



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA**

**EFFECTO DEL EJERCICIO FISICO SOBRE EL ESTRÉS OXIDATIVO Y LA  
DENSIDAD MINERAL ÓSEA EN ADULTOS MAYORES**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

**P R E S E N T A**

**ALTAMIRANO BARRAGÁN VICTORIA**

**DIRECTOR: M. EN C. JUANA ROSADO PÉREZ**

**ASESOR: DR. VÍCTOR MANUEL MENDOZA NÚÑEZ**

**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.

---

**ÍNDICE**

	<b>Página</b>
I. Resumen.....	1
II. Abreviaturas.....	2
III. Introducción.....	4
IV. Marco teórico.....	6
IV.1 Radicales libres.....	7
IV.1.1 Producción endógena de RL.....	7
IV.1.2 Producción exógena de RL.....	11
IV.1.3 Reactividad de los RL y daño a biomoléculas....	12
IV.2 Sistema antioxidante.....	15
IV.2.1 Antioxidantes enzimáticos.....	17
IV.2.2 Antioxidantes no enzimáticos.....	19
IV.3 Estrés oxidativo.....	21
IV.4 Envejecimiento.....	22
IV.5 Metabolismo de la estructura ósea.....	23
IV.5.1 Composición del hueso.....	23
IV.5.2 Remodelación ósea.....	25
IV.5.3 Regulación ósea.....	26
IV.6 Osteoporosis.....	31
IV.6.1 Clasificación.....	33
IV.6.2 Epidemiología.....	34
IV.6.3 Estrés oxidativo y densidad mineral ósea.....	34
IV.8 Ejercicio Físico.....	35
IV.8.1 Ejercicio físico y osteoporosis.....	37
IV.8.2 Ejercicio físico y estrés oxidativo.....	37
V. Planteamiento del problema.....	41
VI. Hipótesis.....	42
VII. Objetivos.....	42
VIII. Material y métodos.....	43
VIII.1 Diseño y población de estudio.....	43
VIII.3 Variables.....	43
VIII.4 Técnicas.....	45
VIII.5 Análisis estadístico.....	56
IX. Resultados.....	57
X. Discusión.....	67
XI. Conclusión.....	72
XII. Perspectivas.....	73
XIII. Referencias.....	74
XIV. Anexos.....	87

---

## **AGRADECIMIENTOS**

Quiero expresar mi sincero agradecimiento:

Al Laboratorio de Investigación en Gerontología Clínica, de la Unidad de Investigación en Gerontología de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM, por las facilidades brindadas para el desarrollo de la presente tesis.

Al Dr. Víctor Manuel Mendoza Núñez y la M. en C. Juana Rosado Pérez por sus asesoramientos e indicaciones, los cuales contribuyeron a la culminación de este proyecto.

A la M. en CQB. Mirna Ruiz Ramos y la Dr. Raquel Retana Ugalde, quienes permitieron el desarrollo tanto teórico como metodológico de este trabajo, con su apoyo y consejos durante todo este tiempo.

---

## **DEDICATORIAS**

La presente tesis está dedicada a todas aquellas personas que directa o indirectamente participaron en ella.

A mis padres, por su amor, comprensión, apoyo incondicional, por todos aquellos consejos y regaños que han logrado forjarme y por sobre todo, ser un ejemplo de superación y constancia. Gracias los adoro.

A mis hermanas Lupita y Claudia, por ser mis guías, mis amigas, por toda su ayuda y consejos, por consentirme tanto y ser ese orgullo que me impulsa a ser mejor cada día. Gracias las quiero mucho.

A mis amigos, Carlos, Jeny, Adair, Hugo, Claudia, Alejandro, Paty, Erick, Jonathan, Luis y Andrés gracias por todos esos consejos, por estar siempre conmigo, porque cuando necesite de su ayuda estuvieron ahí, por todos esas risas, y momentos felices que hicieron más grato y llevadero mi paso por la universidad.

A Elsa y Abril, que a pesar de la distancia nuestra amistad sigue en pie, gracias por todos esos consejos y risas nocturnas.

Y a todos aquellos que no nombre pero tiene un lugar muy especial en mi mente y mi corazón.

Gracias por ayudarme a conseguir mis objetivos como persona y como estudiante.

---

## I. RESUMEN

**ANTECEDENTES:** México cursa por una transición demográfica y epidemiológica con un creciente envejecimiento de su población e incremento de la prevalencia e incidencia de las enfermedades crónico-degenerativas, entre las que destaca la osteoporosis. Esta enfermedad esquelética sistémica se caracteriza por una baja significativa de la masa ósea, lo que propicia un deterioro de la microarquitectura del hueso y un aumento del riesgo de fractura. Existen diversos factores etiológicos para la osteoporosis, tales como el envejecimiento, la disminución de hormonas sexuales, el tabaquismo y el sedentarismo. Por otro lado, se ha demostrado que la práctica de ejercicio físico moderado se vincula con una disminución del estrés oxidativo (EOx) y consecuentemente una mejora en la densidad mineral ósea (DMO). Sin embargo, los resultados al respecto no son del todo concluyentes

**OBJETIVO:** Determinar la efectividad del ejercicio físico moderado sobre el estrés oxidativo y la densidad mineral ósea, en una población de adultos mayores.

**MÉTODO:** Previo consentimiento informado se llevó a cabo un estudio cuasi-experimental, en 121 adultos mayores sanos sedentarios o con enfermedades crónicas no terminales controladas, sin ingesta de antioxidantes o de hormonas de reemplazo. A todos los sujetos se les invitó a participar en un programa de ejercicio físico moderado por 12 meses, por cuestiones éticas sólo se incluyeron en el grupo control los adultos mayores que no aceptaron ingresar al programa por aspectos de índole personal. La muestra fue conformada por (i) grupo experimental  $n = 88$  adultos mayores, y (ii) grupo control  $n = 33$  adultos mayores. A todos los participantes se les realizó una evaluación pre y post-intervención a los 12 meses, se les midió la DMO de columna y cadera; marcadores de EOx: lipoperóxidos (LPO), enzimas antioxidantes, superóxido dismutasa (SOD) y glutatión peroxidasa (GPx) y la capacidad antioxidante total (CAT). Los datos fueron analizados con el programa estadístico SPSS 15.0, se calcularon medidas descriptivas (promedio y desviación estándar) y como pruebas de comparación el análisis de varianza de un factor (ANOVA), deltas y como prueba post-hoc Bonferroni. Para todas las pruebas se consideró un valor de  $p < 0.05$  como significancia estadística.

**RESULTADOS.** Los resultados mostraron una disminución significativa en la concentración de LPO en el grupo experimental, sobre todo en los adultos mayores con osteopenia (pre-intervención,  $0.29 \pm 0.11$ , vs. post-intervención,  $0.22 \pm 0.1$ ,  $p < 0.001$ ) aunada a un incremento significativo de la actividad antioxidante total (pre-intervención  $0.84 \pm 0.23$  vs. post-intervención  $1.44 \pm 0.45$ ,  $p < 0.05$ ). En cuanto a la DMO de columna se observó un aumento en el grupo que practicó ejercicio físico, sobre todo los que cursaban con osteoporosis, aunque dicha diferencia no fue estadísticamente significativa (pre-intervención,  $0.36 \pm 0.10$  vs. post-intervención,  $0.41 \pm 0.11$ ). Se observó una disminución estadísticamente significativa en el índice de estrés oxidativo en el grupo que realizó ejercicio físico con osteoporosis (pre-intervención,  $2.84 \pm 1.3$  vs.  $1.03 \pm 0.93$ ,  $p < 0.001$ ).

**CONCLUSIÓN:** Nuestros resultados sugieren que el ejercicio físico disminuye el estrés oxidativo aunado con un incremento en la densidad mineral ósea de columna, soportando la hipótesis relativa a que el efecto benéfico del ejercicio físico sobre la osteoporosis podría ser debido a su efecto antioxidante.

## II. ABREVIATURAS

4-HNE	4-hidroxinonenal
8-iso-PGF2 $\alpha$	8-iso prostaglandina F2 $\alpha$
8-OHdG	8-hidroxiguanosina
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ANOVA	Análisis de varianza
ATP	Adenosina trifosfato
bFGF	Factor de crecimiento de fibroblastos
BHT	Butiril-hidroxitolueno
BMP	Proteínas morfogenéticas óseas,
CAT	Capacidad antioxidante total
CGRP	Péptido relacionado con el gen de la calcitonina
CSF-1	Factor estimulante de colonias 1
DMO	Densidad mineral osea
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
EF	Ejercicio físico
ELISA	Ensayo inmunoabsorbente ligado a enzima
EOx	Estrés oxidativo
ERNs	Especies reactivas de nitrógeno
EROs	Especies reactivas de oxígeno
FADH <sub>2</sub>	Flavina adenina dinucleótido
FCresv	Frecuencia cardíaca de reserva
GAP	Brecha antioxidante
GPx	Glutación peroxidasa
GSH	Glutación reducido
HClO	Ácido hipocloroso
HDL	Lipoproteínas de alta densidad
IGF-1	Factor de crecimiento de tipo insulina I
IL	Interleucinas
LDL	Lipoproteínas de baja densidad
LPO	Lipoperóxidos
MDA	Malondialdehido
NADH	Nicotinamida adenina dinucleotido
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleotido oxidasa generadora
NO $\cdot$	Oxido nítrico
NO $\cdot$ <sub>2</sub>	Dióxido nítrico

OB	Osteoblastos
OC	Osteoclastos
OMS	Organización Mundial de la Salud
ONOO <sup>-</sup>	Peroxinitrilo
OPG	Osteoprotegerina
Oxs	Otrix
PLTP	Proteína de transferencia de fosfolípidos
PTH	Hormona paratiroidea
PTHrP	Hormona paratiroidea-proteína relacionada
RANK	Receptor de membrana altamente específico
RANKL	Factor nuclear kappa-B
RHOO•	Hidroperoxilo
RL	Radicales libres
RO•	Alcoxilo
ROO•	Peroxilo
Se	Selenio
SOD	Superóxido dismutasa
TBA	Ácido tiobarbitúrico
TBARS	Sustancias reactivas a ácido tiobarbitúrico
TEAC	Equivalente en Trolox
TGFβ	Factor de crecimiento transformante beta
TMP	1,1,3,3-tetrametoxipropano
TNF	Factor de necrosis tumoral
VLDL	Lipoproteínas de muy baja densidad
VO <sub>2</sub> máx	Consumo de oxígeno máximo

### **III. INTRODUCCIÓN**

La osteoporosis es una de las enfermedades crónico-degenerativas de mayor prevalencia durante el envejecimiento, se caracteriza por una reducción del tejido óseo (masa ósea) y deterioro de la calidad de éste, lo que provoca un aumento en la fragilidad del hueso y un mayor riesgo de fractura. Si bien es cierto que esta patología no representa una amenaza para la vida, sus efectos con frecuencia sí lo son ya que una persona con osteoporosis puede sufrir una discapacidad o inmovilidad parcial y por consiguiente requerir cuidados a largo plazo que van a disminuir su calidad de vida; en este sentido se ha señalado que en las personas mayores con fractura de cadera aumenta la probabilidad de fallecer dentro de los 12 meses posteriores como resultado directo de la misma.

La prevalencia de la osteoporosis varía ampliamente en el mundo, se dice que va del 16 al 30%. Aunque se considera que este problema se limita fundamentalmente a la población blanca, debido a que actualmente en el norte de Europa y Estados Unidos ocurren la mitad de todas las fracturas de cadera a nivel mundial, se estima que para el año 2050 el mayor incremento de fracturas de cadera por osteoporosis ocurra en América Latina representando un problema de salud pública por que desafortunadamente en Latino América no se cuenta con recursos médicos suficientes para el diagnóstico, tratamiento y rehabilitación de la osteoporosis. En este sentido, en 1998, se informó que uno de cada cuatro mexicanos padecía osteopenia u osteoporosis, y que se presentaban más de 100 casos de fracturas de cadera diarias.

Por otro lado, existen datos que sugieren que existe una relación entre el EOx y la pérdida de hueso durante el metabolismo óseo, así mismo se ha demostrado que el EF es benéfico para la salud ósea, sin embargo, no se ha establecido la regularidad ni la intensidad en la que se debe de realizar, para poder reducir el EOx y a su vez aumentar la DMO.

Por tal motivo, el objetivo de esta investigación es evaluar el efecto de un programa de ejercicio físico sobre la DMO y EOx en una población de adultos mayores con el fin de disponer del conocimiento científico que permita proponer programas de intervención en personas que aún no tienen osteoporosis, pero tienen un alto riesgo, evitando con ello las fracturas y el deterioro en su calidad de vida.

#### **IV. MARCO TEÓRICO**

La relación entre el EOx y la génesis de algunas enfermedades presentes en la etapa de la vejez, como la aterosclerosis, la enfermedad cardiovascular, algunos tipos de cánceres, la enfermedad de Alzheimer y la osteoporosis ha tenido gran importancia en los últimos años.<sup>1</sup>

Se ha señalado a la osteoporosis como la enfermedad metabólica ósea más frecuente, con un 16% de casos en México, aunque el incremento de la expectativa de vida de esta población ha hecho que la tendencia aumente, afectando mucho más a las mujeres que a los hombres.<sup>1-3</sup>

Por otro lado, se ha señalado que el EF es benéfico para la salud en especial para mejorar la DMO del adulto mayor, al reducir los niveles de especies reactivas de oxígeno (EROs) las cuales se han relacionado con el desarrollo de esta patología, y al ejercer una acción mecánica sobre los huesos, lo cual permite la generación o evita el avance de la deposición.<sup>4-6</sup>

Considerando lo antes mencionado, a continuación se muestra una breve exposición de los conceptos necesarios para el buen entendimiento y fundamentación de la presente investigación. Se comenzará con composición y metabolismo del hueso así como sus principales enfermedades. Posteriormente se enunciarán acepciones básicas de los radicales libres (RL), las principales fuentes de prooxidantes, los mecanismos de defensa antioxidante más importantes tanto endógenos como exógenos y los mecanismos que inducen el EOx y el envejecimiento, las deficiencias en la DMO en el marco del EOx así como la relación que existe entre el ejercicio físico y éstas últimas.

## **IV.1 RADICALES LIBRES**

Como proceso natural de vida llevamos a cabo distintas reacciones metabólicas, para las cuales es necesario el gasto de energía, y como organismos aerobios el consumo de oxígeno ( $O_2$ ), que participa en muchas de las reacciones generando RL, los cuales de no ser neutralizados pueden provocar lesiones en las biomoléculas y en las células favoreciendo el desarrollo de enfermedades y el envejecimiento en los órganos y tejidos.<sup>1</sup>

Los RL son átomos o grupo de éstos que tiene un electrón desapareado por lo que buscan electrones de otras moléculas con el fin de alcanzar la estabilidad electroquímica; después de haber perdido un electrón de su orbital externo, la molécula que antes era estable se convierte ahora en RL, presentando una configuración espacial de alta inestabilidad potencialmente dañina capaz de extraer el electrón que necesita de otras biomoléculas.<sup>7-9</sup>

### **IV.1.1 Producción endógena de radicales libres**

Los RL no son intrínsecamente deletéreos, también son funcionales, como muchas otras moléculas que son benéficas para el organismo pero que en grandes cantidades suelen afectarnos, el propio cuerpo los fabrica en cantidades moderadas y tienen variadas funciones, como defensa en contra de bacterias y virus, en los sistemas enzimáticos y en la señalización celular, entre otras. Estos RL que son producidos por el cuerpo llevan a cabo determinadas funciones y de son neutralizados fácilmente por el propio sistema, en condiciones normales.<sup>8,9</sup>

Como parte de un intrincado sistema de reacciones que ocurren en el organismo, la liberación de RL se da con el simple hecho de respirar, pues la necesidad del organismo de captar oxígeno también se da a nivel celular. La mitocondria es el

---

---

centro metabólico de la célula y un sitio importante para la formación de RL. En la cadena respiratoria mitocondrial o cadena de transporte de electrones (Figura IV.2), se da su formación, a través de la acción de cuatro complejos, por los cuales fluyen el hidrógeno y los electrones a partir de los componentes de mayor potencial negativo, hacia los componentes de mayor potencial redox positivo. El complejo I (NADH (Nicotinamida adenina dinucleótido)-ubiquinona oxidoreductasa) y II (Succinato-ubiquinona oxidoreductasa) captan NADH y FADH<sub>2</sub> (Flavina adenina dinucleótido) formados en la glucólisis, transportando los electrones contenidos en estas moléculas a la ubiquinona o coenzima Q, la cual los traslada al complejo III (Ubiquinol-citocromo c oxidoreductasa), para seguir con el paso de los electrones y bombeando protones, posteriormente llegan al complejo IV (Citocromo c oxidasa) reduciendo la mayor parte del oxígeno utilizado por el organismo en agua (figura IV.1).<sup>9</sup>



Figura IV.1. Reacción simplificada del transporte de electrones por el oxígeno con producción de dos moléculas de agua.

Esta reacción es la última etapa de producción de protones de alta energía, generando un gradiente eléctrico que aporta la energía necesaria para que se active el complejo V (ATP (Adenosina Trifosfato)-sintetasa) y la célula forme ATP. Debido a su paso a través de la membrana interna mitocondrial, por medio de este proceso de fosforilación oxidativa el oxígeno actúa como aceptor final de electrones, adquiriendo cuatro de éstos por dos moléculas de agua producida.<sup>9,10</sup>

El O<sub>2</sub> es fundamentalmente birradical ya que tiene 2 electrones no apareados en su orbital externo, ambos con el mismo giro paralelo, impidiendo que capte 2 electrones simultáneamente en las reacciones que interviene, por lo que solo puede intervenir en reacciones univalentes y aceptar los electrones de uno en uno.<sup>9,11-13</sup>

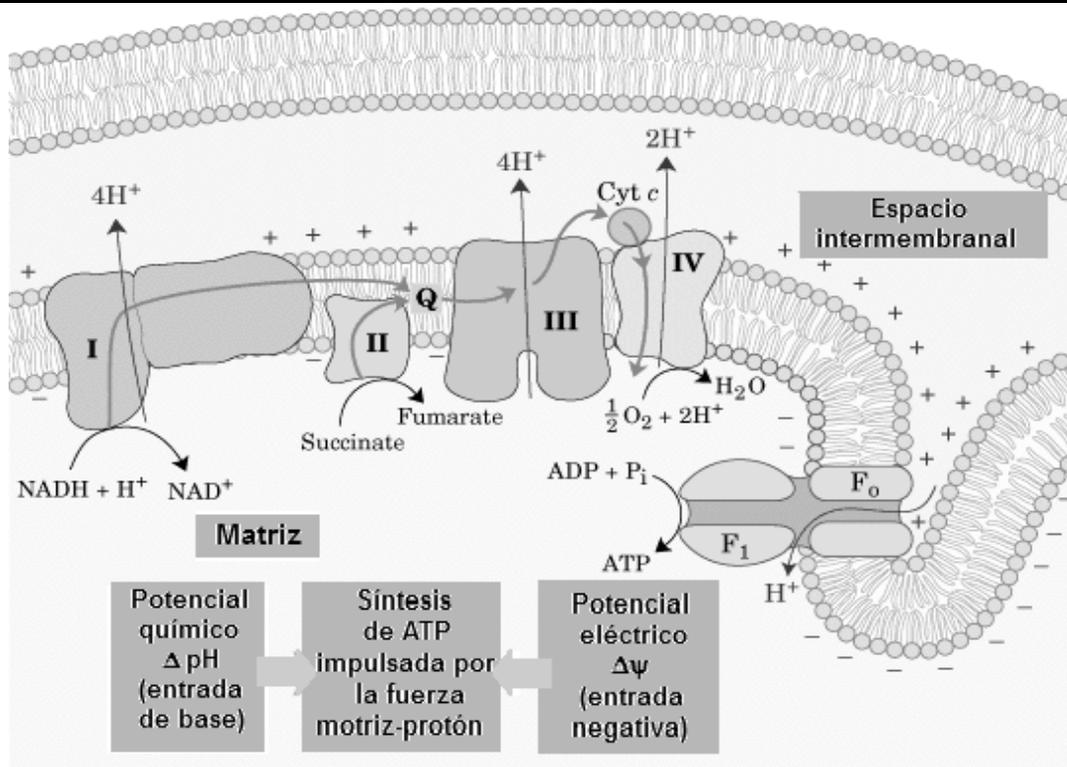
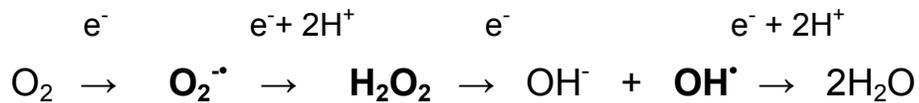


Figura IV.2. Producción endógena de RL por la cadena de electrones en la membrana interna de la mitocondria. Tomado de Lehninger (2001).

Es por lo anterior que la reacción se da en 4 paso univariantes, generando de esta forma 3 especies reactivas de oxígeno (EROs) (figura IV.3):



En donde:

$e^-$  = electrón

$\text{H}^+$  = hidrogeniones

$\text{O}_2^{\cdot -}$  = radical anión superóxido

$\text{H}_2\text{O}_2$  = peróxido de hidrógeno

$\text{OH}^{\cdot}$  = radical hidroxilo

$\text{H}_2\text{O}$  = agua

Figura IV.3. Reacción de transporte de electrones con generación de EROs

---

Estos intermediarios señalados se unen al sitio activo de la citocromo-oxidasa y no se difunden al resto de la célula en condiciones normales. El peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) no es un RL pero por su capacidad de generar el ion hidroxilo ( $\text{OH}^\cdot$ ), en presencia de metales como lo es el hierro (Fe), en la conocida reacción de Fenton, se incorpora como tal (Figura IV.4).<sup>9,10,14-16</sup>

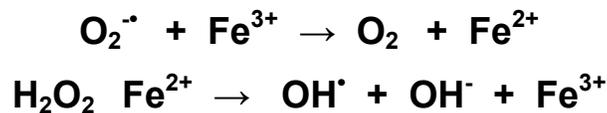


Figura IV.4. Reacción de Fenton en la cual se involucran sales de Fe.

A su vez una fuente importante de radicales hidroxilo es la reacción de Haber-Weiss, la cual es la condensación de Fenton pero sin los intermediarios del Fe (Figura IV 5).<sup>17,18</sup>



Figura.5. Reacción de Haber-Weiss mediante la cual se generan radicales hidroxilo

Otras fuentes de generación de RL endógenos son los peroxisomas, organelos del que generan  $\text{H}_2\text{O}_2$ , que a su vez cuentan con enzimas oxidativas.<sup>19</sup>

Los leucocitos polimorfonucleares también constituyen una fuente importante, debido a que poseen en sus membranas la enzima NADPH oxidasa generadora de  $\text{O}_2^\cdot$  que en presencia de Fe se transforma  $\text{OH}^\cdot$ .<sup>20</sup>

La enzima xantina oxidasa predomina en los endotelios y es capaz de generar  $\text{O}_2^\cdot$  así como  $\text{H}_2\text{O}_2$ ; esta enzima genera estos RL durante su ciclo catalítico, al participar como proteína de transporte electrónico, conteniendo como cofactor molibdeno (Mo) para la catálisis de la oxidación de la xantina a ácido úrico.<sup>9,10,21,22</sup>

---

Algunos otros RL menos reactivos y que forman parte de los basados en el oxígeno, son el peroxilo ( $\text{ROO}\cdot$ ), alcóxilo ( $\text{RO}\cdot$ ), e hidroperoxilo ( $\text{RHOO}\cdot$ ), generados por la reacción de  $\text{OH}\cdot$  y  $\text{O}_2\cdot^-$  con biomoléculas, específicamente por el ataque a carbonos centrales convirtiéndolos en especies reactivas que desencadenan reacciones de formación de diversos RL con el fin de estabilizar su configuración.<sup>23</sup>

Por otro lado así como existen RL derivados del oxígeno, también hay los que están formados por el nitrógeno o especies reactivas del nitrógeno (ERNs), como los son el óxido nítrico ( $\text{NO}\cdot$ ), factor citotóxico liberado por macrófagos activos después de la agresión inmune e estimulador de la gualinato ciclasa y el dióxido nítrico ( $\text{NO}_2\cdot^-$ ). El riesgo celular del  $\text{NO}\cdot$  radica en la combinación de este con el  $\text{O}_2\cdot^-$  ya que al reaccionar forman peroxinitrilo ( $\text{ONOO}\cdot^-$ ) poderoso oxidante que daña a una gran cantidad de moléculas biológicas; éste RL a su vez puede formar  $\text{OH}\cdot$ , al descomponerse en pH ácido.<sup>24,25</sup>

La formación de los RL se da en condiciones fisiológicas normales en cantidades tales que los mecanismos defensivos celulares proporcionen un control efectivo. En situación patológica esta producción se incrementa sustancialmente, ingresándose al estado de EOx.<sup>26-28</sup>

#### **IV.1.2 Producción exógena de radicales libres**

Así como hay RL que se generan intracelularmente, los hay producidos por agentes externos como lo son:

- Químicos: aumento en la concentración de metales pesados, xenobióticos, componentes del tabaco, drogas como la adriamicina, etanol, antibióticos, el tetracloruro de carbono, algunos anestésicos
- Físicos: radiaciones ultravioleta y ionizantes, hiperoxia.

---

– Orgánicos y metabólicos: dieta hipercalórica, dieta insuficiente en antioxidantes, diabetes, procesos inflamatorios y traumatismos, fenómenos de isquemia-reperusión y ejercicios extenuantes.<sup>7,9,29,30</sup>

### **IV.1.3 Reactividad de los radicales libres y daño a biomoléculas**

Gran parte de los RL suelen ser extremadamente inestables por lo que su vida media es de microsegundos, pero cuentan con la capacidad de reaccionar con muchas de la moléculas que se encuentran a su alrededor, formando otros RL, dando lugar en ocasiones a reacciones en cadena, la cuales pueden comenzar en un sitio y terminar en uno muy diferente al de inicio.<sup>7</sup> Los principales afectados por los RL, son los lípidos insaturados, las proteínas, ácidos nucleicos y carbohidratos.<sup>31,32</sup>

#### **Daño a lípidos**

Este tipo de moléculas son las más susceptibles, pueden ser atacados tanto por el RL  $\text{OH}^\bullet$  como por el  $\text{H}_2\text{O}_2$  y oxígeno singulete ( $^1\text{O}_2$ ), estos reaccionan con ácidos grasos poli-insaturados encontrados en la membrana celular oxidándolos. Este proceso de peroxidación lipídica se lleva a cabo en tres pasos, la primera es la iniciación, en donde el RL toma un átomo de hidrógeno ( $\text{H}^\bullet$ ) de un metilo, con un doble enlace adyacente, formado un RL lipídico, posteriormente la molécula sufre un reajuste, produciendo un dieno conjugado, reaccionando con oxígeno molecular formando un radical peroxilo, este RL tiene la capacidad de sustraer a su vez un hidrógeno de otro ácido graso, provocando un reacción en cadena, y formando a su vez una mayor cantidad de RL. Estas reacciones culminan solo cuando el sustrato se agota o cuando la defensa antioxidante se opone a éstas ocasionando un daño a las membranas celulares. A estas reacciones en cadena de lipoperoxidación también se les da el nombre de de reacciones de iniciación, propagación y terminación (Figura IV.6).<sup>33,34</sup>

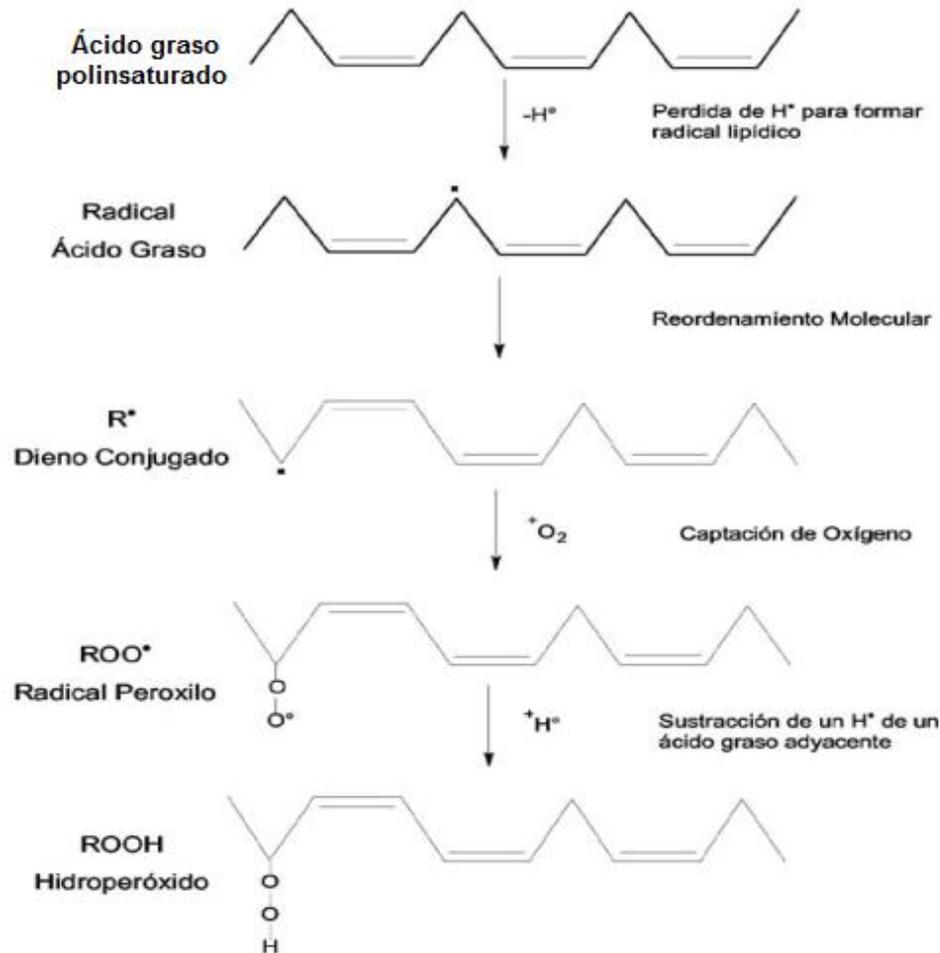


Figura IV.6. Reacción de inicio y propagación de peroxidación lipídica.

Los productos resultantes de la peroxidación lipídica como hidrocarburos volátiles, alcoholes o aldehídos pueden terminar lejos del lugar donde se inició la reacción, por lo que el daño a biomoléculas puede ser más extenso, causando edemas, cambiando la permeabilidad de la membrana, fluidez, así como alteraciones en la actividad de los receptores membranales.<sup>8,35</sup>

### Daño a Proteínas

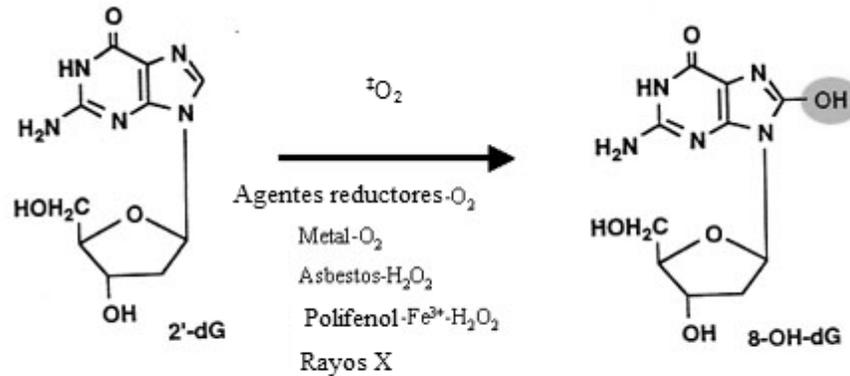
Estas moléculas aun cuando no son tan susceptibles al daño ocasionado por los RL como lo son lípidos, sufren una importante modificación en sus estructuras, originando fragmentaciones o entrecruzamientos con otras proteínas,

dependiendo de la especie reactiva involucrada en la reacción. El radical  $\text{OH}^\bullet$  puede modificar cualquier aspecto de la estructura proteica. El  $\text{O}_2$  y el  $\text{O}^\bullet$  pueden actuar transformando los productos iniciales de la reacción del  $\text{OH}^\bullet$  incrementando el daño. Los residuos de aminoácidos que son atacados con más frecuencia por éstos RL son la tirosina, triptófano, histidina, metionina y cisteína. Las modificaciones debidas al daño oxidativo de la estructura proteica primaria, secundaria y terciaria se relaciona, con la susceptibilidad a la degradación por enzimas proteolíticas debido a la carboxilación o cambios en la estructura, que ocasionan que las proteínas desnaturalizadas representen un buen sustrato para los sistemas proteolíticos celulares.<sup>36-39</sup>

### **Daño a ADN**

La exposición a especies reactivas implica la alteración de biomoléculas celulares como el Ácido Desoxirribonucleico (ADN), estas alteraciones pueden llegar a generar mutaciones, llevando posiblemente a la síntesis de proteínas defectuosas. La desoxirribosa al ser susceptible a la oxidación puede inducir la disolución del enlace desoxirribosa-fosfato, así como rompimiento de cadenas sencillas de las hebras de ADN, por un ataque directo de RL hidroxilo, con un consecuente daño a cadenas dobles, originando productos como la 8-hidroxiadenina. Los carbonos 4 y 5 son los sitios primarios de ataque ya que son los más expuestos.<sup>36,40,41</sup>

El  $^1\text{O}_2$  reacciona con la guanina del ADN, eliminándola o formando productos derivados de la reacción como la 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina (Figura IV.7). De esta forma se provoca un daño y mal funcionamiento en la célula induciéndose mutaciones y desarrollo celular descontrolado.<sup>42-43</sup>



Formación de 8-OHdG por ERO's

Figura IV.7. Formación de 8-OHdG por ataque de oxígeno singlete a guanina.

### Daño a Carbohidratos

El conocimiento en cuanto a los efectos de los RL sobre los carbohidratos son poco conocidos pero se ha podido establecer que los polisacáridos del grupo de los glucosaminoglucanos son susceptibles a las EROs en particular a  $\text{OH}^\bullet$  y  $\text{O}_2^{\bullet-}$ , provocando alteraciones en proteoglicanos, relacionándose con el incremento de procesos inflamatorios.<sup>44</sup>

## IV.2 SISTEMA ANTIOXIDANTE

El mantenimiento de la homeostasis oxido-reducción en los organismos es posible gracias a que existe un sistema de defensa antioxidante y un conjunto de procesos de reparación de biomoléculas que evitan la acumulación del daño por RL, protegiendo de esta forma en contra del incremento de padecimientos crónico degenerativos.<sup>40</sup>

El organismo posee un sistema de defensa antioxidante, que en condiciones normales mantienen en concentraciones bajas los EROs, evitando un daño a

---

biomoléculas. Este sistema comprende diversos tipos de moléculas antioxidantes.<sup>40,45</sup>

Un antioxidante se define como aquella sustancia que presente en bajas concentraciones comparadas con el sustrato oxidable disminuye o previene significativamente la oxidación del sustrato. El sistema antioxidante emplea mecanismos de protección, previniendo la formación de EROs y neutralizándolos. Los antioxidantes impiden la unión de otras moléculas con el oxígeno, interactuando y reaccionando antes que ellas.<sup>46-48</sup>

Los antioxidantes pueden actuar tanto intra como extracelularmente, y pueden ser enzimáticos y no enzimáticos (Cuadro IV.1).<sup>46</sup>

Cuadro IV.1. Clasificación de los antioxidantes según el sitio donde ejercen su acción

<b>Intracelular</b>	<b>Membrana</b>	<b>Extracelular</b>
SOD	Vitamina E	Ceruloplasmina
Catalasa	Betacarotenos	Transferinas
Peroxidasa	Ubiquinol-10	Lactoferinas
DT-deafarasa		Albúminas
GPx		Haptoglobinas
Proteínas que ligan metales		Vitamina C
Sistemas proteolíticos		Ácido úrico
Vitamina C		Vitamina E

---

SOD: superóxido dismutasa, GPx: glutatión peroxidasa

## IV.2.1 Antioxidantes enzimáticos

Estos antioxidantes están presentes en la célula, de las cuales las principales enzimas son: la SOD, la catalasa y la GPx.

### Superóxido dismutasa

Grupo de tres diferentes metaloenzimas ubicadas en citoplasma, mitocondria y en fluidos extracelulares, l.<sup>40,49, 50</sup>

Estas enzima dismuta el ion superóxido en peróxido de hidrógeno y oxígeno molecular (Figura IV.8).<sup>49</sup>

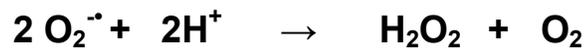


Figura IV.8. Reacción de dismutación del ion superóxido por la SOD

La primer forma en las que se puede encontrar es como Cu/ Zn-SOD, ubicada en el citoplasma celular, su peso molecular es de 33 kDa, contiene dos subunidades proteicas, y sitios activos uno contiene al cobre el cual realiza la dismutación y otro el Zn el cual tiene la función de estabilizar a la molécula.<sup>40,49,51</sup>

La segunda es como Mn-SOD, ubicada en la mitocondria con peso molecular de 40kDa, así como en el citosol celular en los primates.<sup>49</sup>

La tercer forma en la que se puede encontrar esta enzima es como Cu/ Zn SOD o EC/SOD, este tipo de enzima se encuentra ubicada en líquidos extracelulares, removiendo el ion superóxido.<sup>40,49</sup>

## **Catalasa**

Es una enzima que consiste de cuatro subunidades proteicas, cada una con un grupo hemo unido al sitio activo. Se localiza en peroxisomas celulares y en el citoplasma, en donde cataliza la reacción de transformación de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en agua, realizándose el intercambio oxido-reducción por acción del átomo de Fe (Figura IV.9).<sup>40,46,52</sup>



Figura IV.9. Reacción de descomposición del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> catalizada por la catalasa

Esta hemoenzima tetramérica, es considerada un antioxidante debido a que mantiene controlados los niveles de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> liberado por la SOD.<sup>49,51</sup>

## **Glutación peroxidasa**

Esta enzima, está compuesta por cuatro subunidades proteicas, conteniendo en cada una de ellas un átomo de selenio (Se). Esta enzima cataliza la descomposición de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> reduciéndolo y utilizando al glutatión reducido (GSH) como sustrato (Figura IV.10).<sup>47</sup>

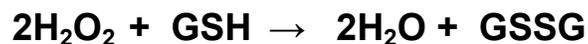


Figura IV.10. Reacción de catálisis por parte de la GPx.

De esta enzima existen dos formas básicas, dependiente de selenio (GPx-Se) y no dependiente (GPx-no-Se), en la primera el GSH reduce al Se y esta forma reducida de la enzima es la que reacciona con el peróxido de hidrógeno,<sup>47,48,52,53</sup> Estas enzimas, son la base de la protección del organismo impidiendo que otras biomoléculas se unan al O<sub>2</sub> al reaccionar más rápido que ellas, mediante diferentes mecanismos, que llevan a un mismo fin, la neutralización o formación de especies oxidantes (Figura IV.11).<sup>44</sup>

---

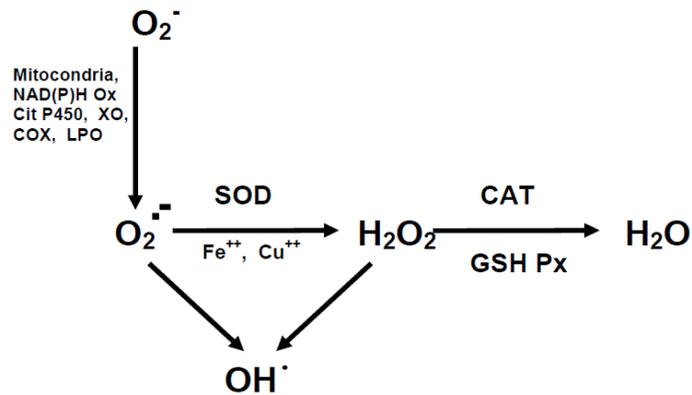


Figura IV.11. Representación de las distintas reacciones que puede sufrir el anión superóxido según la presencia enzimática y de algunos metales.

## IV.2.2 Antioxidantes no enzimáticos

Este grupo de antioxidantes no se sintetizan por el organismo, por lo que es necesario adquirirlos de fuentes exógenas, ya sea en los alimentos o por suplementación.

### Vitamina C

Esta vitamina hidrosoluble, es una de las más importantes en plasma, es capaz de neutralizar al  $^1\text{O}_2$ , captura radicales  $\text{OH}^\cdot$ ,  $\text{O}_2^-$ , estimula el poder antioxidante de la vitamina E regenerar el radical tocoferoxilo.<sup>44,54</sup>

Su principal propiedad es la de donar dos electrones, cuando se encuentra en forma de ascorbato, reaccionando antes que cualquier biomolécula, y actuar como cofactor de varias enzimas.<sup>55-57</sup>

### Vitamina E

También llamado  $\alpha$ -tocoferol, es el antioxidante por excelencia de los medios lipídicos del organismo, actuando principalmente sobre ácidos grasos insaturados

de la membrana celular, inhibiendo la lipoperoxidación, de lipoproteínas, en especial en lipoproteínas de baja densidad.<sup>54,56</sup> Convierte el radical  $O_2^{\cdot-}$ , y el  $H_2O_2$  en formas menos reactivas como hidroperóxidos lipídicos y el radical tocoferoxilo, así como neutralizar al  $^1O_2$ .<sup>58,59</sup>

## **Carotenoides**

Son un grupo de antioxidantes liposolubles precursores de la Vitamina A, basados en una estructura carbonada isoprenoide, entre los cuales se encuentran  $\alpha$  y  $\beta$ -carotenos, licopeno criptoxantina y luteína, siendo el de mayor importancia el  $\beta$ -caroteno. Son los eliminadores principales del  $^1O_2$ , también pueden desempeñar un papel importante en la prevención de la lipoperoxidación.<sup>60,61</sup>

## **Vitamina A**

También conocida como retinol, está presente principalmente en los alimentos de origen animal, transportada a los tejidos en combinación con proteínas transportadoras de retinol, también puede ser adquirida por el organismo después de la reacción del  $\beta$ -caroteno con la oxigenasa en la mucosa intestinal, formando dos moléculas de retinol. Esta vitamina actúa eliminando al  $^1O_2$  y a los lipoperoxidos.<sup>62</sup>

## **Flavonoides**

Antioxidantes del grupo de los polifenoles, se presentan en frutas, vegetales así como en algunas plantas, estas especies antioxidantes, actúan como quelantes de metales así como captadores *in vitro* de EROs y ERNs.<sup>44,62</sup>

### IV.3 ESTRÉS OXIDATIVO

El EOx está definido como el desequilibrio bioquímico propiciado por la producción excesiva de EROs y RL que provocan daño oxidativo a las biomoléculas y que no puede ser contrarrestado por los sistemas antioxidantes (Figura IV.12);<sup>63</sup> este depende tanto de la agresividad del oxidante, la cantidad de este, el tiempo de exposición, así como de la eficiencia del sistema antioxidante.<sup>64</sup> El EOx en células y tejidos se refiere según diversos autores al aumento de generación de RL como  $O_2^{\cdot-}$  y  $H_2O_2$  debido a un mayor exposición al oxígeno, a ciertas toxinas o a la activación de fagocitos por algún tipo de infección.<sup>26,65</sup>

El EOx ha sido asociado con el desarrollo de diversas enfermedades se ha señalado que tiene un papel importante, sobretodo en aquellas enfermedades que conllevan un proceso inflamatorio, como la diabetes, artritis, enfermedades cardiovasculares y osteoporosis, entre otras; la mayoría de estas presentes en el envejecimiento.<sup>7,66, 67</sup>



Figura IV.12. Representación del desequilibrio existente entre agentes pro-oxidantes y antioxidantes conllevando a desarrollar daños oxidativos por medio de la alteración a la homeostasis. Tomado de Barbosa (2008).

Algunos autores han propuesto que la producción excesiva de RL, con el consecuente EOx, es partícipe de la génesis del envejecimiento o al menos una parte fundamental e inherente a este proceso.<sup>67</sup>

#### **IV.4 ENVEJECIMIENTO**

El envejecimiento es un proceso multifactorial, deletéreo, progresivo e intrínseco que sobreviene en los seres vivos con el paso del tiempo a consecuencia de la interacción de la genética del individuo y su medio ambiente, por lo que se da de manera individualizada, involucrando mecanismos biológicos, psicológicos y sociales.<sup>68,69</sup>

También podría definirse como la acumulación de alteraciones que se producen en un organismo y que conducen a pérdidas funcionales y a la muerte; algunas de estas alteraciones biológicas son la reducción de masa y fuerza tanto muscular como esquelética, disminución en audición y visión, entre otras.<sup>70,71</sup>

De este modo debido al proceso de envejecimiento, se presentan disminuciones en las funciones fisiológicas debido al daño producido tanto en órganos como en sistemas, por lo que el organismo deberá responder de manera activa ante tales amenazas, haciendo uso de una serie de mecanismos con el fin de mantener la homeostasis, definidos como alostasis o procesos de adaptación ante retos. Cuando el organismo es sometido a este tipo de situaciones en repetidas ocasiones el efecto es la disminución en la eficiencia de la defensa, conduciendo y favoreciendo la aparición de padecimientos infecciosos y crónico-degenerativos.<sup>71-73</sup>

Algunos de estos padecimientos han llegado a tener gran relevancia en los últimos años debido a su gran incidencia y a los problemas que consigo acarrear, la pérdida desmedida del tejido óseo es uno de éstos, aunque la disminución de este

tejido se considere como parte del proceso normal de envejecimiento, se debe de dar a determinados niveles a lo largo del tiempo para no considerarse una enfermedad crónico degenerativa.

## **IV.5 METABOLISMO DE LA ESTRUCTURA ÓSEA**

### **IV.5.1 Composición del hueso**

El hueso es un tejido conectivo que cumple diversas funciones, que incluyen las de sostén, protección, almacenamiento de minerales y hematopoyesis. se divide en hueso cortical (compacto) y hueso trabecular (esponjoso). Está compuesto en un 30% por una matriz orgánica extracelular; 60% un componente mineral inorgánico y un conjunto de células de origen mesenquimal, osteoblastos, osteocitos y osteoblastos. En el esqueleto adulto, el 80 % del volumen óseo corresponde a hueso compacto y el 20% restante a hueso esponjoso.<sup>6,12,13,74</sup>

#### **Componentes orgánicos**

Las fibras de colágeno y proteínas estructurales constituyen más del 90% de la matriz orgánica, el 10% restante lo componen una serie de proteínas no estructurales de menor tamaño entre las que se encuentran la osteocalcina, la osteonectina, algunas fosfoproteínas, sialoproteínas, factores de crecimiento, proteínas séricas y pequeñas cantidades de fibrillas reticulares.<sup>6,12,13,74,75</sup>

#### **Componentes inorgánicos**

El componente inorgánico o mineral principal es la hidroxiapatita cristalina  $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$ , mineral de carácter alcalino, que se incrusta entre las fibras de colágeno para proporcionarle al hueso las características adecuadas de rigidez,

---

flexibilidad y resistencia; también se encuentran el sodio, magnesio, fosforo, carbonato y fluoruro.<sup>6,12,13,74,75</sup>

En el hueso maduro, el 99% del volumen de la masa ósea contiene depósitos de fosfato cálcico; aunque se sabe que la composición química del cristal óseo varía durante la vida la mayor parte del mineral adopta la forma de cristales de hidroxiapatita, aunque hay otras formas de cristalización inmaduras que probablemente sean depósitos de fosfato cálcico amorfo. El 1% restante no presenta depósitos de sales minerales y se llama osteoide, compuesto por células específicamente óseas, como lo son el osteoclasto, el osteoblasto y el osteocito.<sup>6,12,13,74,75</sup>

### **Osteoblastos y osteocitos**

Los osteoblastos, son las células responsables de la formación de la sustancia osteoide, secretando y mineralizando paquetes de matriz ósea; derivan de precursores celulares en el estroma conocidos como preosteoblastos y éstos de las células medulares de estirpe fibroblástica. Estas células expresan abundantemente fosfatasa alcalina, enzima que probablemente contribuye a la mineralización de la matriz liberando fosfato inorgánico, la mayoría de osteoblastos acaban encerrados en el osteoide que fabrican y se diferencian en osteocitos. Los osteocitos son células que ocupan las lagunas situadas en el interior de la sustancia ósea, al principio osteoide, después mineralizada y cuyos márgenes son asientos de cambios de mineralización.<sup>6,12,13,74,75</sup>

### **Osteoclastos**

Constituyen células grandes, móviles y multinucleadas, que erosionan y reabsorben el hueso previamente formado, creando lagunas y surcos de bordes festoneados. Los osteoclastos derivan de las células madres pluripotenciales troncales hematopoyéticas en la vía de los monocitos. Se adhieren al hueso en la

vía de las integrinas en una extensión de la membrana llamada zona de sellado, una vez adheridos firmemente, secretan hidrogeniones que disuelven la hidroxiapatita y enzimas proteolíticas, como la catepsina K, responsable de la degradación del colágeno. Se ha demostrado que existe una asociación entre la génesis de la producción de osteoclasto con la muerte o daño a osteocitos.  
6,12,13,74,75

#### **IV.5.2 Remodelación ósea**

Durante el crecimiento se da un desarrollo longitudinal del hueso, remodelándose continuamente las regiones metafisiarias más gruesas al alejarse la epífisis de la diáfisis del hueso. Sin embargo el remodelado óseo continúa a lo largo de toda la vida. La tasa de renovación para el esqueleto humano es de aproximadamente el 4% del hueso cortical y de 20% del hueso trabecular, al año.<sup>12,75,76,78</sup>

El remodelado óseo se lleva a cabo en la superficie del mismo. Como primer paso en el remodelado óseo se encuentra la activación de los osteoclastos, y la resorción ósea en donde la matriz mineralizada es reabsorbida por los osteoclastos, durante tres semanas excavando un túnel de entre 0.2 a 1 milímetro de diámetro y varios milímetros de longitud. Al cabo de este tiempo se da la apoptosis de los osteoclastos y en su lugar en el túnel se encuentran los osteoblastos, en la fase de inversión; dándose finalmente la formación de capas concéntricas o laminillas de hueso nuevo formadas por la acción de grupos de osteoblastos. Este depósito de hueso continúa durante varios meses hasta llenar por completo la cavidad perpetrada por los osteoclastos (figura IV.13).<sup>12,75-77</sup>

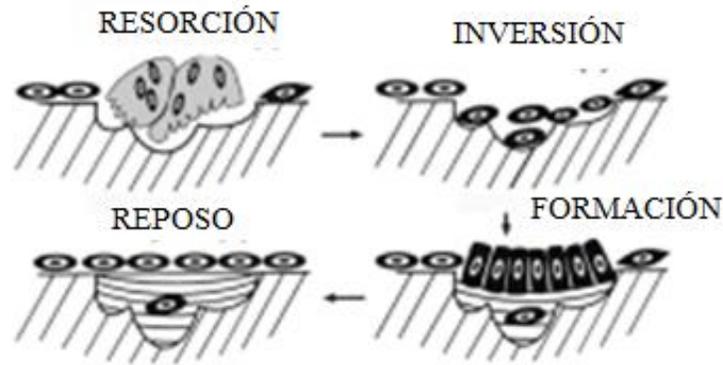


Figura IV.13 Diferentes etapas del remodelado óseo. Tomado de Riancho (2004).

El depósito de hueso nuevo cesa cuando se comienza a invadir los vasos sanguíneos circundantes, por lo que la remodelación se da solo en las periferias de los canales de Havers en el hueso cortical o lagunas de Howship en el hueso trabecular. Esta secuencia de fenómenos está estrechamente coordinada, en el tiempo y el espacio.<sup>12,75,77,78</sup>

### IV.5.3 Regulación de la remodelación ósea

Algunas hormonas actúan modulando la producción local de factores del crecimiento y citocinas cuyos efectos, a su vez, pueden ser mediados por otros agentes, como las prostaglandinas. También algunas moléculas como los hidrogeniones, el  $O_2$ , el  $PO_4^{3-}$  o el  $NO$ , pueden actuar a nivel local (Cuadro IV.2).<sup>12,75,77,78</sup>

El remodelado óseo se relaciona en parte con los esfuerzos impuestos al esqueleto por la gravedad, las tensiones que resultan de las cargas mecánicas son un regulador importante del remodelado en algunas partes del esqueleto. Evidencias demuestran que los huesos largos y los cuerpos vertebrales necesitan cargas pequeñas, pero frecuentes, para mantener su masa. En último término, la masa y la resistencia del esqueleto vienen determinadas por la necesidad de

---

resistir las cargas y las deformaciones impuestas por las actividades extremas de la vida diaria.<sup>12,75,77,78</sup>

Cuadro IV.2. Diferentes factores que determinan la regulación ósea

---

## FACTORES

---

### 1. Hormonas

Hormona paratiroidea (PTH):

↑ formación y actividad OC; ↑ proliferación y actividad OB → ↑ turnover

PTH intermitente: ↑ formación ósea in vivo

PTH altas dosis continuadas: ↑ resorción ósea → pérdida de hueso

1,25(OH)<sub>2</sub>-vitamina D:

↑ formación y actividad OC; ↓ proliferación OB; ↑ diferenciación OB

Calcitonina: ↓ formación y actividad OC

Hormonas sexuales (estrógenos y andrógenos):

↓ formación y actividad OC ; ↑ actividad OB (posible)

Deficiencia → ↑ turnover, osteoporosis

### 2. Factores locales (paracrinos y autocrinos)

Factores de crecimiento y citocinas:

Efectos variables sobre la formación y actividad de los OC y OB

Otras moléculas:

Prostaglandinas: ↑ reclutamiento OC, ↑↓ actividad OC

ATP extracelular: ↑ formación y actividad OC, ↓ actividad OB

### 3. Agentes inorgánicos (locales y sistémicos)

H<sup>+</sup> extracelulares (pH <7,2): ↑ actividad OC, ↓ actividad OB

PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>: ↓ formación y actividad OC

Ca<sup>2+</sup>: ↓ formación y actividad OC (efecto limitado)

F<sup>-</sup>: ↑ formación ósea

Hipoxia: ↑ formación OC, ↓ función OB

Óxido nítrico: ↑↓ formación y actividad OC, ↑↓ actividad OB; necesario para el remodelado normal, interviene en la respuesta a las cargas mecánicas

### 4. Efectos mecánicos

Cargas regulares cíclicas: ↑ actividad OB, formación ósea, remodelado

Adaptativo

Ausencia de carga (encamamiento, ingravidez): ↑ formación y actividad de OC

---

(↑ = aumento; ↓ = disminución; OB = osteoblastos; OC = osteoclastos)

En la primer fase de la resorción, como parte de la remodelación ósea se da la señalización y acarreamiento de osteoclastos por parte de los osteocitos. Los osteocitos envían prolongaciones al interior de los canalículos los cuales se ramifican en toda la extensión del hueso, a su vez estas prolongaciones entran en contacto con otras para formar uniones apisonadas entre sí. No se ha dilucidado un metabolismo específico para estas señalizaciones pero se han destacado como posibles mediadores de respuesta a las prostaglandinas y el NO originando en los osteoblastos y osteoclastos diferentes reacciones.<sup>12,75,77,78</sup>

Para dar inicio a la osteoclastogénesis, respondiendo a la señal de los osteocitos, se da una activación por parte de células del estroma a la línea monocito-macrofágica que expresa el ligando del receptor activador del factor nuclear kappa-B (RANKL), el cual es necesario para que se dé la activación, después de haberse unido a su receptor de membrana altamente específico (RANK), expresado por los osteoclastos, células B y T. Una vez unido a su receptor, el RANKL estimula la diferenciación y fusión de células precursoras de osteoclastos, activa los osteoclastos maduros y prolonga su vida al inhibir la apoptosis, siempre y cuando haya cantidades suficientes de factor estimulante de colonias 1 (CSF-1) en el microambiente óseo.<sup>75,77-79, 86</sup>

Existe otro receptor segregado por los osteoblastos, conocido como osteoprotegerina (OPG), este receptor se interpone entre la unión RANKL/RANK inhibiendo la diferenciación y activación de los osteoclastos.<sup>75,77-79,84,86</sup>

La expresión de RANKL/OPG está regulada diferencialmente por diversos factores (Cuadro IV.3).<sup>75,77-79,84</sup>

Cuadro IV.3. Efectos de diferentes factores sobre la expresión de OPG y RANKL

<b>FACTOR</b>	<b>OPG</b>	<b>RANKL</b>
<b>TNF<math>\alpha</math></b>	↑	↑
<b>IL-1<math>\beta</math></b>	↑	↑
<b>IL-6</b>	↓	↑
<b>IL-4</b>	↓	
<b>IL-11</b>	↓	↑
<b>bFGF</b>	↓	↑
<b>TGF<math>\beta</math></b>	↑	↓
<b>BMP</b>	↑	
<b>Estrógenos</b>	↑	↓
<b>Glucocorticoides</b>	↓	
<b>Prostaglandina E2</b>	↓	↑
<b>PTH</b>	↓	↑
<b>PTHrP</b>	↓	↑

La mayoría de los factores que modulan el RANKL afectan inversamente a la síntesis de OPG. TNF: factor de necrosis tumoral, IL: interleucinas, bFGF: factor de crecimiento de fibroblastos, TGF $\beta$ : factor de crecimiento transformante beta, BMP: proteínas morfogenéticas óseas, PTH: hormona paratiroidea, PTHrP: Hormona paratiroidea-proteína relacionada.

Uno de estos factores, los estrógenos, también han demostrado su influencia sobre el remodelado, ya que, al existir una deficiencia, provocan una pérdida del tejido óseo en mujeres postmenopáusicas, debido a que además de la inhibición de secreción de citocinas como factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), interleucina 1 (IL-1) e interleucina 6 (IL-6) que provocan, también aumentan la secreción de OPG; y al verse disminuido este nivel estrogénico, prolifera la acción resorciva de estas citocinas.<sup>75,77-83, 85</sup>

A diferencia de estas últimas, las citocinas IL-4 y IL-11 promueven la proliferación y activación osteoblástica, específicamente la IL-4 tiene un efecto antiinflamatorio, pues disminuye la síntesis de IL-1 e IL-6, mientras que la IL-11 promueve la

---

formación de osteoblastos a través de proteínas morfogenéticas óseas (BMP).  
75,77-83,85

También interviene el factor de crecimiento transformante beta ( $TGF\beta$ ), que modula la maduración de los osteoclastos así como de las células del estroma, precursoras de los osteoblastos y estimula la síntesis de OPG. Consideradas dentro de la misma familia del  $TGF\beta$ , las BMP constan de receptores específicos que estimulan la diferenciación osteoblástica e inducen por consiguiente la formación ósea y cartílago durante el desarrollo esquelético, además de inducir la diferenciación de células de tejido conectivo hacia células osteoprogenitoras, como característica única.<sup>75,77-83</sup>

En la segunda fase de remodelado óseo, en donde se da la iniciación en la activación y proliferación de los osteoblastos, se da una pausa en la actividad osteoclástica con apoptosis o migración de osteoclastos. En esta fase los osteoblastos son activados por los osteoclastos que liberan factores de crecimiento como el  $TGF\beta$ , que a su vez estimula la liberación de OPG, activando la formación del hueso.<sup>75,77-83</sup>

En la fase de formación de hueso o terminación, las principales células que actúan sobre la síntesis de matriz ósea son los osteoblastos, células que además de realizar esta actividad son responsables de la activación de los osteoclastos. Asimismo se encargan de la producción de proteínas involucradas en la formación del hueso como son, osteocalcina, osteopontina, colágeno tipo I, glicosaminoglicanos, vitronectina, trombospondina y fibronectina además de expresar fosfatasa alcalina, contribuyendo a la mineralización de la matriz al liberando fosfato inorgánico. El mecanismo por el cual se diferencian los osteoblastos aun no es concluyente pero se han señalado factores que se involucran en este proceso, como lo son el factor transcripcional Runx2 expresado por la PTH y por la BMP y el factor Otrix (Osx), expresados por el factor de crecimiento de tipo insulina I (IGF-1).<sup>75,77-83, 86-88.</sup>

---

La superficie ósea está recubierta por una monocapa de osteoblastos aplanados, llamados células de revestimiento. Estas células expresan receptores para muchas hormonas como la PTH y la 1,25- dihidroxivitamina D, hormonas sexuales y glucocorticoides, así como factores de crecimiento y citocinas que a su vez influyen en ellos, ocasionando apoptosis del resto de estas células que no fueron apiladas en la monocapa, y produciendo la maduración de los osteoblastos ya establecidos, de este modo el ciclo de remodelado óseo continua, obteniendo de esta forma una mayor capital de masa ósea a lo largo de la vida.<sup>75,77-83</sup>

Asimismo el capital óseo adquirido, en las primeras décadas, alcanza su máximo nivel o pico de masa ósea entre los 20 y 35 años, a partir de entonces disminuye paulatinamente, acentuándose en mujeres postmenopáusicas. De este modo tanto la obtención de la masa ósea como de la causas de su disminución está determinado por factores biológicos, genéticos, hormonales, nutricionales, patológicos y de estilo de vida.<sup>75,77-83</sup>

Se asocia a la edad o el envejecimiento en sí, como factor biológico determinante en la pérdida de masa ósea, resultado del desequilibrio entre las fases de reparación y renovación, que se produce de forma progresiva perdiendo una pequeña pero sustancial cantidad de hueso, dando lugar a alteraciones estructurales. Dichas alteraciones dan como resultado la aparición de diversas enfermedades, las cuales se relacionan íntimamente con el factor causal. Una de las principales enfermedades que involucran una disminución en la densidad mineral ósea y contribuye en gran medida al riesgo de fracturas es la osteoporosis.<sup>75,77-83</sup>

## **IV.6 OSTEOPOROSIS**

La osteoporosis (literalmente „huesos porosos’) es una enfermedad ósea metabólica en la que los huesos se vuelven cada vez más frágiles, lo cual lleva a

---

un aumento del riesgo de fractura, particularmente de la cadera, de la columna y de los brazos.<sup>75,89,90</sup>

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define a la Osteoporosis como una enfermedad esquelética sistémica de hombres y mujeres, caracterizada por:

- Baja masa ósea.
- Deterioro de la microarquitectura del tejido óseo.
- Aumento del riesgo de fractura.<sup>91,92</sup>

Normalmente el tejido óseo sufre un proceso de remodelación constante en el cual experimenta degradación y regeneración, sin embargo, si el cuerpo comienza a reabsorber el hueso más rápido de lo que lo regenera, con el transcurso del tiempo se observa una disminución de la DMO y se produce la osteoporosis, con lo cual también podría definirse a esta enfermedad como una alteración de la remodelación que determina una pérdida de masa ósea.<sup>75, 93</sup>

En esta enfermedad la actividad osteoblástica del hueso es habitualmente inferior a la normal, y en consecuencia está disminuida la tasa de depósito osteoide. Aunque ocasionalmente la causa de la disminución del hueso es el exceso de la actividad osteoclástica.<sup>75,93</sup>

Existen diversos de factores de riesgo de padecer osteoporosis, de entre los cuales destacan:

- Malnutrición hasta el grado de no poder desarrollar suficiente matriz proteica.
- Falta de vitamina C que es necesaria para la secreción de sustancias intercelulares por todas las células, incluyendo la formación de osteoide por los osteoblastos.

- Falta de secreción de estrógenos en la posmenopausia y andrógenos, debido a que los éstos tienen una actividad estimulante de osteoblastos.
- Edad avanzada, en la que la hormona del crecimiento y otros factores estimuladores del crecimiento disminuyen notablemente, además de que muchas de las funciones del anabolismo proteico son escasas, de forma que no se puede depositar satisfactoriamente matriz ósea.
- Factores genéticos: sexo (la osteoporosis es más frecuente en la mujer); raza (es más propensa la raza blanca que la negra), carácter familiar (mayor incidencia en hijas de madres osteoporóticas), enfermedades hereditarias (osteogénesis imperfecta); constitución (delgadez).
- Catabolismo proteico, tiene el efecto específico de deprimir la actividad osteoblástica. Por lo tanto, muchas enfermedades con alteraciones del metabolismo proteico pueden causar osteoporosis.
- Falta de estrés físico sobre los huesos, como consecuencia de la inactividad.<sup>93-95</sup>

#### **IV.6.1 Clasificación**

Considerando la cualidad multifactorial de esta enfermedad podría resultar difícil clasificarla, por lo que desde un punto de vista práctico se pueden establecer dos grandes tipos, osteoporosis primaria y osteoporosis secundaria; la primera engloba tres situaciones: la debida al envejecimiento, a la menopausia y la idiopática; y la segunda es debida a factores esporádicos, como tratamientos médicos o consecuencia de otro proceso fisiopatológico.<sup>75,92,96</sup>

### **IV.6.2 Epidemiología**

A pesar de que la prevalencia es mayor en la raza blanca, se estima que para el año 2050 el mayor incremento de fracturas de cadera por osteoporosis ocurrirá en América Latina, debido al acelerado incremento de ancianos y aumento en la esperanza de vida.<sup>96</sup>

En el 2009, se reportó que el 17% de mujeres y 9% de hombres mexicanos de 50 años y más, padecían osteoporosis, diagnosticado en columna lumbar; mientras 16% de las mujeres y 6% de hombres tienen osteoporosis diagnosticada en cadera. Por lo que se ha proyectado que una de cada 12 mujeres y uno de cada 20 hombres de más de 50 años sufrirán una fractura de cadera. El número total de casos de fractura de cadera fue de aproximadamente 21,000 en el año 2005, y se espera que alcance 110,055 en el año 2050, aumentando en un 431%.<sup>97,98</sup>

El conocimiento de factores de riesgo, en busca de la prevención y tratamiento de esta enfermedad, es fundamental. Aun cuando gran parte los factores ya han sido asimilados, existen otros, que debido a su origen y a su poco estudio, no son del todo conocidos, un ejemplo de ello es el EOx.<sup>93,94</sup>

### **IV.6.3 Estrés oxidativo y densidad mineral ósea**

En algunas investigaciones en personas con osteoporosis, se ha encontrado una disminución en los antioxidantes endógenos y exógenos, las vitaminas C, E y A, las actividades de las enzimas involucradas en la inhibición de las EROs, como lo son la SOD y la GPx, así como concentraciones elevadas de marcadores de EOx, como son lipoperoxidos, F2-isoprostanos, malondialdehido (MDA) y 8-iso prostaglandina F2 $\alpha$  (8-iso-PGF2 $\alpha$ ). Algunos de estos estudios han demostrado que el EOx inducido por el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> estimula la pérdida de hueso, tanto por la

---

supresión en la diferenciación de los osteoblastos, como por la manifestación de una disminución de marcadores de la fosfatasa alcalina, el colágeno tipo 1 y las unidades formadoras de colonias osteoprogenitoras (UFC- O), también se ha señalado que el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> promueve la diferenciación de las células precursoras osteoclásticas, aumentando la resorción ósea, por lo que se ha sugerido que el EOx puede aumentar el riesgo de osteoporosis.<sup>99-103</sup>

El número de osteoblastos y la formación de hueso se ven reducidos al inhibirse la acción de la GSH y en consecuencia una disminución en la DMO. También se ha señalado que el aumento en EROs incrementa la resorción de hueso por formación de osteoclastos, derivados de la médula ósea (macrófagos/monocitos) debido a la estimulación del receptor activador RANKL. Igualmente el incremento en los niveles de MDA y NO en plasma y eritrocitos, aunado a una disminución en la enzima antioxidante catalasa aumenta la resorción ósea.<sup>3,102-104</sup>

#### **IV.8 EJERCICIO FÍSICO**

Todos los tejidos del cuerpo se atrofian cuando no se utilizan y el hueso no es ninguna excepción. Las presiones intermitentes de la carga y las fuerzas musculares transmitidas al cuerpo ejercen tensiones que crean corrientes piezoeléctricas que estimulan la deposición ósea por actividad osteoblástica. Las personas cuya actividad física es muy limitada el descenso de la deposición de hueso es superado por un aumento de la reabsorción, y el resultado es la atrofia ósea por desuso (osteoporosis por desuso), este tipo de osteoporosis es más notable en la parte del esqueleto menos utilizada; por lo que se reconoce que la actividad física tiene efectos positivos sobre la salud, minimizando los cambios fisiológicos inherentes al envejecimiento, como la pérdida de masa muscular, función mitocondrial, capacidad enzimática oxidante, capacidad aeróbica, contractibilidad cardíaca entre otros.<sup>5 6,105-107</sup>

Así también cabe señalar que el EF contribuye con un aumento adicional de la masa ósea durante la primera época de la vida adulta, por efectos mecánicos, acentuando la carga sobre el hueso y aumentando en consecuencia la actividad osteoblástica. Sin embargo se ha observado una correlación negativa entre el EF intenso y la DMO, lo cual sugiere que hay umbrales en los que la actividad física puede ser beneficiosa y otros en los que puede llegar tener efectos negativos.<sup>5,6,105,108</sup>

El EF es una subcategoría de la actividad física, que al ser planificada, estructurada y repetida mantiene o mejora las funciones del organismo. Involucra procesos metabólicos de energía, hormonales, respuestas inmunológicas señalización y movilización. Existen diferentes clasificaciones de ejercicio según su intensidad y gasto energético, el más recomendable y beneficioso para evitar cualquier riesgo de padecer enfermedades crónicas degenerativas, es el EF de baja intensidad definido como aquel que se encuentre entre 40-50% del consumo de oxígeno máximo ( $VO_2$ máx) o frecuencia cardíaca de reserva (FCresv), ejercicio durante el cual la persona es capaz de hablar; se recomiendan para poblaciones con condiciones crónicas-degenerativas particularmente porque reducen los eventos coronarios fatales y no fatales, y aumentan las lipoproteínas de alta densidad.<sup>105,109</sup>

El ejercicio físico regular parece retardar la acumulación de daño celular y disfunción fisiológica que es característico del proceso de envejecimiento, se establecen beneficios en diversos sitios del organismo como en el sistema óseo, musculo-esquelético, corazón y cerebro, también se consideran los beneficios desde el punto de comportamiento, constituyéndose un beneficio integral.<sup>5,106,107</sup>

#### **IV.8.1 Ejercicio físico y osteoporosis**

Se ha demostrado que personas que realizaron ejercicios con pesas y aquellos que realizaron un entrenamiento de resistencia aumentaron considerablemente su DMO en comparación a aquellos que no realizaron ningún EF. Además se ha reportado que los atletas de alto impacto tienden a tener mayor DMO, no siendo así con los atletas de bajo impacto. Los beneficios del EF claramente superan los riesgos potenciales, en particular en personas mayores, ya que se producen pequeños incrementos en la DMO.<sup>4,110</sup>

Recientemente se ha puesto de manifiesto que los beneficios en el sistema músculo-esquelético se asocian positivamente con independencia funcional, movilidad, salud ósea, el bienestar psicológico y la calidad general de vida y se asocia negativamente con el riesgo de enfermedades, caídas, fracturas y una muerte prematura. En general se mejora el frágil estado de salud de las personas mayores con ejercicios de resistencia y flexibilidad. La actividad física y un régimen de EF regular y moderado inducen a una disminución en el riesgo de fractura en las poblaciones de edad avanzada.<sup>110,111</sup>

Todos estos beneficios son gracias a la influencia del peso y acción mecánica que el EF desarrolla en los huesos, promoviéndose la deposición ósea. Las actividades en las que se soporta peso y que ejercen factores mecánicos como, contracción muscular, presión, tensión ejercida por tejidos conectivos adyacentes y gravedad, estimulan la actividad osteoblástica pero su mecanismo no se conoce aun.<sup>112-114</sup>

#### **IV.8.2 Ejercicio físico y estrés oxidativo**

El EF incrementa la necesidad de aporte de oxígeno al organismo, por lo que se incrementa la producción de RL, cuando el EF es intenso la necesidad de oxígeno

---

---

es mayor y de esta forma la producción de RL puede exceder la capacidad antioxidante del organismo, generándose un desequilibrio. La generación de RL se incrementa como resultado de un aumento en el  $VO_2$  mitocondrial y un mayor flujo de  $e^-$  en la cadena de transporte. Durante el metabolismo respiratorio, gran parte del oxígeno consumido se une al hidrógeno durante la fosforilación oxidativa, formando agua. Pero se debe de considerar que no todo el oxígeno consumido se puede reducir y formar agua por lo que se da la producción de RL.<sup>115-117</sup>

Periodos de ejercicio intenso se asocian a un incremento en la peroxidación lipídica y aumento en los niveles de MDA, así como un aumento en la CAT y actividad GPx, en respuesta a la excesiva producción de EROs.<sup>117,118</sup>

Existen estudios en los cuales se observaron incrementos en los niveles de SOD y MDA debidos a la producción de  $O_2^{\cdot-}$ ; de la misma forma se encontraron niveles bajos de catalasa, como consecuencia de la menor formación de  $H_2O_2$ , después de una sesión de EF llevado a cabo hasta la extenuación.<sup>119</sup>

De este modo se ha señalado que un incremento en la tasa de producción de RL o un decremento en el contenido de antioxidantes, igualmente conducen a EOx, inactivación de enzimas, disfunción celular y mitocondrial como parte fundamental de este daño. Se considera como sitio principal de generación de EROs durante el ejercicio a la mitocondria, aumentándose después del EF la lipoperoxidación lipídica y disminuyéndose la GSH. Del mismo modo se inducen las enzimas antioxidantes como MnSOD y GPx en respuesta a la acción mitocondrial.<sup>119</sup>

Por último, es importante mencionar que la práctica regular de EF moderado produce una serie de efectos beneficiosos sobre el metabolismo oxidativo y óseo, que se traducen en un menor EOx y una mayor densidad ósea, por diversos mecanismos, los cuales aun no han sido completamente esclarecidos. Por tal motivo, en el presente estudio se evaluó el efecto del EF sobre el EOx y la DMO en adultos mayores.

Cuadro IV.4. Estudios relativos al efecto del ejercicio físico sobre la densidad mineral ósea.

<b>Autor y año</b>	<b>Universo de estudio</b>	<b>Objetivo</b>	<b>Tratamiento</b>	<b>Marcadores medidos</b>	<b>Hallazgos</b>
Borer et al (2007)	25 mujeres postmenopáusicas sanas	Determinar el efecto de caminata sobre la conservación y acumulación de la DMO.	Caminata intensa	Umbral ventilatorio Esfuerzo máximo DMO Osteocalcina Fosfatasa alcalina	Una caminata de 6.14 KMh son suficientes para el aumento y preservación de DMO
Preisinger et al. (1996)	92 mujeres de entre 45 y 75 años	Determinar los efectos de la terapia con ejercicio sobre la DMO.	Ejercicios de calentamiento, rotación de gemelos y ejercicios para mejorar la postura y coordinación mecánica.	Radiografía torácica y lumbar DMO de antebrazo	En las mujeres postmenopáusicas se puede ver disminuido el dolor de espalda con ejercicio regular a largo plazo.
Burr et al. (2000)	123 mujeres de 18 a 31 años	Determinar el efecto de ejercicio y uso de anticonceptivos orales sobre el aumento de la masa ósea.	Sesiones ejercicio aeróbico y anaeróbico y uso anticonceptivo por dos años.	DMO lumbar y cuello de fémur.	La combinación de ejercicio y anticonceptivos orales muestra una disminución en la supresión del incremento de masa ósea.
De Souza et al. (2008)	44 mujeres premenopáusicas	Determinar los efectos independientes y	Ejercicio regular	Osteocalcina, leptina, grelina y DMO, estrona	La combinación de ejercicio físico y mantenimiento de

		combinados de deficiencia estrogénica y el ejercicio.		urinaria y glucurónidos	un nivel estrogénico adecuado evita problemas óseos.
Gauthier et al. (1992)	33 mujeres postmenopáusicas de 60 a 74 años	Determinar el efecto del ejercicio sobre el contenido mineral en mujeres postmenopáusicas.	Actividades aeróbicas y soporte de peso.	DMO lumbar y de muñeca	Actividades aeróbicas y la carga de peso que ejercen una carga mecánica tiene un efecto positivo sobre la DMO.
Huang et al. (2002)	32 ratas macho	Determinar el efecto del ejercicio como antagonista del efecto de la cafeína.	Ejercicio en caminadora e ingesta de 10mg/100mg de peso; durante 10 semanas.	Análisis hostomorfo métrico y DMO	El ejercicio reduce en un mínimo el efecto de la cafeína sobre hueso.
Snyder et al. (1992)	38 ratas hembras	Determinar el efecto de dos programas de ejercicio.	Ejercicio Natación Correr	Citrato sintasa Glucógeno DMO en fémur y humero	La natación tuvo un mayor efecto en el aumento de DMO.
Moayeri et al. (2010)	6514 hombres de 62 años	Determinar la relación de la actividad física y el riesgo de fracturas.	Caminata y actividades en el hogar	Cuestionario de actividad física, ultrasonido de calcáneo	La caminata se asocio con un menor riesgo de fracturas
Bailey et al. (2009)	61 mujeres premenopáusicas	Determinar la frecuencia óptima de ejercicio para la salud ósea.	Ejercicio consistente en 50 saltos en una pierna	DMO en cuello del fémur	Se aumentó la DMO en el cuello del fémur de las mujeres que realizaron el ejercicio.

## **V. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

La osteoporosis constituye un problema de salud pública a medida que la población mundial aumenta y envejece. Para el año 2050 se proyecta que la incidencia de fracturas de cadera a nivel mundial secundaria a osteoporosis aumentará un 310% en hombres y un 240% en mujeres, lo cual ha causado que se considere a las enfermedades óseas como una "epidemia silenciosa".

En este sentido algunos estudios relacionan la disminución de la DMO con un desequilibrio oxidativo vinculado con el decremento de las hormonas sexuales que caracterizan el envejecimiento. Así mismo se ha señalado que la práctica de ejercicio físico moderado tiene un efecto antioxidante, lo cual podría tener un efecto benéfico sobre la DMO, sin embargo no existen estudios concluyentes al respecto por lo cual nos planteamos la siguiente pregunta de investigación:

¿Cuál es el efecto del ejercicio físico sobre el estrés oxidativo y la densidad mineral ósea en adultos mayores?

## **VI. HIPÓTESIS**

Considerando los antecedentes teóricos relativos al efecto positivo del ejercicio físico moderado sobre el estrés oxidativo y el metabolismo óseo a través del mecanismo de hormesis, suponemos que los adultos mayores que realicen ejercicio físico moderado por más de 12 meses mostrarán menor estrés oxidativo e incremento la densidad mineral ósea en comparación con el grupo control.

## **VII. OBJETIVO**

Determinar la efectividad del ejercicio físico sobre el EOx y la DMO, en una población de adultos mayores.

## **VIII. MATERIAL Y METODOS**

### **VIII.1 DISEÑO Y POBLACIÓN DE ESTUDIO**

Previo consentimiento informado, tal como lo establece la declaración de Helsinki,<sup>120</sup> se llevó a cabo un estudio cuasi-experimental en una población de 121 adultos mayores sanos o con enfermedades crónicas no terminales controladas (glucosa sérica <160mg/dL; T/A sistólica<160; diastólica <100 mm/Hg), sin ingesta de antioxidantes ni terapia hormonal de reemplazo en los últimos 6 meses.

A todos los participantes se les midieron los parámetros de: (i) química sanguínea, (ii) biometría hemática, (iii) marcadores bioquímicos de EOx, y (iv) DMO de cadera y columna lumbar). Posteriormente se conformaron aleatoriamente dos grupos, uno experimental el cual participo en un programa de ejercicio físico durante 12 meses y el grupo control. Se establecieron como criterios de eliminación la deserción al programa de ejercicio físico en el grupo experimental y la participación en algún programa de ejercicio en el grupo control.

### **VIII.3 VARIABLES**

#### **Variable Independiente:**

- Tratamiento: Ejercicio físico.

#### **Variables Dependientes:**

- EOx medido a través de:
  - Concentración de LPO
  - CAT
  - Actividad de las enzimas antioxidantes SOD y GPx
  - Razón SOD/GPx
  - GAP
- DMO

## Operacionalización de variables

<b>Variables</b>	<b>Definición</b>	<b>Nivel de Medición</b>	<b>Categoría</b>
<b>Estrés Oxidativo</b>	Desequilibrio bioquímico caracterizado por un incremento de EROs que sobrepasa la capacidad antioxidante de la célula.	Cuantitativa discreta Cualitativa nominal	Índice de EOx Positivo Negativo
<b>Lipoperoxidación</b>	Concentración de LPO plasmáticos (TBARs)	Cuantitativa continua	µmol/L
<b>Capacidad antioxidante total</b>	Capacidad antioxidante del plasma	Cuantitativa continua	mmol/L
<b>Actividad de SOD</b>	Actividad enzimática de SOD	Cuantitativa continua	U/L
<b>Actividad de GPx</b>	Actividad enzimática de GPx	Cuantitativa continua	U/L
<b>Densidad mineral ósea</b>	Cantidad de minerales, (hidroxiapatita) presentes en el hueso.	Cuantitativa continua Cualitativa nominal	gr/cm <sup>2</sup> y T-score <ul style="list-style-type: none"> <li>• Sanos</li> <li>• Osteopenia</li> <li>• Osteoporosis</li> </ul>
<b>Edad</b>	Edad que refiere el sujeto en el momento del estudio	Cuantitativa continua	Años cumplidos
<b>Ejercicio Físico</b>	Realización de una actividad física específica programada y periódica con movimientos corporales estructurados y repetitivos	Cualitativa nominal	Positivo Negativo

#### **VIII.4 TÉCNICAS**

Material biológico. Sangre total obtenida por el sistema vacutainer sin anticoagulante y con heparina como anticoagulante.

Material:

- Tubos de ensayo
- Gradillas
- Pipetas
- Vasos de precipitado
- Probetas

Reactivos:

- Agua destilada
- 1,1,3,3-Tetrametoxipropano (TMP)
- Ácido tricloroacético
- Ácido tiobarbitúrico (TBA)
- Butiril hidroxitolueno (BHT)
- Equipo comercial de Radox para la determinación de antioxidantes (Ransel, Ransod y antioxidantes totales)

Equipo:

- Baño metabólico
- Centrifuga de 8 camisas
- Espectrofotómetro
- Balanza analítica
- Balanza granataria

## **Técnicas bioquímicas**

A la población de estudio se les tomaron muestras sanguíneas entre 7:00-9:00 am con ayuno de 8 horas, 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 la determinación de los lipoperóxidos, capacidad antioxidante total y actividad de las enzimas antioxidantes, superóxido dismutasa y glutatión peroxidasa.

### **Glucosa**

Se empleó el estuche comercial para la determinación de glucosa (método de la glucosa-oxidasa, Randox GL 2614). La glucosa se determinó colorimétricamente después de una oxidación enzimática en presencia de glucosa oxidasa. Tanto la muestra como el patrón se mezclaron e incubaron durante 10 min. A 15-25°C y se leyó la absorbancia a 500nm frente a blanco de reactivo.

### **Colesterol**

Se empleó el estuche comercial para la determinación de colesterol (método enzimático de punto final) CHOD-PAP (Randox Laboratories Ltd; UK, CH 201). El colesterol se determinó colorimétricamente después de hidrólisis enzimática y oxidación. El blanco, patrón y muestra se agitaron e incubaron con el reactivo de color 10 min. de 20 a 25°C o 5 min a 37°C, y se midió la absorbancia a 546 nm antes de 60min.

## **Triglicéridos**

Se empleó el estuche comercial para la determinación de triglicéridos Randox GPO-PAP (Randox Laboratories Ltd, UK, TR212): Los triglicéridos se determinaron tras la hidrólisis enzimática con lipasas. El blanco, patrón y muestra se agitaron e incubaron con el reactivo de color de 10 a 15 min. a 20-25°C o 5 min. a 37°C, y se midieron a 500 nm antes de 60min.

## **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<sup>2+</sup>, se tomó el sobrenadante y de éste se determinó 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 600nm. Las muestras y el patrón se mezclaron con ureasa por 5 min. A 25°C y posteriormente con hipoclorito sódico, se leyeron contra el blanco de reactivo tras incubación 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 mezclaron e incubaron con el reactivo de color durante 15 min. A 25°C y se midieron 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 mezclaron con el reactivo de color y se leyó la absorbancia A1 al cabo de 30 segundos y exactamente después de 2 min. Se leyó la absorbancia A2, se obtuvo la diferencia y se calculó comparando con el estándar.

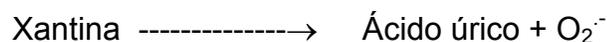
## **Marcadores de EOX**

### **Evaluación de la actividad de las enzimas antioxidantes**

#### **Superóxido dismutasa**

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

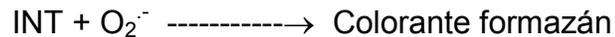
Fundamento: La técnica se basa en la reacción entre la xantina y la xantina oxidasa para generar radicales superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ).



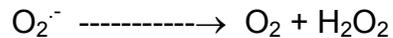
Los radicales superóxido generados reaccionan con sales de p-iodonitrotetrazolio

---

(INT) para producir el colorante rojo formazán.



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



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

Procedimiento: Se tomaron 0.5  $\mu\text{L}$  de sangre total y se lavaron los eritrocitos 3 veces con 3 mL de solución de NaCl al 0.9 %, centrifugándose durante 10 min. A 3000 rpm en cada lavado. Al botón de eritrocitos lavados se adicionó 2 mL de agua bidestilada fría, se mezcló y se dejó reposar durante 15 min a 4 °C. Del lisado se tomaron 0.100 mL y se diluyó con 1.9 mL de tampón de fosfato 0.01 mmol/L pH 7.0.

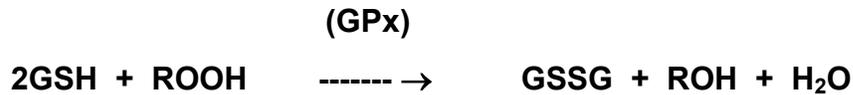
Para el ensayo se pipetearon 0.050 mL de muestra diluida y se adicionaron 1.7 mL de sustrato mixto (xantina 0.05 mmol/L, I:N:T: 0.025 mmol/L), después de mezclar se agregaron 0.25 mL de xantin oxidasa (0.94 mmol/L). Se mezcló y se registró la absorbancia A1 al cabo de 30 seg y se empezó a cronometrar 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.

### **Glutación peroxidasa**

Glutation peroxidasa (GPx) de glutatión 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 con base en la siguiente reacción:



GSH = Glutación reducido ROOH = hidroperóxido Gpx = Glutación peroxidasa  
GSSG = glutación oxidado.

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

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 después de 20 min.

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

## **Lipoperoxidos**

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).<sup>121</sup> Se recolectó sangre total en tubos con anticoagulante, se centrifugó inmediatamente la sangre 10 min. a 3000 rpm para obtener el plasma al cual se le adicionaron 10  $\mu$ L de butirilhidroxitolueno (BHT) 2mM por mL de sangre, para evitar la auto-oxidación de las muestras. Se colocaron 400  $\mu$ L de plasma con 50  $\mu$ L de BHT (12.6 mmol/L) y 400  $\mu$ L de ácido ortofosfórico (0.2M) se agitó en vórtex 10 seg. y posteriormente se adicionó 50  $\mu$ L de TBA (0.11 mol/L), se agitó en vórtex por 10 seg. 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  $\mu$ L de butanol en cada tubo y 100  $\mu$ L de solución salina saturada, se agitó vigorosamente por 30 seg., 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 reaccionó se calculó por medio de una curva estándar de MDA, que se obtuvo a partir del estándar de TMP.

#### **Preparación de la curva estándar:**

Preparar las siguientes soluciones:

1.- TMP 1mM. – Se diluyeron 17  $\mu$ L de TMP en 100 mL de agua bidestilada.

---

2.- TMP 0.2 mM.- Se tomaron un ml de TMP 1mM y se añadieron 4 mL de agua bidestilada.

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

Tubo	TMP ( $\mu$ L)	H <sub>2</sub> O (mL)	MDA( $\mu$ mol/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 dio el mismo tratamiento que a la muestra.

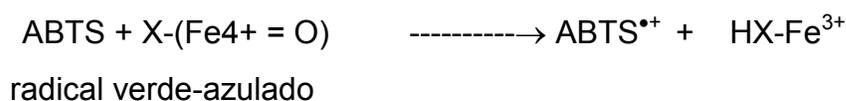
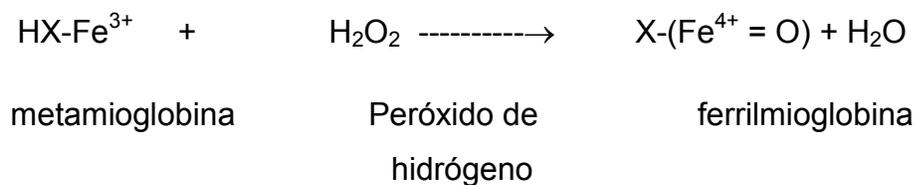
### **Capacidad Antioxidante Total**

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.



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, empezándose a cronometrar para leer la absorbancia A2 al cabo de exactamente 3 min las lecturas se realizaron a 600 nm.

### Brecha antioxidante

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

Para determinar si los sujetos presentan EOx, se obtuvo un índice, el cual se calculó al dicotomizar cada uno de los parámetros determinados, dando el valor de 1 cuando las concentraciones están 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

Y finalmente se dicotomizó el índice para clasificar a los sujetos sin estrés o con estrés, sin estrés cuando el índice es igual a cero y con estrés con valores de uno en adelante.

## **Densidad Mineral Ósea**

Se determinó por medio de densitometría central (cadera y columna lumbar) con un densitómetro Hologic modelo QDR4000, tomándose como criterio, sanos mayores a -1, osteopenia un valor entre -1 y -2.5 y osteoporosis un valor por debajo de -2.5 en la escala de T, y 0.97 a 1.28 mg/cm<sup>2</sup> para la DMO en personas sanas. La técnica para evaluar la densitometría se ajustó a lo establecido por el fabricante y la medición la llevó a cabo un técnico capacitado de una empresa privada reconocida.

Fundamento: Esta técnica consiste en que el haz de radiación de baja energía cede parte de esta energía al interactuar con la materia que atraviesa; dicho de otra forma, el haz de radiación experimenta una atenuación, que depende de la energía de los rayos, de la naturaleza (número atómico) de los componentes que atraviesan y del grosor del material.

## **VIII.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

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

Para las variables cuantitativas se calculó la media 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) con un 95% de confianza y como prueba post-hoc Bonferroni.

Para el efecto del ejercicio físico se calcularon razones aritméticas con un posterior ANOVA de un factor. Se calcularon frecuencias y porcentajes con  $\chi^2$  y 95% de confianza. Se consideró que existe significancia estadística cuando  $*p < 0.05$ .

## **IX. RESULTADOS**

Para el análisis de los datos, los grupos experimental y control se dividieron en: (i) sanos (ii) osteopenia y (iii) osteoporosis.

Respecto al grupo experimental en los marcadores de EOX, se observó una disminución estadísticamente significativa en los sujetos con osteopenia (pre-intervención,  $0.29 \pm 0.11$  vs. post-intervención,  $0.22 \pm 0.1$   $\mu\text{mol/L}$ ,  $p < 0.001$ ) aunado a un incremento de la actividad antioxidante total (pre-intervención,  $0.84 \pm 0.23$  vs. post-intervención,  $1.44 \pm 0.45$   $\text{mmol/L}$ ,  $p < 0.05$ ). Así mismo, se encontró una disminución significativa en el índice de estrés oxidativo en las personas con osteoporosis que realizaron ejercicio físico (pre-intervención,  $2.84 \pm 1.3$  vs. post-intervención,  $1.03 \pm 0.93$ ,  $p < 0.005$ ) (cuadro XI.1). En este sentido, la magnitud de las diferencias las podemos observar en el cuadro XI.2.

Por otro lado, se encontró un incremento de la densidad mineral ósea de columna en el grupo que realizó ejercicio físico sobre todo en los sujetos con osteoporosis, aun cuando la diferencia no fue estadísticamente significativa (pre-intervención,  $0.36 \pm 0.10$  vs. post-intervención,  $0.41 \pm 0.11$   $\text{mg/cm}^2$ ) (cuadro XI.3), cuya magnitud de la diferencia de la DMO se presenta en el cuadro XI.4. y figura XI. 1.

En cuanto al porcentaje de sujetos con niveles anormales en los marcadores de EOX, se observó una disminución estadísticamente significativa en los sujetos con niveles altos de LPO en las personas con osteopenia del grupo experimental (pre-intervención, 22% vs. post-intervención, 2%,  $p < 0.05$ ). Así mismo, se encontró una disminución estadísticamente significativa en el porcentaje de sujetos con actividad baja de GPx en los adultos mayores con osteoporosis del grupo experimental (pre-intervención, 34% vs. post-intervención, 13%,  $p < 0.05$ ), aunada a

una disminución estadísticamente significativa de los niveles bajos de GPx (pre-intervención, 34% vs. post-intervención, 13%,  $p < 0.05$ ) y del índice de EOx (pre-intervención, 41% vs. post-intervención, 6%,  $p < 0.05$ ) (cuadro XI.5). La magnitud de las diferencias en los marcadores de EOx se presenta en el cuadro XI.6 y figura XI.2.

CuadroXI.1. Marcadores de EOx por diagnóstico.

Marcador	Control (n=33)			Ejercicio (n=88)		
	Sanos	Osteopenia	Osteoporosis	Sanos	Osteopenia	Osteoporosis
LPO ( $\mu\text{mol/L}$ )						
Pre-intervención	0.37 $\pm$ 0.05	0.34 $\pm$ 0.11	0.30 $\pm$ 0.1	0.30 $\pm$ 0.11	0.29 $\pm$ 0.11	0.26 $\pm$ 0.11
Post-intervención	0.39 $\pm$ 0.20	0.47 $\pm$ 0.15	0.38 $\pm$ 0.09	0.21 $\pm$ 0.12	0.22 $\pm$ 0.1*	0.24 $\pm$ 0.13*
SOD (U/L)						
Pre-intervención	178 $\pm$ 20	168 $\pm$ 6.0	172 $\pm$ 13.3	177 $\pm$ 14.5	175 $\pm$ 14.3	174 $\pm$ 11.0
Post-intervención	170 $\pm$ 4.2	170 $\pm$ 7.4	172 $\pm$ 8.9	178 $\pm$ 6.3	176 $\pm$ 7.9	176 $\pm$ 6.8
GPx (U/mL)						
Pre-intervención	6922 $\pm$ 1876	8649 $\pm$ 2660	7864 $\pm$ 2066	7501 $\pm$ 2765	7652 $\pm$ 3464	6795 $\pm$ 2931
Post-intervención	5691 $\pm$ 3899	9368 $\pm$ 2829	7791 $\pm$ 4048	12131 $\pm$ 4614	11520 $\pm$ 4586	11182 $\pm$ 4144
CAT (mmol/L)						
Pre-intervención	1.25 $\pm$ 0.11	1.09 $\pm$ 0.28	1.0 $\pm$ 0.30	0.92 $\pm$ 0.37	0.78 $\pm$ 0.29	0.84 $\pm$ 0.23
Post-intervención	1.30 $\pm$ 0.11	1.12 $\pm$ 0.17	0.99 $\pm$ 0.20	1.56 $\pm$ 0.66	1.57 $\pm$ 0.54	1.44 $\pm$ 0.45*
SOD/GPx						
Pre-intervención	0.03 $\pm$ 0.01	0.03 $\pm$ 0.02	0.02 $\pm$ 0.01	0.03 $\pm$ 0.01	0.03 $\pm$ 0.01	0.03 $\pm$ 0.01
Post-intervención	0.05 $\pm$ 0.04	0.02 $\pm$ 0.01	0.03 $\pm$ 0.01	0.02 $\pm$ 0.01*	0.02 $\pm$ 0.01	0.02 $\pm$ 0.01
Índice EOx						
Pre-intervención	1.67 $\pm$ 1.2	1.80 $\pm$ 1.0	2.15 $\pm$ 1.5	2.93 $\pm$ 2.1	2.78 $\pm$ 1.5	2.84 $\pm$ 1.3
Post-intervención	2.0 $\pm$ 1.7	1.60 $\pm$ 1.2	2.60 $\pm$ 1.5	0.80 $\pm$ 0.78	0.80 $\pm$ 1.0	1.03 $\pm$ 0.93*

Prueba ANOVA 95% de confianza. LPO: control (osteopenia) vs ejercicio (osteopenia) \* $p < 0.001$ ; control (osteoporosis) vs ejercicio (osteoporosis) \* $p < 0.001$ . CAT: control (osteoporosis) vs ejercicio (osteoporosis) \* $p < 0.05$ . SOD/GPx: control (osteopenia) vs ejercicio (osteopenia) \* $p < 0.01$ . Índice EOx: control (osteoporosis) vs ejercicio (osteoporosis) \* $p < 0.001$ . Los valores corresponden a media  $\pm$  desviación estándar. Post hoc: Bonferroni.

Cuadro XI.2. Diferencia de los marcadores de EOx.

Marcador	Control (n=33)			Ejercicio (n=88)		
	Sanos	Osteopenia	Osteoporosis	Sanos	Osteopenia	Osteoporosis
LPO ( $\mu\text{mol/L}$ )	0.02 $\pm$ 0.18	0.11 $\pm$ 0.16	0.09 $\pm$ 0.11	-0.09 $\pm$ 0.15	-0.08 $\pm$ 0.16*	-0.02 $\pm$ 0.15
SOD (U/mL)	-7.9 $\pm$ 21	4.8 $\pm$ 6.8	3.0 $\pm$ 14.0	0.99 $\pm$ 15.4	0.95 $\pm$ 13.3	1.3 $\pm$ 12.3
GPx (U/mL)	-1231 $\pm$ 2668	-11 $\pm$ 3064	255 $\pm$ 3943	4630 $\pm$ 3598	3572 $\pm$ 4612	4478 $\pm$ 4815*
CAT (mmol/L)	0.05 $\pm$ 0.22	-0.05 $\pm$ 0.42	-0.05 $\pm$ 0.34	0.65 $\pm$ 0.69	0.80 $\pm$ 0.64**	0.61 $\pm$ 0.50**
SOD/GPx	0.02 $\pm$ 0.04	-0.01 $\pm$ 0.02	0.01 $\pm$ 0.01	-0.01 $\pm$ 0.01**	-0.01 $\pm$ 0.01	-0.01 $\pm$ 0.02
Índice EOx	0.33 $\pm$ 0.58	-0.2 $\pm$ 1.8	0.45 $\pm$ 1.7	-2.1 $\pm$ 2.2	-2.0 $\pm$ 2.2	-1.8 $\pm$ 1.6***

Prueba ANOVA 95% de confianza. LPO: control (osteopenia) vs ejercicio (osteopenia) \* $p < 0.05$ . GPx: control (osteoporosis) vs ejercicio (osteoporosis) \* $p < 0.05$ . CAT: control (osteopenia) vs ejercicio (osteopenia) \*\* $p < 0.01$ ; control (osteoporosis) vs ejercicio (osteoporosis) \*\* $p < 0.01$ . SOD/GPx: control (sanos) vs ejercicio (sanos) control \*\* $p < 0.01$ ; (osteoporosis) vs ejercicio (osteoporosis) \*\* $p < 0.01$ . Índice EOx: control (osteoporosis) vs ejercicio (osteoporosis) \*\*\* $p < 0.001$ . Los valores corresponden a media  $\pm$  desviación estándar de los datos post menos pre intervención. Post hoc: Bonferroni.

Cuadro XI.3. Parámetros de DMO por diagnóstico.

Marcador	Control (n=33)			Ejercicio (n=88)		
	Sanos	Osteopenia	Osteoporosis	Sanos	Osteopenia	Osteoporosis
DMOco(mg/cm <sup>2</sup> )						
Pre-intervención	0.80±0.15	0.58±0.08	0.38±0.07	0.83±0.17	0.55±0.07	0.36±0.10
Post-intervención	0.80±0.2	0.58±0.12	0.36±0.11	0.84±0.17	0.58±0.11	0.41±0.11
T-scoreco						
Pre-intervención	0.0±0.70	-1.70±0.34	-3.17±0.53	0.57±1.38	-1.73±0.42	-3.34±0.68
Post-intervención	0.0±1.1	-1.71±0.7	-3.18±0.78	0.58±1.1	-1.45±0.92	-2.90±0.88
DMOca(mg/cm <sup>2</sup> )						
Pre-intervención	1.09±0.17	0.95±0.15	0.88±0.11	1.02±0.14	0.91±0.17	0.81±0.12
Post-intervención	1.14±0.12	1.00±0.13	.87±0.11	1.05±0.14	0.93±0.13	0.83±0.13
T-scoreca						
Pre-intervención	0.20±1.0	-0.72±1.13	-1.08±0.93	-0.21±1.0	-0.72±0.86	-1.64±0.83
Post-intervención	0.60±0.69	-0.28±1.1	-1.14±0.9	-0.01±0.7	-0.76±1.0	-1.48±0.99

Prueba ANOVA 95% de confianza. \*p< 0.05 valores corresponden a media ± desviación estándar; Post hoc: Bonferroni. DMOco: Densidad mineral ósea de columna, DMOca: densidad mineral ósea de cadera, T-score: desviaciones estándar de la DMO de un individuo en comparación a una población de referencia normal.

Cuadro XI.4. Diferencia de los parámetros de DMO por diagnóstico

Marcador	Control (n=33)			Ejercicio (n=88)		
	Sanos	Osteopenia	Osteoporosis	Sanos	Osteopenia	Osteoporosis
DMOco(mg/cm <sup>2</sup> )	-0.0003 ±0.04	0.0004±0.07	-0.02±0.09	0.01±0.11	0.03±0.09	0.05±0.07
T-scoreco	0.0±0.70	-0.01±0.63	-0.01±0.58	0.01±0.96	0.24±0.89	0.43±0.68
DMOca(mg/cm <sup>2</sup> )	0.05±0.09	0.05±0.05	-0.01±0.03	0.03±0.06	0.02±0.17	0.01±0.05
T-scoreca	0.40±0.53	0.44±0.40	-0.06±0.25	0.19±0.58	-0.02±0.48	0.16±0.46

Prueba ANOVA 95% de confianza. Post hoc: Bonferroni. Los valores corresponden a media ± desviación estándar. DMOco: Densidad mineral ósea de columna, DMOca, densidad mineral ósea de cadera, T-score: desviaciones estándar de la DMO de un individuo en comparación a una población de referencia normal. Diferencia (post menos pre-intervención).

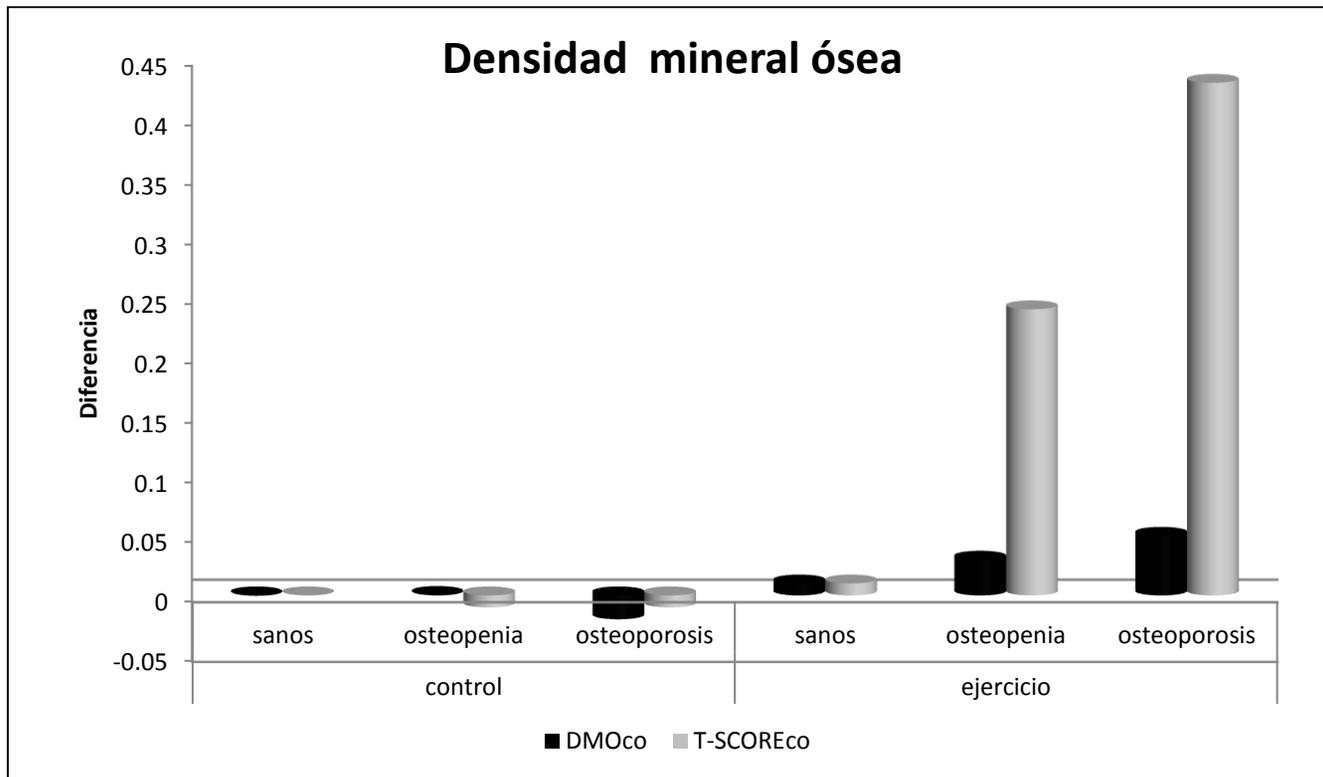


Figura XI.1. Diferencia en parámetros DMO de columna por diagnóstico (post menos pre-intervención). Presentándose un mayor incremento tanto en la DMO como en la T-score en los pacientes diagnosticados con osteopenia y osteoporosis del grupo de ejercicio, después de la intervención con EF.

Cuadro XI.5. Porcentaje de sujetos con niveles anormales de los marcadores de EOx.

Marcador	Control			Ejercicio		
	Sanos 3 (%)	Osteopenia 10 (%)	Osteoporosis 20 (%)	Sanos 15 (%)	Osteopenia 41 (%)	Osteoporosis 32 (%)
<b>LPO</b>						
Alto ( $\geq 0.4046$ )						
Pre-intervención	1(33)	4(40)	4(20)	4(27)	9(22)	4(13)
Post-intervención	1(33)	6(60)	8(40)	1(7)	1(2)*	4(13)*
<b>SOD</b>						
Bajo ( $\leq 168$ )						
Pre-intervención	1(33)	6(60)	10(50)	4(27)	13(32)	11(34)
Post-intervención	2(67)	4(40)	7(35)	2(13)	7(17)	7(22)
<b>GPx</b>						
Bajo ( $\leq 5656$ )						
Pre-intervención	1(33)	1(10)	3(15)	6(40)	10(24)	11(34)
Post-intervención	2(67)	1(10)	9(45)	2(13)	5(12)	4(13)*
<b>CAT</b>						
Bajo ( $\leq 0.72$ )						
Pre-intervención	0(0)	3(30)	8(40)	10(67)	31(76)	23(72)
Post-intervención	0(0)	1(10)	8(40)	2(13)	6(15)	6(19)
<b>SOD/GPx</b>						
Alto ( $\geq 0.033$ )						
Pre-intervención	1(33)	0(0)	3(15)	4(27)	10(24)	12(38)
Post-intervención	2(67)	1(10)	9(45)	2(13)	6(15)	4(13)*
<b>EOx</b>						
Pre-intervención	0(0)	2(20)	7(35)	7(47)	20(49)	13(41)
Post-intervención	1(33)	1(10)	7(35)	0(0)	3(7)	2(6)*

Prueba  $\chi^2$  95% de confianza, LPO: control (osteopenia) vs ejercicio (osteopenia) \* $p < 0.05$ ; control (osteoporosis) vs ejercicio (osteoporosis) \* $p < 0.05$ . GPx: control (osteoporosis) vs ejercicio (osteoporosis) \* $p < 0.05$ . SOD/GPx: control (osteoporosis) vs ejercicio (osteoporosis) \* $p < 0.05$ . Índice EOx: control (osteoporosis) vs ejercicio (osteoporosis) \* $p < 0.05$ .

Cuadro XI.6. Porcentaje de cambio de sujetos con niveles alterados de los marcadores de EOx.

Marcador	Control			Ejercicio		
	Sanos 3 (%)	Osteopenia 10 (%)	Osteoporosis 20 (%)	Sanos 15 (%)	Osteopenia 41 (%)	Osteoporosis 32 (%)
LPO						
Alto ( $\geq 0.4046$ )	0(0)	2(20)	4(20)	-3(-20)	-8(-20)*	0(0)*
SOD						
Bajo ( $\leq 168$ )	1(34)	-2(-20)	-3(-15)	-2(-14)	-6(-15)	-4(-12)
GPx						
Bajo ( $\leq 5656$ )	1(34)	0(0)	6(30)	-4(-27)	-5(-12)*	-7(-21)*
CAT						
Bajo ( $\leq 0.72$ )	0(0)	-2(-20)	0(0)	-8(-54)	-25(-61)*	-17(-53)]*
SOD/GPx						
Alto ( $\geq 0.033$ )	1(34)	1(10)	6(30)	-2(-14)	-4(-9)	-8(-25)*
EOx						
	1(33)	-1(-10)	0(0)	-7(-47)*	-17(-42)	-11(-35)*

Prueba  $\chi^2$  95% de confianza, LPO: control (osteopenia) vs ejercicio (osteopenia) \*p< 0.05; control (osteoporosis) vs ejercicio (osteoporosis) \*p< 0.05. GPx: control (osteopenia) vs ejercicio (osteopenia) \*p< 0.05; control (osteoporosis) vs ejercicio (osteoporosis) \*p< 0.05. CAT: control (osteopenia) vs ejercicio (osteopenia) \*p< 0.05; control (osteoporosis) vs ejercicio (osteoporosis) \*p< 0.05. SOD/GPx: control (osteoporosis) vs ejercicio (osteoporosis) \*p< 0.05. Índice EOx: control (sanos) vs ejercicio (sanos) \*p< 0.05; control (osteoporosis) vs ejercicio (osteoporosis) \*p< 0.05. (post menos pre-intervención).

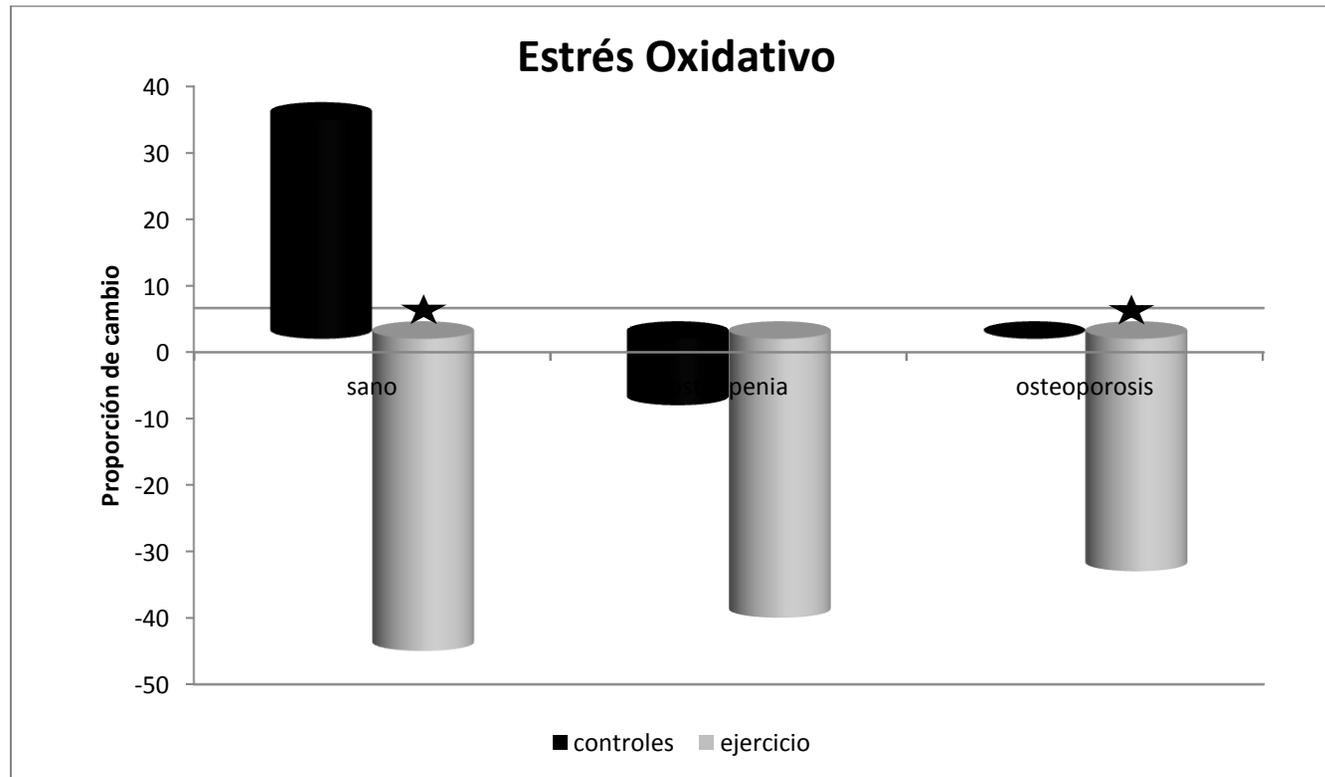


Figura XI.2. Porcentaje de cambio de sujetos que presentan EOx. Observándose un mayor porcentaje negativo, dada la razón aritmética (post menos pre-intervención) de sujetos en los cuales disminuyó el grado de EOx en el grupo sometido a ejercicio físico, comparado con el grupo control.

## **X. DISCUSIÓN**

El envejecimiento de la población es uno de los mayores retos a los que se enfrentará la sociedad mexicana durante la primera mitad de este siglo; lo cual implicará un incremento en el monto de los recursos destinados al cuidado de la población en edades avanzadas. Dicha transición demográfica se traducirá en presiones hacia las instituciones públicas de seguridad social y de la salud, debido a la transición epidemiológica concomitante caracterizada por el aumento en la incidencia de las enfermedades crónico-degenerativas en la vejez, de entre las que destaca la osteoporosis. En este sentido en México se reportó en 1998 que una de cada cuatro personas padecía osteopenia u osteoporosis, la cual se caracteriza por una reducción del tejido óseo (masa ósea) y deterioro de la calidad de éste, que provoca un aumento en la fragilidad del hueso y un mayor riesgo de fractura. Al respecto, se ha señalado que los mexicanos sufren más de 100 fracturas de cadera diarias, lo cual afecta la calidad de vida, debido a la discapacidad o inmovilidad parcial y por consiguiente la dependencia físico, psicológica y social.<sup>9,122</sup>

Existen evidencias que sugieren que hay una relación entre el EOx y la pérdida de hueso durante el metabolismo óseo. Así mismo se ha señalado que el envejecimiento vinculado con el EOx favorece la disminución gradual de la tasa de formación de hueso, aun cuando la tasa de resorción de hueso sea natural, resultando en la pérdida ósea neta.<sup>99,103</sup>

Diversos estudios demuestran que el EF es benéfico al realizarse de forma periódica y regular, ya que por un lado, a través del proceso de hormesis reduce el EOx, implicado en la patogenia de enfermedades relacionadas al descenso de la DMO y por otro representa un estímulo mecánico sobre la estructura ósea lo que favorece la calidad del hueso.<sup>109,123-125</sup>

---

Sin embargo el conocimiento de los mecanismos exactos, así como la relación entre el EF moderado, el EOx y la DMO no son del todo concluyentes, por tal motivo en la presente investigación se evaluó el efecto EF sobre el EOx y la DMO en adultos mayores, con la finalidad de proporcionar herramientas para coadyuvar al tratamiento de la osteoporosis y prevenir las complicaciones vinculadas con el EOx.

En el presente trabajo, se encontró que en los sujetos que cursaban con osteopenia y osteoporosis, mostraron un nivel significativamente menor en LPO en relación a sus respectivos grupos controles, lo cual sugiere que la realización de actividad física contribuyó con la disminución de los LPO, marcador de daño oxidativo a las membranas celulares cuya concentración se ha visto incrementada en las personas que padecen enfermedades óseas. Al respecto se ha señalado que los niveles de MDA (como marcador de lipoperoxidación) pueden considerarse una medida de la actividad osteoclástica, la cual se encuentra incrementada y favorece la mayor resorción ósea característica de la osteoporosis.<sup>99,117,118,126-130</sup>

Así mismo, se encontró que la CAT fue significativamente mayor en el grupo de osteoporosis que realizó ejercicio físico en comparación con su análogo en los controles, este resultado sugiere que la actividad física moderada fue capaz de incrementar la respuesta antioxidante propiciando una disminución de los LPO, y el índice de EOx.

En términos generales nuestros resultados soportan la hipótesis que establece que el EF moderado tiene un efecto antioxidante a través del mecanismo denominado hormesis, permitiendo suponer de igual forma que el EOx que acompaña a la osteoporosis favorece el deterioro de quienes la padecen y puede ser atenuado con la realización de EF moderado, coincidiendo con la disminución significativa del índice global de EOx observada en nuestros pacientes con osteoporosis del grupo experimental.<sup>29,115,123,132,133</sup>

Asimismo los resultados apoyan la propuesta que señala el papel de las especies reactivas en la alteración del proceso de remodelado, como lo señala Lean et al. (2004) al enunciar que los RL como el  $H_2O_2$  estimulan la formación y función de los osteoclastos e inducen la expresión de citocinas como FNT- $\alpha$ , IL-1e IL-6, contribuyendo a la acción resorciva de éstas.<sup>131,133</sup>

El ejercicio físico moderado disminuye el EOx, y por lo tanto puede ser considerado como un factor protector para la presencia de enfermedades crónicas en la vejez, confirmando lo señalado por Goto et al. (2007) al sugerir el efecto benéfico del EF y la posibilidad de disminuir las complicaciones o el desarrollo de algunos padecimientos dados los diversos mecanismos que las especies reactivas pueden alterar debido a sus actividades como mensajeros y activadores de cascadas de señalización sensibles al estado oxido-reducción celular.<sup>132,134</sup>

Respecto al grupo de sujetos sanos, se observaron cambios en la razón SOD/GPx, con un valor significativamente menor en los que realizaron ejercicio, lo cual sugiere que en este grupo la actividad física fue suficiente para inducir un incremento coordinando de la actividad de las enzimas antioxidantes, cuya disminución de la razón implica un mejor acoplamiento y manejo de las especies reactivas que son sus sustratos, con lo cual se corrobora el efecto benéfico de la realización de EF moderado también en las personas adultas mayores sanas, lo cual coincide con lo reportado por Radak et al.(2007) y Gomez-Cabrera et al (2007).<sup>135-137</sup>

Con respecto al efecto del EF sobre la DMO, no se encontraron diferencias significativas, sin embargo todos los individuos pertenecientes al grupo de ejercicio incrementaron considerablemente sus valores de DMO y T-score, no teniéndose los mismos resultados con el grupo control, lo cual implica el efecto benéfico del ejercicio además del observado en relación al EOx, aunque no se descarta que los mecanismos estén relacionados.<sup>138</sup>

Nuestros resultados apoyan la propuesta respecto a que el EF es responsable de la activación de factores de transcripción y proteínas de señalización implicadas en la proliferación y activación de los osteoblastos, aun cuando los estudios sobre los mecanismos por la cual la carga se traduce en el control celular de la remodelación ósea no son del todo concluyentes, se han establecido relaciones entre las tensiones mecánicas, impulsos y remodelación ósea.<sup>113,138,139</sup>

Estudios histomorfométricos han demostrado la conexión entre los osteocitos ya establecidos y los osteoblastos situados en la superficie del hueso, este entramado y serie de canales permiten el intercambio de señales mecánicas y metabólicas. Se ha sugerido que estos canales permiten el paso de líquido extracelular por inducción de acciones mecánicas, este fluido puede estimular las células óseas a través de potenciales de transmisión o quimiotransporte. Uno de los mediadores de este paso de fluidos es el NO, cuya liberación se ve regulada tras la exposición a tensiones mecánicas provocadas por el EF. La liberación del NO parece estar mediada por la activación de las células endoteliales, generada por la acción mecánica, ocasionando una modulación en el flujo del líquido extracelular.<sup>140,141, 144,145</sup>

Otra explicación a la formación de hueso por la acción mecánica, es por el llamado fenómeno piezoeléctrico, que aunque su mecanismo de acción no está totalmente esclarecido, en la actualidad numerosos estudios hacen referencia de éste como promotor del depósito óseo. Se ha demostrado conforme a la ley de Wolf, que cualquier cambio en la forma y función del hueso, produce cambios definidos en su arquitectura interna, cuando se alteran las líneas de estrés y tensión a las que normalmente es sometido. Fukada et al. (1957), demostró la piezoelectricidad del hueso, ya que al someterlo a ciertas deformaciones mecánicas, éste generaba impulsos eléctricos que estimulaban el crecimiento óseo.<sup>142-148</sup>

Algunos estudios sugieren que el crecimiento puede ser afectado y/o controlado por potenciales producidos por tensiones o cargas en el hueso; se apunta a que el colágeno es el principal responsable de esto, debido a su estructura proteica cristalina, la cual le confiere propiedades eléctricas, al ser sometido a fuerzas de compresión o cizallamiento que disocian centros de gravedad de las cargas positivas y de las cargas negativas, generando dipolos que atraen osteoblastos, favoreciendo su adhesión y generando con ello la mineralización de hueso. Dichas propuestas coinciden con los resultados obtenidos en los sujetos sometidos a la intervención con EF moderado, sugiriendo que las cargas impuestas al hueso directamente por el impacto del ejercicio o por la contracción muscular confieren propiedades piezoeléctricas al hueso. .<sup>142-148</sup>

Independientemente del o los mecanismos implicados, los resultados obtenidos sugieren que el ejercicio físico tuvo un efecto benéfico en quienes lo practicaron ya que por un lado mejoró la respuesta antioxidante y disminuyó el EOx principalmente en los sujetos con osteopenia y osteoporosis, en quienes además favoreció el mantenimiento de la DMO, probablemente a través del estímulo mecánico y también a través de la disminución del EOx, lo cual es relevante dada la importancia clínica del control de este tipo de enfermedades.

Finalmente y dado que el EF, es una actividad accesible y de bajo costo, resulta un tratamiento ampliamente recomendable, por su potencial en el control del EOx y a través de éste de las enfermedades crónicas con las que se asocia, incluidas las relacionadas con el metabolismo óseo, además de los beneficios psicológicos y sociales que derivan en una mejor calidad de vida para el adulto mayor.

## XI. CONCLUSIÓN

### Hipótesis

*Considerando los antecedentes teóricos relativos al efecto positivo del ejercicio físico moderado sobre el estrés oxidativo y el metabolismo óseo a través del mecanismo de hormesis, suponemos que los adultos mayores que realicen ejercicio físico moderado por más de 12 meses mostrarán menor estrés oxidativo e incremento la densidad mineral ósea en comparación con el grupo control.*

### Conclusiones

- Nuestros resultados sugieren que la realización de ejercicio físico moderado presenta un efecto antioxidante sobre los adultos mayores, a través de un mecanismo adaptativo denominado hormesis que disminuye el EOX.
- Los resultados sugieren que la práctica regular de ejercicio físico moderado, induce un efecto antioxidante que contribuye a la formación y conservación de la masa ósea.

## **XII. PERSPECTIVAS**

- Es necesario incrementar el tamaño de muestra para confirmar los hallazgos encontrados.
- Es indispensable realizar estudios longitudinales, de amplia duración para observar el aumento en la densidad mineral ósea por acción del EF dependiente del tiempo.
- Es conveniente ampliar los marcadores de EOx, para determinar con mayor precisión los mecanismos involucrados entre el metabolismo óseo y el estrés oxidativo.
- Es indispensable la difusión de nuestros resultados para la implementación de programas de ejercicio físico supervisados.

### **XIII. REFERENCIAS**

1. Escalante-Gómez C, Quesada-Mora S, Zeledón-Sánchez F. Perfil oxidativo de la mujer menopáusica: Papel de los estrógenos en la prevención y tratamiento de las enfermedades. *Acta Méd Costarric* 2009; 51(4): 206-212.
2. Padierna J. Factores de riesgo y prevalencia de osteoporosis. Estudio por ultrasonometría del calcáneo. *Med Int Mex* 2008; 24(4): 278-283.
3. Manolagas S. From estrogen-centric to aging and oxidative stress: a revised perspective of the pathogenesis of osteoporosis. *Endocr Rev* 2010; 31(3): 266–300.
4. Qin L, Au S, Choy W, Leung P, Neff M, Lee K, et al. Regular Tai Chi Chuan Exercise May Retard Bone Loss in Postmenopausal Women: A Case-Control Study. *Arch Phys Med Rehabil* 2002; 83: 1355-1359.
5. Warburton D, Nicol C, Bredin S. Health benefits of physical activity: the evidence *CMAJ* 2006;174(6): 801-809.
6. Salter RB. Trastornos y lesiones del sistema musculoesquelético: Introducción a la ortopedia, fracturas y lesiones articulares, reumatología, osteopatía metabólica y rehabilitación. 5ª ed. Barcelona: Masson 2001: 359-370.
7. Pérez L. Estrés oxidativo: la paradoja del oxígeno. *Rev Cubana Endocrinol* 2000; 11(3): 139-142.
8. Avello M, Suwalsky M. Radicales libres, estrés oxidativo y defensa antioxidante celular *Atenea (Concepc)*, 2006: 161-172.
9. Rodríguez J, Menéndez J, Trujillo Y. Radicales libres en la biomedicina y estrés oxidativo. *Rev Cub Med Milit* 2001;30(1):36-44.
10. Valls V, Peiro C, Muñiz P, Saez G. Age-related changes in antioxidant status and oxidative damage to lipids and DNA in mitochondria of rat liver. *Process Biochem* 2005; 40: 903–908.
11. Zorzano A, Bach D, Pich S, Palacín M. Papel de nuevas proteínas mitocondriales en el balance energético. *Rev Med Univ Navarra* 2004; 48(2): 30-35.

- 
12. Murray R, Mayes P, Granner D, Rodwell V. Bioquímica de Harper. 15<sup>a</sup> ed. México DF: Manual Moderno 2001: 120-130, 795-816.
  13. Nelson D, Cox M. Lehninger Principios de Bioquímica. 3<sup>a</sup> ed. Barcelona: Omega 2001: 78-83, 173-180.
  14. Cordero P, Solomon A, Martínez J. Eficiencia y metabolismo mitocondrial: ¿un eje etiológico de la obesidad?. Rev Med Univ Navarra 2007; 51(3): 13-18.
  15. Miller D, Buettner G, Aust S. Transition Metals as Catalysts of "Autoxidation" Reactions. Free Radic Biol Med 1990; 8: 95-108.
  16. Boveris A, Chance B. The mitochondrial Generation of Hydrogen Peroxide. General properties and effect of Hyperbaric Oxygen. Biochem J 1973; 134: 707-716.
  17. Kehrer J. The Haber–Weiss reaction and mechanisms of toxicity. Toxicology 2000; 149: 43–50.
  18. Halliwell B, Gutteridge J. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. Biochem J 1984; 219: 1-14.
  19. Paravicini TM, Touyz RM. NADPH Oxidases, Reactive Oxygen Species, and Hypertension. Diabetes Care 2008; 31: S170-S180
  20. Fridovich I. Superoxide anion radical (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), superoxide dismutases, and related matters. J Biol Chem 1997; 272: 18615-18617.
  21. Vargas F, Rivas C, Nursamaa A, Zoltan T. Reacciones de radicales libres con relevancia biológica en la teoría del envejecimiento. Avances en Química 2007; 2(2): 3-15.
  22. Swain J, Gutteridge J. Prooxidant iron and copper, with ferroxidase and xanthine oxidase activities in human atherosclerotic material. FEBS Lett 1995; 368: 513-515.
  23. Knight JA. Free radicals: their history and current status in aging and disease. Ann Clin Lab Sci 1998; 28(6): 331-346.
  24. 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(6): 785-794.
-

- 
25. Dröge W. Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function. *Physiol Rev* 2002; 82: 47–95.
  26. Halliwell B. Oxidants and human disease: some new concepts. *FASEB J* 1987; 1: 358-364.
  27. Boveris A. La evolución del concepto de radicales libres en biología y medicina: Discurso de ingreso en la Academia Iberoamericana de Farmacia. *Ars Pharm* 2005; 46 (1): 85-95.
  28. Olivares-Corichi I, Ceballos G, Ortega-Camarillo C, Guzman-Grenfell A, Hicks J. Reactive oxygen species (ROS) induce chemical and structural changes on human insulin *in vitro*, including alterations in its immunoreactivity. *Front Biosci* 2005; 10: 838-843.
  29. Venero J. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Rev Cubana Med Milit* 2002; 31(2): 126-133.
  30. 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.
  31. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull* 1993; 49: 481-493.
  32. Bandyopadhyay U, Das D, Banerjee RK. Reactive oxygen species: oxidative damage and pathogenesis. *Curr Sci India* 1999; 77: 658-666.
  33. Gutteridge J. Lipid Peroxidation and Antioxidants as Biomarkers of Tissue Damage. *Clin Chem* 1995; 41: 1819-1828.
  34. Morrissey P, Sheehy P, Galvin K, Kerry J, Buckley D. Lipid stability in meat products. *Meat Sci* 1998; 49(1): S73-S86.
  35. Spiteller G. Lipid peroxidation in aging and age-dependent diseases. *Exp Gerontol* 2001; 36: 1425-1457.
  36. Dean R, Fu S, Stocker R, Davies M. Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation. *Biochem. J* 1997; 324: 1-18.
  37. Díaz A, Membrillo J. Consecuencias fisiológicas de la oxidación de proteínas por carbonilación en diversos sistemas biológicos. *TIP Rev Esp Cienc Quim Biol* 2006; 9(1): 34-44.
-

- 
38. Berlett B, Stadtman E. Protein Oxidation in Aging, Disease, and Oxidative Stress. *J Biol Chem* 1997; 272(33): 20313-20316.
  39. Shacter E. Quantification and significance of protein oxidation in biological samples. *Drug Metab Rev* 2000; 32(3&4): 307-326.
  40. González-Torres M, Betancourt-Rule M, Ortiz-Muñiz R. Daño Oxidativo y Antioxidantes. *Bioquímica* 2000; 25(1): 3-9.
  41. Richter C. Reactive oxygen and DNA damage in mitochondria. *Mutat Res* 1992; 275: 249-255.
  42. Bolin B, Cardozo-Pelaez F. Assessing biomarkers of oxidative stress: Analysis of guanosine and oxidized guanosine nucleotide triphosphates by high performance liquid chromatography with electrochemical detection. *J Chromatogr B* 2007; 856: 121–130.
  43. González M, Puchades M, García R, Sáez G, Tormos M, Miguel A. Efecto del tratamiento con hemodiálisis sobre el estrés oxidativo en pacientes con insuficiencia renal crónica. *Nefrología* 2006; 26(2): 218-225.
  44. Chihuailaf RH, Contreras PA, Wittwer FG. Patogénesis del estrés oxidativo: Consecuencias y evaluación en salud animal. *Veterinaria México* 2002; 33: 265-283
  45. 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.
  46. Hicks J, Torres-Ramos Y, Sierra-Vargas M. Estrés oxidante. Concepto y clasificación. *Revista de Endocrinología y Nutrición* 2006; 14(4):223-226.
  47. Halliwell B, Gutteridge J. The definition and measurement of antioxidants in biological systems. *Free Radic Biol Med* 1995; 18(1):125-6.
  48. Venereo J. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Rev Cubana Med Milit* 2002;31(2):126-33.
  49. Marklund S, Westman N, Lundgren E, Roos G. Copper- and Zinc-containing Superoxide Dismutase, Manganese-containing Superoxide Dismutase, Catalase, and Glutathione Peroxidase in Normal and Neoplastic Human Cell Lines and Normal Human Tissues. *Cancer Res* 1982; 42: 1955-1961.
-

50. 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.
51. Blokhina O, Virolainen E, Fagerstedt K. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Ann Bot-London* 2003; 91: 179-194.
52. Bolzan A, Bianchi M, Bianchi N. superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase activities in human blood: influence of sex, age and cigarette smoking. *Clin Biochem* 1997; 30(6): 449-454.
53. 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.
54. Rodríguez J, Menéndez J, Trujillo Y. Radicales libres en la biomedicina y estrés oxidativo. *Rev Cub Med Mil* 2001; 30(1):36-44.
55. 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.
56. Barbosa K, Bressan J, Zulet M, Martínez J. Influencia de la dieta sobre marcadores plasmáticos de estrés oxidativo en humanos. *An Sist Sanit Navar* 2008; 31 (3): 259-280.
57. Carr A, Frei B. Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and health effects in humans. *Am J Clin Nutr* 1999; 69: 1086–107.
58. Huang H, Appel L, Croft K, Miller E, Mori T, Puddey I. Effects of vitamin C and vitamin E on in vivo lipid peroxidation: results of a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr* 2002; 76: 549–55.
59. Traber MG. Vitamin E Bioavailability, biokinetics and metabolism. In: Cadenas E, Packer L, editors. *Handbook of antioxidants*. 2<sup>nd</sup>. Ed. New York: Marcel Dekker; 2002: 99-108.
60. Young I, Woodside J. Antioxidants in health and disease. *J Clin Pathol* 2001; 54:176-186.

- 
61. 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.
  62. Mecocci P, Polidori M, Troiano L, Cherubini A, Cecchetti R, Pini G, et al. Plasma antioxidants and longevity: a study on healthy centenarians. *Free Radic Biol Med* 2000; 28(8): 1243-1248.
  63. Harman D. Free radical theory of aging. *Mutat Res* 1992; 275: 257-266.
  64. Sies H, "El estrés oxidativo: de la investigación básica a la aplicación clínica" *Am J Med* 1993 (suppl 3c): 31s-38s.
  65. Gerschman R, Gilbert D, Nye S, Dwyer P, Fenn W. Oxygen poisoning and x-irradiation: a mechanism in common. *Science* 1954; 119: 623-626.
  66. McCord J. The evolution of free radicals and oxidative stress. *Am J Med* 2000; 108: 652– 659.
  67. Harman D. Aging: A Theory Based on Free Radical and Radiation Chemistry. *J. Gerontol* 1956; 11: 298-300.
  68. Gómez J, Saiach S, Lecuna N. Envejecimiento. *Revista de Posgrado de la Cátedra VIa Medicina* 2000; 100: 21-23.
  69. Semsei I. On the nature of aging. *Mech Ageing Dev* 2000; 117: 93-108.
  70. Strehler B, North D. Cell-type specific codon usage and differentiation. *Mech Ageing Dev* 1982; 18: 285-313.
  71. Harman D. The aging process. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981; 78(11): 7124-7128.
  72. McEwen BS. Stress, adaptation, and disease. Allostasis and allostatic load. *Ann N Y Acad Sci* 1998;840:33-44.
  73. McEwen B, Seeman T. Protective and damaging effects of mediators of stress. Elaborating and testing the concepts of allostasis and allostatic load. *Ann N Y Acad Sci* 1999; 896: 30-47.
  74. Stryer L, Tymoczko J, Macarulla J. *Bioquímica* 6ª ed. Barcelona: Reverte. 2007: 530-560.
  75. Riancho J, González J. *Osteoporosis y enfermedades del metabolismo mineral*. Madrid: Jarpyo Editores, S.A. 2004: 1-110.
-

- 
76. Rizzoli R, Bonjour J, Ferrari S. Osteoporosis, genetics and hormones. *J Mol Endocrinol* 2001; 26: 79–94.
  77. Fernández-Tresguerres I, Hernández-Gil, Alobera M, del Canto M, Blanco L. Bases fisiológicas de la regeneración ósea II. El proceso de remodelado. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2006; 11: E151-E157.
  78. Lafita J. Fisiología y fisiopatología ósea. *An Sist Sanit Navar* 2003; 26(3): 7-15.
  79. Joao M, Aparicio L, Aparicio N. Calcificaciones arteriales y osteoporosis... ¿mecanismos y posibilidades terapéuticas comunes? *Revista de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva* 2005; 1: 3-7.
  80. Ding C, Parameswaran V, Udayan R, Burgess J, Jones G. Circulating Levels of Inflammatory Markers Predict Change in Bone Mineral Density and Resorption in Older Adults: A Longitudinal Study. *J Clin Endocrinol Metab* 2008 93:1952-1958.
  81. McNamara L. Perspective on post-menopausal osteoporosis: establishing an interdisciplinary understanding of the sequence of events from the molecular level to whole bone fractures. *J R Soc Interface* 2010; 7: 353-372.
  82. Bae D, Stein B. The diagnosis and treatment of osteoporosis in men on androgen deprivation therapy for advanced carcinoma of the prostate. *JPN J UROL* 2004; 172: 2137-2144.
  83. Rachon D, Mysliwska J, Ranchon S, Semetkowska-Jurkiewicz B, Zorena K, Tysiak-Szdowska W. Serum interleukin-6 levels and bone mineral density at the femoral neck in post-menopausal women with Type 1 diabetes. *Diabet Med* 2003; 20: 475–480.
  84. Ferrer J, Tovar I, Martínez P. Osteoprotegerina y Sistema RANKL/RANK: ¿el futuro del metabolismo óseo? *An Med Interna* 2002; 19: 385-388.
  85. Cannon J, Cortez-Cooper M, Meaders E, Stallings J, Haddow S, Kraj B, et al. Follicle-stimulating hormone, interleukin-1, and bone density in adult women. *Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol* 2010; 298:790-798.
  86. Neyro J, Cano A, Gil-Antuñano S. Regulación del metabolismo óseo a través del sistema RANK-RANKL-OPG. *Rev Osteoporos Metab Miner* 2011; 3(2):105-112.
-

- 
87. Komori T. Regulation of bone development and extracellular matrix protein genes by RUNX2. *Cell Tissue Res* 2010; 339:189–195.
  88. Chen S, Gluhak-Heinrich J, Wang Y, Wu Y, Chuang H, Chen L, et al. Runx2, Osx, and Dspp in Tooth development. *J Dent Res* 2009; 88(10): 904–909.
  89. AMMOM. Consenso Mexicano de Osteoporosis. *Rev Metab Oseo Min* 2003; 1(1):1-24.
  90. Plantalech L. Tratamiento de la osteoporosis: novedades. *Rev Hosp Ital B Aires* 2006; 26(2): 45-54.
  91. World Health Organization. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases: recommendations for preventing osteoporosis. Geneva: WHO Technical Report Series, 2003.p. 129-132.
  92. World Health Organization. Interim Report and Recommendations of the World Health Organization Task-Force for Osteoporosis. *Osteoporos Int* 1999; 10: 259–264.
  93. Kaplan R, Vo A, Stitik T, Kamen L, Bitar A, Shih V. Rehabilitation of orthopedic and rheumatologic disorders. 1. Osteoporosis assessment, treatment, and rehabilitation. *Arch Phys Med Rehabil* 2005; 86(3 Suppl 1):S40-S47.
  94. Prentice A. Diet, nutrition and the prevention of osteoporosis. *Public Health Nutr* 2003; 7(1A): 227-243.
  95. Padierna J. Factores de riesgo y prevalencia de osteoporosis. Estudio por ultrasonometría del calcáneo. *Med Int Mex* 2008; 24(4) :278-83.
  96. Clark P, Carlos F, Vázquez J. Epidemiología, costos y carga de la osteoporosis en México. *Rev Metab Óseo y Min* 2010; 8(5):152-161.
  97. Riera-Espinoza G, Epidemiology of osteoporosis in Latin America 2008. *Salud Publica Mex* 2009; 51 (1): 52-55.
  98. Lazcano-Ponce E, Tamayo J, Díaz R, Burguete A, Salmerón J. Correlation trends for bone mineral density in Mexican women: Evidence of familiar predisposition. *Salud Publica Mex* 2009; 51 (1): 93-99.
  99. Fahmy S, Soliman A. Oxidative Stress as a Risk Factor of Osteoporotic Model Induced by Vitamin A in Rats. *Aust J Basic & Appl Sci* 2009; 3(3): 1559-1568.
-

- 
100. Maggio D, Barabani M, Pierandrei M, Polidori M, Catani M, Mecocci P, et al. Marked Decrease in Plasma Antioxidants in Aged Osteoporotic Women: Results of a Cross-Sectional Study. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88(4):1523–1527.
  101. Sendur O, Turan Y, Tastaban E, Serter M. Antioxidant status in patients with osteoporosis: A controlled study. *Joint Bone Spine* 2009; 76: 514–518.
  102. Basu S, Michaëlsson K, Olofsson H, Johansson S, Melhus H. Association between Oxidative Stress and Bone Mineral Density. *Biochem Bioph Res Co* 2001; 288: 275–279.
  103. Ha H, Bok H, Woong S, Mi H, Kim H, Kim H, et al. Reactive oxygen species mediate RANK signaling in osteoclasts. *EXP CELL Res* 2004; 301: 119–127.
  104. Sánchez-Rodríguez M, Ruiz-Ramos M, Correa-Muñoz E, Mendoza-Núñez V. Oxidative stress as a risk factor for osteoporosis in elderly Mexicans as characterized by antioxidant enzymes. *BMC Musculoskel Dis* 2007; 8(124): 1-7.
  105. Jenkins R. Exercise and oxidative stress methodology: a critique. *Am J Clin Nutr* 2000; 72(1): 670S–674S.
  106. Shen C, Chyu M, Pence B, Yeh J, Zhang Y, Felton C, et al. Green tea polyphenols supplementation and Tai Chi exercise for postmenopausal osteopenic women: safety and quality of life report. *Bmc Complem Altern M* 2010; 10(76): 1-10.
  107. Chan K, Qin L, Lau M, Woo J, Au S, Choy W, et al. A randomized, prospective study of the effects of Tai Chi Chun exercise on bone mineral density in postmenopausal women. *Arch Phys Med Rehabil* 2004; 85(5): 717-722.
  108. Belviranlı M, Gökbel H. Acute exercise induced oxidative stress and antioxidant changes. *Eur J Gen Med* 2006; 3(3): 126-131.
  109. Caspersen C, Powell K, Christensen M. Physical Activity, Exercise, and Physical Fitness: Definitions and Distinctions for Health-Related Research. *Public Health Rep* 1985; 100(2): 126-131.
-

110. Borer K, Fogleman K, Gross M, La New J, Dengel D. Walking intensity for postmenopausal bone mineral preservation and accrual. *Bone* 2007; 41(4): 713-721.
111. Preisinger E, Alacamlioglu Y, Pils K, Bosina E, Metka M, Schneider B, et al. Exercise therapy for osteoporosis: results of a randomised controlled trial. *Br J Sports Med* 1996; 30: 209-212.
112. Sinaki M. The Role of Physical Activity in Bone Health: A New Hypothesis to Reduce Risk of Vertebral Fracture. *Phys Med Rehabil Clin N Am* 2007;18: 593–608.
113. Calafat C. Deporte y masa ósea (II). Características del ejercicio físico que condicionan el modelado y remodelado óseo. *Apunts Med Esport* 2007; 154: 92-98.
114. Gauthier P, Laflamme L, Deshaies P, Picard D. The relationship of physical activity to bone mineral content in postmenopausal women. *Arch Gerontol Geriatr* 1992; 3: 173-184.
115. Navarro A, Gomez C, López-Cepero J, Boveris A. Beneficial effects of moderate exercise on mice aging: survival, behavior, oxidative stress, and mitochondrial electron transfer. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2004; 286: R505–R511.
116. Mcardle A, Jackson M. Exercise, oxidative stress and ageing. *J Anat* 2000; 197: 539-541.
117. Ji L, Leeuwenburgh C, Leichtweis S, Gore M, Fiebig R, Hollander J, et al. Oxidative Stress and Aging. Role of Exercise and Its Influences on Antioxidant Systems. *Ann Ny Acad Sci* 1998; 854: 102-117.
118. Kinnunen S, Atalay M, Hyypä S, Lehmuskero A, Hänninen O, Oksala N. Effects of prolonged exercise on oxidative stress and antioxidant defense in endurance horse. *J Sport Sci Med* 2005; 4: 415-421.
119. Arquer A, Elosua R, Marrugat J. Actividad física y estrés oxidativo. *Apunts Med Esport* 2010; 45(165): 31–40.

- 
120. World Medical Association. World medical association declaration of Helsinki. Ethical principles for medical research involving human subjects. WMA 2008. p. 1-5.
  121. Jentscha A, Bachmannb H, Fürsta P, K H. Improved analysis of malondialdehyde in human body fluids. *Free Radic Biol Med* 1996; 20(2): 251-256.
  122. Zúñiga E., Vega D., Envejecimiento de la población, Reto siglo XXI. Secretaría de gobernación, CONAPO, México. 2004.
  123. Radak Z, Chun H. & Goto S. Exercise and hormesis: oxidative stress-related adaptation for successful aging. *Biogerontology* 2005; 6: 71–75.
  124. Atalay M., Laaksonen D., Diabetes, Oxidative Stress and Physical Exercise. *J Sport Sci Med* 2002; 1: 1-14.
  125. Bailey C., Brooke K, Optimum frequency of exercise for bone health: Randomised controlled trial of a high-impact unilateral intervention. *Bone* 2010; 46: 1043-1049.
  126. Slater TF. Free-radical mechanisms in tissue injury. *Biochem J* 1984; 222: 1-7.
  127. Halliwell B, Gutteridge JMC, Cross CE. Free radicals, antioxidants, and human disease: Where are we now? *J Lab Clin Med* 1992; 119: 598-620.
  128. Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. Oxidants, antioxidants, and degenerative diseases of aging. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 7915-7922.
  129. Ozbay B, Dulger H. Lipid peroxidation and antioxidant enzymes un Turkish population: Relation to age, gender, exercise and smoking. *Thohoku J Exp Med* 2002; 197(2): 119-124.
  130. Ayres S, Baer J, Subbian R. exercised-induced increase inlipid petroxidation parameters in amenorrhic female athletes. *Fertil Steril* 1998; 69(1): 73-77.
  131. Lean J, Jagger J, Kirstein B, Fuller K, Chambers T. Hydrogen Peroxide Is Essential for Estrogen-Deficiency Bone Loss and Osteoclast Formation. *Endocrinology* 2004; 146(2):728–735.
  132. Elosua R, Molina L, Fito M, Arquer A, Sanchez-Quesada J, Covas M, e tal. Response of oxidativ estress biomarkers to a 16-week aerobic physical activity
-

- program, and to acute physical activity in healthy young men and women. *Atherosclerosis* 2003; 167: 327–34.
133. Leeuwenburgh C, Heinecke J. Oxidative Stress and Antioxidants in Exercise. *Curr Med Chem* 2001; 8: 829-838.
134. Goto S, Naito H, Kaneko T, Chung H, Radak Z. Hormetic effects of regular exercise in aging: correlation with oxidative stress. *Appl Physiol Nutr Me* 2007; 32(5): 948-953.
135. Radak, Z, Chung H, Koltai E, Taylor A, Goto S. Exercise, oxidative stress and hormesis, *Ageing Res Rev* 2007; 7(1): 34-42.
136. Gómez-Cabrera M, Domenech E, Viña J. Moderate exercise is an antioxidant: Upregulation of antioxidant genes by training. *Free Radic Biol Med* 2007; 44: 126-131.
137. Leeuwenburgh C, Fiebig R., Chandwaney R., Ji L. aging and Exercise training in skeletal muscle: responses of glutathione and antioxidant enzyme system. *Am J Physiol* 1994; 267(2): 439-445.
138. Bailey C, Brooke-Wavell. Optimum frequency of exercise for bone health: Randomised controlled trial of a high-impact unilateral intervention. *Bone* 2010; 46: 1043–1049.
139. Calafat C. Ejercicio físico y masa ósea (I). Evolución ontogénica de la masa ósea e influencia de la actividad física sobre el hueso en las diferentes etapas de la vida . *Apunts Med Esport* 2007; 153: 40-46.
140. Ehrlich P, Lanyon L. Mechanical Strain and Bone Cell Function: A Review. *Osteoporos Int* 2002; 13: 688-700.
141. Da Silva M, Vaamonde D, Padullés J. Entrenamiento con vibraciones mecánicas y salud: efectos sobre los sistemas óseo, endocrino y cardiovascular. *Apunts Educación física y deportes* 2006; 84: 48-57.
142. Solano A. Las leyes de la ortopedia. *Rev Col de Or Tra* 2006; 20(4): 115-118.
143. Fukada E, Yasuda. On the piezoelectric effect of bone. *J Phys Soc Jpn* 1957; 12(10): 1158-1162.
-

144. Marino A, Becker R. Origin of the piezoelectric effect in bone. *Calc Tiss Res* 1971; 8: 177-180.
145. Ferreira A, Noris K, Bello A, Marquez A, Feijoo J, Lira-Olivares J. Influencia de la piezoelectricidad del colágeno tipo I en la adhesión celular. *IFMBE Proceedings* 2007; 18: 659–662.
146. Fukada E, Yasuda. Piezoelectric effect in collagen. *Jpn J Appl Phys* 1964; 3(2): 117-121.
147. Aschero G, Gizdulich P, Mango F, Romanof S. Converse piezoelectric effect detected in fresh cow femur bone. *J Biomechanics* 1996; 29(9): 1169-1174.
148. Noris-Suárez K, Lira-Olivares J, Ferreira A, Feijoo J, Suárez N, Hernández M, Barrios E. In Vitro Deposition of Hydroxyapatite on Cortical Bone Collagen Stimulated by Deformation-Induced Piezoelectricity. *Biomacromolecules*. 2007; 8(3): 941–948.

## XIV. ANEXOS



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
\* Z A R A G O Z A \*  
INSTITUTO PARA LA ATENCIÓN DE LOS ADULTOS MAYORES  
DEL ESTADO DE HIDALGO  
UNIDAD DE INVESTIGACIÓN EN GERONTOLOGÍA



En caso de cualquier duda o sugerencia en relación al proyecto comunicarse con:

Dr. Víctor Manuel Mendoza Núñez  
M. en C. Juana Rosado Pérez  
Unidad de Investigación en Gerontología, FES Zaragoza  
UNAM, México D.F.,  
Tel. 015556230700, #, 39182, 015556230770, o a los correos:  
mendovic@servidor.unam.mx, rpj@puma2.zaragoza.unam.mx

En el estado de Hidalgo:  
Psic. Gustavo Carrasco  
T.S. Belem Luna  
gustavocvera@yahoo.com.mx, belem\_mandy\_luna@hotmail.com

### CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

#### PROYECTO: "EFECTO DEL EJERCICIO FÍSICO SOBRE EL ESTRÉS OXIDATIVO Y LA DENSIDAD MINERAL ÓSEA EN ADULTOS MAYORES"

##### Antecedente y Objetivo

Estudios recientes han demostrado una asociación etiológica y fisiopatológica entre el EOX y la osteoporosis, así como un efecto benéfico potencial de la realización de EF, no obstante, las evidencias científicas en humanos son escasas e inconsistentes

##### 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 y a los 12 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: **“EFECTO DEL EJERCICIO FÍSICO SOBRE EL ESTRÉS OXIDATIVO Y LA DENSIDAD MINERAL ÓSEA EN ADULTOS MAYORES”** 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.**

