



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

**EFFECTO DEL TAI CHI Vs SUPLEMENTOS ANTIOXIDANTES PARA EL
CONTROL DEL ESTRÉS OXIDATIVO**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

P R E S E N T A

MONTALVO OLVERA JENIFFER

DIRECTOR: DR. VÍCTOR MANUEL MENDOZA NÚÑEZ

ASESOR: M. EN C. JUANA ROSADO PÉREZ

MÉXICO DF

SEPTIEMBRE 2011





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.

“La materia gris más valiosa de un país es la materia gris de sus habitantes, y la misma se vuelve valiosa sólo por medio de la educación”.

Marcos Moshinsky

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo se desarrolló en el Laboratorio de Gerontología Clínica de la Unidad de Investigación en Gerontología de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM.

La investigación se realizó bajo la dirección del Dr. Víctor Manuel Mendoza Núñez y la asesoría de la M en C Juana Rosado Pérez.

Gracias a los miembros de la Unidad de Investigación en Gerontología, por haberme permitido ser parte de este equipo, gracias a la Dr. Raquel, a las maestras Juanita y Mirna, con las tres pasé momentos muy divertidos y agradables.

AGRADECIMIENTOS

A toda mi familia, a mis papás Felipe y Rosa; a mis hermanos Yadira, Jonathan, Geovanny, por que me han dado su apoyo incondicional y por que sé que con cada uno de sus palabras, consejos y regaños han hecho de mí la mujer que ahora soy, gracias por que son mi sostén en este largo camino.

A mis amigos de siempre, Mariano, Hector, Victoria, Adair, Hugo, Claudia, Patricia, por que aunque en el camino nos hayamos alejado, sé que siempre nos tendremos unos a otros; gracias por su cariño, por su amistad incondicional, por su amor y por todos los excelentes momentos que pasamos y que pasaremos juntos.

A los nuevos amigos que me apoyaron a lo largo de todo este proceso y con quien pasé momentos increíbles: Víctor, Jony, Luis, Topo, Olinka, Andrés, Bob, Carlos, Alida, Manuel; por que hicieron mi estancia en esta facultad maravillosa.

A aquellos que fueron parte de la unidad de gerontología y con los cuales me divertí tanto tiempo: Gie Bele, Edgar, Venecia; por que también los considero mis amigos.

ÍNDICE

I.	Resumen	1
II.	Abreviaturas	2
III.	Introducción	3
IV.	Marco teórico	5
	IV.1 Radicales libres	5
	IV.1.1.Tipos de radicales libres	6
	IV.2. Estrés oxidativo	9
	IV.2.1.Daño oxidativo a biomoléculas	10
	IV.2.2.Indicadores de estrés oxidativo	12
	IV.3.Antioxidantes	14
	IV.3.1.Estrés oxidativo y vitaminas antioxidantes	26
	IV.4.Ejercicio físico	28
	IV.4.1 Ejercicio físico y estrés oxidativo	29
	IV.4.2 Tai-Chi	32
V.	Planteamiento del problema	38
VI.	Hipótesis	38
VII.	Objetivo	39
VIII.	Material y métodos	39
	VIII.1.Tipo de estudio	39
	VIII.2.Universo de estudio	39
	VIII.3.Variables	40
	VIII.4.Técnicas	42
	VIII.5.Análisis estadístico	54
IX.	Resultados	55
X.	Discusión	65
XI.	Conclusión	72
XII.	Perspectivas	73
XIII.	Referencias	74
XIV.	Anexo	85

I. RESUMEN

ANTECEDENTES: El estrés oxidativo (EOx) es un desequilibrio bioquímico caracterizado por un incremento de radicales libres respecto a la actividad antioxidante con la consecuente alteración de la homeóstasis óxido-reducción de la célula, propiciando daño a macromoléculas y alteración funcional y estructural del organismo. Se ha demostrado que el estrés psicológico, la exposición a contaminantes y los estilos de vida inadecuados son factores determinantes del EOx vinculado con el incremento de las enfermedades crónicas de mayor prevalencia en la vejez. Por otro lado, se ha observado que la práctica de ejercicio físico moderado incrementa la actividad antioxidante y consecuentemente disminuye el EOx. En este sentido, el Tai Chi es una modalidad de ejercicio físico moderado, por lo que podría tener un efecto antioxidante, sin embargo esto no ha sido totalmente demostrado. Así mismo se ha propuesto que las vitaminas C y E tienen un alto potencial redox, por lo que son fácilmente oxidables, evitando que en su presencia, se oxiden otros compuestos, de ahí su gran valor como agentes antioxidantes.

OBJETIVO: Determinar el efecto antioxidante del Tai Chi en comparación con la administración crónica de vitaminas antioxidantes C y E en adultos mayores.

MÉTODO: Previo consentimiento informado se llevó a cabo un estudio cuasi-experimental en una población de 64 adultos mayores con edad promedio de 65 años, los cuales fueron divididos en los siguientes grupos: (i) control n=18, (ii) práctica de Tai Chi n= 22, y (iii) consumo de vitaminas (1000 mg de Vitamina C y 400 UI Vitamina E) n= 24. Todos los participantes eran sanos o con enfermedades crónicas controladas, sin ingesta de antioxidantes o de hormonas sexuales de reemplazo. Se realizó una evaluación pre y post-intervención a los 12 meses, se les midió los siguientes marcadores de EOx: lipoperóxidos (LPO), enzimas antioxidantes superóxido dismutasa (SOD) y glutatión peroxidasa (GPx) y capacidad antioxidante total (CAT). Se determinaron niveles séricos de vitamina C y E.

RESULTADOS. Se observó un incremento estadísticamente significativo en el porcentaje de EOx en el grupo de personas a quien se les administró vitaminas con respecto al grupo control (pre-intervención, 83% vs. post-intervención 92%; $p<0.05$). En contraste en el grupo que practicó Tai Chi se observó una disminución estadísticamente significativa (pre-intervención, 95% vs. post-intervención 50%, $p<0.05$). Asimismo, en el grupo de practicó Tai Chi se observó una disminución estadísticamente significativa en el porcentaje de sujetos que presentaban estrés oxidativo severo (pre-intervención=27% vs. post-intervención=0%; $p<0.05$).

CONCLUSIÓN: Nuestros hallazgos sugieren que la ingesta crónica de vitaminas antioxidantes tiene un efecto pro-oxidante y el Tai Chi disminuye el grado estrés oxidativo en adultos mayores.

II. ABREVIATURAS

4-HNE	4-Hidroxinonenal
8-OHdG	8-hidroxi guanosina
ADN	Ácido Desoxirribonucleico
ANOVA	Análisis de varianza
ATP	Adenosín Trifosfato
BHT	Butiril-hidroxitolueno
CAT	Capacidad antioxidante total
CG	Cromatografía de Gas
CTE	Cadena de transporte de electrones
EF	Ejercicio Físico
ELISA	Ensayo inmunoabsorbente ligado a enzima
EOx	Estrés oxidativo
ERN	Especies reactivas de nitrógeno
EROS	Especies reactivas de oxígeno
GAP	Brecha antioxidante
GPx	Glutation Peroxidasa
GSH	Glutation reducido
GSSG	Glutation oxidado
HCLO	Ácido Hipocloroso
HDL	Lipoproteínas de alta densidad
HPLC	Cromatografía Líquida de Alta Resolución
IC	Intervalo de confianza
INT	p-iodonitrotetrazolio
LDL	Lipoproteínas de baja densidad
LPO	Lipoperóxidos
MDA	Malonaldehído
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleotido fosfato oxidasa
PLTP	Proteína de transferencia de fosfolípidos
Redox	Oxido reducción
RL	Radicales libres
RM	Razón de momios
ROOH	Hidroperóxido
SOD	Superóxido dismutasa
TBA	Ácido Tiobarbitúrico
TBARS	Sustancias reactivas a ácido tiobarbitúrico
TC	Tai Chi
TMP	1,1,3,3-Tetrametoxipropano
UV	Ultravioleta
VLDL	Lipoproteínas de muy baja densidad

III. INTRODUCCIÓN

En nuestro organismo suceden, sin que lo notemos, innumerables reacciones químicas. Procesos como la respiración, la alimentación, el movimiento y todo lo que el cuerpo y la mente realizan se basa en reacciones químicas. Como consecuencia de algunas de estas reacciones se originan compuestos llamados radicales libres (RL), moléculas extremadamente reactivas que buscan elementos con los cuales reaccionar para obtener el electrón que les hace falta y estabilizarse; las sustancias antioxidantes son capaces de donar electrones a los RL, impidiendo así que se dañen las células.

El estrés oxidativo (EOx) es una alteración bioquímica que se caracteriza por el desequilibrio entre las especies oxidantes y las antioxidantes. Existen claras evidencias que muestran que el ejercicio tiene el potencial de incrementar la producción de RL ya que la actividad física incrementa considerablemente la demanda de energía, el consumo de oxígeno, y por lo tanto la producción de RL. Sin embargo, también se ha demostrado que la práctica continua de ejercicio de intensidad moderada favorece el incremento de la respuesta antioxidante a través de un proceso adaptativo, de modo que se contrarresta el incremento de las especies reactivas generadas.

Por otro lado, la administración de vitaminas antioxidantes se ha señalado como una posible medida para contrarrestar el EOx secundario al acelerado ritmo de vida, la exposición a contaminantes y la mayor incidencia de algunas enfermedades crónicas, dado que las vitaminas son moléculas pequeñas con un alto potencial de oxidación-reducción, fácilmente oxidables, las cuales evitan que en su presencia se oxiden otros compuestos.

Las más recomendadas son las vitaminas A, C y principalmente, la vitamina E, la cual tiene mayor potencial como antioxidante.

Sin embargo, debido a que no hay evidencia concluyente acerca de cual es la mejor opción para reducir los niveles de EOx en el organismo, el propósito

de la presente investigación fue comparar el efecto de la práctica de Tai Chi y la administración crónica de vitaminas sobre los marcadores de EOX.

IV. MARCO TEÓRICO

IV.1 RADICALES LIBRES

Un radical libre (RL) puede definirse como una molécula o fragmento de molécula que contiene uno o más electrones no apareados en sus orbitales atómicos externos.¹ Poseen una configuración electroquímicamente muy inestable, lo que le confiere la propiedad de ser una especie química altamente agresiva y de corta vida. Se ha observado que su reactividad se correlaciona inversamente con su vida media y con su capacidad de difusión en el medio celular. Desde el punto de vista químico, un RL puede originarse por distintos mecanismos, pero el más frecuente en los organismos vivos es mediante la adición de un electrón a una molécula estable. La mayoría de las moléculas en un organismo son no radicales, o sea, solo contienen electrones apareados en sus orbitales atómicos.²

Una vez formados, los RL interactúan con otras moléculas a través de reacciones redox con el propósito de lograr una configuración electrónica estable. En una reacción redox existe una transferencia de electrones entre las especies químicas participantes, una de ellas cede electrones libres (proceso denominado oxidación) y la otra, necesariamente los recibe (proceso denominado reducción). Cuando un RL reacciona con una molécula no radical, puede ceder o captar electrones, o simplemente puede unirse a ella. En cualquiera de estos casos la molécula no radical se convierte en un RL y se desata una reacción en cadena, un RL genera otro RL. Sólo cuando se encuentran dos RL o un antioxidante y un RL la reacción en cadena se detiene.²

Los RL pueden formarse en el interior de las células como producto de sus actividades fisiológicas normales o a partir de procesos como la hipoxia, en la que se observa un aumento en la formación de RL, que pueden inducir lipoperoxidación en la membrana de las células del cerebro y con ello alteraciones en las funciones del mismo.²

Los RL pueden también generarse a partir de fuentes exógenas, como la radiación ionizante, ultravioleta, la visible o térmica, fármacos antitumorales, algunos productos químicos carcinógenos, agentes contaminantes, pesticidas y el humo del cigarro, también diversos medicamentos pueden inducir la liberación de RL como el acetaminofén, la neomicina, la polimixina B, la kanamicina, la gentamicina y el cloranfenicol.²

En el medio biológico, los RL son compuestos generalmente oxigenados y se les llaman especies reactivas de oxígeno (EROS). Debido a que los organismos existen y se desarrollan en presencia de oxígeno, están asociados con la generación de estas EROS, que son tóxicas y se consideran responsables del daño oxidativo a macromoléculas biológicas como el ADN, lípidos, carbohidratos y proteínas.²

De la misma manera existen RL nitrogenados o especies reactivas de nitrógeno (ERN), cuya importancia a crecido en los últimos tiempos.²

IV.1.1 TIPOS DE RADICALES LIBRES

Anión superóxido ($O_2^{\cdot-}$)

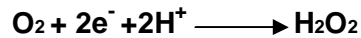
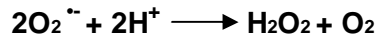
El oxígeno molecular tiene una configuración electrónica única y es un radical en sí mismo. La adición de un electrón al oxígeno diatómico forma el radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$).³ Es considerado el principal de las EROS ya que además de generarse como consecuencia de procesos metabólicos, puede interactuar con otras moléculas para generar EROS secundarias, ya sea directa o indirectamente a través de enzimas o procesos catalizados por metales.⁴ La producción de $O_2^{\cdot-}$ se produce sobre todo en la mitocondria. La cadena de transporte electrónico mitocondrial es la principal fuente de ATP en las células de mamíferos y por lo tanto es esencial para la vida.⁵ Puede formarse como producto de muchas reacciones catalizadas enzimáticamente, como en las reacciones de deshidrogenasas flavoproteínicas: Xantina oxidasa, aldehído oxidasa, purina oxidasa, etc.,

también en reacciones no enzimáticas del oxígeno con la cisteína o la riboflavina, o bien se produce en la cadena respiratoria mitocondrial.⁶



Peróxido de hidrógeno (H₂O₂)

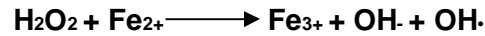
Estado de reducción de dos electrones de oxígeno, formado a partir del radical O₂^{·-} por dismutación, o directamente del O₂.⁷



No es un radical libre, pero su toxicidad es importante ya que atraviesa fácilmente las membranas. Muchas enzimas producen H₂O₂ a partir de oxígeno: superóxido dismutasa, glucosa oxidasa, la D-aminoácido oxidasa, uricasa, etc. Así como también puede producirse por reacciones químicas, como la autooxidación del ácido ascórbico catalizada por el cobre. Se convierte en agua por acción de la catalasa, un proceso que determina su vida media.⁸

Radical Hidroxilo (OH[·])

El radical hidroxilo, es la forma neutra del ión hidroxilo. El OH[·] tiene un alto grado de reactividad, lo que lo convierte en un radical muy peligroso.⁹ Es la especie más reactiva con una vida media estimada alrededor de 10⁻⁹ segundos. Puede generarse *in vivo* como consecuencia de radiaciones de alta energía (rayos X, rayos γ) que pueden provocar rotura homolítica del agua corporal. La luz UV no tiene suficiente energía como para escindir una molécula de agua, pero puede dividir el H₂O₂ en 2 moléculas de OH[·]. Otro proceso todavía más importante en la formación del OH[·] es la llamada reacción de Fenton.¹⁰



También a partir de H_2O_2 y del radical $\text{O}_2^{\cdot -}$ puede formarse el $\text{OH}\cdot$, por la reacción de Haber-Weiss.¹¹



Esta reacción es catalizada por metales como hierro y cobre.

Radical peroxilo ($\text{ROO}\cdot$)

Formado a partir de hidroperóxidos orgánicos, por ejemplo lípidos, o ROOH por pérdida de hidrógeno. Tiene una vida media relativamente larga (del orden de segundos).¹²

Oxígeno singulete (O_2)

Es una forma excitada del oxígeno molecular. No es un radical libre y se forma *in vivo* por adición de la luz sobre las moléculas de oxígeno. Su vida media es alrededor de 10^{-6} segundos, dependiendo de la naturaleza de la matriz circundante. Puede interactuar con otras moléculas transfiriéndoles su energía de excitación o combinándose químicamente con ellas. Puede formarse en la oxidación del NADPH en los microsomas, en la actividad de varias enzimas como la xantina oxidasa, la lactoperoxidasa, lipooxigenasa y prostanglandinsintetasa, entre otras.¹²

Óxido nítrico ($\text{NO}\cdot$)

El óxido nítrico ha cobrado gran relevancia en los últimos años por la importante función fisiológica que desempeña, además de ser considerado un intermediario tóxico importante por su condición de radical libre.

Es un gas lipofílico e hidrosoluble, cuya vida media es relativamente larga (3-5 segundos). Su formación tiene lugar por una reacción enzimática en la que la enzima óxido nítrico sintasa cataliza la conversión de L-arginina dando como subproducto NO[·] en numerosos tipos celulares.¹³

El NO[·] juega un papel fundamental en numerosos procesos fisiológicos. Actúa como regulador del flujo sanguíneo local, inhibidor de la agregación plaquetaria, se produce por los macrófagos activados contribuyendo a la defensa inmunitaria primaria y también actúa como neurotransmisor, siendo el cerebro el órgano con mayor actividad óxido nítrico sintasa.¹⁴

IV.2 ESTRÉS OXIDATIVO

El EOx se define como el desequilibrio químico propiciado por la producción excesiva de especies reactivas y RL que provocan daño oxidativo a las biomoléculas y que no pueden ser contrarrestado por los sistemas antioxidantes.¹⁵ En estas circunstancias para disminuir el daño que los prooxidantes pueden causar en el organismo, está indicado protegerlo incrementando su capacidad antioxidante. Una de las formas en la que se puede conseguir esto, consiste en la administración de antioxidantes ya sea como fármacos o como complementos dietéticos.¹⁶

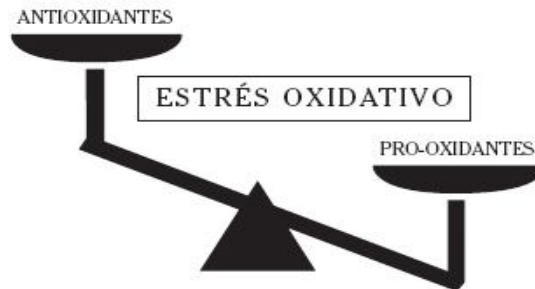


Figura III.2.1 Balance entre sistema antioxidante y prooxidante. Cuando este desbalance se rompe a favor de los prooxidantes se presenta el estrés oxidativo

IV.2.1 DAÑO OXIDATIVO A BIOMOLÉCULAS

Daño oxidativo a lípidos

De los principales tipos de biomoléculas, los lípidos, y sobre todo los ácidos grasos poliinsaturados, son los más susceptibles de ser atacados por los RL.¹⁷ Los RL que pueden iniciar esta reacción son; el radical hidroxilo (OH^\cdot), el peróxido (H_2O_2), el alcóxilo (RO^\cdot) y el alquílico (R^\cdot). La peroxidación de lípidos (LPO) es particularmente destructiva, ya que se desarrolla una reacción en cadena autopropagante.¹⁸

El proceso de ataque oxidativo a los lípidos, denominado peroxidación lipídica, comienza cuando un RL ataca a un carbono de la cadena alifática de un ácido graso, se desprende un átomo de hidrógeno, y se forma un radical alquílico. Esta reacción se produce preferentemente en los carbonos contiguos a enlaces dobles de los ácidos grasos poliinsaturados, ya que los radicales formados se pueden estabilizar por resonancia con el enlace doble. Este radical centrado en un átomo de carbono reacciona con el O_2 y forma un radical peróxido, R-COO^\cdot . Los radicales peróxido pueden reaccionar con cadenas laterales de otros ácidos grasos poliinsaturados adyacentes, se forma un radical alquílico ($\text{R}'\text{-CH}^\cdot$) y un peróxido lipídico (R-COOH), con lo que se propaga la reacción en cadena radicalaria.¹⁹ Este mecanismo se facilita con la presencia de iones de metales de transición y por los dobles enlaces contenidos en la cadena del ácido graso poliinsaturado.²⁰

De esta manera, un solo ataque por un RL da lugar a la formación de un gran número de productos de oxidación, sobre todo aldehídos citotóxicos como malondialdehído (MDA) y 4-hidroxinonenal (4-HNE), e hidrocarburos de cadena corta como etano y pentano.²¹ Muchos de los aldehídos formados reaccionan rápidamente con los componentes celulares, con lo que causan mutaciones en el ADN, y producen daños estructurales y funcionales al reaccionar con proteínas.²² La peroxidación lipídica se considera como un factor muy importante en el envejecimiento de células aeróbicas. El daño

oxidativo a los lípidos de membrana constituye, muy probablemente, un factor importante en la disminución de la fluidez de las membranas celulares o subcelulares, ya que se altera su fluidez, cohesión, permeabilidad y función metabólica.²³

Daño oxidativo a proteínas

Todos los aminoácidos presentes en las proteínas tienen residuos susceptibles de ser atacados por los RL, sobre todo por el radical hidroxilo. Esta oxidación puede dar lugar a un cambio conformacional de la proteína que puede ser una fragmentación y formación de grupos carbonilos y, por tanto, a una pérdida o modificación de su función biológica (transportadores iónicos de membranas, receptores y mensajeros celulares, enzimas que regulan el metabolismo celular, etc.).²⁴ En condiciones anaeróbicas, los RL promueven un entrecruzamiento considerable entre proteínas, mientras que en presencia de oxígeno los RL provocan una gran fragmentación de la cadena peptídica.²⁵

La oxidación de residuos de cisteína puede conducir a la formación reversible de disulfuros mixtos entre los grupos tiol de las proteínas (-SH) y algunos otros tioles de bajo peso molecular, en particular, GSH.²⁵ La concentración de grupos carbonilos, generados por diferentes mecanismos es en buena medida producto de la oxidación de las proteínas mediada por EROS.^{26, 27}

Daño oxidativo a carbohidratos

Los carbohidratos reaccionan con facilidad con los radicales hidroxilo. Los mono y disacáridos resisten la acción de los RL de oxígeno. Los carbohidratos como la glucosa y otros monosacáridos relacionados, sufren peroxidación bajo ciertas condiciones y forman compuestos dicarbonílicos y peróxido de hidrógeno. La importancia de este hecho radica en que estas biomoléculas una vez activadas pueden interactuar con otras y conformar nuevas asociaciones moleculares.²⁸ Por ejemplo cuando se trata de

polisacáridos de función estructural, estos son despolimerizados por los RL dando lugar a procesos degenerativos.²⁹

Los carbohidratos también pueden actuar como agentes protectores, la glucosa constituye un captador del radical superóxido, al retenerlo e impedir su acción sobre otras moléculas. La manosa y el manitol son eliminadoras del radical hidroxilo.³⁰

Daño oxidativo a ADN

El ADN también constituye un blanco de ataque por parte de las EROS, principalmente el ADN mitocondrial.³¹ Este ADN, por su localización, se encuentra expuesto a un flujo constante y elevado de EROS provenientes de la cadena respiratoria; además, carece de histonas en su estructura lo que le resta estabilidad. En general, dentro del espectro de alteraciones que puede sufrir el ADN se describe la oxidación de desoxirribosas, ruptura y entrecruzamientos de cadena y la modificación de bases nitrogenadas, principalmente. Sin embargo, estas alteraciones serán significativas en la medida que sean intensas y capaces de eludir los sistemas de reparación antes de que ocurra la replicación.¹⁸

Se sabe que los radicales hidroxilo reaccionan con todos los componentes del ADN, dañando tanto la purina y bases de pirimida, así como la columna vertebral de la desoxirribosa.³² La lesión a ADN más ampliamente estudiada es la formación de 8-OHdG. La modificación a este material genético resultante del daño oxidativo representa el primer paso en la mutagénesis, carcinogénesis y envejecimiento.³³

IV.2.2 INDICADORES DE 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, dentro de los cuales se incluyen las mediciones de lípidos, proteínas y ADN oxidados.³⁴

Indicadores de daño oxidativo a lípidos

De todas las biomoléculas que pueden ser atacadas por RL, los lípidos son probablemente los más susceptibles, específicamente los poliinsaturados 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 lipoperóxidos (LPO).³⁵

Los LPO son compuestos inestables que tienden a degradarse rápidamente en una variedad de productos que incluyen: dienos conjugados, alcanos (etano y pentanos), productos aldehídicos (malondialdehído, n-aldehídos y 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). 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 producto cromogénico, llamado TBARS, que puede medirse espectrofotométricamente.³⁶ La mayoría de los métodos espectrofotométricos son poco específicos, ya que al utilizar TBA como reactivo, éste reacciona con todos los aldehídos de la muestra. Estos métodos se han mejorado gracias a la separación, por HPLC, del aducto MDA-TBA de otras sustancias que puedan interferir en la determinación.³⁵ El 4-hidroxinonenal es un producto muy abundante de la peroxidación lipídica. Las técnicas convencionales de cuantificación incluyen la derivatización de la muestra con dinitrofenilhidracina para formar un aducto estable y no volátil con el aldehído, y una cromatografía por HPLC para separar y cuantificar el pico correspondiente al 4-hidroxinonenal.³⁷

El etano y pentano son dos hidrocarburos de cadena corta que se forman como productos terminales en la lipoperoxidación de los ácidos grasos poliinsaturados. Debido a su volatilidad, se eliminan por vía pulmonar y se puede identificar por cromatografía de gases. Al ser una técnica no invasiva,

la cuantificación de estos alcanos se ha empleado mucho en seres humanos como índice de peroxidación lipídica.³⁸

Indicadores de daño oxidativo a proteínas

El biomarcador preferentemente usado para evaluar las alteraciones producidas en proteínas es la formación de carbonilos.³⁹ Los grupos carbonilos se introducen en la cadena aminoácida en el transcurso de un proceso oxidativo, principalmente en los residuos de lisina, arginina, prolina e histidina. Estos derivados carbonilos pueden detectarse mediante métodos colorimétricos, espectrofotométricos, y con el empleo de HPLC o la técnica de ensayo inmunoabsorbente ligado a enzima (ELISA).⁴⁰

Los métodos para detección de los grupos carbonilo producidos en las proteínas por el estrés oxidativo se pueden agrupar en dos: marcaje con borohidruro de sodio tritiado, y reacción con fenilhidrazinas. El método más empleado se basa en la reactividad de la 2,4-dinitrofenilhidrazina con los grupos carbonilo para formar 2,4-dinitrofenilhidrazona, que se cuantifica mediante espectrofotometría.⁴¹

La histidina es uno de los aminoácidos más vulnerables al ataque oxidativo. Uno de los productos de la oxidación de la histidina es la asparagina.⁴² Sin embargo está no es un marcador apropiado debido a que aparece de manera natural en las proteínas, y además se hidroliza a aspartato con facilidad en medio ácido.⁴³ La oxidación del carbono 2 del imidazol de la histidina da lugar a la formación de 2-oxohistidina, que se ha empleado como indicador del daño oxidativo a proteínas.⁴¹

IV.3 ANTIOXIDANTES

La protección de las células contra los RL derivados del oxígeno comprende no solo la captura de estos intermediarios agresivos, sino también la prevención de su formación, la inhibición de su propagación y la reparación de las lesiones. Las células presentan mecanismo de protección, de manera

que los RL derivados de la activación del oxígeno pueden ser transformados a productos menos tóxicos o no tóxicos.³²

Un antioxidante es cualquier sustancia que en bajas concentraciones retrase, prevenga o elimine el daño oxidativo de una molécula blanco. El papel fisiológico de los antioxidantes es evitar el daño en los componentes celulares a causa de reacciones químicas en las que intervienen los RL.⁴⁴ Por lo que los antioxidantes pueden actuar en diferentes etapas de la secuencia oxidativa: I) Removiendo oxígeno o disminuyendo la concentración local de este, II) eliminando EROS, III) removiendo iones metálicos que puedan catalizar reacciones de oxidación, IV) rompiendo cadenas en secuencias de iniciación oxidativa.³²

En este sentido, en un organismo la protección antioxidante puede operar a diferentes niveles, por lo que se tienen tres sistemas de defensa que pueden prevenir la toxicidad de las EROs.⁴⁵

La primera línea de defensa del organismo contra los RL es la prevención, esto implica la acción de procedimientos que bloquean su formación, como sería la presencia de proteínas que se unen a metales (hierro y cobre) lo que controla eficientemente la lipoperoxidación y la fragmentación del ADN, ya que de esta manera se evita la participación de estos metales en las reacciones donde se producen las diferentes especies reactivas de oxígeno.³² Figura III.3.1

En un segundo nivel de protección está la acción de los antioxidantes, que eliminan a los radicales para suprimir su actividad nociva en la célula.²

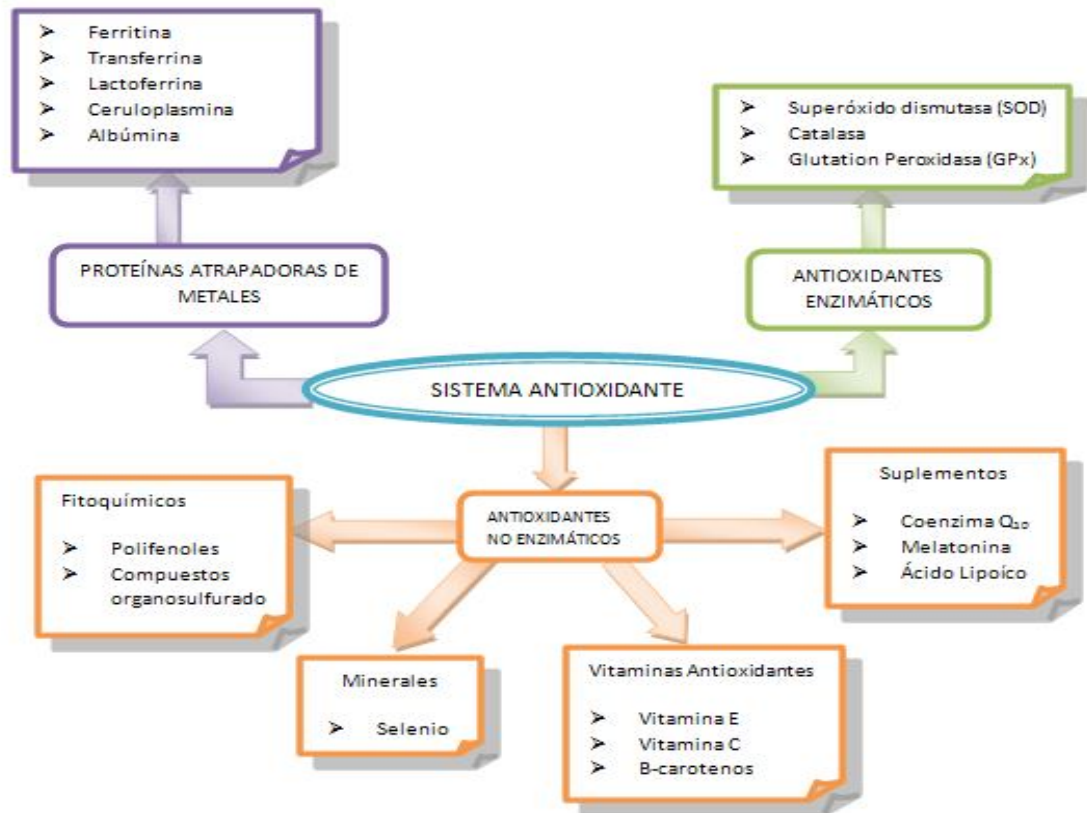


Figura IV.3.1 Sistema Antioxidante

Proteínas Atrapadoras de Metales

Estos antioxidantes se unen a metales controlando de esta manera la lipoperoxidación y la fragmentación del ADN, evitando la participación de estos metales en la formación de EROs. Los más importantes son:

Ferritina. Es una proteína intracelular que evita la acumulación de hierro e inhibe la peroxidación al quelar sales de hierro.²

Transferrina. Es la proteína transportadora de hierro y por lo general está cargada con un tercio de este ión, lo que evita que participe en reacciones de óxido reducción. El hierro unido a esta proteína evita que haya reacción con RL y debido a esta fijación es considerada un antioxidante muy potente.

Lactoferrina. Esta proteína transporta al hierro, se encuentra en los líquidos de secreción, entre ellos la leche, y mantiene enlazado a dos átomos de este elemento por mol de proteína a pH 4.³²

Ceruloplasmina. Es una proteína o metaloenzima plasmática⁴⁶ que contiene unido a más del 90% del ión cobre (Cu^{2+}), es capaz de inhibir al $\text{O}_2^{\cdot-}$ y H_2O_2 , pero su mayor contribución como defensa antioxidante es que rápidamente remueve los iones ferrosos en solución y simultáneamente reduce la cantidad de oxígeno del agua, ya que puede transferir hasta 4 electrones sin formar EROS, por lo que esta proteína tiene actividad de ferroxidasa catalizando la transformación de Fe^{2+} a Fe^{3+} .⁴⁴

Albúmina. Proteína más abundante en el plasma humano y presenta propiedades antioxidantes, ya que está presente en concentraciones relativamente altas en varios fluidos, es capaz de enlazar diferentes iones metálicos, absorber ácido hipocloroso (HClO), es la responsable de atrapar entre el 10 y el 50% de radicales peróxilo que se generan en el plasma humano. Durante la acción antioxidante, esta proteína se destruye. Tiene la capacidad de unirse al Cu e inhibir la formación del radical hidroxilo.²

Antioxidantes Enzimáticos

Los antioxidantes enzimáticos están presentes en la célula, siendo tres las principales enzimas antioxidantes: superóxido dismutasa (SOD), catalasa y glutatión peroxidasa (GPx).

Superóxido dismutasa. Fue descrita en 1968 por J.M. McCord y I. Fridovich en eritrocitos, son un grupo de enzimas fácilmente aislables, muy estables y resistentes a altas temperaturas, a pH extremos y a altas concentraciones de uréa.⁴⁷ La SOD cataliza la dismutación del ión $\text{O}_2^{\cdot-}$ en H_2O_2 , es una reacción en la que dos moléculas de sustrato idénticas tienen destinos diferentes, en este caso una molécula de $\text{O}_2^{\cdot-}$ se oxida y la otra se reduce:



Son una familia de metaloenzimas. Se encuentra en tres formas diferentes en tejidos de mamíferos, cada una con ubicación específica y distribución subcelular en los diferentes tejidos:

- CuZn-SOD. Se encuentra en el citoplasma y en orgánulos de prácticamente todos los mamíferos, tiene dos subunidades de proteínas cada una con un átomo catalítico activo con Cobre y Zinc.
- Mn-SOD. Se encuentra en la mitocondria, tiene cuatro subunidades de proteína, probablemente cada una tiene un átomo de Mn. La secuencia de aminoácidos de MnSOD es totalmente diferente a la de CuZn-SOD.
- CuZn-SOD extracelular. Sintetizada sólo por unos cuantos tipos celulares, incluyendo los fibroblastos y las células endoteliales, se expresa en la superficie celular.⁴⁸

La acción catalítica es llevada a cabo por el cobre y el zinc no tiene función en el ciclo catalítico pero estabiliza a la enzima.

Catalasa. Es una enzima con cuatro subunidades proteicas, cada una con un grupo hemo unido a su sitio activo. Su actividad está localizada en los eritrocitos y en los peroxisomas, en donde cataliza la reacción de transformación del H₂O₂ producido por la SOD en agua y oxígeno molecular:



Glutación peroxidasa. Está compuesta por cuatro subunidades idénticas con un átomo de selenio cada una en forma de seleniocisteína. Se encuentra en el citoplasma y trabaja en combinación con la SOD, eliminando el H₂O₂ de las células y reduce los peróxidos orgánicos (ROOH) en sus respectivos alcoholes.

Durante la reacción el glutatión es convertido a su forma oxidada (GSSG), para posteriormente ser regresado a su estado original por la enzima glutatión reductasa:



En el humano se han descrito cuatro isoenzimas. GPx1 y GPx2 son enzimas estrechamente vinculadas en términos de estructura y especificidad para descomponer H_2O_2 en hidroperóxidos de ácidos grasos en el citosol; GPx1 también se encuentra en mitocondria.⁴⁹

GPx3 es una enzima glicosilada extracelular, reduce H_2O_2 , hidroperóxidos de ácidos grasos y fosfolípidos, pero no los hidroperóxidos de colesterol. Tiene una actividad catalítica, más lenta en comparación con otras GPxs.

GPx4 está presente en el citosol, mitocondria y núcleo. Reduce hidroperóxidos de fosfolípidos, colesterol y timina además funciona sinérgicamente con Vitamina E en la prevención de lipoperoxidación.^{2, 44}

Antioxidantes no enzimáticos

La gran mayoría de los antioxidantes no enzimáticos no son sintetizados por los humanos, por lo que es necesario consumirlos de la dieta, existe una gran variedad de este tipo de antioxidantes por lo que para su estudio se puede clasificar como vitaminas antioxidantes, antioxidantes endógenos, minerales, fitoquímicos y suplementos de los cuales los más importantes son los siguientes:

Vitaminas Antioxidantes

Ácido ascórbico o vitamina C. Es una enzima hidrosoluble compuesta por seis carbonos en forma de lactona lo que le permite funcionar como cofactor en diversas reacciones de hidrolización y amidación al transferir electrones a enzimas que proporcionan equivalentes reductores. Permite la oxidación de

cadenas laterales de lisina en proteínas, para proporcionar hidroximetil-lisina para la síntesis de creatinina, participa en la conversión de ácido fólico en ácido folínico, en el metabolismo microsómico de fármacos, y la hidroxilación de dopamina para formar noradrenalina.⁵⁰

A nivel tisular, facilita, la conversión de algunos residuos de prolina y lisina que se encuentran en el procolágeno, en hidroxiprolina e hidroxilisina en la síntesis de colágeno, proteoglicanos y otros constitutivos orgánicos de la matriz intercelular en tejidos como dientes, huesos y endotelio capilar.⁵⁰

Esta vitamina es considerada como el más importante antioxidante en el líquido extracelular por su efectividad al atrapar iones superóxido y radicales peróxido evitando que puedan reaccionar con las membranas biológicas y lipoproteínas.⁵¹ Además de poder eliminar al oxígeno singlete, al ozono, al peroxinitrito, al dióxido de nitrógeno y al ácido hipocloroso.

El ácido ascórbico se oxida al transferir electrones a las EROS y se forma el ácido dehidroascórbico (Figura III.3.2), el cual debe su estabilidad a la resonancia de sus dobles enlaces. Además, el ácido ascórbico puede ser regenerado por medio de la GSH y vía enzimática por la reducción de NADH que es dependiente de la enzima semidehidroascorbato reductasa.⁵⁰

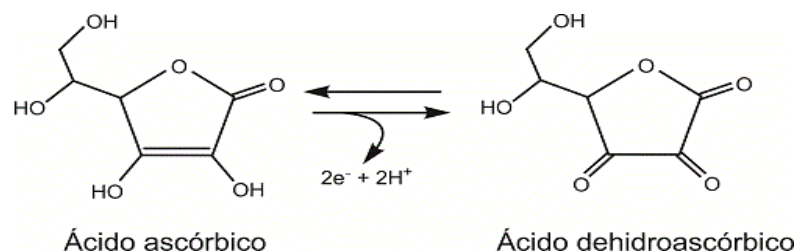


Figura IV.3.2. Reacción de oxidación del ácido ascórbico

La vitamina C es una molécula que posee tanto propiedades antioxidantes como prooxidantes, dependiendo de la concentración de hierro tisular⁵²

aunque no se ha podido demostrar su efecto prooxidante *In vivo*. Cuando la cantidad es baja, ejerce un efecto antioxidante, uniéndose al radical superóxido o hidroxilo y formando un radical semihidroascorbato, que posteriormente es reducido por el glutatión. Sin embargo, en condiciones de alta concentración tisular de hierro, el ácido ascórbico es capaz de catalizar la reacción de Fenton y por lo tanto, generar ion ferroso, que a su vez facilita la producción de radical hidroxilo mediante la reacción de Haber-Weiss.⁶

Debido a que los humanos no podemos sintetizar la vitamina C es necesario que sea consumida en la dieta, la cual una vez ingerida se absorbe por un mecanismo de transporte activo dependiente de sodio y energía permitiéndole viajar por el torrente sanguíneo donde los linfocitos y los neutrófilos, que son su reservorio, lo absorben como ácido dehidroascórbico y una vez dentro de la célula lo reduce a ácido ascórbico. Así mismo, se absorbe fácilmente en el intestino delgado hasta un 90% cuando la concentración oscila entre 20 y 120mg por día, pero se ha observado que con dosis mayores de 1250mg diarios la absorción es de aproximadamente de un 50%.⁵³

Con relación a su toxicidad no se ha reportado ningún efecto cuando se consumen megadosis de 3 a 4g por día, sin embargo en humanos se han encontrado molestias gastrointestinales como cólicos, náuseas y diarrea osmótica. Así mismo en consumo de megadosis por tiempo prolongado se pueden formar cálculos renales de oxalato al ser un producto metabólico de esta vitamina.⁵³

Vitamina E. Es el término utilizado para describir un grupo de al menos ocho compuestos que tienen actividad de α , β , δ , γ -tocoferoles, siendo el último el más abundante debido a sus características de liposolubilidad, es considerado como el más potente antioxidante en la fase lipídica ya que puede actuar en las membranas celulares o en las partículas de lipoproteínas, al participar en la estabilidad física de las mismas y al influir en la arquitectura de los fosfolípidos.⁵⁴ Estructuralmente consta de una cabeza

de grupo cromano y un fitilo en la cadena lateral, lo que le da características anfipáticas.⁵⁵

La vitamina E es muy inestable al calor, se descompone en presencia de oxígeno y en pH alcalinos y es muy sensible a la luz.⁵⁶

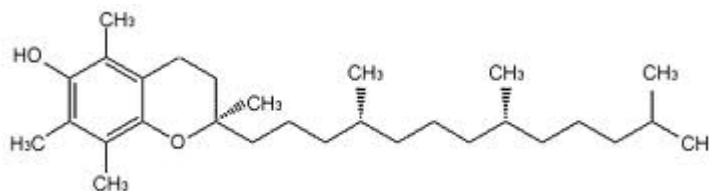


Figura IV.3.3 Estructura química de la Vitamina E

La vitamina E destruye principalmente radicales peróxido, pero también es capaz de actuar sobre radicales alcóxido y superóxido, oxígeno singlete, ozono y es efectiva sobre las especies reactivas de nitrógeno.⁵⁴

Además de su participación como antioxidante, se ha observado que esta vitamina modula la concentración de óxido nítrico, participando así en la regulación de la vasodilatación arterial. Así mismo regula la agregación plaquetaria inhibiendo la producción de tromboxano que es una prostaglandina; en la función mitocondrial, en el metabolismo de ácidos nucleicos y proteínas y en la producción hormonal.⁵⁴

Si la oxidación de la vitamina E ocurre en el organismo pueden originarse una gran cantidad de compuestos. En caso de que la oxidación del tocoferol no sea superior al 20%, el producto principal de esta oxidación es α -tocoferolquinona, que podría reducirse por el metabolismo celular a α -tocoferolhidroquinona. Otros productos de la reacción de tocoferol con RL son 5,6-epoxy- α -tocoferolquinona y 2,3-epoxy- α -tocoferolquinona.⁵⁷

La vitamina E es proporcionada por la dieta, su absorción se lleva a cabo en el intestino, pero sólo de un 20 a un 40% es absorbida, la cual disminuye al aumentar la dosis, además depende necesariamente de la ingestión de

grasa, ácidos biliares y secreciones pancreáticas para posteriormente ser secretada a la circulación en quilomicrones en asociación de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y de baja densidad (LDL); su sitio de regulación es el hígado y se ha observado que tiene preferencia por la forma α de la vitamina, la cual se encuentra almacenada de un 80 a 90% en el tejido adiposo.⁵⁸

Durante la lipólisis de la vitamina E, esta es transferida a las lipoproteínas de alta densidad (HDL) catalizada por la proteína de transferencia de fosfolípidos (PLTP), misma proteína que puede colocar el α -tocoferol en el revestimiento endotelial de las paredes capilares, manteniendo así las defensas antioxidantes en la pared vascular.⁵⁷

Con respecto a su toxicidad es baja y se ha reportado como límite superior de consumo 1000 mg/d (1500 UI), sin embargo los efectos adversos que se han reportado con dosis superiores a 1200 mg/d han sido fatiga, dolor de cabeza, debilidad muscular, cólicos y diarrea, además de la exacerbación de la coagulación sanguínea cuando se ingieren dosis entre 800-1200 mg/d de vitamina E combinada con una deficiencia de vitamina K, causada por una mala absorción o terapia anticoagulante; también se ha reportado un efecto antiadhesivo plaquetario que se puede combinar con el efecto que produce el consumo de aspirina reduciendo la adhesión plaquetaria hasta en un 40% aumentando el riesgo de hemorragia cerebral en los pacientes con hipertensión arterial. En dosis controladas, la vitamina E es bien tolerada y no parece tener interacciones significativas con otras medicaciones, lo cual es una consideración importante para una probable intervención a utilizarse en personas ancianas que tienen una prevalencia de múltiple morbilidad.⁵⁹

Carotenoides. Son pigmentos naturales no sintetizados por los animales. Se han identificado más de 500 compuestos y menos de 10% puede ser metabolizado a retinol que funciona como precursor de vitamina A en los mamíferos. Su función principal consiste en la protección del tejido epitelial, en la intervención de los mecanismos que permiten el crecimiento y la

reproducción y el ciclo bioquímico de la retina, donde el 11-cis-retinal se combina con el grupo e-amino de un residuo de lisina específico en la opsina para formar rodopsina permitiendo la fotorecepción por las células retinianas.⁶⁰

Como atrapadores de los RL los carotenos, son eficaces desactivando al oxígeno singulete a radicales peroxilos, ya que cuentan con un sistema de dobles enlaces que le permiten desactivarlos por transferencia de energía de las especies oxígeno excitadas al carotenoide, produciendo un carotenoide triplete excitado, esa energía es disipada a través de interacciones vibracionales con el solvente recuperando así a la molécula antioxidante.⁶¹

Minerales

Selenio. Es un metal que se considera micronutriente y es componente principal de la enzima glutatión peroxidasa, es necesario tomarlo de la dieta ya que el organismo no lo sintetiza y la concentración que se encuentra en los alimentos de origen vegetal depende de la región del cultivo, el pH, la humedad del suelo y la forma química en la que se encuentra.

De la alimentación se absorbe muy fácilmente como aminoácido seleniometionina y después de una transulfuración se libera selenuro el cual es metabolizado a selenofosfato que es el compuesto activo, precursor de la formación de seleniocisteína, proporcionando así su cualidad catalítica en asociación con las selenoproteínas o las selenoenzimas.⁶²

En relación a la cantidad de selenio que se debe consumir se ha considerado que 40 µg por día es una concentración adecuada para que las enzimas selenio dependientes puedan funcionar correctamente así mismo 300 µg por día parece que puede reducir el riesgo de cáncer.

Es un cofactor de la enzima GPx, que desempeña un papel clave en la defensa celular contra el daño oxidativo. La falta de este elemento está asociada con alteraciones en el metabolismo, principalmente la disminución

de la actividad enzimática antioxidante del glutatión, pero también está asociado a la aparición de diversas enfermedades crónicas como son el cáncer, enfermedades cardiovasculares, diabetes, artritis reumatoide, cataratas y el asma.⁶³

Fitoquímicos

Polifenoles. Constituyen una gran categoría de fitoquímicos que se encuentran presentes en frutas, vegetales y bebidas obtenidas de plantas, por lo que forman parte integral de la dieta humana. Estos compuestos naturales tienen la capacidad de actuar como potentes antioxidantes y esta propiedad está relacionada con su estructura molecular dependiendo de los anillos fenólicos que presente, de la posición de los grupos hidroxilo y de la posición de otros grupos funcionales, de ahí que se pueden clasificar en ácidos fenólicos que incluyen a los ácidos hidroxibenzoicos e hidroxicinámicos, en polímeros fenólicos o taninos y flavonoides que son el grupo más grande e importante ya que se ha descrito más de 6 000 compuestos, los cuales se pueden agrupar en antocianidinas y antoxantinas.^{64, 65}

El efecto antioxidante de los polifenoles se debe a que pueden actuar como agentes reductores o como donadores de átomos de hidrógeno y como atrapadores del oxígeno singulete, así mismo algunos de ellos pueden actuar quelando a metales de transición. Su eficiencia está directamente relacionada con el grado de hidroxilación de su estructura y son efectivos inhibiendo radicales hidroxilo y peroxilo así como el ion superóxido; además han demostrado ser eficaces para eliminar los procesos de peroxidación lipídica del ácido linoleico o de los fosfolípidos de las membranas.⁶⁶

Además de eliminar RL, estos compuestos también muestran algunas funciones biológicas como una actividad antiinflamatoria, anticancerígena, antiviral, antimicrobiana, vasodilatadora y anticoagulante.⁶⁴

Suplementos

Coenzima Q₁₀. Es una benzoquinona liposoluble que presenta en la posición 6 una cadena lateral constituida por 10 subunidades isoprenoideas. La porción benzoquinona de la coenzima Q₁₀ se sintetiza a partir de tirosina, mientras que la cadena isoprenoidea se sintetiza a partir de acetil-CoA a través de la ruta del mevalonato. Su principal función es la producción de energía en la mitocondria, al recibir electrones que reducen a la forma oxidada de la ubiquinona en ubiquinol.

La propiedad antioxidante de la Q₁₀ es la prevención de la lipoperoxidación en las membranas celulares al inhibir la cadena de propagación cuando se ha abstraído un átomo de hidrógeno de un ácido graso insaturado de dichas membranas, así como la generación de la vitamina E y de la vitamina C a sus formas activas.⁶⁷

IV.3.1 Estrés Oxidativo y vitaminas antioxidantes

Existen diversos estudios que han demostrado que la administración de α -tocoferol y ácido ascórbico en ancianos puede prevenir o mitigar la aparición de EOX y daño al ADN, repercutiendo positivamente en su estado de salud y longevidad (Cuadro IV.4.1)⁶⁸, los estudios realizados utilizando solamente vitamina E indican que la administración de 600 UI de dicha vitamina por 4 semanas reducen significativamente los niveles de lipoperoxidación en plasma,⁶⁹ con respecto a la utilización de vitamina C se indica que 200 mg diarios disminuyen el riesgo de cáncer de estómago, colon y pulmón así como el riesgo de padecer cataratas.⁷⁰

Otros estudios indican que la combinación de α -tocoferol y ácido ascórbico es el esquema de antioxidantes más usado en adultos mayores sanos y con enfermedades crónicas debido a su efectividad sobre lipoperoxidación y aparente nula toxicidad.

Por otro lado, existen estudios que indican que la vitamina C puede actuar como prooxidante bajo ciertas condiciones, lo que ha causado mucha controversia, al respecto, la reducción por el ascorbato de los metales de transición por el hierro o el cobre podrían tener efectos adversos al producir radicales hidroxilo o alcóxilo en la reducción del peróxido de hidrógeno y de hidroperóxidos lipídicos respectivamente y aunque esta reacción de Fenton ocurre fácilmente *in vitro*, al parecer *in vivo* es poco probable ya que la disponibilidad de iones metálicos de forma libre se considera muy baja debido a que se encuentran unidos a proteínas como la ferritina, transferrina y ceruloplasmina. Para tratar de verificar si está misma acción prooxidante sucede *in vivo*, se han realizado experimentos donde se suplementó hierro en combinación con ácido ascórbico y no se observó ningún efecto prooxidante, datos que corroboraron Carr y Frei al realizar un estudio de revisión, donde compilaron evidencia científica de la protección de la vitamina C sobre los lípidos con y sin suplementar hierro.⁷⁸ Por otro lado, Podmore en 1998 reportó un aumento en el daño oxidativo al ADN y que podría ser potencialmente mutagénico, después de suplementar con 500 mg de vitamina C durante 6 semanas a un grupo de sujetos sanos, sin embargo se ha considerado que el diseño experimental propuesto por este autor no fue el correcto y que sus conclusiones no son validas, ya que se encontraron inconsistencias en los datos reportados sobre la oxidación al ADN *in vivo*, por los mismos autores en un estudio posterior.⁷¹

En el caso de la vitamina E, se ha reportado que *in vitro* puede actuar como pro-oxidante e incrementar la lipoperoxidación y el daño al ADN en cultivos celulares, el mecanismo bioquímico que se plantea es la formación de un radical de α -tocoferol el cual requiere de otro antioxidante como la vitamina C o la coenzima Q para ser regenerado, si esto no sucede aumenta la oxidación por un proceso llamado peroxidación mediada por tocoferol (TMP) que produce peróxido de hidrógeno.

In vivo se ha reportado que una concentración de 1050 mg por día de α -tocoferol incrementa la susceptibilidad de oxidación en los eritrocitos humanos, en contraste con los eritrocitos de pacientes a los que se le suplementó con 560 mg o menos en donde disminuyó. Así mismo, el reporte más importante fue en 2005, en el cual en un meta análisis se demostró que el consumo de 400UI por día por más de un año en pacientes adultos con un rango de edad entre 47 y 84 años, estaba asociado a un aumento en la mortalidad, encontrando un riesgo relativo de 1.06 con un intervalo de confianza de 95% de 1.01 al 1.11, con este resultado los autores causaron una gran controversia sobre la utilidad de la vitamina E.⁷²

IV.4 EJERCICIO FÍSICO

A lo largo de los años se han empleado muchas estrategias para mejorar los niveles de antioxidantes endógenos tales como la restricción dietética, suplementos antioxidantes dietéticos y el uso de fármacos antioxidantes. Finkel y Holbrook proponen que la mejor estrategia para mejorar los niveles de antioxidantes endógenos puede ser en realidad el EOx en sí mismo, basado en el concepto fisiológico clásico de hormesis. La Hormesis es un término farmacológico que significa que bajas dosis de toxinas pueden aumentar la tolerancia del cuerpo a una mayor toxicidad.⁷³

El ejercicio físico (EF) es una subcategoría de la actividad física, que al ser planificada, estructurada y repetida mantiene o mejora las funciones del organismo. El deporte es el ejercicio físico realizado bajo unas reglas y de forma competitiva.⁷⁴

El EF es aceptado mayoritariamente como factor preventivo para ciertas enfermedades y como potenciador de una mejor calidad y mayor expectativa de vida.⁷⁴ Reduce el riesgo de desarrollar enfermedad coronaria o la muerte por esta, de diabetes mellitus tipo 2, obesidad, hipertensión arterial y distintos tipos de cáncer. Todos estos beneficios aparecen en un nivel moderado de

actividad y están relacionados directamente con la cantidad de ejercicio realizado, lo cual permite hacer un balance entre intensidad y duración del EF.⁷⁵

El EF implica todo el cuerpo en términos de metabolismo de energía, movilización y acción hormonal, proceso de transducción de señales, respuestas inmunológicas y adaptaciones.

Las especies reactivas de Nitrógeno y Oxígeno generadas durante el ejercicio pueden causar EOX y daño al músculo esquelético, el corazón y otros órganos, pero existen investigaciones que demuestran que estas especies reactivas pueden servir como agentes químicos para mantener el entorno celular, y la transferencia de mensajes a los componentes celulares para la realización de las funciones fisiológicas, tales como la contracción, la bioenergética, el crecimiento, la proliferación y la adaptación.⁷⁴

IV.5.1 Ejercicio físico y estrés oxidativo

El EF regular tiene una gran cantidad de efectos benéficos, mientras que el EF agotador en sujetos no entrenados, puede generar EOX, favoreciendo el desequilibrio entre agentes prooxidantes y antioxidantes. De la misma forma la combinación de entrenamiento inadecuado (de alta intensidad, de alto impacto, de tiempo de recuperación bajo) y el envejecimiento pueden llevar al fracaso de los antioxidantes endógenos para adaptarse a la exposición aguda o crónica al EOX.⁷⁶

Algunos estudios han demostrado que se da un incremento en el contenido de pentano (producto de lipoperoxidación) en aire expirado;⁷⁷ así como un incremento en la peroxidación lipídica tras la realización de ejercicio tanto aeróbico, como anaeróbico.^{78-79, 105}

Así mismo, el ejercicio exhaustivo está asociado con la generación acelerada de EROS que se traduce en EOx, el cual puede inducir efectos adversos en la salud y el bienestar. Incluso el ejercicio moderado puede aumentar la producción de EROS superior a la capacidad de las defensas antioxidantes.⁸⁰⁻⁸¹

Durante el metabolismo oxidativo, la mayor parte del oxígeno consumido se une al hidrógeno durante la fosforilación oxidativa, formando agua. Sin embargo, se ha estimado que del 4-5% del oxígeno consumido durante la respiración no es totalmente reducido a agua, por lo que tiene lugar la formación de RL. Así, a medida que aumenta el consumo de oxígeno durante el ejercicio, se produce un aumento correspondiente de RL y del daño celular oxidativo.⁸²

Algunos de los postulados por los cuales se cree que el ejercicio puede generar RL son: I) Aumento en la epinefrina y otras catecolaminas que pueden producir RL cuando son metabólicamente inactivadas, II) Producción de ácido láctico que puede convertir un daño leve por el radical superóxido a un daño fuerte por el radical hidroxilo, III) respuesta inflamatoria a un daño secundario en el músculo ocasionado por sobreesfuerzo.⁸³

Las EROS pueden ser producidas durante el ejercicio de varias fuentes celulares potenciales. Algunas fuentes pueden ser más importantes que otras en cierto órgano, en determinado tiempo, o con un modo específico de ejercicio. Sin embargo, estas fuentes no son mutuamente excluyentes y pueden ser activadas simultáneamente.⁸³

Se ha señalado que los eritrocitos son susceptibles al daño oxidativo como resultado del alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados de la membrana y a las altas concentraciones celulares de oxígeno y hemoglobina, un promotor potencialmente poderoso de los procesos

oxidativos. Los eritrocitos están expuestos a los EROS generados constantemente tanto por fuentes internas como externas. Sin embargo, los eritrocitos, así como todo el cuerpo, contienen un elaborado sistema de defensa antioxidante que incluyen enzimas antioxidantes como la catalasa, SOD y GPx, y antioxidantes no enzimáticos como los tocoferoles, ascorbato, ácido úrico y el glutatión.⁸²

Por otro lado, la premisa de que el ejercicio incrementa la producción mitocondrial de EROS se encuentra en gran medida en el hecho bien conocido que el tejido y el cuerpo entero incrementa el consumo de oxígeno de manera espectacular durante el ejercicio extenuante. Durante el ejercicio, el consumo de oxígeno (VO_2) por todo el cuerpo incrementa hasta 20 veces, mientras que VO_2 a nivel de fibra muscular se estima que se eleva aproximadamente 100 veces. A menudo se asume que el porcentaje de O_2 a convertirse en superóxido sigue siendo el mismo, por lo tanto, la producción de EROS aumentará proporcionalmente.⁸⁴

La hipótesis de que las mitocondrias son el sitio principal de la generación de EROS durante el ejercicio ha sido apoyada por datos indirectos sobre todo mostrando el daño oxidativo mitocondrial. La peroxidación lipídica mitocondrial es mayor después del ejercicio, acompañado por la pérdida del contenido de proteínas tiol e inactivación de las enzimas oxidativas. Además, tanto las mitocondrias del músculo y el corazón de animales sometidos a ejercicio exhaustivo demuestran menor acoplamiento y disminución del estado redox de GSH.⁸⁵

Sin embargo, otros estudios han demostrado que el ejercicio puede causar EOX solo cuando es exhaustivo, ya que también existe evidencia de que el ejercicio moderado mejora la salud física al aumentar la capacidad de respuesta ante los RL, por medio del mecanismo de hormesis. De acuerdo con esta propuesta, un óptimo nivel de EF conduce a un estado saludable, mientras una cantidad reducida o una exagerada resultan en una deficiente

defensa o en un estado de daño oxidativo e inflamación respectivamente y ambos casos podrían promover mala salud o el desarrollo de enfermedades.¹¹⁷⁻¹¹⁹

Se ha señalado que la mejor opción para obtener un efecto positivo en términos de incrementar la respuesta antioxidante es la realización de ejercicio moderado con regularidad. En este sentido, de entre las modalidades de ejercicio moderado, el Tai Chi es una actividad ampliamente recomendada a los ancianos.

IV.5.2 TAI-CHI

El Tai-Chi comenzó como una forma de arte marcial chino que se ha practicado desde hace siglos, el cual combina la respiración diafragmática profunda y la relajación con muchas posturas que se suceden de manera imperceptibles a través de movimientos armoniosos, lentos y suaves. Durante su desarrollo el Tai-Chi ha ido evolucionando en estilos diferentes entre los que se incluyen el Chen, Wu, Sun y Yang.⁸⁶

El Tai-Chi es un ejercicio de total auto-desarrollo, ya que para el cuerpo se considera como ejercicio, para la mente se trata de un estudio de la concentración y para el alma un sistema de meditación espiritual.⁸⁷

Se ha recomendado la práctica del Tai-Chi para el desarrollo de la interacción cuerpo-mente, la armonización de la respiración con el movimiento del cuerpo, la coordinación de las manos y los ojos y la relajación. Además se menciona que la práctica del Tai-Chi es beneficiosa para favorecer la memoria, la concentración, la digestión, el equilibrio y la flexibilidad. También se cree que mejora condiciones psicológicas tales como la ansiedad y la depresión asociados al envejecimiento y a la inactividad.⁸⁶

El Tai-Chi tiene efectos positivos sobre el dolor, la función física y la calidad de vida de las poblaciones con enfermedades crónico degenerativas (Cuadro IV.4.2).⁸⁸ Sin embargo, sus posibles efectos sobre el sistema antioxidante han sido ignorados. En un estudio con mujeres premenopáusicas y posmenopáusicas después de 8 semanas con entrenamiento de Tai-Chi se encontró un incremento en la actividad eritrocitaria de GPx además de una reducción en las concentraciones de homocisteína.⁸⁹

Diversos estudios señalan que el Tai-Chi tiene la capacidad de mejorar el bienestar psicológico, aunque no se tiene claro si los efectos positivos del Tai-Chi se deben exclusivamente a la relajación y meditación o si son la consecuencia de varios factores periféricos, ya que es bien sabido que existe una reducción del estrés cuando nos sometemos a actividades satisfactorias y placenteras, por tal motivo y debido a que no existe información concluyente con respecto a los beneficios sobre el estrés oxidativo del Tai Chi y de las vitaminas antioxidantes se llevó a cabo la presente investigación.⁹⁰

Cuadro IV.4.1 Estudios relativos a la actividad antioxidante de la vitamina C y E.

Autor-año	Universo de estudio	Objetivos	Cantidad y tiempo de vitaminas administradas	Marcadores medidos	Hallazgos
Mol, <i>et al.</i> 1997 ⁶⁹	14 controles, 12 fumadores y 11 diabéticos	Evaluar el efecto de la vitamina E en la oxidación de lípidos	Vitamina E(600 IU/día) por 4 semanas.	LPO por TBARS	Disminución significativa en los grupos de fumadores y DM después del tratamiento. No hay diferencia en el grupo control.
Anderson, <i>et al.</i> 1997 ⁹¹	48 no fumadores	Evaluar el efecto de la suplementación de vitamina C sobre biomarcadores de EROS	Placebo (60 mg Vit C/día) Vitamina C 6 g/día. Cada tratamiento por 14 días por un periodo de 6 semanas.	CAT, LPO por TBARS y daño a ADN	Incremento estadísticamente significativo en la concentración de vitamina C y de CAT, no hay disminución en cuanto a niveles de LPO y no hay diferencias en cuanto a las dosis de vitamina C.
Lee, <i>et al.</i> 1998 ⁶⁸	15 no fumadores 5 fumadores	Evaluar el efecto quimiopreventivo de antioxidantes sobre el daño oxidativo al ADN	Se formaron 5 grupos: A: Placebo, B: 200 UI Vitamina E, C: 9 mg de β-caroteno, D: 500 mg de vitamina C, E: 1.8 g de ginseng rojo. Dosis diarias por 4 semanas.	Daño a ADN mediante 8-OHdG	Disminución estadísticamente significativa en la concentración de 8-OHdG
Jenkinson, <i>et al.</i> 1999 ⁹²	21 hombres sanos	Evaluar el efecto del incremento en el consumo de ácidos grasos poliinsaturados(PUFA) y vitamina E en el daño al ADN	Se dividió a la población en 2 grupos: A. Dieta con 5% de PUFA por 4 semanas, 10 semanas de lavado y dieta con 15% de PUFA por 4 semanas. B. Dieta con 5% de PUFA por 4 semanas, 10 semanas de lavado y dieta con 15% de PUFA por 4 semanas y 80 mg vitamina E/día.	Daño a ADN inducido por H ₂ O ₂ en linfocitos.	El incremento en el consumo de PUFA tiene efectos negativos en la estabilidad del ADN, pero la vitamina E puede disminuir estos daños.

Continuación

Brennan, <i>et al.</i> 2000 ⁹³	14 pacientes sanos (7 hombres y 7 mujeres).	Evaluar el efecto protector de la suplementación con vitamina C y vitamina E sobre el daño al ADN inducido por H ₂ O ₂ en linfocitos.	Se formaron 2 grupos: A: 1000 mg/día de vitamina C y placebo de vitamina E, B: 800 mg/día de vitamina E y placebo de vitamina C. Dosis diarias por 42 días.	Daño a ADN inducido por H ₂ O ₂	Disminución significativa en el daño al ADN inducido por H ₂ O ₂ en linfocitos.
Jacobson, <i>et al.</i> 2000 ⁹⁴	63 pacientes fumadores	Evaluar la eficacia de las vitaminas antioxidantes como quimioprotectoras.	Se formaron 2 grupos: A. Placebo B. 250 mg de vitamina C, 200 UI vitamina E y 6 mg de β-carotenos. Dosis diarias por 6 meses.	Aductos de DNA-hidrocarburos policíclicos aromáticos y 8OHdG.	No se observó una disminución estadísticamente significativa en el daño al ADN.
McArdle <i>et al.</i> , 2004 ⁹⁵	16 sujetos sanos	Evaluar la capacidad de la vitamina E y el β-caroteno para reducir los marcadores de EOX en piel humana expuesta a rayos UV.	Se dividió en dos grupos. A. 8 sujetos 400 UI vitamina E/día B. 8 sujetos β-caroteno/día. 8 semanas	Malondialdehído, GPx, concentración de vitamina E y β-caroteno	Disminución en la concentración de malondialdehído e incremento en concentración de antioxidantes, pero la suplementación no tiene efecto fotoprotector.
Meertens, <i>et al.</i> 2008 ⁹⁶	61 adultos mayores	Relacionar concentraciones séricas de colesterol total, sus fracciones, triglicéridos y vitamina E y C.	Las consumidas en la dieta. 3 meses	Triglicéridos, colesterol total, HDL, LDL, vitamina E y vitamina C	No hay asociación entre variables, existe una correlación significativa y positiva entre triglicéridos, colesterol total, LDL y vitamina E.

Cuadro IV.4.2 Estudios relativos a la actividad benéfica del Tai-Chi

Autor-año	Universo de estudio	Objetivos	Frecuencia y tiempo de intervención	Marcadores medidos	Hallazgos
Audette, et al. 2006 ⁹⁷	27 adultas mayores	Comparar los efectos del Tai Chi contra caminata sobre la capacidad aeróbica, variabilidad del ritmo cardíaco, fuerza, flexibilidad, estado psicológico y calidad de vida.	Se dividieron en 3 grupos: A. TC B. Caminata a paso ligero C. Control Una hora tres veces por semana durante 12 semanas.	VO ₂ máx, variabilidad del ritmo cardíaco (de alta y baja frecuencia), extensión de la rodilla, fuerza muscular, tiempo de estancia en una sola pierna y estado de ansiedad.	Aumento significativo en la fuerza de extremidades inferiores, equilibrio flexibilidad y VO ₂ más en el grupo de TC.
Palasuwan et al. 2011 ⁸⁹	8 mujeres Premenopausicas 7 mujeres postmenopausicas	Evaluar el efecto del Tai Chi sobre CAT y riesgos cardiovasculares.	Se dividieron en 2 grupos: A. Premenopausicas B. Postmenopausicas 2 sesiones de clase, 2 sesiones en el hogar, de 1h por 8 semanas.	CAT, LPO, concentración total de homocisteína, GPx, SOD.	Incremento estadísticamente significativo en la actividad de GPx y de la CAT y una disminución en la concentración de homocisteína.
Jin P. 2002 ⁹⁸	48 hombres 48 mujeres	Evaluar la eficacia en la recuperación post-estrés del TC	Se dividieron en 4 grupos: A. Tai-Chi B. Caminata C. Meditación D. Lectura neutral 1h diarias	Cortisol salival, tensión arterial, frecuencia cardíaca, catecolaminas en orina.	Disminución estadísticamente significativa en los niveles de cortisol, mejora del estado de ánimo. No hay diferencia en los demás marcadores con respecto a la caminata.
Irwin et al. 2003 ¹¹¹	36 adultos mayores	Evaluar el efecto del Tai-Chi en la inmunidad específica a Varicela Zoster.	Se dividieron en dos grupos: A. Tai-Chi B. Controles 3 clases de 45 min por semana por 15 semanas.	Inmunidad específica de varicela zoster.	Incremento en la inmunidad mediada por células y una menor incidencia a presentar Herpes Soster en los sujetos que practicaron Tai Chi.

Continuación

Lu et al. 2003 ¹¹²	40 adultos mayores	Evaluar el efecto del Tai Chi en la modulación del sistema nervioso autónomo en adultos mayores.	Se dividieron en dos grupos: A. Tai Chi B. Controles	Variabilidad de frecuencia cardíaca, Onda R	Incremento de la modulación simpática en adultos mayores.
Young et al. 1999 ¹¹³	62 adultos mayores	Comparar los efectos del ejercicio aeróbico y Tai Chi en la presión sanguínea en adultos mayores.	Se dividieron en dos grupos: A. Ejercicio aeróbico B. Tai Chi	Índice de masa corporal, capacidad aeróbica máxima, presión sistólica, presión diastólica.	El ejercicio aeróbico moderado y el Tai Chi tienen efectos similares en la presión sanguínea.
Mustian et al. 2005 ¹¹⁴	21 mujeres sobrevivientes de cáncer de mama	Comparar la eficacia de la terapia de Tai Chi contra terapia psicosocial para mejorar la capacidad funcional en los sobrevivientes de cáncer de mama.	Se dividieron en dos grupos: A. Tai Chi B. Terapia psicosocial	Fuerza muscular, flexibilidad, capacidad aeróbica.	El grupo de Tai Chi mejora significativamente la capacidad funcional (flexibilidad, fuerza muscular y capacidad aeróbica), la terapia psicosocial mejora solo la flexibilidad.

V. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El EOx es un desequilibrio bioquímico asociado con enfermedades y con el proceso de envejecimiento, se ha sugerido que algunas alternativas para controlarlo pueden ser el ejercicio físico moderado o las vitaminas antioxidantes como la vitamina C y la E.

Respecto al ejercicio físico moderado regular, se reporta que provoca una respuesta adaptativa que mejora la capacidad de la defensa antioxidante, evitando de esta manera que se altere la homeostasis entre los sistemas oxidantes y antioxidantes.

Por otra parte los suplementos vitamínicos como la vitamina C y E juegan un papel importante, ya que al ser antioxidantes exógenos actúan de manera sinérgica en la regulación del sistema antioxidante endógeno y disminuyen el daño producido por EROS.

Sin embargo dada la inconsistencia de los resultados y la falta de estudios en la población anciana, que además es más susceptible al EOx, nos planteamos la siguiente pregunta de investigación:

¿Cuál es la mejor alternativa para el control del estrés oxidativo, el ejercicio físico (Tai-Chi) o la administración de una combinación de vitamina E y C?

VI. HIPÓTESIS

De acuerdo con la información teórica respecto al efecto antioxidante inducido como respuesta adaptativa del ejercicio físico moderado (Tai Chi) y dada la inconsistencia en los resultados del efecto de las vitaminas suponemos que el ejercicio físico moderado tendrá mayor efectividad en el control del estrés oxidativo en comparación con las vitaminas en un grupo de ancianos.

VII. OBJETIVO

Determinar el efecto antioxidante del Tai Chi en comparación con la administración crónica de vitaminas antioxidantes C y E en adultos mayores.

VIII. MATERIAL Y MÉTODOS

VIII.1 Tipo de estudio

Se llevó a cabo un estudio cuasi-experimental.

VIII.2 Universo de estudio

Muestra a conveniencia de 64 adultos mayores con edad promedio de 65 años, los cuales fueron divididos en los siguientes grupos: (i) control n=18, (ii) práctica de Tai Chi (una sesión de 1 hora, 5 veces a la semana) n= 22, y (iii) consumo de vitaminas (1000 mg de Vitamina C y 400 UI Vitamina E) n= 24, bajo los siguientes criterios de inclusión y exclusión:

VIII.2.1 Criterios de inclusión y exclusión

- Edad de 60 años y más
- Sanos o con enfermedades crónicas controladas (glucosa en sangre <160 mg/dL; presión arterial sistólica <160/ diastólica <100 mm/Hg).
- No realizar ejercicio físico en forma periodica.
- Sin ingesta de vitaminas antioxidantes en los últimos 6 meses.
- Sin ingesta de hormonas sexuales de remplazo en los últimos 6 meses.

VIII.2.2 Criterios de eliminación

- Grupo de Tai Chi: personas que abandonen el programa de ejercicio físico, consuman vitaminas antioxidantes u hormonas sexuales de remplazo.

- Grupo de vitaminas: presencia de reacciones adversas a las vitaminas antioxidantes, participen en un programa de ejercicio físico o consuman hormonas sexuales de remplazo.
- Grupo control: personas que participen en un programa de ejercicio físico o consuman vitaminas antioxidantes u hormonas sexuales de remplazo.

VIII.3 Variables

VIII.3.1 Clasificación de variables

Variable Independiente

- Tratamiento
 - Ejercicio físico moderado (Tai Chi)
 - Suplementación vitamínica (Vitamina C y E)
 - Ningún tratamiento, grupo control

Variable Dependiente

Estrés Oxidativo, medido a través de:

- La concentración de lipoperóxidos
- La capacidad antioxidante total (CAT)

La actividad de las enzimas antioxidantes:

- Superóxido dismutasa (SOD)
- Glutation peroxidasa (GPx)

Concentración plasmática de:

- Vitaminas E y C

VIII.3.2 Operacionalización de las variables

Variables	Definición	Nivel de Medición	Categoría
Estrés Oxidativo	Desequilibrio bioquímico entre radicales libres y antioxidantes. Medido a través de la lipoperoxidación y los sistemas antioxidantes (SOD, GPX y CAT)	Cuantitativa continua para cada determinación. Cualitativa Ordinal	LPO $\mu\text{mol/L}$ CAT mmol/L SOD U/mL GPx U/L Sin EOx EOx leve EOx moderado EOx Severo
Lipoperoxidación	Concentración de lipoperóxidos plasmáticos	Cuantitativa continua Cuantitativa nominal	$\mu\text{mol/L}$ Alto(>0.340 $\mu\text{mol/L}$) Normal(≤ 0.339 $\mu\text{mol/L}$)
Capacidad antioxidante total	Capacidad antioxidante del plasma	Cuantitativa continua Cuantitativa nominal	mmol/L Normal(>0.91) Bajo(≤ 0.90)
Actividad de SOD	Actividad enzimática de SOD	Cuantitativa continua Cuantitativa nominal	U/mL Normal (171 U/mL) Bajo(≤ 170 U/mL)
Actividad de GPx	Actividad enzimática de GPx	Cuantitativa continua Cuantitativa nominal	U/L Normal(>5501) Bajo(≤ 5500)

Edad	Tiempo de vida desde el nacimiento al momento del inicio del estudio que refiere el sujeto.	Cuantitativa continua	Años cumplidos
Ejercicio Físico	Realización de una actividad física específica programada y periódica con movimientos corporales estructurados y repetitivos	Cualitativa nominal	Positivo, negativo
Suplementación antioxidante	Consumo de vitaminas antioxidantes (1000 mg de vitamina C y 400 UI de vitamina E)	Cualitativa nominal	Positivo, negativo

VIII.4 TÉCNICAS

VIII.4.1 Parámetros Bioquímicos

A los sujetos participantes del estudio se les tomaron muestras sanguíneas por venopunción, las cuales fueron obtenidas entre las 7:00 y 9:00 hrs am con ayuno previo de 8 hrs, en tubos al vacío; sin anticoagulante para las determinaciones bioquímicas, con EDTA disódico para la biometría hemática y con heparina para las pruebas de EOX.

Se cuantificó el EOX a través de las técnicas de peroxidación lipídica, capacidad antioxidante total y actividad de las enzimas antioxidantes, superóxido dismutasa (SOD) y glutatión peroxidasa (GPx).

Pruebas Bioquímicas de Rutina

La biometría hemática se realizó en un equipo automatizado Celly 70. Los parámetros bioquímicos de rutina se determinaron en suero por métodos colorimétricos con reactivos comerciales en un equipo automatizado Selectra Jr.

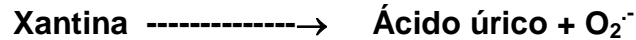
- **Glucosa.** Se empleó el estuche comercial para la determinación de glucosa (método de la glucosa-oxidasa, Randox GL 2614). La glucosa se determina colorimétricamente después de una oxidación enzimática en presencia de glucosa oxidasa. Tanto la muestra como el patrón se mezclan e incuban durante 10 min. A 15-25°C y se lee la absorbancia a 500nm frente a blanco de reactivo.
- **Colesterol.** Se utilizó el estuche comercial para la determinación de colesterol (método enzimático de punto final) CHOD-PAP (Randox Laboratories Ltd; UK, CH 201). El colesterol se determina colorimétricamente después de hidrólisis enzimática y oxidación. El blanco, patrón y muestra se agitan e incuban con el reactivo de color 10 min. de 20 a 25°C o 5 min a 37°C, y se mide la absorbancia a 546 nm antes de 60 min.
- **Triglicéridos.** Se manejó el estuche comercial para la determinación de triglicéridos Randox GPO-PAP (Randox Laboratories Ltd, UK, TR212): Los triglicéridos se determinan tras la hidrólisis enzimática con lipasas. El blanco, patrón y muestra se agitan e incuban con el reactivo de color de 10 a 15 min. a 20-25°C o 5 min. a 37°C, y se mide la absorbancia a 500 nm antes de 60 min.
- **HDL-Colesterol.** Se empleó el reactivo precipitante-colesterol catálogo Ch204 (paquete suplementario para colesterol CHOD-PAP) (Randox Laboratories Ltd, UK). La determinación se fundamenta en que las lipoproteínas de baja densidad (LDL), muy baja densidad (VLDL) y las fracciones de quilomicrones se precipitan cuantitativamente al añadir ácido fosfotúngstico en presencia de Mg^{2+} , se toma el sobrenadante y de éste se determina la fracción de HDL posteriormente por el método enzimático de punto final para colesterol total.

- **Urea.** Se empleó el estuche comercial para la determinación de urea (Randox Laboratories Ltd, UK UR107). El método utilizado es ureasa-Berthelot modificado. Iones amonio producidos por acción enzimática reaccionan con salicilato e hipoclorito sódico para formar un complejo verde que se lee a 6'00nm. Las muestras y el patrón se mezclan con ureasa por 5 min. A 25°C y posteriormente con hipoclorito sódico, se leen contra el blanco de reactivo tras incubar 10 min.
- **Ácido úrico.** Se empleó el estuche comercial para la determinación de ácido úrico. Método enzimático colorimétrico (Randox Laboratories Ltd, UK, UA 230). El ácido úrico se convierte, catalizado por uricasa en alantoína y peróxido de hidrógeno, el cual a su vez reacciona con el reactivo de color para producir un compuesto de quinoneimina rojo violeta que se lee a 520 nm. La muestra y el patrón se mezclan e incuban con el reactivo de color durante 15 min. A 25°C y se mide la absorbancia frente al blanco de reactivo.
- **Creatinina.** Se empleó el estuche comercial para la determinación de creatinina método colorimétrico (Randox Laboratories Ltd, UK, CR510). La creatinina en solución alcalina reacciona con ácido pícrico para formar un complejo coloreado, en cantidad proporcional a la concentración de creatinina. Las muestras y el patrón se mezclan con el reactivo de color y se lee la absorbancia A_1 al cabo de 30 segundos y exactamente después de 2 min. Se lee la absorbancia A_2 , se obtiene la diferencia y se calcula comparando con el estándar.

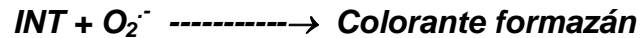
Evaluación de la actividad de las enzimas antioxidantes

- **Superóxido dismutasa (SOD)** se empleó el equipo comercial Ransod (Randox Laboratorios Ltd, UK):

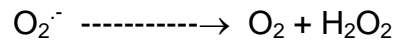
Fundamento: La técnica se basa en la reacción entre la xantina y la xantina oxidasa para generar radicales superóxido (O_2^-)



Los radicales superóxido generados, reaccionan con sales de p-iodonitrotetrazolio (INT) para producir el colorante rojo formazán.



La SOD presente en las muestras compete con el INT por los radicales superóxido y por tanto inhibe la producción del colorante formazán.



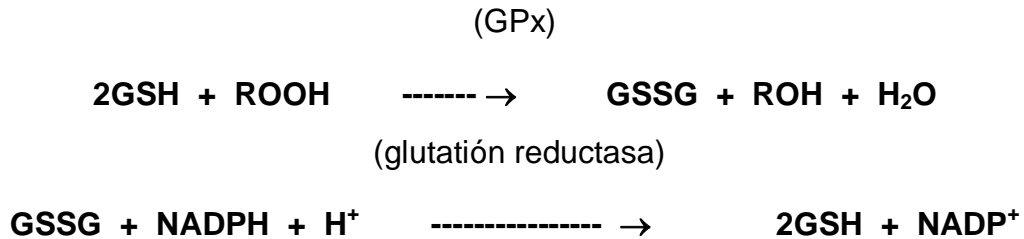
La SOD se mide por el grado de inhibición de la formación del colorante formazán, a 505 nm.

Procedimiento: Se tomaron 0.050 mL de sangre total y se lavaron los eritrocitos 3 veces con 3 mL de solución de NaCl al 0.9 %, centrifugando durante 10 min. a 3000 rpm en cada lavado. Al botón de eritrocitos lavados se adicionaron 2 mL de agua bidestilada fría, se mezcló y dejó reposar durante 15 min a 4 °C. Del lisado se tomaron 0.100 mL y se diluyeron con 1.9 mL de tampón de fosfato 0.01 mmol/L pH 7.0.

Para el ensayo se pipetearon 0.050 mL de muestra diluida y se adicionaron 1.7 mL de sustrato mixto (xantina 0.05 mmol/L, I:N:T: 0.025 mmol/L), después de mezclar se agregaron 0.25 mL de xantin oxidasa (0.94 mmol/L). Se mezcló y se registró la absorbancia A1 al cabo de 30 segundos y se empezó a cronometrar el tiempo simultáneamente para leer la absorbancia final A2 al cabo de 3 min frente al blanco de agua a una longitud de onda de 505 nm.

- **Glutathion peroxidasa (GPx)** se empleó el equipo comercial Ransel (Randox Laboratorios Ltd, UK):

Fundamento: La cuantificación de esta enzima se basa en el método desarrollado por Paglia y Valentine ¹²⁰ con base en la siguiente reacción:



GSH = Glutathion reducido ROOH = hidroperóxido Gpx = Glutathion peroxidasa GSSG = glutathion oxidado

La concentración de GPx se evalúa por la disminución en absorción a 340 nm, debida a la oxidación de NADPH a NADP⁺.

Procedimiento: Se diluyeron 0.05 mL de sangre entera heparinizada en 1 mL de solución diluyente (proporcionada por Randox), se incubó 5 min. Para posteriormente añadir 1 mL de reactivo de Drabkin a doble concentración. Las muestras se analizaron en los siguientes 20 min.

Para el ensayo, se colocaron 0.02 mL de muestra diluida, 1 mL de reactivo de trabajo (glutathion 4 mmol/L, glutathion reductasa ≥ 0.5 U/L y NADPH 0.34 mmol/L) y 0.04 mL de cumeno (hidroperóxido de cumeno 0.18 mmol/L). Se mezcló y leyó la absorbancia inicial al cabo de 1 min. y se empezó a cronometrar simultáneamente para leer de nuevo al cabo de 1 y 2 min. La cinética de esta reacción se lee a 340 nm.

- **Peroxidación lipídica por el método del ácido tiobarbitúrico (TBA)**

Fundamento: La prueba del ácido tiobarbitúrico (TBA) es el ensayo más usado para la medición de la lipoperoxidación. Durante la prueba, la muestra es tratada con TBA a pH bajo; en la reacción del TBA, una molécula de malondialdehído (MDA) reacciona con dos moléculas de TBA con la producción de un pigmento rosa cuya absorción máxima es a los 532-535 nm.

Procedimiento: Se utilizó el método de Jentzsch (1996).ref Se recolectó sangre total en tubos con anticoagulante, heparina o EDTA, se centrifugó inmediatamente la sangre 10 min. A 3000 rpm para obtener el plasma al cual se le adicionan 10 μ L de butiril-hidroxitolueno (BHT) 2mM por mL de sangre, para evitar la auto-oxidación de las muestras. Se colocaron 400 μ L de plasma con 50 μ L de BHT (12.6 mmol/L) y 400 μ L de ácido ortofosfórico (0.2 M) se agitó en vortex 10 segundos y posteriormente se adicionaron 50 μ L de TBA (0.11 mol/L), se agita en vortex por 10 segundos. Esta mezcla se incubó por 45 min a 90°C en un baño de agua, pasado este tiempo se colocaron los tubos en hielo por 5 min. para detener la reacción.

Posteriormente se adicionaron 1000 μ L de butanol en cada tubo y 100 μ L de solución salina saturada, se agitó vigorosamente por 30 segundos, se centrifugó a 5000 rpm 1 min., se pasó la fase de butanol a una celda y se midió la absorbancia a 535 nm y 572 nm.

La concentración de ácido tiobarbitúrico que reacciona se calcula por medio de una curva estándar de MDA, obtenida a partir del estándar de 1,1,3,3-Tetrametoxipropano (TMP).

Preparación de la curva estándar:

Preparar las siguientes soluciones:

- 1.- TMP 1 mM. - Diluir 17 μ L de TMP en 100 mL de agua bidestilada.

2.- TMP 0.2 mM.- Tomar un ml de TMP 1mM y añadir 4 mL de agua bidestilada, se prepara cada vez que se usa.

3.- Preparar 8 tubos con diferentes concentraciones de TMP, como se describe a continuación:

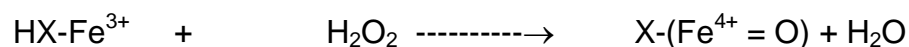
Tubo	TMP (µL)	H ₂ O (mL)	MDA(µmol/L)
1	0	1.000	0
2	5	0.995	0.2
3	10	0.990	0.4
4	20	0.980	0.8
5	30	0.970	1.2
6	50	0.950	2.0
7	70	0.930	2.8
8	100	0.900	4.0

4.- A cada uno de los tubos de la curva se les da el mismo tratamiento que a la muestra.

- **Capacidad Antioxidante Total**

Análisis del estado de los antioxidantes totales: Se empleó el equipo comercial (Total antioxidant status, Randox Laboratorios Ltd, UK).

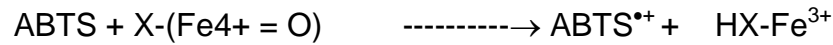
Fundamento: Se trata de una prueba en donde se combinan la peroxidasa (metamioglobina) con peróxido de hidrógeno y ABTS (2,2'- azido-di-etilbenzotiazolin sulfanato) para dar como resultado la formación del radical catión ABTS+. Este radical presenta una coloración verde-azulada, la presencia de antioxidantes en la muestra produce una supresión de esta coloración siendo ésta proporcional a la concentración de antioxidantes. La cinética de la reacción se mide a 600 nm.



metamioglobina

Peróxido de hidrógeno

ferrilmioglobina



radical verde-azulado

Procedimiento: Se pipetearon 0.02 mL de plasma y se adicionó 1 mL de cromógeno, después de mezclar se prosiguió a la lectura de la absorbancia inicial A1, después de esto se adicionaron 0.200 mL de sustrato, se empezó a cronometrar para leer la absorbancia A2 al cabo de exactamente 3 min las lecturas se realizaron a 600 nm.

- **Brecha antioxidante (GAP)**

Se calculó a partir de la CAT en $\mu\text{mol/L}$, las concentraciones de albúmina y ácido úrico en las mismas unidades y los valores de CAT en equivalente en Trolox (TEAC) para albúmina y ácido úrico, con base en la siguiente fórmula:

$$\text{GAP antioxidante} = \text{CAT} - [(\text{albúmina} \times \text{TEAC}) + (\text{ác. Úrico} \times \text{TEAC})]$$

El TEAC para albúmina es 0.69 y para ácido úrico es 1.0

Para determinar la existencia de alteraciones en los parámetros y determinar la existencia de EOx se manejaron como valores de corte los siguientes, obtenidos de una población de adultos jóvenes de Actopan, Hgo.

Lipoperóxidos (LPO, $\mu\text{mol/L}$)	≥ 0.340
Superóxido dismutasa (SOD, U/mL)	≤ 170
Glutatión peroxidasa (GPx, U/L)	≤ 5500
Razón SOD/GPx	≥ 23
Capacidad Antioxidante Total (CAT, mmol/L)	≤ 0.90
Brecha antioxidante (GAP, $\mu\text{mol/L}$)	≤ 190

Para determinar si los sujetos presentan EOx, se obtiene un índice, el cual se calculó al dicotomizar cada uno de los parámetros determinados, dando el valor de 1 cuando las concentraciones estaban por arriba (en el caso de lipoperóxidos y la razón SOD/GPx) o por debajo (todos los demás parámetros) del valor de corte. Así, por ejemplo un sujeto con todos los parámetros alterados tiene un índice igual a 6 y EOx severo.

Para evaluar grados de EOx se genera una escala:

Índice: 0 Sin EOx

Índice: 1-2 EOx leve

Índice: 3-4 EOx moderado

Índice: 5-6 EOx severo

Evaluación de Vitaminas Antioxidantes

- **Determinación de α -tocoferol**

Se tomó una muestra de sangre por venopunción en un tubo con anticoagulante EDTA, centrifugando 7 minutos a una velocidad de 2500 rpm, se separó el plasma y se tomó una alícuota de 0.3 mL y se colocó en un tubo Eppendorf, se adicionaron 0.3 mL de etanol y 0.005 mL de estándar interno, se tapó y agitó durante 5 segundos en vórtex. Se adicionaron 0.6 mL de hexano, se tapó y agitó en vórtex durante 45 segundos. Centrifugar por 5 minutos a 1500 rpm. Se extrajo la mayor cantidad de hexano posible y se depositó en un Eppendorf.

Se transfirió 0.5 mL del hexano extraído en otro Eppendorf y se evaporó completamente el hexano, con una corriente de nitrógeno, en el tubo quedó una mancha amarilla. Se adicionó 250 μ L de metanol y agitó en vórtex durante 45 seg. Transfiriendo 200 μ L de metanol a un vial para inyectarlo en el HPLC bajo las siguientes condiciones cromatográficas:

Columna: ACE, C18, 150 X 4.6 mm, 5 μ m. Volumen de inyección: 20 μ L

Fase Móvil: Metanol: acetonitrilo: tetrahidrofurano: BHT; 75:20:5:0.01

Detección: 290 nm y 325 nm

Temperatura: Columna 20°C, automuestrador: 4°C

Tiempo de corrida: 8 minutos.

Velocidad de flujo

Tiempo	Flujo (ml/min)
Inicial	0.700
5.00	0.700
5.10	1.500
5.30	2.000
8.00	2.000

Para determinar las concentraciones y si existe o no deficiencia en los niveles de vitaminas E sérica, se tomaron los siguientes puntos de corte calculados en una población de adultos mayores de Actopan, Hidalgo.^{115, 116}

Deficiente < 11.6 μ mol/L

Bajos 11.7 μ mol/L-28.2 μ mol/L

Óptimos >28.3 μ mol/L

- **Determinación de vitamina C**

Se tomó una muestra de sangre por venopunción en un tubo con anticoagulante EDTA, centrifugando 7 minutos a una velocidad de 2500 rpm, se separó el plasma y se tomó una alícuota de 0.5 mL. Agregando 0.5 ml de ácido metafosfórico al 10% en ácido perclórico 50 mmol. Se dejó reposar durante 10 minutos y se centrifugó a 3000 r.p.m., durante 10 minutos. Se tomaron 500 µl y se agregó 12 µl del estándar interno. Se transfirió a un vial y se corrió la muestra bajo las siguientes condiciones cromatograficas:

Columna: ACE, C18, 150 X 4.6 mm, 5 µm. Volumen de inyección: 20 µL

Fase Móvil: Amortiguador fosfatos pH 2.5: MeOH 99:1

Velocidad de flujo		Longitud de onda	
Tiempo	Flujo (ml/min)	Tiempo(min)	λ (nm)
Inicial	1.000	0.0	245
2.40	1.000	4.9	245
2.50	1.500	5.0	235
2.90	2.000	7.0	235
5.00	2.000		
5.50	1.500		
7.00	1.500		

Temperatura: Columna 15°C, automuestrador: 4°C

Tiempo de corrida: 7 minutos.

Tiempo de retención para la vitamina C: 5-6 minutos.

Para determinar las concentraciones y si existe o no deficiencia en los niveles de vitaminas C sérica, se tomaron los siguientes puntos de corte calculados en una población de adultos mayores de Actopan, Hidalgo.^{115, 116}

Deficiente <32.2 $\mu\text{mol/L}$

Bajos 32.3 $\mu\text{mol/L}$ -33.8 $\mu\text{mol/L}$

Óptimos > 33.9 $\mu\text{mol/L}$

VIII.5 Análisis estadístico

Para el análisis de datos se empleó el programa estadístico SPSS versión 15.0

Para las variables cuantitativas se calculó el promedio y desviación estándar como medidas descriptivas y para las variables cualitativas se obtuvieron frecuencias y porcentajes.

Para la comparación entre grupos se realizó el análisis de varianza (ANOVA de un factor) pre y post intervención, con un 95% de confianza y Bonferroni como prueba post-hoc.

Así mismo se calcularon las diferencias de los parámetros post menos pre intervención y se compararon por medio de ANOVA de una vía y Bonferroni como prueba post-hoc.

Se hizo el cálculo de riesgos univariados, se consideró que existe significancia estadística cuando $p < 0.05$

IX. RESULTADOS

En el cuadro IX.1 se presentan los parámetros bioquímicos de rutina antes y después de la intervención, comparándose ambos grupos de intervención versus el grupo control, de lo cual no se observaron cambios relevantes.

En relación a los parámetros de EOx se observó tras la intervención un incremento significativo en los valores de GPx y de vitamina E, en el grupo que consumió vitaminas comparado con el grupo control ($p < 0.05$), así como una disminución significativa en los niveles de CAT y el GAP. Respecto a los niveles de LPO aunque no se observaron cambios estadísticamente significativos después de la intervención, el grupo que consumió vitaminas mostró un incremento de LPO con una significancia estadística límite. Mientras que en el grupo que practicó Tai Chi se observó una disminución en los niveles de LPO, aunque la diferencia no fue estadísticamente significativa (cuadro IX.2).

Con respecto a la diferencia de los marcadores de EOx post-pre intervención, encontramos un incremento estadísticamente significativo ($p < 0.05$) en la actividad de la GPx y en el GAP en el grupo que consumió vitaminas con respecto al control (Cuadro IX.3).

Con relación a adultos mayores con EOx se observó un incremento en el porcentaje de sujetos del grupo a quien se le administró vitaminas con respecto al grupo control (pre-intervención, 83% vs. post-intervención 92%; $p < 0.05$). En contraste en el grupo que practicó Tai Chi se observó una disminución estadísticamente significativa (pre-intervención, 95% vs. post-intervención 50%, $p < 0.05$). En este sentido, en el grupo de practicó Tai Chi se observó una disminución estadísticamente significativa en el porcentaje de sujetos que presentaban estrés oxidativo severo (pre-intervención=27% vs. post-intervención=0%; $p < 0.05$) (cuadro IX.4 y Figura IX.1).

Por otro lado, en el análisis univariado de riesgos para presentar EOx se encontró que consumir vitaminas C y E potencialmente puede constituir un factor de riesgo (RM=4.0, IC_{95%} 0.73-21.84, p=0.94), y la práctica de Tai Chi puede ser un factor protector (RM=0.8, IC_{95%} 0.10-6.32, p= 0.62) (cuadro IX.7).

Cuadro IX.1. Parámetros Bioquímicos por Grupo

Parámetro	CONTROL n=18		VITAMINAS n=24		TAI-CHI n=22	
	PRE	POST	PRE	POST	PRE	POST
Hemoglobina(g/dL)	14.8±1.4	14.9±1.4	15.2±1	15.4±0.97	14.5±1.2	14.8±1.4
Leucocitos (cel/mm3)	6905.6±2914	6878±3030	5846.3±1419.2	7100±1977.5	6159.1±1374.5	7420.5±2285
Eritrocitos (X106/mL)	5.0±0.51	5.1±0.7	5±0.4	5±0.6	4.9±0.4	5±0.6
Hematocrito (%)	45.8±4.3	44.4±4.6	45.6±3.8	45±3.4	43.2±4	41±10
Glucosa (mg/dL)	118±54.8	106.9±34.8	105.4±18.3	94.7±17.6	106.8±21	115.6±21.8
Urea (mg/dL)	30±10.2	29.7±6.7	31.4±7.3	30±7.8	31.2±5.7	29.3±8
Creatinina (mg/dL)	1±0.15	0.8±0.1	1±0.13	0.82±0.13	0.92±0.06	0.68±0.09*
Ác. Úrico (mg/dL)	4.8±1.5	4.2±1.3	4.3±1.2	4±1.1	4.5±1	3.8±2
Colesterol (mg/dL)	202.4±48.2	217.4±47.5	217±41.1	220±38.2	210.9±46.1	199.2±46.4
Triglicéridos (mg/dL)	146.6±64.4	165.2±65	136.5±49	149±42.2	165.2±87.7	156.2±82.6
HDL-Col. (mg/dL)	52.9±17.9	67.7±25.7	54.3±10.8	57.5±14	52.2±12	57±12
Albúmina (mg/dL)	4.4±0.3	4±0.6	4.5±0.2	4.3±0.4*	4.5±0.3	3.8±0.8*

Prueba ANOVA 95% de confianza. Post Hoc: Bonferroni, *p<0.05 Control vs Tai Chi. Los valores corresponden a media ± desviación estándar. HDL: Lipoproteínas de alta densidad.

Cuadro IX.2. Parámetros de EOx por grupo

Parámetro	CONTROL		VITAMINAS		TAI-CHI	
	n=18		n=24		n=22	
	PRE	POST	PRE	POST	PRE	POST
Lipoperóxidos ($\mu\text{mol/L}$)	0.28 \pm 0.08	0.29 \pm 0.11	0.26 \pm 0.09	0.35 \pm 0.17	0.29 \pm 0.1	0.24 \pm 0.17
SOD (U/mL)	177.1 \pm 17.6	175.8 \pm 9.4	179.8 \pm 11.7	171.2 \pm 10.4	169.3 \pm 7.3	176.4 \pm 7.1
GPx (U/L)	7890.1 \pm 4734.6	11225.2 \pm 4828.2	7773.6 \pm 2554.7	14038.6\pm10790.1 *	6389.8 \pm 2781.1	11659 \pm 5035.4
CAT (mmol/L)	0.97 \pm 0.2	1.34 \pm 0.5	0.84 \pm 0.3	0.94\pm0.2 *	0.74 \pm 0.4	1.52 \pm 0.4
SOD/GPx	30 \pm 14	20 \pm 12	32 \pm 37	0.1 \pm 11	32 \pm 14	21 \pm 16
GAP ($\mu\text{mol/L}$)	126.4 \pm 400.7	674.3 \pm 504.4	82.6 \pm 326.6	172.7\pm335.5 *	78.5 \pm 408.3	689 \pm 715.5
Vitamina E($\mu\text{mol/L}$)	13.3 \pm 0.7	6.4 \pm 7.5	13.4 \pm 0.8	15.7\pm7.7 *	14 \pm 1.3	4.9 \pm 3.4
Vitamina C($\mu\text{mol/L}$)	29.8 \pm 20.5	26.2 \pm 24.1	27.1 \pm 32.7	23.7 \pm 29.9	10.8 \pm 6.6	17.6 \pm 6.4
Indice EOx	1.83 \pm 1.4	1.1 \pm 1.2	2.1 \pm 1.5	2 \pm 1.4	3.2 \pm 1.5	0.9 \pm 1.1

Prueba ANOVA 95% de confianza. Post Hoc: Bonferroni. * $p < 0.05$ Control vs Vitaminas. Los valores corresponden a media \pm desviación estándar. SOD: Superóxido dismutasa, GPx: Glutacion peroxidasa, CAT: Capacidad antioxidante total, GAP: Brecha antioxidante; SOD/GPx: Razón SOD/GPx

Cuadro IX.3. Diferencia de los marcadores de EOx post-pre intervención.

Parámetro	CONTROL n=18	VITAMINAS n=24	TAI-CHI n=22
Lipoperóxidos ($\mu\text{mol/L}$)	0.011 \pm 0.14	0.094 \pm 0.18	-0.06 \pm 0.15
SOD (U/mL)	-2.17 \pm 15.4	-9.6 \pm 16.5	6.7 \pm 11.4
GPx (U/L)	3655.6 \pm 6568.4	70674.6\pm1347.8*	5205.4 \pm 5144.6
CAT (mmol/L)	0.4 \pm 0.5	0.06 \pm 0.3	0.73 \pm 0.7
GAP ($\mu\text{mol/L}$)	560.0 \pm 577.2	77.6\pm443.4*	681.9 \pm 881.0
Vitamina E($\mu\text{mol/L}$)	-7.7 \pm 7.9	2.15 \pm 7.8	-8.7 \pm 2.9
Vitamina C($\mu\text{mol/L}$)	-11.3 \pm 28.1	-10.2 \pm 27.8	6.8 \pm 6.5
Indice EOx	-0.8 \pm 1.7	-0.08 \pm 2.1	-2.3 \pm 1.9

Prueba ANOVA 95% de confianza. Post Hoc: Bonferroni. +p<0.05 Control vs Vitaminas. Los valores corresponden a media \pm desviación estándar. SOD: Superóxido dismutasa, GPx: Glutation peroxidasa, CAT: Capacidad antioxidante total, GAP: Brecha antioxidante; SOD/GPx: Razón SOD/GPx

Cuadro IX.4 Porcentajes de grado de estrés oxidativo por grupo.

EOX	CONTROL		VITAMINAS		TAI-CHI	
	n=18(%)		n=24(%)		n=22(%)	
	PRE	POST	PRE	POST	PRE	POST
SIN EOx Índice=0	4(22)	7(39)	4(17)	2(8)*	1(5)	11(50)*
EOx LEVE Índice=1-2	9(50)	9(50)	9(37)	14(58)	5(23)	9(41)
EOx MODERADO Índice=3-4	5(28)	2(11)	10(42)	7(30)	10(45)	2(9)*
EOx SEVERO Índice=4-6	0(0)	0(0)	1(4)	1(4)	6(27)	0(0)*

Prueba χ^2 95% de confianza, *p<0.05.

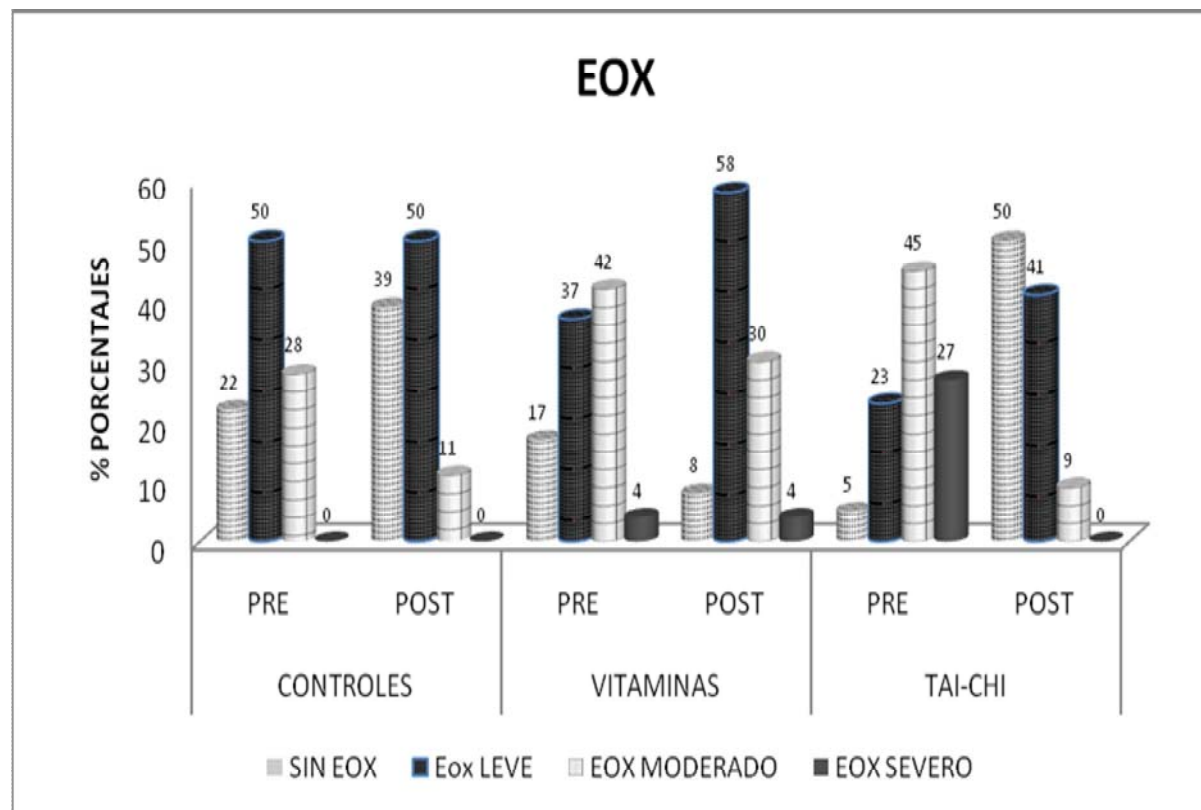


Figura IX.1 Porcentaje de sujetos con diversos grados de EOx por grupo. Se observa un mayor porcentaje de sujetos sin EOx en el grupo que practicó Tai-chi, después de la intervención (pre-intervención, 5% vs. post-intervención 50%, $p < 0.05$), aunada a una disminución estadísticamente significativa en el porcentaje de sujetos que presentaban estrés oxidativo severo (pre-intervención=27% vs. post-intervención=0%; $p < 0.05$).

Cuadro IX.5 Efecto de la práctica de Tai-Chi sobre los marcadores de Estrés Oxidativo

	RM	IC	VALOR P
LPO (≥ 0.340 U/L)	0.8	0.19-3.42	0.53
SOD (≤ 170 U/L)	0.4	0.06-2.42	0.28
GPx (≤ 5500 U/L)	1.8	0.3-11.0	0.44
CAT (≤ 0.90 mmol/L)	0.4	0.03-5.06	0.46

Análisis univariado de riesgos, RM=razón de momios, IC=Intervalo de confianza al 95%

LPO: Lipoperóxidos, SOD: Superóxido dismutasa, GPx: Glutation peroxidasa, CAT: Capacidad antioxidante total, GAP: Brecha antioxidante.

Cuadro IX.6 Efecto del consumo de vitaminas sobre los marcadores de Estrés Oxidativo

	RM	IC	VALOR P
LPO (≥ 0.340 U/L)	2.62	0.7-9.9	0.13
SOD (≤ 170 U/L)	3.6	0.86-15.2	0.07
GPx (≤ 5500 U/L)	1.6	0.26-9.8	0.5
CAT (≤ 0.90 mmol/L)	5.6	1.02-31.1	0.04

Análisis univariado de riesgos, RM=razón de momios, IC=Intervalo de confianza al 95%

LPO: Lipoperóxidos, SOD: Superóxido dismutasa, GPx: Glutation peroxidasa, CAT: Capacidad antioxidante total, GAP: Brecha antioxidante.

Cuadro IX.7 Efecto del consumo de vitaminas y Tai-Chi sobre el Estrés Oxidativo

	RM	IC	VALOR P
VITAMINAS	4.0	0.73-21.84	0.94
TAI-CHI	0.8	0.10-6.32	0.62

Análisis univariado de riesgos, RM=razón de momios, IC=Intervalo de confianza al 95%

X.DISCUSIÓN

Desde 1956 Denham Harman propuso una teoría, la cual establece que los RL juegan un papel importante en el proceso de envejecimiento, así mismo se ha aceptado que un exceso en la producción de RL tiene como consecuencia la alteración del balance entre el sistema oxidante y antioxidante, trayendo como resultado EOx.

Este proceso ha sido estudiado por muchos autores y en la actualidad se ha demostrado que se presenta en grados variables en diversas enfermedades crónico-degenerativas como son diabetes mellitus, hipertensión, aterosclerosis, enfermedad de Alzheimer, entre otras.⁴

Los RL tienen la capacidad de dañar las biomoléculas y participar de este modo en el desarrollo de las enfermedades y sus complicaciones.¹⁰⁰

Entre las terapias a las que se ha recurrido en los últimos años para contrarrestar o para controlar los niveles del EOx y los daños causados por este, encontramos a la suplementación con vitaminas antioxidantes principalmente la vitamina C y E; y la práctica del ejercicio físico moderado.

Los antioxidantes, ya sea endógenos o exógenos, actúan a diferentes niveles y sobre diferentes EROS, entre los antioxidantes exógenos que se utilizan con mayor frecuencia encontramos a las vitaminas C y E. En este sentido existen investigaciones sobre los efectos benéficos antioxidantes de dichas vitaminas ya sea de forma aislada o combinada para el control del EOx; la vitamina C tiene la capacidad para atrapar radicales superóxido y peróxilo, además de eliminar al oxígeno singulete, al peroxinitrilo y al ácido hipocloroso; por su parte la vitamina E destruye principalmente a los radicales peróxilo, pero tiene la capacidad de actuar sobre los radicales alcóxilo y superóxido, sobre el oxígeno singulete, el ozono y es efectiva contra las ERN. No obstante, paradójicamente las vitaminas pueden

actuar como prooxidantes, al respecto la vitamina C en altas concentraciones y en presencia de altos niveles de Hierro es capaz de catalizar la reacción de Fenton y generar ion ferroso, que facilita la producción de radical Hidroxilo. Por su parte la vitamina E en presencia de Cu^{2+} forma Cu^+ que promueve la peroxidación lipídica y por ende un incremento en la producción de radicales alcóxilo. Además se ha reportado que *in vitro* puede incrementar la lipoperoxidación y dañar el ADN, debido a que se forma un radical el cual requiere de otro antioxidante como la vitamina C o la coenzima Q para ser regenerado, si esto no sucede incrementa la oxidación por un proceso llamado peroxidación mediada por tocoferol, que produce peróxido de hidrógeno.^{50, 57}

Otra alternativa a la que se ha recurrido para contrarrestar los efectos del EOX es la práctica de ejercicio físico, pero existe una gran controversia acerca de los beneficios de éste. Algunos estudios han demostrado que la práctica del ejercicio físico intenso promueve la generación de RL derivados del oxígeno. En este sentido, se han propuesto algunas hipótesis, tal vez la más aceptada es que al realizar ejercicio se incrementa el consumo de oxígeno y que del 4-5% del oxígeno consumido no es reducido a agua, dando lugar a la formación del radical superóxido que a su vez genera peróxido de hidrógeno, además de incrementar la peroxidación lipídica y el daño oxidativo. De la misma manera hay estudios en los cuales se señala que la producción de ácido láctico puede convertir un daño leve por el radical superóxido a un daño fuerte por el radical hidroxilo; adicionalmente debe considerarse el efecto de la edad ya que en el músculo envejecido se generan más EROS durante el ejercicio que en el músculo joven.¹⁰¹

Por el contrario, existen estudios en los que se demuestra que el ejercicio no sólo incrementa la generación de RL sino que favorece el desarrollo de un proceso adaptativo, el ejercicio continuo modula los sistemas de defensa antioxidante a través del mecanismo de la hormesis, en el que se produce una respuesta paulatina adaptativa de respuesta o resistencia al EOX, incrementándose la capacidad de respuesta del sistema antioxidante.¹⁰⁴

De los resultados obtenidos en esta investigación, observamos con respecto a los marcadores de EOX que hubo un incremento estadísticamente significativo en la actividad de la enzima GPx en el grupo que consumió vitaminas en comparación con el grupo control después de 12 meses de intervención. Estos datos concuerdan con lo reportado por Galan et al (1997)¹²⁰ en un estudio con adultos mayores, quienes observaron un incremento significativo en la actividad de la enzima GPx después de una suplementación con vitamina C, E y otros oligoelementos, estos resultados sugieren un aumento en el sustrato de esta enzima, el H₂O₂, proveniente de la dismutación del O₂⁻ por la SOD; este incremento puede ser debido a una respuesta a un incremento en la demanda de GPx para reducir a agua el peróxido generado.

Así mismo, la GPx remueve los hidroperóxidos procedentes de las ácidos grasos poliinsaturados; por lo tanto el incremento observado en la actividad de la GPx puede responder a los niveles de LPO, que también se incrementaron en este grupo.

En el caso de los niveles de CAT encontramos una disminución estadísticamente significativa en el grupo de vitaminas con respecto al grupo control, lo que sugiere que hubo un incremento en las especies oxidantes tras la ingesta de las vitaminas y que la actividad combinada de antioxidantes plasmáticos sufrió una mayor demanda y gasto con el propósito de contrarrestar de forma eficiente a las EROS generadas en este grupo.

En este sentido, en estos mismos sujetos, se observó una disminución estadísticamente significativa de los valores de GAP respecto al grupo control, esta disminución sugiere que las vitaminas antioxidantes tienen un efecto pro-oxidante el cual no es contrarrestado por el poder antioxidante del ácido úrico como de la albúmina. Esto concuerda con lo reportado por Huang (2005)¹²¹ ya que encontró que los niveles de ácido úrico disminuyen con la suplementación con vitamina C.

Con relación a los niveles de vitamina E hay un incremento estadísticamente significativo en el grupo de vitaminas con respecto al grupo control, esta diferencia demuestra que hubo una buena absorción de esta vitamina, la cual es una molécula lipofílica cuya absorción depende de los quilomicrones de la dieta; al respecto se ha reportado una interferencia en su absorción por inhibidores de la absorción del colesterol y triglicéridos.^{54, 57} En este sentido, podemos observar un incremento en los niveles de colesterol y triglicéridos, lo que sugiere que el cambio observado puede deberse al hecho de que la absorción y transporte de la vitamina no estuvo limitada.

En el caso de la vitamina C observamos que en el grupo de vitaminas los valores son menores que en el grupo control, aunque la diferencia no es significativa, también encontramos que los niveles de LPO son mayores, esto se puede atribuir a que la vitamina C puede reducir el Hierro y por lo tanto aumentar la producción de radicales hidroxilo y alcóxilo, por los iones de metal reducido con H_2O_2 o hidroperóxidos lipídicos respectivamente.¹⁰⁶ Estos resultados difieren de lo reportado por Anderson *et al.*(2000)⁹¹ en un estudio con 100 voluntarios no fumadores, en los que después de la administración de vitamina C observa una pequeña reducción dosis dependiente en los niveles de LPO, aunque esta reducción no es estadísticamente significativa. Por su parte Mezzetti *et al.* (1995)¹⁰⁷ encontró una relación inversa entre los niveles plasmáticos de vitamina C y los niveles de LPO. Por otro lado Frei *et al.* (1989)⁵² señalan que la vitamina C conserva su actividad antioxidante incluso a concentraciones muy altas inhibiendo la oxidación de los lípidos, aunque en nuestro estudio podemos suponer que el efecto observado es debido a su potencial prooxidante.

Con respecto a la actividad de la enzima SOD no se encontró una diferencia estadísticamente significativa en el grupo de vitaminas con respecto al grupo control, sin embargo podemos observar que se presentó una disminución en los valores de esta enzima, por lo que estos resultados coinciden con lo reportado por Brenan *et al.* (2000)⁹³ quienes reportaron en un estudio con 40 sujetos sanos a los que se les administraron vitaminas E y C de forma aislada, en ambos casos

encontró una disminución significativa en la actividad de SOD, en este caso se argumenta que esta enzima dismuta el $O_2^{\cdot -}$ para generar el H_2O_2 , lo que parece ser una estrategia del sistema antioxidante, por lo que esta enzima se consume rápidamente para eliminar al radical $O_2^{\cdot -}$.

En relación a los parámetros de EOX en el grupo de Tai Chi con respecto al grupo control, no se observó ninguna diferencia estadísticamente significativa, sin embargo en el caso de la enzima SOD observamos un incremento tras la práctica de Tai Chi, al respecto Ji (1999)⁷⁹ señala el incremento en la actividad de la SOD después de la práctica del ejercicio debido al incremento en la producción de $O_2^{\cdot -}$, por lo que este aumento se da como respuesta adaptativa del sistema antioxidante para dismutar al $O_2^{\cdot -}$. Así mismo, Sen (1995)¹⁰⁸ en un estudio que realizó en ratas encontró un incremento en la actividad SOD en función del tiempo de duración del ejercicio, pero independiente de la intensidad del mismo.

En el caso de la enzima GPx se observó un incremento en el grupo de Tai Chi, aunque dicha diferencia no fue estadísticamente significativa, debido probablemente a lo limitado del tamaño de la muestra. En este sentido, se ha demostrado que el ejercicio físico moderado propicia un incremento de GPx, propiciando una reducción del peróxido de hidrogeno a agua, como respuesta adaptativa del sistema antioxidante. Estos resultados coinciden con lo reportado por otros autores quienes encontraron una relación inversa entre la frecuencia en la respiración y la actividad de GPx, esto tiene relación con las fluctuaciones rítmicas en el corazón y la presión arterial. Esta fluctuación puede incluir la activación redox sensitiva de factores de transcripción como NF-KB y API que se encargan de mediar los mecanismos celulares que indican la respuesta de adaptación de los cambios de la expresión génica de GPx.^{76,102} En el caso del Tai-Chi la frecuencia de respiración es más lenta y se sincroniza con los ritmos cardiovasculares y circulatorios.

Respecto a los valores de CAT y de GAP en el grupo de Tai Chi podemos observar que hay un incremento con respecto al grupo control, este incremento es importante, ya que aunque no es estadísticamente significativo sugiere que la actividad combinada de los antioxidantes plasmáticos está actuando como una respuesta del sistema antioxidante ante el EOx provocado por el ejercicio físico. Al respecto, existen estudios que apoyan nuestros resultados, en los cuales se demuestra que la práctica continua de ejercicio moderado incrementa la capacidad antioxidante de los músculos.^{110, 119}

Con respecto a los niveles de LPO en este mismo grupo encontramos una disminución con respecto al grupo control, aunque dicha diferencia no fue estadísticamente significativa, debido probablemente al tamaño de la muestra. En este sentido los resultados de nuestro estudio coinciden con lo reportado por Palasuwan *et al.* (2011)⁸⁹ que en un estudio con mujeres pre y postmenopáusicas no observó ninguna diferencia significativa en los niveles de LPO, después de 8 semanas de Tai-Chi, aunque también hubo una disminución de los niveles.

Al evaluar la diferencia de los marcadores de EOx observamos que hay un incremento estadísticamente significativo en la actividad de la GPx en el grupo de vitaminas con respecto al grupo control, lo cual sugiere que hay una mayor producción de H₂O₂ por lo que la enzima se está sobre expresando para reducir este H₂O₂ a agua. Al relacionarlos con los niveles de SOD encontramos valores negativos lo que significa que esta enzima se está gastando rápidamente para dismutar al O₂^{·-} producido. En este mismo grupo observamos una disminución estadísticamente significativa en el GAP, lo que sugiere que la actividad de antioxidantes como el ácido úrico y la albúmina no están respondiendo de manera eficiente para contrarrestar el daño oxidativo producido por RL, probablemente relacionado con el consumo de las vitaminas, ya que estos cambios no se observaron en los sujetos del grupo control.

Respecto al grupo del Tai Chi podemos observar que aunque las diferencias no fueron significativas respecto al control, hubo una disminución de los LPO, e incremento de la actividad de la SOD, la GPx, la CAT, el GAP y una notable disminución del índice global de EOx, lo cual sugiere que en este grupo la práctica de Tai Chi propició un incremento en la respuesta antioxidante.

Este resultado es consistente con lo observado al evaluar de manera global los parámetros de EOx, ya que en el grupo de Tai Chi encontramos una disminución estadísticamente significativa en el porcentaje de EOx con respecto al grupo control, lo cual sugiere que el Tai Chi está actuando como antioxidante, reduciendo los niveles de EOx en esta población, en contraste con lo observado en el grupo que consumió vitaminas en el cual hubo un incremento significativo en el porcentaje de sujetos con EOx respecto al grupo control, este incremento sugiere que las vitaminas no están actuando como antioxidantes en el grupo de adultos mayores.

Finalmente, estos resultados los hallazgos del presente estudio sugieren que la administración injustificada de vitaminas antioxidantes constituye un factor de riesgo para el estrés oxidativo; así mismo, que la práctica del Tai Chi es capaz de estimular la respuesta antioxidante, pues se observó una tendencia a actuar como factor protector contra el EOx, además de favorecer la disminución de la proporción de sujetos con EOx severo y moderado tras su práctica.

XI. CONCLUSIONES

HIPÓTESIS

De acuerdo con la información teórica respecto al efecto antioxidante inducido como respuesta adaptativa del ejercicio físico (Tai-Chi) y dada la inconsistencia en los resultados del efecto de las vitaminas suponemos que el ejercicio físico tendrá mayor efectividad en el control del estrés oxidativo en comparación con las vitaminas en un grupo de ancianos.

Conclusiones

- Nuestros hallazgos sugieren que la práctica de Tai Chi tiene mejor efecto antioxidante que el consumo crónico de vitaminas C y E en adultos mayores.
- Los resultados sugieren que el consumo crónico de vitaminas antioxidantes tienen un efecto pro-oxidante en adultos mayores.

XII. PERSPECTIVAS

- Es necesario incrementar el tamaño de la muestra para confirmar nuestros hallazgos.
- Es indispensable llevar a cabo estudios longitudinales, para reforzar la utilidad del Tai-Chi con fines terapéuticos y/o preventivos para enfermedades crónico-degenerativas.
- Es importante difundir nuestros hallazgos tanto con los clínicos como con la población en general para que no se indiquen de manera indiscriminada los suplementos antioxidantes, sin considerar riesgos y estilos de vida.

XIII. REFERENCIAS

1. Gutteridge MC. Lipid peroxidation and antioxidant as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem* 1995; 41: 1819-1828.
2. Gonzales-Torres MC, Betancourt-Rule M, Ortíz-Muñiz R. Daño oxidativo y antioxidantes. *Bioquímica* 2000; 25: 3-9.
3. Miller D, Buettner G, Aust S. Transition metals as catalysts of "autoxidation" reactions. *Free Radic Biol Med* 1990; 8: 95-108.
4. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin M, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell B* 2007; 39: 44-84.
5. Cadenas E, Sies H. Oxidative stress: excited oxygen species and enzyme activity. *Adv Enzyme Regul* 1985; 23: 217-237.
6. Gómez MC. Papel de los radicales libres en el ejercicio físico agotador efecto de la administración de antioxidantes. [Tesis Doctoral]. Universidad de Valencia 2004.
7. Paravicini TM, Touyz RM. NADPH Oxidases, reactive oxygen species, and hypertension. *Diabetes Care* 2008; 31: S170-S180.
8. Fridovich I. Superoxide anion radical (O₂⁻), superoxide dismutases, and related matters. *J Biol Chem* 1997; 272: 18615-18617.
9. Pastor N, Weinstein H, Jamison E, Brenowitz M. A detailed interpretation of OH radical footprints in a TBP-DNA complex reveals the role of dynamics in the mechanism of sequence-specific binding. *J Mol Biol* 2000; 304: 55-68.
10. Duesterberg CK, Waite TD. Process optimization of fenton oxidation using kinetic modeling. *Environ Sci Technol* 2006; 40: 4189-4195.
11. Kehrer JP. The Haber-Weiss reaction and mechanisms of toxicity. *Toxicology* 2000; 149: 43-50.

12. Kanofsky J, Sima P. Singlet oxygen production from the reactions of ozone with biological molecules. *J Biol Chem* 1991; 266: 9039-9042.
13. Moncada S, Palmer R. The discovery of Nitric Oxide as the endogenous nitrovasodilator. *Hypertension* 1991; 12: 365-372.
14. Czapski G, Goldstein S. The role of the reactions of NO with superoxide and oxygen in biological systems: a kinetic approach. *Free Radic Biol Med* 1995; 19: 795-794.
15. Rosado-Pérez J, Mendoza. Nuñez VM. Mini-revisión: Inflamación crónica y estrés oxidativo en la diabetes mellitus. *Bioquímica* 2007; 32: 58-69.
16. Ames BM. Dietary carcinogens and anticarcinogens. Oxygen radicals and degenerative diseases. *Science* 1983; 221: 1256-1264.
17. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull* 1993; 49: 481-493.
18. Cheeseman KH. Mechanisms and effects of lipid peroxidation. *Molec Aspects Med* 1993; 14: 191-197.
19. Halliwell B, Chirico S. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *Am J Clin Nutr* 1993; 57: 715S-725S.
20. Morrissey P, Sheehy P, Galvin K, Kerry J, Buckley D. Lipid stability in meat products. *Meat Sci* 1998; 49: S73-S86.
21. Shigenaga M, Hagen T, Ames B. Oxidative damage and mitochondrial decay in aging. *Proc Natl Acad Sci* 1994; 91: 10771-10778.
22. Frei B, Forte TM, Ames BN, Cross CE. Gas phase oxidants of cigarette smoke induce lipid peroxidation and changes in lipoprotein properties in human blood plasma. Protective effects of ascorbic acid. *Biochem J* 1991; 277: 133-138.
23. Bandyopadhyay U, Das D, Banerjee RK. Reactive oxygen species: oxidative damage and pathogenesis. *Curr Sci India* 1999; 77: 658-666.
24. Oteiza P, Olin K, Fraga C, Keen C. Zinc deficiency causes oxidative damage to proteins, lipids and DNA in rat testes. *J Nutr* 1995; 125: 823-829.

25. Stadtman E. Metal ion-catalyzed oxidation of proteins: biochemical mechanism and biological consequences. *Free Radic Biol Med* 1990; 9: 315-325.
26. Dalle-Donne I, Rossi R, Giustarini D, Milzani A, Colombo R. Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress. *Clin Chim Acta* 2003; 329: 23-38.
27. Dalle-Donne I, Rossi R, Colombo R, Giustarini D, Milzani A. Biomarkers of oxidative damage in human disease. *Clin Chem* 2006; 52: 601-623.
28. Chihuailaf RH, Contreras PA, Wittwer FG. Patogénesis del estrés oxidativo: Consecuencias y evaluación en salud animal. *Veterinaria México* 2002; 33: 265-283.
29. Borel P, Grolier P, Boirie Y, Simonet L, Verdier E, Rochette Y, et al. Oxidative stress status and antioxidant status are apparently not related to carotenoid status in healthy subjects. *J Lab Clin Med* 1998; 132: 61-66.
30. Albertini R, Rindi S, Passi A, Bardoni A, Salvini R, Pallavicini G, De Luca G. The effect of cornea proteoglycans on liposome peroxidation. *Arch Biochem Biophys* 1996; 327: 209-214.
31. Machlin LJ, Bendich A. Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients. *FASEB J* 1987; 1: 441-445.
32. Gutteridge JMC. Lipid Peroxidation and Antioxidants as Biomarkers of Tissue Damage. *Clin Chem* 1995; 41: 1819-1828.
33. Siems WG, Grune T, Esterbauer H. 4-hydroxynonenal formation during ischemia reperfusion of rat small intestine. *Life Sci* 1995; 57: 785-789.
34. Sánchez-Rodríguez MA, Santiago-Osorio E, Vargas LA, Mendoza-Núñez VM. Propuesta de constructo para evaluar integralmente el estrés oxidativo. *Bioquímica* 2004; 29: 81-90.
35. Knight JA, Smith SE, Kinder VE, Pieper RK. Urinary lipoperoxides quantified by liquid chromatography, and determination on reference values for Adults. *Clin Chem* 1988; 34: 1107-1110.

36. Moore K, Robert J. Measurement of lipid peroxidation. *Free Radic Res* 1998; 28: 659-671.
37. Esterbauer H, Zollner H. Methods for determination of aldehydic lipid peroxidation products. *Free Radic Biol Med* 1989; 7: 197-203.
38. Wispé JR, Warner BB, Clark JC, Dey CR, Neuman J, Glasser SW, et al. Human Mn-Superoxide Dismutase in pulmonary epithelial cells of transgenic mice confers protection from oxygen injury. *J Biol Chem* 1986; 267: 23937-23941.
39. Halliwell B. Antioxidant defence mechanisms: from the beginning to the end (of the beginning). *Free Radic Res* 1999; 31: 261-272.
40. Packer L, Rimbach G, Virgili F. Antioxidant activity and biologic properties of a procyanidin-rich extract from pine (*Pinus maritima*) bark, pycnogenol. *Free Radic Biol Med* 1999; 27: 704-724.
41. Lewisch SA, Levine RL. Determination of 2-Oxohistidine by Amino Acid Analysis. *Ann Biochem* 1995; 231: 440-446.
42. Stadtman ER. Metal ion-catalyzed oxidation of proteins: biochemical mechanism and biological consequences. *Free Radic Biol Med* 1990; 9: 315-325.
43. Uchida K, Kawakishi S. Ascorbate-Mediated Specific Oxidation of the Imidazole Ring in a histidine derivative. *Bioorg Chem* 1989; 17: 330-343.
44. Halliwell B, Gutteridge JMC, Cao G, Cutler RG. The definition and measurement of antioxidants in biological systems. *Free Radic Biol Med* 1995; 18: 125-126.
45. Ames BN, Shigenaga MK, Hagen T. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc Natl Acad Sci* 1993; 90: 7915-7922.
46. Blakley BR, Hamilton DL. Ceruloplasmin as an indicator of copper status in cattle and shepp. *Can J Comp Med* 1985; 49: 405-408.
47. Tibell L, Hjalmarsson K, Edlund T, Skogman G, Engstrom A, Marklund SL. Expression of human extracellular superoxide dismutase in Chinese

- hamster ovary cell and characterization of the product. Proc Natl Acad Sci 1987; 84: 6634-6638.
48. Woodside JV, Young IS, Yarnell JW. Fruit, Vegetables and antioxidants: prevention of cardiovascular and other diseases. Antioxidants and Human Health 1999: 205-215.
49. Chu FF, Esworthy RS, Doroshov JH. Role of Se-dependent glutathione peroxidases in gastrointestinal inflammation and cancer. Free Radic Biol Med 2004; 36: 1481-1495.
50. Padayatty SJ, Daruwala R, Wang Y, Eck PK, Song J, Koh WS, et al. Vitamin C: from Molecular actions to optimum intake. In: Cadenas E, Packer L, editors. Handbook of antioxidants. 2nd. Ed. New York: Marcel Dekker; 2002: 117-145.
51. Basu TK. Potential Role of Antioxidant Vitamin. In: Basu TK, Temple NJ, Garg ML, editors. Antioxidant in Human Health and disease. New York: CABI publishing; 1999: 15-26.
52. Frei B, England L, Ames BN. Ascorbate is an outstanding antioxidant in human blood plasma. Proc Natl Acad Sci 1989; 86: 6377-6381.
53. Padayatty SJ, Katz A, Wang Y, Eck P, Kwon O, Lee JH, et al. Vitamin C as an Antioxidant: Evaluation of its Role in Disease Prevention. J Am Coll Nutr 2003; 22: 18-35.
54. Landvik SV, Diplock AT, Packer L. Efficacy of vitamin E in human health and disease. Handbook of Antioxidants. 2nd. Ed. New York: Marcel Dekker; 2002
55. Blokhina O, Virolainen E, Fagerstedt K. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. Ann Bot 2003; 91: 179-194.
56. Halliwell B, Gutteridge JMC. The antioxidants of human extracellular fluids. Arch Biochem Biophys 1990; 280: 1-8.
57. Traber MG. Vitamin E Bioavailability, biokinetics and metabolism. In: Cadenas E, Packer L, editors. Handbook of antioxidants. 2nd. Ed. New York: Marcel Dekker; 2002: 99-108.

58. Rock CL, Jacob RA, Bowen PE. Update on the biological characteristics of the antioxidant micronutrients: vitamin C, vitamin E, and the carotenoids. *J Am Diet Assoc* 1996; 96: 693-702.
59. Tabet N, Birks J, Grimley EJ. Vitamina E para la enfermedad de Alzheimer (Revisión Cochrane traducida). En: *La Biblioteca Cochrane Plus* 2008; Número 2. Disponible en: <http://www.update-software.com>
60. Stahl W, Sies H. Antioxidant effects of carotenoids: Implication in photoprotection in humans. In: Cadenas E, Packer L, editors. *Handbook of antioxidants*. 2nd. Ed. New York: Marcel Dekker; 2002: 223-233.
61. Deming DM, Boileau TWM, Heintz KH, Atkinson CA, Erdman JW. Carotenoids: Linking chemistry, absorption, and metabolism to potential roles in human health and disease. In: Cadenas E, Packer L, editors. *Handbook of antioxidants*. 2nd. Ed. New York: Marcel Dekker; 2002: 189-222.
62. Navarro-Alarcon M, Cabrera-Vique C. Selenium in food and the human body: A review. *Sci Total Environ* 2008; 400: 115-141.
63. Knekt P. Selenium status and prevention of chronic diseases. In: Cadenas E, Packer L, editors. *Handbook of antioxidants*. 2nd. Ed. New York: Marcel Dekker; 2002: 664-687.
64. Croft KD. Antioxidant effects of plant phenolic compounds. In: Basu TK, Temple NJ, Garg ML, editors. *Antioxidant in Human Health and disease*. New York: CABI Publishing; 1999: 109-121.
65. Fuhrman B, Aviram M. Polyphenols and flavonoids protect LDL against atherogenic modifications. In: Cadenas E, Packer L, editors. *Handbook of antioxidants*. 2nd. Ed. New York: Marcel Dekker; 2002: 303-336.
66. Martínez-Flores S, González-Gallego J, Culebras JM, Tuñon MJ. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutr Hosp* 2002; 17: 271-278.
67. Singh RB, Rastogi SS, Moshiri M, Bhagvan HN. Antioxidant Vitamins and coenzyme Q10 in the prevention and treatment of coronary artery disease and diabetes. In: Basu TK, Temple NJ, Garg ML, editors. *Antioxidant in Human Health and disease*. New York: CABI Publishing; 1999: 109-121.

68. Lee BM, Lee SK, Kim HS. Inhibition of oxidative DNA damage, 8-OHdG, and carbonyl contents in smokers treated with antioxidants (vitamin E, vitamin C, beta-carotene and red ginseng). *Cancer Lett* 1998; 132: 219:227 1998.
69. Mol MJ, De Rijke YB, Demacker PN, Stalenhoef AF. Plasma levels of lipid and cholesterol oxidation products and cytokines in diabetes mellitus and cigarette smoking: effects of vitamin E treatment. *Atherosclerosis* 1997; 129: 169-176.
70. Stampfer MJ, Rimm EB. Epidemiologic evidence for vitamin E in prevention of cardiovascular disease (Review). *Am J Clin Nutr* 1995; 62: 1365S-1369S.
71. Podmore ID, Griffiths HR, Herbert KE, Mistry N, Mistry P, Lunec J. Vitamin C exhibits pro-oxidant properties. *Nature* 1998; 392: 559.
72. Pearson P, Lewis SA, Britton J, Young IS, Forgarty A. The prooxidant activity of high-dose vitamin E supplements in vivo. *Bio Drugs* 2006; 20: 271-273.
73. Ji LL. Exercise-induced Modulation of Antioxidant Defense. *Ann NY Acad Sci* 2002; 959: 82-92.
74. Ortega ML, Humblot V, Murray P, Baddeley CJ, Haq S, Raval R. Chemical Transformation, Molecular Transport, and Kinetic Barriers in Creating the Chiral Phase of (R,R)-Tartaric Acid on Cu(110). *J catal* 2002; 205: 123-134.
75. Klarlund BP, Hoffman-Goetz L. Exercise and the immune system: Regulation, integration, and adaptation. *Physiol Rev* 2000; 80: 1055-1081.
76. Margaritis I, Rousseau AS. Does physical exercise modify antioxidant requirements?. *Nutr Res Rev* 2008; 21: 3-12.
77. Dillard CJ, Litov RE, Savin WM, Dumelin EE, Tappel AL. Effects of exercise, vitamin E, and ozone on pulmonary function and lipid peroxidation. *J Appl Physiol* 1978; 45: 927-932.
78. Alessio HM, Goldfarb AH. Lipid peroxidation and scavenger enzymes during exercise: adaptive response to training. *J Appl Physiol* 1988; 64: 1333-1336.

79. Ji LL, Leeuwenburgh C, Leichtweis S, Gore M, Fiebig R, Hollander J, et al. Oxidative Stress and Aging: Role of exercise and Its Influences on Antioxidants Systems. *Ann NY Acad Sci* 1998; 854: 101-117.
80. Boveris A, Chance B. The mitochondrial Generation of Hydrogen Peroxide. General properties and effect of Hyperbaric Oxygen. *Biochem J* 1973; 134: 707-716.
81. Cao G, Alessio HM, Cutler RG. Oxygen-Radical absorbance capacity assay for antioxidants. *Free Radic Biol Med* 1993; 14: 303-311.
82. Aguiló A, Tauler P, Fuentespina E, Tur JA, Córdova A, Pons A. Antioxidant response to oxidative stress induced by exhaustive exercise. *Physiol Behav* 2005; 84: 1-7.
83. Clarkson PM, Thompson HS. Antioxidants: what role do they play in physical activity and health?. *Am J Clin Nutr* 2000; 72: 637S-646S.
84. Fernstrom M, Tonkonogi M, Sahlin K. Effects of acute and chronic endurance exercise on mitochondrial uncoupling in human skeletal muscle. *J Physiol* 2004; 554: 755-763.
85. Ji LL. Antioxidants and Oxidative stress in Exercise. *Exp Biol Med* 1999; 222: 283-292.
86. Wang C, Collet JP, Lau J. The effect of Tai Chi on health Outcomes in patients with chronic conditions. A systematic Review. *Arch Intern Med* 2004; 164: 493-501.
87. Kuramoto AM. Therapeutic benefits of Tai Chi exercise: research review. *Wisc Med J* 2006; 105: 42-46.
88. Hall A, Maher C, Latimer J, Ferreira M. The effectiveness of Tai Chi for chronic musculoskeletal pain conditions: a systematic review and meta-analysis. *Arthrit Rheum-Arthr* 2009; 61: 717-724.
89. Palasuwan A, Soksom D, Margaritis I, Soogarun S, Rousseau AS. Effects of Tai Chi training on antioxidant capacity in pre- and postmenopausal women. *J Aging Res* 2011: 1-8.

90. Sandlund E, Norlander t. The effects of Tai Chi chuan relaxation and exercise on stress responses and well-being: an overview of research. *Int J Stress Manag* 2000; 7: 1-18.
91. Anderson D, Phillips BJ, Yu TW, Edwards AJ, Ayesh R, Butterworth KR. Effects of vitamin C supplementation in human volunteers with a range of cholesterol levels on biomarkers of oxygen radical-generated damage. *Pure Appl Chem* 2000; 72: 973-983.
92. Jenkinson AME, Collins AR, Duthie SJ, Wahle KW, Duthie GG. The effect of increased intakes of polyunsaturated fatty acids and vitamin E on DNA damage in human lymphocytes. *FASEB J* 1999; 13: 2138-2142.
93. Brenan LA, Morris GM, Wasson GR, Hannigan BM, Barnett YA. The effect of vitamin C or vitamin E supplementation on basal and H₂O₂-induced DNA damage in human lymphocytes. *Brit J Nutr* 2000; 84: 195-202.
94. Jacobson JS, Begg MD, Wang LW. Effects of a 6-month vitamin intervention on DNA damage in heavy smokers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000; 9: 1303-1311.
95. McArdle F, Rhodes LE, Paslew RAG, Close GL, Jack CIA, Friedmann PS, et al. Effects of oral vitamin E and β -carotene supplementation on ultraviolet radiation-induced oxidative stress in human skin. *Am J Clin Nutr* 2004; 80: 1270-1275.
96. Meertens L, Ruido T, Díaz N, Naddaf G, Rodríguez A, Solano L. Relación entre lípidos séricos y estado de las vitaminas C y E como antioxidantes en adultos mayores venezolanos. *Arch Latinoam Nutr* 2008; 58: 363-370.
97. Audette JF, Jin YS, Newcomer R, Stein L, Duncan G, Frontera WR. Tai Chi versus brisk walking in elderly women. *Age Ageing* 2006; 35: 388-393.
98. Jin P. Efficacy of Tai Chi, brisk walking, meditation, and reading in reducing mental and emotional stress. *J Psychosom Res* 1992; 36: 361-370.
99. Valko M, Izakovic M, Mazur M, Rhodes CJ, Telser J. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Mol Cell Biochem* 2004; 266: 37-56.

100. Bender DA. Radicales libres y nutrientes antioxidantes. [publicación en línea]. Disponible en internet En:
http://ewhighered.mcgraw-Hill.com/sites/dl/free/000000040x/807235/murray_bi_28e_capitulo_muestra.pdf 482-486 [fecha de acceso: 20 junio, 2011].
101. Bonilla JF, Narváez R, Chuaire L. El deporte como causa de estrés oxidativo y hemólisis. *Colomb Med* 2005; 36: 275-280.
102. Bhattacharya S, Pandey US, Verma NS. Improvement in oxidative status with yogic breathing in you healthy males. *Indian J Physiol Pharmacol* 2002; 46: 349-354.
103. Inal ME, Kanbak G, Sunal E. Antioxidant enzyme activities and malondialdehyde levels related to aging. *Clin Chem Acta* 2001; 305: 75-80.
104. Ji LL, Gómez-Cabrera MC, Vina J. Exercise and Hormesis. Activation of celular antioxidant signaling pathway. *Ann NY Acad Sci* 2006; 1067: 425-435.
105. Sánchez-Quezada JL, Homs-Serradesanferm R, Serrat-Serrat J. Increase of LDL susceptibility to oxidation occurring after intense, long duration aerobic exercise. *Atherosclerosis* 1995; 118: 297-305.
106. Carr A, Frei B. Does vitamin C act as a pro-oxidant under physiological conditions?. *FASEB J* 1999; 13: 1007-1024.
107. Mezzetti A, Lapenna D, Pierdomenico SD, Calafiore AM, Constantini F, Riario-Sforza G, et al. Vitamins E, C and lipid peroxidation in plasma and arterial tissue of smokers and non-smokers. *Artherosclerosis* 1995; 112: 91-99.
108. Sen CK. Oxidants and antioxidants in exercise. *J Appl Physiol* 1995; 79: 675-686.
109. Cao G, Booth SL, Sadowski JA, Prior RL. Increases in human plasma antioxidant capacity after consumption on controlled diets high in fruit and vegetables. *Am J Clin Nutr* 1998; 68: 1081-1087.
110. McArdle A, Jackson MJ. Exercise,oxidative stress an aging. *J Anat* 2000; 197: 539-541

111. Irwin MR, Pike JL, Cole JC, Oxman MN. Effects of behavioral intervention, Tai Chi Chih, on Varicella-Zoster Virus Specific immunity and Health Functioning in Older Adults. *Psychosom Med* 2003; 65: 824-830.
112. Lu WA, Kuo CD. The effect of Tai Chi Chuan on the autonomic Nervous modulation in Older Persons. *Med Sci Sport Exer* 2003; 35: 1972-1976.
113. Young DR, Appel LJ, Jee SH, Miller ED. The effects of aerobic exercise and Tai Chi on blood pressure in older people: Results of a Randomized trial. *J Am Geriatr Soc* 1999; 42: 277-284.
114. Mustian KM, Katula JA, Zaho H. A pilot study to Assess the influence of Tai Chi Chuan on functional capacity among breast cáncer survivors. *J Support Oncol* 2006; 4: 139-145.
115. Retana-Ugalde R. Efectividad de la administración del alfa-tocoferol y el ácido ascórbico sobre el estrés oxidativo y el daño al ADN en adultos mayores sanos del área rural y urbana [Tesis Doctoral], DF, México: Universidad Nacional Autónoma de México; 2009.
116. Rock CL, Jacob RA, Bowen PE. Update on the biological characteristics of the antioxidant micronutrients: Vitamin C, vitamin E, and the carotenoids. *J Am Diet Assoc* 1996; 96: 693-702.
117. Netz Y. Type of activity and fitness benefits as moderators of the effect of physical activity on affect in advanced age. *Eur Rev Aging Phys Act* 2009; 6(1): 19-27.
118. Gomez-Cabrera MC, Domenech E. Moderat exercise is an antioxidant: upregulation of antioxidant genes by training. *Free Radic Biol Med* 2008; 44: 126-131.
119. Radak Z, Chung HY, Goto S. Exercise and hormesis: oxidative stress-related adaptation for successful aging. *Biogerontology* 2005; 6: 71-75.
120. Effects of trace element and/or vitamin supplementation on vitamin and mineral status, free radical metabolism and immunological markers in elderly long term-hospitalized subjects. *Int J Vitam Nutr Res* 1997; 67(6): 450-460.
121. Huang HY, Appel LJ, Choi MJ, Gelber AC, Charleston J, Norkus EP, et al. The effects of vitamin C supplementation on serum concentrations of uric acid *Arthritis & Rheumatism* 2005; 52(6): 1843-1847.

XIV. ANEXO



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
* Z A R A G O Z A *

UNIDAD DE INVESTIGACIÓN EN GERONTOLOGÍA

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

PROYECTO: "INFLUENCIA DEL TAI CHI VS SUPLEMENTOS ANTIOXIDANTES PARA EL CONTROL DEL ESTRÉS OXIDATIVO"

Antecedente y Objetivo

Se han realizado estudios en los que se demuestra el efecto antioxidante de la suplementación con Vit C y Vit E, así como de la práctica de ejercicio físico moderado para el control del EOx, aunque no existen estudios en los que se exponga cual de los dos tipos de terapias es mejor para el control del EOx en adultos mayores.

Procedimiento

Se invitarán a personas adultas mayores del Estado de Hidalgo sanas y con enfermedades crónicas no descompensadas (**glucosa en sangre en ayuno menor de 180 mg/dL; presión arterial máxima, 160 sistólica/100 diastólica**) a que participen de manera voluntaria al proyecto. A todas las personas incluidas en el estudio se les realizará un examen médico, incluyendo una historia clínica completa, electrocardiograma en reposo, toma de cuatro tubos de sangre para mediciones bioquímicas, medición de composición corporal, determinación de funcionalidad física y evaluación gerontológica integral, antes de iniciar el programa de ejercicio, a los 12 y a los 24 meses posteriores al programa.

Condiciones para ingresar al estudio

- Edad 60 – 74 años, no importando el sexo.
- Clínicamente sanos o con enfermedades crónico-degenerativas controladas.
- Firmar o poner su huella digital en esta carta de compromiso.

Riesgos

No existe ningún riesgo para su salud, las tomas de muestras sanguíneas serán llevadas a cabo por personal experimentado con material nuevo y desechable y el programa de ejercicio físico será monitorizado por personal del Instituto para la Atención de los Adultos Mayores del Estado de Hidalgo.

Beneficios

Las pruebas **no tendrán ningún costo** y los resultados de glucosa, perfil lipídico, perfil renal, biometría hemática, así como los de las pruebas de funcionalidad física y de la evaluación gerontológica integral se les entregarán a los participantes para el control y vigilancia de su estado de salud.

Confidencialidad

Toda la información obtenida es **ESTRICTAMENTE CONFIDENCIAL**, por lo que sólo se le proporcionará al participante y a su médico tratante.

Preguntas

Toda duda que tenga durante el tiempo que dura la investigación la podrá consultar con su médico tratante y con los participantes de la Unidad de Investigación en Gerontología.

Derecho a rehusar

La aceptación a participar en este estudio es enteramente **VOLUNTARIA**. Por lo que si decide no hacerlo no le afectará en su atención que le brinda el Instituto para la Atención de los Adultos Mayores del Estado de Hidalgo. Así mismo, puede decidir abandonar el estudio en el momento que usted lo considere conveniente.

CONSENTIMIENTO

DECLARO QUE HE LEÍDO O ME HAN LEÍDO EN PRESENCIA DE UN FAMILIAR RESPONSABLE EL CONTENIDO DEL PRESENTE DOCUMENTO, COMPRENDO LOS COMPROMISOS QUE ASUMO Y LOS ACEPTO EXPRESAMENTE. POR ELLO, MANIFESTO MI DESEO DE PARTICIPAR EN ESTA INVESTIGACIÓN CON TÍTULO: **“INFLUENCIA DEL TAI CHI VS SUPLEMENTOS ANTIOXIDANTES PARA EL CONTROL DEL ESTRÉS OXIDATIVO”** Y FIRMO VOLUNTARIAMENTE ESTE CONSENTIMIENTO INFORMADO.

Al firmar este consentimiento no renuncio a ninguno de mis derechos y he recibido una copia de este impreso.

Nombre y firma del participante _____

Nombre y firma de un familiar (testigo): _____

Nombre y firma del investigador: _____

Pachuca, Hidalgo a ____ de _____ del _____.

En caso de no saber leer y escribir poner huella digital en el cuadro después de haberle leído el documento al participante en presencia del testigo.

