente: Lawton MP, Brody EM. Assessment of older people: Self maintaining and instrumental activities of daily living. Gerontologist 1969; 179 - 186.

Calificación:

1	2	3	4	5	6	7
I	A	D	I	A	D	I
A	D	I	A	D	I	A
D	I	A	D	I	A	D

I = Independiente A = Con asistencia. D = Dependiente Evaluador: _____ Supervisor: _____

ANEXO 3
MINI EXAMEN MENTAL DE FOLSTEIN
(modificado)



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES * Z A R A G O Z A *
UNIDAD DE INVESTIGACIÓN EN GERONTOLOGÍA

INSTRUCCIONES para el llenado del
MINI EXAMEN MENTAL DE FOLSTEIN (modificado)

En todos los casos, las respuestas del sujeto se califican con el número 1 (uno) cuando son correctas y con 0 (cero), cuando son incorrectas; la calificación debe colocarse dentro de los paréntesis que aparecen a la derecha. Al término de cada sección, sume el número de respuestas y anote el resultado en el paréntesis de la izquierda, correspondiente a dicha sección. Finalmente, sume todas las calificaciones del lado izquierdo de cada apartado para obtener la puntuación total y anótela en el espacio destinado a la Calificación Total que aparece en la ficha de identificación.

ESCALA DE EVALUACIÓN

24-30 = Normal

≤ 23 = Deterioro leve

≤ 17 = Déficit grave

Calificación Máxima	Calificación Obtenida	<u>Registro</u>
3	()	<p>Diga al sujeto la siguiente instrucción: Ponga mucha atención, le voy a decir una lista de tres palabras; flor, coche y nariz, después pida al sujeto: Repita las palabras.</p> <p>Califique su ejecución en el primer intento. Cuando el sujeto diga que ha terminado o cuando deje de responder, si no fue capaz de recordar las tres palabras diga:</p> <p>“Nuevamente le voy a decir la misma lista de tres palabras, cuando termine repita todas las que recuerde”. Esta instrucción deberá presentarse hasta que el sujeto sea capaz de repetir las tres palabras, o bien hasta 6 ensayos consecutivos. Anote en la línea correspondiente el número de ensayos o de veces que presentó la lista para que el sujeto le recordara. (Recuerde la calificación para este reactivo, se determina por el número de palabras que el sujeto fue capaz de recordar en el primer ensayo).</p> <p>Flor () Coche () Nariz ()</p> <p style="text-align: right;">No. de ensayos <u> </u> 1-6</p>

Calificación Máxima	Calificación Obtenida	(Asigne un punto por cada calificación máxima obtenida que sea correcta)
<u>Atención y Cálculo</u>		
5	()	<p>Pida al sujeto: Reste de 4 en 4, a partir del 40. Fíjese bien, se trata de contar para atrás restando 4 cada vez v.gr: 40-4 = 36; 36-4 = 32. Continúe hasta que yo le diga que se detenga. Deténgalo después de 5 substracciones (no proporcione ayuda)</p> <p>28 () 24 () 20 () 16 () 12 ()</p>

Calificación Máxima	Calificación Obtenida	<u>Evocación</u>
3	()	<p>Pida al sujeto: Repita las tres palabras que le pedí que recordara.</p> <p>Flor () Coche () Nariz ()</p>

Calificación Máxima	Calificación Obtenida	<u>Lenguaje</u>
3	()	<p><u>Nombrar:</u> Muestre al sujeto un reloj y pregúntele: ¿Como se llama esto? Repita lo mismo con una pluma.</p> <p>Reloj () Pluma ()</p> <p><u>Repetición:</u> Diga al sujeto la siguiente instrucción: Le voy a decir una oración y repítala después de mí, (diga lenta y claramente): No voy si tú no llegas temprano. (solo un ensayo) ()</p>
3	()	<p><u>Comprensión:</u> Coloque una hoja de papel sobre el escritorio y pida al sujeto: Tome la hoja con la mano derecha, después dóblela y tirela al piso (Dé un punto por cada paso correctamente ejecutado). Tome la hoja de papel- con su mano derecha () dóblela () tirela al piso ()</p>
1	()	<p><u>Lectura:</u> Muestre al sujeto la instrucción escrita: "Cierre los ojos", incluida en este paquete (previamente doble la hoja y muestre sólo el letrero). Pida al sujeto:</p> <p>Por favor haga lo que dice aquí. ()</p>

CIERRE SUS OJOS

1	()	<p><u>Escritura:</u> Presente al sujeto el reverso de la hoja, en la que se encuentra la instrucción escrita. Pídale: Escriba en este espacio, un pensamiento que sea una oración con sentido, que tenga sujeto y verbo (no proporcione ayuda) ()</p>
---	-----	---

ANEXO 4
PRODUCTOS DE LA INVESTIGACIÓN

Antioxidant capacity in relationship to serum lipid peroxides levels in healthy elderly of Mexico City*

► Martha A. Sánchez-Rodríguez¹, Raquel Retana-Ugalde¹,
Mirna Ruiz-Ramos¹, Víctor Manuel Mendoza-Núñez²

1. MD.
2. ScD.

* Unidad de Investigación en Gerontología,
Facultad de Estudios Superiores Zaragoza,
Universidad Nacional Autónoma de México
(UNAM). Batalla 5 de Mayo s/n, esq. Fuer-
te de Loreto, Col. Ejército de Oriente, C.P.
09230, Mexico City, México.

Summary

The aging is one of the factors that cause decrease in the antioxidant capacity. Likewise, it has been proposed that subjects exposed permanently to air pollution develop deficient antioxidant capacity to oxidative stress (OxS). This study aimed to analyze the antioxidant capacity against elevated lipid peroxides in healthy elderly of Mexico City. 105 adults (44 ± 10.8 years) and 126 elderly subjects were studied (68 ± 7.1 years); residents of Mexico City (clinically healthy, non-smokers, non-vitamin supplement takers) who had lived in the city for >10 years. Plasma lipoperoxides (LPO), total antioxidant status (TAS), the activity of red blood cells superoxide dismutase (SOD), and plasma glutathione peroxidase (GPx), were studied in all subjects. LPO levels were found significantly higher ($p < 0.05$) in the elderly subjects in comparison with the adults; in addition, TAS and GPx were higher in adults than among the elderly people ($p < 0.0001$). Nevertheless, SOD was similar in both groups ($p = 0.346$). These findings reveal that the elderly residents of Mexico City have TAS and GPx lower than adults, and similar SOD activity, probably due to the fact that these antioxidants are neutralizing the higher LPO levels of elderly people. Therefore, this mechanism could be considered as an efficient antioxidant capacity in the elderly, as response to high LPO levels, since the health status, mortality prevalence and life span life of the older people of Mexico City are similar or better than other cities of Mexican Republic.

Key words: Adaptation to oxidative stress * total antioxidant status * elderly people * pollution * superoxide dismutase * glutathione peroxidase.

Resumen

CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN RELACIÓN A NIVELES SÉRICOS DE LIPOPERÓXIDOS EN ANCIANOS SANOS DE LA CIUDAD DE MÉXICO

Se ha propuesto que los sujetos expuestos permanentemente a la contaminación ambiental tienen una deficiente capacidad para contrarrestar el estrés oxidativo (EOx) y que el envejecimiento es un factor causante de

Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

Incorporada al Chemical Abstract Service.

Código bibliográfico: ABCIDL

ISSN 0325-2957

dicha alteración. EL objetivo de este estudio fue analizar la capacidad antioxidante contra el aumento de lipoperóxidos (LPO) en adultos mayores sanos de la ciudad de México. Se estudiaron 105 adultos residentes de la ciudad de México ($44 \pm 10,8$ años) y 126 adultos mayores ($68 \pm 7,1$ años) clínicamente sanos, no fumadores, sin ingesta de vitaminas antioxidantes, con residencia en esta ciudad por más 10 años. Se cuantificó a todos los sujetos los LPO plasmáticos, capacidad sérica antioxidante total (AT), actividad eritrocitaria de superóxido dismutasa (SOD) y plasmática de glutatión peroxidasa (GPx). Se encontró que los niveles de LPO fueron más altos en los adultos mayores comparados con los jóvenes ($p < 0,05$); asimismo, AT y GPx fueron mayores en los jóvenes ($p < 0,0001$). La SOD fue similar en ambos grupos ($p = 0,346$). Estos hallazgos revelan que los ancianos residentes de la ciudad de México tienen concentraciones más bajas de AT y GPx en comparación con los adultos y una actividad similar de la SOD, debido probablemente a que estos antioxidantes están neutralizando los niveles más altos de los LPO de los ancianos. Por lo tanto, este mecanismo podría ser considerado como una capacidad antioxidante eficiente en los ancianos como respuesta a los altos niveles de LPO, ya que el estado de salud, prevalencia de mortalidad y longevidad de los adultos mayores de la ciudad de México es similar o mejor al de los residentes de otros estados de la República Mexicana.

Palabras clave: Adaptación a estrés oxidativo * capacidad antioxidante total * adultos mayores * contaminación ambiental * superóxido dismutasa * glutatión peroxidasa.

Introduction

Oxidative stress (OxS) is a serious imbalance between the reactive oxygen species (ROS) produced and the effective action of the antioxidant system. It is a factor that contributes to aging and the development, among other diseases, of diabetes mellitus, chronic obstructive lung disease, atherosclerosis, Parkinson's disease, Alzheimer's disease, rheumatoid arthritis, and some types of cancer (1). Diverse factors affect the antioxidant status in favor of OxS, such as an antioxidant-deficient diet, strenuous exercise, smoking, alcoholism, exposure to air pollutants, genetic alterations and age (2).

There are abundant experimental and observational evidence that supports the idea that aging is the sum of all free radical reactions throughout all cells and tissues, or at least that they are a major contributor to it (3) (4).

The inhabitants of Mexico City are exposed most of the time to high levels of air pollutants, which have been associated with an increase in the incidence of mortality in children (5). However the health status, mortality prevalence and life span of the elder people in Mexico City is similar or better than others cities of Mexican Republic (6).

In such regard, it has been demonstrated that newly arrived subjects to Mexico City (1-8 days) present greater lipoperoxidation concomitant with a greater production of Cu/Zn-superoxide dismutase (SOD), in comparison with permanent residents. In spite of this, SOD activity decreases by 50% at 16 weeks, accompanied by a lowering in plasma lipoperoxides (LPO) of 30%, probably due to the adaptive

capacity or efficient antioxidant activity that the inhabitants of Mexico City develop to air pollution (7).

Therefore, the purpose of this study was to evaluate the antioxidant activity in healthy adults and elderly people, to ascertain the influence of the aging and exposition to air pollution on the capacity of response against lipid peroxides production that occur in the Mexico City elderly population.

Material and Methods

POPULATION UNDER STUDY

The study included free-living subjects: 105 adults aged < 60 years (mean 44 ± 10.8 years) and 126 elder subjects aged 60-85 years (mean 68 ± 7.1 years). All of them had lived in Mexico City for the past 10 years. None of the subjects studied had been taking antioxidant supplementation (vitamins and/or minerals) smoked, had acute or chronic diseases, or was receiving prescribed medication, and were not alcohol heavy drinkers for at least 6 months before the study initiation.

The subjects were accepted to participate in the study after their informed consent. The Ethics Committee of Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) Zaragoza Campus approved the research protocol for this study.

Weight, height, and body mass index (BMI) were obtained as anthropometric measurements. Weight was measured with the subject in a fasting state and after evacuation, in underwear and a clinical smock. A

Torino' scale (Tecno Lógica Mexicana, Mexico) was used, calibrated prior to each weight measurement. Height was obtained with an aluminum cursor stadimeter graduated in millimeters, with the subject without footwear, with heels, back, and head in contact with the stadimeter in Frankfurt horizontal plane. BMI was calculated by means of the division of weight in kg by height in squared meter (kg/m^2).

ATMOSPHERIC MONITORING

Air-pollution data was collected from the regional quality network. Annual mean of ozone concentration in the atmospheric environment of Mexico City was 0.155 ± 0.46 ppm (8).

BLOOD SAMPLING AND PREPARATION

In the all subjects, blood samples were collected after a 12 hour fasting period by venopuncture and placed in vacutainer/siliconized test tubes containing a separating gel and no additive. EDTA or heparin was employed as the anticoagulant agent. Blood samples containing EDTA were analyzed using a complete blood count (including hemoglobin, hematocrit, and leukocyte counts). The following serum quantifications were conducted: glucose, urea, creatinine, urate, albumin, cholesterol, triglycerides, and high-density lipoproteins (HDL) cholesterol. These tests were used as screening measurements for the diagnosis of the clinically healthy subjects. All reagents employed in biochemical tests were obtained from Randox Laboratories, Ltd. Cut-off points for reference values were determined at the Gerontology Clinical Research Laboratory of the UNAM, Zaragoza Campus, in Mexico City (9).

TOTAL ANTIOXIDANT STATUS

Total antioxidant status was determined using ABTS⁺ (2,2'-azidodiethylbenzothiazolin sulphonate) radical formation kinetics (Randox Laboratories, Ltd). The presence of antioxidants in plasma suppresses the bluish-green staining of the ABTS⁺ cation, which is proportional to the antioxidant concentration. Kinetics is measured at 600 nm.

RED BLOOD CELL SUPEROXIDE DISMUTASE (SOD)

The method employs xanthine and xanthine oxidase (XO) to generate superoxide radicals, which react with 2-(4-iodophenyl)-3-(4-nitrophenol)-5-phenyltetrazolium chloride (INT) to form a red formazan dye. SOD activity was measured by the degree of inhibition of the reaction (Randox Laboratories, Ltd). Kinetics is measured at 505 nm.

PLASMA GLUTATHIONE PEROXIDASE (GPX)

GPx catalysed the oxidation of glutathione (GSH) by cumene hydroperoxide, in the presence of glutathione reductase (GR) and NADPH; the oxidized glutathione (GSSG) was immediately converted to the reduced form with a concomitant oxidation of NADPH to NADP⁺. The decrease in absorbance at 340 nm was measured (Randox Laboratories, Ltd).

PLASMA LIPOPEROXIDES

The thiobarbituric acid reacting substances (TBARS) assay was used, as described by Jentzsch et al. (10). In the TBARS assay, one molecule of malondialdehyde (MDA) reacted with two molecules of thiobarbituric acid (TBA) with the production of a pink pigment with absorption at 535 nm. Amplification of peroxidation during the assay was prevented by the addition of the chain-breaking antioxidant BHT.

Plasma (400 μL) or MDA standard (0.2-4 mmol/L) prepared by hydrolysis of 1,1,3,3-tetramethoxypropane (TMP) (Sigma Chem. Co. St. Louis, MO, USA) was mixed with 400 μL orthophosphoric acid (0.2 mol/L) (Sigma Chem. Co.) and 50 μL BHT (2 mmol/L) (Sigma Chem. Co.), in 12 X 75 mm tubes. Then we added 50 μL TBA reagent (0.11 mol/L in 0.1 mol/L NaOH) (Fluka Chem., Buchs, Switzerland) and mixed; subsequently the contents were incubated at 90 °C for 45 min in a water bath. The tubes were put on ice to stop the reaction. TBARS were extracted once with 1000 μL n-butanol (Sigma Chem. Co.). The upper butanol phase was read at 535 nm and 572 nm to correct for baseline absorption in UV-Spectrophotometer (Shimadzu, Columbia, MD, USA). MDA equivalents (TBARS) were calculated using the difference in absorption at the two wavelengths and quantification was done with calibration curve.

STATISTICAL ANALYSIS

Data were processed through use of standard statistical software SPSS 10.0 (SPSS Inc. Michigan, IL, USA). Descriptive statistics are means \pm standard deviation (SD); results were analyzed using Student's *t*-test. A *p*-value < 0.05 was considered significant.

Results

Biochemical characteristics of the subjects under study showed that the elderly and adults had normal levels of all parameters (Table I).

LPO were found significantly higher (*p* < 0.05) in the elderly as compared with adults (Table II); in the same manner, TAS and GPx activity were observed to

be higher in the adults than among older persons ($p < 0.0001$); nevertheless, SOD activity was similar in both groups ($p = 0.346$).

Discussion and Conclusion

Studies on the molecular biology during the aging process are not entirely consistent, probably due to the biological and social heterogeneity of the populations studied, in addition to the environmental influence (11). For this reason, although some generalizations have been established, such as that DNA oxidative damage increases with age (12), it has been demonstrated that this does not occur in all populations. In this

regard, it was reported that 45% of the elderly people in Mexico City have oxidative DNA damage in lymphocytes (13) (14), and at the same time that urban elderly inhabitants have higher LPO levels and lower antioxidant capacity than rural elderly population (15).

In respect with diseases related to aging, it has been demonstrated that oxidative DNA damage is associated with heart disease (16); in the same manner Lerman et al. found higher prevalence of diabetes mellitus among elderly residents of Mexico City in contrast to elderly residents of a rural area (17). Moreover, Leinonen et al. revealed an association between antioxidant capacity and coronary heart disease as well as renal dysfunction in subjects with diabetes mellitus (18).

On the other hand, it has been established that OxS increases with aging; however, King et al. demon-

Table I. Biochemical characteristics and body mass index (BMI) of the subjects under study.

	Adults (n = 105)	Elderly (n = 126)
Glucose (mmol/L)	5.27 ± 1.72	5.44 ± 2.0
Urea (mmol/L)	11.42 ± 3.21	12.49 ± 3.57
Creatinine (mmol/L)	85.74 ± 22.10	81.33 ± 20.33
Urate (µmol/L)	303.45 ± 95.20	297.50 ± 107.10
Cholesterol (mmol/L)	5.28 ± 0.98	5.77 ± 1.45
Triglycerides (mmol/L)	2.08 ± 1.07	2.06 ± 0.92
HDL cholesterol (mmol/L)	1.24 ± 0.33	1.32 ± 0.39
Albumin (mmol/L)	0.66 ± 0.06	0.62 ± 0.07
Hemoglobin (mmol/L)		
Females	8.88 ± 0.74	8.75 ± 0.80
Males	10.24 ± 1.12	9.81 ± 1.12
Hematocrit		
Females	0.44 ± 0.03	0.44 ± 0.04
Males	0.49 ± 0.03	0.46 ± 0.05
Total leukocytes (X10 ⁹ /L)	6.66 ± 1.51	6.49 ± 1.55
BMI (kg/m ²)	27.5 ± 4.0	27.8 ± 4.3

Table II. Mean values ± SD of plasma lipoperoxides, total antioxidant status, and antioxidant enzymes (SOD and GPx) in adults and elderly.

	Adults	Elderly
n	105	126
Lipoperoxides (µmol/L)	0.328 ± 0.17	0.399 ± 0.19*
Total antioxidant status (mmol/L)	1.28 ± 0.27	1.16 ± 0.21 [†]
Superoxide dismutase (U/L)	175 ± 11.3	173 ± 17.6
Glutathione peroxidase (U/L)	7525 ± 2030	6281 ± 2166 [†]
* $p < 0.05$, [†] $p < 0.0001$; Student's <i>t</i> test.		

strated that antioxidant levels, GPx and catalase (CAT) activities, and ceruloplasmine levels were significantly higher in a group of elderly adults from 75-80 years of age compared with individuals in the age groups from 35-39 years, 50-54 years, and 65-69 years (19). Similar results have been observed in centenarians (20). Also, it has been demonstrated that tolerance or adaptation to OxS increases during the life span, this probably associated to better health (21). In this sense, the results of this study show that SOD activity is similar in elderly and adults ($p > 0.05$), though older subjects have LPO higher as compared to the adults ($p < 0.05$), which could be considered as a response of adaptation to oxidative stress. In this regard, it has been reported in several studies that there exists a progressive increase of LPO age-related associated with a decrease in SOD ($r = -0.83$) (22) (23), however in this study it was not observed decrease in SOD activity age-related. Nevertheless, Mecocci *et al.* observed that SOD activity rises proportionally during aging, though diminishing in centenarians, which can be interpreted as a compensatory response of the organism to elevate in ROS with increasing age, for enjoy a succesful aging (20). This same incremental behavior in SOD activity with higher ages was observed by Okabe *et al.* (24). However, Medina-Navarro *et al.* demonstrated that SOD initially increases prior to exposure to air pollution, to later diminish by 50% at 4 months of constant exposure (7). In this sense, the results of this study reveal that the elderly residents of Mexico City have TAS and GPx lower than adults and a similar SOD activity, due probably to the fact that these antioxidants are neutralizing the higher LPO levels. Therefore this mechanism could be considered as an efficient antioxidant capacity against high LPO levels by exposure to air pollution. In this sense, the health status, mortality prevalence and life span of the Mexico City inhabitants are similar or better than other cities of Mexican Republic (6). In such regard, it has been showed that resistance to oxidative stress may be acquired by coordinated changes in multiple antioxidant pathways (25).

With relation to TAS, in this study it was observed a statistically significant decrease in the elderly, in comparison to younger persons ($p < 0.0001$), which contrasts with that reported by Aejmaleus *et al.*, who found that antioxidant capacity increases in relation to age increase (26). This may be due to the fact that the elder subjects, living in Mexico City exposed to a higher OxS from air pollution, show a relative diminution in antioxidant capacity as a consequence of the permanent consume of antioxidant by aggression of free radicals. This mechanism can be a response of an adaptation process, which is necessary to survive in a city with high pollutants levels like Mexico City.

On the other hand, it was found in this study a sig-

nificantly lower GPx activity in the elderly subjects as compared to young adults ($p < 0.0001$), in contrast with that reported by King *et al.* and Mecocci *et al.*, who concluded that GPx activity increase with age (19) (20). In such regard, the importance of GPx to maintain homeostasis in the light of increase of LPO has been demonstrated by Laaksonen (27). Therefore, the lower levels of GPx in the elder inhabitants of Mexico City, in comparison with those of young adults, could be due to an efficient biological response or adaptative process to the greater production of ROS, due to pollution and aging itself, a response achieved little by little through a process of adaptation to OxS.

Although the results are not conclusive since it is a cross-sectional study, it allows us to infer that the elderly residents of Mexico City have TAS and GPx lower than adults, and similar SOD activity, due to the fact that these antioxidants are neutralizing the higher LPO levels. Therefore this mechanism could be considered as an efficient antioxidant capacity in the elderly, as response to high LPO levels.

ACKNOWLEDGMENTS

This project was supported by DGAPA grant IN-308302, Universidad Nacional Autónoma de México.

CORRESPONDING AUTHOR

V. M. MENDOZA-NÚÑEZ.

Batalla 5 de Mayo s/n, esq. Fuerte de Loreto,
Col. Ejército de Oriente, C.P. 09230, MÉXICO D.F., México.
Tel.: (+5255) 5773-6332; Fax: (+5255) 5773-6332.
E-mail address: mendovic@servidor.unam.mx

References

1. Finkel T, Holbrook J. Oxidants, oxidative stress and the biology of aging. *Nature* 2000; 408: 239-47.
2. Cotovio J, Onno L, Justine P, Lamure S, Catroux P. Generation of oxidative stress in human cutaneous models following *in vitro* ozone exposure. *Toxicol Vitro* 2001; 15: 357-62.
3. Knight JA. Free radicals, antioxidants, aging, & disease. Washington, DC: AACC Press; 1999. p. 75-329.
4. Yaar M. Mechanisms of aging [Editorial]. *Arch Dermatol* 2002; 138: 1429-32.
5. Téllez-Rojo MM, Romieu I, Ruiz-Velasco S, Lezana MA, Hernández-Avila MM. Daily respiratory mortality and PM10 pollution in Mexico City: importance of considering place of death. *Eur Respir J* 2000; 16: 391-6.
6. FUNSALUD. Indicadores de salud de los adultos mayores en México. *Salud Publica Mex.* 1996; 38: 541-6.
7. Medina-Navarro R, Lifshitz A, Wachter N, Hicks JJ. Changes in human serum antioxidant capacity and peroxidation after four months of exposure to air pollutants. *Arch Med Res* 1997; 28: 205-8.

8. Centro Nacional de Investigación y Capacitación Ambiental. Monitoreo ambiental en la ciudad de México: El Centro, 2000.
9. Sánchez-Rodríguez MA, Mendoza-Núñez VM, García-Sánchez A, González-González B, Rodríguez-Torres E, González-Obregón A. Valores de referencia para una población de ancianos y adultos de la ciudad de México: Parámetros bioquímicos y hematológicos. *Acta Bioquím Clin Latinoam* 1998; 32: 812-21.
10. Jentzsch AM, Bachmann H, Fürst P, Biesalski HK. Improved analysis of malondialdehyde in human body fluids. *Free Rad Biol Med* 1996; 20: 251-6.
11. Carnes BA, Olshanky SJ. Heterogeneity and its biodemographic implications for longevity and mortality. *Exp Gerontol* 2001; 36: 419-30.
12. Singh NP, Danner DB, Tice RR, Pearson JD, Brant LJ, Morrel CH, Schneider EL. Basal DNA damage in individual human lymphocytes with age. *Mutat Res* 1991; 256: 1-6.
13. Mendoza-Núñez VM, Retana-Ugalde R, Sánchez-Rodríguez MA, Altamirano-Lozano MA. DNA damage in lymphocytes of elderly patients in relation with total antioxidant levels. *Mech Ageing Dev* 1999; 108: 9-23.
14. Mendoza-Núñez VM, Sánchez-Rodríguez MA, Retana-Ugalde R, Vargas-Guadarrama LA, Altamirano-Lozano MA. Total antioxidants levels, gender, and age as risk factors for DNA damage in lymphocytes of the elderly. *Mech Ageing Dev* 2001; 122: 835-47.
15. Sánchez-Rodríguez M, Mendoza-Núñez VM, Vargas LA. Oxidative stress in the elderly in Mexico city. *Free Radic Biol Med* 2002; 33: S338-S339.
16. Collins AR, Gedik CM, Olmedilla B, Southon S, Bellizzi M. Oxidative DNA damage measured in human lymphocytes: large differences between sexes and between countries, and correlation with heart disease mortality rates. *FASEB J* 1998; 12: 1397-400.
17. Lerman IG, Villa AR, Llaca-Martínez C, Cervantes-Turrubiatez R, Aguilar-Salinas CA, Wong B, et al. The prevalence of diabetes and associated coronary risk factors in urban and rural older Mexican populations. *J Am Geriatr Soc* 1998; 46: 1387-95.
18. Leinonen J, Rantalaiho V, Lehtimäki T, Koivula T, Wirta O, Pasternack A, Alho H. The association between the total antioxidant potential of plasma in the presence of coronary heart disease and renal dysfunction in patients with NIDDM. *Free Radic Res* 1998; 29: 273-81.
19. King CM, Bristow-Craig HE, Gillespie ES, Barnett YA. *In vivo* antioxidant status, DNA damage, mutation and DNA repair capacity in cultured lymphocytes from healthy 75- to 80-year-old humans. *Mutat Res* 1997; 377: 137-47.
20. Mecocci P, Polidori MC, Troiano L, Cherubini A, Cecchetti R, Pini G, et al. Plasma antioxidants and longevity: a study on healthy centenarians. *Free Radic Biol Med* 2000; 28: 1243-8.
21. Kapahi P, Boulton ME, Kirkwood TBL. Positive correlation between mammalian life span and cellular resistance to stress. *Free Radic Biol Med* 1999; 26: 495-500.
22. Ozbay B, Dulger H. Lipid peroxidation and antioxidant enzymes in Turkish population: relation to age, gender, exercise, and smoking. *Tohoku J Exp Med* 2002; 197: 119-24.
23. Bhawat VR. Relationship of erythrocyte superoxide dismutase, serum lipid peroxides and age. *Indian J Med Sci* 1997; 51: 45-51.
24. Okabe T, Hamaguchi K, Inafuku T, Hara M. Aging and superoxide dismutase activity in cerebrospinal fluid. *J Neurol Sci* 1996; 141: 100-4.
25. Sagara Y, Dargusch R, Chambers D, Davis J, Schubert D, Maher P. Cellular mechanisms of resistance to chronic oxidative stress. *Free Radic Biol Med* 1998; 24: 1375-89.
26. Aejmelaeus RT, Holm P, Kaukinen U, Metsä-Ketela TJ, Laippala P, Hervonen AL, et al. Age-related changes in the peroxyl scavenging capacity of human plasma. *Free Radic Biol Med* 1997; 23: 69-75.
27. Laaksonen DE. Blood glutathione homeostasis as a determinant of resting and exercise induced oxidative stress in young men. *Redox Rep* 1999; 4: 53-9.

Aceptado para su publicación el 14 de mayo de 2004

Propuesta de un constructo para evaluar integralmente el estrés oxidativo

Martha A. Sánchez-Rodríguez,* Edelmiro Santiago-Osorio,** Luis Alberto Vargas,***
Víctor Manuel Mendoza-Núñez*

RESUMEN

El desequilibrio bioquímico propiciado por la producción excesiva de especies oxidantes que provocan daño oxidativo a las biomoléculas y que no puede ser contrarrestado por los sistemas antioxidantes se denomina estrés oxidativo (EOx), el cual se ha relacionado con el envejecimiento y más de 100 padecimientos, sin embargo en la literatura científica no encontramos una definición operativa que contemple los biomarcadores implicados en el proceso de manera integral, generando confusiones y problemas de interpretación teórica. Por tal motivo, la finalidad del presente artículo es fundamentar de manera teórica la propuesta de un constructo integral y dinámico que considere tanto la concentración de biomoléculas oxidadas como los componentes del sistema antioxidante intracelular y extracelular. En el constructo se propone la medición integral y dinámica del EOx a través de la evaluación de la eficiencia del sistema antioxidante, estableciendo las categorías de: a) sistema antioxidante eficiente (SAE) cuando se contrarresta de manera eficaz la acción nociva de los RL; b) deficiencia antioxidante enzimática (DAEN) si se genera EOx por acción ineficaz o insuficiente de las enzimas antioxidantes; c) deficiencia antioxidante exógena (DAEX) cuando hay una acción insuficiente o ineficaz de las moléculas antioxidantes de origen exógeno con relación a la acción nociva de los RL y d) deficiencia global del sistema antioxidante (DGSA) si los componentes antioxidantes endógenos y exógenos muestran un desequilibrio con relación a los RL. Esta propuesta es una alternativa para la evaluación e interpretación integral del EOx.

Palabras clave: Estrés oxidativo, sistema antioxidante, radicales libres, constructo.

ABSTRACT

Oxidative stress (OxS) is a serious imbalance between the overproduction of free radicals (FR) and the effective action of the antioxidant system that produce oxidative damage to the biomolecules. This OxS has been associated with the aging process and more than a hundred different diseases. However, there is not an operative definition that includes all biomarkers implied in this process integrally, giving as result confusion and theoretical misinterpretations. The objective of this paper is to theoretically fundament the proposal of an integral and dynamic construct that considers the concentration of oxidized biomolecules and the components of the antioxidant (intracellular and extracellular) systems. In this construct we propose the integral measurement of OxS through the evaluation of the efficiency the antioxidant system, and the establishment of categories for: a) the efficient antioxidant system (EAS) when it neutralize the harmful action of FR; b) antioxidant enzymatic deficiency (AEDN) if it generates OxS due to inefficient or insufficient action of antioxidant enzymes; c) antioxidant exogenous deficiency (AEXD) when the antioxidant biomolecules from exogenous source are not capable to neutralize FR; and d) antioxidant system global deficiency (ASGD) if the antioxidant endogenous and exogenous molecules show an unbalance in favor of FR. This is an alternative proposal for the evaluation and interpretation of OxS in an integral fashion.

Key words: Oxidative stress, antioxidant system, free radicals, construct.

* Unidad de Investigación en Gerontología, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). Becaria CONACYT registro No. 126123 y DGAPA, UNAM.

** Unidad de Investigación en Diferenciación Celular y Cáncer, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM.

*** Instituto de Investigaciones Antropológicas, UNAM.

Correspondencia:

M. en C. Martha A. Sánchez-Rodríguez. Nicolás San Juan No. 9-101, Col. Piedad Narvarte, C.P. 03000, México D.F., México. Fax: (+5255) 5773-6330. E-mail: masanrod@yahoo.com.mx

Recibido: 18-05-2004

Aceptado: 17-07-2004

INTRODUCCIÓN

La palabra constructo es un término ampliamente utilizado en el campo de las ciencias psicosociales, y cada vez más empleado en el campo de las ciencias de la salud, el cual se refiere a una serie de conceptos teóricos que se relacionan entre sí para conformar una entidad única que sirva como medición de un fenómeno, como es el caso de un índice que permita evaluar la severidad de una enfermedad o el grado de incapacidad funcional.^{1,2} Específicamente con relación al estrés oxidativo (EOx), en la literatura científica no encontramos una definición operativa que contemple los biomarcadores implicados en el proceso de manera integral, por lo que es necesario proponer un constructo sobre la base de sus mediciones, partiendo de que un biomarcador de efecto permite una valoración de las respuestas adversas tempranas o tardías, de un tóxico u otro factor en los sistemas fisiológicos, órganos u organismos y cuyo primer propósito es la identificación de individuos o poblaciones con riesgo de padecer efectos adversos para su salud y así tomar las medidas preventivas pertinentes.³

En la actualidad se ha relacionado el EOx con el envejecimiento y más de 100 padecimientos, ya que las especies reactivas (ER) y los radicales libres (RL) favorecen la presencia o las complicaciones de enfermedades como: aterosclerosis, diabetes mellitus, procesos inflamatorios, el proceso isquemia/reperfusión, enfermedad de Alzheimer, y diversos tipos de cáncer, entre otros; constituyendo así uno de los mecanismos fisiopatológicos más importantes para explicar dichos procesos morbosos.^{4,8}

Con relación al envejecimiento, hay evidencias científicas en el campo de la biogerontología con respecto a que el EOx se incrementa conforme aumenta la edad,^{9,11} sin embargo, existen estudios que se contraponen a esta afirmación y en los cuales se ha observado que la actividad antioxidante se incrementa en los sujetos mayores de 70 años,¹²⁻¹⁴ así mismo se ha reportado una falta de correlación entre la acumulación del daño oxidativo y el envejecimiento;¹⁵ por lo que la validez de la hipótesis del estrés oxidativo durante el envejecimiento podría ser cuestionada, partiendo de que el análisis del proceso del EOx se realiza de manera parcial ya que no considera todos los elementos involucrados, generando confusiones y problemas de interpretación teórica.

Por otro lado, en diversas investigaciones se ha señalado que una disminución en la actividad de las enzimas antioxidantes o en la capacidad antioxidante total no siempre indica una condición no deseable

si los niveles de especies oxidantes se encuentran en valores bajos aceptables, de ahí que se puede aseverar que si los componentes que conforman el sistema antioxidante están disminuidos, no siempre se debe a la insuficiencia del sistema antioxidante sino a que pueden estar actuando de manera eficiente contra las ER para evitar que se genere un desequilibrio a favor de estos últimos (EOx) y dañen a las células, o a que no son necesarios porque no hay compuestos oxidantes que degradar, ya que el proceso es dinámico y su eficiencia debe evaluarse considerando la cantidad de RL o el daño a las biomoléculas. Así mismo, una actividad antioxidante alta no siempre garantiza un efecto benéfico contra las moléculas oxidantes a pesar de ser el resultado de una adaptación al incremento en la formación de éstas, ya que bajo ciertas circunstancias se convierten en pro-oxidantes, como en el caso del síndrome de Down.^{10,16,17}

Por ello, es necesario contemplar no sólo el efecto de daño oxidativo y/o la disminución en los componentes antioxidantes, sino la eficiencia del sistema antioxidante, de ahí que la finalidad del presente artículo es fundamentar de manera teórica la propuesta de un constructo integral, dinámico, práctico y accesible a laboratorios clínicos, que considere tanto la concentración de biomoléculas oxidadas como los componentes del sistema antioxidante intracelular y extracelular.

CONCEPTO DE ESTRÉS OXIDATIVO

El EOx se define como el desequilibrio bioquímico propiciado por la producción excesiva de ER y RL que provocan daño oxidativo a las biomoléculas y que no puede ser contrarrestado por los sistemas antioxidantes (AOx);⁴ siendo los RL especies químicas que poseen en el último orbital un electrón no apareado, por lo que son capaces de extraer un electrón de las moléculas vecinas para completar su orbital, convirtiéndose en componentes altamente reactivos y oxidantes.^{5,18,19}

El oxígeno (O₂) contenido en el aire que normalmente respiramos es fundamental para la vida, sin embargo, muchas reacciones en las que participa el O₂ originan RL, de ahí que el oxígeno sea una molécula potencialmente tóxica. La reducción univalente de O₂ genera intermediarios reactivos en una serie de reacciones que involucran cuatro electrones, produciendo tres compuestos denominados especies reactivas de oxígeno (EROs): el anión superóxido (O₂^{-•}), el peróxido de hidrógeno (H₂O₂) y el radical hidroxilo

(OH[•]).^{5,18-20} El H₂O₂ no es un radical libre, pero cae en la categoría de EROs por ser un compuesto intermediario e importante en la bioquímica de los RL, ya que se descompone fácilmente en presencia de metales de transición (principalmente el Fe²⁺) para producir el OH[•].^{5,19} Además del O₂, el nitrógeno también es capaz de formar RL como dos óxidos: óxido nítrico (NO[•]) y dióxido nítrico (NO₂[•]), conformando las llamadas especies reactivas del nitrógeno (ERNs).^{6,21} A su vez, los radicales OH[•] son capaces de reaccionar con las biomoléculas produciendo RL orgánicos menos reactivos, como los peroxilos (ROO[•]) y radicales tiol (RS[•]) y el O₂^{-•} y NO[•] reaccionan entre sí para formar peroxinitrilo (ONOO⁻), entre otros.^{5,19,21}

Para equilibrar la respuesta oxidante, el organismo vivo dispone de una serie de sistemas antioxidantes que contrarrestan la generación de RL. Un antioxidante es una entidad química que a bajas concentraciones, en comparación con el oxidante, retarda o previene la oxidación de un sustrato incluyendo lípidos, proteínas, hidratos de carbono y ADN.^{5,22} De éstos podemos destacar a las enzimas antioxidantes intracelulares superóxido dismutasa (SOD, EC 1.15.1.1), glutatión peroxidasa (GPx, EC 1.11.1.9) y catalasa (CAT, EC 1.11.1.6); así como diversos componentes plasmáticos como: glutatión oxidado y reducido, bilirrubina, ácido úrico y albúmina, además de las vitaminas antioxidantes A, C y E, los minerales selenio y zinc, y las hormonas, melatonina, dehidroepiandrosterona y estrógenos.^{14,22-24} En condiciones fisiológicas,

estos mecanismos de defensa mantienen una baja concentración de EROs en la célula y su actividad es muy precisamente regulada;²⁵ de aquí que el equilibrio entre la producción de ER y las defensas antioxidantes determina el grado de estrés oxidativo^{26,27} (Figura 1).

MEDICIÓN PARCIAL DEL ESTRÉS OXIDATIVO

Se han propuesto una gran variedad de marcadores biológicos para evaluar el estrés oxidativo, cuyos indicadores han sido desarrollados para determinar el daño mediado por RL o la generación de RL *in vivo*, dentro de los cuales se incluyen las mediciones de lípidos, proteínas y ADN oxidados. Estas técnicas son ampliamente aplicadas en la investigación clínica y epidemiológica.^{28,29}

De todas las biomoléculas que pueden ser atacadas por RL, los lípidos son probablemente los más susceptibles, específicamente los poli-insaturados que son fácilmente oxidables. El proceso de oxidación de los lípidos es llamado lipoperoxidación o peroxidación lipídica y los productos de estas reacciones se denominan lipoperoxidos (LPO). En este sentido, las membranas celulares son ricas en ácidos grasos poli-insaturados, de ahí que este proceso daña directamente la estructura de la membrana celular e indirectamente a otros componentes celulares por la producción de aldehídos reactivos.^{21,30}

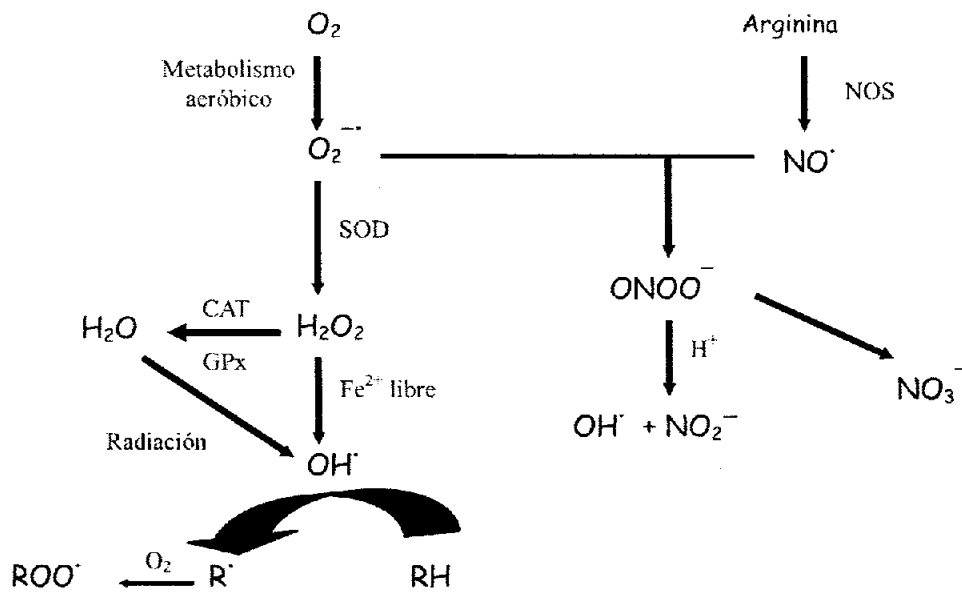


Figura 1. Formación intracelular de especies reactivas de oxígeno (EROs).

O₂^{-•} = ión superóxido
 OH[•] = radical hidroxilo
 R[•] = radical peroxi
 ROO[•] = radical peroxilo
 NO[•] = óxido nítrico
 ONOO⁻ = peroxinitrilo
 SOD = superóxido dismutasa
 CAT = catalasa
 GPx = glutatión peroxidasa
 NOS = óxido nítrico sintetasa.

Modificado de: Pierrefiche G y Laborit H, 1995.¹³

La peroxidación lipídica es probablemente el proceso inducido por RL más extensamente investigado. Los LPO son compuestos inestables que tienden a degradarse rápidamente en una variedad de productos que incluyen: dienos conjugados, alcanos (etano y pentano), productos aldehídicos (malondialdehído, n-aldehídos y aldehídos α,β -insaturados) e isoprostanos; todos ellos medibles por procedimientos que van desde los espectrofotométricos hasta la cromatografía de alta resolución (HPLC) o de gases (CG).^{3,31}

El procedimiento más comúnmente utilizado en los tejidos y fluidos humanos es la medición del malondialdehído (MDA) acoplado a ácido tiobarbitúrico (TBA), cuyo resultado es un aducto cromogénico, llamado TBARS, que puede medirse espectrofotométricamente a 532 nm, por fluorescencia a 553 nm o por HPLC.^{3,29,32} Esta técnica, aunque con algunas limitaciones que han sido superadas,²⁹ es de baja complejidad y rapidez, por lo que se considera como el método de elección en estudios epidemiológicos.^{29,33}

Así mismo, el ADN no está exento del proceso oxidativo, tanto el nuclear como el mitocondrial.²¹ Al respecto Ames y cols. (1993)³⁴ estimaron que una célula humana recibe 10,000 impactos oxidativos en el ADN/día producidos por OH^\cdot , es decir, de cada 10^{12} moléculas de oxígeno que entran a la célula/día, es posible que 1 en 200 dañen al ADN.³⁵ Las EROs pueden causar entrecruzamiento de proteínas-ADN, intercambio de cromátidas hermanas, daño a la estructura de la desoxirribosa-fosfato y oxidación de las cuatro bases nitrogenadas.^{3,35,36} Las modificaciones oxidativas en las bases producen mutaciones, mientras que la oxidación de la desoxirribosa puede inducir liberación de bases y rompimiento de cadena sencilla en las hebras de ADN.^{3,37} La reactividad del OH^\cdot hacia la desoxirribosa varía considerablemente, siendo los carbonos 4 y 5 los más susceptibles,³⁷ la lesión predominantemente observada es el rompimiento de la hebra mediado por hierro y H_2O_2 .³⁸

La medición del daño oxidativo al ADN puede ser a través de la presencia de los productos de oxidación de la guanosina: 8-hidroxi-guanosina (8OHG) y su nucleótido 8-hidroxi-2-desoxiguanosina (8OHdG) por técnicas de HPLC, CG y ELISA.³⁹⁻⁴¹ Otra manera de evaluar el daño al ADN es por medio de la electroforesis unicelular alcalina en gel o ensayo cometa en linfocitos, método sensible semicuantitativo en donde se analiza el daño célula por célula.⁴²⁻⁴⁴ En los estudios epidemiológicos se utiliza con mayor frecuencia la medición de 8OHG y 8OHdG debido a que se realiza en orina, complementada con el ensayo cometa.³

El daño causado a las proteínas es un proceso irreversible, el cual puede incrementar el enrollamiento erróneo de las estructuras secundarias o la pérdida de la formación de las estructuras terciaria y cuaternaria. Esto es debido a que todos los residuos de aminoácidos son sujeto de ataque por OH^\cdot , produciéndose una oxidación, formando las llamadas proteínas carboniladas y favoreciendo el entrecruzamiento entre proteínas o con otras biomoléculas como la glucosa (glucosilación). Estos cambios conformacionales pueden hacer a las proteínas más susceptibles de proteólisis, desnaturalización o producir pérdida de su actividad biológica.^{15,45,46}

Se han desarrollado varios métodos analíticos para la medición de proteínas carboniladas en tejidos, pero estos compuestos son muy lábiles, dificultando los procedimientos, de tal manera que se ha argumentado que otras modificaciones de las proteínas, tales como la hidroxilación aromática de fenilalanina y la conversión de tirosina a di-tirosina y nitro-tirosina, son mejores marcadores del estrés oxidativo, aunque se han utilizado principalmente en tejidos.^{3,15}

Por otro lado, se han propuesto como marcadores biológicos de EOX al sistema antioxidante a través de la medición de las enzimas SOD, GPx y CAT, además de componentes no enzimáticos como las vitaminas A, C y E, la concentración de selenio y zinc, el glutatión, la capacidad sérica antioxidante total (AT) y, recientemente el GAP o brecha antioxidante, este último definido como los antioxidantes diferentes de albúmina y ácido úrico, no medidos en las técnicas para la determinación de AT.^{15,47-50}

Para valorar los mecanismos antioxidantes intracelulares se utiliza tradicionalmente el seguimiento de la actividad de las enzimas antioxidantes SOD, GPx y CAT. Para la SOD se emplea con mayor frecuencia un método indirecto, en el cual se genera $\text{O}_2^{\cdot-}$ con la enzima xantina oxidasa (XO) a partir del sustrato xantina y la SOD compete con un colorante indicador (INT) por el $\text{O}_2^{\cdot-}$. La acción de la GPx puede ser valorada de diferentes maneras, ya sea midiendo la liberación de glutatión oxidado (GSSG) o por acción de la enzima sobre un hidroperóxido orgánico en presencia de H_2O_2 . Para la actividad de la CAT se sigue la reacción de descomposición del H_2O_2 , por la pérdida de la absorción a 240 nm, o por la medición de la liberación de O_2 utilizando un electrodo de oxígeno.⁵¹

Las defensas antioxidantes extracelulares se miden a través de la denominada capacidad antioxidante total (AT), en la cual se considera la acción acumulativa de todos los antioxidantes presentes en el plasma y los fluidos corporales, siendo un parámetro

integrado, más bien que una simple suma de antioxidantes medidos.⁵² Las técnicas desarrolladas para medir la capacidad antioxidante total de las muestras biológicas valoran la habilidad de compuestos donantes de un H⁺ o un electrón para oxidar las especies introducidas en el sistema de ensayo, por lo que son clasificados como métodos de inhibición o indirectos del poder antioxidante total.^{16,53}

Otra forma de medir al sistema antioxidante es a través de la concentración de las vitaminas antioxidantes, los minerales selenio (Se) y zinc (Zn), el glutatión (GSH) y la razón glutatión reducido/oxidado (GSH/GSSG). Las vitaminas A y E pueden cuantificarse simultáneamente por HPLC empleando un detector de absorción ultravioleta-visible, permitiendo un análisis rápido.⁵⁴ Para la vitamina C se han desarrollado varios métodos, los sistemas de detección suelen basarse en una de las reacciones siguientes: oxidación del ascorbato a ácido deshidroascórbico, reducción del ácido deshidroascórbico a ascorbato o absorción ultravioleta (UV) del ascorbato o ácido deshidroascórbico; siendo el método de elección el HPLC por ser más preciso y exacto.⁵⁵ El Se y el Zn forman parte del sitio activo de las enzimas antioxidantes, Se de la GPx y Zn de la SOD;⁵¹ su cuantificación se lleva a cabo a través de absorción atómica e indica una medición indirecta de la cantidad de dichas enzimas.⁵⁶ Y en el caso del glutatión en sus dos formas el método indicado es HPLC, aunque los estudios en plasma han sido limitados por problemas técnicos asociados a las bajas concentraciones de GSH y su fácil oxidación.⁵⁷

Todas estas mediciones han sido utilizadas como biomarcadores aislados y de manera estática, interpretando el EOx como el incremento de las biomoléculas oxidadas o la disminución de los componentes antioxidantes intracelulares y/o extracelulares; sin tomar en cuenta que el EOx integra el efecto de la exposición a oxidantes acoplado con los mecanismos protectores antioxidantes *in vivo* de una manera dinámica. Dentro del dinamismo del balance oxidativo, podemos observar individuos con niveles de LPO y/o ADN oxidado elevados con una respuesta antioxidante aparentemente eficiente, así como sujetos sin altos niveles de moléculas oxidadas pero deficiente respuesta antioxidante, por lo que si se evalúan de manera independiente el sistema pro-oxidante y el antioxidante, se propician errores de interpretación teórica y limitaciones para su aplicación clínica. En este sentido, Amstad y cols. (1991)⁵⁸ demostraron, en líneas celulares transformadas de ratones, que el balance entre la actividad de SOD y CAT + GPx es más importante para determinar el efecto oxidativo que la

actividad absoluta de una sola enzima. Siguiendo esta propuesta, Remacle y cols. (1992)⁵⁹ desarrollaron un modelo teórico de interacción bioquímica entre estas tres enzimas observando que la razón SOD/GPx baja da una mejor protección contra el estrés oxidativo, debido a que la eficiencia de SOD es relativamente mayor por periodos cortos de estrés, los cuales principalmente afectan la división celular sin degeneración celular; además, que hay un nivel crítico de daño como resultado del balance entre la producción de RL y los sistemas de defensa, principalmente GPx y CAT. Es por ello que se habla de una cooperación aditiva y sinérgica entre estas tres enzimas ya que la protección entre SOD y GPx es aditiva y entre GPx y CAT es sinérgica.⁶⁰

Esta cooperación de defensas antioxidantes sigue una vía metabólica para la eliminación de las principales EROs del ambiente celular. En ésta, la SOD se encarga de dismutar al O₂^{-•} abstrayendo un electrón para producir H₂O₂. El segundo paso es la reducción del H₂O₂ a agua por medio de GPx o CAT; pero en presencia de metales de transición, como el Fe²⁺, se cataliza la reducción del H₂O₂ a OH[•] por medio de una reacción llamada de Fenton (*Figura 2*).^{26,27,60} Un desequilibrio entre el primer y segundo paso tiene el potencial resultado de incrementar los niveles de H₂O₂ y OH[•] intracelular, provocando senescencia celular tanto en cultivos celulares como en eritrocitos humanos.^{10,61,62} Así mismo, la constante de velocidad de reacción de SOD es más alta que la de GPx (2 x 10⁹ y 5 x 10⁷, respectivamente), por lo que el H₂O₂ se forma rápidamente y no es eliminado en su totalidad; además, si lo que se tiene es una desproporción en la actividad entre SOD y GPx, a favor de la primera, se puede producir un incremento en la lipoperoxidación,⁶³ así como una razón SOD/GPx + CAT alterada puede afectar la expresión génica por modificación en los enlaces y/o disponibilidad en los factores de transcripción del ADN.⁶⁴ En este sentido, las razones SOD/GPx y SOD/GPx + CAT han sido propuestas como indicadores diagnósticos, pero sigue siendo una evaluación parcial al contemplar únicamente los sistemas enzimáticos,^{10,65} dejando a un lado los antioxidantes extracelulares no enzimáticos.

Con respecto a los antioxidantes extracelulares o exógenos, los principales antioxidantes (por masa y actividad) del plasma humano son la albúmina y el ácido úrico, los cuales conforman más del 50% de la actividad antioxidante total en la mayoría de las muestras. Se utiliza el término de actividad residual o brecha antioxidante (*antioxidant gap*) (GAP) como la actividad antioxidante de otros componentes plasmá-

ticos como: ácido ascórbico, α -tocoferol, bilirrubina, transferrina y otros antioxidantes no medidos, y puede ser calculada a partir de la capacidad plasmática antioxidante total, la concentración de albúmina y ácido úrico en la muestra de plasma, y el valor de los equivalentes de Trolox (TEAC) (un estándar antioxidante) para albúmina y ácido úrico, ya que está reportado que por los métodos de cuantificación de la AT no se determina la actividad antioxidante completa de ambas moléculas.⁶⁶

$GAP = AT - ([\text{albúmina} \times \text{TEAC}] + [\text{ácido úrico} \times \text{TEAC}])$.

Por lo tanto, el GAP refleja la actividad combinada de antioxidantes plasmáticos que no son albúmina y ácido úrico, proporcionando una interpretación de la capacidad antioxidante plasmática cuando no se han medido otros componentes.⁶⁶

En términos generales podemos señalar que los estudios sobre EOx miden parcialmente los marcadores biológicos involucrados en el proceso, sin embargo se establecen aseveraciones generalizadas respecto a la influencia del EOx sobre la etiología, fisiopatología y pronóstico de muchos padecimientos crónico-degenerativos, lo cual genera confusiones, resultados inconsistentes y contradictorios. Por tal motivo, es indispensable establecer propuestas que incluyan todos los parámetros existentes para medir un mecanismo bioquímico tan complejo como es el EOx y así evitar contradicciones y confusión.

PROPUESTA PARA LA MEDICIÓN INTEGRAL DEL ESTRÉS OXIDATIVO

El constructo que se propone considera dos biomoléculas oxidadas (LPO y ADN) y los componentes de los sistemas antioxidantes intracelulares y extracelulares, más fácilmente medibles en una muestra sanguínea, para poder hablar de EOx. Así mismo, contempla la eficiencia del sistema antioxidante en su totalidad junto con el efecto de las EROs en las biomoléculas, aproximándose así al establecimiento del estado oxidativo *in vivo*.

Como se mencionó anteriormente, el sistema antioxidante tiene más componentes y observándolo dinámicamente, consideramos los parámetros: razón SOD/GPx + CAT, AT y GAP para hablar del equilibrio en este sistema.

Cuando la acción entre las tres enzimas es sinérgica, la razón SOD/GPx + CAT estará baja y la tendencia de la reacción que las involucra es hacia la formación de agua, con baja generación de OH[•]; éste actúa a nivel celular y se difunde al líquido extracelular en

donde es amortiguado por altos niveles de AT y GAP. El resultado final es una baja oxidación del ADN y lipoperoxidación, tanto a nivel de membrana como extracelular. A esta condición la hemos denominado sistema antioxidante eficiente (SAE) (Figura 2A).

Cuando hay un desequilibrio en el sistema, puede existir una deficiencia antioxidante enzimática (DAEN) en donde la razón SOD/GPx + CAT se encuentra incrementada por baja actividad de GPx y/o CAT, generándose altos niveles de H₂O₂ y OH[•] que originan oxidación de las biomoléculas; el OH[•] en exceso pasa al líquido extracelular, y aunque AT y GAP se encuentren en niveles normales, son insuficientes para neutralizar el efecto oxidativo, dando como resultado un incremento en la lipoperoxidación (Figura 2B). También puede darse una deficiencia antioxidante exógena (DAEX), en cuyo caso los AT y GAP están disminuidos y la razón SOD/GPx + CAT se encuentran en rango normal con lo que se originan niveles de H₂O₂ y OH[•] normales; el OH[•] pasa al líquido extracelular, y por bajos niveles de AT y GAP se produce una acumulación de este radical, incrementando la lipoperoxidación exógena. A su vez, el OH[•] difunde nuevamente dentro de la célula originando una alta producción de LPO de la membrana y oxidación de ADN (Figura 2C). Finalmente, se hablaría de una deficiencia global del sistema antioxidante (DGSA) si los componentes de ambas partes están en desequilibrio. La razón SOD/GPx + CAT es alta, originando niveles de H₂O₂ y OH[•] elevados con la correspondiente oxidación intracelular; el OH[•] pasa al líquido extracelular, y por los bajos niveles de AT y GAP se produce una acumulación de este radical aumentando la lipoperoxidación, además de que difunde nuevamente dentro de la célula originando un incremento en la oxidación de las biomoléculas (Figura 2D).

Bajo este contexto, se habla de un EOx a diferentes niveles, donde la situación más severa o de mayor riesgo es tener una DGSA, ya que se propiciaría una mayor oxidación de biomoléculas.

Los puntos de corte de los marcadores bioquímicos para evaluar el EOx se obtuvieron de una población de adultos jóvenes sanos de 25-44 años sin exposición a factores pro-oxidantes ambientales y de estilo de vida, asumiendo el valor del percentil 90 (Cuadro I). Al respecto, es importante aclarar que de acuerdo con la teoría de los valores de referencia es indispensable obtener los puntos de corte específicos para la población en donde se aplicarán los parámetros, ya que los aspectos constitucionales, el estilo de vida y los factores ambientales influyen en ellos.^{67,68} Así mismo, se consideró el daño oxidativo al ADN medido a través de la técnica electroforesis unicelular alcalina utilizando el valor de

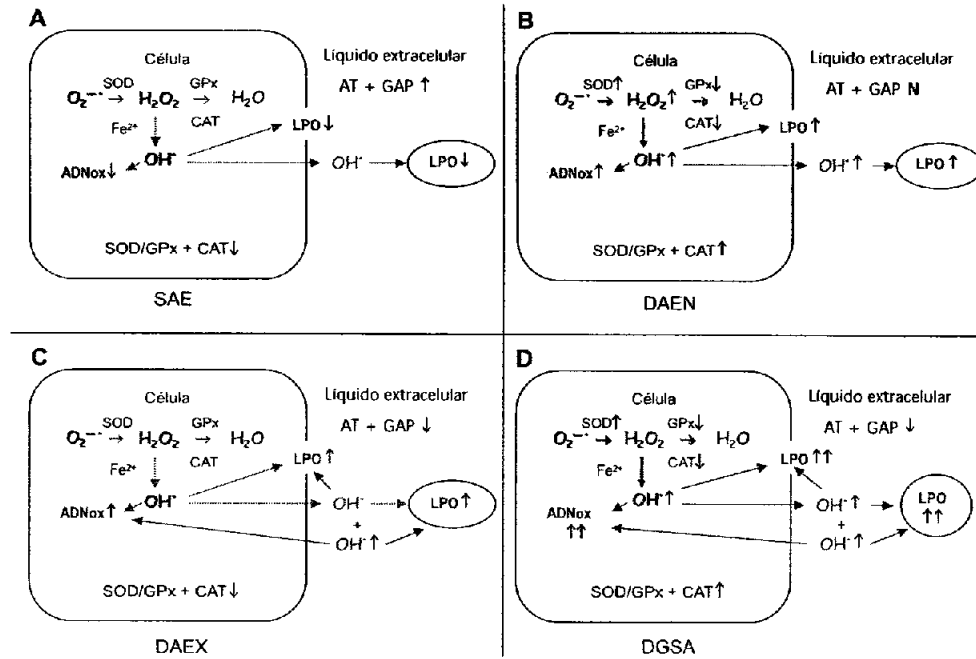


Figura 2. Dinámica del sistema antioxidante. **A.** Sistema antioxidante eficiente (SAE): la razón SOD/GPx + CAT se encuentra baja, con poca generación de OH[•]; el OH[•] pasa al líquido extracelular y es amortiguado por los altos niveles de AT y GAP, con baja producción de LPO y oxidación de ADN. **B.** Deficiencia antioxidante enzimática (DAEN): la razón SOD/GPx + CAT se encuentra incrementada, generándose altos niveles de H₂O₂ y OH[•]; el OH[•] en el líquido extracelular no es neutralizado por AT y GAP. **C.** Deficiencia antioxidante exógena (DAEX): la razón SOD/GPx + CAT se encuentra baja con niveles de H₂O₂ y OH[•] normales; los bajos niveles de AT y GAP producen acumulación de OH[•] en el líquido extracelular el cual difunde nuevamente dentro de la célula originando daño oxidativo. **D.** Deficiencia global del sistema antioxidante (DGSA): la razón SOD/GPx + CAT se encuentra alta con producción de H₂O₂ y OH[•] elevada; los bajos niveles de AT y GAP causan acumulación de OH[•] que difunde nuevamente dentro de la célula originando oxidación de biomoléculas.

O₂^{•-} = ión superóxido; OH[•] = radical hidroxilo; LPO = lipoperoxidos; ADNox = ADN oxidado; SOD = superóxido dismutasa; CAT = catalasa; GPx = glutatión peroxidasa; AT = capacidad antioxidante total; GAP = brecha antioxidante; ↓ = valores disminuidos; ↑ = valores incrementados; N = valores dentro de rango de referencia.

corte de ≥ 40% de daño y/o ≥ 6 células con daño de acuerdo a los criterios de Anderson y cols. (1994).⁴²

En esta propuesta se incluyen la mayor parte de los componentes antioxidantes, tanto enzimáticos como no enzimáticos y una evaluación constituida de todos ellos, lo cual proporciona una mejor perspectiva del sistema antioxidante en los individuos, y por ende del estrés oxidativo, identificando si los parámetros mencionados se encuentran fuera de los valores de corte (*Cuadro II*). Al respecto, en un estudio exploratorio llevado a cabo por nuestro grupo de investigación se evaluó la utilidad del constructo en dos propuestas, una que incluye la razón SOD/GPx y otra en donde la razón empleada es SOD/GPx + CAT, encontrándose que esta última es más representativa del comportamiento antioxidante enzimático. Así mismo, se observó que el sistema antioxidante

mantiene su eficiencia contra la lipoperoxidación, con LPO prácticamente iguales con ambas propuestas, a excepción de aquellos casos en los que se presenta DGSA;

Cuadro I. Valores de corte para biomarcadores de estrés oxidativo obtenidos al percentil 90 de una población de adultos jóvenes de Actopan, Hgo.

Biomarcador	Valor de corte
Lipoperoxidos (μmol/L)	≥ 0.340
Superóxido dismutasa (U/L)	≤ 170
Glutatión peroxidasa (U/L)	≤ 5.500
SOD/GPx + CAT	≥ 0.014
Capacidad plasmática antioxidante total (mmol/L)	≤ 0.90
Brecha antioxidante (μmol/L)	≤ 190

Cuadro II. Interpretación de los marcadores de estrés oxidativo para una muestra sanguínea.

Estado oxidativo	SOD/GPx + CAT	AT (mmol/L)	GAP (μ mol/L)	LPO (μ mol/L)*	Daño ADN*
Sin estrés oxidativo	≤ 0.014	≥ 0.90	≥ 190	≤ 0.340	$< 40\% \text{ y/o } < 6 \text{ cél.}$
Estrés oxidativo con DAEN	≥ 0.014	≥ 0.90	≥ 190	≥ 0.340	$\geq 40\% \text{ y/o } \geq 6 \text{ cél.}$
Estrés oxidativo con DAEX	≤ 0.014	≤ 0.90	≤ 190	≥ 0.340	$\geq 40\% \text{ y/o } \geq 6 \text{ cél.}$
Estrés oxidativo con DGSA	≥ 0.014	≤ 0.90	≤ 190	≥ 0.340	$\geq 40\% \text{ y/o } \geq 6 \text{ cél.}$

SOD = superóxido dismutasa; GPx = glutatión peroxidasa; CAT = catalasa; AT = capacidad antioxidante total; GAP = brecha antioxidante; LPO = lipoperóxidos.

* Dependiendo de la severidad del estrés oxidativo puede encontrarse sólo uno de los dos marcadores fuera de rango.

además de que si el sistema antioxidante es eficiente, los niveles de LPO se mantienen bajos,⁶⁹ demostrando que el constructo propuesto puede tener posibilidades de aplicación clínica y de investigación en el establecimiento del EOx. En este sentido, Lasheras y cols. (2002)⁷⁰ analizaron la posible interacción entre los diferentes antioxidantes liposolubles considerando la actividad enzimática antioxidante, reportando que hay un efecto sinérgico *in vivo* entre los componentes liposolubles y la actividad alta de la SOD eritrocitaria, concordante con lo observado en nuestro estudio.

Es necesario aclarar que una limitante del constructo es la falta de inclusión de las mediciones del daño oxidativo a proteínas, cuantificación de vitaminas antioxidantes A, C y E, minerales (Se, Zn), albúmina, transferrina, ácido úrico, bilirrubina y glutatión, entre otros elementos; no obstante, debemos considerar que en esta propuesta se mide el daño oxidativo a lípidos y al ADN, por lo que podemos inferir que el daño que ocurre en proteínas es proporcionalmente similar, así mismo a través de la evaluación de la actividad antioxidante total (AT) aunada al GAP medimos indirectamente la actividad antioxidante de las vitaminas, minerales, proteínas y demás elementos antioxidantes plasmáticos, por lo que se asume que el constructo se aproxima a la evaluación integral del EOx.

Finalmente es importante resaltar que los mecanismos moduladores del EOx en el ser humano son complejos e interactúan entre sí, es por ello que nuestro grupo de investigación pone a consideración de la comunidad científica esta propuesta para su análisis, discusión, y posible aplicación con el fin de disponer de un constructo práctico y accesible para la evaluación integral y dinámica del EOx.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por la Dirección General de Apoyo al Personal Académico proyecto PAPIIT IN-308302, Universidad Nacional Autónoma de México.

Al Dr. Mariano Zacarías Flores por la traducción del resumen al inglés.

REFERENCIAS

1. Feinstein AR. *Clinimetrics*. New Haven: Yale University Press; 1987. p. 49, 197.
2. Jenicek M. *Epidemiología. La lógica de la medicina moderna*. Barcelona: Masson; 1996. p. 106.
3. de Zwart LL, Merman JHN, Commandeur JNM, Vermeulen NPE. Biomarkers of free radical damage applications in experimental animals and in humans. *Free Radic Biol Med* 1999; 26: 202-226.
4. Harman D. Free radical theory of aging. *Mutat Res* 1992; 275: 257-266.
5. Halliwell B, Gutteridge JMC, Cross CE. Free radicals, antioxidants, and human disease: Where are we now? *J Lab Clin Med* 1992; 119: 598-620.
6. Dröge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev* 2002; 82: 48-95.
7. Forsberg L, de Faire U, Morgenstern R. Oxidative stress, human genetic variation, and disease. *Arch Biochem Biophys* 2001; 389: 84-93.
8. Matés JM, Pérez-Gómez C, de Castro IN. Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin Biochem* 1999; 32: 595-603.
9. Mecocci P, Fanó G, Fulle S, MacGarvey U, Shinobu L, Polidori MC, et al. Age-dependent increases in oxidative damage to DNA, lipids, and proteins in human skeletal muscle. *Free Radic Biol Med* 1999; 26: 303-308.
10. Muchová J, Sustrová M, Garajová I, Liptáková A, Blazicek P, Kvasnicka P, et al. Influence of age on activities of antioxidant enzymes and lipid peroxidation products in erythrocytes and neutrophils of Down syndrome patients. *Free Radic Biol Med* 2001; 31: 499-508.
11. Gil P, Fariñas F, Casado A, López-Fernández E. Malondialdehyde: a possible marker of ageing. *Gerontology* 2002; 48: 209-214.
12. King CM, Bristow-Craig HE, Gillespie ES, Barnett YA. *In vivo* antioxidant status, DNA damage, mutation and DNA repair capacity in cultured lymphocytes from healthy 75-to 80 years-old humans. *Mutat Res* 1997; 377: 137-147.
13. Paolisso G, Tagliamonte MR, Rizzo MR, Manzella D, Gambardella A, Varricchio M. Oxidative stress and advancing age: results in healthy centenarians. *J Am Geriatr Soc* 1998; 46: 833-838.
14. Mecocci P, Polidori MC, Troiano L, Cherubini A, Cecchetti R, Pini G, et al. Plasma antioxidants and longevity: a study on healthy centenarians. *Free Radic Biol Med* 2000; 28: 1243-1248.
15. Stadtman ER. Importance of individuality in oxidative stress and aging. *Free Radic Biol Med* 2002; 33: 597-604.

16. Niki E. Action of antioxidants against oxidative stress. In: Dizdaroglu M, Karataya AE [Eds]. *Advances in DNA damage and repair*. New York: Kluwer Academic/ Plenum Publishers; 1999. p. 313-318.
17. Prior RL, Cao G. *In vivo* total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods. *Free Radic Biol Med* 1999; 27: 1173-1181.
18. Halliwell B. Reactive oxygen species in living systems: source biochemistry, and role in human. *Am J Med* 1991; 91 (Suppl 3C): 14S-22S.
19. Chesseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull* 1993; 49: 481-493.
20. Gutteridge J. Free radicals and aging. *Rev Clin Gerontol* 1994; 4: 279-288.
21. Knight JA. Free radicals: their presence in biological systems. In: *Free radicals, antioxidants, aging, and disease*. Washington: AACC Press; 1999. p. 21-43.
22. Halliwell B. The definition and measurement of antioxidants in biological systems. [Letter] *Free Radic Biol Med* 1995; 18: 125-126.
23. Liehr JC, Roy D. Pro-oxidant and antioxidant effects of estrogens. In: Armstrong D [Ed]. *Free radical and antioxidant protocols*. New Jersey: Humana Press; 1998. p. 425-435.
24. Noguchi N, Niki E. Chemistry of active oxygen species and antioxidants. In: Papas AM. *Antioxidant status, diet, nutrition, and health*. New York: CRC Press; 1999. p. 3-20.
25. Harris ED. Regulation of antioxidant enzymes. *FASEB J* 1992; 6: 2675-2683.
26. Pierrefiche G, Laborit H. Oxygen free radicals, melatonin, and aging. *Exp Gerontol* 1995; 30: 213-227.
27. Finkel T, Holbrook NJ. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature* 2000; 408: 239-247.
28. Mayne ST. Antioxidant nutrients and chronic disease: use of biomarkers of exposure and oxidative stress status in epidemiologic research. *J Nutr* 2003; 133: 933S-940S.
29. Meagher EA, FitzGerald GA. Indices of lipid peroxidation *in vivo*: strengths and limitations. *Free Radic Biol Med* 2000; 28: 1745-1750.
30. Gutteridge JMC. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem* 1995; 41: 1819-1828.
31. Morrow JD, Roberts LJ. The isoprostanes: unique bioactive products of lipid peroxidation. *Prog Lipid Res* 1997; 36: 1-21.
32. Moore K, Roberts II J. Measurement of lipid peroxidation. *Free Radic Res* 1998; 28: 659-671.
33. Block G, Dietrich M, Norkus EP, Morrow JD, Hudes M, Caan B, et al. Factors associated with oxidative stress in human populations. *Am J Epidemiol* 2002; 156: 274-285.
34. Ames BN, Shigenago MK, Hagen TM. Oxidants, antioxidants, and degenerative diseases of aging. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 7915-7922.
35. Aust AE, Eveleigh JF. Mechanisms of DNA oxidation. *Proc Soc Exp Biol Med* 1999; 222: 246-252.
36. Sohal RS, Weindruch R. Oxidative stress, caloric restriction, and aging. *Science* 1996; 273: 59-63.
37. González-Torres MC, Betancourt-Rule M, Ortiz-Muñiz R. Daño oxidativo y antioxidantes. *Bioquímica* 2000; 25: 3-9.
38. Floyd RA, Carney JM. Free radical damage to protein and DNA: mechanisms involved and relevant observations on brain undergoing oxidative stress. *Ann Neurol* 1992; 32: S22-S27.
39. Podmore ID, Cooper D, Evans MD, Wood M, Lunec J. Simultaneous measurement of 8-oxo-2'-deoxyguanosine and 8-oxo-2'-deoxyadenosine by HPLC-MS/MS. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 277: 764-770.
40. Dizdaroglu M, Jaruga P, Birincioglu M, Rodriguez H. Free radical-induced damage to DNA: mechanisms and measurement. *Free Radic Biol Med* 2002; 32: 1102-1115.
41. European Standards Committee on Oxidative DNA Damage (ESCODD). Measurement of DNA oxidation in human cells by chromatographic and enzymic methods. *Free Radic Biol Med* 2003; 34: 1089-1099.
42. Anderson D, Yu T-W, 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.
43. Valverde M, Ostrosky-Wegman P, Rojas E, Fortoul T, Meneeses F, Ramirez M, et al. The application of single cell gel electrophoresis or comet assay to human monitoring studies. *Salud Pública Mex* 1999; 41 (Suppl): S109-S113.
44. Bowden RD, Buckwalter MR, McBride JF, Johnson DA, Murray BK, O'Neill KL. Tail profile: a more accurate system for analyzing DNA damage using the Comet assay. *Mutat Res* 2003; 537: 1-9.
45. Stadtman ER. Protein oxidation and aging. *Science* 1992; 257: 1220-1224.
46. Vilar-Rojas C, Guzmán-Grenfell AM, Hicks JJ. Participation of oxygen-free radicals in the oxide-reduction of proteins. *Arch Med Res* 1996; 27: 1-6.
47. Bhagwat VR. Relationship of erythrocyte superoxide dismutase, serum lipid peroxides and age. *Indian J Med Sci* 1997; 51: 45-51.
48. Ji LL, Dillon D, Wu E. Alteration of antioxidant enzymes with aging in rat skeletal muscle and liver. *Am J Physiol* 1990; 258(4 Pt 2): R918-23.
49. Mc Call MR, Frei B. Can antioxidant vitamins materially reduce oxidative damage in humans? *Free Radic Biol Med* 1999; 26: 1034-1053.
50. Miller NJ. Nonvitamins plasma antioxidant. In: Armstrong D [Ed]. *Methods in molecular biology*. New Jersey: Humana Press; 1998; 108: 285-297.
51. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free radicals in biology and medicine*. 2nd Ed. London: Oxford University Press; 1995. p. 86-276.
52. Ghiselli A, Serafini M, Natella F, Scaccini C. Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: critical view and experimental data. *Free Radic Biol Med* 2000; 29: 1106-1114.
53. Duthie GG. Determination of activity of antioxidants in human subjects. *Proc Nutr Soc* 1999; 58: 1015-1024.
54. Browne RW, Armstrong D. Simultaneous determination of serum retinol, tocopherols, and carotenoids by HPLC. In: Armstrong D [Ed]. *Free radical and antioxidant protocols*. New Jersey: Humana Press; 1998. p. 269-284.
55. Levine M, Rumsey S, Wang Y, Park J, Kwon O, Xu W, et al. Vitamina C. En Ziegler EE, Filer LJ. *Conocimientos actuales sobre nutrición*. 7^a Ed. Washington: OPS Publicación científica 565; 1997. p. 155-169.
56. Handelman GJ, Pryor WA. Evaluation of antioxidant status in humans. In: Papas AM. *Antioxidant status, diet, nutrition, and health*. Washington: CRC Press; 1999. p. 42-43.
57. Jones DP, Carlson JL, Mody VC, Cai J, Lynn MJ, Sternberg P. Redox state of glutathione in human plasma. *Free Radic Biol Med* 2000; 28: 625-635.
58. Amstad P, Peskin A, Shah C, Mirault ME, Moret R, Zbinden I, et al. The balance between Cu, Zn-superoxide dismutase and catalase affects the sensitivity of mouse epidermal cells to oxidative stress. *Biochemistry* 1991; 30: 9305-9313.
59. Remacle J, Lambert D, Raes M, Pigeolet E, Michiels C, Toussein O. Importance of various antioxidant enzymes for cell stability. *Biochem J* 1992; 286: 41-46.

60. Michiels C, Raes M, Toussaint O, Remacle J. Importance of Superoxide dismutase, catalase, and Cu/Zn-SOD for cell survival against oxidative stress. *Free Radic Biol Med* 1994; 17: 235-248.
61. Amstad P, Moret R, Cerutti P. Glutathione peroxidase compensates for the hypersensitivity of Cu, Zn-superoxide dismutase over-producers to oxidant stress. *J Biol Chem* 1994; 269: 1606-1609.
62. de Haan JB, Cristiano F, Iannello R, Bladier C, Keiner MJ, Kola I. Elevation in the ratio of Cu/Zn-superoxide dismutase to glutathione peroxidase activity induces features of cellular senescence and this effect is mediated by hydrogen peroxide. *Hum Mol Gen* 1996; 5: 283-292.
63. Cristiano F, de Haan JB, Iannello RC, Kola I. Changes in the levels of enzymes which modulate the antioxidant balance occur during aging and correlate with cellular damage. *Mech Ageing Dev* 1995; 80: 93-105.
64. de Haan JB, Cristiano F, Iannello RC, Kola I. Cu/Zn-superoxide dismutase and glutathione peroxidase during aging. *Biochem Mol Biol Int* 1995; 35: 1281-1297.
65. Gaeta LM, Tozzi G, Pastore A, Federici G, Bertini E, Piemonte F. Determination of superoxide dismutase and glutathione peroxidase activities in blood of healthy pediatric subjects. *Clin Chem Acta* 2002; 322: 117-120.
66. Miller NJ. Nonvitamin plasma antioxidants. In: Armstrong D. *Free radical and antioxidant protocols*. New Jersey: Humana Press; 1998. p. 285-297.
67. Castillo de Sánchez ML, Fonseca-Yerena ME [Editoras]. Fase postanalítica. En: *Mejoría continua de la calidad. Guía para los laboratorios clínicos de América Latina*. México: Médica Panamericana. 1995. p. 90-93.
68. Dybkar R, Solberg HE. Parte 6. Presentación de valores observados relacionados con los valores de referencia. *Acta Bioq Clin Latinoam* 1988; 22: 613-621.
69. Beristain-Pérez AS, Sánchez-Rodríguez MA, Ruiz-Ramos M, Mendoza-Núñez VM. ¿Cómo evaluar la eficiencia del sistema antioxidante en el estrés oxidativo? Propuesta de un constructo. *Archivo Geriátrico* 2003; 6: 100-104.
70. Lasheras C, Huerta JM, González S, Braña AF, Patterson AM, Fernández S. Independent and interactive association of blood antioxidants and oxidative damage in elderly people. *Free Radic Res* 2002; 36: 875-882.



Efficient antioxidant capacity against lipid peroxide levels in healthy elderly of Mexico City

Martha A. Sánchez-Rodríguez^a, Raquel Retana-Ugalde^a, Mirna Ruíz-Ramos^a,
José Luis Muñoz-Sánchez^b, Luis Alberto Vargas-Guadarrama^c,
Víctor Manuel Mendoza-Núñez^{a,*}

^aUnidad de Investigación en Gerontología, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM),
Fuerte de Loreto, Col. Ejército de Oriente, Batalla 5 de mayo s/n, esq. 09230 Mexico City, Mexico

^bDepartamento de Bioquímica, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional (IPN), Mexico City, Mexico
^cInstituto de Investigaciones Antropológicas, UNAM, Mexico City, Mexico

Received 22 December 2003; received in revised form 20 April 2004; accepted 4 May 2004
Available online 20 July 2004

Abstract

We evaluated antioxidant activity against lipid peroxide levels (LPO) in healthy elderly and adults of Mexico City in comparison with a population of a rural area. The study included free-living subjects: 38 adults aged <60 years and 129 older subjects aged ≥60 years of urban Mexico City in addition to 37 adults aged <60 years and 88 older subjects aged ≥60 years of rural area (Actopan, Hidalgo State, Mexico). LPO were observed as higher in adults and elderly of the urban area than among rural subjects ($P < 0.01$), although LPO levels were similar in rural adults and elderly ($P > 0.05$); conversely, in urban area levels were higher in the elderly than in adults ($P < 0.01$). On the other hand, the superoxide dismutase in urban elderly was higher than that in rural elderly ($P < 0.05$) but similar between urban adults and urban elderly ($P > 0.05$). Total oxidant status in urban elderly was higher than that in rural elderly ($P < 0.01$). Our findings allow us to conclude that the urban elderly (residents of Mexico City) have higher oxidative stress than the rural-dwelling elderly, though the urban elderly have efficient antioxidant capacity as a response to elevated LPO. © 2004 Elsevier Inc. All rights reserved.

Keywords: Lipid peroxides; Total antioxidants; Elderly; Urban; Rural; Pollution

1. Introduction

Oxidative stress (OxS) is a serious imbalance between the reactive oxygen species (ROS) produced and the effective action of the antioxidant system. It is a factor that contributes to aging and the development, among other diseases, of diabetes mellitus, chronic obstructive lung disease, atherosclerosis, Parkinson's disease, Alzheimer's disease, rheumatoid arthritis, and some types of cancer (Harman, 1998; Finkel and Holbrook, 2000; Knight, 1999). Several factors affect the antioxidant

status in favor of OxS, such as an antioxidant-deficient diet, strenuous exercise, smoking, alcoholism, exposure to air pollutants, genetic alterations, and aging (Joseph et al., 2000; Mastaloudis et al., 2001; Panda et al., 2000; Cederbaum, 2001; Cotovio et al., 2001).

There is abundant experimental and observational evidence that supports the idea that aging is the sum of all free radical reactions throughout all cells and tissues or that they are at least a major contributor to it (Harman, 1998; Finkel and Holbrook, 2000; Knight, 1999).

The inhabitants of Mexico City are exposed most of the time to high levels of air pollutants, which have been associated with an increase in the incidence of mortality in children and the elderly (Loomis et al.,

*Corresponding author. Fax: +52-55-5773-6332.

E-mail address: mendovic@servidor.unam.mx
(V.M. Mendoza-Núñez).

1999; Téllez-Rojo et al., 2000). In such regard, it has been demonstrated that newly arrived subjects to Mexico City (1–8 days) present greater lipoperoxidation concomitant with a greater production of Cu/Zn-superoxide dismutase (SOD), in comparison with permanent residents (Hicks et al., 1996). In this sense, it has also been demonstrated in adults recently arrived in Mexico City that the activity of SOD decreased after 16 weeks in comparison with the values obtained the first week; at the same time the inhibitory capacity of serum against induced *in vitro* lipoperoxidation increased by 22% as an adaptive response (Medina-Navarro et al., 1997). However, it has not been demonstrated that this adaptive response is conserved in healthy elderly.

For this reason, the purpose of this study was to evaluate antioxidant activity against lipid peroxide levels in healthy elderly and adults of Mexico City in comparison with a population of the rural area.

2. Materials and methods

2.1. Subjects

The study included free-living subjects with residence in the urban or rural areas for 10 years or more: 38 adults aged <60 years (mean 34 ± 6.2 years) and 129 older subjects aged ≥ 60 years (mean 68 ± 7 years) of urban Mexico City (altitude 2260 m above sea level); in addition, the study included 37 adults aged <60 years (33 ± 6.4 years) and 88 older subjects aged ≥ 60 years (mean 70 ± 8.3 years) from the rural area (Actopan, Hidalgo State, Mexico, to 130 km away from Mexico City and 2069 m above sea level). None of the subjects studied had been taking antioxidant supplementation (vitamins or minerals) for at least 6 months previously and none smoked or had acute or chronic diseases or were receiving prescription medications. All groups were healthy (without arterial hypertension, diabetes mellitus, or cancer) and well nourished. Older subjects had BMI of $23.1\text{--}27\text{ kg/m}^2$, their Mini Nutritional Assessment score was > 23.5 , their caloric intake was between 2000 and 2500 kcal per day, their alimentation had the nutrient requirements (protein, fat, carbohydrate, vitamins, and minerals) consistent with the recommended dietary allowance (RDA) measured by 24-h dietary recalls, and their serum albumin was $> 35\text{ g/L}$. Adult subjects had BMI of $22.1\text{--}25\text{ kg/m}^2$, their caloric intake was between 2200 and 2800 kcal per day, their alimentation had the nutrient requirements (protein, fat, carbohydrate, vitamins, and minerals) consistent with the RDA measured by 24-h dietary recalls, and their serum albumin was $> 35\text{ g/L}$ (Vellas et al., 2000; Ervin, 1998; Barrocas et al., 1995). The physical activity was similar between groups of older subjects and adult

subjects; this was measured with a physical activity scale for the elderly (Washburn et al., 1999).

The subjects agreed to participate in the study after giving their informed consent. The Ethics Committee of the Universidad Nacional Autónoma de México Zaragoza Campus approved the research protocol for this study.

2.2. Air pollutants monitoring

No personal monitoring was performed. Annual mean of ozone air in Mexico City was $0.155 \pm 0.046\text{ ppm}$ and in Actopan, Hidalgo State $0.070 \pm 0.010\text{ ppm}$ ($P < 0.0001$); PM10 in Mexico City was $122 \pm 27\text{ }\mu\text{g/m}^3$ and in Actopan, Hidalgo State was $104 \pm 24\text{ }\mu\text{g/m}^3$ ($P = 0.064$) (CENICA, 2000).

2.3. Blood sampling and preparation

Blood samples were collected after a 12-h fasting period by venopuncture and placed in vacutainer/siliconized test tubes containing a separating gel and no additives. Heparin was employed as anticoagulant agent. Blood samples containing heparin were analyzed using a complete hemoglobin test protocol (including hemoglobin, hematocrit, and leukocyte counts). The following serum quantifications were conducted: glucose, urea, creatinine, urate, albumin, cholesterol, triglycerides, and cholesterol high-density lipoproteins (HDL). These tests were used as screening measurements for diagnosis of clinically healthy subjects.

2.4. Blood sampling and biochemical analyses

Hemoglobin levels were measured by cyanomethaemoglobin reaction procedure (cutoff points: in males, $12.17\text{--}17.26\text{ g/dL}$, and in females, $11.48\text{--}16.25\text{ g/dL}$). Hematocrit levels were assessed by microhematocrit procedure (cutoff points: males, 38–52%, females, 36–51%). Leukocyte count was done using the Newbauer chamber procedure (cutoff points: $3500\text{--}10,650/\text{mm}^3$).

Glucose, urea, creatinine, urate, albumin, cholesterol, triglyceride, and HDL levels were determined using an Eclipse autoanalyzer (Merck, México). Specifically, glucose levels were measured with the glucose oxidase method (cutoff points: $63\text{--}120\text{ mg/dL}$), urea levels were measured with the Berthelot urease method (cutoff points: $9.5\text{--}47.0\text{ mg/dL}$), creatinine levels were measured with the Jaffe method without deproteinization (cutoff points: males, $0.3\text{--}1.5\text{ mg/dL}$, females, $0.3\text{--}1.3\text{ mg/dL}$), and urate levels were measured with the uricase colorimetric method (cutoff points: males, $2.9\text{--}8.88\text{ mg/dL}$, females, $2.5\text{--}8.7\text{ mg/dL}$). Albumin levels were measured with the bromocresol green technique ($3.23\text{--}4.03\text{ g/dL}$).

Cholesterol was analyzed using the CHOD-PAP technique (cutoff points: 168–200 mg/dL) and triglycerides by the GPO-Trinder technique (cutoff points: 89–190 mg/dL), whereas HDL were assessed employing the same technique for cholesterol after precipitation of low and very-low lipoproteins using a phosphotungstic acid/magnesium chloride solution (cutoff points: 42–77 mg/dL).

All reagents employed in biochemical tests were obtained from Randox Laboratories, Ltd. (Crumlin, Co, Antrim, UK); cutoff points for reference values for Mexican elderly persons were determined at the Gerontologic Clinical Research Laboratory of the Universidad Nacional Autónoma de México Zaragoza Campus in Mexico City (Sánchez-Rodríguez et al., 1998).

Blood samples containing heparin were subjected to plasma total antioxidant status (TAS), activity of red blood cell (RBC) superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GPx), and plasma thiobarbituric acid reacting substances (TBARS) assay. Artifactual formation of TBARS in the samples was prevented by adding 10 μ L of 2-mM butylated hydroxytoluene (BHT) in ethanol at 95% immediately after centrifugation.

2.5. Total antioxidant status

Antioxidant quantification was carried out using (2,2'-azidodiethylbenzothiazolium sulfanate (ABTS⁺) radical formation kinetics (Randox Laboratories, Ltd.). The presence of antioxidants in plasma suppressed the bluish-green staining of the ABTS⁺ cation, which was proportional to the antioxidant concentration level. Kinetics was measured at 600 nm.

2.6. Red blood cell superoxide dismutase

The method employs xanthine and xanthine oxidase (XOD) to generate superoxide radicals, which react with 2-(4-iodophenyl)-3-(4-nitrophenol)-5-phenyltetrazolium chloride to form a red formazan dye. SOD activity was measured by degree of inhibition of the reaction (Randox Laboratories, Ltd.). Kinetics was measured at 505 nm.

2.7. Red blood cell glutathione peroxidase

GPx catalyzes oxidation of glutathione (GSH) by cumene hydroperoxide, in the presence of glutathione reductase and NADPH; oxidized glutathione (GSSG) is immediately converted into the reduced form with concomitant oxidation of NADPH to NADP⁺. Decrease in absorbance at 340 nm is measured (Randox Laboratories, Ltd.).

2.8. Plasma lipoperoxides

We used the TBARS assay. It was performed as described by Jentzsch et al. (1996). In the TBARS assay,

one molecule of malondialdehyde reacts with two molecules of thiobarbituric acid (TBA) with production of a pink pigment with absorption at 535 nm. Amplification of peroxidation during the assay is prevented by the addition of the chain-breaking antioxidant BHT.

Plasma (400 μ L) or MDA standard (0.2–4 μ mol/L) prepared by hydrolysis of 1,1,3,3-tetramethoxypropane (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) was mixed with 400 μ L orthophosphoric acid (0.2 mol/L) (Sigma Chemical Co.) and 50 μ L BHT (2 mmol/L) (Sigma Chemical Co.) in 12 \times 75-mm tubes. Then we added 50 μ L TBA reagent (0.11 mol/L in 0.1 mol/L NaOH) (Fluka Chem., Buchs, Switzerland) and mixed the contents; subsequently, the contents were incubated at 90 °C for 45 min in a water bath. The tubes were put on ice to stop the reaction. TBARS were extracted once with 1000 μ L *n*-butanol (Sigma Chemical Co.). The upper butanol phase was read at 535 and 572 nm to correct for baseline absorption in UV-spectrophotometer (Shimadzu, Columbia, MD, USA). MDA equivalents (TBARS) were calculated using the difference in absorption at two wavelengths and quantification was done with calibration curve.

2.9. Statistical analysis

Data were processed by use of standard statistical software SPSS 10.0 (SPSS Inc. Chicago, IL, USA). Descriptive statistics are means \pm standard error (SE). Results were analyzed using Student *t* test and ANOVA with Tukey post hoc test. A *P* value < 0.05 was considered significant. Also a multivariate analysis of logistic regression considering risk factor when Odds Ratio (OR) > 1 and range of 95% confidence interval does not include the value 1.0 (*P* < 0.05) was conducted.

3. Results

3.1. Biochemical characteristics

All groups were healthy. Biochemical characteristics of study subjects showed that the elderly and adults in urban and rural areas had no statistically significant differences (*P* > 0.05) (Table 1).

3.2. Lipoperoxides

Plasma lipoperoxide levels (LPO) were similar in both age groups of rural inhabitants (*P* > 0.05); conversely, in urban area plasma LPO levels were higher in the elderly than in the adults (*P* < 0.01) (Table 2). In the same manner, LPO were higher in adults and elderly of the urban area than among rural subjects (*P* < 0.01) (Fig. 1). On the other hand, male adults of both areas showed

Table 1
Biochemical characteristics of the study subjects

	Urban		Rural	
	Adults	Elderly	Adults	Elderly
<i>n</i>	38	129	37	88
Glucose (mg/dL)	89 ± 17	106 ± 37	90 ± 25	111 ± 28
Urea (mg/dL)	29 ± 6	30 ± 11	30 ± 7	34 ± 10
Creatinine (mg/dL)	0.82 ± 0.2	0.89 ± 0.3	0.99 ± 0.2	0.92 ± 0.2
Urate (mg/dL)	5.1 ± 1.6	4.6 ± 1.4	4.8 ± 1.7	5.0 ± 1.8
Cholesterol (mg/dL)	188 ± 34	206 ± 41	192 ± 35	213 ± 35
Triglycerides (mg/dL)	123 ± 67	172 ± 76	165 ± 77	171 ± 60
HDL (mg/dL)	59 ± 20	48 ± 12	51 ± 13	50 ± 15
Albumin (g/dL)	4.0 ± 0.3	4.2 ± 0.4	4.4 ± 0.4	4.1 ± 0.5
Hemoglobin (g/dL)				
Females	14.5 ± 1.2	14.4 ± 1.2	14.6 ± 1.6	14.1 ± 1.2
Males	16.9 ± 1.1	15.5 ± 1.1	16.5 ± 1.4	14.9 ± 1.8
Hematocrit (%)				
Females	46 ± 3.4	46 ± 3.5	44 ± 3.6	44 ± 3.6
Males	52 ± 3.0	49 ± 4.0	48 ± 3.5	47 ± 5.3
Total leukocytes/mm ³	6596 ± 1069	6521 ± 1506	7400 ± 1674	6462 ± 1545

Table 2

Mean values ± SE of plasma lipoperoxides, total antioxidant status, and antioxidant enzymes (SOD and GPx) in adults and elderly by urban and rural area

	Urban		Rural	
	Adults	Elderly	Adults	Elderly
<i>N</i>	38	129	37	88
Lipoperoxides (LPO) (μmol/L)	0.304 ± 0.028 ^{a,b}	0.398 ± 0.017 ^c	0.210 ± 0.012	0.240 ± 0.014
Total antioxidant status (TAS) (mmol/L)	1.35 ± 0.046 ^{d,e}	1.15 ± 0.019 ^f	1.05 ± 0.025	1.05 ± 0.021
Superoxide dismutase (SOD) (U/L)	177 ± 1.9	173 ± 1.5 ^g	175 ± 0.9 ^h	168 ± 0.8
Glutathione peroxidase (GPx) (U/L)	7851 ± 289 ⁱ	6391 ± 207 ^j	6724 ± 225	7458 ± 307

ANOVA with Tukey test. ^aLPO: urban adults vs. elderly, $P < 0.01$; ^burban vs. rural adults, $P < 0.05$; ^curban vs. rural elderly, $P < 0.0001$; ^dTAS: urban adults vs. elderly, $P < 0.0001$; ^eurban vs. rural adults, $P < 0.0001$; ^furban vs. rural elderly, $P < 0.01$; ^gSOD: urban vs. rural elderly, $P < 0.05$; ^hrural adults vs. elderly, $P < 0.05$; ⁱGPx: urban adults vs. elderly, $P < 0.01$; ^jurban vs. rural elderly, $P < 0.01$.

LPO higher than females, although only in the urban area was the difference statistically significant ($P < 0.05$) (Table 3). LPO was higher in both genders and age groups of urban inhabitants than in rural subjects ($P < 0.01$) (Fig. 2).

3.3. Total antioxidant status

TAS in rural subjects did not show a difference ($P > 0.05$) between adults and elderly; nevertheless, in urban area adults had TAS higher than that of the elderly ($P < 0.01$) (Table 2).

3.4. Superoxide dismutase

SOD was lower in the elderly than in adults in both areas, although this difference was statistically significant ($P < 0.05$) only in the rural area. At the same time,

SOD in urban elderly was higher than that in rural elderly ($P < 0.05$) (Table 2).

3.5. Glutathione peroxidase

GPx activity was lower in urban elderly than in adults of the same area ($P < 0.0001$); conversely, in the rural area the elderly had a statistically significant elevation ($P < 0.01$) of GPx (Table 2).

3.6. Gender (male sex), age (elderly), and area (urban) as risk factors

In multiple logistic regression analysis, male sex was not a risk factor for high LPO (OR = 1.04, CI95% 0.57–1.89; $P = 0.894$). Age ≥ 60 years demonstrated OR = 2.64 (CI95% 1.32–5.25; $P = 0.006$) and urban area had OR = 5.83 (CI95% 3.02–11.27; $P < 0.0001$) (Table 3).

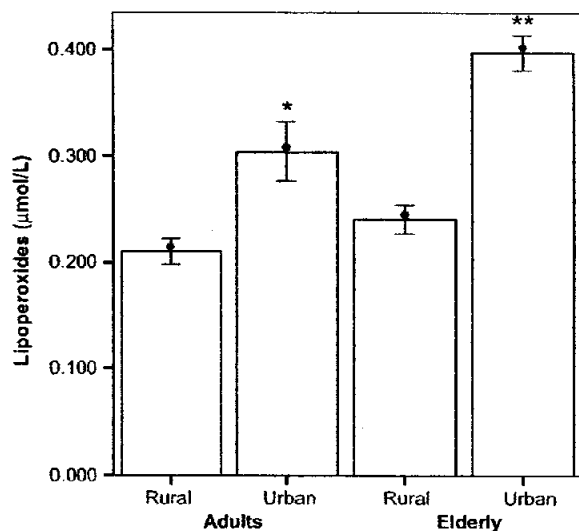


Fig. 1. Lipoperoxide levels by age group and area. Data show mean \pm SE. Student *t*-test. * $P < 0.01$ adults rural vs. urban. ** $P < 0.0001$ elderly rural vs. urban.

Table 3
Age, area, and gender as risk factors for high lipoperoxides levels^a

Risk factor	OR ^b	95%CI	<i>P</i> value
Gender (male)	1.04	0.57–1.89	0.894
Age (elderly)	2.64	1.32–5.25	0.006
Area (urban)	5.83	3.02–11.27	<0.0001

^aLPO ≥ 0.375 µmol/L, Logistic regression $R^2 = 0.208$.

^bOR = odds ratio.

4. Discussion

Studies of the molecular biology of the aging process are not entirely consistent, probably due to the biological and social heterogeneity of populations studied in addition to environmental influences (Carnes and Olshanky, 2001).

For this reason, though some generalizations have been established such as that DNA oxidative damage increases with age (Bohr et al., 1998; Singh et al., 1991), it has been demonstrated that this does not occur in all populations (Betti et al., 1994). In this regard, we previously reported that 45% of a group of elderly people from Mexico City had oxidative DNA damage in lymphocytes (Mendoza-Núñez et al., 1999, 2001). Likewise, it has been demonstrated that oxidative DNA damage is associated with heart disease (Collins et al., 1998); in the same manner, Lerman et al. (1998) found higher prevalence of diabetes mellitus among elderly residents of Mexico City in contrast to elderly residents of a rural area. Moreover, Leinonen et al. (1998)

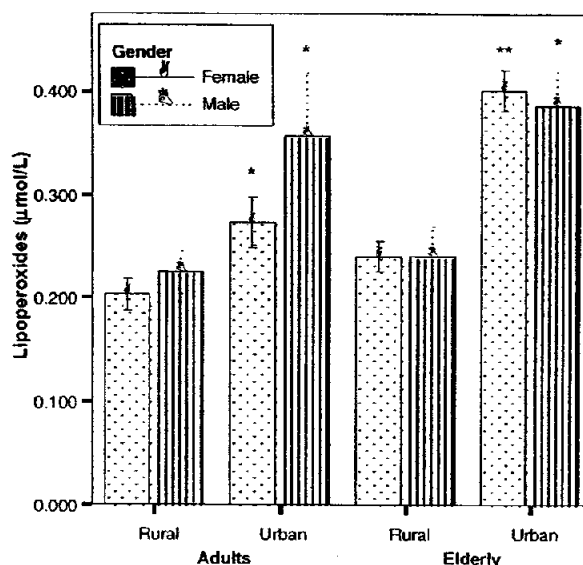


Fig. 2. Lipoperoxide levels by gender, age group, and area. Data show mean \pm SE. The comparison is between areas by gender. Student *t*-test. * $P < 0.01$ adults female rural vs. urban; adults male rural vs. urban; elderly male rural vs. urban. ** $P < 0.0001$ elderly female rural vs. urban.

revealed an association between antioxidant capacity and coronary heart disease and renal dysfunction in subjects with diabetes mellitus.

On the other hand, it has been established that OxS increases with aging (Sohal and Weindruch, 1996). However, King et al. (1997) demonstrated that antioxidant levels, GPx, catalase (CAT), and ceruloplasmine activities were significantly higher in a group of elderly adults 75–80 years of age than in individuals in the age groups 35–39, 50–54, and 65–69 years. Similar results have been observed in centenarians (Paolisso et al., 1998; Mecocci et al., 2000). At the same time, it has been demonstrated that tolerance or adaptation to OxS increases during the life span (Kapahi et al., 1999; Meewes et al., 2001), this is probably associated with better health.

The results of our study showed that plasma LPO levels in adults and elderly of the rural area had no statistically significant differences ($P > 0.05$); therefore, *the aging could not be the principal cause of increase of OxS*. In this sense, King et al. (1997) found that mean basal levels of DNA damage in lymphocytes of subjects of the 75- to 80-year-old group were similar to those of the 35- to 39-year-old group ($P = 0.42$).

Nevertheless, in the urban area plasma LPO levels were higher in elderly than in adults ($P < 0.01$), which demonstrated that an urban environment with the high level of pollution of Mexico City may be a relevant pro-oxidant factor for healthy elderly. In this regard, there is ample evidence that the OxS occurs by environmental

exposure to air pollution (Bowler and Crapo, 2002; Sánchez-Rodríguez et al., 2002). In such regard, increase of LPO and SOD in adults recently arrived in Mexico City has been demonstrated, and after 16 weeks the SOD decreased in 50% in comparison with the values obtained the first week. Also, the inhibitory capacity of serum against induced in vitro lipoperoxidation was increased in 22% and LPO decreased in almost 30% (Hicks et al. 1996; Medina-Navarro et al. 1997). Our results confirm that this adaptive process also is present in healthy elderly.

The total antioxidant test measures the number of peroxy radicals that are scavenged by human serum through ascorbic acid, tocopherol, urate, and protein (albumin and transferrin) (Miller et al., 1993); it may be used for routine screening of antioxidants in clinical diagnosis and research. The total antioxidant capacity of serum is part of a tightly regulated homeostatic mechanism; however, this assay (Randox Laboratories, Ltd.) that measures the capacity of a sample to directly quench free radicals is not always guaranteed (Strube et al., 1997) due to the difference in the kinetics of albumin and urate in relation to inhibiting the production of ABTS radical cation (Cao and Prior, 1998). This pitfall in the method can be decreased if the levels of albumin and urate are similar in the study group, such as in our study. The total antioxidant capacity of serum has been associated with aging and diseases that typically accompany increasing age, notably atherosclerosis, cancer, diabetes mellitus, and arterial hypertension (Romay, 1996; Aejmelaeus et al., 1997; Jablecka et al., 2004). Therefore, periodical measurement in the elderly can be useful for preventive diagnosis and prognosis.

In our study we observed that TAS levels in urban elderly were higher than those in rural elderly ($P < 0.01$). This may be due to the fact that elderly subjects who live in Mexico City were exposed to higher OxS from air pollution and more psychological stress than the rural elderly; therefore, they have developed an efficient antioxidant response, and life span in the elderly in Mexico City is longer than that in other States of the Mexican Republic (FUNSALUD, 1996). This shows that during aging it is possible to develop an efficient antioxidant capacity as response to the allostatic load (Seeman et al., 2001). In this sense, Aejmelaeus et al. (1997) showed age-related increase of total antioxidant capacity in healthy females (20–96 years of age) and males (20–74 years of age).

On the other hand, we observed that SOD levels in the urban elderly were higher than those of the elderly of rural area ($P < 0.05$). This may be an efficient response against high levels of LPO. In this sense, the SOD plays a key role in protecting cells against oxidative damage and regulating cellular concentration of superoxide radicals, which are extremely oxidant and unwanted byproducts of cellular metabolism, and the alterations in

SOD levels have been associated with a number of neurodegenerative diseases, including Parkinson's and Alzheimer's diseases, many different types of tumors such as breast cancer, melanoma, and leukemia, atherosclerosis, diabetes mellitus, ischemia–reperfusion injury, rheumatoid arthritis, and lung diseases (Fattman et al., 2003; Noor et al., 2002). At the same time, an age-related decrease of the SOD activity (Andersen et al., 1997; Özbay and Dulger, 2002) and a progressive increase of age-related LPO associated with decrease in SOD ($r = -0.83$) (Bhawat, 1997) have been reported. Nevertheless, Mecocci et al. (2000) observed that SOD activity rose proportionally during aging; this can be interpreted as a compensatory response of the organism to ROS elevation with increasing age. This same incremental behavior in SOD activity at higher ages was observed by Okabe et al. (1996).

On the other hand, King et al. (1997) and Mecocci et al. (2000) have reported that GPx activity increased with age; nevertheless, Özbay and Dulger (2002) observed an age-related decrease of the GPx activity in healthy subjects. We found in our study significantly lower GPx activity in older subjects of the urban area than in young adults ($P < 0.0001$). This could be due to an efficient biological response against OxS in urban-dwelling elderly exposed to environmental pollution. In this regard, the importance of GPx to maintain homeostasis in the light of LPO increase has been demonstrated by de Haan et al. (1996).

With relation to gender (male sex), age (elderly), and area (urban) as risk factors for high LPO levels, we found that male sex was not a risk factor, in contrast to that previously reported by our research group (Mendoza-Núñez et al., 2001) with regard to male sex as risk factor for oxidative DNA damage in lymphocytes of the elderly. This could be explained because in that study we included only older subjects.

On the other hand, we observed that age (elderly) was a risk factor for high LPO levels, although area (urban) was a more important risk factor than age; therefore, our findings allow us to conclude that elderly residents of Mexico City have OxS higher than the rural-dwelling elderly, though they have developed an efficient antioxidant capacity against elevated lipid peroxides. In this sense, our results show that the adaptive capacity against LPO demonstrated in adults of Mexico City by Medina-Navarro et al. (1997) is conserved in healthy elderly also. Therefore, the measurement of biological markers of OxS during aging could be very useful in cities with high levels of air pollutants such as Mexico City, which have been associated with an increase in the incidence of mortality (Télez-Rojo et al., 2000).

Finally, we must consider as limitations of the study that it is cross-sectional and that the sample was not representative because the subjects were volunteers; also the elderly subjects studied are survivors and therefore

are not representative of all older people. On the other hand, indoor and outdoor sources of pollution exposure were not measured. Therefore, it is necessary to carry out cross-longitudinal studies in cohorts of adults and elderly to confirm these findings.

Acknowledgment

This project was supported by DGAPA (PAPIIT) Grant IN-308302, Universidad Nacional Autónoma de México.

References

- Aejmelaeus, R.T., Holm, P., Kaukinen, U., Metsa-Ketela, T.J., Laippala, P., Hervonen, A.L., Alho, H.E., 1997. Age-related changes in the peroxyl scavenging capacity of human plasma. *Free Radic. Biol. Med.* 23, 69–75.
- Andersen, H.R., Nielsen, J.B., Nielsen, F., Grandjean, P., 1997. Antioxidative enzyme activities in human erythrocytes. *Clin. Chem.* 43, 562–568.
- Barrocas, A., Belcher, D., Champagne, C., Jastram, C., 1995. Nutrition assessment practical approaches. *Clin. Geriatr. Med.* 11, 675–708.
- Betti, C., Davini, T., Giannesi, L., Loprieno, N., Barale, R., 1994. Microgel electrophoresis assay (comet test) and SCE analysis in human lymphocytes from 100 normal subjects. *Mutat. Res.* 307, 323–333.
- Bhawat, V.R., 1997. Relationship of erythrocyte superoxide dismutase, serum lipid peroxides and age. *Indian J. Med. Sci.* 51, 45–51.
- Bohr, V., Anson, R.M., Mazur, S., Dianov, G., 1998. Oxidative DNA damage processing and changes with aging. *Toxicol. Lett.* 102–103, 47–52.
- Bowler, R.P., Crapo, J.D., 2002. Oxidative stress in allergic respiratory diseases. *J. Allergy Clin. Immunol.* 110, 349–356.
- Cao, G., Prior, R., 1998. Comparison of different analytical methods for assessing total antioxidant capacity of human serum. *Clin. Chem.* 44, 1209–1325.
- Carnes, B.A., Olshanky, S.J., 2001. Heterogeneity and its biodemographic implications for longevity and mortality. *Exp. Gerontol.* 36, 419–430.
- Cederbaum, A.L., 2001. Alcohol, oxidative stress and cell injury. *Free Radic. Biol. Med.* 31, 1524–1526.
- Centro Nacional de Investigación y Capacitación Ambiental (CEN-ICA), 2000. Monitoreo ambiental en la ciudad de México.
- Collins, A.R., Gedik, C.M., Olmedilla, B., Southon, S., Bellizzi, M., 1998. Oxidative DNA damage measured in human lymphocytes: large differences between sexes and between countries, and correlation with heart disease mortality rates. *FASEB J.* 12, 1397–1400.
- Cotovio, J., Onno, L., Justine, P., Lamure, S., Catroux, P., 2001. Generation of oxidative stress in human cutaneous models following *in vitro* ozone exposure. *Toxicol. In Vitro* 15, 357–362.
- de Haan, J.B., Cristiano, F., Iannello, R., Bladier, C., Kelner, M.J., Kola, I., 1996. Elevation in the ratio of Cu/Zn-superoxide dismutase to glutathione peroxidase activity induces features of cellular senescence and this effect is mediated by hydrogen peroxide. *Hum. Mol. Genet.* 5, 283–292.
- Ervin, R.B., 1998. Using encoding and retrieval strategies to improve 24-hour dietary recalls among older adults. *J. Am. Diet. Assoc.* 98, 989–994.
- Fattman, C.L., Schaefer, L.M., Oury, T.D., 2003. Extracellular superoxide dismutase in biology and medicine. *Free Radic. Biol. Med.* 35, 236–256.
- Finkel, T., Holbrook, J., 2000. Oxidants, oxidative stress and the biology of aging. *Nature* 408, 239–247.
- FUNSAALUD, 1996. Indicadores de salud de los adultos mayores en México. *Salud Pública México* 38, 541–546.
- Harman, D., 1998. Aging and oxidative stress. *IFCC* 10, 20–24.
- Hicks, J.J., Medina-Navarro, R., Guzmán-Grenfell, A., Wachter, N., Lifshitz, A., 1996. Possible effect of air pollutants (Mexico City) on superoxide dismutase activity and serum lipoperoxides in the human adult. *Arch. Med. Res.* 27, 145–149.
- Jablecka, A., Checinski, P., Krauss, H., Micker, M., Ast, J., 2004. The influence of two different doses of L-arginine oral supplementation on nitric oxide (NO) concentration and total antioxidant status (TAS) in atherosclerotic patients. *Med. Sci. Monit.* 10, 29–32.
- Jentsch, A.M., Bachmann, H., Fürst, P., Biesalski, H.K., 1996. Improved analysis of malondialdehyde in human body fluids. *Free Radic. Biol. Med.* 20, 251–256.
- Joseph, J.A., Denisova, N.A., Bielinski, D., Fisher, D.R., Shukitt-Hale, B., 2000. Oxidative stress protection and vulnerability in aging: putative nutritional implications for intervention. *Mech. Ageing Dev.* 116, 141–153.
- Kapahi, P., Boulton, M.E., Kirkwood, T.B.L., 1999. Positive correlation between mammalian life span and cellular resistance to stress. *Free Radic. Biol. Med.* 26, 495–500.
- King, C.M., Bristow-Craig, H.E., Gillespie, E.S., Barnett, Y.A., 1997. *In vivo* antioxidant status, DNA damage, mutation and DNA repair capacity in cultured lymphocytes from healthy 75–80-year-old humans. *Mutat. Res.* 377, 137–147.
- Knight, J.A., 1999. *Free Radicals, Antioxidants, Aging, & Disease*. AACC Press, Washington, DC, pp. 75–329.
- Leinonen, J., Rantalaiho, V., Lehtimäki, T., Koivula, T., Wirta, O., Pasternack, A., Alho, H., 1998. The association between the total antioxidant potential of plasma in the presence of coronary heart disease and renal dysfunction in patients with NIDDM. *Free Radic. Res.* 29, 273–281.
- Lerman, I.G., Villa, A.R., Llaca-Martínez, C., Cervantes-Turrubiatez, R., Aguilar-Salinas, C.A., Wong, B., Gómez-Pérez, F.J., Gutiérrez-Robledo, L.M., 1998. The prevalence of diabetes and associated coronary risk factors in urban and rural older Mexican populations. *J. Am. Geriatr. Soc.* 46, 1387–1395.
- Loomis, D., Castillejos, M., Gold, D.R., McDonnell, W., Borja-Aburto, V.H., 1999. Air pollution and infant mortality in Mexico City. *Epidemiology* 10, 118–123.
- Mastaloudis, A., Leonard, S.W., Traber, M.G., 2001. Oxidative stress in athletes during extreme endurance exercise. *Free Radic. Biol. Med.* 31, 911–922.
- Mecocci, P., Polidori, M.C., Troiano, L., Cherubini, A., Cecchetti, R., Pini, G., Straatman, M., Monti, D., Sthal, W., Sies, H., Franceschi, C., Senin, U., 2000. Plasma antioxidants and longevity: a study on healthy centenarians. *Free Radic. Biol. Med.* 28, 1243–1248.
- Medina-Navarro, R., Lifshitz, A., Wachter, N., Hicks, J.J., 1997. Changes in human serum antioxidant capacity and peroxidation after four months of exposure to air pollutants. *Arch. Med. Res.* 28, 205–208.
- Meewes, C., Brenneisen, P., Wenk, J., Kuhr, L., Ma, W., Alikoski, J., Poswig, A., Krieg, T., Scharfetter-Kochanek, K., 2001. Adaptive antioxidant response protects dermal fibroblasts from UVA-induced phototoxicity. *Free Radic. Biol. Med.* 30, 238–247.
- Mendoza-Núñez, V.M., Retana-Ugalde, R., Sánchez-Rodríguez, M.A., Altamirano-Lozano, M.A., 1999. DNA damage in lymphocytes of elderly patients in relation with total antioxidant levels. *Mech. Ageing Dev.* 108, 9–23.
- Mendoza-Núñez, V.M., Sánchez-Rodríguez, M.A., Retana-Ugalde, R., Vargas-Guadarrama, L.A., Altamirano-Lozano, M.A., 2001.

- Total antioxidants levels, gender, and age as risk factors for DNA damage in lymphocytes of the elderly. *Mech. Ageing Dev.* 122, 835–847.
- Miller, N.J., Rice-Evans, C., Davies, M.J., Gopinathan, V., Milner, A., 1993. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidants status in premature neonates. *Clin. Sci.* 84, 407–412.
- Noor, R., Mittal, S., Iqbal, J., 2002. Superoxide dismutase-applications and relevance to human diseases. *Med. Sci. Monit.* 8, RA210–RA215.
- Okabe, T., Hamaguchi, K., Inafuku, T., Hara, M., 1996. Aging and superoxide dismutase activity in cerebrospinal fluid. *J. Neurol. Sci.* 141, 100–104.
- Özbay, B., Dulger, H., 2002. Lipid peroxidation and antioxidant enzymes in Turkish population: relation to age, gender, exercise, and smoking. *Tohoku J. Exp. Med.* 197, 119–124.
- Panda, K., Chattopadhyay, R., Chattopadhyay, D.J., Chatterjee, I.B., 2000. Vitamin C prevents cigarette smoke-induced oxidative damage *in vivo*. *Free Radic. Biol. Med.* 29, 115–124.
- Paolisso, G., Tagliamonte, M.R., Rizzo, M.R., Manzella, D., Gambardella, A., Varricchio, M., 1998. Oxidative stress and advancing age: results in healthy centenarians. *J. Am. Geriatr. Soc.* 46, 833–838.
- Romay, P.Ch., 1996. Capacidad antioxidante total del suero en la diabetes mellitus. *Rev. Cubana Invest. Biomed.* 15, 6–11.
- Sánchez-Rodríguez, M., Mendoza-Núñez, V.M., García-Sánchez, A., González-González, B., Rodríguez-Torres, E., González-Obregón, A., 1998. Valores de referencia para una población de ancianos y adultos de la ciudad de México. Parámetros bioquímicos y hematológicos. *Acta Bioquím. Clin. L.* 32, 812–821.
- Sánchez-Rodríguez, M., Mendoza-Núñez, V.M., Vargas-Guadarrama, L.A., 2002. Oxidative stress in the elderly in Mexico city. *Free Radic. Biol. Med.* 33, S338–S339.
- Seeman, T.E., McEwen, B.S., Rowe, J.W., Singer, B.H., 2001. Allostatic load as a marker of cumulative biological risk: MacArthur studies of successful aging. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98, 4770–4775.
- Singh, N.P., Danner, D.B., Tice, R.R., Pearson, J.D., Brant, L.J., Morrel, C.H., Schneider, E.L., 1991. Basal DNA damage in individual human lymphocytes with age. *Mutat. Res.* 256, 1–6.
- Sohal, R.S., Weindruch, R., 1996. Oxidative stress, caloric restriction and aging. *Science* 27, 59–62.
- Strube, M., Haenen, G.R.M.M., Van den Berg, H., Bast, A., 1997. Pitfalls in a method for assessment of total antioxidant capacity. *Free Radic. Res.* 26, 515–521.
- Télez-Rojo, M.M., Romieu, I., Ruiz-Velasco, S., Lezana, M.A., Hernández-Avila, M.M., 2000. Daily respiratory mortality and PM10 pollution in Mexico City: importance of considering place of death. *Eur. Respir. J.* 16, 391–396.
- Vellas, B., Guigoz, Y., Baumgartner, M., Garry, P.J., Lauque, S., Albaredo, J.L., 2000. Relationship between nutritional markers and the Mini-Nutritional Assessment in 155 older persons. *J. Am. Geriatr. Soc.* 48, 1300–1309.
- Washburn, R.A., McAuley, E., Katula, J., Mihalko, S.L., Boileau, R.A., 1999. The physical activity scale for the elderly (PASE): evidence for validity. *J. Clin. Epidemiol.* 52, 643–651.

Relationship between Oxidative Stress and Cognitive Impairment in community-dwelling Elderly Rural vs. Urban

Martha A. Sánchez-Rodríguez ^a, Edelmiro Santiago ^b, Alicia Arronte-Rosales ^a, Luis Alberto Vargas-Guadarrama ^c and Víctor Manuel Mendoza-Núñez ^{a,*}

^a Unidad de Investigación en Gerontología, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Mexico City, Mexico

^b Unidad de Investigación en Diferenciación Celular y Cáncer, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM, Mexico City, Mexico

^c Instituto de Investigaciones Antropológicas, UNAM, Mexico City, Mexico

Running title: *Oxidative stress and cognitive impairment*

* Corresponding author: V.M. Mendoza-Núñez. Batalla 5 de mayo s/n, esq. Fuerte de Loreto, Col. Ejército de Oriente, 09230 México, D.F., México.
Phone: (+52)(55) 5623-0721; Fax: (+52)(55) 5773-6332.

E-mail address: mendovic@servidor.unam.mx

Abstract

Objective: To determine the relationship between oxidative stress (OxS) and cognitive impairment in dwelling-community elderly rural vs. urban.

Design and Methods: It was carried out a comparative transversal study in 104 dwelling-community elderly in an urban area (Mexico City) and 84 living in a rural area (Actopan, Hidalgo State, Mexico), to whom we applied the Mini Mental State Examination and in whom we measured plasmatic TBARS, plasma total antioxidant status, and antioxidant enzymes SOD and GPx.

Results: We found a greater proportion of elderly subjects with oxidative stress and cognitive impairment in dwelling-community urban than subjects those residing in rural area (25 vs. 9%), with odds ratio (OR) = 5.67 (CI_{95%} 1.14–38.02, $p < 0.05$).

Conclusions: These findings allowed us to conclude that dwelling-community elderly in urban area present more OxS and higher risk to develop cognitive impairment than elderly inhabitants of rural area.

Key Words: Oxidative stress, Cognitive impairment, Elderly, Urban, Rural.

Introduction

During aging, a gradual deficit is present with regard to cognitive functions, which normally does not alter physical, mental, or social functioning in elderly adults; nonetheless, 2–12% of subjects from 60–80 years of age and 20% of adults >80 years of age present dementia-like clinical pictures characterized by accentuated memory loss, language deficits for speech expression, naming, and comprehension (aphasias), loss of ability to recognize objects and/or subjects (agnosias), and affectation in execution of programmed motor actions and/or visuo-spatial problems manifested by impaired construction, e.g., inability to copy designs (apraxias); thus disorientation in space, time, and person, allowing for mild cognitive impairment, and later Alzheimer's disease (AD), which has a great effect on the quality of life of the patient and his/her caregiver [1,2]. In the same manner, the following have been reported as risk factors for memory loss: smoking; alcoholism; psychological stress; a sedentary lifestyle, and few hours of sleep, among others, in addition to urban environment [3,4].

In this sense, it has been described that the environmental pollutants have a toxic effect on the cardiovascular and respiratory systems, in that ozone (O_3), nitrogen dioxide (NO_2), and particulate material or material in suspension (PM) shared the common property of being potent oxidants, each directly by means of reaction in lipids, proteins, and DNA, or indirectly through activation of intracellular oxidant pathways [5], elderly being one of the most vulnerable groups [6-8]. In such regard, our research group found that subjects >60 years age who were residents of Mexico City presented greater oxidative stress (OxS) than those living in rural areas

independently of aging [9], at the same time, it has been observed an increase in mortality among the elderly associated with high levels of air pollutants [10].

On the other hand, it has been shown that advanced age constitutes one of the most relevant risk factors for AD [11]; nevertheless, it was unable to be ascertained whether aging *per se* is the cause of AD. Therefore, it has been proposed that there exist some physiopathologic mechanisms linked with this disease, among which OxS stands out, because elderly patients with AD present significantly higher levels of lipoperoxides (LPO) than healthy elderly persons [12,13].

It is for this reason that it is supposed that urban lifestyle, considered to be pro-oxidant, can provoke greater cognitive impairment; thus, the aim of this study was to determine the relationship between oxidative stress and cognitive impairment in elderly residents of rural vs. urban area.

Methods

Subjects and design.

The study included free-living subjects with residence in urban or rural areas for ten years or more and three years or more of elementary school: 104 older subjects aged ≥ 60 years (mean 66.8 ± 6.4 years) of urban Mexico City (altitude 2,260 meters above sea level) and 85 older subjects aged ≥ 60 years (mean 70.8 ± 8.4 years) from the rural area (Actopan, Hidalgo State, Mexico, to 130 kilometers away from Mexico City and 2,069 meters above sea level). None of the subjects studied had been taking antioxidant supplementation (vitamins or minerals) for at least 6 months previously, none smoked, or had acute or chronic diseases, or was receiving prescription medications. Both groups were healthy (without arterial hypertension, diabetes mellitus or cancer) and well-nourished; older subjects had BMI of 23.1–27

kg/m², Mini Nutritional Assessment (MNA) score was > 23.5, and caloric intake was between 2,000 and 2500 kcal per day, and the alimentation had the nutrients requirements (protein, fat, carbohydrate, vitamins and minerals) between Recommended Dietary Allowance (RDA) measured by 24-h dietary recalls and serum albumin >35 g/L [14,15]. The physical activity were similar between both groups, this was measured with the parameters of physical activity scale for the elderly [16].

The subjects accepted to participate in the study after giving their informed consent. The Ethics Committee of the Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) Zaragoza Campus approved the research protocol for this study.

Air Pollutants Monitoring

No personal monitoring was performed. Annual mean of ozone air in Mexico City was 0.155 ± 0.046 ppm and in Actopan, Hidalgo State, 0.070 ± 0.010 ppm ($p < 0.0001$); PM₁₀ in Mexico City was $122 \pm 27 \mu\text{g}/\text{m}^3$ and in Actopan, Hidalgo State, $104 \pm 24 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ($p = 0.064$) [17].

Assessment of cognitive function.

The cognitive status was determined using a cognitive screening test. The original MiniMental State Examination (MMSE) was adapted to the Spanish language [18,19]. Each subject of the sample was submitted to MMSE, the maximum possible score equivalent to 30 points. It was considered as cognitive deterioration when the score was equal or lower than 23 points.

Anthropometric measurements.

The following anthropometric measurements were obtained: weight, height, body mass index (BMI), waist and hip circumferences, and waist-to-hip ratio (WHR).

Weight was measured while the subject was wearing underwear and a clinical smock and in a fasted state (after evacuation). A Torino® scale (Tecno Lógica, Mexicana, México, TLM®) was used, calibrated before each weight measurement. Height was obtained with an aluminum cursor stadiometer graduated in millimeters. The subject was barefoot, back, and head in contact with the stadiometer in Frankfurt horizontal plane. BMI was calculated by dividing weight (in kilograms) by height (in square meters). Waist and hip circumferences (WC and HC, respectively) were measured with a tape measure to the nearest 0.5 cm. The waist-to-hip ratio (WHR) was calculated by dividing waist measurement (in centimeters) by hip measurement (in centimeters).

Blood Sampling and Preparation.

Blood samples were collected after a 12-h fasting period by venopuncture and placed in vacutainer/siliconized test tubes containing a separating gel and no additives, and heparin as anticoagulant agent (Becton-Dickinson, Mexico City, Mexico). Blood samples containing heparin were analyzed using a hemoglobin test protocol (including hemoglobin, hematocrit, and leukocyte counts). The following serum quantifications were conducted: glucose; urea; creatinine; urate; albumin; cholesterol; triglycerides, and cholesterol high-density lipoproteins (HDL). These tests were used as screening measurements for diagnosis of clinically healthy subjects.

Blood Sampling and Biochemical Analyses.

Hemoglobin levels were measured by cyanomethahemoglobin reaction procedure (cut-off points: in males, 12.17–17.26 g/dL, and in females, 11.48–16.25 g/dL). Hematocrit levels were assessed by microhematocrit procedure (cut-off points: males, 38–52%, females, 36–51%). Leukocyte count was done using Newbauer Chamber procedure (cut-off points: 3,500–10,650/mm³).

All spectrophotometric tests were determined using an UV-visible spectrophotometer (Shimadzu, Columbia, MD, USA). Specifically, glucose levels were measured with glucose oxidase method (cut-off points: 63–120 mg/dL), urea levels were measured with Berthelot urease method (cut-off points: 9.5–47.0 mg/dL), creatinine levels by Jaffe method without deproteinization (cut-off points: males, 0.3–1.5 mg/dL, females, 0.3–1.3 mg/dL), and urate levels by uricase colorimetric method (cut-off points: males, 2.9–8.88 mg/dL, females, 2.5–8.7 mg/dL). Albumin levels were measured by bromocresol green technique (3.23–4.03 g/dL).

Cholesterol was analyzed using CHOD-PAP technique (cut-off points: 168–200 mg/dL) and triglycerides by GPO-Trinder technique (cut-off points: 89–190 mg/dL), whereas HDL were assessed employing the same technique for cholesterol after precipitation of low and very-low lipoproteins using a phosphotungstic acid/magnesium chloride solution (cut-off points: 42–77 mg/dL).

All reagents employed in biochemical tests were obtained from Randox Laboratories, Ltd. (Crumlin, Co, Antrim, UK); cut-off points for reference values for Mexican elderly persons were determined at the Gerontologic Clinical Research Laboratory of the Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) Zaragoza Campus in Mexico City [20].

Blood samples containing heparin were subjected to plasma total antioxidant status (TAS), activity of red blood cell (RBC) superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GPx), and plasma TBARS assay. Artefactual formation of TBARS in the samples was prevented by adding 10 μ L of 2-mM butylated hydroxytoluene (BHT) in ethanol at 95% immediately after centrifugation.

Total Antioxidant Status (TAS).

Total antioxidant status was carried out using ABTS⁺ (2,2'-azidodiethylbenzothiazolin sulphate) radical formation kinetics (Randox Laboratories, Ltd). The presence of antioxidants in plasma suppressed the bluish-green staining of the ABTS⁺ cation, which was proportional to the antioxidant concentration level. Kinetics is measured at 600 nm.

Red Blood Cell Superoxide Dismutase (SOD).

The method employs xanthine and xanthine oxidase (XOD) to generate superoxide radicals, which react with 2-(4-iodophenyl)-3-(4-nitrophenol)-5-phenyltetrazolium chloride (INT) to form a red formazan dye. SOD activity was measured by degree of inhibition of the reaction (Randox Laboratories, Ltd). Kinetics was measured at 505 nm.

Red Blood Cell Glutathione Peroxidase (GPx).

GPx catalyses oxidation of glutathione (GSH) by cumene hydroperoxide, in the presence of glutathione reductase (GR) and NADPH; oxidized glutathione (GSSG) is immediately converted into the reduced form with concomitant oxidation of NADPH to NADP⁺. Decrease in absorbance at 340 nm is measured (Randox Laboratories, Ltd).

Plasma Lipoperoxides (LPO).

We used thiobarbituric acid reacting substances (TBARS) assay. It was performed as described by Jentzsch et al. (1996) [21]. In the TBARS assay, one molecule of malondialdehyde (MDA) reacts with two molecules of thiobarbituric acid (TBA) with production of a pink pigment with absorption at 535 nm. Amplification of peroxidation during the assay is prevented by the addition of the chain-breaking antioxidant BHT. Plasma (400 µL) or MDA standard (0.2–4 µmol/L) prepared by hydrolysis of 1,1,3,3-tetramethoxypropane (TMP) (Sigma Chemical Co, St. Louis, MO, USA) was mixed

with 400 μL orthophosphoric acid (0.2 mol/L) (Sigma Chemical Co.) and 50 μL BHT (2 mmol/L) (Sigma Chemical Co.) in 12 X 75 mm tubes. Then we added 50 μL TBA reagent (0.11 mol/L in 0.1 mol/L NaOH) (Fluka Chem., Buchs, Switzerland) and mixed the contents; subsequently, the contents were incubated at 90°C for 45 min in a water bath. The tubes were put on ice to stop the reaction. TBARS were extracted once with 1000 μL n-butanol (Sigma Chemical Co.). The upper butanol phase was read at 535 nm and 572 nm to correct for baseline absorption in UV-visible spectrophotometer (Shimadzu, Columbia, MD, USA). MDA equivalents (TBARS) were calculated using the difference in absorption at two wavelengths and quantification was done with calibration curve.

Oxidative stress.

Oxidative stress was considered positive when LPO were high (≥ 0.340 $\mu\text{mol/L}$) and when some deficiency was present in the antioxidant system: antioxidant enzymatic deficiency (AEDN) if SOD/GPx ≥ 0.022 and exogenous antioxidants was within the range of reference (TAS ≥ 0.90 mmol/L); exogenous antioxidants deficiency (AEXD) if TAS were ≤ 0.90 mmol/L and SOD/GPx within normal range, and finally, antioxidant system global deficiency (ASGD) if components of both subsystems were found to be in lowest levels of those stipulated as cut-off values according to the construct proposed by our research group [22].

Statistical Analysis

Data were processed by use of standard statistical software SPSS 10.0 (SPSS Inc. Chicago, IL, USA). Descriptive statistics are means \pm standard error (SE). Results were analyzed using the Student's *t*-test and simple linear regression. A *p*-value < 0.05 was considered significant. Also it was calculated risk factor when Odds Ratio (OR) > 1 and range of 95% confidence interval not includes the value 1.0 ($p < 0.05$).

Results

Biochemical Characteristics.

Biochemical-hematologic characteristics of elderly study participants are presented in Table 1. It was observed that elderly in both urban and rural areas have similar values in nearly all parameters ($p > 0.05$), except in hemoglobin and hematocrit, in which elderly residing in rural area demonstrated lower values than elderly persons living in urban area ($p < 0.0001$), without falling outside reference values.

Cognitive Status.

Average MMSE score for the elderly residing in rural area was higher than that of elderly persons living in urban area (27.16 ± 0.28 vs. 26.15 ± 0.35 , $p < 0.05$); likewise, assuming the cut-off point as $MMSE \leq 23$ for cataloging cognitive impairment, we found 18% (19/104) impairment in subjects residing in urban area and 11% (9/85) in the elderly living in rural area.

Stratifying the two groups by age interval (60–69 years, 70–79 years, and ≥ 80 years), we were able to appreciate that MMSE score value diminished according to advancing age, but that it had a drastic fall in subjects ≥ 80 years of age residing in urban area (26.5 ± 0.55 vs. 17.4 ± 1.86 , $p < 0.0001$) in comparison with those who were younger in both areas of residence (Fig. 1), detecting that 100% (4/4) of urban residents in this age group had cognitive impairment in contrast with 25% (4/16) of rural-area residents.

Oxidative Stress and MMSE Score.

Among oxidative stress markers, LPO levels were observed to be statistically higher in subjects with impairment, and highest in inhabitants of Mexico City (Fig. 2). Antioxidant components demonstrated no change.

We determine the relationship between LPO and MMSE score in elderly of urban and rural areas through a simple linear regression, observing a negative correlation in both groups (urban: $r = -0.316$, $p < 0.001$ and rural: $r = -0.366$, $p \leq 0.001$). In the same time, it was observed as risk factor for cognitive impairment high LPO (≥ 0.340 $\mu\text{mol/L}$) with OR = 5.40 (CI_{95%} 2.30–12.69, $p < 0.0001$).

In the same manner, we conducted a multiple linear regression including as independent variables the age, glucose, cholesterol, BMI, waist circumference, alcohol intake, hours of sleep, and OxS components, against total MMSE score as dependent variable, finding a significant negative correlation with LPO, TAS, and age, and significant positive correlation with SOD activity (Table 2). Total-model regression coefficient value (R) was 0.580, $p < 0.0001$.

Oxidative Stress as Risk Factor for Cognitive Impairment.

With respect to cognitive status, we found a higher proportion of older subjects with oxidative stress and cognitive impairment in urban than in rural area (25 vs. 9%), with OR = 5.67 (CI_{95%} 1.14–38.02, $p < 0.05$) for residents of Mexico City. On the other hand it was observed higher oxidative stress and cognitive impairment in subjects ≥ 80 years of the urban area than rural area ($p < 0.0001$).

Discussion

Social and behavioral factors significantly influence physical as well as mental health; among these factors is found lifestyle, the behavioral stress and of lack of satisfaction pattern of which can confer risk for distinct diseases and for deficit such as disability and/or cognitive impairment [23,24]. It is important to distinguish between normal ageing and sub-clinical cognitive impairments, which may represent a transitional stage between normality and dementia. A number of terms have been used to

describe such deficits, including age-associated memory impairment, age-associated cognitive decline and mild cognitive impairment. In such regard, a convenient diagnostic could avoid greater deterioration with physical and social limitations. At the same time, it has been demonstrated that oxidative stress is associated with Alzheimer disease [1,11]. Therefore, the measurement of biologic markers of OxS could be useful for early detection of cognitive impairment.

Cognitive impairment is an important factor in functional physical and social decline, disability, demand for long-term care, and the institutionalization of persons already suffering from depression and dementia; which are highly frequent in elderly. In this regard, although it has been recognized that aging possesses significant influence on cognitive functions but is not the cause *per se* of AD [25], different risk factors for cognitive impairment and AD, among which are found OxS-generating pro-oxidant factors, are investigated from this point of departure. In this respect, it has been demonstrated that urban residence favors OxS [26-27]; thus, living in large cities can constitute a risk factor for deficit in cognitive functions during aging. In this work, we found a prevalence of cognitive impairment of 18 vs. 11% (urban and rural, respectively), which confirms that cognitive impairment does not constitute a normal characteristic of aging [25]. These results in agreement with a study previously published by our research group, in which we found 13.5% cognitive impairment in older subjects residing in urban area in comparison with 3% in those living in rural area [28].

On the other hand, the percentage of elderly individuals detected with cognitive impairment in Mexico City was similar to that reported in a multicenter study denominated "Health, Well-being, and Aging in Latin America and the Caribbean"; this study reported 20% impairment in subjects ≥ 75 years of age [29].

With regard to age, in our study we observed that MMSE score diminished according to age increase, although older subjects in Mexico City demonstrated lower scores than their counterparts in rural area. In this sense, it has been pointed out that there exists a great difference in living in a single-dwelling home in a rural zone and the tiresome predominance of collective housing in the city [30]. Thus, these results permit support of a hypothesis that environment favors psychological stress and consequently OxS, therefore constituting a risk factor for cognitive impairment in older adults.

Our data demonstrate that OxS is related with cognitive impairment in that LPO are found statistically higher in subjects with impairment without antioxidant system modification, principally in urban area. This is congruent with present scientific evidence, in that there exists a great deal of literature that relates OxS with neurodegenerative disorders, underscoring the fact that lipid peroxidation is notably deleterious for neuronal membranes [12,31-33]. Similarly, it has been observed that cellular loss occurring in neurological diseases can be due to mitochondrial damage, because they liberate reactive species such as superoxide ions and hydrogen peroxide, highly reactive chemical compounds related with tissue damage and signaling pathways that damage neighboring neurons [34]. In addition, an inverse relationship was found between LPO and MMSE scoring in both groups, demonstrating that MMSE score has a statistically significant association with LPO. In this regard, similar results were reported by Delibas et al. (2002) in a longitudinal study at 5 years with patients with Alzheimer's disease, for which LPO levels could be used as indirect biological markers for cognitive impairment [35].

In risk analysis, it was confirmed that high LPO levels (≥ 0.340 $\mu\text{mol/L}$) constitute a risk factor for cognitive impairment in such a way that the older subject who has high

LPO levels is at a four-fold greater risk for having cognitive impairment than those with normal or low LPO levels; thus, this biological marker could be used for detecting and monitoring the evolution of subjects with cognitive impairment. In such regard, in an experiment with rats to determine the effect of OxS in brain functions (learning and memory) during aging it was found that LPO in hippocampus, cerebral cortex, and synaptic membranes increased significantly during aging and OxS, with changes in the antioxidant system, concluding that OxS can affect learning and memory loss, followed by oxidative brain during aging [36].

Multiple linear regression analysis for cognitive impairment shows that there is a negative association among LPO levels, TAS, and age, and a positive association with SOD, results similar to those reported by other authors [35].

We also found a negative association with hours of sleep, although with borderline significance. This agrees with scientific evidence with respect to the fact that during sleep antioxidant activity increases [37-38]; thus, sleeping <6 h daily can be considered a pro-oxidant factor.

Finally, it is important to highlight that the environment has a significant influence on physical, mental, and social functioning in elders [39]. In this regard, in our study we demonstrated the negative influence of the urban environment, which favors OxS and consequently a greater percentage of cognitive impairment; therefore, elderly residents of urban area present more OxS and have a nearly 5-fold greater risk for developing cognitive impairment than inhabitants of rural community. For this reason, our data support the proposal to indicate vitamin antioxidants could be useful as a preventive or therapeutic alternative to avoid or defer cognitive impairment [40], above all in elderly residents of large cities such as Mexico City.

Acknowledgments

This project was supported by DGAPA (PAPIIT) grant IN-308302, Universidad Nacional Autónoma de México.

References

- [1] Park HL, O'Connell JE, Thomson RG. A systematic review of cognitive decline in the general elderly population. *Int J Geriatr Psychiatry* 2003; 18:1121-1134.
- [2] Rosenberg RN. Evolutionary time and human memory. *JAMA* 2002; 288: 3045-3047.
- [3] Stevens F, Kaplan CD, Ponds RWH, Diederiks JPM, Jolles J. How ageing and social factors affect memory. *Age Ageing* 1999; 28: 379-384.
- [4] Schell LW, Denham M. Environmental pollution in urban environments and human biology. *Annu Rev Anthropol* 2003; 32: 111-134.
- [5] Donaldson K, Stone V, Clouter A, Renwick L, MacNee W. Ultrafine particles. *Occup Environ Med* 2001; 58: 211-216.
- [6] Schwartz J. Air pollution and daily mortality: a review and meta analysis. *Environ Res* 1994; 64: 36-52.
- [7] Dockery DW, Pope CA III, Xu X, *et al.* An association between air pollution and mortality in six cities. *N Engl J Med* 1993; 329: 1753-1759.
- [8] Harrison RM, Thornton CA, Lawrence RG, Mark D, Kinnersley RP, Ayres JG. Personal exposure monitoring of particulate matter, nitrogen dioxide, and carbon monoxide, including susceptible groups. *Occup Environ Med* 2002; 59: 671-679.
- [9] Sánchez-Rodríguez MA, Retana-Ugalde R, Ruiz-Ramos M, Muñoz-Sánchez JL, Vargas-Guadarrama LA, Mendoza-Núñez VM. Efficient

antioxidant capacity against lipid peroxide levels in healthy elderly of Mexico City. *Environ Res* (In Press).

- [10] Téllez-Rojo MM, Romieu I, Ruiz-Velasco S, Lezana MA, Hernández-Avila MM. Daily respiratory mortality and PM10 pollution in Mexico City: importance of considering place of death. *Eur Respir J* 2000; 16: 391-396.
- [11] Munoz DG, Feldman H. Causes of Alzheimer's disease. *CMAJ* 2000; 162: 65-72.
- [12] Perry G, Raina AK, Nunomura A, Wataka T, Sayre LM, Smith MA. How important is oxidative damage? Lessons from Alzheimer's disease. *Free Radic Biol Med* 2000; 28: 831-834.
- [13] Pappolla MA. Cholesterol, oxidative stress, and Alzheimer's disease. Expanding de horizons of pathogenesis. *Free Radic Biol Med* 2002; 33: 173-181.
- [14] Barrocas A, Belcher D, Champagne C, Jastram C. Nutrition assessment practical approaches. *Clin Geriatr Med* 1995; 11, 675-708.
- [15] Vellas B, Guigoz Y, Baumgartner M, Garry PJ, Lauque S, Albaredé JL. Relationship between nutritional markers and the Mini-Nutritional Assessment in 155 older persons. *J Am Geriatr Soc* 2000; 48: 1300-1309.
- [16] Washburn RA, McAuley E, Katula J, Mihalko SL, Boileau RA. The physical activity scale for the elderly (PASE): evidence for validity. *J Clin Epidemiol* 1999; 52:643-651.
- [17] Centro Nacional de Investigación y Capacitación Ambiental (CENICA). Monitoreo ambiental en la ciudad de México; 2000.

- [18] Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. "Minimal state": a practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiat Res* 1975; 12: 189-198.
- [19] Fundación Mexicana para la Salud. Síndrome de deterioro intelectual y padecimientos demenciales. En: *Consensos Funsalud*. México: Funsalud; 1996.p. 52-53.
- [20] Sánchez-Rodríguez MA, Mendoza-Núñez VM, García-Sánchez A, González-González B, Rodríguez-Torres E, González-Obregón A. Valores de referencia para una población de ancianos y adultos de la ciudad de México. *Parámetros bioquímicos y hematológicos*. *Acta Bioquim Clin Latinoam* 1998; 32: 812-821.
- [21] Jentzsch AM, Bachmann H, Fürst P, Biesalski HK. Improved analysis of malondialdehyde in human body fluids. *Free Radic Biol Med* 1996; 20: 251-256.
- [22] Beristain-Pérez A, Sánchez-Rodríguez MA, Ruiz-Ramos M, Mendoza-Núñez VM. ¿Cómo evaluar la eficiencia del sistema antioxidante en el estrés oxidativo? *Arch Geriatr* 2003; 6: 100-104.
- [23] Buendía J. *Envejecimiento y psicología de la salud*. Madrid: Siglo XXI; 1994. p. 89-102.
- [24] Clayton MG, Dudley NW, Patterson DW, Lawhorm AL. The influences of rural/urban residence on health in the oldest-old. *Int J Ageing Human Dev* 1994; 38: 65-89.
- [25] Lindeboom J, Weinstein H. Neuropsychology of cognitive ageing, minimal cognitive impairment, Alzheimer's disease, and vascular cognitive impairment. *Eur J Pharmacol* 2004; 490:83-86.

- [26] Medina-Navarro R, Lifshitz A, Wachter N, Hicks JJ. Changes in human serum antioxidant capacity and peroxidation after four months of exposure to air pollutants. *Arch Med Res* 1997; 28: 205-208.
- [27] Sánchez-Rodríguez M, Mendoza-Núñez VM, Vargas-Guadarrama LA. Oxidative stress in the elderly in Mexico City. *Free Radic Biol Med* 2002; 33: S338-S339.
- [28] Arronte-Rosales A, Téllez-Vargas A., Guzmán-Sánchez MA, Martínez-Serrano ME, Mendoza-Núñez VM. Evaluación del estado afectivo y cognitivo en dos poblaciones de adultos mayores: urbana y rural. *Arch Geriatr* 2002; 5: 99-102.
- [29] Peláez M, Palloni A, Pinto G, Arias E. Encuesta multicéntrica. Salud bienestar y envejecimiento (SABE) en América Latina y el Caribe. OPS CAIS 36/2001.5, Washington, DC: OPS; 2001. p. 6-19.
- [30] Anstey K, Christensen H. Education, activity, health, blood pressure and apolipoprotein E as predictor of cognitive change in old age: a review. *Gerontology* 2000; 46: 163-177.
- [31] Markesbery WR. Oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease. *Free Radic Biol Med* 1997; 23: 134-147.
- [32] Behl C. Alzheimer's disease and oxidative stress: implications for novel therapeutic approaches. *Prog Neurol* 1999; 57: 301-323.
- [33] Akyol O, Herken H, Uz E, *et al.* The indices of endogenous oxidative and antioxidative processes in plasma of schizophrenic patients. The possible role of oxidant/antioxidant imbalance. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2002; 26: 995-1005.

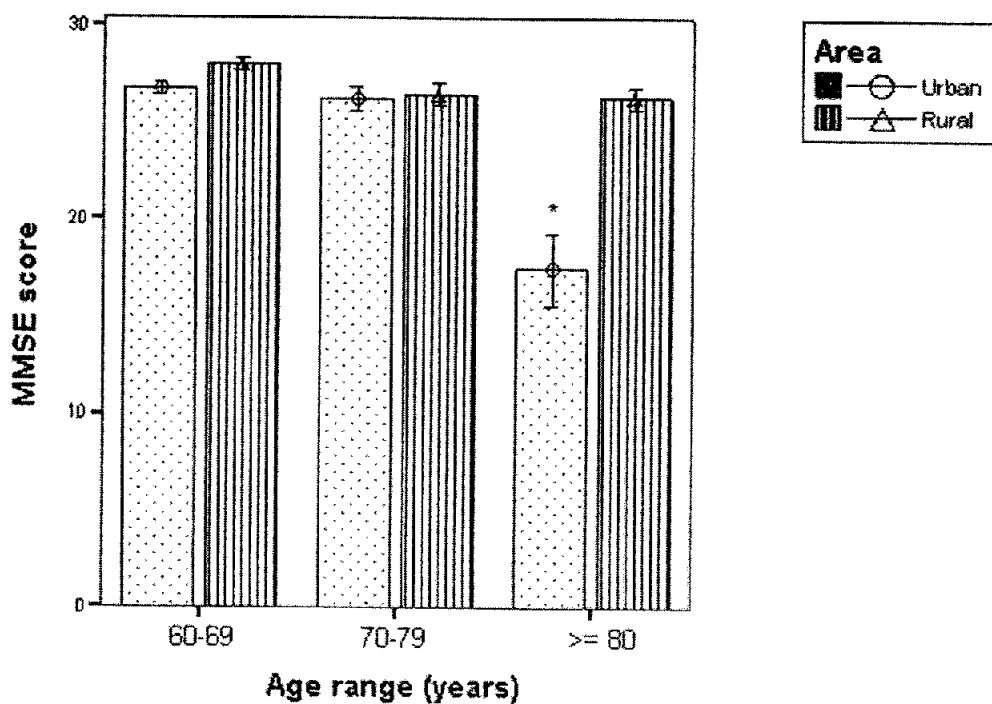
- [34] Friedrich MJ. Scientists probe roles of mitochondria in neurological disease and injury. *JAMA* 2004; 291: 679-681.
- [35] Delibas N, Ozcankaya R, Altuntas I. Clinical importance of erythrocyte malondialdehyde level as a marker for cognitive deterioration in patients with dementia of Alzheimer type: a repeated study in 5-year interval. *Clin Biochem* 2002; 32: 137-141.
- [36] Zucconi GG, Semprevivo M, Laurenzi MA, Giuditta A. Sleep impairment by diethyldithiocarbamate in rat. Protective effects of pre-conditioning and antioxidants. *Brain Res* 2002; 939: 87-94.
- [37] Schulze G. Sleep protects excitatory cortical circuits against oxidative damage. *Med Hypotheses* 2004; 63: 203-204.
- [38] Fukui K, Onodera K, Shinkai T, Suzuki S, Urano S. Impairment of learning and memory in rats caused by oxidative stress and aging, and changes in antioxidative defense systems. *Ann N Y Acad Sci* 2001; 928:168-175.
- [39] Stuck AE, Walthert JM, Nikolaus T, Büla CJ, Hohmann C, Beck JC. Risk factors for functional status decline in community living elderly people: a systematic literature review. *Soc Sci Med* 1999; 48: 445-469.
- [40] Bourdel-Marchasson I, Delmas-Beauvieux MC, Peuchant E, *et al.* Antioxidant defenses and oxidative stress markers in erythrocytes and plasma from normally nourished elderly Alzheimer patients. *Age Ageing* 2001; 30: 235-241.

Table 1. Biochemical and hematological characteristics by study group (mean \pm standard error [SE]).

Parameter	Urban (n = 104)	Rural (n = 85)
Glucose (mg/dL)	112 \pm 5.2	106 \pm 3.9
Urea (mg/dL)	32 \pm 1.1	30 \pm 1.2
Creatinine (mg/dL)	0.87 \pm 0.03	0.90 \pm 0.04
Uric acid (mg/dL)	5.1 \pm 0.2	4.6 \pm 0.2
Cholesterol (mg/dL)	213 \pm 4.1	205 \pm 4.4
Triglycerides (mg/dL)	181 \pm 8.5	172 \pm 9.2
HDL (mg/dL)	50 \pm 1.6	49 \pm 1.3
Albumin (g/dL)	4.5 \pm 0.06	4.2 \pm 0.05
Hemoglobin (g/dL)		
Females	14.4 \pm 0.1	14.4 \pm 0.2
Males	16.6 \pm 0.3	15.5 \pm 0.2*
Hematocrit (%)		
Females	44 \pm 0.4	45 \pm 0.5
Males	50 \pm 0.7	47 \pm 0.8*
Total Leucocytes /mm ³	6440 \pm 120	6521 \pm 160

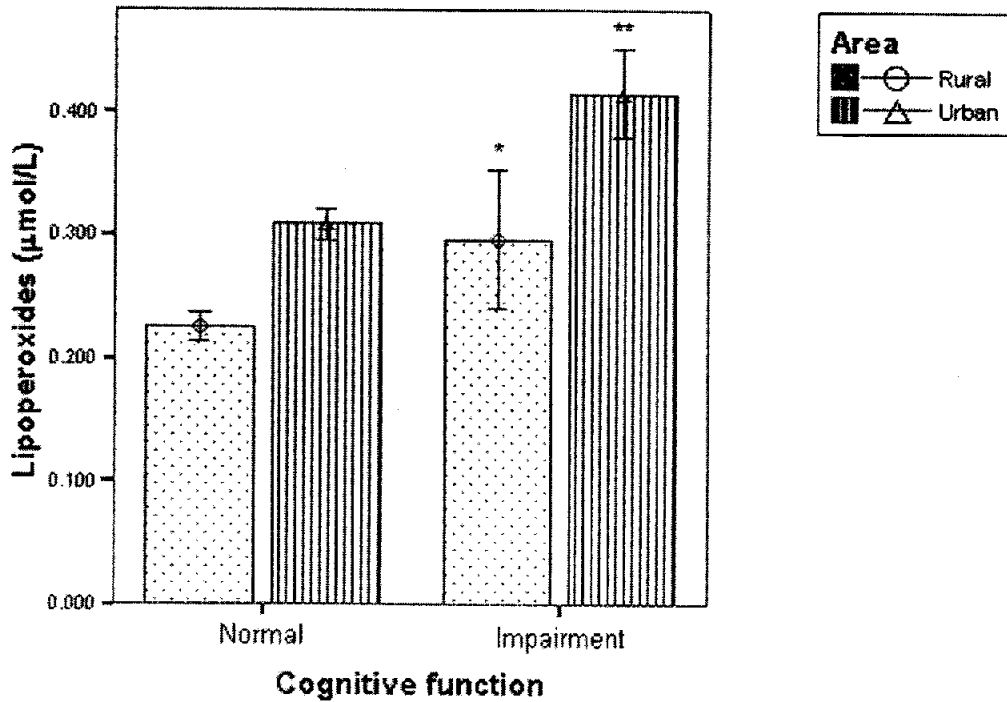
* Student *t* test, $p < 0.0001$

Fig. 1. Mini Mental State Examination score by age range and study group. Data show mean \pm SE.



MMSE: Mini Mental State Examination. * Student *t* test, $p < 0.0001$. Comparisons are between range of ≥ 80 years vs. 60–69 years and vs. 70–79 years.

Fig. 2. Lipoperoxides levels by area and cognitive status. Data show mean \pm SE. The comparison is between with and without impairment.



Student *t* test, * $p = 0.05$, ** $p < 0.01$.

Table 2. Values of *r* and *p* in the multiple lineal regression model to Mini Mental State Examination score as dependent variable by study group.

Independent variables	Urban		Rural	
	<i>r</i>	P value	<i>r</i>	P value
Age (years)	-0.348	0.001	-0.302	0.005
BMI (kg/m ²)	0.111	0.160	0.001	0.496
Waist circumference (cm)	0.079	0.240	-0.139	0.126
Glucose (mg/dL)	0.037	0.370	-0.065	0.297
Cholesterol (mg/dL)	-0.085	0.223	0.005	0.487
Alcohol intake frequency	0.146	0.094	0.030	0.404
Sleep (hours)	-0.208	0.029	0.052	0.335
Lipoperoxides (μmol/L)	-0.372	< 0.0001	-0.332	0.002
SOD (U/L)	0.121	0.137	0.154	0.101
GPx (U/L)	-0.034	0.380	-0.229	0.028
TAS (mmol/L)	-0.294	0.004	-0.103	0.197

BMI: body mass index, SOD: superoxide dismutase, GPx: glutathione peroxidase, TAS: total antioxidant status.