



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

Efecto del ejercicio físico y el proceso de envejecimiento sobre la eficiencia del sistema antioxidante en una población de adultos mayores vs. jóvenes

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIOLÓGICA

P R E S E N T A

PÉREZ LÓPEZ OMAR JONATHAN

DIRECTOR: Dra. Mirna Ruiz Ramos

ASESOR: Dra. Raquel Retana Ugalde

MÉXICO, D.F.

ABRIL, 2012





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.

AGRADECIMIENTOS

Por el apoyo recibido para la realización de este trabajo a:

La Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA), Al programa de apoyo a proyectos de investigación e innovación tecnológica (PAPIIT) con clave IN308411

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

AGRADECIMIENTOS

Dr. Víctor Manuel Mendoza Núñez como responsable del laboratorio, por las facilidades brindadas para el desarrollo metodológico de este trabajo.

A la Dra. Mirna Ruiz Ramos por la dirección de este trabajo.

A la Dra. Retana Raquel Retana Ugalde por la asesoría de este trabajo.

A los sinodales Dr. Víctor Manuel Mendoza Núñez, M. en C. Araceli García del Valle, M en C .Rosa Elba Galván Duarte.

AGRADECIMIENTOS

Al equipo de trabajo de la Unidad de investigación en Gerontología: Dra. Mirna Ruiz Ramos, Dr. Víctor Manuel Mendoza Núñez, Dra. Retana Raquel Retana Ugalde, por su apoyo incondicional durante este proyecto.

A la Dra. Mirna Ruiz Ramos por su asesoría y apoyo brindado durante todo este tiempo, por abrirme el panorama y sus compartir sus conocimientos conmigo.

A todos los miembros de la Unidad de investigación en Gerontología que hicieron posible el desarrollo de este trabajo, en especial a las QFB Victoria Altamirano Barragán, QFB Jeniffer Montalvo Olvera y QFB Gie Bele García Discua.

DEDICATORIAS

Son mucho las personas especiales a las que me gustaría dedicarles este trabajo, pero creo que debería empezar por dios, ya que me diste la oportunidad de llegar a este punto y haberme dado salud para lograr mis objetivos y la familia y amigos que tanto quiero.

Para mis padres y hermanos que me han dado por su apoyo en todo momento de mi vida, por sus enseñanzas, consejos, su eterna paciencia y su perdón ante mis constantes errores, saben que han sido mi sostén en estos años, ante cada dificultad ustedes están ahí sin condiciones, a mis sobrinos que sin duda han sido la alegría y lo más hermoso de este mundo. No tengo palabras para poder agradecerles todo lo que han hecho por mí.

A todos mis amigos del alma pero en especial a Miguel, Víctor, Roy, Erick y Luis que fueron un apoyo incondicional, por acompañarme en las buenas y en las malas, por hacerme creer que existen los amigos del alma, por todas las alegrías y las tristezas que compartimos, por las anécdotas que un día contaremos y nos reiremos como locos.

A mis amigas de corazón que estuvieron conmigo en las diferentes etapas de mi vida. A Victoria y Jeny que fueron mi alegría durante muchos años, que están y seguirán siempre en mi corazón, por regalarme su amistad, por sus consejos aunque siempre terminaba haciendo todo lo contrario y me levantaban mi ánimo cuando más necesitaba a una amiga. A Gie Bele por mostrarme la linda niña que siempre ha sido, por escucharme y reírse de mis tonterías, por los largos días donde nos acompañábamos y hacías que el tiempo se fuera más rápido, por enseñarme y hacerme descubrir tantas cosas que creí que había olvidado.

A esos amigos que el tiempo y la vida nos han distanciado, pero nunca es tarde para volver a vernos y poder recuperar el tiempo perdido, a las personas que de un modo u otro han estado en mi vida, ya que eso ha hecho la persona que soy hoy en día.

A la Dra. Mirna por confiar en mí y ayudarme a culminar con esta etapa de mi vida, por haberme hecho más amena la estancia en el laboratorio brindándome su apoyo y comprensión.

A todas las personas que directa o indirectamente participaron en el proyecto, por su tiempo y esfuerzo que pusieron a pesar de las ocupaciones que tenían.

ÍNDICE

Índice de cuadros y figuras

Abreviaturas

	Paginas
I. Resumen	1
II. Introducción	2
III. Marco teórico	4
III.1 Envejecimiento	4
III.1.1 Teorías del envejecimiento	5
III.2 Radicales Libres	7
III.2.1 Especies Reactivas de Oxígeno más Frecuente.....	7
III.3 Estrés Oxidativo	13
III.4 Sistema Antioxidante	18
III.5 Estrés Oxidativo y envejecimiento	22
III.6 Ejercicio físico	23
III.6.1 Estrés oxidativo y ejercicio físico	25
IV. Planteamiento del problema	30
V. Hipótesis	31
VI. Objetivos	32
VII. Material y métodos	33
VII.1 Tipo de estudio	33
VII.2 Universo de estudio	33
VII.3 Variables	34
VII.4 Técnicas	35
VII.5 Análisis estadístico	47
VIII. Resultados	48
XIX. Discusión	58
X. Conclusión	66
XI. Perspectivas	67
XII. Referencias	68
XIII. Anexos	77

Índice de cuadros

Cuadro III.1 Antioxidantes y su sitio de acción.

Cuadro III.2 Estudios relativos al ejercicio físico.

Cuadro VII.1 Universo de estudio.

Cuadro VII.2 Operacionalización de variables.

Cuadro VII.3 Procedimiento de 8 .Isoprostanos.

Cuadro VIII.1 Parámetros bioquímicos de las etapas basales y post-intervención de jóvenes y adultos mayores.

Cuadro VIII.2 Niveles de LPO en reposo, 2 y 24 horas después de un episodio agudo de ejercicio físico.

Cuadro VIII.3 Niveles de 8 – isoprostanos (pg/mL) en reposo, 2 y 24 hrs después de un episodio agudo de ejercicio físico.

Cuadro VIII.4. Capacidad antioxidante total en reposo a las 2 horas y 24 horas después de un episodio agudo de ejercicio físico.

Cuadro VIII.5 Actividad de GPx en reposo, 2 y 24 hrs después de un episodio agudo de ejercicio físico.

Cuadro VIII.6 Actividad de SOD en reposo, 2 y 24 hrs después de un episodio agudo de ejercicio físico.

Cuadro VIII.7 Razón SOD/GPx en reposo, 2 y 24 hrs después de un episodio agudo de ejercicio físico.

Cuadro VIII.8 Índice de EOx basal, 2 y 24 hrs después de un episodio agudo de ejercicio físico.

Índice de figuras

Figura III.1 Formación del anión superóxido ($O_2^{\cdot -}$) en la pared vascular.

Figura III.2 Formación de especies reactivas de oxígeno.

Figura III.3 Cadena de electrones.

Figura III.4 Balance entre sistema antioxidante y pro-oxidante.

Figura III.5 Formación de 8-Isoprostanos a partir de fosfolípidos de la membrana,

Figura III.6 La glutatión reductasa reduce el GSSG a GSH utilizando NADPH como agente reductor.

Figura III.7 Estructura de la vitamina C

Figura VII.1 fundamento de la prueba de EIA CAYMAN 8 – ISOPROSTANE ítem No. 516351 (2010).

Figura VII.2 Curva estándar de 8 .Isoprostanos, tomado de EIA CAYMAN 8 –ISOPROSTANE ítem No. 516351 (2010).

Figura VII.3 Acomodo de los platos de 8 .Isoprostanos, tomado de EIA CAYMAN 8 –ISOPROSTANE ítem No. 516351 (2010).

Figura XIII.1 curva estándar de 8 –isoprostanos.

ABREVIATURAS

RL	Radicales libres
EOx	Estrés oxidativo
Redox	Oxido reducción
EROs	Especies reactivas de oxígeno
ADN	Ácido Desoxirribonucleico
ERN	Especies reactivas de nitrógeno
ATP	Adenosín Trifosfato
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleotido fosfato oxidasa
MDA	Malonaldehído
GSH	Glutation reducido
8-OHdG	8-hidroxiguanosina
LPO	Lipoperóxidos
TBA	Ácido Tiobarbitúrico
TBARS	Sustancias reactivas a ácido tiobarbitúrico
ELISA	Enzayo inmunoabsorbente ligado a enzima
HCLO	Ácido Hipocloroso
SOD	Superóxido dismutasa
GPx	Glutation Peroxidasa
VLDL	Lipoproteínas de muy baja densidad
LDL	Lipoproteínas de baja densidad
HDL	Lipoproteínas de alta densidad
PLTP	Proteína de transferencia de fosfolípidos
EF	Ejercicio Físico
CTE	Cadena de transporte de electrones
TAS	Capacidad antioxidante total
UV	Ultravioleta
GSSG	Glutation oxidado
ROOH	Hidroperóxido
BHT	Butiril-hidroxitolueno
TMP	1,1,3,3-Tetrametoxipropano
GAP	Brecha antioxidante
ANOVA	Análisis de varianza
IC	Intervalo de confianza
CAT	Catalasa
GR	Glóbulos rojo
GB	Glóbulos Blancos
Htc	Hematocrito
Hb	Hemoglobina
CHCM	Concentración de Hemoglina corpuscular media
PCR	Proteina C reactiva
ROOH	Hidroperóxido

I.-RESUMEN

ANTECEDENTES: Se ha propuesto que la práctica de ejercicio físico moderado ocasiona un incremento en la eficiencia del sistema antioxidante, favoreciendo el incremento en las enzimas antioxidantes y reduciendo la susceptibilidad del músculo a los RL. A su vez se ha reportado que el envejecimiento se ve acompañado por un declive en el sistema antioxidante, sin embargo existen controversias al respecto, ya que se menciona que el realizar ejercicio físico en la tercera edad no favorece la eficiencia del sistema antioxidante. Por tal motivo en este estudio se evaluó la influencia del envejecimiento y el ejercicio físico moderado sobre la eficiencia del sistema antioxidante.

OBJETIVO: Determinar la influencia del envejecimiento y la realización de ejercicio físico por un periodo de 6 meses, sobre la eficiencia del sistema antioxidante, evaluado a través de un periodo agudo de ejercicio físico en una población de adultos mayores vs jóvenes.

MÉTODO: Previo consentimiento informado se llevó a cabo un estudio cuasi-experimental, en 26 adultos mayores (13 grupo control y 13 grupo experimental) y 23 adultos jóvenes (11 grupo control y 12 grupo experimental). A todos los participantes se les realizó una evaluación pre y post-intervención a los 6 meses. En cada evaluación se efectuó una valoración pre y post-exposición, a las 2 y 24 hrs después de la exposición a un episodio agudo de ejercicio físico, de los marcadores de EOX: Lipoperóxidos (LPO), 8-isoprostanos, actividad enzimática de superóxido dismutasa (SOD) y glutatión peróxidasa (GPx) y la capacidad antioxidante total (TAS). Se calcularon medidas descriptivas (promedio y desviación estándar) y como pruebas de comparación el análisis de varianza (ANOVA), t pareada, Wilcoxon y U-Mann Whitney. Para todas las pruebas se consideró un valor de $p < 0.05$ como significancia estadística. Los datos fueron analizados con el programa estadístico SPSS 15.0.

RESULTADOS: Los resultados mostraron un incremento estadísticamente significativo en los niveles de isoprostanos en el grupo experimental de los adultos mayores a las 2 horas pre-intervención versus post-intervención (basal, 56.49 ± 7.96 versus post-intervención, 65.4 ± 11.05 $p < 0.05$); así como, también en la actividad antioxidante de la GPx a las 2 y 24 horas, pre-intervención versus post-intervención (2 horas basal, 8962 ± 3649 versus 2 horas post-intervención 12087 ± 4441 , $p < 0.05$; 24 horas basal 9146 ± 3285 versus 24 horas post-intervención 13519 ± 445 , $p < 0.05$). Mientras que en el grupo experimental de los jóvenes se presentó un incremento estadísticamente significativo en la actividad de la enzima antioxidante GPx en reposo y a las 2 horas pre-intervención vs post-intervención (en reposo, 7906 ± 2686 versus 11020 ± 4364 , $p < 0.05$; a las 2 horas, 6417 ± 3637 versus 11328 ± 4577 , $p < 0.05$).

CONCLUSIONES: Se observó una eficiencia del sistema antioxidante similar en adultos jóvenes y adultos mayores, vinculada con la mayor actividad de la GPx, después de la práctica de ejercicio físico moderado durante 6 meses.

II.- INTRODUCCIÓN

Se puede señalar que el envejecimiento es un proceso multifactorial el cual involucra procesos biológicos psicológicos y sociales, caracterizado por una disminución relativa de la respuesta homeostática, debido a las modificaciones morfológicas, fisiológicas, bioquímicas y psicológicas, propiciado por los cambios inherentes a la edad y al desgaste acumulado ante los retos que enfrenta el organismo a lo largo de la historia del individuo en un ambiente determinado. Cifras estimadas por el Consejo nacional de población (CONAPO) nos dice que actualmente residen en México 8.2 millones de personas de 60 años o más, y se estima un aumento en la población de adultos mayores en las próximas décadas, se cree que en el 2034 habrá la misma cantidad de niños que ancianos. En la actualidad las personas mayores presentan una mayor demanda de servicios de salud, pues en este grupo de edad se presentan mayores tasas de morbilidad y necesidades de atención médica que el resto de la población. Se han planteado que el “estrés oxidativo” (EOx) es la consecuencia directa de los cambios que ocurre en el proceso de envejecimiento.

A medida que sobrepasamos los 65 años aumenta progresivamente la probabilidad que en los próximos años aparezca una limitación en la funcionalidad, por tales motivos es necesario que esta población tenga un mejor estilo de vida y que se fomente desde la juventud para su buen envejecimiento, ya que la exposición a restricciones o excesos nutricionales en la vida fetal, infancia, niñez y adolescencia pueden afectar en gran medida el riesgo de contraer enfermedades crónicas en edades avanzadas.

Una de las medidas para poder mejorar el estilo de vida es el ejercicio, se sabe que el ejercicio ocasiona una demanda de energía y oxígeno, originado así especies reactivas de nominadas “radicales libres” (RL), si se llega a dar un desequilibrio entre las concentraciones de RL y sustancias antioxidantes ocurre el fenómeno denominado EOx.

Lo más importante del ejercicio sobre el organismo es el proceso de adaptación, como cualquier factor estresante tiene la capacidad para inducir la adaptación, debido a que el realizar ejercicio ocasiona un incremento en actividad del sistema antioxidante. Existen biomarcadores del daño oxidativo a nivel de proteínas, lípidos y los ácidos nucleicos (ADN y ARN), entre ellos se encuentran la cuantificación de isoprostanos (8-iso-PGF₂α) los cual se ha sugerido son un indicador fiable de la peroxidación de las moléculas libres de ácido araquidónico y la esterificación de los lípidos de membrana.

Por tal motivo, la finalidad del presente estudio es determinar la influencia del envejecimiento y del ejercicio por un lapso de tiempo considerable sobre el sistema antioxidante, así como la comparación entre dos poblaciones (adultos mayores vs jóvenes).

III.- MARCO TEÓRICO

III.1. Envejecimiento

El envejecimiento es un proceso gradual y adaptativo caracterizado por una disminución relativa de la respuesta homeostática, debido a las modificaciones morfológicas, fisiológicas, bioquímicas y psicológicas, propiciada por los cambios inherentes a la edad y al desgaste acumulado ante los retos que enfrenta el organismo a lo largo de la historia del individuo en un ambiente determinado.¹

En la actualidad residen en México cerca de 8.2 millones de personas consideradas como adultos mayores (60 años en adelante), datos proporcionados por el Consejo Nacional de Población (CONAPO) quienes predicen que ocurrirá un aumento considerable en las siguientes décadas, esperando que la población mayor alcance el mismo número que los niños en el 2034; considerando esto, es necesario poder tomar las medidas necesarias para que las personas que se encuentran en ese rango de edad tengan una calidad de vida aceptable, tanto en lo social, como en lo psicológico y lo bioquímico.^{2,3}

Otro dato importante es que al ocurrir este aumento habrá una mayor demanda en los servicios de salud, ya que esta población presenta la mayor tasa de morbilidad y mortalidad del país, se sabe que las principales causas de mortalidad en México son las enfermedades crónico degenerativas, entre ellas están la diabetes mellitus tipo II, la hipertensión arterial y las neoplasias malignas. En este sentido, las enfermedades crónicas degenerativas pueden ser evitadas o controladas si se adquieren estilos de vida saludables, entre las medidas recomendadas encontramos:^{3,4}

- Tomar una dieta nutritiva equilibrada
- Mantenerse físicamente activo
- No fumar
- Consultar a su enfermera o a su médico para que mantengan una vigilancia periódica en relación con cualquier problema de salud que se llegue a presentar
- Ejercitar la mente todos los días
- Mantener una red significativa de contactos sociales

Al realizar este tipo de acciones podemos obtener un bienestar psicológico, social y biológico.

Cabe mencionar, que cuando envejecemos ocurre una declinación fisiológica normal y un aumento en la prevalencia de ciertas enfermedades, a pesar de eso no se debe de creer que la vejez es una enfermedad Dröger *et al.* (2002) nos señalan que los organismos multicelulares pasan por cambios cualitativos con el tiempo, ocasionando una degeneración progresiva de las funciones biológicas.⁵

Mientras que *Harman et al.* (1991), nos hablan que el envejecimiento es la acumulación de una serie de cambios responsables de las alteraciones secuenciales que se acompañan con el aumento de la edad, este tipo de acumulaciones pueden llegar a causar una enfermedad o incluso la muerte.^{6,}
7

Estas son dos explicaciones sobre lo que ocurre al envejecer, pero no son las únicas hipótesis que se han postulado sobre el proceso de envejecimiento, a pesar de eso aún no se tiene con certeza las causas o los motivos de éste.

III.1.1. Teorías del Envejecimiento

Las bases biológicas del envejecimiento aún no se conocen y es por ello que para poder explicar el fenómeno del envejecimiento se han formulado una serie de teorías, que pueden ser clasificadas en dos categorías, las teorías estocásticas y las no estocásticas.

Las teorías no estocásticas plantean que el envejecimiento estaría programado por una secuencia de eventos codificados dentro del genoma, en este grupo se encuentran:

- Teoría del marcapasos: el sistema inmune y el neuroendocrino serían “marcadores” intrínsecos del envejecimiento, su involución está genéticamente determinada para ocurrir en momentos específicos de la vida, el timo juega un papel muy importante en el envejecimiento ya que al alterarse la función de los linfocitos T ocasionan la disminución del sistema inmune y un aumento en la posibilidad de padecer cáncer.
 - Teoría genética: La teoría genética indica que los factores genéticos son determinantes en el proceso de envejecimiento, hasta la fecha se conocen cuatro genes en los cromosomas 1 y 4, que dan información sobre el cese de la división celular (inhibidores), los oncogenes estimuladores del crecimiento al activarse determinan una división celular infinita que son las células cancerosas. El envejecimiento celular estaría condicionado por la pérdida progresiva de material genético en los extremos de los cromosomas (telómeros) donde cada
-

vez que una célula se reproduce, el telomero se acorta, cuando más se acorta dicho telomero. Debido al acortamiento telomérico se limita la capacidad de proliferación de las células, esto limitara el número de divisiones posibles y por lo tanto condicionara la duración de su vida (Reloj Telomérico).

Las teorías estocásticas nos señalan que el envejecimiento es consecuencia de alteraciones que ocurren en forma aleatoria y se acumulan a lo largo del tiempo, entre estas teorías se encuentra:

- Teoría del error catastrófico: Está teoría propone que con el paso del tiempo se producirá una acumulación de errores en la síntesis de proteínas, produciendo errores en los procesos de transcripción y transducción.
- Teoría del entrecruzamiento: Nos habla de enlaces o entrecruzamientos entre las proteínas y otras macromoléculas celulares, lo que determinaría envejecimiento y el desarrollo de enfermedades crónico degenerativas, esto explica que el desarrollo de “cataratas” con la edad es secundario ya que las proteínas del cristalino sufren glicosilación y comienzan a entrecruzarse entre ellas, lo que lleva a opacidad progresiva de éste.
- Teoría del desgaste: Refiere que cada organismo estaría compuesto de partes irremplazables y que la acumulación de daño en sus partes vitales llevaría a la muerte a las células, los tejidos, los órganos y finalmente al organismo.
- Teoría de radicales libres (el envejecimiento como producto del metabolismo oxidativo). Está teoría explica que las mitocondrias evolucionan durante el envejecimiento a un estado de estrés oxidativo y disfuncionalidad. Ocasionando así la producción de radicales libres mitocondriales. La teoría de los radicales libres es la más aceptada y plausible para explicar el proceso del envejecimiento.^{7, 8, 9}

Teoría de los radicales libres

La teoría de los radicales libres fue planteada por Harman en 1956 la cual nos habla de la relación entre la producción de RL, el daño acumulativo y el envejecimiento.^{7, 6, 10}

La evidencia de que el envejecimiento está asociado con la teoría de los radicales libres es:¹⁰

- Un aumento en la producción de agentes oxidantes
- Una disminución de la solidez de las defensas antioxidantes
- Una disminución de la efectividad de los mecanismos de reparación
- Un aumento de productos finales del daño oxidativo

III. 2.Radicales Libres

Las reacciones de óxido-reducción tienen una amplia distribución en el metabolismo celular, la transformación de los nutrientes orgánicos y la obtención de energía química. Al hablar del término de oxidación, nos referimos a la eliminación de electrones.¹¹

Un RL es una molécula o fragmento de molécula, que contiene uno o más electrones desapareados en su orbital externo, ocasionando que éste sea altamente reactivo y que presente una vida media corta, esta molécula tiende a ceder ese electrón o a adquirir uno. El RL interactúa con otra molécula mediante una reacción Redox para obtener una estabilidad electrónica, si las moléculas que reaccionan con el RL no presentan electrones desapareados, se convertirá en un RL y se producirá una reacción en cadena, esto hasta que ocurra una reacción entre dos RL.^{12, 13, 14, 15}

III.2.1 Especies Reactivas de Oxígeno más Frecuentes

Generalmente los RL son compuestos, oxigenados, ya que son generados principalmente en sistemas biológicos a partir de compuestos endógenos. A estas moléculas se les conoce como especies reactivas de oxígeno (EROs). El oxígeno es un buen agente oxidante, ocasionando una ganancia de electrones, estos radicales presentan muchos roles en las vías de señalización celular, regulación transcripcional y apoptosis.¹³

Entre las EROs encontramos al superóxido ($O_2^{\cdot -}$), Hidroxilo u oxhidrilo (OH^{\cdot}), alcoxilo (RO^{\cdot}), peroxilo (ROO^{\cdot}), e hidroperoxilo ($RHOO^{\cdot}$).

Al peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y los peróxidos lipídicos se les considera EROs debido a que tienen la capacidad de ser convertidos en RL por metales de transición tanto libres en la célula como unidos a proteínas.¹⁶

Radicales libres más frecuentes:

Anión superóxido

El oxígeno molecular tiene dos electrones que están en orbitales separados y con espines paralelos, el oxígeno al aceptar electrones forma EROs, así la reducción del oxígeno con un electrón produce el radical anión superóxido ($O_2^{\bullet -}$).



El $O_2^{\bullet -}$ es extremadamente reactivo y con una vida media muy corta (de 10^{-6} s), ya que puede reaccionar como un agente reductor al donar un electrón o como oxidante al ganar un electrón; éste anión está cargado negativamente, por lo que tiene poca solubilidad en lípidos y, por tanto, reducida capacidad de difusión.

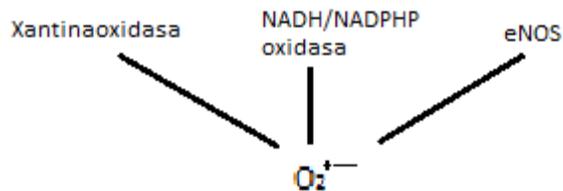


Figura III.1 Formación del anión superóxido ($O_2^{\bullet -}$).^{17, 18, 19}

Radical Hidroperoxilo

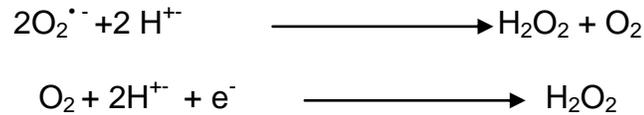
Cuando el anión superóxido se protona, produce el radical hidroperoxilo.



El radical hidroperoxilo puede asimismo contribuir a la formación de peróxido de hidrogeno en los tejidos, es un agente oxidante que puede alterar significativamente las moléculas biológicas y producir la destrucción celular y se considera una de las principales toxinas producida por los tejidos.^{18, 20}

Peróxido de hidrogeno

El H_2O_2 no es en sí un RL, sino un agente oxidante con una vida media más prolongada que el anión superóxido y con capacidad de difundir en la membrana, de esta forma puede acceder a lugares donde se hayan Fe^{2+} y Cu^{2+} para formar el radical hidroxilo. Una de las formas para la obtención del peróxido de hidrogeno, es cuando el anión superóxido acepta un electrón y dos protones, a su vez también puede formarse a partir del anión superóxido.



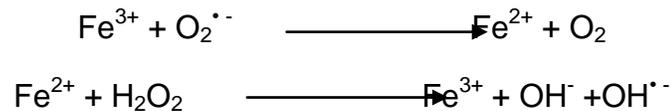
El H_2O_2 también se forma a través de la enzima Superóxido dismutasa el cual transforma el radical superóxido en peróxido de hidrogeno.^{18, 19}



Radical Hidroxilo

El radical hidroxilo es la especie más reactiva, el cual puede provocar rotura homolítica del agua corporal, un proceso para la formación del radical hidroxilo es la llamada reacción de Fenton.

Mediante la reacción de Fenton con complejos de bajo peso molecular de Fe (II) como el citrato-Fe (II) o la ATPasa-Fe (II) se generan radicales hidroxilo (OH^{\cdot}). A su vez el peróxido de hidrogeno en presencia de un metal de transición puede captar un electrón y producir el radical hidroxilo (OH^{\cdot}) y un ion hidroxilo.

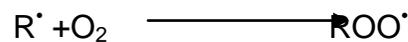


El anión superóxido puede reaccionar con el H_2O_2 para formar oxígeno molecular, ion hidroxilo y el radical hidroxilo. Esta es la reacción de Haber – Weiss.^{13,18}



Radical Peroxilo

Este radical se origina a partir de la adición del oxígeno a un radical hidrocarbonado o de hidroperóxidos orgánicos, por ejemplo lípidos, o ROOH .¹³



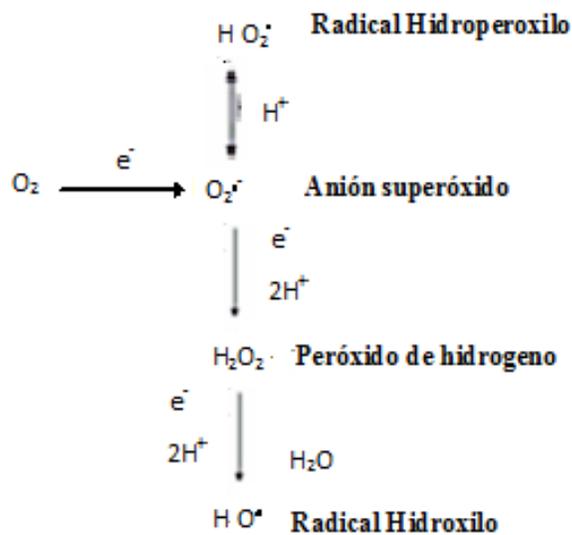


Figura III.2 Formación de especies reactivas de oxígeno

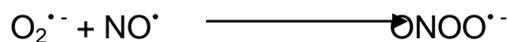
Óxido nítrico

El óxido nítrico (NO^{\bullet}) es un RL ya que tiene un electrón desapareado aunque es bastante estable, se produce en el organismo por la conversión del aminoácido L-arginina a L- citrulina por la enzima óxido nítrico – sintetasa, al ser un gas y al no estar cargado puede difundir y atravesar la membrana y llega con facilidad al interior de la célula, el NO^{\bullet} sirve como neurotransmisor, activador inmunitario, agregación plaquetaria y como regulador del flujo sanguíneo.^{21, 22}

Formación de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno

Cuando se produce el NO^{\bullet} en grandes cantidades y éste se combina con el O_2 o con el anión superóxido se forman especies reactivas de oxígeno y nitrógeno (RNO_2), como el peroxinitroso ($\text{ONOO}_2^{\bullet -}$).

Estos son intermediarios estables y muy reactivos que a su vez también se pueden descomponer rápidamente en los radicales NO_2^{\bullet} .^{13, 18}



Fuentes de los radicales libres

Como ya se mencionó los RL pueden ser formados por el mismo organismo (fuentes endógenas) o por la exposición a ambientes externos (fuentes exógenas) los cuales originan la formación de estos.

Fuentes exógenas:

Los RL son producidos de forma exógena por los denominados factores oxidantes los cuales son:

- Drogas o medicamentos
- Radiación
- Contaminación
- Humo del tabaco
- Solventes
- Aumento de la concentración de metales pesados
- Radiaciones Ultravioleta e ionizantes
- Dieta hipercalórico
- Procesos inflamatorios
- Ejercicio extenuante

Fuentes endógenas:

La misma célula tiene la capacidad de generar RL estos tiene un papel fundamental en la homeostasis del organismo, estos participa en procesos como la fagocitosis, cadena respiratoria y reacciones del retículo endoplasmático por mencionar alguno de estos.

- **Cadena de transporte de electrones**

Las mitocondrias constituyen la fuente principal de RL. Este fenómeno se efectúa a nivel de la cadena de transporte de electrones, en este proceso de fosforilación oxidativa el oxígeno actúa como aceptor final de electrones. Una consecuencia directa de este proceso es que entre los nutrientes iniciales y la generación de energía al final del proceso, se forman varias moléculas con diferente grado de oxidación. ²³

En las células los átomos de carbono y de hidrogeno de las moléculas orgánicas, que inicialmente se encuentran en estado reducido (rico en electrones) se metaboliza hasta transformar en CO₂ y H₂O, moléculas que han cedido electrones y por tanto están oxidadas.

El EOX mitocondrial es una consecuencia del envejecimiento celular, la función mitocondrial y la morfología se ven afectados en el envejecimiento, por una disminución en el potencial de membrana, así como un aumento en la producción de peróxido y el tamaño de los organelos.^{24, 25}

La cadena de transporte de electrones está formada por varios componentes ordenados en serie donde cada uno tiene la capacidad de experimentar oxidación y reducción. El flujo de electrones a través de los transportadores situados en la membrana interna, ocasiona un bombeo unidireccional de protones desde la matriz mitocondrial interna hacia el otro lado de la membrana (espacio intermembrana). Se establece un gradiente de protones ya que la membrana es impermeable a estos, también se establece un gradiente de carga eléctrica, este gradiente electroquímico resultante contiene energía potencial.^{24, 25, 26, 27}

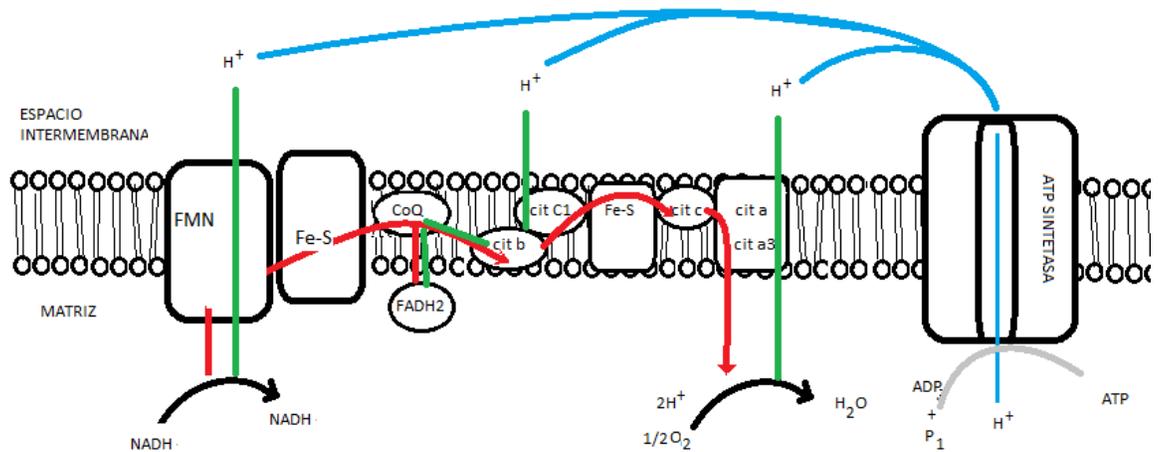


Figura III.3 Cadena de electrones

El oxígeno actúa como aceptor final de electrones, por la estructura eléctrica del oxígeno éste solo puede aceptar electrones de uno a uno, ya que al presentar una estructura birradical presenta 2 electrones no apareados en su orbital externo impidiendo la captación de 2 electrones la vez, por lo tanto cuando la molécula de oxígeno choca con un dador de electrones y al tomar un electrón produce $O_2^{\cdot -}$ y al aceptar otro electrón forma el H_2O_2 y si hay presencia de metales (hierro) lleva a la formación de HO^{\cdot} .^{23, 28, 29, 30}

- **Producción de RL por enzimas**

Existen en la célula enzimas capaces de producir reacciones de óxido-reducción, entre ellas encontramos a la superóxido dismutasa (SOD), aldehído oxidasa, flavinproteín deshidrogenasa y triptófano dioxigenasa.

Xantina oxidasa

La xantina oxidasa convierte la hipoxantina en xantina, y la xantina en ácido úrico, en los mamíferos se encuentra casi exclusivamente en el hígado y la mucosa del intestino delgado.³¹

Peroxisomas

Los peroxisomas son organelos de la célula compuestos por oxidasa entre ellas la D – aminoácido oxidasa, urato oxidasa, L- α - hidroxíácido oxidasa y acil-graso-coenzima A oxidasas, estas ocasionan la producción de peróxido de hidrogeno, una de sus principales funciones es la oxidación de ácidos grasos de cadena esto en las células hepáticas. El H₂O₂ formado será eliminado por la catalasa.

Los leucocitos polimorfonucleares constituyen una fuente importante de peroxisomas, cuando se activan por diversas proteínas que actúan específicamente sobre ellos (complemento, interleucinas, etc.). Los leucocitos poseen en su membrana las enzimas NADPH oxidasa generadora de O₂ que en presencia de hierro se transforma en OH⁻, esto se da principalmente en el proceso inflamatorio.^{32, 33, 34}

IV.3 Estrés oxidativo

El termino estrés oxidativo (EOx) se refiere a una situación donde existe un aumento en la concentración de RL, excediendo la capacidad de la célula para eliminarlos y reparar el daño celular, en pocas palabras el EOx es cuando la capacidad de los mecanismos antioxidantes se ve superada por los agentes oxidantes.^{13,35}

Estudios recientes han demostrado que la mayoría de los procesos patológicos, más frecuentes durante el envejecimiento se asocian con el EOx, como son la diabetes mellitus, aterosclerosis, artritis reumatoide, cataratas y demencia de Alzheimer, entre otras. Asimismo, se sabe que existe una variedad de factores ambientales que promueve la formación de RL tales como los hábitos alimenticios, el ejercicio, las horas de sueño, el alcoholismo, el tabaquismo, etc.^{10, 16, 36}

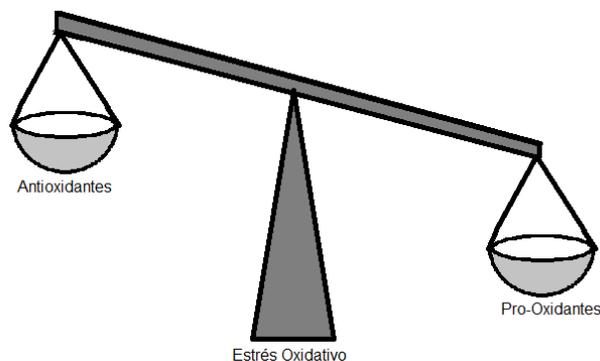


Figura III.4 Balance entre sistema antioxidante y pro-oxidante. Cuando este desbalance se rompe a favor de los pro.oxidantes se presenta el estrés oxidativo

El aumento RL que provocan los factores ambientales (pro-oxidantes) ocasiona daño a nivel celular, esto por la acción de las EROs sobre los lípidos, las proteínas y el ADN.

Biomarcadores de daño oxidativo

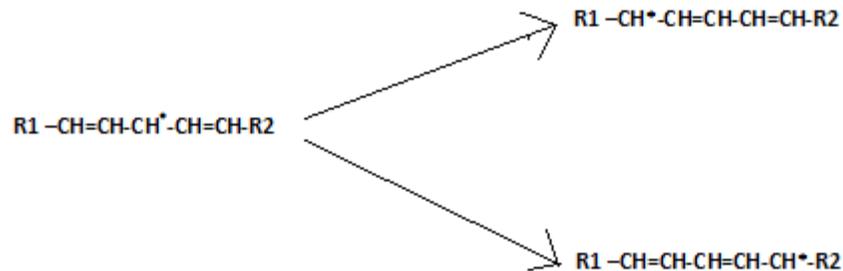
Durante el metabolismo celular se producen una gran cantidad de RL y peróxidos, los cuales pueden escapar del sitio de formación y atacar a los componentes celulares principalmente a los lípidos, las proteínas y el ADN.^{13, 37}

Daño a Lípidos

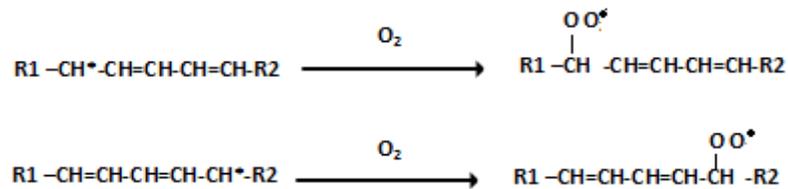
El proceso de oxidación de los lípidos es llamado lipoperoxidación o peroxidación lipídica y el producto de estas reacciones se denomina lipoperoxidos (LPO). La peroxidación de lípidos es uno de los procesos inducidos por RL más estudiados; la presencia abundante de fosfolípidos en la membrana celular hace a estos lípidos sumamente accesibles y susceptibles del ataque oxidativo, principalmente en aquéllos ácidos grasos insaturados donde abundan los electrones con dobles enlaces se puede dar con facilidad la reacción de RL en cadena.³⁸

Los RL principalmente reaccionan con los ácidos grasos poliinsaturados ocasionando su peroxidación y así daño a nivel de la membrana celular. Los RL que inician principalmente esta reacción son el radical hidroxilo y el peróxido.

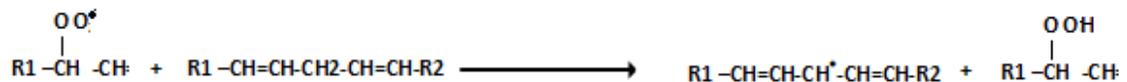
Al reaccionar el $\text{OH}\cdot$ con los ácidos grasos insaturados, ocasiona la abstracción de hidrogeno, formándose un RL lipídico.



Al formarse un radical lipídico éste sufre un reordenamiento molecular y produce un dieno conjugado, que reacciona con oxígeno molecular produciendo un radical hidropéroxilo.



El radical hidropéroxilo puede extraer un átomo de hidrógeno de un carbono metileno de otro ácido graso para formar un nuevo radical lipídico y un hidropéroxido lipídico, este radical lipídico se puede combinar con otra molécula de oxígeno y continuar con la reacción en cadena.



Esta reacción culmina solo cuando el sustrato se agota o cuando el sistema antioxidante se opone para que siga la reacción en cadena.

El daño lipídico en la membrana celular establece un aumento en la permeabilidad de esta, provocando un alteración considerable en las funciones celulares.^{13, 39-42}

Los LPO son compuestos inestables, de difícil detección, estos tienen a degradarse en dienos conjugados, alcanos (etano y pentanos), productos aldehídicos (malonaldehidos) e isoprostanos.

El método más utilizado para la cuantificación de LPO, es la determinación de malonaldehido (MDA), el cual es un producto muy estable aldehídico de la lipoperoxidación. El MDA reacciona con el ácido tiobarbitúrico (TBA), para formar un complejo colorimétrico.^{38, 43}

Los isoprostanos son estereoisómeros de las prostaglandinas que se forman por la peroxidación de ácidos grasos insaturados (principalmente ácido araquidónico) en la membrana de fosfolípidos.^{44, 45} Aunque teóricamente existen 64 posibles isómeros generados por la oxidación del ácido araquidónico, el 8 – isoprostano es comúnmente usado como marcador de EOX.⁴⁶

En la génesis de los isoprostanos intervienen las EROs, los cuales tienen la capacidad de sustraer un átomo de hidrógeno del ácido araquidónico, lo que da lugar a la formación de cuatro isómeros de la PGH₂. Cada uno de estos cuatro isómeros, puede ser completamente reducido, dando lugar a cuatro isómeros de la PGE₂ o PGD₂. Los isoprostanos se diferencian estructuralmente de las prostaglandinas porque en los primeros las cadenas laterales tienen predominantemente orientación *cis* mientras que las otras las poseen en posición *trans*.⁴⁷

La cuantificación de 8-iso-PGF₂ α se ha sugerido como un indicador fiable de la peroxidación de lípidos que pueden estar relacionados con la generación de RL *in vivo*, daño oxidativo y deficiencia de antioxidantes. La concentración de isoprostanos varía con la edad y el sexo. Estudios sugieren que los niveles urinarios de 8 –iso PGF₂ α están elevados en varones sanos comparados con mujeres premenopáusicas.⁴⁸⁻⁵¹

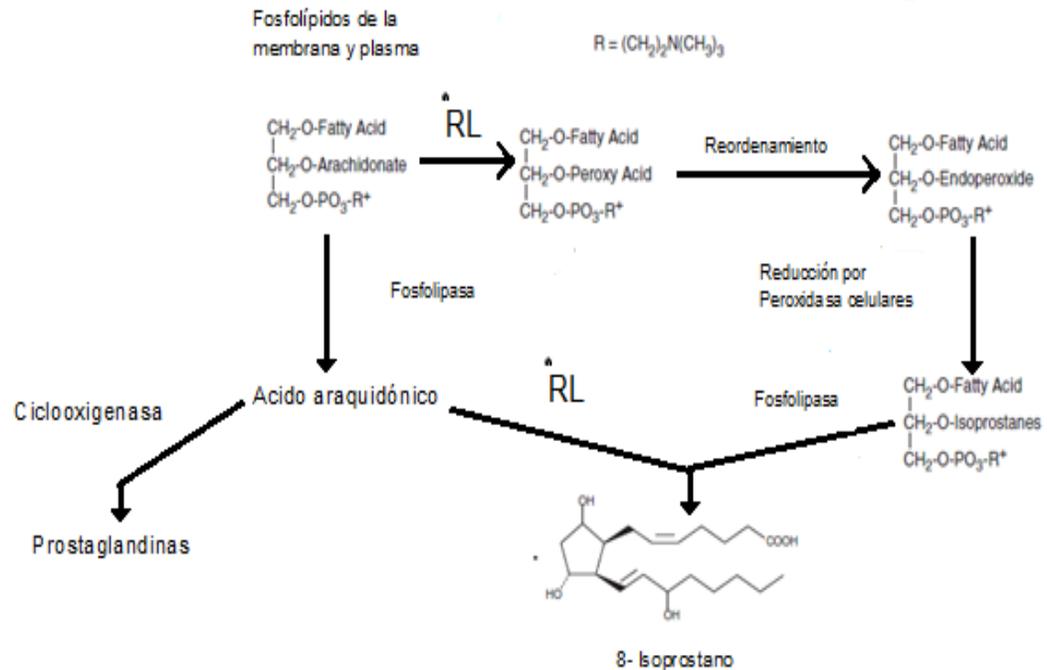


Figura III.5 Formación de 8-Isoprostanos a partir de fosfolípidos de la membrana, tomado de EIA CAYMAN 8-ISOPROSTANE ítem No. 516351 (2010)

Daño a proteínas:

Por otro lado, aunque las proteínas son menos susceptibles al ataque de los RL también resultan dañadas por éstos; al ser oxidadas se fragmentan y se unen entre sí dando lugar a entrecruzamientos que dan como resultado la pérdida de funcionalidad de la proteína. Se ha establecido que proteínas con residuos de triptófano, tirosina, fenilalanina, histidina, metionina y cisteína son más susceptibles al daño por RL. La cisteína es el principal aminoácido donde ataca las EROs, cuando ocurre la oxidación de cisteína, éste puede ocasionar la formación de disulfuros mixtos entre los grupos tiol de las proteínas (-SH) y algunos tioles de bajo peso molecular.^{13, 52}

Las modificaciones por el daño oxidativo de las proteínas se relacionan con un aumento en la susceptibilidad de la degradación por enzimas proteolíticas debido a cambios en su estructura.⁵³

Daño al ADN:

Con relación al ADN, los RL llegan a inducir en éste entrecruzamientos que pueden dar lugar a mutaciones, las cuales traen como consecuencia daño a

genes y a sus productos. Esto a su vez, induce a un mal funcionamiento de la célula, siendo el principio de la mayoría de los trastornos orgánicos degenerativos.^{20,21}

Un claro ejemplo de los efectos del envejecimiento es el cumulo de alteraciones que ocurren a nivel del DNA ocasionando así una producción defectuosa de proteínas, entre ellas las que participan en la actividad del sistema antioxidante.^{10, 54-56}

Se conoce que el daño al ADN por RL ocurre de forma espontánea y existe un nivel normal de bases modificadas por EROs en el ADN celular. La acción del OH• da lugar a más de 20 modificaciones y entre ellas la más frecuente es la 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina (8-OH-dG) el cual es uno de los biomarcadores de estrés oxidativo más utilizado.⁵⁴

Daño a carbohidratos:

Los carbohidratos reaccionan con el OH•, estos sufren una peroxidación, formándose compuestos dicarbonílicos y peróxidos de hidrogeno.

Los carbohidratos también reaccionan como agentes protectores, siendo la glucosa un captador de peróxidos, impidiendo su acción en otras moléculas, a su vez la manosa y el manitol actúan como defensa contra el radical hidroxilo.^{57, 58}

Para evitar el daño a las biomoléculas es necesario contar con un sistema de defensa eficiente, el cual se encarga de prevenir, retrasar o eliminar el daño por los RL, esto con el fin de mantener el equilibrio entre oxidantes/antioxidantes.

III.4 Sistema de defensa antioxidante

El sistema de defensa antioxidante se encarga de prevenir, retrasar o eliminar el daño por la oxidación de moléculas, impidiendo que otras moléculas se unan al oxígeno, ya que interactúan más rápido con las EROs que con el resto de las moléculas presentes.

Su principal función es evitar las alteraciones de lípidos, proteínas, ADN, etc. esto con el objetivo de mantener el equilibrio prooxidante/antioxidante.

Intracelular	Membrana	Extracelular
Superoxido dismutasa	Vitamina E	Transferinas
Catalasa	Betacarotenos	Albumina
Peroxidasa	Ubiquinol 10	Vitamina C
GSH		Acido Úrico
Vitamina C		Vitamina E

Estos se pueden clasificar según el sitio donde ejercen su acción:⁵⁹

Cuadro III.1 Antioxidantes y su sitio de acción:

Los agentes antioxidantes son capaces de donar electrones a especies reactivas y neutralizar el potencial oxidativo de los RL.

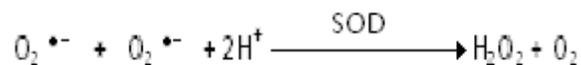
Otra forma de clasificar a los antioxidantes es desde el punto de vista bioquímico, de éste modo se puede clasificar en antioxidantes enzimáticos y antioxidantes no enzimáticos.⁶⁰

Antioxidantes enzimáticos

Las tres principales enzimas antioxidantes son: Superóxido dismutasa (SOD), glutatión peroxidasa (GPX) y catalasa(CAT); son los únicos que requieren de un cofactor.

Superóxido Dismutasa

La enzima Superóxido dismutasa se encarga de neutralizar la capacidad reactiva del radical Superóxido al reducirlo a peróxido.



Se sabe que hay tres formas de Superóxido dismutasa:

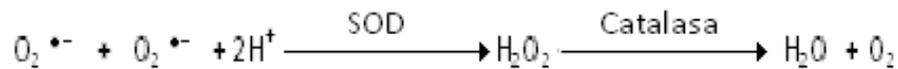
- CuZn- SOD
 - Mn-SOD
 - Fe-SOD
-

Estructuralmente es una metaloproteína (proteína que tiene un ion metálico como cofactor). En células procariontas se encuentra Mn-SOD y Fe-SOD, mientras que en las células eucariotas se encuentra CuZn-SOD y Mn-SOD.¹²

Mn-SOD en las células eucariotas es una enzima estrictamente mitocondrial, mientras que el CuZn-SOD se encuentra en el citoplasma y en fluidos extracelulares como plasma, liquido sinovial, y linfático.^{61, 62}

Catalasa

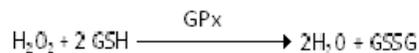
La catalasa es una proteína hemo (proteína con un grupo hemo unido al sitio activo), se encuentra en sangre, medula ósea, mucosas, riñón e hígado. Se encarga en la degradación de H₂O₂ producido por la SOD en H₂O y O₂.⁶³



Glutación Peroxidasa

La glutación peroxidasa es una enzima que se encuentra en el citosol del eritrocito y en los lisosomas de los neutrofilos, macrófagos y otras células del sistema inmune. Su principal función es eliminar de H₂O₂ así como los peróxidos orgánicos (ROOH).

La glutación peroxidasa depende del selenio para su función, El glutación reducido (G-SH) es capaz de ceder electrones desde su grupo sulfidriilo (SH) a una especie oxidada formándose el Glutatiòn oxidado (GSSG).



Para que el GSSG vuelva a su estado reducido se necesita de la Glutación reductasa y el NADPH como dador de electrones.⁶⁴

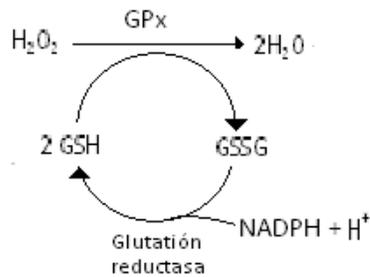


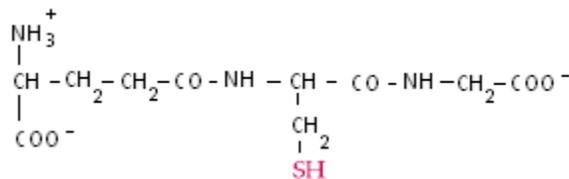
Figura III.6 La glutatión reductasa reduce el GSSG a GSH utilizando NADPH como agente reductor.⁶⁴

Antioxidantes no enzimáticos

Los antioxidantes no enzimáticos no pueden ser sintetizados por los mamíferos por lo tanto son requeridos de la dieta.

El Glutatión

El glutatión es un tripeptido no proteico derivado de aminoácidos, presenta un grupo tiol (-SH) de la cisteína.



El GSH puede reaccionar por si solo con los RL o con la intervención de una enzima (GPx) como se mencionó anteriormente.^{64,65}

Vitamina E

La vitamina E es un lípido isoprenoide sustituido, de la familia de los tocofenoles (forma activa es el α -Tocoferol), éste presenta un hidroxilo fenólico el cual es el responsable de la reducción antioxidante.

La vitamina E es una de las primeras barreras de la peroxidación lipídica (ácidos grasos poliinsaturados) esto se debe a que los fosfolípidos de la membrana poseen afinidad para el α -Tócoferol y éstos actúan interrumpiendo las reacciones en cadena con los RL ya que tiene la capacidad de transferir el hidrogeno fenólico a un radical peróxilo libre, quedando en forma del radical fenoxi o fenoxilo, en reacciones intermedias no reversibles que presuponen la transformación de la vitamina hasta su producto final.

El tocofenol y el selenio actúan sinérgicamente, a su vez el selenio es necesario para la correcta digestión de los lípidos.

La vitamina E se encuentran en los aceites vegetales (girasol, maíz de soja y semillas), germen de trigo, las nueces y algunos vegetales de hoja verde.⁶⁶

Vitamina C

La vitamina C o L –ascorbato es un derivado ácido de la glucosa, el cual es una configuración de la lactona, sus grupos hidroxilo asociados al doble enlace, funcionan como agentes con alto potencial reductor, lo que le permite, participar en la reducción directa de oxígeno, también participa como agente que reduce los radicales fenoxilo formados durante la actividad vitamina E.

La mayor fuente de ascorbato en la dieta son las frutas, especialmente los cítricos, el kiwi, las cerezas y el melón.

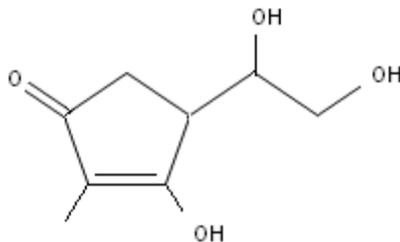


Figura III.7 Estructura de la vitamina C

La vitamina C es considerada como el antioxidante extracelular más importante, está por la capacidad de atrapar peróxidos evitando que ocasione daños en la membrana celular.⁶⁷

Otros antioxidantes no enzimáticos:⁶⁸

- Metales: selenio
- Suplementos: coenzima Q10, Melatonina y Acido lipoico
- Fisicoquímicos: Polifenoles y Compuestos organosulfurados

III.5 Estrés oxidativo y envejecimiento

Como ya se mencionó el EOX se ha relacionado con el proceso de envejecimiento, estudios recientes mencionan que el déficit de antioxidantes y el aumento de biomarcadores de EOX acompañan al envejecimiento. Se

sabe que el aumento en la concentración de EROs afecta la homeostasis del organismo y este desequilibrio ocasiona daño celular.^{63, 65, 76}

A su vez se sabe que la acumulación de daño oxidativo en los ácidos nucleicos, las proteínas y los lípidos, en distintos tejidos de animales y en humanos, están relacionados con la edad. No obstante, la información teórica disponible respecto a la acumulación de daño oxidativo sobre las biomoléculas no es concluyente.^{84, 86}

Estudios relacionados en diversos órganos (hígado, cerebro, corazón, riñones y musculo esquelético) indican que el envejecimiento se acompaña de una reducida capacidad de los sistemas antioxidantes enzimático y no enzimático para la eliminar de EROs.^{65, 67}

Otro hallazgo encontrado que favorece lo anterior, es que en el envejecimiento se produce un aumento de la peroxidación lipídica, lo que a su vez incrementa significativamente de forma exponencial la concentración de LPO, del mismo modo existen estudios donde se encuentra un aumento significativo en la concentración de 8-OHdG con el envejecimiento. A su vez, existen estudios que contradicen lo antes mencionado, se han encontrado resultados donde se sugiere que la actividad enzimática antioxidante de SOD, GPx y la catalasa (CAT) no se modifican con la edad o incluso puede aumentar en respuesta al incremento en la producción de EROs en diversos tejidos.^{131, 132,133, 134}

Es por ello que no se ha establecido si el EOx es la causa o consecuencia del envejecimiento y se plantea que al ser un proceso multifactorial es parte de éste.

Por otro lado, es importante mencionar que una de las formas para poder llegar a un envejecimiento saludable es la realización de ejercicio físico moderado y de manera programada.^{84 -87}

III.6 Ejercicio físico

Cuando hablamos de ejercicio físico debemos saber diferenciar entre éste y la actividad física. Se entiende por actividad física a cualquier movimiento voluntario del cuerpo que consume calorías, incluye actividades como las tareas del hogar, ir de compra, pasear, etc., mientras que ejercicio físico es aquella actividad física que se planifica, se hace regularmente con movimientos repetitivos y compensados, para estar en forma y gozar de buena salud.

Se sabe que el ejercicio no tiene que ser vigoroso o prolongado para causar un buen efecto, en la actualidad se recomiendan 30 minutos de ejercicio de forma moderada y más en el caso de personas sedentarias que apenas comienzan a practicarlo ya que si estos llegan a realizarlo de manera vigorosa presentando dolor muscular y fatiga.⁶⁹

Al realizar ejercicio físico, suceden ciertos cambios y adaptaciones físicas en el organismo. Una sesión de ejercicio esta constituida por cuatro fases fundamentales:

- Fase de entrada: Esta fase tiene lugar desde el reposo y al inicio de la actividad física, en esta fase predominan los procesos anaerobios ya que no hay demanda de oxígeno.
- Punto muerto: La capacidad de trabajo disminuye sensiblemente, ésto ocurre durante los primeros minutos de ejercicio, presentándose un periodo de agotamiento que cederá al pasar al “segundo aliento”.
- Segundo aliento: En este punto la respiración aumenta y se ajusta a los requerimientos del organismo. Si se llegan a exceder la capacidades del organismo se presentara la fase de fatiga en el cual se agotan las reservas y la acumulación de ácido láctico.
- Fase de recuperación: Esta comienza una vez terminado el ejercicio, en el cual se presenta una disminución en la captación de O₂ y el organismo regresaría a su estado inicial o en reposo.⁷⁰⁻⁷²

Dependiendo los requerimientos de oxígeno, el ejercicio físico puede ser clasificado en aerobios o anaerobios.

- Ejercicio anaerobio: son actividades breves, que se basan en la fuerza, entre estos encontramos al levantamiento de pesas.
- Ejercicio aerobio: son actividades de resistencia, como el maratón o el ciclismo.⁷⁰⁻⁷²

A pesar de que el ejercicio es benéfico para la salud, también lo podemos calificar como un estrés impuesto al organismo, en el cual, este responde con un proceso de adaptación, cuyo resultado nos da la forma deportiva o la sobrecarga, ésto depende de la magnitud de la carga de fuerza que se ejerce sobre el organismo.⁷⁰

Esta adaptación puede ser aguda ya que tiene lugar en el transcurso del ejercicio físico; mientras que la adaptación crónica es la que se mantiene por los cambios cuando el ejercicio es repetido y continuo.⁷¹

Durante la realización de ejercicio se producen transformaciones en todo el organismo entre ellos:⁷⁰⁻⁷²

- Adaptaciones metabólicas: Al realizar ejercicio el musculo esquelético utiliza la molécula ATP como fuente de energía, siendo el consumo de éste de 100 a 1000 veces superior al consumo del musculo en reposo. Al inicio del ejercicio la glucólisis es la fuente de energía para reponer el ATP consumido, ocasionando que ocurra una disminución en los niveles de glucógeno y fosfocreatinina en el organismo. Si el ejercicio es prolongado ocurre la utilización de glucosa sanguínea, ácidos grasos libres y aminoácidos (lectina, isoleucina y valina) para la obtención de energía.⁷⁰⁻⁷²
- Adaptaciones circulatorias: Al realizar ejercicio ocurre un mayor requerimiento de O₂, esto es posible ya que el corazón bombea más sangre. Otro proceso es el aumento de la presión arterial lo cual incrementa el flujo sanguíneo a través de los músculos.⁷²
- Adaptación respiratoria: Existe un aumento en el consumo de O₂ y ventilación pulmonar total, al incrementarse el flujo sanguíneo a través de los capilares pulmonares ocasionándose que se introduzca lentamente la sangre por los capilares y de este modo ocurra una mayor difusión de oxígenos.⁷⁰⁻⁷²
- Adaptaciones en la sangre: Existe un aumento en la concentración de glóbulos rojos (GR) o eritrocitos, en ejercicio muy agotador puede causar el incremento de la destrucción de los GR como consecuencias de compresiones capilares por la contracción muscular y el aumento de la velocidad del flujo sanguíneo. En cuanto a los glóbulos blancos (GB) ocurre un aumento relativo sobretodo de linfocitos, esto se debe a la liberación de interleucinas (IL) las cuales son un factor estimulante de las células, favoreciendo la proliferación y diferenciación de los GB, otra explicación es el desprendimiento de los leucocitos que se encuentran adheridos a los vasos sanguíneos, esto por el aumento de la velocidad del flujo sanguíneo⁷²⁻⁷⁴.

III.6.1 EOx y ejercicio

Al realizar ejercicio agudo ya sea aerobio o anaerobio, se va a presentar un aumento en la producción de RL que pueden dar como resultado la presencia de EOx.

Se ha encontrado que tanto la intensidad como la duración del ejercicio agudo pueden producir diferentes niveles de EROs, durante una baja intensidad y duración el sistema antioxidante es capaz de neutralizar los RL formados, pero si la intensidad y/o duración del ejercicio aumenta estas defensas ya no son suficientes, lo que provocaría en el organismo EOx.⁷⁵⁻⁷⁷

Al realizar ejercicio podemos encontrar, en el organismo, diversos cambios tanto en la producción de biomarcadores de EOx como en la concentración de antioxidantes.

En el primer caso Dilar *et al.* (1975) encontró que la actividad física tiene el potencial de aumentar la producción de RL y conducir al EOx. Tian *et al.* (1998) nos explican que el ejercicio induce la peroxidación lipídica, ocasionado un incremento en LPO después de un periodo de ejercicio, pero por lo general la concentración de éstos regresan al estado basal después de 1 hora, esto dependiendo de la intensidad y de la duración del ejercicio físico. Otro marcador de la peroxidación lipídica son los F2 –isoprostanos los cuales, se ha reportado en algunos estudios que estos aumentan dependiendo de la intensidad con que se practique el ejercicio físico.⁷⁷⁻⁸⁰

Mientras que con relación al antioxidante, podemos encontrar diversos cambios en la capacidad de reacción en el momento de realizar ejercicio, la capacidad del sistema antioxidante puede verse reducida, ya que sus componentes se utilizan para atacar los RL producidos, pero después de un periodo de recuperación los niveles suelen aumentar por encima de la basal. Hay que resaltar que el ejercicio físico moderado y periódico es benéfico para la salud, ya que además de ayudar a la vitalidad del organismo a nivel físico y psicológico, favorece la actividad de las enzimas antioxidantes disminuyendo significativamente el EOx. Es evidente que el ejercicio agudo ocasiona un estrés físico en el organismo, pero si los RL son aumentados al realizar ejercicio, el organismo al ser expuesto cotidianamente a este efecto ocurrirá un proceso de adaptación, la adaptación que se produce en el sistema antioxidante no elimina totalmente el daño oxidativo sino que simplemente evita que continúe.^{75, 81}

Uno de los cambios que podemos apreciar en un periodo de ejercicio es el GSH que puede ser eventualmente disminuido durante un proceso exhaustivo de ejercicio, adonde las reservas hepáticas disminuyen y su uso supera su absorción. Aunque la GSH es oxidado a GSSG en el músculo esquelético y el corazón durante la realización de ejercicio debido al incremento de EROs generados por ésta práctica, En la reacción Redox la GSH no se altera significativamente por la glutatión redactase usando NADPH.⁸²

Por otro lado, la GPx se modifica con el entrenamiento de forma dependiente de la intensidad y duración del ejercicio, mientras que la CAT parece que se reduce tras realizar ejercicio físico.^{83, 84}

Con respecto a la SOD Leeuwenburgh *et al.* (1996) nos menciona que ocurre un aumento en su actividad, mientras que Aguilo *et al.* (2005) y Hass *et al.* (1989) señalan que los valores de SOD son relativamente constantes tanto antes como después de una etapa de ejercicio intenso, esta discrepancia se puede deber a que el ejercicio físico de alta intensidad produce una mayor actividad la SOD del músculo que el ejercicio de baja intensidad^{120,121}

Alostatica y Hormesis

La alostatica es la respuesta adaptativa del organismo para mantener la homeostasis ante las exigencias endógenas y exógenas, determinadas por el estado de salud, los estilos de vida, factores psicológicos y ambientales. Éste proceso representa un costo biológico cuando ocurre una exposición continua que genera EOx, propiciando una carga alostatica (efecto a largo plazo del EOx), haciendo menos eficiente el proceso alostatico e incrementando la vulnerabilidad para la aparición de enfermedades, el ejercicio extenuante es un ejemplo de este caso. Si el organismo es sometido a un proceso de estrés por un largo plazo, se produce una acumulación de desgaste, ésto se conoce como carga alostatica.

Mientras que Hormesis es el proceso adaptativo secundario a la exposición gradual y continua de dosis seguras, como sería el ejercicio moderado a largo plazo, exponiendo al organismo a sustancias químicas y ocasionando cambios físicos que fortalecerán la homeostasis e incrementarán en cierto modo la longevidad.¹

Cuadro III.2 Estudios relativos al ejercicio físico.

Autor y año	Universo de estudio	Objetivo	Cantidad e intervención del estudio	Marcadores medidos	Hallazgos
Viguie et al., 1993 ⁹⁹	11 hombres	Conocer el estado de los antioxidantes e índice de EOX	90 minutos de ejercicio en bicicleta durante 3 días consecutivos con un consumo de O ₂ del 65%	GSH, GSSG, ascorbato e 8OHdG	No hay evidencia de que los efectos del ejercicio se acumulan o persisten en estado oxidado de la glutatión
Mastaloudis et al., 2000 ⁴⁵	11 atletas de resistencia extrema	Conocer el grado de EOX durante el ejercicio	Se realizó el estudio durante un maratón de 50 Km y durante un protocolo de sedentarismo	F2-Isoprostanos, α-tocoferol	Se presenta una resistencia por el ejercicio en la generación de F2-Isoprostanos.
Leaf et al., 1997 ¹⁰⁰	7 hombres y mujeres sanos	Conocer el efecto del ejercicio intenso sobre los LPO peroxidación lipídica	Se realizó una prueba de esfuerzo cardiopulmonar	Niveles de etano, pentano y MDA antes y después del ejercicio extenuante	En los individuos sanos el ejercicio aumenta los LPO de forma transitoria y no elimina los subproductos de la peroxidación lipídica durante la recuperación.
Rush et al., 2002 ¹¹⁴	Cerdos hembras miniaturas	Conocer si el entrenamiento con ejercicio regula la SOD y el EOX en el endotelio aórtico porcino	Los cerdos fueron entrenados por 19 semanas, se tuvo grupo control	SOD Zn/ Cu, MDA y fosforilación de ERK-1	La práctica crónica de ejercicio aeróbico influye en la actividad antioxidante y se produce una disminución del índice de EOX en los cerdos que realizaron ejercicio

Continuación

Oztasan et al., 2004 ¹²⁹	54 ratas macho 28 entrenadas y 26 grupo sedentarias	Conocer si el ejercicio atenúa el EOX en los eritrocitos en ratas.	1.5 hrs diarias de 1 a 5 días a la semana por 8 semanas.	MDA, SOD y GPx	Demostró que el entrenamiento de resistencia puede ser útil para prevenir el EOX inducido por el ejercicio agudo, y a su vez ocasiona una mejora en la actividad de las enzimas antioxidantes.
Sentürk et al., 2004 ¹²⁸	Dos grupos de 71 ratas macho wistar, grupo de sedentarias y de entrenamieto.	Inducción del EOX por el ejercicio en ratas sedentarias y entrenas	El de entrenamiento, realizo ejercicio por 4 semanas 60 min/ día. En ambos grupos se sometieron a realizar ejercicio extenuante a una velocidad de 25 m/min. Por 20 min.	LPO, SOD, GSH y Metahemoglobina, antes y después del ejercicio extenuante	El ejercicio extenuante a contribuye al deterioro de los eritrocitos en las ratas sedentarias, pero no en ratas entrenadas
Jimenez L et al., 2001 ¹¹⁸	8 personas sedentarias hemodializadas 8 personas sedentarias (sanas)	Determinar el EOX en pacientes hemodializados durante un periodo de ejercicio extenuante	Todos los sujetos realizaron una prueba de ejercicio, en un ciclo- engómetro hasta presentar síntomas de fatiga excesiva (dificultad para respirar o cansancio en las piernas q les impida continuar	MDA, SOD, GPx Y vitamina E 5 minutos antes del ejercicio, en el agotamiento y 30 minutos después del ejercicio	Los pacientes hemolizados mostraron una menor actividad de las enzimas que los sujetos del grupo control. No hubo diferencia significativa entre los dos grupos en los niveles plasmáticos de MDA.
Revan S et al., 2010 ¹⁰¹	14 estudiantes universitarios sedentarios	Determinar la modificación de LPO, GPx y CAT durante el ejercicio exhaustivo corto	Cada sujeto recorrió una distancia 1.5 millas	LPO, GPx y CAT antes y después del ejercicio exhaustivo	La prueba de corta duración exhaustiva de ejercicio no produjo cambios importantes en LPO, GPx y CAT El EOX puede estar inducido por la duración del ejercicio

IV.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Se ha observado que el estrés oxidativo se vincula con el envejecimiento y la fisiopatología de las enfermedades crónico-degenerativas, de ahí que los adultos mayores sean vulnerables a desarrollar dichas enfermedades.

Por otro lado, se ha demostrado que la práctica del ejercicio físico es benéfico para la salud y es una de las medidas preventivas más importantes para lograr un envejecimiento saludable, ya que disminuye el riesgo de padecer alguna enfermedad, mejora el rendimiento cardiopulmonar, aumenta la masa y fuerza muscular, disminuye la presión arterial, los triglicéridos y colesterol, e incrementa las lipoproteínas de alta densidad (HDL), además de propiciar una sensación de bienestar.

No obstante que el ejercicio físico es benéfico para la salud, durante su ejecución se producen gran cantidad de radicales, de ahí que sea indispensable que el sistema antioxidante endógeno sea eficiente. En este sentido, es indispensable determinar la eficiencia del sistema antioxidante durante el ejercicio físico en personas adultas mayores, ya que no existen indicaciones específicas diferenciadas para la práctica del ejercicio físico entre adultos jóvenes y adultos mayores respecto a la frecuencia e intensidad de la práctica del ejercicio físico. Por tal motivo nos hemos planteado las siguientes preguntas de investigación:

¿Cuál es la diferencia en la eficiencia del sistema antioxidante en adultos mayores versus adultos jóvenes después de una sesión programada de ejercicio físico agudo?

¿Cuál es el efecto de un programa de ejercicio físico moderado practicado durante seis meses sobre la eficiencia del sistema antioxidante en adultos mayores versus adultos jóvenes?

V.- HIPÓTESIS

De acuerdo con la información teórica:

- Considerando que el envejecimiento se caracteriza por una disminución relativa de la respuesta homeostática, suponemos que la eficiencia del sistema antioxidante de los adultos mayores será significativamente menor que la de los adultos jóvenes después de una sesión programada de ejercicio físico agudo.
 - Tomando en cuenta el mecanismo adaptativo de la hormesis durante el proceso de envejecimiento, suponemos que la eficiencia del sistema antioxidante será similar en los adultos mayores y en los adultos jóvenes, después de la práctica de un programa de ejercicio físico moderado durante seis meses.
-

VI.-OBJETIVO

- Determinar la eficiencia del sistema antioxidante en adultos mayores en comparación con los adultos jóvenes después de una sesión programada de ejercicio físico agudo.
 - Evaluar el efecto de un programa de ejercicio físico moderado practicado durante seis meses sobre la eficiencia del sistema antioxidante en adultos mayores en comparación con adultos jóvenes.
-

VII.- MATERIAL Y MÉTODO

VII.1 Tipo de Estudio

Se llevo a cabo un ensayo Cuasi-experimental

VII.2 Universo de Estudio

Previo consentimiento informado se llevó a cabo un ensayo cuasi-experimental en una población sedentaria, clínicamente sana, sin ingesta de suplementos antioxidantes, sin importar sexo, para lo cual se conformaron los siguientes grupos:

- Adultos mayores: (i) control, 13 sujetos, (ii) experimental 13 sujetos.
- Adultos jóvenes: (i) control, 11 sujetos, (ii) experimental, 12 sujetos.

Medición inicial de la eficiencia del sistema antioxidante (basal):

- Para la valoración inicial de la eficiencia del sistema antioxidante, a todos los grupos se les midió los marcadores de estrés oxidativo, en reposo, a las dos y 24 horas después de haber practicado una sesión programada de ejercicio físico agudo durante 90 minutos.

Medición de la eficiencia del sistema antioxidante vinculada a la adaptación después de un programa de ejercicio físico moderado:

- Para determinar la adaptación y mejora de la eficiencia del sistema antioxidante, se compararon las mediciones iniciales (basales) de los marcadores de estrés oxidativo, con las de la fase de post-intervención (seis meses después de la práctica de ejercicio físico moderado).

Los grupos experimentales fueron sometidos a un programa de ejercicio físico por un periodo de 6 meses, 1 hora diaria durante 5 días por semana.

Los grupos control, llevaron a cabo su actividad cotidiana sin practicar ejercicio físico.

VII.3.-Variables

Variable dependiente

Estrés Oxidativo, medido a través de:

- La concentración de LPO
- La concentración de 8- isoprostanos
- La TAS
- La actividad de las enzimas antioxidantes SOD y GPx.

Variable independiente:

- Edad: Adultos mayores vs. adultos jóvenes
- Actividad física: Ejercicio físico vs. sedentarios

Operacionalización de variables

Cuadro VII.2 Operacionalización de variables.

Variables	Definición	Nivel de Medición	Categoría
Estrés Oxidativo	Desequilibrio bioquímico entre RL y antioxidantes. Medido a través de la lipoperoxidación y los sistemas antioxidantes (SOD, GPX y CAT)	Cualitativo nominal Cuantitativo	Normales Anormales Índice EOx
Lipoperoxidación	Concentración de lipoperoxidos plasmáticos	Cuantitativa continua	µmol/L
Capacidad antioxidante total	Capacidad antioxidante total del plasma	Cuantitativa continua	mmol/L
Actividad de SOD	Actividad enzimática de la SOD	Cuantitativa continua	U/L
Actividad de GPx	Actividad enzimática de la GPx	Cuantitativa continua	U/L
8- isoprostanos	Concentración de 8- isoprostanos plasmáticos	Cuantitativa continua	pg/mL
Edad	Edad que refiere el sujeto	Cuantitativa	Años cumplidos

	en el momento del estudio	continua	
Ejercicio	actividad física que se planifica y se hace regularmente con movimientos repetitivos y compensados	Cualitativo nominal	Hace ejercicio No hace ejercicio

VII.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
 - Centrífuga de 8 camisas
 - Espectrofotómetro
 - Balanza analítica
 - Balanza granataria
 - Equipo para realizar Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA)
 - Equipo automatizado Selectra Jr para realizar la Química Sanguínea
 - Así como los equipos necesarios para la separación de muestras, pipetas graduadas y automáticas, puntas, etc.
-

- Parrilla de calentamiento y agitación.

Toma de muestra

- Se les tomaron muestras sanguíneas en tubos al vacío con y sin anticoagulante entre 7-9 am con ayuno de 8 horas.
- Se les expuso a un episodio agudo de ejercicio físico durante 1hr con 30 minutos, o por una distancia de 5 Km.
- A las 2 horas de haber realizado el ejercicio físico se les tomo la segunda muestra de sangre y a las 24 horas la tercera.

Pruebas Bioquímicas de Rutina

Los parámetros bioquímicos de rutina se determinaron en suero por métodos colorimétricos con reactivos comerciales marca de los reactivos en un equipo automatizado Selectra Jr.

Glucosa

Se empleó el estuche comercial para la determinación de glucosa (método de la glucosa-oxidasa, Randox GL 2614). La glucosa se 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^{2+} , se tomó el sobrenadante y de éste se determinó la fracción de lipoproteínas de alta densidad (HDL) posteriormente por el método enzimático de punto final para colesterol total.

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.

Evaluación de la actividad de las enzimas antioxidantes y marcadores de EOX

Superóxido dismutasa (SOD)

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

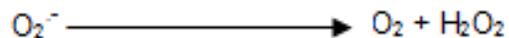
Fundamento: La técnica se basa en la reacción entre la xantina y la xantina oxidasa para generar radicales superóxido ($O_2^{\cdot-}$).



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 mL 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

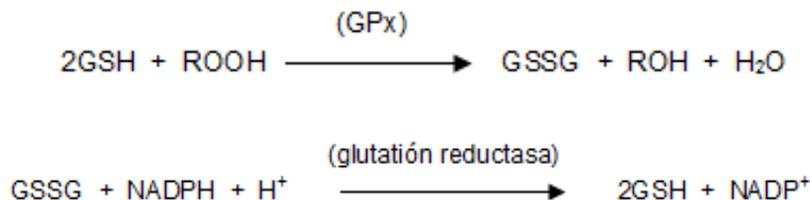
agua bidestilada fría, se mezcló y se dejó reposar durante 15 min a 4 °C. Del lisado se tomaron 0.100 mL y se diluyó con 1.9 mL de tampón de fosfato 0.01 mmol/L pH 7.0.

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 (GPX)

Glutation peroxidasa (GPx) de glutación 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⁺.

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 ≥ 0.5 U/L y NADPH 0.34 mmol/L) y 0.04 mL de cumeno (hi droperóxido 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.

Lipoperoxidasas (LPO)

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).¹²¹ 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 0.010 mL de butirilhidroxitolueno (BHT) 2mM por mL de sangre, para evitar la auto-oxidación de las muestras. Se colocaron 0.400 mL de plasma con 0.050 mL de BHT (12.6 mmol/L) y 0.400 mL de ácido ortofosfórico (0.2M) se agitó en vortex 10 seg. y posteriormente se adicionó 0.050 mL de TBA (0.11 mol/L), se agitó en vortex 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 0.1000 mL de butanol en cada tubo y 0.100 mL 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 0.017 mL 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.

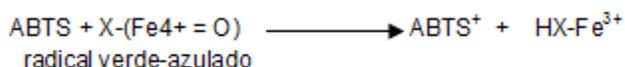
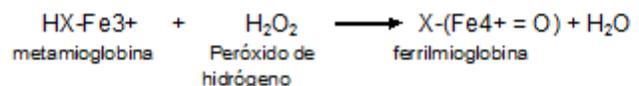
3.- Se prepararon 8 tubos con diferentes concentraciones de TMP, como se describe a continuación:

Tubo	TMP (mL)	H2O (mL)	MDA(μmol/L)
1	0	1000	0
2	0.005	995	0.2
3	0.010	990	0.4
4	0.020	980	0.8
5	0.030	970	1.2
6	0.050	950	2.0
7	0.070	930	2.8
8	0.100	900	4

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

Capacidad Antioxidante Total (TAS)

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.

8- Isoprostano

Este ensayo se realizó con el Kit 8-Isoprostano EIA (Cayman Chemical, Ann Harbor, MI, Estados Unidos)

Este ensayo se basa en la competencia entre la concentración de 8-isoprostano y el 8-isoprostanoacetylcolinesterasa (AChE), para unirse al anticuerpo de 8-isoprostano.

La concentración de 8- isoprostanoacetylcolinesterasa (AChE) se mantendrá constante, mientras que la concentración de 8 – isoprostano (muestra) será variable. El anticuerpo 8-isoprostano se podrá fijar al anti-anticuerpo de ratón que se encuentra fijado al pozo.

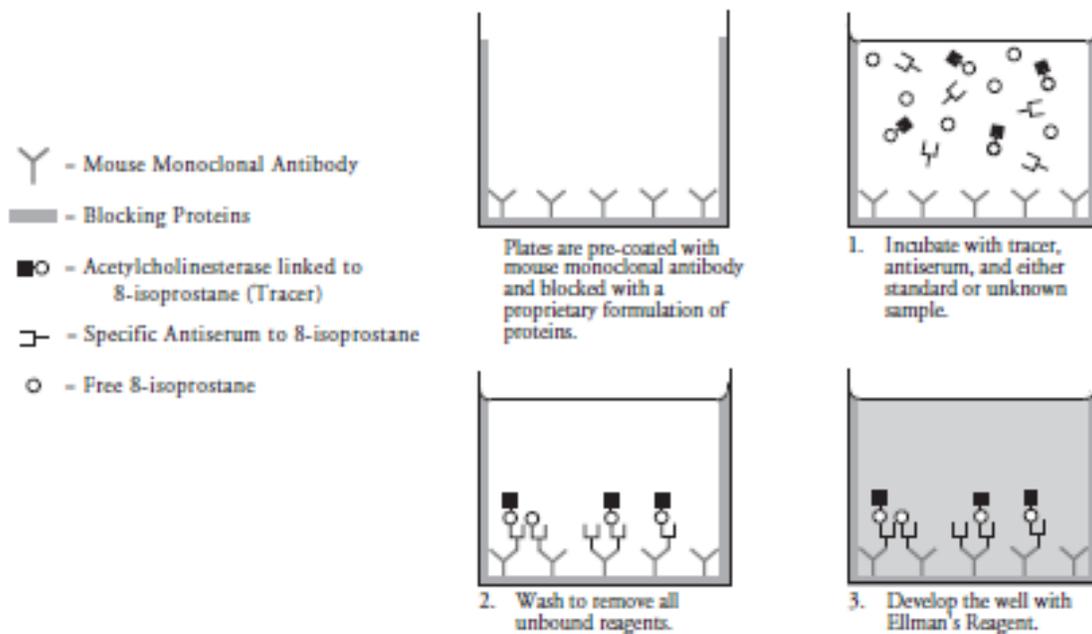


Figure 2. Schematic of the ACE™ EIA

Biochemistry of ACE™ EIAs

Figura VII.1 fundamento de la prueba de EIA CAYMAN 8 –ISOPROSTANE ítem No. 516351 (2010), tomado de EIA CAYMAN 8 –ISOPROSTANE ítem No. 516351 (2010).

Abreviaturas

- Blanco (Blk): la absorbancia de fondo acusado por reactivo de Ellman.
- Activación total (AT): la activación enzimática total de la AChE.
- NSB (vinculo no específico): reacción inmunología no vinculada a la AChE pegada al pozo.
- Bo (máxima vinculación): cantidad máxima que puede medir la AChE que el antisuero puede unirse en ausencia del analito libre.
- %B/Bo: (% ligados / máximo ligado): relación de la absorbancia de una muestra particular o estándar y Bo unido al pozo.
- Curva estándar: Una gráfica de los valores %B/Bo contra concentración de una serie de pozos contienen varias cantidades conocidas de analito.

Preparación de la muestra

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 0.010 mL de 0.005% BHT.

Nota: para que se tenga una concentración de BHT al 0.005%:10 microlitros de 5 mg/ml solución de ETOH por cada 1 ml de la muestra.

Curva Estándar de 8 – isoprostano

Se transfirió 0.100 mL del estándar 8- isoprostano EIA dentro de un tubo de ensaye limpio y 0.900 mL de agua ultra pura, la concentración de esta solución (el estándar a granel) será de 5ng/mL, éste puede ser almacenado a 4°C y será estable por 6 semanas.

Preparación de las concentraciones:

Rotular 8 tubos de ensaye limpios del 1 -8, alícuotas de 900 microlitros Buffer EIA al tubo 1 y 750 microlitros Buffer EIA del tubo 2 – 8.

Se Transfirieron 0.100 mL del estándar a granel (5ng/mL) al tubo 1 y se mezcló vigorosamente. La concentración de estándar en el primer punto en la curva será de 500 pg/mL. Se diluye en serie el estándar, mediante la eliminación de 0.500 mL del tubo 1 y transferirlo al tubo 2 y mezclar vigorosamente. Después quitar 0.500 mL del tubo 2 y adicionarlos al tubo 3 y mezclar vigorosamente. Repetir este proceso con los tubos del 4 – 8.

Las diluciones del estándar no deberían ser almacenadas por más de 24 horas.

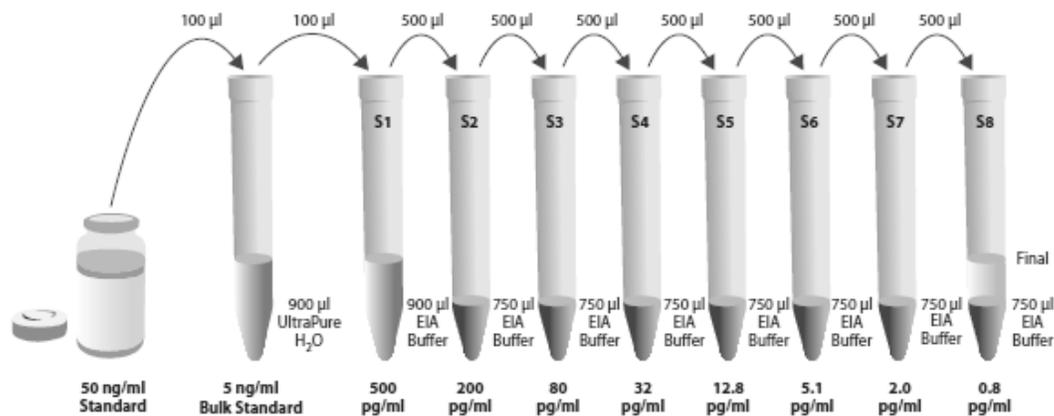


Figura VII.2 Curva estándar de 8 .Isoprostanos, tomado de EIA CAYMAN 8 – ISOPROSTANE ítem No. 516351 (2010).

Reactivo STD: 50 ng/ml

- 100 µL STD + 900 µL H₂O => Tubo Bulk STD (5 ng / mL)
- S1 : 100 µL BulkSTD + 900 Buffer (500 pg / mL)
- S2 : 500 µL de S1 + 750 Buffer (200 pg / mL)
- S3 : 500 µL de S2 + 750 Buffer (80 pg / mL)
- S4 : 500 µL de S3 + 750 Buffer (32 pg / mL)
- S5 : 500 µL de S4 + 750 Buffer (12.8 pg / mL)
- S6 : 500 µL de S5 + 750 Buffer (5.1 pg / mL)

Procedimiento

La placa está compuesta por 96 pozos los cuales ya están listos para usar. A Cada plato o un conjunto de tiras se le pusieron 2 blancos, 2 NSB, 2 Bo y un TA y una corrida de la curva estándar por duplicado.

Se utilizó la siguiente figura para colocar las curvas, muestras, blancos, NSB y Bo.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Blk	S1	S1	1	1	1	9	9	9	17	17	17
B	Blk	S2	S2	2	2	2	10	10	10	18	18	18
C	NSB	S3	S3	3	3	3	11	11	11	19	19	19
D	NSB	S4	S4	4	4	4	12	12	12	20	20	20
E	B ₀	S5	S5	5	5	5	13	13	13	21	21	21
F	B ₀	S6	S6	6	6	6	14	14	14	22	22	22
G	B ₀	S7	S7	7	7	7	15	15	15	23	23	23
H	TA	S8	S8	8	8	8	16	16	16	24	24	24

Blk - Blank
 TA - Total Activity
 NSB - Non-Specific Binding
 B₀ - Maximum Binding
 S1-S8 - Standards 1-8
 1-24 - Samples

Figura VII.3 Acomodo de los platos de 8 .Isoprostanos, tomado de EIA CAYMAN 8 –ISOPROSTANE ítem No. 516351 (2010)

Orden de los reactivos

1. EIA Buffer
 Se adicionó 0.100mL de Buffer EIA al pocillo de vínculo no específico (NSB) y 0.050 mL de buffer EIA al pocillo de máxima vinculación (Bo).
2. Estándar 8 – isoprostano
 Se adicionó 0.050 mL del tubo #8 a los pozos de más bajos de nivel(S8), luego se agregó 0.050 mL del tubo #7 al pozo del siguiente nivel (S7), se continuo con este proceso hasta que todos los estándares sean distribuidos con su correspondiente pocillo.
3. Muestra
 Se adicionó 0.050 mL de la muestra al pozo.
4. 8 – isoprostano AChE trazas
 Se adicionó 0.050 mL a cada pozo excepto al pozo de total actividad (TA) y el blanco (Blk).
5. 8 – isoprostano Antisuero
 Se adicionó 0.050 mL a cada pozo excepto al pozo de total actividad (TA), vínculo no específico (NSB) y el blanco (Blk).

Cuadro VII.3 Procedimiento de 8 -Isoprostanos.

Pozo	Buffer EIA	Estándar/muestra	Tazas	Anticuerpo
Blanco	-	-	-	-
TA	-	-	0.005mL(despues)	-
NSB	0.100 mL	-	0.050 mL	-
B_o	0.050 mL	-	0.050 mL	0.050 mL
Std/muestra		0.050 mL	0.050 mL	0.050 mL

Incubación de los platos

Se cubrió cada plato con plástico o papel parafin y se incubo por 18 horas a 4°C.

Una vez pasado el periodo de incubación

1. Se vaciaron los pozos y se enjuago 5 veces con buffer de lavado.
2. Se adicionó 0.200 mL de Reactivo de Ellman a cada pozo.
3. Se adicionó 0.005 mL de 8 – Isoprostano isoprostanoacetylcolinesterasa (AChE) al pozo de actividad total (TA).
4. Se cubrió el plato con plástico o papel parafin y se protegio de la luz, se dejó incubar por un lapso de 90 -120 min, agitando constantemente a lo largo de ese periodo.

Lectura de la placa

1. Se limpió la parte inferior del plato con un pañuelo limpio.
2. Se removió el plástico cuidadosamente de modo que se mantenga el reactivo de Ellman´s dentro del pozo y evitar que salpique.
3. Se leyó la placa con una longitud de onda entre 405 y 420 nm.

Nota: se debe de tener una absorbancia en el pozo B_o \geq 0.3 A.U., si la absorbancia exede 2.0 se deben de lavar los platos y adicionar nuevo reactivo de Ellman´s e incubar nuevamente.

Brecha antioxidante (GAP)

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

$$\text{GAP antioxidante} = \text{TAS} - [(\text{albúmina} \times \text{TEAC}) + (\text{ácido Úrico} \times \text{TEAC})]$$

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

Índice de EOX

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

Lipoperóxidos (LPO, $\mu\text{mol/L}$)	≥ 0.340
Superóxido dismutasa (SOD, U/L)	≤ 170
Glutación peroxidasa (GPx, U/L)	≤ 5500
Razón SOD/GPx	≥ 0.023
Capacidad Antioxidante Total (TAS, mmol/L)	≤ 0.90
Brecha antioxidante (GAP, $\mu\text{mol/L}$)	≤ 190
8 – Isoprostanos	≤ 66.8

El índice de EOX, se calculó con la suma de la dicotomización de cada uno de los parámetros, dándole el valor de 1 cuando las concentraciones están anormales. Así, por ejemplo un sujeto con todos los parámetros alterados presentara un índice igual a 7.

VII.5 Análisis estadístico

Los datos serán analizados utilizando medidas descriptivas, promedio y desviación estándar (DE) y como pruebas de comparación análisis de varianza (ANOVA de un factor), t pareada, Prueba Wilcoxon y U-Mann Whitney con un 95% de confianza. Se consideró que existe significancia estadística cuando $p < 0.05$. Para tal efecto se utilizó el programa estadístico SPSS 15.0.

VIII.- RESULTADOS

VIII.1. Parámetros bioquímicos.

Se observó una disminución estadísticamente significativa en la concentración de triglicéridos en el grupo experimental de los adultos mayores después de la intervención (basal, 215 ± 114 vs. post-intervención, 144 ± 66 , $p < 0.05$). Asimismo, los adultos mayores mostraron una disminución estadísticamente significativa en los niveles de colesterol tanto en el grupo control como en el experimental ($p < 0.05$) (cuadro VIII.1).

VIII.2. Niveles de lipoperóxidos

Los niveles plasmáticos de LPO en reposo, 2 y 24 horas después de un episodio agudo de ejercicio físico, se muestran en el cuadro VIII.2, en donde se puede observar que no se presentaron diferencias estadísticamente significativas en los al comparar las tres mediciones, reposo, 2 y 24 horas, en ninguno de los grupos de estudio. Tampoco se observaron diferencias estadísticamente significativas después de la práctica de ejercicio físico moderado entre grupos.

VIII.3. Niveles de 8-isoprostanos

Los niveles de 8-isoprostanos fueron significativamente más altos en los adultos mayores del grupo control a las 24 horas al comparar la concentración basal versus después de 6 meses (basal 58.34 ± 12.57 versus 69.71 ± 9.58 , $p < 0.05$). Así mismo, se observó un incremento estadísticamente significativo en el grupo experimental de los adultos mayores a las dos horas (basal, 56.49 ± 7.96 versus post-intervención, 65.4 ± 11.05 * $p < 0.05$) (cuadro VIII.3).

VIII. 4. Capacidad antioxidante total

Al comparar la capacidad antioxidante total se observó una disminución estadísticamente significativa en el grupo experimental de los adultos jóvenes, en reposo y a las 2 horas después de la exposición a un episodio agudo de ejercicio físico, basal vs post-intervención (en reposo, basal 1.114 ± 0.21 versus post-intervención 0.89 ± 0.26 , $p < 0.05$); (a las 2 horas, basal 1.21 ± 0.19 versus post-intervención 0.85 ± 0.18 , $p < 0.05$); por otro lado en el grupo control de los adultos mayores se observó una disminución estadísticamente significativa (basal 1.00 ± 0.20 versus a los seis meses 0.87 ± 0.23 , $p < 0.05$) (cuadro VIII.4).

VIII. 5. Actividad de la Glutación Peroxidasa

Al evaluar la actividad enzimática de la Glutación Peroxidasa se observó un incremento estadísticamente significativo en el grupo experimental de los adultos jóvenes en dos de las evaluaciones, reposo y 2 horas, basal versus post-intervención (en reposo, 7906 ± 2686 versus 11020 ± 4364 , $p < 0.05$; a las 2 horas, 6417 ± 3637 versus 11328 ± 4577 , $p < 0.05$); en tanto que, en el grupo control a las 24 horas después de los seis meses de ejercicio físico ocurre una disminución estadísticamente significativa (basal, 10426 ± 4892 versus a los seis meses 8258 ± 3015 , $p < 0.05$). Mientras que en el grupo experimental de los adultos mayores, se observó un incremento estadísticamente significativo a las 2 y 24 horas, después de la práctica de ejercicio físico moderado durante 6 meses, (2 horas basal, 8962 ± 3649 versus 2 horas post-intervención 12087 ± 4441 , $p < 0.05$; 24 horas basal 9146 ± 3285 versus 24 horas post-intervención 13519 ± 445 , $p < 0.05$); así mismo, en el grupo control a las 24 horas después de los seis meses ocurre un aumento estadísticamente significativo (basal, 9152 ± 4509 versus a los seis meses 13074 ± 1691 , $p < 0.05$) (cuadro VIII.5).

VIII.6. Actividad de la Superóxido Dismutasa

Con relación a la actividad enzimática de la superóxido dismutasa, se aprecia un aumento estadísticamente significativo **en el grupo de los adultos jóvenes experimental a las 24 horas** basal versus post-intervención (172 ± 7.4 versus 178 ± 12.9 , $p < 0.05$); a su vez en el grupo control de los adultos jóvenes se aprecia un aumento estadísticamente significativo a las 2 y 24 horas basal versus 6 meses después (165 ± 7.8 versus 179 ± 8.2 , $p < 0.05$ y 169 ± 11 versus 177 ± 7.7 , $p < 0.05$, respectivamente), (cuadro VIII.6).

VIII.7. Razón SOD/GPx

Al realizar la medición de la razón SOD/GPx ocurrió un aumento estadísticamente significativo en el grupo control de los adultos jóvenes a las 24 horas después de los seis meses (basal, 0.02 ± 0.011 versus a los seis meses 0.025 ± 0.01 , $*p < 0.05$) (cuadro VIII.7).

VIII.8. Índice de Estrés oxidativo

Al evaluar el índice de EOx, encontramos un aumento estadísticamente significativo en el grupo control de los adultos mayores a las 2 horas después de 6 meses (basal 1.61 ± 1.19 versus a los seis meses 2.92 ± 1.11 , $*p < 0.05$), estos resultados se reportan en el cuadro VIII.8.

Cuadro VIII.1 Parámetros bioquímicos de las etapas basales y post-intervención de jóvenes y adultos mayores.

	Adultos jóvenes				Adultos mayores			
	Control N=11		Experimental N= 12		Control N=13		Experimental N=13	
	Basal	6 meses después	Basal	Pos- intervención	Basal	6 meses después	Basal	Pos- intervención
Glucosa (mg/dL)	88 ± 9.025	89 ± 6.01	92 ± 7.78	94 ± 9.54	166 ±102	183 ±114.82	126 ± 34.14	116 ± 19.44
Triglicéridos (mg/dL)	118 ± 54.2	128 ± 54	98 ± 44.3	156 ± 121	226 ± 103.6	228 ± 114.5	215 ± 114.6	144 ± 66*
Colesterol (mg/dL)	184 ± 35.1	181 ± 33.4	200 ± 48.1	192 ± 30.6	244 ± 73	226 ± 53*	220 ± 45.0	183 ± 36.3*
HDL (mg/dL)	53.63 ± 2.1	50.54 ± 11	61.55 ± 18	65.9 ± 19	50.46 ± 9.18	55.69 ± 11.7	49.46 ± 12.3	51.23 ± 12.9

Los parámetros son de las mediciones en las etapas basales y después de 6 meses. La post-intervención consistió en la práctica de ejercicio físico moderado por seis meses. La significancia estadística se determinó a través de t pareada: *p<0.05. ADULTOS MAYORES: **grupo experimental**, triglicéridos, basal versus post-intervención, p<0.05; **grupo control**, colesterol, basal versus 6 meses después, p<0.05; **grupo experimental**, colesterol, basal versus post-intervención, *p<0.05.

Cuadro VIII.2 Niveles de LPO en reposo, 2 y 24 horas después de un episodio agudo de ejercicio físico

	Adultos jóvenes				Adultos mayores			
	Control N=11		Experimental N= 12		Control N=13		Experimental N=13	
	Basal	6 meses después	Basal	Post- intervención	Basal	6 meses después	Basal	Post- intervención
En reposo	0.231± 0.07	0.230±0.07 (-0.001)	0.225±0.07	0.239±0.06 (+0.014)	0.262±0.113	0.240±0.045 (-0.025)	0.265±0.111	0.237±0.103 (-0.028)
A las 2 hrs	0.215± 0.08	0.205±0.08 (-0.01)	0.255±0.05	0.228±0.06 (-0.027)	0.262±0.101	0.261±0.041 (-0.001)	0.278±0.087	0.225±0.077 (-0.053)
A las 24 hrs	0.228± 0.07	0.228±0.07 (0)	0.270±0.074	0.252±0.07 (-0.018)	0.274±0.090	0.279±0.079 (+0.005)	0.300±0.074	0.251±0.094 (-0.049)

Se llevó a cabo una medición en reposo, a las dos y 24 horas después de un episodio agudo de ejercicio físico (trotar 3 kilómetros). Las mediciones son en las etapas basales y después de 6 meses. La post-intervención consistió en la práctica de ejercicio físico moderado por seis meses. Los datos presentados son medias \pm desviación estándar. LPO, lipoperoxidos ($\mu\text{mol/L}$). Se llevó a cabo una comparación entre tiempos a través de ANOVA y t pareada para la medición basal y post-intervención. Entre paréntesis se presentan las diferencias observadas entre la medición basal y la post-intervención.

Cuadro VIII.3 Niveles de 8 – isoprostanos (pg/mL) en reposo, 2 y 24 hrs después de un episodio agudo de ejercicio físico.

	Adultos jóvenes				Adultos mayores			
	Control N=11		Experimental N= 12		Control N=13		Experimental N=13	
	Basal	6 meses después	Basal	Post- intervención	Basal	6 meses después	Basal	Post- intervención
En reposo	48.92 ±11.08	51.34 ± 9.57	54.08±11.49	58.83±16.31	62.29±11.97	62 ± 6.09	62.21 ± 9.87	70.30 ± 16.67
		(+3)		(+4)		(0)		(+8)
A las 2 hrs	53.76 ± 7.67	51.79 ± 2.50	53.50±15.01	53.20±14.41	60.81±14.55	63.74 ±10.76	56.49 ±7.96	65.4±11.05*
		(-2)		(0)		(+3)		(+9)
A las 24 hrs	51.32 ± 8.80	47.38 ± 7.79	55.46±17.00	57.36 ± 9.35	58.34±12.57	69.71 ± 9.58*	63.19 ±11.05	66.53 ± 11.84
		(-4)		(+2)		(+11)		(+3)

Se llevó a cabo una medición en reposo, a las dos y 24 horas después de un episodio agudo de ejercicio físico (trotar 3 kilómetros). Las mediciones son en las etapas basales y después de 6 meses. La post-intervención consistió en la práctica de ejercicio físico moderado por seis meses. Los datos presentados son medias \pm desviación estándar. Se llevó a cabo una comparación entre tiempos a través de ANOVA y t pareada para la medición basal y post-intervención. Entre paréntesis se presentan las diferencias observadas entre la medición basal y la post-intervención. ADULTOS MAYORES: **grupo control a las 24 horas**, basal versus después de 6 meses *p<0.05; **grupo experimental a las dos horas**, basal versus post-intervención *p<0.05.

Cuadro VIII.4 Capacidad antioxidante total en reposo a las 2 horas y 24 horas después de un episodio agudo de ejercicio físico

	Adultos jóvenes				Adultos mayores			
	Control N=11		Experimental N= 12		Control N=13		Experimental N=13	
	Basal	6 meses después	Basal	Post- intervención	Basal	6 meses después	Basal	Post- intervención
En reposo	1.003± 0.12	0.940±0.28	1.114±0.21	0.89±0.26*	0.918±0.20	0.87±0.19	0.915±0.173	0.845 ± 0.15
		(-0.063)		(-0.224)		(-0.048)		(-0.07)
A las 2 hrs	0.971± 0.19	0.845±0.27	1.21±0.19	0.85±0.18*	1.001±0.2	0.87±0.23*	0.997±0.155	0.874 ± 0.21
		(-0.126)		(-0.368)		(-0.131)		(-0.123)
A las 24 hrs	0.931± 0.18	0.960±0.34	1.062 ± 0.3	0.887±0.25	0.910±0.177	0.916±0.288	0.887±0.168	0.786 ± 0.12
		(+0.029)		(-0.175)		(+0.006)		(-0.101)

Se llevó a cabo una medición en reposo, a las dos y 24 horas después de un episodio agudo de ejercicio físico (trotar 3 kilómetros). Las mediciones son en las etapas basales y después de 6 meses. La post-intervención consistió en la práctica de ejercicio físico moderado por seis meses. Los datos presentados son medias \pm desviación estándar. Se llevó a cabo una comparación entre tiempos a través de ANOVA y t pareada para la medición basal y post-intervención. Entre paréntesis se presentan las diferencias observadas entre la medición basal y la post-intervención. ADULTOS JÓVENES: **grupo experimental en reposo**, basal versus post-intervención, *p<0.05; **grupo experimental a las dos horas**, versus post-intervención, *p< 0.05. ADULTOS MAYORES: **grupo control a las dos horas**, basal versus 6 meses después, *p<0.05.

Cuadro VIII.5 Actividad de GPx en reposo, 2 y 24 hrs después de un episodio agudo de ejercicio físico

	Adultos jóvenes				Adultos mayores			
	Control N=11		Experimental N= 12		Control N=13		Experimental N=13	
	Basal	6 meses después	Basal	Post- intervención	Basal	6 meses después	Basal	Post- intervención
En reposo	9665 ± 4775	7635 ± 3907 (-2030)	7906 ± 2686	11020 ± 4364* (+3114)	8735 ± 2834	11488 ± 4409 (+2753)	8736 ± 5378	12153 ± 5378 (+3417)
A las 2 hrs	7752 ± 3118	7541 ± 3119 (-211)	6417 ± 3637	11328 ± 4577* (+4911)	11393 ± 4767	12374 ± 5862 (+981)	8962 ± 3649	12087 ± 4441* (+3125)
A las 24 hrs	10426 ± 4892	8258 ± 3015* (-2168)	8753 ± 4428	11312 ± 3238 (+2559)	9152 ± 4509	13074 ± 1691* (+3922)	9146 ± 3285	13519 ± 445* (+4373)

Se llevó a cabo una medición de GPx (Glutación peroxidasa, U/L) en reposo, a las dos y 24 horas después de un episodio agudo de ejercicio físico (trotar 3 kilómetros). Las mediciones son en las etapas basales y después de 6 meses. La post-intervención consistió en la práctica de ejercicio físico moderado por seis meses. Los datos presentados son medias ± desviación estándar. Se llevó a cabo una comparación entre tiempos a través de ANOVA y t pareada para la medición basal y post-intervención. Entre paréntesis se presentan las diferencias observadas entre la medición basal y la post-intervención. ADULTOS JÓVENES: **grupo control a las 24 horas**, basal versus 6 meses después, *p<0.05; **grupo experimental en reposo**, basal versus post-intervención, *p<0.05; **grupo experimental a las dos horas**, basal versus post-intervención, *p< 0.05. ADULTOS MAYORES: **grupo control a las 24 horas**, basal versus 6 meses después, p<0.05; **grupo experimental a las dos horas**, basal versus post-intervención, *p<0.05; **grupo experimental a las 24 horas**, basal versus post-intervención, *p<0.05.

Cuadro VIII.6 Actividad de SOD en reposo, 2 y 24 hrs después de un episodio agudo de ejercicio físico

	Adultos jóvenes				Adultos mayores			
	Control N=11		Experimental N= 12		Control N=13		Experimental N=13	
	Basal	6 meses después	Basal	Post- intervención	Basal	6 meses después	Basal	Post- intervención
En reposo	173 ± 7.3	176 ± 7.9	171 ± 10.1	177 ± 5.3	170 ± 10.9	168 ± 12.4	170.87 ± 13.2	177 ± 12.0
		(+3)		(+6)		(-2)		(+7)
A las 2 hrs	165 ± 7.8	179 ± 8.2*	174 ± 5.1	176 ± 7.0	172 ± 12.9	169 ± 14.1	173 ± 9.6	175 ± 12.5
		(+14)		(+2)		(-3)		(+2)
A las 24 hrs	169 ± 11.5	177 ± 7.7*	172 ± 7.4	178 ± 12.9**	173 ± 11.9	166 ± 12.8	177 ± 12.9	171 ± 13.0
		(+8)		(+6)		(-7)		(-6)

Se llevó a cabo una medición de SOD (Superóxido dismutasa, U/mL) en reposo, a las dos y 24 horas después de un episodio agudo de ejercicio físico (trotar 3 kilómetros). Las mediciones son en las etapas basales y después de 6 meses. La post-intervención consistió en la práctica de ejercicio físico moderado por seis meses. Los datos presentados son medias ± desviación estándar. Se llevó a cabo una comparación entre tiempos a través de ANOVA y t pareada para la medición basal y post-intervención. Entre paréntesis se presentan las diferencias observadas entre la medición basal y la post-intervención. ADULTOS JÓVENES: **grupo control a las dos horas**, basal versus 6 meses después, *p<0.05; **grupo control a las 24 horas**, basal versus 6 meses después, *p<0.05; **grupo experimental a las 24 horas**, basal versus post-intervención, **p< 0.0001.

Cuadro VIII.7 Razón SOD/GPx en reposo, 2 y 24 hrs después de un episodio agudo de ejercicio físico

	Jóvenes				Adultos mayores			
	Control N=11		Experimental N= 12		Control N=13		Experimental N=13	
	Basal	6 meses después	Basal	Post- intervención	Basal	6 meses después	Basal	Post- intervención
En reposo	0.021± 0.01	0.027±0.01	0.023±0.008	0.019±0.009	0.019±0.009	0.015±0.009	0.029± 0.02	0.019±0.0138
		(+0.006)		(-0.004)		(-0.004)		(-0.01)
A las 2 hrs	0.025±0.011	0.027±0.01	0.034±0.016	0.019±0.016	0.019±0.016	0.017±0.014	0.023±0.01	0.018± 0.009
		(+0.002)		(-0.015)		(-0.002)		(-0.005)
A las 24 hrs	0.02±0.011	0.025±0.01*	0.024±0.012	0.016±0.005	0.016±0.005	0.017±0.019	0.022±0.011	0.014±0.006
		(+0.003)		(-0.008)		(+0.001)		(-0.008)

Se llevó a cabo una medición de la razón SOD/GPx en reposo, a las dos y 24 horas después de un episodio agudo de ejercicio físico (trotar 3 kilómetros). Las mediciones son en las etapas basales y después de 6 meses. La post-intervención consistió en la práctica de ejercicio físico moderado por seis meses. Los datos presentados son medias \pm desviación estándar. Se llevó a cabo una comparación entre tiempos a través de ANOVA y t pareada para la medición basal y post-intervención. Entre paréntesis se presentan las diferencias observadas entre la medición basal y la post-intervención. ADULTOS JÓVENES: **grupo control a las 24 horas**, basal versus 6 meses, *p<0.05.

Cuadro VIII.8 Índice de EOx basal, 2 y 24 hrs después de un episodio agudo de ejercicio físico

	Jóvenes				Adultos mayores			
	Control N=11		Experimental N= 12		Control N=13		Experimental N=13	
	Basal	6 meses después	Basal	Post- intervención	Basal	6 meses después	Basal	Post- intervención
En reposo	2.00 ± 0.89	2.09 ± 0.94 (+0.09)	1.75 ± 0.75	1.75 ± 0.86 (0)	2.61 ± 1.44	2.92 ± 1.32 (+0.31)	2.61 ± 1.19	2.53 ± 1.26 (-0.08)
A las 2 hrs	2.63 ± 0.81	2.54 ± 0.82 (-0.09)	1.91 ± 0.99	2.00 ± 1.41 (+0.09)	1.61 ± 1.19	2.92 ± 1.11* (+1.31)	2.38 ± 0.76	2.23 ± 0.72 (-0.05)
A las 24 hrs	2.09 ± 1.37	2.27 ± 0,90 (+0.18)	2.00 ± 1.20	1.41 ± 1.24 (-0.59)	2.38 ± 1.51	3.15 ± 1.12 (+0.77)	2.53 ± 0.77	2.69 ± 0.75 (+0.16)

Se llevó a cabo una medición del índice de EOx (estrés oxidativo) en reposo, a las dos y 24 horas después de un episodio agudo de ejercicio físico (trotar 3 kilómetros). Las mediciones son en las etapas basales y después de 6 meses. La post-intervención consistió en la práctica de ejercicio físico moderado por seis meses. Los datos presentados son medias \pm desviación estándar. Se llevó a cabo una comparación entre tiempos a través de ANOVA y wilcoxon para la medición basal y post-intervención. Entre paréntesis se presentan las diferencias observadas entre la medición basal y la post-intervención. ADULTOS JÓVENES: **grupo control a las dos horas**, basal versus 6 meses, *p<0.05.

IX.- DISCUSIÓN.

En los últimos años el crecimiento en la población de adultos mayores ha sido constante, se calcula que en México, para el año 2050 éste grupo poblacional ascienda a los 25.9 millones, provocando una serie de cambios en la sociedad y en la economía del país. En la actualidad las personas mayores de 60 años demandan más servicios de salud, debido a que en este grupo se registran tasas altas de morbilidad y por ende un aumento en las necesidades de atención médica que en el resto de la población.

Entre las enfermedades crónico-degenerativas de mayor prevalencia en la vejez destacan la hipertensión arterial, la diabetes mellitus y la osteoporosis, en cuya etiología y fisiopatología está involucrado el estrés oxidativo (EOx). Asimismo se ha demostrado que el envejecimiento se acompaña de mayor estrés oxidativo, de ahí que se reconozca la mayor vulnerabilidad de los adultos mayores a la presencia y complicaciones de dichas enfermedades.^{1,10,76}

Considerando que el organismo puede estar expuesto a factores pro-oxidantes del medio ambiente, tabaquismo activo y pasivo, alcoholismo, el ejercicio extenuante, entre otros, se debe fortalecer la eficiencia del sistema antioxidante. En este sentido, algunos estudios han demostrado que a medida que envejecemos ocurre una declinación en el sistema antioxidante, favoreciendo que el organismo sea más susceptible al ataque de los radicales libres (RL). Al respecto, Zerda *et al.* (1990) encontraron que los ratones viejos son más susceptibles al daño causado por los RL, que los ratones jóvenes; estos hallazgos se vinculan con la propuesta por Harman (1956) quien sugirió que el envejecimiento era causa de la producción excesiva de RL, cuya aseveración ha sido modificada en las últimas décadas, ya que aunque el envejecimiento se acompañe de mayor estrés oxidativo, no es el único factor contribuyente, ya que también se ha demostrado que con el envejecimiento no existe una alteración en el sistema antioxidante.^{1,6,84-87}

Para fortalecer la eficiencia del sistema antioxidante durante el envejecimiento se han propuesto estrategias entre las que destacan la práctica de ejercicio físico, considerando que aunque se generen mayor cantidad de RL durante la actividad física, se desarrolla un proceso adaptativo denominado hormesis, con lo cual se incrementaría la eficiencia antioxidante, y consecuentemente cierta resistencia para presentar EOx y complicaciones en las enfermedades relacionadas con el daño provocado por los RL.⁸⁸⁻⁹⁰ No obstante, son escasos los estudios que precisen la frecuencia e intensidad del ejercicio físico que deben practicar los adultos mayores.

Así mismo, se ha encontrado en diferentes estudios que al realizar ejercicio físico se reduce la susceptibilidad del músculo a los RL e induce la actividad de enzimas antioxidantes, sin embargo, los resultados no son del todo concluyentes, ya que se ha reportado que la práctica del ejercicio físico ocasiona la formación de RL sin importar su intensidad;^{90, 91} de ahí la importancia de determinar la influencia del envejecimiento sobre la eficiencia del sistema antioxidante con la práctica de ejercicio físico moderado.

IX.1 Parámetros bioquímicos pre y post intervención en jóvenes y adultos mayores.

El ejercicio físico, practicado de manera apropiada, es la mejor herramienta hoy disponible para retrasar y prevenir las enfermedades crónicas relacionadas con el envejecimiento así como para fomentar la salud y el bienestar de las personas.

Al exponer al organismo a una intervención de ejercicio, éste ocasiona una serie de adaptaciones, entre las que se encuentran cambios en los parámetros bioquímicos como la glucosa, el colesterol, los triglicéridos, el HDL, etc.

En este sentido, al analizar los parámetros bioquímicos de la población antes y después de realizar ejercicio físico por 6 meses encontramos que, aunque no se presentaron diferencias estadísticamente significativas en los niveles plasmáticos de glucosa se observa una disminución en la concentración de este parámetro, en el grupo experimental de adultos mayores en comparación con su grupo control. Al respecto, se sabe que la actividad física mejora el control de glucosa en sangre ya que existe una mayor afinidad de los receptores para insulina a nivel muscular, a su vez ocurre un aumento en la expresión de la proteína transportadora de glucosa (GLUT4) a nivel de las células musculares como respuesta al ejercicio.^{92, 93}

En cuanto a los valores de los triglicéridos, encontramos una disminución estadísticamente significativa en los adultos mayores que realizaron ejercicio físico, pre-intervención vs post-intervención, esto se puede explicar ya que al realizar ejercicio físico se utilizan los sustratos energéticos como la glucosa y los lípidos.

Por otro lado, se ha demostrado que practicar una actividad física de forma regular aumenta la concentración de HDL y por ende disminuye los valores de colesterol.

Estos datos coinciden con los resultados obtenidos ya que en los sujetos que realizaron ejercicio se presentó un aumento en las HDL y una disminución en los

valores de colesterol; este último fue estadísticamente significativo en la población de experimental de adultos mayores.⁹⁴⁻⁹⁶

IX.2 Marcadores de EOx

El ser humano está expuesto en su vida cotidiana a factores pro-oxidantes los cuales pueden llegar a ocasionar un daño en el organismo esto si no se tiene un buen sistema antioxidante para contrarrestar un exceso de RL; en este sentido el ejercicio físico moderado y periódico es benéfico, ya que se aprecia un aumento de las enzimas antioxidantes como la SOD, CAT y la GPx, disminuyendo significativamente el EOx.^{119, 120}

Una de las formas de evaluar al sistema antioxidante es el someter al organismo a un factor pro-oxidante como en este caso lo es el ejercicio físico intenso, de este modo podemos valorar los cambios que ocurren antes y después del ejercicio moderado por 6 meses, tanto en la población de adultos jóvenes como en la de adultos mayores.

IX.2.1. Niveles de lipoperóxidos

Al analizar los valores de EOx, encontramos que los LPO presentan una tendencia a aumentar en todos los grupos, después de ser expuestos al factor pro-oxidante, siendo más evidente en los adultos mayores; estos resultados nos sugieren que la exposición a un factor pro-oxidante va a generar una gran cantidad de RL que causaran daño a nivel membrana celular, siendo la población de adultos mayores más susceptible a presentar este daño; sin embargo después de realizar ejercicio por seis meses tanto los adultos jóvenes como los adultos mayores, se observó una mejor respuesta por parte del sistema antioxidante, ya que el aumento en los niveles de LPO se presenta hasta las 24 horas; a su vez si consideramos los valores basales vs post-intervención tanto en reposo, como a las 2 y 24 horas no se observaron diferencias estadísticamente significativas después de los seis meses de realizar ejercicio físico, lo que sugiere que el ejercicio físico en esta población, no ocasiono ningún cambio en los niveles de LPO; estos datos no concuerdan con lo reportado en la literatura, donde se menciona que al realizar ejercicio físico ocurre una disminución de EOx, Schneider *et al* (2004) realizaron un estudio en donde se determinó la concentración de LPO antes y después de un periodo de ejercicio aeróbico máximo, en personas entrenadas y en un grupo control; encontrándose una disminución en los LPO en las personas entrenadas; reflejándose así las mejoras que ejerce el ejercicio sobre el sistema antioxidante.

76, 77, 108, 109

IX.2.2. Niveles de 8–isoprostanos

Con relación a los isoprostanos se encontró que en el periodo basal, después de la exposición al factor pro-oxidante en la población de adultos jóvenes los valores se mantienen relativamente constantes, mientras que en los adultos mayores disminuyeron después de la exposición al factor pro-oxidante, apreciándose que el sistema antioxidante reacciona de manera eficiente tanto en jóvenes como en adultos mayores; en cambio al valorar los niveles post-intervención, se aprecia una disminución después de la exposición del factor pro-oxidante, tanto en los adultos jóvenes como en los adultos mayores que realizaron ejercicio por seis meses, estos datos concuerdan con lo reportado en la literatura donde se observa que en los sujetos sedentarios la respuesta del sistema antioxidante es deficiente provocando la producción excesiva de RL.^{45,50, 110}

Sin embargo, los valores basales versus post-intervención, observamos que los adultos mayores que realizaron ejercicio físico por seis meses presentaron un incremento estadísticamente significativo a las 2 horas después de la exposición, apreciándose una respuesta deficiente por parte del sistema antioxidante, esto en comparación con su grupo control ya que en este ocurrió un aumento estadísticamente significativo hasta las 24 horas después del factor pro-oxidante. A diferencia de esto en la población de adultos jóvenes no se presentan diferencias significativas en sus valores. Nuestros resultados no concuerdan con lo reportado en la literatura, donde se ha observado una disminución de este marcador al realizar ejercicio físico.^{111- 113,135,136}

IX.2.3. Capacidad antioxidante total

Con respecto a la capacidad antioxidante total, al analizar los valores basales encontramos que en ambas poblaciones después de la exposición, estos no presentaron diferencias significativas, aunque se observa una tendencia a aumentar a las 2 horas, para después regresar a los valores en reposo, en este sentido nuestro resultado es congruente con lo dicho por Steinberg *et al* (2006), el cual nos habla de un aumento de los TAS después de un periodo de ejercicio intenso, lo que nos ayuda a entender que el organismo tuvo que utilizarlos para así evitar un mayor daño; con respecto a los valores post-intervención se observó en ambas poblaciones, una disminución en sus valores después de la exposición, aunque esta no fue estadísticamente significativa.^{128, 137}

Al comparar la capacidad antioxidante en el periodo basal versus post-intervención, encontramos que en la población de adultos jóvenes que realizaron ejercicio por seis meses, se observa en reposo y a las 2 horas una disminución estadísticamente significativa, sin embargo si tomamos en cuenta que en esta

población no se presentaron cambios estadísticamente significativos en los niveles plasmáticos de LPO e isoprostanos, estos resultados sugieren que la disminución de la capacidad antioxidante total fue una respuesta compensatoria por parte del sistema antioxidante. Así mismo, en la población de adultos mayores que realizó ejercicio físico no se presentó ningún cambio en la capacidad antioxidante total, corroborando lo dicho por *Alessio et al (2005)* los cuales describen que la capacidad antioxidante total no se incrementa con la práctica de ejercicio¹¹³.

IX.2.4. Actividad de la Glutatión Peroxidasa

Por otro lado al evaluar las enzimas antioxidantes encontramos que la actividad de la GPx, en la población de adultos jóvenes el periodo basal, presenta una disminución después de la exposición al factor pro-oxidante, con estos resultados podemos sugerir que se consumió la enzima para hacer frente a los RL producidos por el factor pro-oxidante y así evitar un mayor daño; estos resultados concuerdan con lo reportado por *Aguilo et al. (2005)* donde observaron que después de realizar ejercicio físico disminuye la actividad de la enzima. Mientras que en los adultos mayores ocurre un aumento en la actividad de la enzima después de la exposición, esto como un proceso de adaptación del organismo en respuesta al incremento de EROs.

Al observar la actividad de GPx post-intervención encontramos que los valores se mantiene relativamente constante en ambas poblaciones después de la exposición al factor pro-oxidante, evitando así una sobreproducción de la enzima; con base a estos resultados se puede inferir que las personas que realizaron ejercicio físico de manera regular al ser sometidos al factor pro-oxidante, no presentaron alteraciones en la actividad antioxidante de la GPx; lo cual coincide con lo reportado en diferentes investigaciones.^{119,120, 123, 129}

En lo que se refiere a los valores basales versus post-intervención, se encontró en reposo y a las 2 horas un aumento estadísticamente significativo en los adultos jóvenes que realizaron ejercicio físico, apreciándose con ello los beneficios del ejercicio sobre el sistema antioxidante; esto al compararlo con su grupo control, ya que este presenta una disminución después de la exposición al factor pro-oxidante siendo estadísticamente significativa a las 24 horas después de 6 meses. Con respecto a la población de los adultos mayores que realizaron ejercicio hubo un aumento estadísticamente significativos a las 2 y 24 horas; nuestros resultados sugieren que la realización de ejercicio físico ocasiona un aumento en la producción de las enzimas antioxidantes, debido a la inducción de la actividad redox sensitiva de factores de transcripción como NF-KB y AP-I, los cuales se encargan de mediar los mecanismos celulares que promueven los cambios en la

expresión génica de la GPx; con esto podemos inferir que el sistema antioxidante reacciona de manera eficiente ante un factor pro-oxidante, después de la realización de ejercicio físico por 6 meses, tanto en los adultos jóvenes como en los adultos mayores, lo cual coincide con lo reportado en otros estudios.^{117-119, 123}

IX.2.5. Actividad de la Superóxido Dismutasa

Otra enzima antioxidante que se analizó fue la SOD donde se pudo observar, en el periodo basal, que en ambas poblaciones sus valores se mantuvieron constantes; esto concuerda con lo reportado por Hass *et al* (1998) y Aguilo *et al* (2005) donde refieren que los valores de SOD son constantes ya que ésta es considerada una enzima reguladora, por ello no presenta grandes cambios en su actividad.^{120, 121} Con respecto a lo ocurrido en la post-intervención encontramos que no se presentaron diferencias estadísticamente significativas en ninguno de los grupos de estudio.

Sin embargo, al analizar los valores de la SOD en el periodo basal versus post-intervención, se presentó un aumento estadísticamente significativo a las 24 horas en la población de adultos jóvenes, lo cual nos indica que el ejercicio físico favoreció la eficiencia del sistema antioxidante, esto coincide con lo dicho por Ji *et al* (1999) donde refieren que la práctica de ejercicio físico provoca un aumento en la actividad de la SOD debido a una respuesta adaptativa del sistema antioxidante, ocasionado por un incremento en la producción de $O_2^{\cdot-}$.^{120, 121}

Por otro lado, la población de adultos mayores no presentó un cambio estadísticamente significativo, lo cual sugiere que la práctica de ejercicio físico por 6 meses, en los adultos mayores no logra modificar la actividad antioxidante de la SOD.

IX.2.6. Razón SOD/GPx

Para evitar una sobreproducción de EROs y con ello un daño oxidativo al organismo debe haber un equilibrio entre las enzimas antioxidantes SOD y GPx, el indicador que nos permite observar el dinamismo entre ambas enzimas es la razón SOD/GPx; en este sentido, al analizar el efecto de la exposición a un factor pro-oxidante sobre el sistema antioxidante encontramos que en el periodo basal, la población de adultos jóvenes presenta una tendencia a aumentar, a un que este regresa a un valor cercano al que se presenta en reposo, poniendo en evidencia que el organismo se encuentra en un proceso de recuperación. A diferencia de esto, la población de adultos mayores muestra una tendencia a disminuir, después de la exposición. Mientras que en la post-intervención encontramos que en los grupos que realizaron ejercicio físico por 6 meses presentan una disminución en la

razón SOD/GPx después de la exposición al factor pro-oxidante, esto a diferencia de los grupos controles lo cual concuerda con lo reportado en la literatura.¹²²

En tanto, al analizar los valores basales versus post-intervención en la relación SOD/GPx, se encontró que la población joven que no realizó ejercicio físico, después de seis meses, presentó un aumento estadísticamente significativo a las 24 horas después de ser expuestos al factor pro-oxidante, lo cual nos habla que el sedentarismo no permite una mejor interacción entre ambas enzimas, estos resultados concuerdan con lo reportado en la literatura.^{122, 124} Mientras que en la población de adultos mayores no se presentó ningún cambio tanto en el grupo experimental como el grupo control, lo que sugiere que la práctica de ejercicio físico no modificó el sistema antioxidante.

IX.2.7. Índice de Estrés oxidativo

El sistema antioxidante al estar compuesto por una variedad de moléculas que trabajan de forma dinámica y compleja no puede ser evaluado a través de un solo parámetro; para ello en este estudio se utilizó el índice de EOx.

Al observar los resultados tanto basales como post-intervención del índice de EOx, se puede observar que no se apreciaron diferencias significativas en ninguno de los grupos, lo que sugiere que la respuesta del sistema antioxidante ante un factor pro-oxidante es independiente del proceso de envejecimiento, esto contrasta con lo reportado en la literatura en donde, en investigaciones con modelos animales, observaron que los animales más viejos presentan un incremento en el EOx en comparación con los jóvenes,^{85,112, 116} no obstante, debemos considerar el proceso hormético desarrollado durante la práctica del ejercicio físico moderado por tiempo prolongado.

Al analizar los cambios ocurridos en el periodo basal versus post-intervención nuestros resultados muestran que en la población de adultos jóvenes el índice de EOx se mantuvo después de los seis meses de ejercicio físico en las tres mediciones. Mientras que en el caso de los adultos mayores que no realizaron ejercicio físico (grupo control), el índice de EOx, a los seis meses, presentó un incremento estadísticamente significativo a las 2 horas de ser expuestos al factor pro-oxidante; lo que sugiere que la respuesta del sistema antioxidante de este grupo fue deficiente en comparación con los que realizaron ejercicio físico durante 6 meses.

Finalmente, aunque los resultados del estudio no son del todo concluyentes, debido a lo limitado en el tamaño de la muestra, nos permiten sugerir que la práctica de ejercicio físico moderado beneficia al sistema antioxidante, siendo más evidente el beneficio en la población joven, ya que en ellos se aprecia una mejor respuesta del sistema antioxidante ante la exposición a un factor pro-oxidante.

X.- CONCLUSIÓN

Hipótesis

- *Considerando que el envejecimiento se caracteriza por una disminución relativa de la respuesta homeostática, suponemos que la eficiencia del sistema antioxidante de los adultos mayores será significativamente menor que la de los adultos jóvenes después de una sesión programada de ejercicio físico.*

Conclusiones

- Se confirma que al ser sometido a un episodio agudo de ejercicio físico el organismo es capaz de activar mecanismos de compensación, que le permiten al sistema antioxidante reaccionar para contrarrestar el daño oxidativo, siendo más eficiente la respuesta en la población joven.

Hipótesis

- *Tomando en cuenta el mecanismo adaptativo de la hormesis durante el proceso de envejecimiento, suponemos que la eficiencia del sistema antioxidante será similar en los adultos mayores y en los adultos jóvenes, después de la práctica de un programa de ejercicio físico durante seis meses.*

Conclusiones

- Se observó una eficiencia del sistema antioxidante similar en adultos jóvenes y adultos mayores, vinculada con la mayor actividad de la GPx, después de la práctica de ejercicio físico moderado durante 6 meses.
 - Nuestros hallazgos sugieren que el fenómeno de la hormesis se mantiene durante el envejecimiento.
-

XI.- PERSPECTIVAS

- Es necesario incrementar el tamaño de la muestra para confirmar nuestros hallazgos.
 - Es indispensable realizar estudios longitudinales, de amplia duración para observar los beneficios en el sistema antioxidante por la acción del ejercicio físico dependiente del tiempo.
 - Es indispensable la difusión de nuestros hallazgos, así como una mayor investigación, en cuanto al tipo e intensidad del ejercicio, para que de esta manera la realización de ejercicio físico repercuta en la salud y calidad de vida de la población en general y en particular en los adultos mayores.
-

XII. REFERENCIAS

1. Mendoza V. Retana R. Estrés oxidativo e inflamación. Medición e interpretación diagnóstica. México: FES Zaragoza, DGAPA; 2009. p 31.
 2. CONAPO. informe de México: el cambio demográfico, el envejecimiento y la migración internacional en México [publicación en línea]. Disponible en internet <http://www.conapo.gob.mx/prensa/2008/02cepal.pdf>. [fecha de acceso 22/04/2011].
 3. CONAPO, Principales causas de mortalidad en México 1980 -2007 [publicación en línea].Disponible en internet http://www.conapo.gob.mx/publicaciones/mortalidad/Mortalidadxcausas_80_07.pdf [fecha de acceso 22/04/2011].
 4. Fernández-Ballesteros R, Promoción del envejecimiento activo: efectos del programa. *Esp Geriatr Gerontol*. 2005; 40(2):92-102.
 5. Dröge W. Free Radicals in the physiological control of cell function. *Physiol*. 2002; 82: 47-96.
 6. Harman D. The aging process: Major risk factor for disease and death, *Proc Natl Acad Sci* 1991; 88: 5360-5363.
 7. Harman D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J. Gerontol* 1995; 11, 298–300.
 8. Pedro Paulo Marín L. y Dr. Homero Gac E. Manual Geriatria y Gerontologia año 2000, Universidad Católica de Chile. Chile 2000.
 9. Pardo G. Consideraciones generales sobre algunas de las teorías del envejecimiento. *rev. Cubana Invest Biomed* 2003;22(1):58-67.
 10. Beckman K, Ames, B. N. The free radical theory of aging matures. *Physiol Rev* 1998; 78(2): 547-81.
 11. Galván T, Guisado R, Barrilao B, García MC, Ochoa J, Ocaña J, Antioxidantes y ejercicio físico: funciones de la melatonina. *Rev Anal Med Deporte* 2008;01:61-72.
 12. Benítez Zequeira D. Vitaminas y oxidoreductasas antioxidants: defense ante el estrés oxidativo. *Rev Cub Invest Biomed*, 2006; 25(2).
 13. Marroni Possa. Estresse oxidativo e antioxidantes. Sao Paulo, Brasil: Editorial ULBRA; 2002. p. 23 – 31. 137 -139.
 14. Gonzales-Torres MC, Betancourt-Rule M, Ortíz-Muñiz R. Daño Oxidativo y Antioxidantes. *Bioquímica* 2000; 25: 3-9.
 15. Zequeira BD. Vitaminas y oxidoreductasas antioxidants: defense ante el estrés oxidativo. *Rev Cub Invest Biomed* 2006; 25(2). [publicación en línea]. Disponible en internet http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03002006000200010&lng=es&nrm=iso[fecha de acceso 01/04/2012].
-

- 16.M. McCord, The Evolution of Free Radicals and Oxidative Stress, *Am J Med* 2000; 108: 652-658.
 - 17.Zalba G, San José G, Moreno MU, Díez J. Papel del anión superóxido en la fisiopatología de las enfermedades vasculares, *Nefrología* 2002; XXII: S-7.
 - 18.Álvaro González Hernández, Principios de bioquímica clínica y patología molecular. Barcelona España: Elsevier; 2010. p. 440.
 - 19.Gómez MC. Papel de los radicales libres en el ejercicio físico agotador efecto de la administración de antioxidantes. Tesis Doctoral. Universidad de Valencia 2004.
 - 20.White, Pharoah; Radiología oral, principios e interpretación. Harcourt, 4º Ed. Madrid España: Ediciones Harcourt; 1995. p. 23.
 - 21.Moncada S, Palmer R. The discovery of Nitric Oxide as the endogenous nitrovasodilator. *Hypertension* 1991; 12: 365-372.
 - 22.Czapski G, Goldstein S. The role of the reactions of NO with superoxide and oxygen in biological systems: a kinetic approach. *Free Radical Biol Med* 1995; 19: 795-794.
 - 23.Rodríguez J, Menéndez J, Trujillo Y. Radicales libres en la biomedicina y estrés oxidativo. *Rev Cub Med Milit* 2001;30(1):36-44.
 - 24.Sastre J, Pallardo F.V, Vina J. The role of mitochondrial oxidative stress in aging. *Free Radic Biol Med*. 2003; 35(1):1-8.
 - 25.de Teresa Galván C, Guisado Barrilao R, García M C, Ochoa J, Ocaña Wilhelmi J. Antioxidantes y ejercicio físico: funciones de la melatonina, *Rev Andal Med Deporte*. 2008;01:61-72.
 - 26.Stefan Silbernagl, Agamemnon Despopoulos. Texto y Atlas de Fisiología. 5ª Ed. editorial Medica panamericana; 1994. p. 20.
 - 27.Roney Boyer, Conceptos de bioquímica. México: Thomson;2000. p. 512 – 524.
 - 28.Turrens J. Fuentes intracelulares de especies oxidantes en condiciones normales y patológicas. *Antioxidante y Calidad de Vida* 1994;1:16-9.
 - 29.Murray R, Mayes P, Granner D, Rodwell V. Bioquímica de Harper. 15ª Ed. México: Manual Moderno 2001: 120-130, 795-816.
 - 30.Nelson D, Cox M. Lehninger Principios de Bioquímica. 3ª Ed. Barcelona: Omega 2001. p. 78-83, 173-180.
 - 31.Donald Voet, Judith G. Voet Fundamentos De Bioquímica la vida a nivel molecular. 2ª Ed. Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana; 2007. p. 811.
 - 32.Ross Pawlia , Histología texto y atlas color con biología celular y molecular. 5º Ed. Argentina: Editorial Médica Panamericana; 2007. p. 61.
 - 33.Paravicini TM, Touyz RM. NADPH Oxidases, Reactive Oxygen Species, and Hypertension. *Diabetes Care* 2008; 31: S170-S180.
-

34. Fridovich I. Superoxide anion radical (O₂⁻), superoxide dismutase, and related matters. *J Biol Chem* 1997; 272: 18615-18617.
 35. Hwang ES, Kim GH., Biomarkers for oxidative stress status of DNA, lipids, and proteins in vitro and in vivo cancer research. *Toxicology*. 2007;229 (1-2):1-10.
 36. W Frank Booth, J Simon Lees Fundamental questions about genes, inactivity, and chronic diseases. *Physiol Genom* 2007; 28: 146–157.
 37. Soledad Abilés Jimena. Estrés oxidativo y su relación con el aporte de antioxidantes nutricionales en el paciente crítico. Granada España: Universidad de Granada; 2007. p. 4 -21.
 38. Knight JA, Smith SE, Kinder VE, Pieper RK. Urinary lipoperoxides quantified by liquid chromatography, and determination on reference values for Adults. *Clin Chem* 1988; 34: 1107-1110.
 39. Spiteller G. Lipid Peroxidation in aging and age- dependent diseases. *Exp Gerontol* 2001; 36: 1425-1457.
 40. Cheeseman KH. Mechanisms and effects of lipid peroxidation. *Molec Aspects Med* 1993; 14: 191-197.
 41. Halliwell B, Chirico S. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *Am J Clin Nutr* 1993; 57: 715S-725S.
 42. Morrissey P, Sheehy P, Galvin K, Kerry J, Buckley D. Lipid stability in meat products. *Meat Sci* 1998; 49: S73-S86.
 43. Goulart M, Batoréu M C, Rodrigues AS, Laires A, Rueff J, Lipoperoxidation products and thiol antioxidants in chromium exposed workers; *Mutagenesis* 2005; 20 (5): 311–315.
 44. Ide T, Tsutsui H, Ohashi N, Hayashidani S, Suematsu N, Tsuchihashi M, Tamai H, Takeshita A. Greater oxidative stress in healthy young men compared with premenopausal women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002 ;22:438–452.
 45. Mastaloudis A, Leonard SW, Traber MG. Oxidative stress in athletes during extreme endurance exercise. *Free Radic Biol Med* 2001; 31:911–922.
 46. Sircar D, Subbaiah PV. Isoprostane Measurement in Plasma and Urine by Liquid Chromatography–Mass Spectrometry with One-Step Sample Preparation; *Clin Chem*. 2007;53(2):251-8.
 47. Ajmani RS et al. Oxidative stress and hemorheological changes induced by acute treadmill exercise. *Clin Hemorheol Microcirc* 2003; 28(1):29-40.
 48. Spiteller G. Lipid Peroxidation in aging and age- dependent diseases. *Exp Gerontol* 2001; 36: 1425-1457.
 49. Liang Y, Wei P, Duke RW, Reaven PD, Harman SM, Cutler RG, Heward CB. Quantification of 8-iso-prostaglandin-F(2 α) and 2,3-dinor-8-iso-
-

- prostaglandin-F(2alpha) in human urine using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Free Radic Biol Med* 2003;34(4):409-418.
50. Hinchcliff KW, Reinhart GA, DiSilvestro R, Reynolds A, Blostein-Fujii A, Swenson RA. Oxidant stress in sled dogs subjected to repetitive endurance exercise. *Am J Vet Res* 2000;61:512–517.
51. Velazquez , P. Lorenzo, A. Moreno, I. Lizasoain. *Farmacología Básica y Clínica*. 18^a Ed. Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana; 2009. p. 506.
52. Urso M, Clarkson P. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. *Toxicology* 2003; 189: 41-54.
53. Shacter E. Quantification and significance of protein oxidation in biological samples. *Drug Metab Rev* 2000; 32(3&4): 307-326.
54. Gardner EJ, Simmons, M.J, Snustad D.P. *Principios de Genética*. 4^a Ed. México: Limusa;1980. p. 150.
55. Stern C. *Principles of human genetics*, 2.ed., San Francisco, Freeman, 1960: p53.
56. Voss P, Siems W. Clinical oxidation parameters of aging, *Free Radical Research*, *Free Radic Res* 2006; 40(12): 1339–1349.
57. Chihuailaf RH, Contreras PA, Wittwer FG. Patogénesis del estrés oxidativo: Consecuencias y evaluación en salud animal. *Veterinaria México* 2002; 33: 265-283.
58. Machlin LJ, Bendich A. Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients. *FASEB J* 1987; 1: 441-445.
59. Venereo Gutiérrez Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes, *Rev Cubana Med Milit* 2002;31(2):126-33.
60. Agarwal A, Gupta S, Sharma RK. Role of oxidative stress in female reproduction. *Reprod Biol Endocrinol*. 2005;3:28.
61. 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.
62. González-Torres M, Betancourt-Rule M, Ortiz-Muñiz R. Daño Oxidativo y Antioxidantes. *Bioquímica* 2000; 25(1): 3-9.
63. Harris. Regulation of antioxidant enzymes. *FASEB J* 1992; 6: 2675 – 2683.
64. Thomas M Devlin. *Bioquímica. Libro de texto con aplicaciones clínicas*. 4^o Ed. Barcelona: Reverte; 2004. p. 592.
65. Zorrilla A. El envejecimiento y el estrés oxidativo. *Rev Cubana Invest Biomed* 2002;21(3):178-85.
-

66. 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.
 67. Padayatty SJ, Daruwala R, Wang Y, Eck PK, Song J, Koh WS, et al. Vitamin C: from Molecular actions to optimum intake. In: Cadenas E, Packer L, editors. *Handbook of antioxidants*. 2nd. Ed. New York: Marcel Dekker; 2002: 117-145.
 68. Benítez DE. Vitaminas y oxidorreductasas antioxidantes: defensa ante el estrés oxidativo. *Rev Cubana Invest Biomed*. 2006; 25(2).
 69. B Belza, PhD, RN, Physical activity and exercise in women's health, *Nurs Clin N Am* 39 (2004) 181–193.
 70. 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.
 71. Jenkins R. Exercise and oxidative stress methodology: a critique. *Am J Clin Nutr* 2000; 72(1): 670S–674S.
 72. Firman G. Fisiología del ejercicio físico. Disponible en http://www.intermedicina.com/Avances/Interes_General/AIG05.pdf
Consultado: 1 - julio- 2011.
 73. P. Herrera Municipio, M.J. Rojas Giraldo y R. Vello Cuadrado. Actividad física y salud, medicina hoy. Disponible en: <http://www.jano.es/ficheros/sumarios/1/60/1375/57/1v60n70med.pdf>
Consultado: 1 - julio- 2011.
 74. E J Bassey, The benefits of exercise for the health of older people. *Rev Clin Gerontol* 2000; 10: 17–31.
 75. Radak Z, Hae Y. Chung d, Erika Koltai a, Albert W. Taylor b, Sataro Goto, Exercise, oxidative stress and hormesis. *Ageing Res Rev* 2007; 170:1-9.
 76. 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.
 77. Kinnunen S, Atalay M, Hyyppä 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.
 78. Dillard CJ, Litov RE, Savin WM, Dumelin EE, Tap- pel, Al L. Effects of exercise, vitamin E, and ozone on pulmonary function and lipid peroxidation. *J.Appl.Physiol* (1978);45: 927-932.
 79. Ayres S, Baer J, Subbiah MT. Exercise-induced increase in lipid peroxidation parameters in amenorrheic female athletes; *Fertil Steril* 1998; 69(1):73–77.
-

80. Tian LQ, Cai QY, Wei HC. Alterations of antioxidant enzymes and oxidative damage to macromolecules in different organs of rats during aging. *Free Radic Biol Med* 1998; 24: 1477–1484.
 81. Fisher-Wellman K, Richard J Bloomer Acute exercise and oxidative stress: a 30 year history. *Dynamic Medicine* 2009; 8:1.
 82. Gohil K, Stanley WC, Brooks GA, Packer L. Blood glutathione oxidation during human exercise; *J Appl Physiol* 1988;64(1):115-9.
 83. Arquer A, Elosua R, Marrugat J. Actividad física y estrés oxidativo. *Apunts Med Esport* 2010; 45(165): 31–40.
 84. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin M, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell B* 2007; 39: 44-84.
 85. Zerba E, Komorovsky TE, Faulkner JA. Free radical injury to skeletal muscles of young, adult and old mice. *Am J Physiol* 1990; 258: C429- C435.
 86. Radak Z, Hormesis and Exercise: How the Cell Copes with Oxidative Stress. *Am J Pharm Toxicol* 2008; 3 (1): 44-58.
 87. Terres-Speziale A.M. Homo longevus: el paradigma del envejecimiento sano. *Rev Med Pat Clin* 2005; 52: 27-39.
 88. Radak Z, Chun H, Goto S. Exercise and hormesis: oxidative stress-related adaptation for successful aging. *Biogerontology* 2005; 6: 71–75.
 89. 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.
 90. Gómez-Cabrera M. C., Viña J, Ejercicio físico, entrenamiento y estrés oxidativo. Importancia de los nutrientes antioxidantes. *Alim Nutri* 2003; 10 (3): 71-81.
 91. Bonilla JF, Narváez R, Chuaire L. El deporte como causa de estrés oxidativo y hemólisis. *Colomb Med* 2005; 36: 275-280.
 92. *Duperly, sedentarismo vs ejercicio en el síndrome metabólico. *Act Med Acta Med Colomb* 2005;30: 133-136.
 93. Thompson PD, Crouse SF, Goodpaster B, Kelley D, Moyna N, Pescatello L. The acute versus the chronic response to exercise; *Med Sci Sports Exerc* 2001;33 Suppl:S438-45.
 94. Assmann G, Gotto AM. HDL cholesterol and protective factors in atherosclerosis. *Circulation* 2004; 109:III-8 –III-14.
 95. Carbayo JA, González-Moncayo C, Gómez J, Carbayo J, Fernández. Modificaciones inducidas por el ejercicio físico moderado sobre el colesterol de las subfracciones mayores de las HDL (HDL2 y HDL3). *Arteriosclerosis* 2000; 12:19-25.
-

96. Swain DP, Franklin BA, Comparison of cardioprotective benefits of vigorous versus moderate intensity aerobic exercise; *Am J Cardiol* 2006; 97:141-7.
 97. Sánchez Pinilla Ricardo. *Medicina del ejercicio físico y del deporte para la atención a la salud*. Cap. 15 Diabetes y ejercicio físico. Madrid. Editorial Diaz de Santos, 1992. 344 – 346.
 98. Cambri TL, Santos LD. Efecto agudo de un programa de ejercicios resistidos con pesas en la glucemia capilar de diabéticos tipo 2. *Efdeportes Revista Digital*. Disponible en: <http://www.efdeportes.com/efd90/diabet.htm> : 01 Diciembre del 2011.
 99. Viguie CA, Frei B, Shigenaga MK, Ames BN, Packer L, Brooks GA. Antioxidant status and indexes of oxidative stress during consecutive days of exercise. *J Appl Physiol*. 1993;75(2):566-72.
 100. Leaf DA, Kleinman MT, Hamilton M, Barstow TJ. The effect of exercise intensity on lipid peroxidation. *Med Sci Sports Exerc*. 1997;29(8):1036-9.
 101. Balci SS, Okudan N, Pepe H, Gökbel H, Revan S, Kurtoğlu F, Akkuş H. Changes in lipid peroxidation and antioxidant capacity during walking and running of the same and different intensities. *J Strength Cond Res* 2010;24(9):2545-50.
 102. Cuneo, C. Lipoproteínas de alta densidad (HDL) y enfermedad coronaria. *Rev Fed Arg Cardiol* 2001; 30:103-111.
 103. Kretzschmar M, Pfeifer U, Machnik G, Klinger W. Influence of aging, training and acute physical exercise on plasma glutathione and lipid peroxides in man. *Int J Sports Med* 1991;12(2):218-22.
 104. Golyshenkov SP, Mel'nikova NA, Lapshina MV: The effect of exercise on platelet aggregability and lipid peroxidation. *Hum Physiol* 2004; 30 (6): 96–102.
 105. Halliwell B, Gutteridge JMC, Cross CE. Free radicals, antioxidants, and human disease: Where are we now? *J Lab Clin Med* 1992; 119: 598-620.
 106. Ayres S, Baer J, Subbian R. exercised-induced increase in lipid peroxidation parameters in amenorrheic female athletes. *Fertil Steril* 1998; 69(1): 73-77.
 107. Ozbay B, Dulger H. Lipid peroxidation and antioxidant enzymes in Turkish population: Relation to age, gender, exercise and smoking. *Thohoku J Exp Med* 2002; 197(2): 119-124.
 108. Schneider CD, Barp J, Ribeiro JL, Belló-Klein A, Oliveira AR. Oxidative stress after three different intensities of running. *Can J Appl Physiol* 2004; 30: (6) 723-734.
 109. Campbell PT, Gross MD, Potter JD, Schmitz KH, Duggan C, McTiernan A, Ulrich CM. Effect of Exercise on Oxidative Stress: A 12-Month Randomized, Controlled Trial. *Med Sci Sports Exerc* 2010 ; 42(8): 1448–1453.
-

110. Roberts LJ, 2nd, Moore KP, Zackert WE, Oates JA, Morrow JD. Identification of the major urinary metabolite of the F₂- isoprostane 8-isoprostaglandin F₂α in humans. *J Biol Chem* 1996;271:20617–20620.
 111. Roberts LJ, 2nd, Reckelhoff JF. Measurement of F(2)- isoprostanes unveils profound oxidative stress in aged rats. *Biochem Biophys Res Commun* 2001;287:254–256.
 112. Alessio HM, Hagerman AE, Nagy S, Philip B, Bymes RN, Woodward JL, et al. Exercise improves biomarkers of health and stress in animals fed ad libitum. *Physiol Behav* 2005; 84: 65-72.
 113. Rush JW, Turk JR, Laughlin MH. Exercise training regulates SOD-1 and oxidative stress in porcine aortic endothelium. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003; 284(4):1378-87.
 114. Leeuwenburgh C, Heinecke J. Oxidative Stress and Antioxidants in Exercise. *Curr Med Chem* 2001; 8: 829-838.
 115. Palazzetti S, Richard MJ, Favier A, Margaritis I. Overloaded training increases exercise-induced oxidative stress and damage. *Can J Appl Physiol* 2003; 28(4):588-604.
 116. Inal ME, Kanbak G, Sunal E. Antioxidant enzyme activities and malondialdehyde levels related to aging. *Clin Chim Acta.* 2001;305(1-2):75-80.
 117. Jimenez L, Lefevre G, Richard R; Couderc R. Oxidative stress in hemodialyzed patients during exhausting exercise. *J Sports Med and Phys Fitness* 2001; 41:513-520
 118. Margaritis I, Rousseau AS. Does physical exercise modify antioxidant requirements?. *Nutr Res Rev* 2008; 21: 3-12.
 119. Aguilo A, Taulera P, Fuentespina E, Tura AJ, Cordova A, Pons A. Antioxidant response to oxidative stress induced by exhaustive exercise. *Physiol Behav* 2005; 84: 1–7.
 120. Hass, M. A., Iqbal, J., Clerch, L. B., Frank, L Massaro, D. Rat lung Cu,Zn superoxide dismutase. Isolation and sequence of a full-length cDNA and studies of enzyme induction. *Clin Invest* 1989; 83: 1241-1246.
 121. Gomez-Cabrera M, Domenech E, Viña J. Moderate exercise is an antioxidant: Upregulation of antioxidant genes by training. *Free Radical Biol Med* 2007; 44: 126-131.
 122. Radák Z, Asano K, Inoue M, Kizaki T, Oh-Ishi S, Suzuki K, Taniguchi N, Ohno H. Superoxide dismutase derivative prevents oxidative damage in liver and kidney of rats induced by exhausting exercise. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1996; 72(3):189-94.
-

123. 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.
 124. Serra Majem Lluís, Aranceta. *Nutrición y salud Publica: métodos, bases científicas y aplicaciones*. 2º Ed. Barcelona: Masson; 2006. p 344.
 125. Edwards R H Human muscle function and fatigue, *Ciba Found Symp* 1981; 82: 1-18.
 126. Kayatekin BM, Gönenç S, Açikgöz O, Uysal N, Dayi A. Effects of sprint exercise on oxidative stress in skeletal muscle and liver. *Eur J Appl Physiol*. 2002;87(2):141-4.
 127. Sentürk ÜK, Gündüz F, Kuru O, Aktekin B, Aktekin MR. The Effect of One Year's Swimming Exercise on Oxidant Stress and Antioxidant Capacity in Aged Rats. *Physiol. Res* 2004; 53: 171-17.
 128. Oztasan N, Taysi S, Gumustekin K, Altinkaynak K, Aktas O, Timur H, et al. Endurance training attenuates exercise-induced oxidative stress in erythrocytes in rat. *Eur J Appl Physiol* 2004; 91(5-6):622-7.
 129. Goto S, Naito H, Kaneko T, Chung H, Radak Z. Hormetic effects of regular exercise in aging: correlation with oxidative stress. *Appl Physiol Nutr Med* 2007; 32(5): 948-953.
 130. Aejmelaesus RT, Holm P, Kaukinen U, Metsa-KetelaTJA, LaippalaP, Hervonen ALJ, Alho HER. Age-related changes in the peroxy radical scavenging capacity of human plasma. *Free Radic Biol Med*. 1997; 23:69-75.
 131. Adachi T, Wang J, Wang XL. Age-related change of plasma extraxelular superoxide dismutase. *Clin Chim Acta*. 2000; 290: 169-178.
 132. Rikans LE, Hornbrook KR. Lipid peroxidation, antioxidant protection and aging. *Biochim Biophys Acta*. 1997;1362;1362:116-127.
 133. King CM, Bristow-Craig HE, Giles pie Esm, Barnett YA: In vivo antioxidant status, DNA damage, Mutation and DNA capacity in cultured lymphocytes from healthy 75 -80 year-old humans. *Mutat Res*. 1997; 377:137-147.
 134. Alessio HM, Goldfarb AH, Cao G. Exercise-induced oxidative stress before and after vitamin C supplementation. *Int J Sport Nutr* 1997;7(1):1-9.
 135. Marzatico F, Pansarasa O, Bertorelli L, Somenzini L, Della Valle G. Blood free radical antioxidant enzymes and lipid peroxides following long-distance and lactacidemic performances in highly trained aerobic and sprint athletes. *J Sports Med Phys Fitness* 1997 ;37(4):235-9.
 136. Steinberg JG, Delliaux S, Jammes Y. Reliability of different blood indices to explore the oxidative stress in response to maximal cycling and static exercises. *Clin Physiol Funct Imaging* 2006;26(2):106-12.
-

XIII. 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.

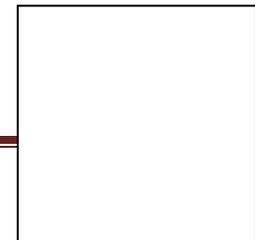
Nombre y firma del participante:

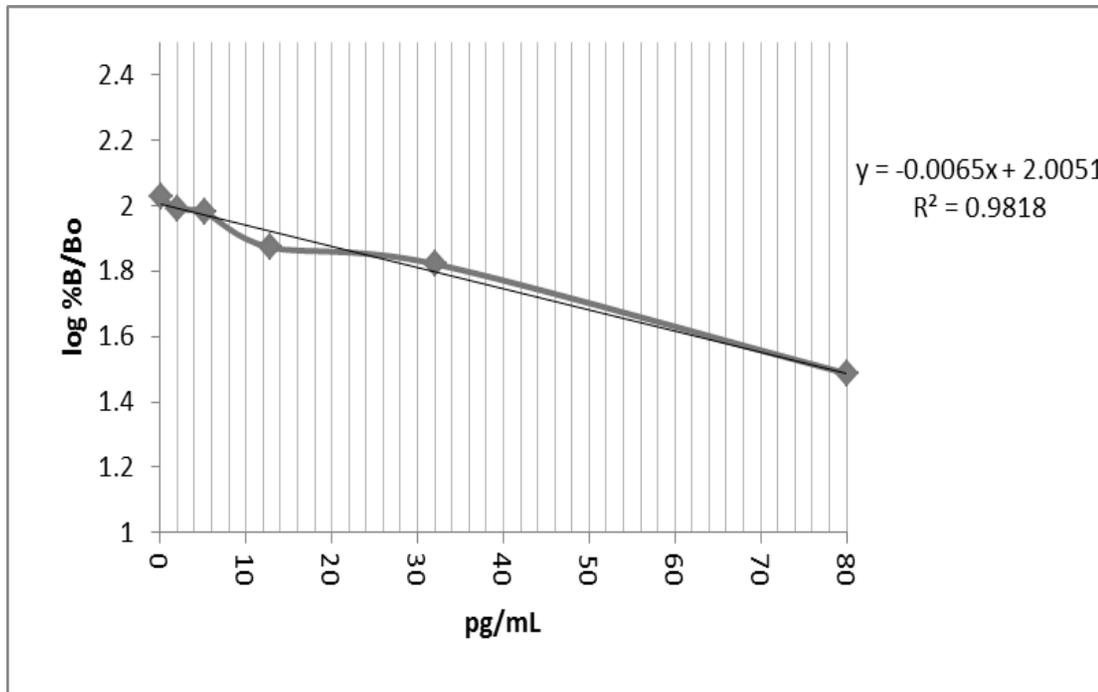
Nombre y firma de un familiar (testigo):

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.





$$\% B / B_o = \frac{(100(A - NSB))}{B_o}$$

$\% B / B_o = \% \text{ ligados} / \text{máximo ligado}$

$A = \text{Absorbancia}$

$NSB = \text{vinculo no específico}$

$B_o = \text{máxima vinculación}$

Figura XIII.1 Curva estándar de 8 –isoprostanos

