



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA
BIOLOGÍA EXPERIMENTAL

**EFFECTO DEL EJERCICIO FÍSICO MODERADO SOBRE MARCADORES DE ESTRÉS
OXIDATIVO, INFLAMACIÓN CRÓNICA Y SU RELACIÓN CON ENFERMEDAD
PERIODONTAL EN ADULTOS MAYORES**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

BEATRIZ HERNÁNDEZ MONJARAZ

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS:

DR. VÍCTOR MANUEL MENDOZA NÚÑEZ
FES ZARAGOZA, UNAM

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR:

DR. EDELMIRO SANTIAGO OSORIO
FES ZARAGOZA, UNAM

DR. JOSÉ MIGUEL BETANCOURT RULE
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

MÉXICO, D.F.

DICIEMBRE 2013



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA
BIOLOGÍA EXPERIMENTAL

**EFFECTO DEL EJERCICIO FÍSICO MODERADO SOBRE MARCADORES DE ESTRÉS
OXIDATIVO, INFLAMACIÓN CRÓNICA Y SU RELACIÓN CON ENFERMEDAD
PERIODONTAL EN ADULTOS MAYORES**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

BEATRIZ HERNÁNDEZ MONJARAZ

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS:

DR. VÍCTOR MANUEL MENDOZA NÚÑEZ
FES ZARAGOZA, UNAM

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR:

DR. EDELMIRO SANTIAGO OSORIO
FES ZARAGOZA, UNAM

DR. JOSÉ MIGUEL BETANCOURT RULE
UAM IZTAPALAPA

MÉXICO, D.F.

DICIEMBRE 2013

Dr. Isidro Ávila Martínez
Director General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 11 de Noviembre de 2013, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** de la alumna **BEATRIZ HERNÁNDEZ MONJARAZ** con número de cuenta **98000667** con la tesis titulada "**Efecto del ejercicio físico moderado sobre marcadores de estrés oxidativo, inflamación crónica y su relación con enfermedad periodontal en adultos mayores**", realizada bajo la dirección del **DR. VÍCTOR MANUEL MENDOZA NUÑEZ**:

Presidente: DRA. MARÍA ISABEL SOTO CRUZ
Vocal: DR. JOSÉ PEDRAZA CHAVERRI
Secretario: DR. EDELMIRO SANTIAGO OSORIO
Suplente: DR. JOSÉ MIGUEL BETANCOURT RULE
Suplente: DR. MARIO AGUSTIN ALTAMIRANO LOZANO

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, D.F., a 19 de noviembre de 2013.

M. del Coro Arizmendi

DRA. MARÍA DEL CORO ARIZMENDI ARRIAGA
COORDINADORA DEL PROGRAMA



c.c.p. Expediente del (la) interesado (a)

Agradecimientos

La presente investigación se llevó a cabo gracias al apoyo del Posgrado en Ciencias Biológicas de la UNAM y del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) quien otorgó una beca para cursar la maestría, en el Posgrado en Ciencias Biológicas de la UNAM. **Número de becario/CVU: 412849/262614.**

El apoyo para materiales, reactivos y equipo fue otorgado por la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA), Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT), proyecto **IN306213** *“Efecto del Tai Chi sobre marcadores de estrés oxidativo e inflamación crónica y su relación con enfermedad periodontal en adultos mayores”*.

El trabajo se desarrolló en la Unidad de Investigación en Gerontología, de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM, bajo la dirección del Dr. Víctor Manuel Mendoza Núñez y la asesoría tutorial del Dr. Edelmiro Santiago Osorio y el Dr. José Miguel Betancourt Rule.

Agradecimientos a título personal

Agradezco a la Dra. Mirna Ruiz Ramos, por todo su apoyo técnico, académico y personal. Así como al Dr. Víctor, Dr. Edelmiro y Dr. José Miguel, por compartir su tiempo y enseñanzas conmigo, haciendo de esta experiencia un de las más enriquecedoras y especiales.

De igual forma, reitero mi agradecimiento a la Dra. María Isabel Soto Cruz, el Dr. Mario Altamirano Lozano y al Dr. José Pedraza Chaverri, por su pronta respuesta y acertados comentarios. Y al Dr. Armando Cervantes por el apoyo brindado en el análisis estadístico.

Finalmente, a la M. en C. María del Carmen Cruz Lagunas, M. C. Nallely A. Vázquez Aguirre, Q. F. B. Héctor Hugo Pérez Magallanes, Q. F. B. Carlos Encarnación García Águeda y M. en C. Taide Laurita Arista Ugalde, por compartir peripecias experimentales, alegrías, viajes y frustraciones. En verdad ha sido un placer trabajar con ustedes.

Dedicatorias

Dedico este trabajo a mis padres, a quienes quiero profundamente. Gracias a sus consejos, educación y cuidados, soy muy feliz haciendo lo que me gusta.

A mi hermana Ara, con quien frecuentemente diferiré de opinión y gustos, pero al final siempre apoyará mis decisiones. Gracias por toda tu ayuda, sin ti nunca hubiera terminado.

A Mari, Nallely, Héctor y Carlos; gracias por su ayuda técnica y sobre todo por brindarme su amistad y estar siempre a mi lado, ahora puedo decir que esta tesis lleva un poco de ustedes.

A Maira, Dulce, Evelyn, Angélica, Virginie y Frine; gracias por obligarme a ser valiente en cada aspecto de mi vida, sé que emocional y físicamente nunca me dejarán caer.

Y finalmente, a todos los adultos mayores quienes sin su dedicación y paciencia nunca habiéramos logrado esto.

Índice

I.	Resumen. (Abstract)	10
II.	Abreviaturas y acrónimos	14
III.	Introducción	15
IV.	Marco Teórico	16
IV.1	Enfermedad periodontal	18
IV.2	Estrés oxidante, enfermedad periodontal y envejecimiento	22
IV.3	Inflamación crónica, enfermedad periodontal y envejecimiento	31
IV.4	Ejercicio físico moderado y salud	48
IV.5	Tai Chi, estrés oxidante y salud	53
V.	Planteamiento del problema	57
VI.	Hipótesis	59
VII.	Objetivos	60
VIII.	Material y métodos	61
VIII.1	Población y diseño	61
VIII.2	Variables	63
VIII.3	Técnicas	64
VIII.3.1	Intervención	66
VIII.3.2	Evaluación de higiene oral	67
VIII.3.3	Evaluación de la profundidad del surco gingival	71
VIII.3.4	Marcadores de EOx y actividad de enzimas antioxidantes	74
VIII.3.5	Marcadores de IC	77
IX.	Análisis estadístico	78
X.	Resultados	79
XI.	Discusión	86
XII.	Conclusiones	92
XIII.	Perspectivas	93
XIV.	Referencias	94
XV.	Anexos	102

Índice de cuadros

Cuadro IV.2.1. Verdaderos radicales y especies reactivas de oxígeno (EROs)	24
Cuadro IV.2.2 Clasificación de los diferentes antioxidantes.....	26
Cuadro IV.3.1. Marcadores de EOx y EP.	39
Cuadro IV.3.2. Marcadores de IC y EP.....	44
Cuadro VIII.3.2.1 Criterios para establecer el grado de detritos.....	69
Cuadro VIII.3.2.2 Criterios para establecer el grado de cálculo.....	70
Cuadro VIII.3.2.3 Criterios para establecer el grado de higiene oral.	70
Cuadro VIII.3.1 Criterios para determinar el componente gingival del índice...	71

Índice de figuras

Figura IV.1.1 Relación espacial entre el infiltrado inflamatorio y la pérdida de hueso periodontal.	19
Figura IV.1.2 Formación intracelular de especies reactivas de oxígeno.....	23
Figura IV.3.1 Participación de citocinas en degradación de la matriz extracelular (MEC) y la resorción ósea en entornos periodontales.....	35
Figura IV.3.2 Papel de las EROs en los tejidos periodontales.....	29
Figura IV.3.2 Regulación de citocinas en enfermedad periodontal.	37
Figura IV.5.1 Práctica de la forma ocho del TC.	55
Figura VIII.1. Esquema general del estudio.	62
Figura VIII.3.5.1. Preparación de diluciones a partir del estándar de Human Inflammatory Cytokine.	77

I. [Resumen](#)

Antecedentes: La enfermedad periodontal (EP) es una alteración crónica de los tejidos de soporte del diente, caracterizado por sangrado gingival, formación de bolsas periodontales, destrucción de tejido conectivo y la pérdida de hueso alveolar. En este sentido, se ha señalado que el estrés oxidante (EOx) y la inflamación crónica (IC) juegan un papel importante en la patogénesis de la EP.

Por otro lado, se ha demostrado que la actividad física moderada como el Tai Chi puede disminuir los niveles de los marcadores de EOx e IC, lo cual se ha vinculado con una mejoría a varias enfermedades crónicas en los adultos mayores. De ahí que se infiere que la práctica periódica de Tai Chi tendrá un efecto benéfico sobre la EP en adultos mayores.

Objetivo: Determinar el efecto del Tai Chi sobre los marcadores biológicos de EOx e IC y su relación con la enfermedad periodontal en los adultos mayores.

Métodos: Se llevó a cabo un estudio cuasi-experimental con una muestra de 71 voluntarios sedentarios con EP, divididos en dos grupos: (i) grupo control (GC) con 34 sujetos y (ii) grupo experimental (GE) con 37 sujetos quienes practicaron Tai Chi, 5 días a la semana, en sesiones de 60 minutos bajo la supervisión de un instructor calificado por 6 meses. El grupo de control no realizó ejercicio físico.

Para la evaluación clínica bucodental se utilizó el índice de Enfermedad Periodontal (IEP) y el Índice de Higiene Oral Simplificado (IHOS). Asimismo, se midieron en muestras de saliva: superóxido dismutasa (SOD), capacidad antioxidante total (CAT) y sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) por el método de espectrofotometría. También se midió interleucina-1 beta (IL-1 β), interleucina-6 (IL-6), interleucina-8 (IL-8), interleucina-10 (IL-10) y factor de necrosis tumoral-alfa (TNF- α) por citometría. Todos los parámetros se midieron antes y después de 6 meses de ejercicio. Los datos fueron analizados mediante ANOVA de medidas repetidas, utilizando el programa SPSS V.16.0.

Resultados: Se encontró en el grupo experimental un aumento estadísticamente significativo en la SOD (basal, 1.62 ± 0.83 vs. post-intervención, 2.79 ± 1.6 U/l, $p < 0.001$) y TAC (basal, 0.5375 ± 0.33 vs. post-intervención, 0.7042 ± 0.35 mmol/l, $p < 0,05$). En relación con los marcadores de IC, se encontró una disminución significativa en los niveles de IL-1 β en el grupo que practicó TC en comparación con el control (basal, 783.62 ± 174.9 vs. post-intervención, 624.97 ± 196.7 $p < 0.01$). Del mismo modo se observó una disminución estadísticamente significativa en el IEP ($p < 0.05$).

Conclusiones: Nuestros hallazgos sugieren que la práctica periódica del Tai Chi tiene un efecto antioxidante y antiinflamatorio vinculado con la mejoría de la enfermedad periodontal.

Abstract

Background: Periodontal disease (PD) is a chronic disease of the tooth supporting tissues, characterized by gingival bleeding, periodontal pocket formation, destruction of connective tissue attachment and alveolar bone loss. In this sense, it has been pointed out that oxidative stress (OxS) and chronic inflammatory process (CIP) is involved in the pathogenesis of PD.

On the other hand, moderate physical activity like Tai Chi has been shown a diminution of concentrations markers of OxS and CIP, which improves several chronic diseases in older adults. Therefore, it follows that the regular practice of Tai Chi will have a beneficial effect on PD in older adults.

Objective: To determine the effect of Tai Chi on biological markers of OxS and CIP and its relationship to periodontal disease in older adults

Methods: It was carried out a quasi-experimental study with a sample of 71 sedentary volunteers with PD, divided into two groups: (i) a control group (CG) with 34 subjects and (ii) an experimental group (EG) with 37 subjects who performed Tai Chi, 5 days a week, in sessions of 60 minutes under the supervision of a qualified instructor for 6 months. The control group performed no physical activity.

PD status was characterized using Periodontal Disease Index (PDI) and Oral hygiene index simplified (OHIS) for clinical measures oral cleanliness. Superoxide dismutase (SOD), total antioxidant capacity (TAC) and thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) were measured by spectrophotometric methods in saliva samples. In addition, interleukin 1-beta (IL-1 β), interleukin 6 (IL6), interleukin 8 (IL-8), interleukin 10 (IL-10) and tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) were measured by flow cytometry. All parameters were measured before and after 6-month of exercise period. The data were subjected to ANOVA, using SPSS V.16.0.

Results: It was found in the experimental group a statistically significant increase in SOD (basal, 1.62 ± 0.83 , and post, 2.79 ± 1.6 U/l, $p < 0.001$) and TAC (basal,

0.5375 ± 0.33 and post, 0.7042 ± 0.35 mmol/L, p<0.05) six months later of training of Tai Chi compared with the CG. In regarding inflammatory markers, levels of IL-1 β were significantly lower in the group that practiced TC compared to control (basal, 783.62 ± 174.9 vs. post, 624.97 ± 196.7 p < 0.01). Also, it was found that the concentration of IL-6 was significantly lower in the EG compared to CG. Likewise it was observed a statistically significant decrease in the PDI (p<0.05).

Conclusions: Our findings suggest that practice daily Tai Chi has antioxidant and anti-inflammatory effects linked to the improvement of the PD in older adults.

II. Abreviaturas y acrónimos

ADN	Ácido desoxirribonucleico
AOx	Antioxidantes
BHT	Butiril-hidroxitolueno
CD	Cálculo dental
Eox	Estrés oxidativo
EP	Enfermedad periodontal
EROs	Especies Reactivas de Oxígeno
FGC	Fluido Gíngivo-Crevicular
FLA ₂	Fosfolipasa A ₂
GPx	Glutation peroxidasa
GST	Glutation S-transferasa
IC	Inflamación crónica
IEP	Índice de enfermedad periodontal
IL	Interleucina
LAC	Límite amelo cementario
LPO	Lipoperóxidos
LPS	Lipopolisacáridos
MAPKs	Proteínas quinasas activadas por mitógenos
MDA	Malonaldehído
MEC	Matriz extracelular
MMP	Metaloproteinasas
MPO	Actividad mieloperoxidasa
PDB	Placa dentobacteriana
PGE ₂	Prostaglandina E ₂
PMN	Polimorfonucleares
RL	Radical libre
SOD	Superóxido Dismutasa
TBA	Ácido tiobarbitúrico
TBARS	Sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico.
TC	Tai Chi
Th	Células T cooperadoras
TIMP	Inhibidores tisulares de las metaloproteinasas
TLR	Receptores de tipo toll (Toll like receptor)
TNF	Factor de necrosis tumoral (Tumor Necrosis Factor)
TX	Tratamiento

III. Introducción

La enfermedad periodontal (EP) es una alteración crónica de los tejidos de soporte del diente, con una alta prevalencia en las personas adultas mayores, lo cual se acompaña con pérdida de órganos dentarios y repercusiones en la calidad de vida a pesar de la disponibilidad de las múltiples opciones terapéuticas que se han implementado a lo largo de las últimas décadas.

La etiopatogenia de la EP involucra procesos infecciosos crónicos secundarios a malos hábitos higiénicos. Asimismo, recientemente se ha demostrado que el estrés oxidante (EOx) es un elemento fundamental en la fisiopatología de la inflamación crónica (IC) que caracteriza a la EP.

En este sentido, se ha propuesto que el ejercicio físico es un elemento fundamental dentro de un estilo de vida saludable por sus numerosos efectos sobre la salud de las personas. Se ha demostrado que la práctica de ejercicio físico moderado como el Tai Chi, tiene un efecto antioxidante y antiinflamatorio que causa un impacto positivo en la historia natural de las diversas enfermedades crónico-degenerativas no transmisibles.

Pese a ello, los resultados son controversiales en cuanto la eficacia terapéutica de la práctica de ejercicio físico moderado en cavidad oral, de lo cual la importancia de la presente investigación.

IV. Marco Teórico

La enfermedad periodontal es un padecimiento inflamatorio de carácter crónico que afecta a los tejidos de soporte del órgano dentario. Se puede suscitar desde la adolescencia hasta la edad adulta; sin embargo se ha observado una tendencia a presentarse más frecuentemente en los adultos mayores.

Conforme el humano envejece, se suscitan una serie de cambios que van de los fisiológicos a lo patológicos dependiendo de factores genéticos, ambientales, nutricionales y bioquímicos. Al respecto, se ha demostrado que el estrés oxidante (EOx) está involucrado con el envejecimiento celular y es un factor importante en el desarrollo de enfermedades crónicas, y entre ellas la periodontitis.

Pese a ello, se carece de un estándar de oro para evaluar el EOx, por lo cual es necesario realizar mediciones de los diversos componentes para brindar una visión integral del proceso.

Entre estos componentes se encuentran la enzima superóxido dismutasa (SOD), los antioxidantes (AOx) y la cuantificación de lipoperóxidos (LPO); los cuales fluctúan dependiendo de las necesidades fisiológicas para mantener la homeostasis del organismo.

Aunque el EOx es un factor etiológico importante, la inflamación crónica (IC) es un mecanismo que también se encuentra presente en procesos fisiológicos, puesto que es desencadenada inicialmente como un proceso de defensa mediado por células del sistema inmune ante daño o infecciones; y posteriormente, cuando este proceso no remite y se establece de forma crónica, libera una serie de citocinas que causan daño tisular.

En el caso específico de la enfermedad periodontal, en diversos estudios se ha demostrado que las Interleucinas (IL) como la IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10 y el Factor de Necrosis Alfa (TNF- α), participan activamente en la IC de los tejidos de soporte, culminando en la destrucción del hueso alveolar.

Entre las opciones para controlar tanto el EOx como el daño por la IC, destacan las opciones medicamentosas tratamientos clínicos específicos y la adopción de estilos de vida saludables, entre los que destacan la alimentación rica en antioxidantes y la práctica de ejercicio físico moderado. Al respecto, el efecto antioxidante del ejercicio físico moderado se vincula al mecanismo de hormesis, el cual se caracteriza por una respuesta antioxidante eficiente secundaria a la exposición de radicales libres en concentraciones bajas o moderadas propiciando un EOx leve durante el trabajo musculoesquelético, lo que permite una regulación positiva de los mecanismos de defensa AOx. En segundo lugar, el ejercicio físico moderado tiene actividad antiinflamatoria al reducir muchos de los biomarcadores inflamatorios.

Por tal motivo, inferimos que la actividad física moderada puede proteger al periodonto, atenuando la respuesta inflamatoria excesiva por parte del hospedero y mejorando la eficiencia AOx a través del fenómeno hormético.

A continuación se presenta la información teórica más relevante sobre los mecanismos fisiopatológicos relativos a la EP, así como los mecanismos bioquímicos del estrés oxidante y el proceso inflamatorio crónico involucrados en la EP, además del efecto del ejercicio físico moderado sobre dichos mecanismos con énfasis en el Tai Chi, con el fin de precisar el problema y la hipótesis de la presente investigación.

IV.1 Enfermedad Periodontal

La enfermedad periodontal (EP) es una enfermedad infecciosa crónica, caracterizada por un proceso inflamatorio destructivo que afecta a los tejidos de soporte de los dientes, la resorción del hueso alveolar y la formación de bolsas periodontales con eventual pérdida de dientes.^{1,2}

Los componentes bacterianos, como lipopolisacáridos (LPS), peptidoglicanos, ácidos lipoteicoicos, proteasas y toxinas, que provocan la reacción inflamatoria, se pueden encontrar en la biopelícula sobre las superficies del diente. La respuesta del huésped a la exposición bacteriana incluye la acción y la estimulación de diversos tipos de células inflamatorias, así como de las células residentes del tejido.³ Se ha demostrado a *Tannerella forsythia*, *Porphyromonas gingivalis* y *Treponema denticola*, en las biopelículas en los sitios que expresan la periodontitis progresiva.⁴ Los antígenos y productos, tales como LPS y peptidoglicanos, son liberados por las bacterias y reconocidos por receptores de tipo toll (TLR) en la superficie de las células huésped, desencadenando la respuesta inflamatoria.⁵ (Figura IV.1.1)

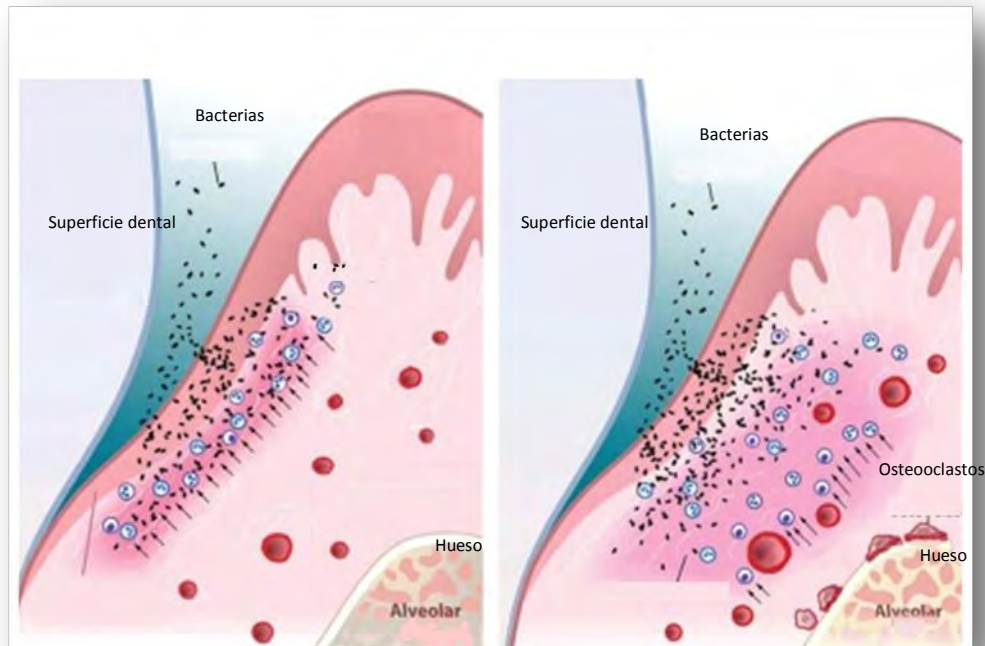


Figura IV.1.1 Relación espacial entre el infiltrado inflamatorio y la pérdida de hueso periodontal. En la periodontitis, las bacterias se adhieren a la superficie del diente e invaden el epitelio adyacente y el tejido conectivo. Esto causa la formación de un infiltrado inflamatorio se indica por las flechas negras. En el panel de la izquierda se observa como el infiltrado inflamatorio es menor y está alejado del tejido óseo, de ahí que la osteoclastogénesis no se estimule. Sin embargo, en el panel de la derecha el infiltrado inflamatorio se mueve más cerca de hueso y los osteoclastos son inducidos, por lo que la resorción ósea se produce. *Tomado de Graves DT., 2011*⁶

La característica primaria de la periodontitis es la destrucción del tejido periodontal, lo cual es ampliamente aceptado como un resultado de la respuesta inflamatoria inmune del huésped causadas por microorganismos periodontales.⁷

Las principales características patológicas de la periodontitis son la acumulación de un infiltrado inflamatorio en los tejidos adyacentes a la bolsa periodontal, la ruptura de las fibras del tejido conectivo que anclan a la raíz en el hueso alveolar, la migración apical de la adherencia epitelial o epitelio de unión, y la resorción de la porción marginal del hueso alveolar, con eventual pérdida del diente.

La lesión inicial aparece dentro de los 4 días de la acumulación de placa. No es clínicamente visible y se caracteriza por una respuesta inflamatoria aguda a la acumulación de placa.⁸

La lesión inicial se localiza en la región del surco gingival, y los tejidos afectados incluyen una porción del epitelio de unión y la parte más coronal del tejido conectivo. La dilatación de las arteriolas, capilares y vénulas del plexo dento - gingival se evidencian histopatológicamente. También se produce un aumento en la permeabilidad del lecho microvascular; además se observan un aumento del fluido crevicular y la migración de neutrófilos desde el plexo vascular por debajo del epitelio de unión y del surco gingival. El infiltrado inflamatorio ocupa 5% a 10% del tejido conjuntivo gingival por debajo del epitelio; la pérdida de colágeno se localiza en la zona de infiltrado inflamatorio. Este espacio se convierte en infiltrado ocupado por las proteínas del suero, fluido y células inflamatorias.⁹

Después de aproximadamente 7 días de la acumulación de placa, un infiltrado inflamatorio de células mononucleares se desarrolla en el sitio de la lesión inicial a medida que avanza ésta.¹⁰ Los vasos por debajo del epitelio de unión permanecen dilatados, pero el número aumenta debido a la apertura de los lechos capilares previamente inactivos. Los linfocitos y macrófagos predominan en la periferia de la lesión con la presencia de sólo un escaso número de células plasmáticas. En esta etapa, el infiltrado ocupa aproximadamente el 15% del tejido conjuntivo gingival, con la destrucción del colágeno en el área infiltrada de 60 a 70%. Las células infiltrantes ocupan el espacio creado por la destrucción del colágeno. Clínicamente los cambios inflamatorios son visibles y presentes como edema y eritema.¹¹

Después de 2 a 3 semanas de la acumulación de placa, la lesión temprana evoluciona a lesión establecida. Ésta se caracteriza por un aumento adicional en el tamaño de la zona afectada y un predominio de células plasmáticas y linfocitos en la periferia de la lesión, los macrófagos y los linfocitos son detectables en la

lámina propia de la bolsa gingival. Adicionalmente, existe un infiltrado prominente de neutrófilos en el surco epitelial.¹²

El epitelio de unión y del surco puede proliferar y migrar más profundamente en el tejido conectivo. La profundización del surco gingival y la porción coronal del epitelio de unión se convierte en epitelio de la bolsa. El epitelio de la bolsa no está unido a la superficie del diente y contiene un infiltrado de leucocitos, predominantemente de neutrófilos que migran finalmente a través del epitelio en el surco gingival o en la bolsa.

Las características de la lesión avanzada incluyen la formación de la bolsa periodontal, ulceración de la superficie y supuración, la destrucción del hueso alveolar y el ligamento periodontal y la migración apical del epitelio de inserción.¹³

La destrucción ósea comienza a lo largo de la cresta del tabique interdental alrededor de los vasos sanguíneos comunicantes. El epitelio prolifera apicalmente a lo largo de las superficies radiculares. Esto lleva a la extensión de las proyecciones digitiformes de epitelio de la bolsa en los tejidos conjuntivos profundos.¹⁴

IV.2 Estrés oxidativo, enfermedad periodontal y envejecimiento

El oxígeno es considerado un nutriente gaseoso que no puede ser remplazado efectivamente por otro elemento, puesto que es requerido para las necesidades energéticas de los mamíferos. La evolución de la respiración aerobia, permitió el desarrollo de complejos organismos multicelulares que usan el oxígeno para oxidar los combustibles ricos en carbono e hidrógeno y producir las diferentes formas de energía necesarias para la vida.

Paradójicamente, la reducción del oxígeno molecular a agua, resulta en la generación de varias especies químicas llamadas especies reactivas de oxígeno (EROs), originando, en primer lugar, al radical superóxido, posteriormente al peróxido de hidrógeno (que no es un radical como tal pero es una especie oxidante) y finalmente al radical hidroxilo que es el más reactivo de todos. (Figura IV.2.1).¹⁵

En la fisiología normal, existe un equilibrio dinámico entre la actividad de EROs y la defensa antioxidante. Sin embargo, cuando este equilibrio se altera a favor de las EROs, se suscita el estrés oxidante (EOx).

El EOx fue definido por Sies como una perturbación en el equilibrio bioquímico entre la producción de RL o especies reactivas con respecto a los antioxidantes a favor de los primeros, con implicaciones en la homeostasis del organismo por daño a nivel celular, tisular y sistémico.¹⁶

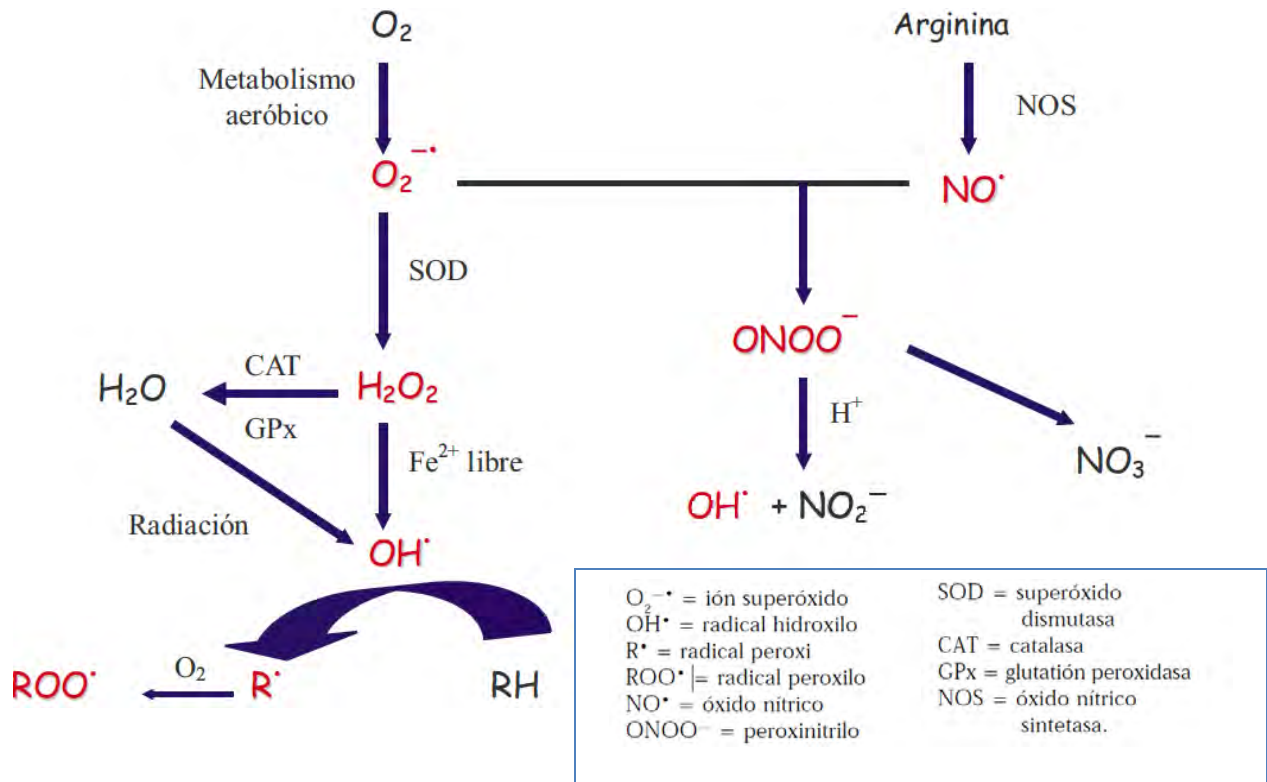


Figura IV.2.1. El esquema muestra la formación intracelular de especies reactivas de oxígeno Tomado de Sánchez-Rodríguez MA, 2004.¹⁷

Se define como radical libre a aquella especie capaz de existir independientemente y que contiene un electrón desapareado en su último orbital,¹⁸ lo cual hace que tengan una configuración espacial inestable y sea altamente reactiva, al ser capaz de extraer electrones y oxidar a una amplia variedad de biomoléculas vitales para las funciones celulares y tisulares.

Pueden tratarse de radicales libres generados a partir del oxígeno, así como especies de nitrógeno o de cloro.¹⁹ (Cuadro IV.2.2.)

No obstante, los RL no son moléculas que deban considerarse estrictamente como dañinas, ya que se generan de manera natural y continua durante el metabolismo, el proceso de respiración, en la fagocitosis, en las reacciones donde intervienen enzimas de la familia de las nicotinamida adenindinucleótido fosfato (NADPH) oxidasas asociadas al metabolismo del ácido araquidónico como la ciclooxigenasa, la lipooxigenasa, el citocromo P450 y como respuesta a la

exposición a agentes exógenos como los rayos UV, radiaciones ionizantes, la contaminación ambiental, el humo de cigarrillo y el ejercicio excesivo, entre otros.¹⁶

La reducción univalente de O_2 produce tres EROs: el anión superóxido ($O_2^{\cdot-}$), el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y el radical hidroxilo ($OH\cdot$).^{20, 21}

Cuadro IV.2.1. Verdaderos radicales y especies reactivas de oxígeno (EROs)

Radical verdadero	Símbolo del radical	EROs	Símbolo de las EROs
Superóxido	$O_2^{\cdot-}$	Peróxido de hidrógeno	H_2O_2
Hidroxilo	$\cdot OH$	Ácido hipocloroso	$HOCl$
Perhidroxilo	$HO_2^{\cdot-}$	Oxígeno singulete	$1O_2$
Hidroperoxilo	$HOO\cdot$		
Alcoxil	$RO\cdot$	Ozono	O_3
Ariloxil	$ArO\cdot$		
Arilperoxilo	$ArOO\cdot$		
Peroxilo	$ROO^{\cdot-}$		
Aciloxilo	$RCOO\cdot$		
Acilperoxilo	$RCOOO\cdot$		

• Electrón desapareado

+ ó - Carga molecular

El H_2O_2 no es un radical libre, pero cae en la categoría de EROs por ser un compuesto intermediario e importante en la bioquímica de los RL, ya que se descompone fácilmente en presencia de metales de transición (principalmente el Fe^{2+}) para producir el $OH\cdot$.¹⁹ Además del O_2 , el nitrógeno también es capaz de formar RL como dos óxidos: óxido nítrico ($NO\cdot$) y dióxido nítrico ($NO_2\cdot$), conformando las llamadas especies reactivas del nitrógeno (ERNs).²²

A su vez, los radicales $OH\cdot$ son capaces de reaccionar con las biomoléculas produciendo RL orgánicos menos reactivos, como los peroxilos ($ROO\cdot$), los

radicales tiol ($RS\bullet$), el $O_2^{\bullet-}$ y $NO\bullet$ reaccionan entre sí para formar el anión peroxinitrito ($ONOO^-$), entre otros.²³

Como ya se mencionó, el producto final de la cadena de reacciones, es una molécula de agua, en cuyo caso hay menores posibilidades de daño al organismo; sin embargo considerando que éste es un sistema dinámico, es probable que se den otras interacciones bioquímicas que conduzcan a la generación y acumulación de RL en lugar de detoxificar a las células.²⁴ Condiciones como la presencia de iones metálicos reductores, compuestos derivados de nitrógeno o deficiencia en los donadores de electrones necesarios para remover o estabilizar a los RL pueden causar un exceso de éstos¹⁶

Para equilibrar la respuesta oxidante, el organismo vivo dispone de una serie de sistemas antioxidantes que contrarrestan la generación de RL. Un antioxidante es una entidad química que a bajas concentraciones, en comparación con el oxidante, retarda o previene la oxidación de un sustrato incluyendo lípidos, proteínas, hidratos de carbono y ADN.³⁵

De éstos podemos destacar a las enzimas antioxidantes intracelulares superóxido dismutasa (SOD), glutatión peroxidasa (GPx) y catalasa; así como diversos componentes plasmáticos como: glutatión oxidado y reducido, bilirrubina, ácido úrico y albúmina, además de las vitaminas antioxidantes A, C y E, los minerales selenio y zinc, y las hormonas, melatonina, dehidroepiandrosterona y estrógenos.^{3, 25}

En condiciones fisiológicas, estos mecanismos de defensa mantienen una baja concentración de EROs en la célula y su actividad es regulada.²⁶ De aquí que el equilibrio entre la producción de RL y las defensas antioxidantes determina el grado de EOx.²⁷

Los antioxidantes utilizan varios mecanismos de acción y con base en ello han clasificado en primarios y secundarios (Cuadro IV.2.2).^{32 33}

Cuadro IV.2.2 Clasificación de los diferentes antioxidantes.

ANTIOXIDANTES		
	PRIMARIOS	SECUNDARIOS
Enzimas	Proteínas	Vitamina C Vitamina E
Superóxido dismutasa (SOD)	Transferrina Ceruloplasmina	Vitamina A y carotenos Ácido úrico Bilirrubinas
Glutación peroxidasa (GPx)	Albúmina	Albúmina Melatonina Estrógenos
Catalasa	Metalotioneínas	

Los antioxidantes primarios actúan en la prevención de la formación de los RL y en la captura de compuestos que propician su transformación en radicales más dañinos. Entre estos encontramos a los endógenos como SOD, catalasa y GPx. La SOD dismuta al radical anión superóxido, en peróxido de hidrógeno (H_2O_2), el cual a su vez es descompuesto por la catalasa o la GPx hasta agua; entre este tipo de antioxidantes también encontramos a las proteínas atrapadoras de metales que evitan la interacción de los radicales ya formados con los cationes metálicos para proteger a las células de generación del radical más dañino que es el hidroxilo.

Los antioxidantes secundarios actúan una vez formado el radical, evitan su propagación al cederle electrones y convertirse a sí mismos en un radical menos reactivo y más fácil de eliminar. Entre estos hay endógenos como los estrógenos, ácido úrico y bilirrubinas o exógenos como las vitaminas.¹⁴

Como consecuencia de esta defensa deficiente ante el daño oxidativo generado por las especies oxidantes producidas en el metabolismo aeróbico, nace una de las corrientes teóricas del envejecimiento de mayor aceptación: la teoría de los radicales libres (RL) y el EOx propuesta por Denham Harman en 1956.^{28, 29}

Durante el envejecimiento hay un incremento en la producción de EROs y una disminución de la actividad de las enzimas antioxidantes mitocondriales lo cual afecta la ultraestructura, por el daño oxidativo sobre los abundantes lípidos poliinsaturados de la membrana y el ADN mitocondrial, especialmente sensible dado que no contiene histonas, y sobre las proteínas acopladoras implicadas en la cadena de transporte de electrones, lo cual propicia una actividad deficiente con mayor producción de RL en proporción a ATP, además estos RL son capaces de difundir hacia el citosol celular y generar daño sobre otras biomoléculas.³⁹⁻⁴¹

Al respecto, la mitocondria juega un papel central ya que debido a su actividad como fuente de energía lleva a cabo reacciones seriales que implican la movilización de electrones, por lo que un descontrol en su funcionamiento la hace una fuente constante de RL. Se ha documentado que la mitocondria usa aproximadamente 90% del oxígeno tisular y de 1 a 5% del mitocondrial en la formación de EROs bajo condiciones fisiológicas normales.³⁰

Por otra parte, se ha señalado al núcleo celular como un elemento clave en el envejecimiento, ya que se ha observado el acortamiento de los telómeros, además de que las especies oxidantes dañan la molécula del ADN provocando mutaciones, apoptosis y el envejecimiento celular el cual además se propicia por la sobreexpresión de oncogenes sensibles a los oxidantes, con lo que el resultado global es una disminución de la renovación celular con un incremento de la producción de citocinas y factores de crecimiento que favorecen la degradación.^{31,}

32

De igual forma se ha propuesto que el envejecimiento se asocia a un desequilibrio en el estado redox celular que a su vez depende de las concentraciones celulares de glutatión reducido y oxidado, elementos del sistema antioxidante de gran importancia ya que la funcionalidad de la célula requiere sistemas de señalización cuya activación es sensible a especies reactivas, por lo que el desequilibrio hacia

las especies reactivas impacta en el estado redox celular y de forma indirecta sobre la señalización que puede incrementar la apoptosis.³³

Estrés oxidativo y enfermedad periodontal.

Como se mencionó anteriormente, la EP es iniciada por la colonización de bacterias gram negativas, que son capaces de activar las defensas del hospedero al romper la continuidad del epitelio y otras estructuras de la encía y mientras que al mismo tiempo inactiva el sistema de reparación.³⁴

El reclutamiento de neutrófilos activados hacia el área de infección, hace que éstos produzcan EROs para destruir a los patógenos mediante el estallido respiratorio como parte de la respuesta del organismo ante la infección. Sin embargo, el exceso en la producción de estas sustancias provoca daño oxidativo a los tejidos gingivales, ligamento periodontal y hueso alveolar.³⁵ En este sentido, las EROs están directamente relacionadas con la patogénesis de la EP, causando daño mediante una variedad de mecanismos como daño al ADN, proteínas, oxidación de enzimas importantes, estimulación de liberación de citocinas proinflamatorias y peroxidación lipídica.³⁶ (Figura IV.2.3)

Las especies reactivas de oxígeno causan daño al tejido periodontal mediante la degradación de la sustancia fundamental, dado que se produce la degradación, ya sea directa o indirectamente, de la colágena, como resultado de la oxidación de las proteasas. Por otra parte, se estimula la liberación de citocinas proinflamatorias excesivas a través de la activación de NF-kB y la producción de PG-E₂ a través de la peroxidación lipídica y la liberación de superóxido, lo cual se relaciona con la resorción ósea.³⁷

Por otra parte, algunos patógenos como *P. gingivalis* poseen sus propias enzimas antioxidantes y pueden resistir la acción destructiva de los radicales provenientes

de los neutrófilos.³⁸ Lo cual conduce al daño tisular y puede contribuir al severo proceso destructivo durante la EP severa.

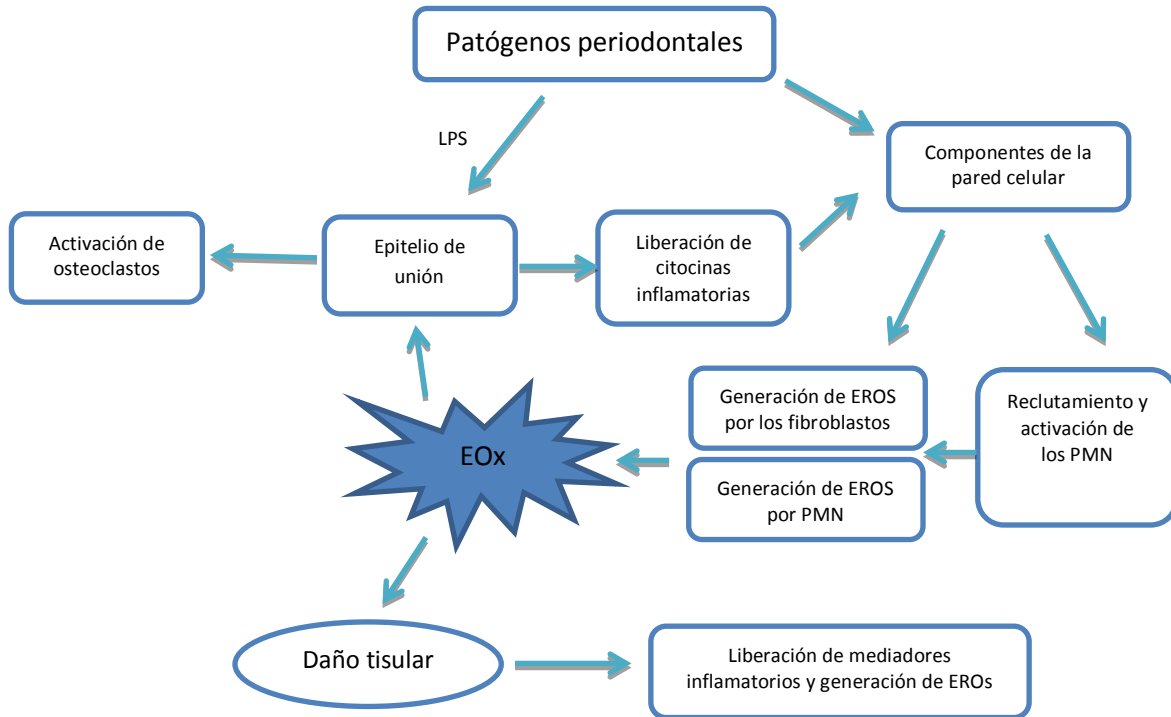


Figura IV.2.3. El esquema muestra el efecto de las EROs en los tejidos periodontales en el proceso fisiopatológico de la Enfermedad Periodontal. Modificado de Alok Sharma, Swati Sharma, 2011.³⁵

Se ha observado que en los individuos con EP tienen daño tisular por la producción de RL y una deficiencia de la defensa antioxidante.^{39, 40} Entre los antioxidantes predominantes en la saliva se encuentran el urato en primer lugar y en menor proporción la albúmina y el ascorbato.⁴¹

El potencial redox es medido por la afinidad de las sustancias a los electrones en comparación al hidrógeno. Las sustancias más electronegativas que el hidrógeno tienen un potencial redox y son oxidantes. Las sustancias menos electronegativas que el hidrógeno tienen un potencial redox negativo y se consideran agentes reductores. Las reacciones de oxidación y reducción siempre van juntas y son

reacciones térmicas. El bajo potencial redox en el surco gingival es esencial para el crecimiento y la sobrevivencia de anaerobios subgingivales, mientras que con un ambiente reducido las células y tejidos se protegen contra el EOx.

IV.3 Inflamación crónica, enfermedad periodontal y envejecimiento

La respuesta inflamatoria es vital para nuestra supervivencia y se produce a través de muchos procesos en el organismo. Entre otras cosas, la inflamación es un componente necesario para nuestra defensa contra patógenos y en la cicatrización de heridas. En respuesta a una lesión o una infección, la inflamación aguda es inmediata y por lo general de corta duración. Sin embargo, cuando la inflamación no se resuelve, se convierte en inflamación crónica ya que las respuestas inflamatorias del hospedero son insuficientes para eliminar la infección inicial, lo cual hace que perpetúe la enfermedad.

En la inflamación crónica, la destrucción de tejidos y la curación por lo general se producen al mismo tiempo, pero el equilibrio es delicado y se puede inclinar hacia la destrucción. En la cavidad oral, las bacterias están constantemente presentes y pueden desencadenar una respuesta inflamatoria e inducir la EP.

El equilibrio entre la microbiota residente y el hospedero podría ser interrumpido por cualquiera de las respuestas del hospedero comprometidas (por ejemplo, diabetes mellitus mal controlada) o un aumento de la exposición microbiana (por ejemplo, el cese de los procedimientos de higiene oral).

La respuesta del huésped se ha considerado tradicionalmente mediada por linfocitos B y T, neutrófilos y monocitos/macrófagos; los cuales se activan para producir mediadores inflamatorios, incluyendo citocinas, quimiocinas, metabolitos del ácido araquidónico y enzimas proteolíticas, que en conjunto contribuyen a la degradación del tejido y la resorción ósea por la activación de varias rutas de degradación.⁴²

En los últimos años, se ha observado que las células residentes en el tejido conjuntivo gingival son importantes para la respuesta inflamatoria y el aumento de los niveles de diversos mediadores de la inflamación.⁴³

El papel de la respuesta del huésped a la enfermedad periodontal es complejo. A través de una cascada de eventos, los mastocitos son estimulados para liberar aminas vasoactivas y el precursor del factor de necrosis tumoral α (TNF- α), que aumenta la permeabilidad vascular y la expresión de moléculas de adhesión en las superficies celulares endoteliales tales como la molécula de adhesión intercelular-1 (ICAM-1) y P-selectina. Este proceso recluta a los PMN en el tejido, donde liberan enzimas lisosomales, que contribuyen a la degradación de tejidos. En respuesta, los linfocitos y los macrófagos invaden aún más el tejido. En este punto, el 60-70% del colágeno en el tejido conjuntivo gingival se degrada en el sitio de la lesión, pero el hueso permanece todavía intacto.⁴⁴

En esta etapa, todavía es posible para los tejidos gingivales la reparación y remodelación sin daño permanente. Sin embargo, en algunos individuos, debido a la susceptibilidad innata o factores ambientales, la inflamación no se puede resolver, con la consiguiente degradación del tejido conectivo y la pérdida ósea irreversible.⁴⁵

Posteriormente, los macrófagos forman pre-osteoclastos, que después de madurar en los osteoclastos, son capaces de degradar el hueso alveolar.⁴⁶ Sin la resolución activa de la inflamación, los antígenos bacterianos finalmente encuentran células presentadoras de antígeno como células dendríticas, macrófagos y las células B. Cuando las células T cooperadoras (Th) CD4 naïve (Th0) interactúan con las células antígeno presentadoras, las células T vírgenes se diferencian en varios subconjuntos de células dependiendo de las citoquinas que se producen, incluyendo células Th1, Th2, Th17 y las células T reguladoras (Treg).

De esta manera, se sabe que en presencia de IL-12, las células Th1 conducen la respuesta inmune mediada por células y producen interferón γ (IFN- γ), factor de crecimiento transformante β (TGF- β), interleucina 2 (IL-2) y TNF- α . Las células Th2 median la respuesta inmune humoral y producen las citocinas IL-4, IL-5, IL-6, L-10, IL-13 y TGF- β en presencia de IL-4. Las dos células T CD4 adicionales, Th17 y células Treg juegan un papel crítico en la autoinmunidad y en el mantenimiento de la homeostasis inmune.

El subconjunto de células Th17 secretan IL-17, IL-23, IL-22, IL-6 y TNF α en presencia de TGF- β , IL-1 β e IL-6, mientras que las células Treg surgen en presencia de TGF- β y secretan las citocinas inmunosupresoras IL-10 y TGF- β . En particular, la IL-17 estimula la producción de diversos mediadores de la inflamación incluyendo TNF- α , prostaglandina E2 (PGE₂), IL-6 e IL-1 β .

Se ha demostrado que las células Treg y Th17 se producen en el tejido periodontal con un aumento de la expresión de Foxp3 y la IL-17, que son marcadores característicos de células Th17 células Treg y que sugieren un papel importante en la inmunorregulación de la periodontitis.⁴⁷

Además de producir los mediadores inflamatorios y conducir el proceso inflamatorio, las células residentes de la encía también pueden afectar a la progresión y la persistencia de la EP. Los vasos sanguíneos, que consisten en células endoteliales y células musculares lisas, son los primeros en entrar en contacto con células inflamatorias invasoras. En el tejido conectivo gingival, las células residentes más ubicuas son fibroblastos gingivales. Mediante la producción de mediadores inflamatorios, tales como citocinas, quimiocinas, enzimas proteolíticas y las prostaglandinas, estas células participan en la respuesta inflamatoria y contribuyen a la persistencia de la enfermedad⁴⁸ Los fibroblastos del ligamento periodontal también están implicados en la reacción inflamatoria y producen mediadores inflamatorios, tales como las prostaglandinas, enzimas proteolíticas y factores que afectan a la resorción ósea.⁴⁹

Mediadores de la inflamación y destrucción de tejidos

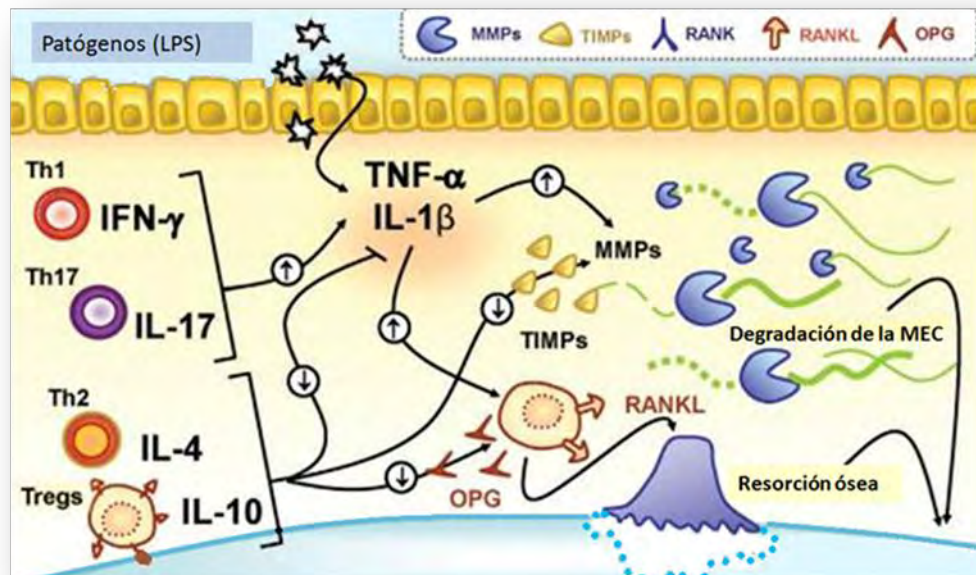
El mantenimiento de la matriz extracelular es importante para el desarrollo y la función normal del tejido gingival. Las enzimas proteolíticas MMP y sus inhibidores endógenos, inhibidores tisulares de las metaloproteinasas (TIMPs), no sólo están involucrados en la homeostasis de la matriz extracelular en el tejido sano, sino que también son actores clave en el proceso de destrucción tisular en enfermedades inflamatorias. Además de la modificación de la matriz extracelular, las MMP también están involucradas en la regulación de las actividades de citocinas y receptores de citocinas.

En la EP, tanto el hospedero como los derivados bacterianos de enzimas proteolíticas contribuyen a la degradación de la matriz extracelular del tejido conectivo. Numerosas enzimas proteolíticas del hospedero se han detectado en el GCF de los pacientes con periodontitis: MMPs, elastasa, triptasa de los mastocitos, dipeptidil-peptidasa, catepsinas, la proteasa 3, activador del plasminógeno y de las proteinasas de cisteína lisosomales. El aumento de expresión de MMPs (gelatinasa y colagenasa) se asocian a patologías como la artritis reumatoide y la EP. La expresión y actividad de MMP son en general bajas en el periodonto no inflamado, pero aumentan a niveles patológicamente elevados en encía inflamada.⁵⁰

Sin embargo, los estudios también sugieren que la MMP-8 y MMP-9 tienen la capacidad de ejercer efectos antiinflamatorios mediante el procesamiento de las citocinas anti-inflamatorias. Entre las MMPs, los niveles de MMP-8 y MMP-13 se han correlacionado con la severidad de la enfermedad periodontal.⁵¹

La presencia de patógenos microbianos desencadenan una producción inicial de citocinas proinflamatorias, tales como TNF- α e IL1 β , que estimulan la expresión y la activación de las metaloproteinasas de la matriz (MMPs) que degradan la MEC del tejido conectivo. TNF- α puede estimular la osteoclastogénesis de forma

independiente, mientras que otras citocinas estimulan la expresión de RANKL que conduce a la formación y activación de los osteoclastos. La respuesta inmune innata y adaptativa combinados tienden a conducir a los altos niveles de inflamación y la resorción ósea. Se cree que estas citocinas proinflamatorias generan un bucle de amplificación que contribuye a la progresión de la lesión periodontal. Por el contrario, las citocinas producidas por las células Th2 y Tregs, tales como IL-4 e IL-10 tienen el efecto contrario, en parte, a través de la estimulación de la producción de inhibidores tisulares de las metaloproteinasas de la matriz (TIMP) y OPG, así como de la restricción de la producción de citocinas inflamatorias. (Figura IV. 3)



[Figura IV.3.1](#) En la figura podemos observar la participación de citocinas en degradación de la matriz extracelular (MEC) y la resorción ósea en entornos periodontales. Tomado de Graves DT., 2011⁶

Por otra parte, la PGE₂ estimula la producción de MMP-1 en fibroblastos gingivales humanos a través de la activación de las proteínas cinasas activadas por mitógenos (MAPKs) activador de la proteína-1 (AP-1) y el factor nuclear-kappa

B (NF- κ B)⁵² y en osteoblastos de ratón, a través de la vía de señalización cAMP-PKA.⁵³

Los TIMPs controlan la actividad de MMP, por lo tanto actúan como reguladores de la degradación de la matriz extracelular y juegan un papel importante en la remodelación tisular y la patología de la destrucción del tejido periodontal. Los niveles de TIMP son generalmente más altos en el tejido periodontal saludable en comparación con el tejido periodontal inflamado.⁵⁴ En las muestras de GCF, los niveles de TIMP-1 y TIMP-2 se reducen mientras que los niveles de MMP-1, MMP-2, MMP-3 y MMP-9 se incrementan en pacientes con EP en comparación con los controles sanos.⁵⁵

Por otra parte, se sabe que la resorción ósea es un proceso regulado que depende de la diferenciación de los monocitos a los osteoclastos que son los responsables de la resorción ósea. Aunque la formación de hueso y la resorción ósea son procesos que se producen continuamente en el hueso alveolar sano, en la EP, existe un desbalance que se inclina hacia la resorción a través de mecanismos incluyendo el aumento de activación de los osteoclastos.

Las citocinas tales como IL-1 β , TNF α , IL-6, factor estimulante de colonias de macrófagos (M-CSF), IL-17 y PGE₂ se encuentran entre los mediadores proinflamatorios más importantes reportados para la activación de los osteoclastos.⁵⁶

La IL-1 y el TNF α estimulan la resorción ósea mediante el aumento de la formación de osteoclastos⁵⁷ y además, la IL-1 también regula el efecto osteoclastogénicos de TNF α por potenciación de la expresión de RANKL y la diferenciación de precursores de osteoclastos.⁵⁸ La IL-1 β es capaz de inducir la expresión de RANKL o de OPG en varios tipos de células, incluyendo los osteoblastos, fibroblastos gingivales y los fibroblastos del ligamento periodontal.⁵⁹

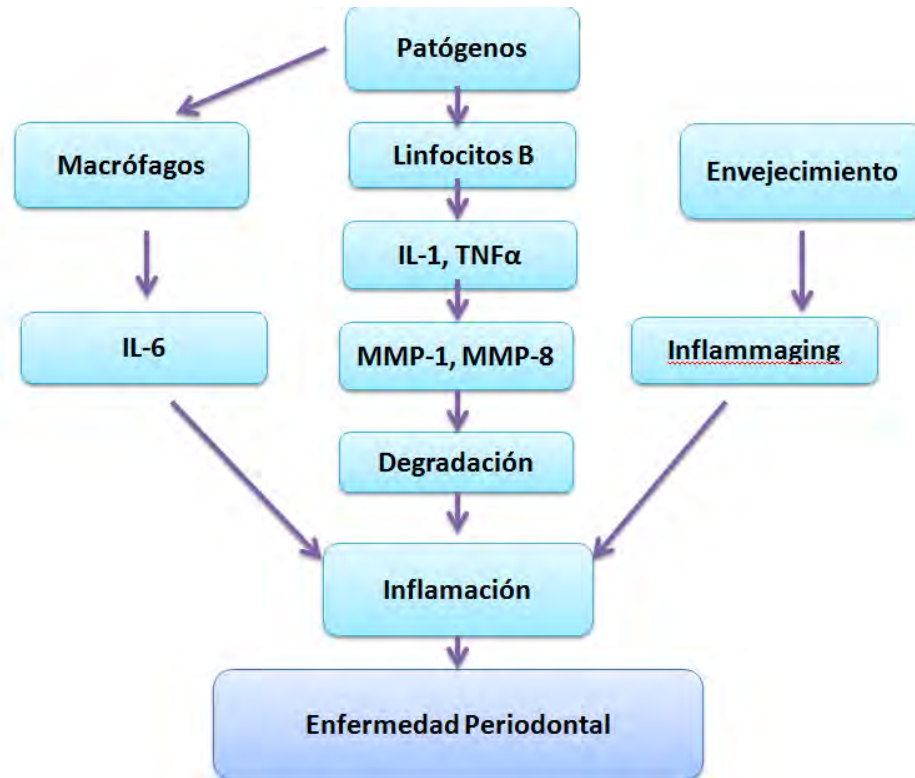


Figura IV.3.2 El esquema muestra la participación secuencial de las citocinas vinculadas con el proceso inflamatorio crónico inherente al envejecimiento en la fisiopatología de la enfermedad periodontal

Del mismo modo, la IL-6 es producida y secretada por diversas células, incluidos los fibroblastos y osteoblastos; además induce la formación de osteoclastos y estimula la resorción ósea.⁶⁰ La principal vía por la cual el mediador inflamatorio PGE₂ estimula la resorción ósea se considera generalmente que es a través de la sobre regulación de la expresión de RANKL y la inhibición de la expresión de OPG en células osteoblásticas⁶¹

Por otra parte, dado que IL-1 y TNF- α regulan positivamente su propia producción, los efectos aditivos de la producción de citocinas mediada por endotoxinas y que los derivados de estallido respiratorio de leucocitos PMN en respuesta a los mismos organismos, conducen a la inflamación periodontal y la pérdida posterior de inserción.⁴⁰

En el cuadro IV.3.1., se presenta la revisión de algunos estudios relativos a la etiopatogenia de la enfermedad periodontal vinculada con el estrés oxidante, de lo cual podemos observar que son consistentes los hallazgos respecto a la influencia de los radicales libres en la etiología y fisiopatología de la EP, y el consecuente efecto benéfico de los antioxidantes.⁵³⁻⁷⁰ Asimismo, algunos estudios han demostrado que la saliva es un buen medio para medir los marcadores biológicos del EOx.⁵⁶

Por otro lado, en el cuadro IV.3.2. se presenta el análisis de algunas investigaciones sobre la relación de los marcadores de inflamación crónica y la enfermedad periodontal, de lo cual se puede observar consistentemente un incremento significativo de los marcadores proinflamatorios vinculado en algunos casos con incremento en los marcadores de EOx en los sujetos que presentan EP.⁷¹⁻⁸¹

Cuadro IV.3.1. Marcadores de EOx y EP.

Autor	Tipo de estudio	Muestra	Variables	Tratamiento	Técnica	Hallazgos
Akalin Alev F, <i>et al.</i> 2005 ⁶²	Transversal	Humanos	Actividad de SOD	Estudio transversal	Ensayo espectrofotométrico	En la EP, la actividad de SOD se ve incrementada como probable resultado de una alta necesidad de su actividad y protección en el tejido gingival durante la periodontitis a diferencia del tejido sano. Sin embargo, no se observaron cambios significativos en el GCF, lo cual sugiere una débil actividad de SOD en el FGC durante la enfermedad. La débil relación entre la gingiva y la actividad de SOD sugiere una acción distinta de la SOD.
Gülay, <i>et al.</i> , 2001 ⁶³	Transversal	Humanos	Lipoperóxidos IL-1 β	Ninguno	TBARS	Existe una correlación entre los niveles lipoperóxidos y e IL-1 β con la EP.
Ivan Borges Jr., <i>et al.</i> 2007. ⁶⁴	Transversal	Humanos	Catalasa Glutacion peroxidasa (GPx) Glutacion S-transferasa (GST) Glutacion reductasa	Ninguno	Espectrofotometría	Individuos con enfermedad periodontal presentan un incremento significativo en la actividad de MPO, GPx, GST, TBARS y GSSG en tejido gingival comparado con el grupo control. Correlación importante entre los marcadores del estrés oxidativo y la enfermedad periodontal.

			TBARS Mieloperoxidasa (MPO)			
Sang-Chul Kim <i>et al.</i> 2010 ⁶⁵	Longitudinal	Humanos	TAS SOD	Terapia periodontal	TAS: Kit (Immundiagnostik AG, Bensheim, Germany) SOD: Kit - WST (Dojindo Laboratories, Kumamoto, Japan)	La saliva puede ser usada como medio para diagnosticar la salud periodontal
Canakci CF, <i>et al.</i> 2009 ⁶⁶	Transversal	Humanos	8-OHdG MDA SOD GPx	Ninguno	Espectrofotométrico	Niveles elevados de 8-OHdG y MDA aunado a bajos niveles antioxidantes, parecen ser reflejo del incremento en la actividad de radicales de oxígeno durante la inflamación periodontal.
Arndt Guentsch	Longitudinal	Humano Saliva	MDA GSHPx TAS	Terapia periodontal	Fluorescencia Espectrofotométrico	Pacientes con EP demostraron mayor peroxidación lipídica que los sujetos sanos, este efecto es aumentado en el caso de los fumadores. El desequilibrio entre el EOX y la capacidad antioxidante juegan un papel importante en la patogénesis de la EP. El

					Técnica luminiscente fotoquímica	tratamiento no quirúrgico promueve una reducción de MDA y GSHPx en comparación con el grupo control.
G. R. Brock ⁶⁸	Transversal	Humanos Saliva	TAS	Ninguno	Quimioluminiscencia	Una reducción en la defensa por parte de TAS, puede resultar en inflamación sistémica de bajo grado inducida por la respuesta del organismo ante las bacterias periodontales.
D Wei, 2010 ⁶⁹	Longitudinal	Humanos Suero, saliva, GCF	LPO SOD TAS	Terapia periodontal	HPLC (LPO) Espectrofotométrico Erel (TAS) Espectrofotométrico (SOD)	Los niveles de LPO aumentaron en la región periodontal. TAS y SOD presentaron un incremento periférico y local. La terapia periodontal puede restaurar y controlar la capacidad antioxidante mediante la codificación de los niveles de MDA, TAS y SOD.
Ferda Alev Akalin ⁷⁰	Transversal	Humanos Saliva, GCF	LPO TAS	Ninguno	HPLC (LPO) Espectrofotométrico Erel (TAS)	Los niveles de LPO se incrementan localmente en las bolsas periodontales y en el ambiente oral, mientras que TAS se incrementa tanto sistémica como localmente durante la EP. Lo cual sugiere que un incremento en LPO y TAS puede jugar un importante papel en la patología de la EP y estar estrechamente relacionados con el estado periodontal.
Sertan Ergun ⁷¹	Transversal	Humanos Suero, saliva	LPO TAS	Ninguno	Espectrofotométrico (LPO) FRAP Test (TAS)	En pacientes enfermos se observa un incremento en el EOX y el desequilibrio antioxidante en los fluidos biológicos.

Melissa M. Grant ⁷²	Longitudinal	Humanos GCF	GSH GSSG	Terapia periodontal	HPLC	Los datos sugieren que las altas concentraciones de GSH en GCF, están comprometidas en la EP. Aunque la terapia no restablece por completo las concentraciones de GSH, sí restablece el balance GSH:GSSG, sugiriendo que el balance anormal se suscita secundario al incremento en EOX resultado de la inflamación periodontal.
Chapple ³⁹	Transversal	Humanos GSH	CGSH	Ninguno	Quimioluminiscencia	Los valores de GSH y TAS se encuentran reducidos en los pacientes con EP crónica. La alta concentración de GSH presente en el LGC en pacientes sanos son similares a aquellos encontrados extracelularmente en el pulmón y pueden representar un importante estrategia de defensa antioxidante y antiinflamatoria utilizada comúnmente en los tejidos epiteliales expuestos a la superficie.
Masatoshi Takane ⁷³	Longitudinal	Humanos Saliva LGC	8-OHdG	Terapia periodontal	ELISA	La medición de los niveles de 8-OHdG puede ser una herramienta útil en la identificación de pacientes en riesgo de pérdida dental.
Y. Sawamoto ⁷⁴	Transversal	Humanos Saliva	8-OHdG formerly Bacteroides forsythus por PCR	Ninguna	ELISA	Los niveles de 8-OHdG en saliva son reflejo de la carga de patógenos periodontales. 8-OHdG puede ser un biomarcador útil en la determinación del estado periodontal y la eficacia del tratamiento periodontal.

Ivan Borges Jr., ⁶⁴	Transversal	Humanos Tejido gingival interproximal	GPx, GST, GSSG, TBARS, MPO	Ninguno	Espectrofotométrico	Individuos con EP presentaron un incremento en las actividades de MPO, GPx, GST, GSSG y TBARS en encía comparado con el grupo control.
Chapple ⁷⁵	Longitudinal	Humanos CGF Plasma	TAS	Terapia periodontal	Quimioluminiscencia	TAS en EP parece un reflejo del incremento en la actividad de radicales de oxígeno durante la inflamación periodontal. Sin embargo, el nivel puede ser restablecido mediante una terapia periodontal no quirúrgica.
Dean V. SCULLEY and Simon C. LANGLEY-EVANS ⁷⁶	Transversal	Humanos Saliva	TAS Ascorbato Urato Albúmina	Ninguno	FRAP	Sujetos con un mal estado de salud periodontal tienden a tener un gran daño oxidativo como la presencia de proteínas carboniladas en la saliva total.
Haixiang Su ⁷⁷	Transversal	Humanos Saliva	8-OHdG 8-epi-PGF2 α Total de proteínas carboniladas oxy-blotting	Ninguno	ELISA ELISA ELISA Espectrofotometría de masas	El aumento en la capacidad antioxidante de la saliva puede representar una respuesta adaptativa al EOX. Amilasa salival, transferrina e IgG1 humana fragmentos de cadena pesada fueron particularmente RONE oxidación en EP.
Masatoshi Takane ⁷⁸	Longitudinal	Humanos	8-OHdG	Terapia periodontal	ELISA	Los niveles de 8-OHdG en saliva parecen ser reflejo del estado de

		Saliva				salud periodontal. Los niveles de 8-OHdG decrecen en respuesta al inicio del tratamiento periodontal acercándose a los valores promedio de los controles.
Cenk Fatih Cxanakcxi ⁷⁹	Transversal	Humanos Tejido gingival	ADN	Ninguno	PCR	La sobreproducción de ROS por leucocitos polimorfonucleares activados en la inflamación crónica puede conducir al daño oxidativo del ADN mitocondrial.

Cuadro IV.3.2. Marcadores de IC y EP

Autor	Tipo de estudio	Muestra	Variables	Tx	Técnica	Hallazgos
Holmlund A, <i>et al.</i> 2004 ⁸⁰	Longitudinal	Humanos Ratones	Resorción ósea IL-1 α IL-1- β IL-1ra	Terapia periodontal no quirúrgica	ELISA en FGC	La reabsorción ósea y los niveles de citocinas están incrementados en el FGC de personas con EP. El tratamiento periodontal, resulta en una reducción de las citocinas. IL-1 α e IL-1- β juegan un papel importante en la reabsorción ósea.
Skaleric, <i>et al.</i> 2000 ⁸¹	Longitudinal	Humanos	O ₂ ⁻ Citocinas SOD	Ninguno	Técnicas bioquímicas	Los componentes de las células bacteriana y las citocinas modulan la liberación de O ₂ ⁻ y SOD por los fibroblastos gingivales; sin embargo, si SOD no tiene la suficiente concentración para contrarrestar el efecto nocivo del radical O ₂ ⁻ contribuirá a la EP.

Sánchez-Hernández PE, <i>et al.</i> 2011 ⁸²	Transversal	Humanos	IL-12 IL-18	Estudio transversal	Biopsia de tejido gingival. Suero. ELISA	Existen niveles altos de IL-12 en tejidos gingivales y suero de pacientes con EP. IL-18 tuvo valores elevados en suero de pacientes con EP.
D' Aiuto FD, <i>et al.</i> 2010 ⁸³	Longitudinal	Humanos	Metabolitos Diacron-oxígeno reactivos Proteína C reactiva IL-6	Terapia periodontal	Ensayo inmunturbidimétrico ELISA	Pacientes con periodontitis severa muestran altos niveles de Metabolitos Diacron-oxígeno y una baja capacidad antioxidante comparado con los individuos control sanos. Se sugiere una asociación positiva entre la enfermedad periodontal severa y el estrés oxidativo
Tamaki N, <i>et al.</i> 2011 ⁸⁴	Longitudinal	Humanos	oxLDL	Tratamiento no quirúrgico	ELISA (plasma)	Los pacientes con periodontitis mostraron niveles altos de oxLDL circulante y estrés oxidativo que los sujetos sanos. Adicionalmente, una mejor higiene oral y el tratamiento no quirúrgico fueron efectivos al disminuir los niveles de oxLDL, los cuales son positivamente asociados a una readucción del estrés oxidativo circulante.
Gülay Tüter <i>et al.</i> ⁶³	Longitudinal	Humanos	IL-1 β	Terapia periodontal	ELISA Tejido gingival	Los niveles de IL-1 β crevicular y TBARS en tejido gingival están estrechamente relacionadas con el estado periodontal. Esta relación puede ser valioso en el tratamiento y monitoreo de la progresión de la enfermedad periodontal.

Trindade S. C., <i>et al.</i> 2010 ⁸⁵	Transversal	Humanos	Citocinas	Ninguno	ELISA	Los niveles de IL-1 β se elevan al colocar un antígeno derivado de <i>P. gingivalis</i> , mientras que la IL-10 anti-inflamatoria se observo con niveles más bajos en comparación de la IL-1 β
Sanchez-Hernández1 PE, <i>et al.</i> 2011	Transversal	Humanos	IL-12 IL-18	Ninguno	ELISA	Se encontraron valores elevados de IL-12 e IL-18 en suero de pacientes con periodontitis crónica
Octavia Winkler, <i>et al.</i> 2001 ⁸⁶	Transversal	Humanos (niños)	IL-8 TNF α	Ninguno	ELISA	IL8 es una citocina sensible e importante para la respuesta immune local en la cavidad oral
Rosalem W, <i>et al.</i> 2011 ⁸⁷	Longitudinal	Humanos	IL-1b IL-4 IL-8 INF-g	Tratamiento no quirúrgico	Multiplexed bead immunoassay	Este estudio fracasa al presentar alguna significancia entre las formas severas de periodontitis crónica y periodontitis agresiva en respuesta a un tratamiento periodontal no quirúrgico.
Mendes Duarte, <i>et al.</i> 2010 ⁸⁸	Longitudinal	Humanos	TNF- α INF- γ IL-4 IL-17 IL-23 EP	Terapia periodontal no quirúrgica	ELISA en suero	Sujetos con periodontitis agresiva presentan niveles de TNF- α e IL-17 más elevados que los pacientes con periodontitis crónica y sanos. Después del tratamiento, hubo una disminución significativa en las

						concentraciones de TNF- α en suero
Goutoudi P, <i>et al.</i> 2011. ⁸⁹	Longitudinal	Humanos	IL-1b IL-10	Terapia periodontal	ELISA	La concentración de IL-1b en el LGC está relacionado a la severidad de la enfermedad periodontal. Existe una relación inversa entre la IL-1b y la IL-10
Yoon, AJ, <i>et al.</i> 2012 ⁹⁰	Transversal	Humanos	β -glucuronidasa (β G)	Ninguna	ELISA. Fluorimetría (fluorometric array)	La EP y la diabetes fueron asociadas independientemente con la inflamación de la cavidad oral, en cual los efectos de la EP fueron más pronunciados. La diabetes y la EP fueron asociadas independiente y positivamente con el incremento en la concentración de β G en saliva

IV.4 Ejercicio físico moderado y salud

El ejercicio físico es una categoría de actividad física (movimiento corporal producido por los músculos esqueléticos que da como resultado el gasto de energía) que se realiza de manera específica, libre y voluntaria con movimientos corporales planeados, estructurados y repetitivos, realizados para mantener una o más de las cualidades biomotoras, con el objeto de producir un mejor funcionamiento del organismo.⁹¹

Durante mucho tiempo, se han conocido los efectos benéficos del ejercicio físico regular. El ejercicio físico resulta en una variedad de respuestas fisiológicas, metabólicas y hormonales que dependen del tipo, la intensidad y la duración del esfuerzo realizado así como del nivel de acondicionamiento físico individual, edad, género y estado nutricional del individuo. La respuesta fisiológica y metabólica aguda a una sesión de ejercicio es inmediata y temporal y se presenta prácticamente en todos los aparatos y sistemas del organismo. Las adaptaciones a largo plazo al ejercicio crónico son más permanentes y tienen como consecuencia un incremento en la capacidad funcional y el nivel de acondicionamiento.⁹²

Hay evidencia irrefutable de la eficacia de la actividad física regular en la prevención primaria y secundaria de varias enfermedades crónicas (enfermedad cardiovascular, diabetes, cáncer, hipertensión, obesidad, depresión, y osteoporosis) así como de la muerte prematura.⁹³

Sin embargo, los efectos benéficos del ejercicio pueden ser contraproducentes si éste es exhaustivo. El ejercicio exhaustivo (especialmente cuando esporádico) causa daños estructurales a las células musculares o reacciones inflamatorias dentro de los músculos; por ejemplo un aumento de la actividad plasmática de enzimas citosólicas y la interrupción de la línea Z del sarcolema.⁹⁴ Algunos daños son debidos a la producción de radicales libres y que se puede prevenir mediante la optimización de la nutrición, en particular mediante el aumento del contenido nutricional de la dieta antioxidantes.⁹⁵

Fuentes de los radicales libres en el ejercicio

Al tratar de determinar el mecanismo por el cual el ejercicio produce un aumento de la producción de EROs, nos encontramos con la idea generalmente aceptada de que el ejercicio causa un aumento en el consumo de oxígeno por las mitocondrias y provoca un aumento de la formación de radicales libres por estos orgánulos. Sin embargo, Britton Chance *et al.*, reveló que aproximadamente el 2 % de oxígeno usado por las mitocondrias se convierte en radicales libres sólo cuando estas mitocondrias se encuentran en el estado de reposo. Sin embargo, cuando las mitocondrias se encuentran en el estado activo de producción de ATP a partir de ADP, con un alto flujo de electrones en el oxígeno; la proporción de oxígeno convertida a la RL cae a un décimo de lo encontrado en el estado de reposo.⁹⁶

Con estos cálculos en mente, el papel de la mitocondria en la formación de RL en el ejercicio debe ser reconsiderado y se debe identificar quizás fuentes alternativas de especies reactivas del oxígeno.

En este sentido, estudios con ciclistas durante el Tour de Francia, sugirieron que la xantina oxidasa (XO) está implicada en el daño tisular asociado con el ejercicio físico exhaustivo in vivo.⁹⁷ Se confirmó estos datos en un estudio diferente, con corredores de maratón reclutados de los participantes en la 23^o Maratón de Valencia. Las carreras de maratón indujeron un aumento significativo en los niveles de malondialdehído en plasma, el cual fue impedido por el tratamiento con alopurinol, un inhibidor de la XO. Por lo cual se infiere que la XO es una fuente relevante de RL durante el ejercicio aeróbico.⁹⁸

Papel de los radicales libres en la adaptación muscular al ejercicio

La idea de los efectos nocivos de los radicales libres ha sido firmemente arraigada en los últimos 30 años. Sin embargo, ahora se reconoce que las EROs que son generadas durante la contracción muscular tienen un papel fisiológico en la adaptación al ejercicio. En respuesta al aumento de radicales libres, la célula ha desarrollado sistemas de defensa antioxidante como la superóxido dismutasa, las

peroxidasas, el ciclo redox del glutatión con sus enzimas constitutivos asociados, así como el propio glutatión.⁹⁹ De esta manera, la célula está equipada con mecanismos para hacer frente a la producción normal de EROs.

Sin embargo, la presencia continua de un pequeño estímulo, tal como bajas concentraciones de EROs es capaz de inducir la expresión de enzimas antioxidantes y otros mecanismos de defensa. La base de este fenómeno está sustentado en el concepto de hormesis,¹⁰⁰ que puede definirse como una relación dosis-respuesta, en el que una dosis baja de una sustancia es un estimulante y una dosis alta es inhibitoria. En este contexto, los RL pueden ser vistos como beneficiosos, ya que actúan como señales para mejorar las defensas, en lugar de como perjudicial como lo son cuando las células se exponen a altos niveles de estos radicales. Recientemente, la teoría de la hormesis se ha extendido a los efectos de generación de ROS durante el ejercicio.^{101, 102}

En el músculo esquelético, el peróxido de hidrógeno en bajas concentraciones aumenta la liberación de Ca^{2+} desde el retículo sarcoplásmico y con la consiguiente producción de fuerza; sin embargo, un aumento masivo en la concentración de peróxido de hidrógeno resulta en una fuerte disminución en la producción de fuerza.¹⁰³

Asimismo, estudios con animales frecuentemente expuestos al ejercicio (entrenamiento crónico) han demostrado un menor daño oxidativo después de ejercicio exhaustivo que los animales no entrenados. Esto se debe, en gran parte, a la regulación por incremento de las enzimas antioxidantes endógenas tales como la superóxido dismutasa mitocondrial (MnSOD), glutatión peroxidasa, y -glutamylcisteína sintetasa (GCS).¹⁰⁴ Debido a los resultados de la respuesta adaptativa ante los efectos acumulativos de los ejercicios repetidos, la señal inicial de estimulación conduce a una modulación de larga duración lo cual ocurre posterior a cada ejercicio individual.¹⁰⁵

Como se ha mencionado anteriormente, varias vías de señalización sensibles al estrés oxidativo son puestas en marcha en sistemas de mamíferos, lo cual

desempeña un papel importante en el mantenimiento celular del balance oxidante-antioxidante. Uno de los implicados más importantes es el factor de transcripción nuclear kappa B (NF-κB).¹⁰⁶ Varias enzimas antioxidantes contienen sitios de unión de NF-κB en su región promotora del gen, tales como MnSOD, óxido nítrico sintasa inducible (iNOS) y GCS.¹⁰⁷ Por lo tanto, pueden ser objetivos potenciales para la regulación al alza por el ejercicio activado a través de la vía de señalización de NF-κB.

De este modo, las EROs son capaces de iniciar una cascada de eventos intracelulares que pueden ser la obertura de la expresión elevada del gen de la superóxido dismutasa de manganeso.¹⁰⁴ También se sabe que las EROs generadas durante el ejercicio activan las MAPKs (p38 y ERK1/ERK2), que a su vez activan NF-κB, lo cual resulta en un aumento de la expresión de enzimas asociadas con la defensa celular (MnSOD y GPx) y adaptación al ejercicio (eNOS e iNOS). La prevención de formación de EROs mediante la inhibición de xantina oxidasa (XO) suprime los efectos.

Un proceso inflamatorio puede darse de forma concomitante tanto por reacción directa del tejido ejercitado como por extensión de la reacción dependiente del estímulo de las EROs sobre las células del sistema inmunológico, propiciándose la liberación de citocinas y marcadores pro-inflamatorios. Sin embargo, aunque las vías mencionadas representan fuentes potenciales de EROs y marcadores de inflamación durante el ejercicio, el tipo de EROs depende del modo, intensidad y duración del ejercicio, ya que los tipos de ejercicio difieren en los requerimientos energéticos, niveles de consumo de oxígeno y estrés mecánico impuesto a los tejidos.¹⁰⁸⁻¹¹⁰

En este sentido, en algunos estudios se ha demostrado que las personas físicamente activas tienen menores concentraciones de citocinas inflamatorias, lo que sugiere que el ejercicio regular puede reducir la actividad inflamatoria crónica asociada con el envejecimiento.¹¹¹⁻¹¹² Se ha demostrado de manera consistente que la actividad física induce una elevación de los niveles sistémicos de citocinas

antiinflamatorias, ¹¹³ de tal forma que el tejido del músculo esquelético actúa como un órgano endócrino que produce y libera citocinas llamados miocinas. ¹¹⁴

La producción y liberación de IL-6 durante la actividad física parecen depender de factores tales como el tipo, intensidad y duración del ejercicio. ¹¹⁵ Aunque se han reportado efectos beneficios del ejercicio físico sobre el proceso inflamatorio crónico, dicho conocimiento aún es controversial, y por lo tanto no es del todo concluyente. ¹⁰⁰⁻¹⁰²

IV.5 Tai Chi, estrés oxidativo y salud

De acuerdo a la intensidad, el ejercicio físico se clasifica como muy ligero, ligero, moderado, intenso, muy intenso y máximo, lo cual está determinado por el consumo de oxígeno que implica la realización de la actividad, la cual se correlaciona con el porcentaje de la frecuencia cardiaca máxima alcanzada.

En los ancianos la actividad más recomendada es la de intensidad moderada y de entre las modalidades de ejercicio físico moderado, el Tai Chi (TC) ha sido ampliamente utilizado en el ámbito gerontológico.

El TC es una actividad altamente recomendada y practicada entre los ancianos. Es una forma de ejercicio tradicional chino basado en modificaciones de artes marciales, cuyos orígenes se reportan a finales de la dinastía Ming (1368-1644) e inicios de la dinastía Qing (1645-1911). Es clasificado como una actividad física moderada ya que su intensidad no excede el 55% del gasto de oxígeno máximo ni el 60% del ritmo cardiaco máximo individual.¹¹⁶

Recientemente su popularidad se ha incrementado por los efectos benéficos de esta disciplina en variados aspectos de la salud, sobre todo en los adultos mayores en quienes la práctica no supone riesgos al tratarse de una serie de movimientos suaves y continuos, cuya ejecución precisa del control de la posición, la respiración profunda, y la coordinación de los movimientos en piernas, brazos, torso y cabeza para pasar de una posición a otra desplazando el punto de equilibrio sin detenerse y, bajo un estado de relajación y concentración indispensables para lograr el equilibrio en movimiento y el movimiento en equilibrio que caracteriza este ejercicio.

Cada estilo de Tai Chi tiene una técnica característica respecto a las posiciones o formas incluidas, en el orden en el cual las formas aparecen, la velocidad a la cual los movimientos son ejecutados y la escala de dificultad de la técnica. Aunque difieren en el enfoque de la postura y en la posición del centro de gravedad, todos los estilos enfatizan la relajación, concentración mental y la coordinación de los

movimientos. La práctica del Tai Chi requiere memorizar los nombres asociados a cada postura y su secuencia.¹¹⁷

Los efectos beneficiosos del TC en la salud son numerosos, puesto que la practica de este ejercicio exige movimiento preciso articular, estabilidad y equilibrio. En la realización de TC se requieren más del giro de todo el cuerpo que de la torsión del tronco; en su realización, las funciones de los músculos cambian continuamente entre los de los estabilizadores y los motores, y entre la contracción y la relajación.¹¹⁹

La práctica del Tai Chi implica ejercicios que promueven la postura, flexibilidad, la relajación, el bienestar y la concentración mental. Se caracteriza por extrema lentitud del movimiento, la continuidad absoluta sin interrupción o pausa, y un total enfoque de la conciencia sobre la ejecución. A diferencia de la mayoría de los ejercicios que se caracterizan por la fuerza muscular y el esfuerzo, los movimientos del Tai Chi son lentos, suaves y ligeros. La concentración activa de la mente es un instrumento para orientar el flujo del movimiento del cuerpo. Así, el Tai Chi no es sólo un ejercicio físico, ya que también implica la formación de la mente, lo que ha llevado a algunos a considerarlo la práctica de "meditación en movimiento".

Aunque el Tai Chi sigue los principios de otros tipos de artes marciales que se centran en la auto-defensa, su principal objetivo es promover la salud y la paz de la mente. A diferencia de otras artes marciales, el TC se lleva a cabo lentamente, con respiración profunda y consistente. Los movimientos deben ser realizados en un lugar tranquilo que favorece lograr un estado relajado. Los músculos y las articulaciones deben relajarse de modo que el cuerpo sea capaz de pasar fácilmente de una posición a otra, la columna vertebral debe mantenerse en una posición natural erguida, mientras la cabeza, el torso, los brazos y las piernas deben ser capaces de moverse libre y suavemente. La parte superior del cuerpo se mantiene recta, no debe inclinarse hacia delante o hacia atrás, ni hacia la izquierda o derecha.¹¹⁸ (Figura IV.5.1)



[Figura IV.5.1.](#) Práctica de la forma ocho del TC. Acariciando la cola del gorrion. La cabeza permanece erguida, los hombros abajo y se realizan movimientos suaves con las manos

Así mismo, a lo largo de la práctica, la mente se mantiene alerta pero tranquila, la dirección de la serie de movimientos suaves se centra en la propia energía interna. Esta concentración activa es parte integral de la práctica. Se ha sugerido que si los movimientos de Tai Chi se llevan a cabo sin la concentración, el Tai Chi no difiere de otras formas de ejercicio. La variedad y el carácter distintivo de los movimientos garantizan que se logre la concentración en la ejecución de los movimientos.

En cuanto a la espiritualidad y las creencias, el Tai Chi deriva su orientación filosófica de la oposición de los elementos del yang (actividad) y el yin (inactividad) y del qi (la energía de la respiración). De conformidad con los símbolos del yin y el yang, en el Tai Chi los movimientos son circulares, están diseñados para equilibrar el qi o energía vital, en los meridianos del cuerpo y fortalecer el qi, evitando así las enfermedades.

La práctica del Tai Chi no requiere la adopción de una creencia espiritual específica o sistema de creencias y se ha utilizado clínicamente como una intervención terapéutica. Las rutinas de ejercicio de las diferentes formas de Tai Chi varían en el número de posturas y en el tiempo requerido para completar la rutina, algunos programas de TCC pueden ser modificados para adaptarse a las capacidades de practicantes con función física y mental disminuida. El estilo clásico Yang incluye 108 posturas con algunas secuencias repetidas. Cada sesión de entrenamiento incluye unos 20 minutos de calentamiento, 25 minutos de la práctica del Tai Chi, y 10 minutos de enfriamiento. Sin embargo, la intensidad del ejercicio depende del estilo de la forma, la postura y la duración.¹¹⁹

En el ámbito gerontológico, son numerosos los estudios que señalan los beneficios del TCC en aspectos como balance, estabilidad, elasticidad y equilibrio indispensables en el mantenimiento de la marcha y la disminución de las caídas, así como mejoras en los sistemas cardiovascular, respiratorio, inmunológico y endócrino y en la respuestas psicológicas, donde se ha señalado su beneficio como ayudante en el tratamiento de la depresión y el deterioro cognitivo dado que, la práctica exige profunda concentración además de memorización de los movimientos, sus nombres y su secuencia.¹²⁰

Sin embargo, a pesar de la creciente investigación sobre los efectos del Tai Chi, no se tienen resultados concluyentes respecto a los beneficios sistémicos globales de la realización de dicha actividad física en la vejez, sobre todo el efecto sobre el estrés oxidante y el proceso inflamatorio crónico vinculados con la salud bucodental, de ahí la relevancia de la presente investigación.

V. Planteamiento del problema

La salud oral que comprende la salud de la boca, dientes y estructuras asociadas, aunado a su actividad funcional, es un componente integral de la salud general. De hecho, las enfermedades orales pueden tener un profundo impacto en la salud sistémica, tal como lo documenta la Organización Mundial de la Salud, puesto que problemas a nivel sistémico, tienen manifestaciones por sí mismas en la cavidad oral.

En este sentido, la estimulación por inflamación crónica sostenida por bacterias anaerobias Gram-negativas de la placa dental tiene correlación con varias enfermedades sistémicas, como nacimientos prematuros y productos de bajo peso al nacer, aterosclerosis y enfermedades cardiovasculares, dificultades para el control de diabetes, enlentecimiento de la reparación de heridas, neumonía y osteoporosis. Investigaciones recientes encuentran relación entre la enfermedad periodontal y enfermedades renales, obesidad, síndrome metabólico, cáncer de páncreas y Alzheimer.¹²¹

Actualmente existe una prevalencia alta de enfermedad periodontal en la vejez, cuya relevancia radica en el riesgo potencial de enfermedades sistémicas como las señaladas previamente.

Muchos factores ambientales y sistémicos como el tabaquismo, la diabetes y el estrés incrementan el riesgo de periodontitis. Sin embargo, la práctica de ejercicio regular tiene un gran impacto en el control de la mayoría de las enfermedades crónicas.¹²²

La actividad física tiene un efecto benéfico en la salud general y bienestar de la persona. Las investigaciones demuestran que la práctica regular de ejercicio tiene efectos protectores en diferentes órganos y sistemas incluyendo los tejidos de soporte de la cavidad oral.¹²³

El ejercicio físico regular representa un método para limitar la inflamación. Existe evidencia creciente de que el ejercicio físico tiene, entre otros beneficios, un efecto antiinflamatorio y bajas probabilidades de tener un conteo elevado de PCR y leucocitos.

Del mismo modo, existe una asociación inversa entre la actividad física y muchos marcadores inflamatorios, los cuales son encontrados incluso con ejercicio de baja intensidad. De hecho, caminar 30 minutos, 5 días a la semana, tiene una asociación con niveles bajos de IL-6, TNF- α y PCR.

Consecuentemente, es de suponerse que la actividad física tiene un efecto protector hacia el periodonto atenuando el exceso de la respuesta inflamatoria. Se tiene evidencias que sustentan que la actividad física en adultos repercute en un menor riesgo de padecer periodontitis.⁵

No obstante, a la fecha, no hay estudios en los que se observe la relación entre la actividad física, los marcadores inflamatorios, el efecto anti-inflammaging y la periodontitis. Lo anterior permite plantear la siguiente pregunta de investigación: ¿Cuál es el efecto del ejercicio físico moderado en la modalidad de Tai Chi sobre los marcadores de estrés oxidativo e inflamación crónica vinculada con la enfermedad periodontal en los adultos mayores?

VI. Hipótesis

Considerando las evidencias científicas sobre el efecto benéfico del ejercicio físico sobre los marcadores de estrés oxidativo e inflamación crónica, se infiere que los adultos mayores que practiquen ejercicio físico moderado en la modalidad de Tai Chi, presentarán menos enfermedad periodontal vinculada con el efecto antioxidante y antiinflamatorio, en comparación con los adultos mayores sedentarios.

VII. Objetivos

VII.1 General

Determinar el efecto del ejercicio físico moderado en la modalidad de Tai Chi, sobre marcadores de estrés oxidativo, inflamación crónica y su relación con enfermedad periodontal en adultos mayores.

VII.2 Específicos

- Determinar el efecto del ejercicio físico moderado en la modalidad de Tai Chi, sobre los marcadores de estrés oxidativo de muestras de saliva.
- Determinar el efecto del ejercicio físico moderado en la modalidad de Tai Chi, sobre los marcadores de inflamación crónica de muestras de saliva.
- Evaluar el efecto del ejercicio físico moderado en la modalidad de Tai Chi, sobre la enfermedad periodontal en adultos mayores

VIII. Material y métodos

VIII.1 Población y diseño

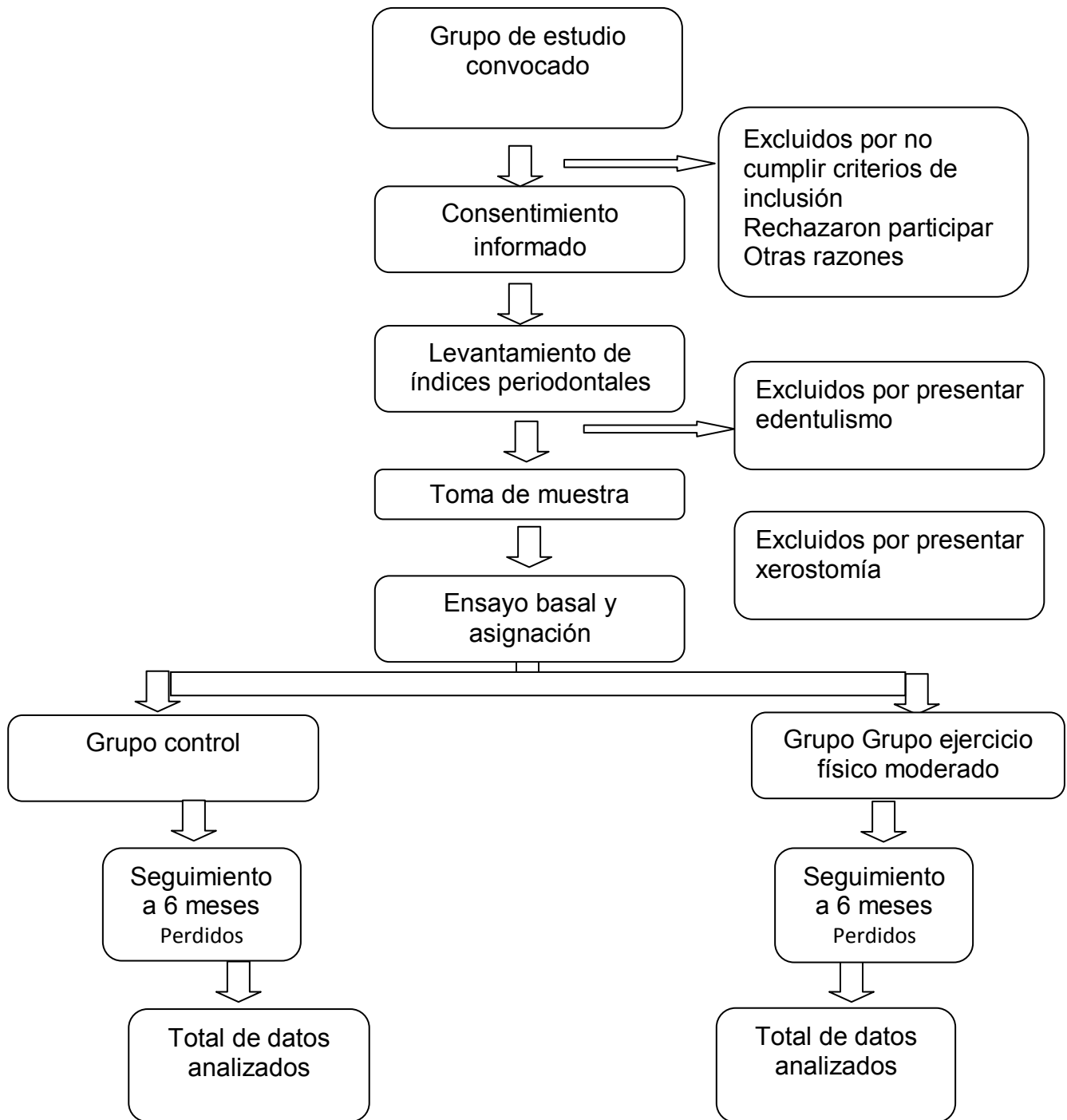
Previo consentimiento bajo información (véase anexo 1) se llevó a cabo un estudio cuasi-experimental en una población de 80 adultos mayores sanos o con enfermedades crónico degenerativas controladas, sin consumo de suplementos antioxidantes ni anti-inflamatorios en los últimos 6 meses. Se conformaron los siguientes grupos de intervención:

Grupos	Programa de intervención
Control (n =40)	Sin ejercicio físico
Experimental (n=40)	Programa de ejercicio físico moderado (Tai Chi) de 60 minutos, 5 días por semana, durante 6 meses.

Todos los participantes fueron evaluados por un médico familiar o geriatra para corroborar el cumplimiento de los criterios de inclusión. Con el fin de no incurrir en cuestiones éticas, el grupo control se conformó de entre aquellas personas que por motivos personales (falta de tiempo) no pudieron participar en el programa de ejercicio físico.

A todos los participantes se les realizó una evaluación bucodental pre y post-intervención, estableciendo el índice periodontal, además de la medición de los marcadores de estrés oxidativo y proceso inflamatorio crónico en muestras de saliva.

El grupo experimental participó en un programa de ejercicio físico moderado supervisado: clases de 60 minutos de Tai Chi Chuan, 5 días por semana, durante seis meses. Posterior a esto se realizó una nueva medición de los marcadores de estrés oxidativo, inflamación crónica y profundidad de las bolsas periodontales.



[Figura VIII.1.](#) Esquema general del estudio

VIII.2 Variables

Variable independiente:

- Practica de ejercicio físico moderado (Tai Chi) 1 hora diaria, 5 días a la semana, durante 6 meses.

Variables dependientes:

- Marcadores de estrés oxidativo: Lipoperóxidos (LPO), Superóxido Dismutasa (SOD) y Capacidad Antioxidante Total (AOx).
- Marcadores de inflamación: IL-1 β , IL-6, IL8, IL-10 y TNF- α .
- Enfermedad periodontal: Índice periodontal.

VIII.3 Técnicas

Material biológico.

Se recolectaron muestras de saliva de ambos grupos, en tubos de polipropileno de 15 mL, las cuales fueron centrifugadas a 2,500 rpm durante 10 minutos para posteriormente ser alicuotadas y congeladas a -80°C hasta su análisis.

Material

- Tubos de ensayo
- Tubos de polipropileno de 15 mL
- Tubos de microcentrífuga
- Gradillas
- Pipetas graduadas y automáticas
- Vasos de precipitado
- Probetas
- Sondas periodontales

Reactivos

- Agua destilada
- 1,1,3,3-Tetrametoxipropano (TMP)
- Ácido tiobarbitúrico (TBA)
- Butiril hidroxitolueno (BHT)

- Equipo comercial de Randox para la determinación de antioxidantes (Ransod y TAS)
- Kit Human Inflammatory Cytokine proporcionado por BD para cuantificación de citocinas.

Equipo

- Baño metabólico
- Centrífuga de 8 camisas
- Balanza analítica
- Balanza granataria
- Espectrofotómetro Shimadzu
- Equipo Selectra Jr
- Citómetro de flujo FACS Aria II

Software

- FCAP Array software
- SPSS versión 15.0

VIII.3.1 Intervención

Se convocaron a personas del Estado de Hidalgo que de manera voluntaria participaran en el proyecto.

Se llevó a cabo una evaluación clínica de tamizaje para corroborar que fueran personas sanas o sin enfermedades descontroladas (diabéticos con glucosa capilar en ayunas menor a 160 mg/dL e hipertensos con cifras menores a 110/180).

Adicionalmente, se les practicó un electrocardiograma en reposo para descartar alteraciones graves que implicaran un riesgo para la realización de la actividad física, los electrocardiogramas fueron evaluados por un médico especialista en fisiología cardíaca y por un geriatra.

A los sujetos que no presentaron alteraciones electrocardiográficas, se les invitó a participar en la investigación, se les explicó el compromiso que implicaba el proyecto y aquellos que accedieron y firmaron el consentimiento informado (Anexo 1) fueron programados para la evaluación basal.

Para el programa de Tai Chi (TC) se contó con un entrenador certificado y con experiencia en la enseñanza de la disciplina a los adultos mayores, la rutina se diseñó ajustando el tiempo sesiones de 60 min los cinco días de la semana.

El programa de TC consistió en la forma ocho de la escuela Yang y se mantuvo la supervisión del entrenador experto para ajustar la forma a practicar en función del ritmo de avance de cada grupo en particular.

Se programó la medición basal, la cual implicó mediciones antropométricas, bioquímicas, realización de Índice de Higiene Oral Simplificado (IHOS) e Índice Periodontal de Ramfjord (IP) (Anexo 2 y 3). Posteriormente se inició un período de acondicionamiento o activación física caracterizado por movimientos suaves durante 15 días tras el cual se inició la intervención como tal.

Las determinaciones se realizaron de acuerdo a los protocolos que se describen a continuación y se llevaron a cabo pre y post intervención.

VIII.3.2 Evaluación de higiene oral

Es necesario determinar el grado de higiene oral por medio del Índice de Higiene Oral Simplificado (IHOS).

Procedimiento

- a. Dientes a examinar. Dividir la boca en seis partes (sextante) y revisar seis dientes específicos, uno por cada sextante. Para la revisión de los dientes se requiere que se encuentren completamente erupcionados para calcular adecuadamente la presencia de detrito o cálculo.
- b. Número de las superficies. Evaluar únicamente seis superficies, una de cada diente seleccionado para el IHOS.
- c. Puntuación. El IHOS tiene un valor mínimo de 0 y un valor máximo de 6, contabilizando detritos y cálculo.

Selección de los dientes y las superficies

a. Secuencia

Revisar siguiendo la secuencia 16, 11, 26, 36, 31 y 46, para valorar detritos y cálculo. Las superficies dentales se examinan del borde incisal a cervical con el explorador procurando revisar toda la superficie. La puntuación debe reflejar la estimación de toda la superficie, incluida el área proximal de las zonas de contacto.

b. Identificación de los dientes y superficies específicos

1. Segmentos superiores. Revisar las superficies vestibulares de los primeros molares y el central derecho. Si no estuviese presentes los primeros molares o se encuentre restaurado con una corona total sustituir por el segundo o el tercer molar. En el caso del central se podrá sustituir por el otro central.

2. Segmentos inferiores. Explorar la superficie bucal del central izquierdo, en el caso de los primero molares se revisarán las superficies linguales.

c. Exclusión

Segmento posteriores. Si no se encuentra ningún molar (ya sea por ausencia o por restauración con coronas) se deberá excluir ese segmento de la revisión.

Segmento anteriores. Si no se encuentra ningún central (ya sea por ausencia o por restauración con coronas) también se deberá excluir.

Para indicar que un diente se ha excluido por alguna razón, llenar la celda con el número 9.

Registro de detritos

Los detritos se definen como la materia suave adherida al diente, formada por mucina, bacterias así como los restos alimenticios. A continuación se describen los criterios clínicos establecidos para obtener el índice de detritos.

[Cuadro VIII.3.1](#) Criterios para establecer el grado de detritos.

Valor o Código	Criterio Signo clínico
0	Ausencia de detritos o mancha extrínseca en la superficie examinada
1	Presencia de detritos cubriendo no más de 1/3 de la superficie del diente, o ausencia de detritos, más presencia de mancha extrínseca
2	Presencia de detritos cubriendo más de 1/3 pero no más de 2/3 de la superficie examinada; podrá haber o no presencia de mancha extrínseca
3	Presencia de detritos cubriendo más de 2/3 de la superficie examinada; podrá haber o no la presencia de mancha extrínseca

Registro de cálculo dentario

Utilizar un explorador para estimar el área cubierta por depósitos de cálculo supragingival e identificar los depósitos subgingivales con el explorador o la sonda periodontal. En el cuadro VIII.2 se describen los criterios establecidos para obtener el índice de cálculo dentario.

[Cuadro VIII.3.2](#) Criterios para establecer el grado de cálculo

Valor o Código	Criterio Signo clínico
0	Ausencia de cálculo supragingival
1	Presencia de cálculo supragingival cubriendo no más de 1/3 de la superficie examinada
2	Presencia de cálculo supragingival cubriendo más de 1/3 pero no más de 2/3 de la superficie examinada o bien presencia de pequeñas porciones de cálculo subgingival
3	Presencia de cálculo supragingival cubriendo más de 2/3 de la superficie examinada o bien una faja continua de cálculo subgingival a lo largo de la región cervical del diente

Obtención del índice

Posterior al registro de los valores de los detritos y de cálculo dentario, realizar el cómputo del IHOS para cada individuo. Para calcular este índice debe registrarse por lo menos dos sextantes. El promedio de detritos bucales se obtiene sumando los valores encontrados y dividiendo entre las superficies examinadas. Utilizar el mismo método para obtener el promedio del cálculo dentario. El IHOS es la suma del promedio de detritos bucales y del cálculo dentario.

[Cuadro VIII.3.3](#) Criterios para establecer el grado de higiene oral.

Clasificación	Puntuación
Excelente	0
Buena	0.1 – 1.2
Regular	1.3 – 3.0
Mala	3.1 – 6.0

VIII.3.3 Evaluación de la profundidad del surco gingival

La enfermedad periodontal fue diagnosticada a través de la evaluación de la profundidad del surco gingival, para ello se utilizó el Índice Periodontal de Ramfjord, que combina el puntaje para la Gingivitis, basado en el color, la forma, densidad y tendencia a la hemorragia de los tejidos gingivales (Cuadro VIII.3.3) con la medición de la profundidad de la bolsa en relación con el límite amelo cementario (LAC).

Los dientes que se examinan para la obtención del IEP son:

- 16: Primer Molar Superior Derecho
- 21: Incisivo Central Superior Izquierdo
- 24: Primer Premolar Superior Izquierdo
- 36: Primer Molar Inferior izquierdo
- 41: Incisivo Central Inferior Derecho
- 44: Primer Premolar Inferior Derecho

Cuadro VIII.3.3.1 Criterios para determinar el componente gingival del índice.

Puntuación	Clasificación
0	Ausencia de signos de inflamación
1	Cambios gingivales inflamatorios entre leves y moderados que no se extienden alrededor de la totalidad del diente.
2	Gingivitis entre leve y moderada y que se extiende alrededor de todo el diente.
3	Gingivitis severa caracterizada por enrojecimiento marcado tendencia a la hemorragia espontánea y ulceración.

Después de determinar el Componente Gingival se procede a determinar la profundidad de las bolsas desde el LAC en las partes mesiales, vestibulares, distales y linguales de cada uno de los 6 dientes en evaluación.

Si el margen gingival está sobre el esmalte, se registra:

- 1) la distancia desde el margen libre gingival hasta el límite amelocementario.
- 2) la distancia desde el margen libre gingival hasta el fondo de la bolsa.

La medición 1 se resta de la 2 y se obtiene así la medida de la distancia desde el LAC hasta el fondo de la bolsa.

Si el margen gingival está sobre el cemento, el valor desde el LAC hasta el fondo de la bolsa se mide directamente.

Para determinar el puntaje de la Enfermedad Periodontal para cada diente se emplea el siguiente sistema:

- 1) Sí el surco gingival no se extiende hacia el ápice más allá del LAC, se considera que el puntaje 0-3 registrado para el estado de salud gingival es el IEP del diente.
- 2) Sí la profundidad de la bolsa se extiende hacia el ápice más allá del LAC, pero no más de 3 mm en ninguna de las 4 zonas del diente, se asigna a ese diente un puntaje de 4.
- 3) Sí la bolsa se extiende más de 3 mm y hasta 6 mm hacia el ápice desde el LAC, el diente recibe un puntaje de 5.
- 4) Sí la distancia entre el LAC y el fondo de la bolsa es mayor de 6 mm a lo largo de la raíz, el diente tiene un puntaje de 6.

Sonda y procedimientos de sondaje

Se usa la sonda periodontal, la cual está particularmente diseñada para una manipulación suave de los tejidos blandos ubicados alrededor de la pieza dentaria. La sonda presenta una porción codificada, la cual debe usarse con una fuerza suave para determinar la profundidad de la bolsa y para detectar la presencia de cálculo subgingival. Esta presión no debe ser mayor de 20 gramos. La sonda se introduce entre el diente y la encía, lo más paralelamente posible a la superficie de la raíz. La profundidad del surco gingivodentario se determina observando la marca, al nivel del margen gingival. El extremo de la sonda debe mantener el contacto con la superficie de la raíz.

Los sitios recomendados para el sondaje son el mesial y el distal en las superficies vestibular y punto medio de la superficie palatina/lingual.

El puntaje de IEP para el individuo es el puntaje medio de todos los dientes examinados; la suma de los puntajes correspondientes a cada diente se divide entre el número de dientes examinados.

VIII.3.4 Evaluación de marcadores de EOx y actividad de enzimas antioxidantes

Determinación de lipoperóxidos.

Se empleó la técnica de peroxidación lipídica por el método colorimétrico del ácido tiobarbitúrico (TBA). Esta técnica utiliza el malonaldehído (MDA) como marcador de lipoperoxidación, mediante una reacción con TBA el cual forma un pigmento de color rosa que se mide a 535 nm. La formación del complejo TBA-MDA por eliminación de oxígeno se favorece por la adición de butiril-hidroxitolueno (BHT). Se adicionan 10 mL de BHT (2 mmol) por ml de muestra en caso de que ésta no se vaya a ensayar inmediatamente, para prevenir la auto-oxidación.

El método utilizado se basa en el análisis realizado por Jentzsch en 1996 en relación al MDA en fluidos corporales humano. ¹²⁵

Procedimiento:

Se marcan tubos de vidrio, ocho para la curva estándar y el resto para las muestras a medir.

Se colocan 400 µL de muestra a las cuales se agregan 50 µL de BHT 12.6 mM y 400 µL de ácido ortofosfórico 0.2 mol/L consecutivamente, se mezclan y se agitan en vórtex por 10 seg.

Se adicionan 50 µL de TBA 0.11 mol/L, se mezclan y agitan en vórtex por 10 seg.

Se tapan los tubos y se colocan en un baño de agua a 90°C por 45 minutos.

Cuidadosamente se sacan los tubos del baño y se colocan en hielo, una vez fríos, se agregan a cada tubo 1,200 µL de butanol y 100 µL de solución saturada de cloruro de sodio.

Se mezclan y agitan en vórtex por 10 seg. Posteriormente se centrifugan a 4,200 x g durante 1 min.

Se extrae el sobrenadante y se lee contra blanco de butanol a 535 nm y a 572 nm para hacer corrección de lectura por presencia de aductos coloridos que se forman durante la reacción y se calcula la diferencia.

La concentración de lipoperóxidos se calcula al interpolar en la curva estándar construida cantidades crecientes de la sustancia patrón que es el 1,1,3,3-tetrametoxipropeno (TMP). Para la curva se preparan las siguientes soluciones:

TMP 1 mM: se diluyen 17 μ L de TMP en 100 ml de agua destilada (solución madre preparada en función del peso molecular del TMP)

TMP 0.2 mM: se toma 1 ml de TMP 1 mM y se añaden a 4 ml de agua bidestilada (se prepara cada vez que se usa).

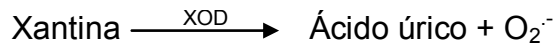
Se preparan ocho tubos de concentraciones crecientes como se presenta a continuación:

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

A cada tubo se le da el mismo tratamiento que a las muestras.

Determinación de SOD

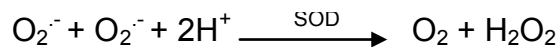
En la cuantificación de la actividad de SOD se empleó el equipo comercial Ransod superóxido dismutasa (Randox Laboratorios Ltd, UK) que se basa en el empleo de xantina y xantina oxidasa (XOD) para formar radicales superóxido.



Los radicales superóxido formados reaccionan con cloruro de 2-(4-yodofenil)-3-(4-nitrofenol)-5-feniltetrazolio (I.N.T.) para formar un colorante formazán rojo.



Se mide la actividad de la superóxido dismutasa por el grado de inhibición de la reacción:



Procedimiento: Se toman 400 μL de muestra de saliva y se colocan en cubetas especiales para el equipo automatizado Selectra Jr.

Determinación de la actividad antioxidante total (AAT)

Para la determinación de la actividad antioxidante total (AAT) se empleó un kit comercial (Total antioxidant status, Randox Laboratories Ltd, UK). El análisis del estado de los antioxidantes totales, se trata de una prueba en donde se combinan la peroxidasa (metamioglobina) con peróxido de hidrógeno y ABTS (2,2'-azido-di etilbenzotiazolin sulfonato) 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.

Procedimiento: Se pipetea 400 μL de muestra de saliva y se colocan en cubetas especiales para el equipo automatizado Selectra Jr.

VIII.3.5 Marcadores de inflamación crónica

Se utilizó citometría de flujo para conocer los niveles de IL-1 β , IL-6, IL8, IL-10 y TNF- α , con estuche comercial proporcionado por BD.

1. Preparación de los estándares. Realizar diluciones seriadas en el siguiente orden 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, 1:128 y 1:256. Transfiriendo 300 μ L de la solución madre a los siguientes tubos. Dilución

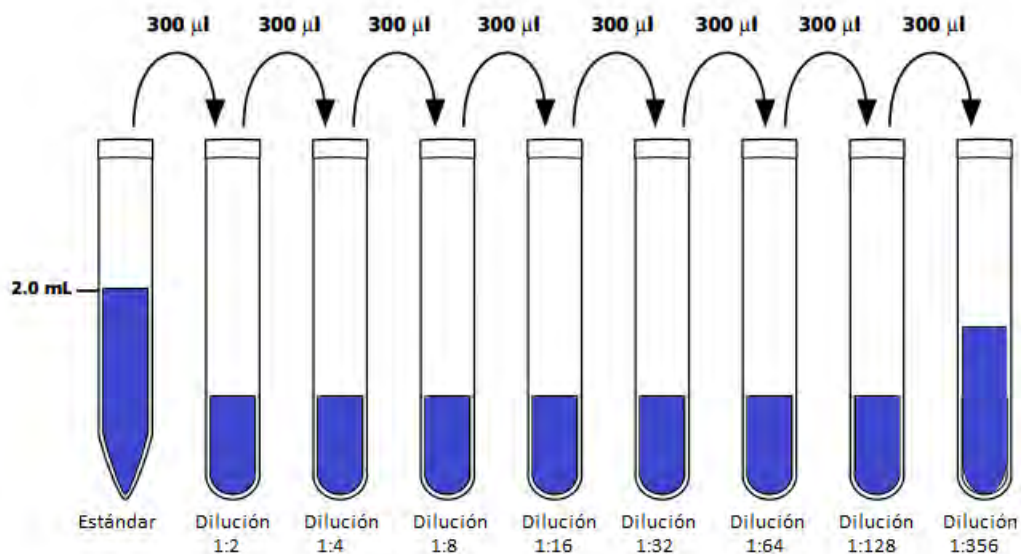


Figura VIII.3.5.1. Preparación de diluciones a partir del estándar de Human Inflammatory Cytokine.

2. Colocar 25 μ L de muestra de saliva en tubos de ensayo.
3. Mezclar las perlas de captura vigorosamente.
4. Adicionar 25 μ L dicha mezcla a cada una de las muestras.
5. Incubar durante 1.5 horas a temperatura ambiente y protegido de la luz.
6. Adicionar 500 μ L de Wash Buffer a cada tubo de ensayo y centrifugar a 200 x g durante 5 minutos.

7. Aspirar cuidadosamente el sobrenadante de cada tubo y desecharlo, dejando aproximadamente 50 μ L de líquido en cada tubo.
8. Adicionar 25 μ L de Human Inflammatory Cytokine PE Detection Reagent a cada tubo de ensayo.
9. Agitar suavemente hasta resuspender el botón.
10. Incubar durante 1.5 horas a temperatura ambiente y protegido de la luz.
11. Adicionar 500 μ L de Wash Buffer a cada tubo de ensayo y centrifugar a 200 x g durante 5 minutos.
12. Aspirar cuidadosamente el sobrenadante de cada tubo y desecharlo
13. Agregar 150 μ L de Wash Buffer a cada tubo de ensayo hasta resuspender el botón.
14. Adquisición de las muestras en citómetro de flujo.
15. Análisis de datos mediante el uso de FCAP Array software.

IX. Análisis estadístico

Los datos se analizaron utilizando medidas descriptivas, promedio y desviación estándar (DE); como pruebas de comparación ANOVA de medidas repetidas. Para todas las pruebas se consideró un valor de $p < 0.05$ como significancia estadística. Para tal efecto se utilizó el programa de análisis estadístico SPSS versión 15.0.

X. [Resultados](#)

En el Cuadro X.1 se presentan los valores bioquímicos pre y post-intervención de los grupos control y experimental, los cuales revelan que no existe diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos.

Respecto a la valoración clínica, no se observan diferencias estadísticamente significativas en el índice de higiene oral simplificado (IHOS) en ninguno de los grupos ($p>0.05$); no obstante, se observó una disminución estadísticamente significativa en el índice de enfermedad periodontal (IEP) en el que practicó Tai Chi durante seis meses. (Cuadro X.2.)

En la Figura X.1 se presentan los cambios observados en el IEP en el grupo experimental (basal, 3.62 ± 0.9 vs., post-intervención, 3.28 ± 0.8 , $p<0.05$).

Con relación a los marcadores de estrés oxidativo en saliva, se encontró un incremento significativo en la actividad antioxidante total (basal, 0.53 ± 0.33 vs. post-intervención, 0.70 ± 0.35 mmol/L, $p<0.01$) y en la actividad de la enzima superóxido dismutasa (basal, 1.6208 ± 0.83 vs. post-intervención, 2.79 ± 1.6 U/l, $p<0.001$) en el grupo que practicó Tai Chi durante seis meses, aunque no se observaron diferencias significativas en los valores de lipoperóxidos ($p>0.05$) (Cuadro X.3.).

Por otro lado, se encontró una disminución significativa en la concentración de interleucina 1β en saliva (basal 783.62 ± 174.9 vs. post-intervención 624.97 ± 196.7 , $p<0.01$) en el grupo experimental después de la práctica de Tai Chi. Asimismo, se observó una disminución con una significancia estadística limítrofe en la concentración de IL-6 en el mismo grupo (basal. 18.66 ± 7.25 vs. post-intervención, 4.76 ± 1.93 pg/mL, $p=0.09$) (Cuadro X.4)

En la Figura X.2 se muestran los cambios observados en el IL- 1β en el grupo experimental (basal, $783.62 \pm$ vs. post-intervención, $624.97 \pm$ pg/mL, $p<0.01$).

Cuadro X.1 Parámetros químicos al inicio del estudio y 6 meses después en ambos grupos.

Marcador	Grupo Control (n= 25)		Grupo Tai-Chi (n=24)	
	Basal	6 meses	Basal	6 meses
HbA1c (%)	6.56 ± 1.80	8.96 ± 2.4	8.09 ± 2.2	7.29 ± 2.3
Ácido úrico (mg/dL)	5.06 ± 0.5	4.86 ± 0.55	6.77 ± 9.91	4.75 ± 1.02
Colesterol (mg/dL)	213.3 ± 39.2	209.6 ± 29.4	212.6 ± 44.2	209.5 ± 36.6
Triglicéridos (mg/dL)	175.1 ± 38.5	207.6 ± 41.9	160.8 ± 76.4	195.8 ± 130
Albúmina	4.76 ± 0.05	4.77 ± 0.12	4.75 ± 0.20	4.69 ± 0.25
HDL (mg/dL)	39.33 ± 8.02	40.33 ± 3.5	44.375 ± 9.6	52.70 ± 11.98

HbA1c: Hemoglobina glucosilada

HDL: Lipoproteínas de alta densidad. Los datos están expresados como media+/-DE.

Cuadro X.2 Descripción de hallazgos clínicos en higiene oral e índice de enfermedad periodontal por grupo

Índice	Grupo Control (n= 25)		Grupo Tai-Chi (n=24)	
	Basal	6 meses	Basal	6 meses
IHOS	2.43 ± 0.3	2.45 ± 0.2	2.45 ± 0.3	2.46 ± 0.3
IEP (mm)	3.2188±0.6	3.7960±0.4	3.6267±0.9	3.2813±0.8*

Los valores están expresados como la media ± desviación estándar. Prueba ANOVA de medidas repetidas, $p < 0.05$. IHOS: Índice de Higiene Oral Simplificado. IEP: Índice de Enfermedad Periodontal.

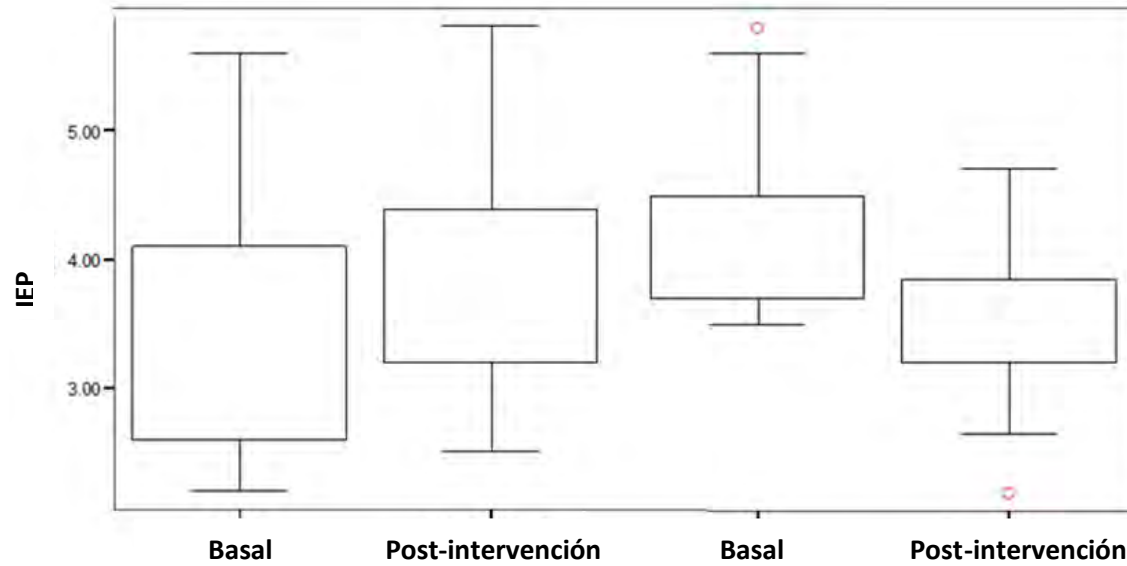


Figura X.1 Medidas clínicas de la profundidad del surco gingival de los grupos control y experimental en etapa basal y 6 meses después. Se observa una disminución significativa en el IEP después de la práctica de Tai Chi durante 6 meses en el grupo experimental (basal, 3.6267 ± 0.9 vs. post-intervención, 3.2813 ± 0.8 , $p < 0.05$). Prueba ANOVA de mediciones repetidas, los valores están expresados como medianas y percentiles. Los círculos señalan valores extremos. IEP: Índice de Enfermedad Periodontal.

Cuadro X.3 Marcadores de estrés oxidante en saliva por grupo de estudio.

Marcador	Grupo Control (n= 25)		Grupo Tai-Chi (n=24)	
	Basal	6 meses	Basal	6 meses
AAT (mmol/L)	0.72 ± 0.35	0.62 ± 0.29	0.53 ± 0.33	0.70 ± 0.35*
SOD (U/l)	2.63 ± 1.8	2.33 ± 1.1	1.62 ± 0.83	2.79 ± 1.6 [†]
LPO (µmol/L)	0.14 ± 0.14	0.08 ± 0.09	0.11 ± 0.07	0.14 ± 0.09

Los valores están expresados como la media ± desviación estándar. Prueba ANOVA de medidas repetidas. * p<0.005; [†] p<0.001. AAT: Actividad Antioxidante Total; SOD: Superóxido dismutasa; LPO: Lipoperóxidos.

Cuadro X.4. Concentración de citocinas (pg/mL) en saliva por grupo de estudio.

Variable	Grupo Control (n= 25)		Grupo Tai-Chi (n=24)		Valor de <i>p</i>
	Basal	6 meses	Basal	6 meses	
TNF-α	2.004 \pm 1.50	5.325 \pm 2.23	0.5119 \pm 0.009	4.2410 \pm 0.435	0.183
IL-10	3.15 \pm 0.66	0.25 \pm 0.21	0.21 \pm 2.5	2.9 \pm 1.5	0.191
IL-6	20.80 \pm 5.01	59.45 \pm 13.8	18.66 \pm 7.25	4.76 \pm 1.93	0.095
IL-1β	1180.18 \pm 244	1353.37 \pm 176	783.62 \pm 174.9	624.97 \pm 196.7*	0.002
IL-8	3560.53 \pm 809	3215.66 \pm 260	4971.24 \pm 835	2252.42 \pm 330	0.208

Los datos están presentados son medias \pm DE. Prueba ANOVA de medidas repetidas. * $p < 0.005$. IL: Interleucina IL; TNF- α : factor de necrosis tumoral alfa.

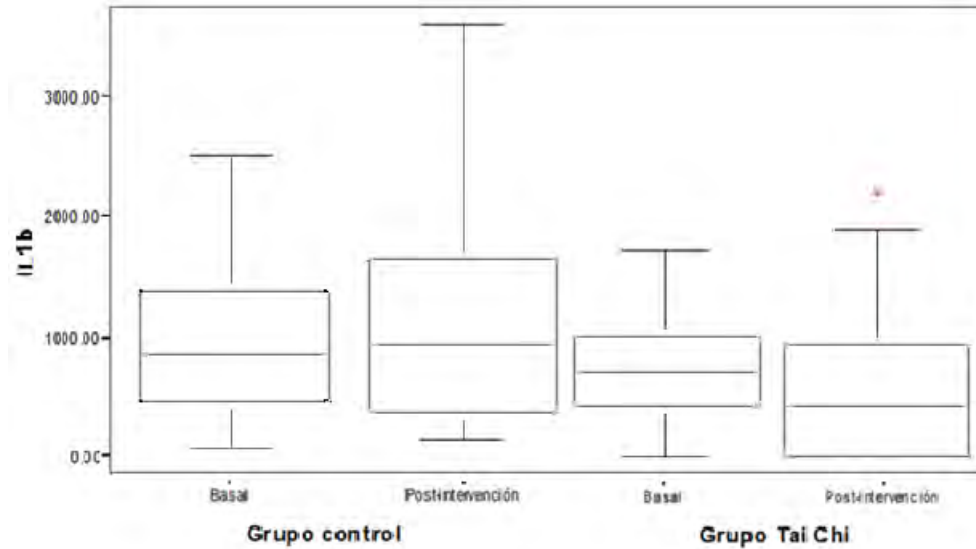


Figura X.2. Concentración de IL-1 β en saliva basal y post-intervención por grupo de estudio, en donde se observa una disminución estadísticamente significativa después de la práctica de Tai Chi en el grupo experimental (basal, 783.62 \pm vs. post-intervención, 624.97 \pm , $p < 0.01$). Prueba ANOVA de medidas repetidas. Los valores están expresados como medianas y percentiles.

XI. Discusión

El estrés oxidante (EOx) y la inflamación crónica (IC) se presentan como cambios biológicos inherentes al envejecimiento, los cuales constituyen factores de riesgo para diversas enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT), siendo la enfermedad periodontal (EP) una de las de mayor prevalencia en la vejez.

De lo anterior, se han propuesto algunas alternativas preventivas y terapéuticas para contrarrestar dichas alteraciones bioquímicas, entre las que destacan los suplementos alimenticios con efecto antioxidante, las vitaminas antioxidantes, la administración de antiinflamatorios no esteroideos a bajas dosis, entre otros.

Así mismo, recientemente se ha demostrado que una alimentación saludable y la práctica periódica de ejercicio físico moderado tienen un efecto antioxidante y antiinflamatorio, que además de contribuir al bienestar psicológico, disminuyen el riesgo de padecer enfermedades crónicas o coadyuvan al tratamiento farmacológico.¹²⁶⁻¹²⁷

Entre las modalidades de ejercicio físico moderado indicado en la vejez, para mantener o mejorar la salud, destacan la caminata y el Tai Chi. En este sentido, en algunos estudios se ha demostrado que el Tai Chi tiene efectos positivos sobre la función cardiorrespiratoria y en el sistema músculo-esquelético, mejorando la capacidad para el control de la postura y equilibrio que consecuentemente disminuye la frecuencia de las caídas.¹¹⁹

Asimismo, recientemente se ha demostrado que la práctica de Tai Chi tiene un efecto significativo sobre la eficiencia del sistema antioxidante,¹²⁸⁻¹²⁹ de ahí que en el ámbito gerontológico frecuentemente se recomiende la práctica de Tai Chi para mantener la salud y prevenir ECNT vinculadas con el estrés oxidante.¹³⁰

Por otro lado, se ha observado que las personas que practican ejercicio físico presentan una frecuencia significativamente más baja de EP, de ahí que el propósito del presente estudio fue determinar el efecto del Tai Chi sobre la

eficiencia del sistema antioxidante y el proceso inflamatorio crónico; y su relación con la EP.

En la presente investigación se observó una disminución estadísticamente significativa en el índice de enfermedad periodontal en el grupo experimental después de la práctica de Tai Chi durante seis meses, en comparación con el grupo control; lo cual sugiere que la actividad física moderada propicia cambios biológicos que repercuten positivamente en el proceso fisiopatológico de la EP. En este sentido, nuestros hallazgos son congruentes con los estudios realizados por Bawad *et al.* y Al-Zahrani *et al.* quienes observaron una relación entre la práctica de ejercicio físico y mejoría en la EP. ^{125, 126}

Por otro lado, en nuestro estudio se encontró un incremento significativo en la actividad antioxidante total y en la actividad de la SOD en el grupo experimental; lo cual sugiere que uno de los posibles mecanismos involucrados en la mejoría de la EP es el efecto antioxidante propiciado por la práctica de Tai Chi. ^{100, 131} Al respecto se ha vinculado al estrés oxidativo con la fisiopatología de la EP, ya que las especies reactivas de oxígeno (EROs), pueden dañar selectivamente los proteoglicanos asociados con los tejidos periodontales blandos y con el hueso alveolar; ¹³² así como las cadenas de prolina de la colágena tipo 1, ¹³³ lo cual puede alterar significativamente las funciones de fibroblastos tales como la adhesión, proliferación, y la longevidad. ¹³⁴

De esta forma, la producción excesiva de EROs por los neutrófilos o fibroblastos dentro de los tejidos periodontales activa al NF-κB con la consecuente cascada de señalización que activa a los osteoclastos y la inflamación. ¹³⁵ Asimismo, la generación de EOX causa desequilibrio de las metaloproteinasas y sus inhibidores tisulares, lo cual conduce a la degradación de los tejidos periodontales. ^{54, 136}

En este sentido, el ejercicio físico disminuye las consecuencias de niveles elevados de EOX al actuar como un antioxidante endógeno. Parece que a pesar de que existe un aumento en la producción de EROs durante la actividad, el músculo senescente tiene una disminución en la expresión de genes de las

enzimas antioxidantes posiblemente debido a una disminución de la capacidad para la señalización celular.¹³⁷

De igual forma, una ventaja importante del ejercicio no exhaustivo es la inducción de EOx leve, lo cual estimula la expresión de ciertas enzimas antioxidantes como la superóxido dismutasa que aumenta después de una serie de ejercicio, lo cual es mediado por la activación de vías de señalización sensibles a redox.¹³⁸ Sin embargo; es necesario señalar que un aumento en la síntesis de proteínas *de novo* de una enzima antioxidante, por lo general requiere períodos de ejercicio repetido, lo cual justifica la necesidad de que éste se realice de forma periódica.¹³⁹

En este sentido varias investigaciones han informado de la relación entre la disminución de la capacidad antioxidante y la EP,¹⁴⁰⁻¹⁴⁶ Por lo que la estimulación indirecta de este sistema mediante el ejercicio físico, puede repercutir positivamente en la salud del tejido periodontal.

Por otra parte, en relación a los marcadores de inflamación crónica (IC); se ha observado que las citocinas desempeñan un papel fundamental en la descomposición del tejido periodontal¹⁴⁷⁻¹⁴⁸ y que la práctica de actividad física puede disminuirlos.¹⁴⁹

Sanders *et al.*¹⁵⁰ encontraron que sujetos que realizan suficiente actividad física tienen niveles más bajos de IL-1 β en muestras de fluido gingival crevicular. Este estudio apoya la hipótesis relativa a que la práctica regular de ejercicio puede tener un efecto anti-inflamatorio y repercutir en una disminución de la EP. En este sentido, los mecanismos de dichos cambios no han sido del todo dilucidados; sin embargo Pedersen *et al.* han propuesto que este efecto puede ser explicado como consecuencia de la regulación de la expresión de citocinas, que genera la contracción muscular durante el ejercicio físico.¹⁵¹ Al respecto, en la presente investigación se observó una disminución estadísticamente significativa de la IL-1 β en el grupo experimental tras la realización del Tai Chi; mientras que el grupo control presentó un aumento de dicha citocina, lo cual coincide con lo descrito por Graves *et al.*, quienes encontraron que las IL-1 β ocupa una posición central entre

los mediadores de la cascada inflamatoria en la periodontitis puesto que es sintetizada por muchos tipos de células en el tejido periodontal, lo cual la hace esencial en el desarrollo de la enfermedad.¹⁴⁹

Por otra parte, diversos autores han demostrado consistentemente que las concentraciones de IL-6 se incrementan durante el ejercicio.^{113, 152-153} También se ha demostrado que los mioblastos son capaces de producir IL-6,¹⁵⁴ así como las células endoteliales,¹⁵⁵ fibroblastos¹⁵⁶ y las células musculares lisas¹⁵⁷ en determinadas circunstancias.¹⁵⁸ Contrariamente a nuestro estudio, encontramos una disminución en la concentración de esta citocina en el grupo que realizó Tai Chi. En este sentido, se ha demostrado que la IL-6 puede actuar como pro-inflamatoria o anti-inflamatoria dependiendo de las condiciones fisiológicas o fisiopatológicas en las que se encuentre.¹⁵⁹

A pesar de que existe un incremento de RL durante el ejercicio físico, también es cierto que se desarrolla un proceso adaptativo denominado hórmesis; en el cual la exposición continua a cantidades bajas de estresores, se traduce en una respuesta controlada y benéfica para el organismo, gracias a la cual aumenta la eficiencia antioxidante y antiinflamatoria.¹⁶⁰

Asimismo, se ha observado que el ejercicio muscular promueve una rápida respuesta de señalización por parte de las fibras musculares, que promueven la síntesis de proteínas y la alteración en el fenotipo muscular.¹⁶¹¹ La contracción muscular induce la producción de EROs lo cual juega un papel esencial en la adaptación muscular durante el ejercicio aeróbico.¹⁶²

De igual forma, algunos investigadores han informado que la contracción de las fibras musculares liberan superóxido dentro del espacio extracelular.¹⁶³² Las fibras musculares contienen, en la membrana plasmática, sistemas redox capaces de transferir electrones a través de la membrana, lo cual puede tener consecuencias biológicas significativas.¹⁶⁴

Por otra parte, se ha postulado que fosfolipasa A₂ (FLA₂) es una enzima que escinde los fosfolípidos de membrana para liberar ácido araquidónico, el cual es un sustrato para la generación de EROs.¹⁶⁵

Además, la FLA₂ puede activar a la NADPH oxidasa y el aumento de la actividad de FLA₂ puede estimular la producción de EROs en las mitocondrias del músculo y el citosol con la consecuente liberación de EROs en el espacio extracelular.¹⁶⁶ Existen dos formas de FLA₂, las calcio-dependientes y las independientes en el músculo esquelético y ambos podrían contribuir a la generación de EROs muscular. Gong *et al.* han propuesto que la FLA₂ independiente de calcio es un importante factor determinante de la actividad EROs en condiciones de reposo, mientras que durante las contracciones, estrés, calor u otros procesos de elevación de calcio intracelular, la FLA₂ dependiente de calcio se activa para promover la producción de EROs.¹⁶⁷³

Existe una creciente evidencia de que la presencia continua de un pequeño estímulo, tal como bajas concentraciones de EROs, es capaz de inducir la expresión de enzimas antioxidantes y otros mecanismos de defensa. La base de este fenómeno puede ser abarcado, como se mencionó anteriormente, por el concepto de hórmesis, que puede ser caracterizado como una relación dosis-respuesta en particular en el que una dosis baja de una sustancia es estimulador y una dosis alta es inhibidora.⁹⁹

En este contexto, los radicales pueden ser vistos como benéficos, ya que actúan como señales para mejorar las defensas, en lugar de como perjudicial como lo son cuando las células se exponen a altos niveles de estos radicales.

Recientemente, la teoría de la hórmesis se ha extendido a los efectos antioxidantes del ejercicio físico propiciado por generación de EROs en concentraciones bajas y constantes.^{101, 168 4}

De esta manera, los hallazgos del estudio muestran que la práctica de Tai Chi tiene un efecto antioxidante y antiinflamatorio, lo cual apoya la propuesta de que

este tipo de ejercicio físico puede contribuir en la prevención y control de enfermedades crónicas en la vejez incluyendo a la enfermedad periodontal.

Finalmente, el gerodentólogo debe tener una visión global de los mecanismos biológicos involucrados en la enfermedad periodontal considerando el estrés oxidativo y el proceso inflamatorio crónico. Asimismo, es evidente que los estilos de vida saludables, además de la higiene bucal, son factores contribuyentes en el estado de salud bucodental en la vejez. Por tal motivo, los hallazgos del presente estudio apoyan la propuesta de recomendar la práctica periódica del Tai Chi como coadyuvante en la prevención y tratamiento de la enfermedad periodontal en adultos mayores.

XII. Conclusiones

Hipótesis

Considerando las evidencias científicas sobre el efecto benéfico del ejercicio físico sobre los marcadores de estrés oxidativo e inflamación crónica, se infiere que los adultos mayores que practiquen ejercicio físico moderado, presentarán menos enfermedad periodontal vinculada con el efecto antioxidante y antiinflamatorio, en comparación con los adultos mayores sedentarios.

Conclusiones

- Se demostró que la práctica de Tai Chi propicia un incremento significativo en la actividad antioxidante de la SOD, y consecuentemente en la actividad antioxidante total.
- Se encontró que el Tai Chi tiene un efecto antiinflamatorio vinculado con la disminución estadísticamente significativa de los niveles de IL-1 β .
- Nuestros hallazgos sugieren que la práctica periódica del Tai Chi tiene un efecto antioxidante y antiinflamatorio vinculado con la mejoría de la enfermedad periodontal.

XIII. Perspectivas

- Es conveniente incrementar el tamaño de la muestra y continuar el estudio para confirmar el mantenimiento del efecto antioxidante y antiinflamatorio del Tai Chi y su relación con la enfermedad periodontal.

- El estudio apoya la propuesta de indicar la práctica periódica de Tai Chi como coadyuvante en la prevención y control de la enfermedad periodontal en la vejez.

XIV. Referencias

1. Champagne CM, Buchanan W, Reddy MS, Preisser JS, Beck JD, Offenbacher S. Potential for gingival crevice fluid markers as predictors of risk for periodontal diseases. *Periodontol* 2000. 2003; 31:167– 80.
2. Tezal M, Uribe S. A lack of consensus in the measurement methods for and definition of periodontitis. *J Am Dent Assoc.* 2011; 142(6):666-7.
3. Madianos PN, Bobetsis YA, Kinane DF. Generation of inflammatory stimuli: how bacteria set up inflammatory responses in the gingiva. *J Clin Periodontol.* 2005; 32 Suppl 6:57-71.
4. Holt SC, Ebersole JL. *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, and *Tannerella forsythia*: the “red complex”, a prototype polybacterial pathogenic consortium in periodontitis. *Periodontol* 2000. 2005; 38:72-122.
5. Mahanonda R, Pichyangkul S. Toll-like receptors and their role in periodontal health and disease. *Periodontol* 2000. 2007; 43, 41-55
6. Graves DT, Oates T, Garlet GP. Review of osteoimmunology and the host response in endodontic and periodontal lesions. *J Oral Microbiol.* 2011; 17;3. doi: 10.3402/jom.v3i0.5304.
7. Page RC, Kornman KS. The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. *Periodontol* 2000. 1997; 14:9-11.
8. Machtei EE, Dunford R, Grossi SG, Genco RJ. Cumulative nature of periodontal attachment loss. *J Periodontal Res.* 1994; 29(5):361-4.
9. Payne W, Pafe R, Ogilvie A, Hall W. Histopathologic features of the initial and early stages of experimental gingivitis in man *J Periodontal Res.* 1975; 10(2):51-64.
10. Brex MC, Gautschi M, Gehr P, Lang NP. Variability of histologic criteria in clinically healthy human gingiva. *J Periodontal. Res* 1987; 22: 468–472.
11. Løe H, Theilade E, Jensen S. Experimental gingivitis in man. *J Periodontol.* 1965; 36:177-87.
12. Brex MC, Fröhlicher I, Gehr P, Lang NP. Stereological observations on long term experimental gingivitis in man. *J Clin Periodontol.* 1988; 15(10):621-7.
13. Lindhe J, Liljenberg B, Listgarten M. Some microbiological features of periodontal disease in man. *J Periodontol.* 1980; 51: 264–269.
14. Muller-Glauser W, Schroeder H. The pocket epithelium: a light and electron microscopic study. *J Periodontol.* 1982; 53: 133–144.
15. Niki E. Action of antioxidants against oxidative stress. In: Dizdaroglu M, Katarataya AE (Eds.) *Advances in DNA damage and repair.* New York: Kluwer Academic/ plenum publishers. 1999. p. 313-318.
16. Sies H. Oxidative Stress: Oxidants and Antioxidants. *Exp Physiol.* 1997; 82(2):291-5.
17. Sánchez-Rodríguez MA, Santiago-Osorio E, Vargas LA, Mendoza-Núñez VM Propuesta de un constructo para evaluar integralmente el estrés oxidativo. *Bioquim.* 2004; 29(3): 81-90
18. Halliwell B. Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease. *Am J Med.* 1991; 30, 91(3C):14S-22S.
19. Mc Cord J. The evolution of free radicals and oxidative stress. *Am J Med.* 2000; 108(8):652-9.
20. Halliwell B, Gutteridge JMC, Cross CE. Free radicals, antioxidants, and human disease: where are we now? *J Lab Clin Med* 1992; 119: 598-620
21. Gutteridge JM, Halliwell B. Free radicals and antioxidants in the year 2000. A historical look to the future. *Ann N Y Acad Sci.* 2000; 899: 136-47.
22. Dröge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev* 2002; 82: 48-95.
23. Ames BN, Shigenaga MK, Hagan TM. Oxidants, antioxidants and the degenerative diseases of aging. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993; 90: 7915–7922.
24. Rosado-Pérez J, Mendoza-Núñez VM. Mini revisión: inflamación crónica y estrés oxidativo en la diabetes mellitus. *Bioquimia,* 2007; 32(2):58-69
25. Halliwell B, Gutteridge JM. The definition and measurement of antioxidants in biological systems. *Free Radic Biol Med.* 1995; 18(1):125-6
26. Gutteridge JMC. Biological origin of free radicals, and mechanisms of antioxidant protection. *Chem-Biol Interact* 1994; 91: 133-140.
27. Moskovitz J, Yim BM, Chock BP. Free radicals and disease. *Arch Biochem Biophys.* 2002; 397(2):354-9.

28. Harman D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J Gerontol.* 1956; 11:298-300
29. Harman D. Free radical theory of ageing. *Antioxid Redox Signal.* 2003; 5(5):557-61.
30. Wei YH, Wu SB, Ma YS, Lee HC. Respiratory function decline and DNA mutation in mitochondria, oxidative stress and altered gene expression during aging. *Chang Gung Med J.* 2009; 32(2):113-32.
31. Dröge W. Oxidative stress and ageing: is ageing a cysteine deficiency syndrome? *Philos Trans R Soc* 2005; 360: 2355-72.
32. Chen JH, Hales CN, Ozanne SE. DNA damage, cellular senescence and organismal ageing: causal o correlative? *Nucleic Acids Res* 2007; 35: 7417-28.
33. Jones DP, Mody VC, Carlson JL, Lynn MJ, Sternberg P. Redox analysis of human plasma allows separation of pro-oxidant events of aging form decline in antioxidant defenses. *Free Radic Biol Med* 2002; 33: 1290-1300.
34. Jenkinson HF, Dymock D. The microbiology of periodontal disease. *Dent Update.* 1999; 26(5):191-7.
35. Fredriksson M, Gustafsson A, Asman B, Bergström K. Hyper-reactive peripheral neutrophils in adult periodontitis: generation of chemiluminescence and intracellular hydrogen peroxide after *in vitro* priming and FcyR stimulation. *J Clin Periodontol.* 1998; 25(5):394-8.
36. Alok Sharma, Swati Sharma. Reactive Oxygen Species and Antioxidants in Periodontics: A Review. *Int J Den Clin,* 2011;3(2):44-47
37. Chapple ILC, Matthews JB. The role of reactive oxygen and antioxidant species in periodontal tissue destruction. *Periodontol 2000.* 2007; 43 (1):160-232.
38. Lamont RJ, Jenkinson HF. Life below the gum line: pathogenic mechanisms of *Porphyromonas gingivalis*. *Microbiol Mol Biol Rev.* 1998; 62(4):1244-63.
39. Chapple IL, Mason GI, Garner I, Matthews JB, Thorpe GH, Maxwell SR, Whitehead TP. Enhanced chemiluminescent assay for measuring the total antioxidant capacity of serum, saliva and crevicular fluid. *Ann. Clin. Biochem.* 34, 412-421.
40. Chapple IL, Brock G, Eftimiadi C, Matthews JB. Glutathione in gingival crevicular fluid and its relation to local antioxidant capacity in periodontal health and disease. *Mol Pathol.* 2002; 55(6):367-73.
41. Diab-Ladki R, Pellat B, Chahine R. Decrease in the total antioxidant activity of saliva in patients with periodontal diseases. *Clin Oral Investig* 2003; 7:103 – 7.
42. Hernández M, Dutzan N, García-Sesnich J, Abusleme L, Dezerega A, Silva N, González FE, Vernal R, Sorsa T, Gamonal J. Host-pathogen interactions in progressive chronic periodontitis. *J Dent Res.* 2011; 90(10):1164-70. doi: 10.1177/0022034511401405.
43. Båge T, Kats A, Lopez BS, Morgan G, Nilsson G, Burt I, Korotkova M, Corbett L, Knox AJ, Pino L, Jakobsson PJ, Modéer T, Yucel-Lindberg T. Expression of prostaglandin E synthases in periodontitis immunolocalization and cellular regulation. *Am J Pathol.* 2011; 178(4):1676-88. doi: 10.1016/j.ajpath.2010.12.048.
44. Ohlrich EJ, Cullinan MP, Seymour GJ. The immunopathogenesis of periodontal disease. *Australian Dent J.* 2009; 54(Suppl 1), S2-S10
45. Serhan CN, Chiang N, Van Dyke TE. Resolving inflammation: dual anti-inflammatory and pro-resolution lipid mediators. *Nat Rev Immun.* 2008; 8, 349-361
46. Bartold PM, Cantley MD, Haynes DR. Mechanisms and control of pathologic bone loss in periodontitis. *Periodontol 2000.* 2010; 53, 55-69
47. Van Dyke TE, van Winkelhoff AJ. Infection and inflammatory mechanisms. *J Clinl Periodontol.* 2013; 40(Suppl 14), S1-S7
48. Flavell SJ, Hou TZ, Lax S, Filer AD, Salmon M, Buckley CD. Fibroblasts as novel therapeutic targets in chronic inflammation. *Br J Pharmacol.* 2008; 153 Suppl 1:S241-6.
49. Hormdee D, Nagasawa T, Kiji M, Yashiro R, Kobayashi H, Koshy G, Noguchi K, Nitta H, Ishikawa I. Protein kinase-A-dependent osteoprotegerin production on interleukin-1 stimulation in human gingival fibroblasts is distinct from periodontal ligament fibroblasts. *Clin Exp Immunol.* 2005 Dec; 142(3):490-7.
50. Laugisch O, Schacht M, Guentsch A, Kantyka T, Sroka A, Stennicke HR, Pfister W, Sculean A, Potempa J, Eick S. Periodontal pathogens affect the level of protease inhibitors in gingival crevicular fluid. *Mol Oral Microbiol.* 2012; 27(1):45-56. doi: 10.1111/j.2041-1014.2011.00631.x

51. Sorsa T, Tjäderhane L, Konttinen YT, Lauhio A, Salo T, Lee HM, Golub LM, Brown DL, Mäntylä P. Matrix metalloproteinases: contribution to pathogenesis, diagnosis and treatment of periodontal inflammation. *Ann Med.* 2006; 38(5):306-21.
52. Kida Y, Kobayashi M, Suzuki T, Takeshita A, Okamatsu Y, Hanazawa S, Yasui T, Hasegawa K. Interleukin-1 stimulates cytokines, prostaglandin E2 and matrix metalloproteinase-1 production via activation of MAPK/AP-1 and NF-kappaB in human gingival fibroblasts. *Cytokine.* 2005; 29(4):159-68.
53. Kim CH, Park YG, Noh SH, Kim YK. PGE2 induces the gene expression of bone matrix metalloproteinase-1 in mouse osteoblasts by cAMP-PKA signaling pathway. *Int J Biochem Cell Biol.* 2005; 37(2):375-85.
54. Verstappen J, Von den Hoff JW. Tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs): their biological functions and involvement in oral disease. *J Dent Res.* 2006; 85(12):1074-84.
55. Soell M, Elkaim R, Tenenbaum H. Cathepsin C, matrix metalloproteinases, and their tissue inhibitors in gingiva and gingival crevicular fluid from periodontitis-affected patients. *J Dent Res.* 2002; 81(3):174-8.
56. Braun T, Zwerina J. Positive regulators of osteoclastogenesis and bone resorption in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2011; 13(4):235. doi: 10.1186/ar3380.
57. Pfeilschifter J, Chenu C, Bird A, Mundy GR, Roodman GD. Interleukin-1 and tumor necrosis factor stimulate the formation of human osteoclastlike cells in vitro. *J Bone Miner Res.* 1989; 4(1):113-8.
58. Wei S, Kitaura H, Zhou P, Ross FP, Teitelbaum SL. IL-1 mediates TNF-induced osteoclastogenesis. *J Clin Invest.* 2005; 115(2):282-90.
59. Brechter AB, Lerner UH. Bradykinin potentiates cytokine-induced prostaglandin biosynthesis in osteoblasts by enhanced expression of cyclooxygenase 2, resulting in increased RANKL expression. *Arthritis Rheum.* 2007; 56(3):910-23.
60. Axmann R, Böhm C, Krönke G, Zwerina J, Smolen J, Schett G. Inhibition of interleukin-6 receptor directly blocks osteoclast formation in vitro and in vivo. *Arthritis Rheum.* 2009; 60(9):2747-56. doi: 10.1002/art.24781.
61. Blackwell KA, Raisz LG, Pilbeam CC. Prostaglandins in bone: bad cop, good cop? *Trends Endocrinol Metab.* 2010; 21(5):294-301. doi: 10.1016/j.tem.2009.12.004.
62. Akalin FA, Toklu E, Renda N. Analysis of superoxide dismutase activity levels in gingiva and gingival crevicular fluid in patients with chronic periodontitis and periodontally healthy controls. *J Clin Periodontol.* 2005; 32(3):238-43.
63. Tüter G, Kurtiş B, Serdar M. Interleukin-1beta and thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) levels after phase I periodontal therapy in patients with chronic periodontitis. *J Periodontol.* 2001; 72(7):883-8.
64. Borges I Jr, Moreira EA, Filho DW, de Oliveira TB, da Silva MB, Fröde TS. Proinflammatory and oxidative stress markers in patients with periodontal disease. *Mediators Inflamm.* 2007; 2007:45794. doi: 10.1155/2007/45794
65. Kim SC, Kim OS, Kim OJ, Kim YJ, Chung HJ. Antioxidant profile of whole saliva after scaling and root planing in periodontal disease. *J Periodontal Implant Sci.* 2010; 40(4):164-71. doi: 10.5051/jpis.2010.40.4.164.
66. Canakci CF, Cicek Y, Yildirim A, Sezer U, Canakci V. Increased levels of 8-hydroxydeoxyguanosine and malondialdehyde and its relationship with antioxidant enzymes in saliva of periodontitis patients. *Eur J Dent.* 2009; 3(2):100-6
67. Guentsch A, Preshaw PM, Bremer-Streck S, Klinger G, Glockmann E, Sigusch BW. Lipid peroxidation and antioxidant activity in saliva of periodontitis patients: effect of smoking and periodontal treatment. *Clin Oral Investig.* 2008; 12(4):345-52. doi: 10.1007/s00784-008-0202-z.
68. Brock GR, Butterworth CJ, Matthews JB, Chapple IL. Local and systemic total antioxidant capacity in periodontitis and health. *J Clin Periodontol* 2004; 31: 515–521
69. Wei D, Zhang XL, Wang YZ, Yang CX, Chen G. Lipid peroxidation levels, total oxidant status and superoxide dismutase in serum, saliva and gingival crevicular fluid in chronic periodontitis patients before and after periodontal therapy. *Australian Dental Journal* 2010; 55: 70–78 doi: 10.1111/j.1834-7819.2009.01123.x.

70. Akalin FA, Baltacıoğlu E, Alver A, Karabulut E. Lipid peroxidation levels and total oxidant status in serum, saliva and gingival crevicular fluid in patients with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 2007; 34: 558–565
71. Ergun S, Troşala SC, Warnakulasuriya S, Özel S, Önal AE, Ofluoğlu D, Güven Y, Tanyeri H. Evaluation of oxidative stress and antioxidant profile in patients with oral lichen planus. *J Oral Pathol Med*. 2011; 40: 286–293 doi: 10.1111/j.1600-0714.2010.00955.x.
72. Grat MM, Brock GR, Matthews JB, Chapple IL. Crevicular fluid glutathione levels in periodontitis and the effect of non-surgical therapy. *J Clin Periodontol*. 2010; 37(1):17-23. doi: 10.1111/j.1600-051X.2009.01504.x.
73. Takane M, Sugano N, Ezawa T, Uchiyama T, Ito K. A marker of oxidative stress in saliva: association with periodontally-involved teeth of a hopeless prognosis. *Journal of Oral Science* 2005; 47(1): 53-7
74. Sawamoto Y, Sugano N, Tanaka H, Ito K. Detection of periodontopathic bacteria and an oxidative stress marker in saliva from periodontitis patients. *Oral Microbiology Immunology* 2005; 20: 216–220
75. Chapple IL, Brock GR, Milward MR, Ling N, Matthews JB. Compromised GCF total antioxidant capacity in periodontitis: cause or effect? *J Clin Periodontol*. 2007; 34(2):103-10.
76. Sculley DV, Langley-Evans SC. Periodontal disease is associated with lower antioxidant capacity in whole saliva and evidence of increased protein oxidation. *Clin Sci (Lond)*. 2003; 105(2):167-72.
77. Su H, Gornitsky M, Velly AM, Yu H, Benarroch M, Schipper HM. Salivary DNA, lipid, and protein oxidation in nonsmokers with periodontal disease. *Free Radical Bio Med* 46 (2009) 914–921
78. Takane M, Sugano N, Iwasaki H, Iwano Y, Shimizu N, Ito K. New biomarker evidence of oxidative DNA damage in whole saliva from clinically healthy and periodontally diseased individuals. *J Periodontol*. 2002; 73(5):551-4.
79. Canakçi CF, Tatar A, Canakçi V, Cicek Y, Oztas S, Orbak R. New Evidence of Premature Oxidative New Evidence of Premature Oxidative Deletion in Gingival Tissue of Patients With Periodontitis. *J Periodontol*. 2006; 77(11): 1894-900.
80. Holmlund A, Hänström L, Lerner UH. Bone resorbing activity and cytokine levels in gingival crevicular fluid before and after treatment of periodontal disease. *J Clin Periodontol*. 2004 Jun; 31(6):475-82.
81. Skaleric U, Manthey CM, Mergenhagen SE, Gaspirc B, Wahl SM. Superoxide release and superoxide dismutase expression by human gingival fibroblasts. *Eur J Oral Sci*. 2000; 108(2):130-5.
82. Sánchez-Hernández PE, Zamora-Perez AL, Fuentes-Lerma M, Robles-Gómez C, Mariaud-Schmidt RP, Guerrero-Velázquez C. IL-12 and IL-18 levels in serum and gingival tissue in aggressive and chronic periodontitis. *Oral Dis*. 2011; 17(5):522-9. doi: 10.1111/j.1601-0825.2011.01798.x.
83. D'Aiuto F, Nibali L, Parkar M, Patel K, Suvan J, Donos N. Oxidative stress, systemic inflammation, and severe periodontitis. *J Dent Res*. 2010; 89(11):1241-6. doi: 10.1177/0022034510375830.
84. Trindade SC, Olczak T, Gomes-Filho IS, Moura-Costa LF, Cerqueira EM, Galdino-Neto M, Alves H, Carvalho-Filho PC, Xavier MT, Meyer R. Induction of interleukin (IL)-1 β , IL-10, IL-8 and immunoglobulin G by *Porphyromonas gingivalis* HmuY in humans. *J Periodontal Res*. 2012; 47(1):27-32. doi: 10.1111/j.1600-0765.2011.01401.x.
85. Trindade SC, Olczak T, Gomes-Filho IS, Moura-Costa LF, Cerqueira EM, Galdino-Neto M, Alves H, Carvalho-Filho PC, Xavier MT, Meyer R. Induction of interleukin (IL)-1 β , IL-10, IL-8 and immunoglobulin G by *Porphyromonas gingivalis* HmuY in humans. *J Periodontal Res*. 2012; 47(1):27-32. doi: 10.1111/j.1600-0765.2011.01401.x.
86. Winkler O, Hadnagy W, Idel H. Cytokines detectable in saliva of children as appropriate markers of local immunity of the oral cavity--an approach for the use in air pollution studies. *Int J Hyg Environ Health*. 2001; 204(2-3):181-4.
87. Rosalem W, Rescala B, Teles RP, Fischer RG, Gustafsson A, Figueredo CM. Effect of non-surgical treatment on chronic and aggressive periodontitis: clinical, immunologic, and microbiologic findings. *J Periodontol*. 2011; 82(7):979-89. doi: 10.1902/jop.2011.100579.

88. Duarte PM, da Rocha M, Sampaio E, Mestnik MJ, Feres M, Figueiredo LC, Bastos MF, Faveri M. Serum Levels of Cytokines in Subjects With Generalized Chronic and Aggressive Periodontitis Before and After Non-Surgical Periodontal Therapy: A Pilot Study. *J Periodontol.* 2010; 81(7):1056-63
89. Goutoudi P, Diza E, Arvanitidou M. Effect of periodontal therapy on crevicular fluid interleukin-6 and interleukin-8 levels in chronic periodontitis. *Int J Dent.* 2012; 2012:362905. doi: 10.1155/2012/362905.
90. Yoon AJ, Cheng B, Philipone E, Turner R, Lamster IB. Inflammatory biomarkers in saliva: assessing the strength of association of diabetes mellitus and periodontal status with the oral inflammatory burden. *J Clin Periodontol.* 2012; 39(5):434-40.
91. Gonzalez-Chávez A, Becerra-Pérez A, Carmona-Solís FK, Cerezo-Goiz IA, Hernández-y Hernández H, Lara-Esqueda A. Ejercicio físico para la salud. *Rev Mex Cardiol* 2001; 12:168-80.
92. Silverthorn DU, Ober WC, Garrison CW, Silverthorn AC, Johnsons BR. *Fisiología humana, en enfoque integrado.* 4^a ed. Buenos Aires: Ed. Medica Panamericana 2008; p. 807-20.
93. Warburton DE, Nicol CW, Bredin SS. Health benefits of physical activity: the evidence. *CMAJ.* 2006; 174(6):801-9.
94. Armstrong RB, Ogilvie RW, Schwane JA. Eccentric exercise-induced injury to rat skeletal muscle. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol.* 1983; 54(1):80-93.
95. Jackson M J. Muscle damage during exercise: possible role of free radicals and protective effect of vitamin E. *Proc Nutr Soc.* 1987; 46(1):77-80.
96. Chance B, Sies H, Boveris A. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs *Physiol Rev.* 1979; 59(3):527-605.
97. Gómez-Cabrera MC, Pallardó FV, Sastre J, Viña J, García-del-Moral L. Allopurinol and markers of muscle damage among participants in the Tour de France. *JAMA.* 2003; 289(19):2503-4.
98. Gomez-Cabrera MC, Martínez A, Santangelo G, Pallardó FV, Sastre J, Viña J. Oxidative stress in marathon runners: interest of antioxidant supplementation. *Br J Nutr.* 2006; 96 Suppl 1:S31-3.
99. Brigelius-Flohé R, Maiorino M. Glutathione peroxidases. *Biochim Biophys Acta.* 2013; 1830(5):3289-303. doi: 10.1016/j.bbagen.2012.11.020.
100. Calabrese EJ, Baldwin LA. Hormesis: the dose-response revolution. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2003;43:175-97
101. Radak Z, Chung HY, Goto S. Exercise and hormesis: oxidative stress-related adaptation for successful aging. *Biogerontol.* 2005; 6(1):71-5.
102. Ji LL, Gomez-Cabrera MC, Vina J. Exercise and hormesis: activation of cellular antioxidant signaling pathway. *Ann N Y Acad Sci.* 2006; 1067:425-35.
103. Andrade FH, Reid MB, Westerblad H. Contractile response of skeletal muscle to low peroxide concentrations: myofibrillar calcium sensitivity as a likely target for redox-modulation. *FASEB J.* 2001; 15(2):309-11.
104. Salminen A, Vihko V. Lipid peroxidation in exercise myopathy. *Exp Mol Pathol.* 1983; 38(3):380-8.
105. Hollander J, Fiebig R, Gore M, Ookawara T, Ohno H, Ji LL. Superoxide dismutase gene expression is activated by a single bout of exercise in rat skeletal muscle. *Pflugers Arch.* 2001; 442(3):426-34.
106. Baeuerle PA, Baltimore D. Activation of DNA-binding activity in an apparently cytoplasmic precursor of the NF-kappa B transcription factor. *Cell.* 1988; 53(2):211-7
107. Laughlin MH, Simpson T, Sexton WL, Brown OR, Smith JK, Korthuis RJ. Skeletal muscle oxidative capacity, antioxidant enzymes, and exercise training. *J Appl Physiol* (1985). 1990; 68(6):2337-43.
108. Yu BP, Chung HY. Adaptive mechanisms to oxidative stress during aging. *Mech Ageing Dev.* 2006; 127(5):436-43.
109. Harper ME, Bevilacqua L, Hagopian K, Weindruch R, Ramsey JJ. Ageing, oxidative stress, and mitochondrial uncoupling. *Acta Physiol Scand.* 2004; 182(4):321-31.
110. Jackson MJ. Reactive oxygen species and redox-regulation of skeletal muscle adaptations to exercise. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2005; 360(1464):2285-91.
111. Colbert LH, Visser M, Simonsick EM, Tracy RP, Newman AB, Kritchevsky SB, Pahor M, Taaffe DR, Brach J, Rubin S, Harris TB. Physical activity, exercise, and inflammatory markers in older

- adults: findings from the Health, Aging and Body Composition Study. *J Am Geriatr Soc.* 2004; 52(7):1098-104.
112. Kohut ML, McCann DA, Russell DW, Konopka DN, Cunnick JE, Franke WD, Castillo MC, Reighard AE, Vanderah E. Aerobic exercise, but not flexibility/resistance exercise, reduces serum IL-18, CRP, and IL-6 independent of beta-blockers, BMI, and psychosocial factors in older adults. *Brain Behav Immun.* 2006 May;20(3):201-9.
113. Mathur N, Pedersen BK. Exercise as a mean to control low-grade systemic inflammation. *Mediators Inflamm.* 2008; 2008:109502. doi: 10.1155/2008/109502.
114. Pedersen BK, Febbraio MA. Muscle as an endocrine organ: focus on muscle-derived interleukin-6. *Physiol Rev.* 2008; 88(4):1379-406. doi: 10.1152/physrev.90100.2007.
115. Petersen AM, Pedersen BK. The anti-inflammatory effect of exercise. *J Appl Physiol* (1985). 2005 Apr; 98(4):1154-62.
116. Li JX, Hong Y, Chan KM. Tai Chi: physiological characteristics and beneficial effects on health. *Br J Sports Med* 2001; 35:148-156.
117. Ospina MB, Bond TK, Karkhaneh M, Tjosvold L, Vandermeer B, Liang Y, Bialy L, Hooton N, Buscemi N, Dryden DM, Klassen TP. *Meditation Practices for Health: State of the Research. Evidence Report/Technology Assessment No. 155.* Rockville, MD: Agency for Healthcare Research and Quality. 2007; 43-4.
118. Verhagen AP, Immink M, van der Meulen A, Bierma-Zeinstra SMA. The efficacy of Tai Chi Chuan in older adults: a systematic review. *Fam Pract* 2004; 21:107-113.
119. Yan JH, Downing JH. Tai Chi: an alternative exercise form for seniors. *J Aging Phys Act* 1998; 6: 350-362.
120. Wang C, Collet P, Lau J. The effect of Tai Chi on health outcomes in patients with chronic conditions. *Arch Med Inter Med* 2004; 164: 493-501.
121. Campisi G, Chiapelli M, Martinis MD, Franco V, Ginaldi L, Guiglia R, Licastro F, Lio D. Pathophysiology of age, related diseases. *Immun Ageing.* 2009, 6:12
122. Al-Zahrani MS, Borawski EA, Bissada NF. Increased physical activity reduces prevalence of periodontitis. *J Dent.* 2005; 33:703-710.
123. Bawadi HA, Khader YS, Haroun TF, Al-Omari M, Tayyem RF. The association between periodontal disease, physical activity and healthy diet among adults in Jordan. *J Periodontal Res.* 2011; 46(1):74-81. doi: 10.1111/j.1600-0765.2010.01314.x.
124. Jentzsch A, Bachmann H, Fürst P, Bielsalski H. Improved analysis of malondialdehyde in human body fluids. *Free Radic Biol Med* 1996; 20: 251-256.
125. Jentzsch A, Bachmann H, Fürst P, Bielsalski H. Improved analysis of malondialdehyde in human body fluids. *Free Radic Biol Med* 1996; 20: 251-256.
126. Johnsen DL, DeLany JP, Frisard MI, Welsh MA, Ravussin E. Physical activity in aging. *J Appl Physiol* 2008; 105: 495-501.
127. Li JX, Y Hong, K M Chan. Tai chi: physiological characteristics and beneficial effects on health. *Br J Sports Med* 2001 35: 148-156 doi: 10.1136/bjism.35.3.148
128. Goon JA, Aini AH, Musalmah M, Anum MY, Nazaimoon WM, Ngah WZ. Effect of Tai Chi exercise on DNA damage, antioxidant enzymes, and oxidative stress in middle-age adults. *J Phys Act Health.* 2009; 6(1):43-54.
129. Rosado-Pérez J, Santiago-Osorio E, Ortiz R, Mendoza-Núñez VM. Tai chi diminishes oxidative stress in Mexican older adults. *J Nutr Health Aging.* 2012; 16(7):642-6.
130. Rosado-Pérez J, Ortiz R, Santiago-Osorio E, Mendoza-Núñez VM. Effect of Tai Chi versus walking on oxidative stress in Mexican older adults. *Oxid Med Cell Longev.* 2013; 29(8):590. doi: 10.1155/2013/298590.
131. Gomez-Cabrera MC, Domenech E. Moderate exercise is an antioxidant: upregulation of antioxidant genes by training. *Free Radic Biol Med* 2008; 44: 126-131.
132. Waddington RJ, Embery G, Smith AJ. Immunochemical detection of the proteoglycans decorin and biglycan in human gingival crevicular fluid from sites of advanced periodontitis. *Arch Oral Biol* 1998; 43: 287-295.
133. Waddington RJ, Moseley R, Embery G. Reactive oxygen species: a potential role in the pathogenesis of periodontal diseases. *Oral Dis* 2000; 6: 138-151.
134. Rittie L, Monbiosse J-C, Gorisse M-C, Gillery P. Malondialdehyde binding to proteins dramatically alters fibroblast functions. *J Cell Physiol* 2002; 191: 227-236
-

135. Jimi E, Aoki K, Saito H, D'Acquisto F, May MJ, Nakamura I, Sudo T, Kojima T, Okamoto F, Fukushima H, Okabe K, Ohya K, Ghosh S. Selective inhibition of NF- κ B blocks osteoclastogenesis and prevents inflammatory bone destruction in vivo. *Nat Med* 2004; 10: 617–624.
136. Pozo P, Valenzuela MA, Melej C, Zaldivar M, Puente J, Martinez B, Gamonal J. Longitudinal analysis of metalloproteinases, tissue inhibitors of metalloproteinases and clinical parameters in gingival crevicular fluid from periodontitis-affected patients. *J Periodontol* 2005; 40: 199–207.
137. Ji LL. Exercise-induced modulation of antioxidant defense. *Ann N Y Acad Sci.* 2002 Apr;959:82–92.
138. Sen CK. Oxidants and antioxidants in exercise. *J Appl Physiol* 1995;79:675–86.
139. Ji LL. Exercise at old age: does it increase or alleviate oxidative stress? *Ann N Y Acad Sci.* 2001 Apr;928:236–47.
140. Moore S, Calder KA, Miller NJ, Rice Evans CA. Antioxidant activity of saliva and periodontal disease. *Free Radic Res* 1994;21(6):417– 25
141. Chapple, I. L. C., Mason, G. I., Garner, I., Matthews, J. B., Thorpe, G. H., Maxwell, S. R. J. and Whitehead, T. P. (1997) Enhanced chemiluminescent assay for measuring the total antioxidant capacity of serum, saliva and crevicular fluid. *Ann. Clin. Biochem.* 34, 412–421
142. Chapple, I. L. C., Brock, G., Eftimiadi, C., and Mathews, J. B. (2002) Glutathione in gingival crevicular fluid and its relation to local antioxidant capacity in periodontal health and disease. *J. Clin. Pathol: Mol. Pathol.* 55, 367–363
143. García BE, García JC, Broche F, Rodríguez P, Rodríguez V, Saldaña A. La peroxidación lipídica en la enfermedad periodontal inflamatoria experimental. *Rev Cubana Estomatol* 1998;35:25-9.
144. Gustafson A, Asman B. Increased of free oxygen radicals from peripheral neutrophils in adult periodontitis after Fc γ -receptor stimulation. *J Clin Periodontol* 1996; 23:38-44.
145. Silva, T.A. et al. (2007) Chemokines in oral inflammatory diseases: apical periodontitis and periodontal disease. *Journal of Dental Research* 86, 306-319
146. Bartold, P.M., Cantley, M.D. and Haynes, D.R. (2010) Mechanisms and control of pathologic bone loss in periodontitis. *Periodontology* 2000 53, 55-69
147. Graves DT, Cochran D. The contribution of interleukin-1 and tumor necrosis factor to periodontal tissue destruction. *J Periodontol.* 2003; 74(3):391-401.
148. Madianos, P.N., Bobetsis, Y.A. and Kinane, D.F. (2005) Generation of inflammatory stimuli: how bacteria set up inflammatory responses in the gingiva. *Journal of Clinical Periodontology* 32(Suppl 6), 57-71
149. Beavers KM, Ambrosius WT, Nicklas BJ, Rejeski WJ. Independent and combined effects of physical activity and weight loss on inflammatory biomarkers in overweight and obese older adults. *J Am Geriatr Soc.* 2013 Jul;61(7):1089-94. doi: 10.1111/jgs.12321.
150. Sanders AE, Slade GD, Fitzsimmons TR, Bartold PM. Physical activity, inflammatory biomarkers in gingival crevicular fluid and periodontitis. *J Clin Periodontol* 2009; 36:388-395.
151. Pedersen BK, Febbraio MA. Muscle as an Endocrine Organ: Focus on Muscle-Derived Interleukin-6. *Physiol Rev* 88. 2008; 1379–1406. doi:10.1152/physrev.90100.2007. 2008
152. Febbraio MA, Pedersen BK. Contraction-induced myokine production and release: is skeletal muscle an endocrine organ? *Exerc Sport Sci Rev* 33: 114–119, 2005.
153. Fischer CP. Interleukin-6 in acute exercise and training: what is the biological relevance? *Exercise Immunol Rev* 12: 6–33, 2006
154. Bartoccioni E, Michaelis D, Hohlfeld R. Constitutive and cytokine-induced production of interleukin-6 by human myoblasts. *Immunol Lett* 42: 135–138, 1994.
155. Yan SF, Tritto I, Pinsky D, Liao H, Huang J, Fuller G, Brett J, May L, Stern D. Induction of interleukin 6 (IL-6) by hypoxia in vascular cells. Central role of the binding site for nuclear factor-IL-6. *J Biol Chem* 270: 11463–11471, 1995.
156. De Rossi M, Bernasconi P, Baggi F, de Waal MR, Mantegazza R. Cytokines and chemokines are both expressed by human myoblasts: possible relevance for the immune pathogenesis of muscle inflammation. *Int Immunol* 12: 1329–1335, 2000
157. Klouche M, Bhakdi S, Hemmes M, Rose-John S. Novel path to activation of vascular smooth muscle cells: up-regulation of gp130 creates an autocrine activation loop by IL-6 and its soluble receptor. *J Immunol* 163: 4583–4589, 1999.

158. Langberg H, Olesen J, Gemmer C, Kjaer M. IL-6 production in various types of tissues as measured by microdialysis in response to exercise in humans. *J Physiol* 539P, 2002.
159. Publio Giovanni Saavedra Ramírez, Gloria María Vásquez Duque, Luis Alonso González Naranjo. Interleucina-6: ¿amiga o enemiga? Bases para comprender su utilidad como objetivo terapéutica. *IATREIA*, 2011; 24(2) 51-9.
160. López-Diazguerrero NE, González Puertos VY, Hernández-Bautista RJ, Alarcón-Aguilar A, Luna-López A, Königsberg Fainstein M. Hormesis: What doesn't kill you makes you stronger. *Gac Med Mex*. 2013 Jul-Aug;149(4):438-47.
161. Vincent, H. K.; Powers, S. K.; Stewart, D. J.; Demirel, H. A.; Shanely, R. A.; Naito, H. Short-term exercise training improves diaphragm antioxidant capacity and endurance. *Eur. J. Appl. Physiol.* 81:67–74; 2000
162. Elosua R, Molina L. Response of oxidative stress biomarkers to a 16-week aerobic physical activity program, and to acute physical activity, in healthy young men and women. *Atheroscler.* 2003; 167, 327-334.
163. Pattwell, D. M.; McArdle, A.; Morgan, J. E.; Patridge, T. A.; Jackson, M. J. Release of reactive oxygen and nitrogen species from contracting skeletal muscle cells. *Free Radic. Biol. Med.* 2004; 37:1064–1072.
164. Scott K, Powers W, Bradley N, Matthew BH. Exercise-induced oxidative stress in humans: Cause and consequences. *Free Radical Biol Med.* 2011; 51, 942–950
165. Zuo, L.; Christofi, F. L.; Wright, V. P.; Bao, S.; Clanton, T. L. Lipoxxygenasedependent superoxide release in skeletal muscle. 2004; *J. Appl. Physiol.* 97:661–668.
166. Nethery, D.; Callahan, L. A.; Stofan, D.; Mattera, R.; DiMarco, A.; Supinski, G. PLA (2) dependence of diaphragm mitochondrial formation of reactive oxygen species. *J. Appl. Physiol.* 2000; 89:72–80.
167. Gong, M. C.; Arbogast, S.; Guo, Z.; Mathenia, J.; Su, W.; Reid, M. B. Calciumindependent phospholipase A2 modulates cytosolic oxidant activity and contractile function in murine skeletal muscle cells. *J. Appl. Physiol.* 2006; 100: 399–405.
168. Radak, Z.; Chung, H. Y.; Goto, S. Exercise and hormesis: oxidative stress related adaptation for successful aging. *Biogerontology* 6:71–75; 2005.

XV. Anexos

ANEXO XVII. 1 CONSENTIMIENTO BAJO INFORMACIÓN



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA
UNIDAD DE INVESTIGACIÓN EN GERONTOLOGÍA



EFFECTO DEL TAI CHI EN LA SALUD DE ADULTOS MAYORES CARTA DE CONSENTIMIENTO BAJO INFORMACIÓN

Antecedente

La actividad física tiene un efecto benéfico en la salud y bienestar de la persona. Las investigaciones demuestran que la práctica regular de ejercicio tiene efectos protectores en diferentes órganos y sistemas incluyendo los tejidos de soporte de la cavidad oral.

El ejercicio físico regular representa un método para limitar la inflamación. Existe evidencia creciente de que el ejercicio físico tiene, entre otros beneficios, un efecto anti-inflamatorio y bajas probabilidades de tener niveles elevados de PCR y leucocitos

Objetivo

Conocer el efecto de un programa de ejercicio en la salud de adultos mayores.

Condiciones para ingresar al estudio

- Edad 60 – 74 años
- Sin distinción del sexo.
- Clínicamente sanos o con enfermedades crónico-degenerativas controladas.
- Compromiso de realizar 1h de Tai-Chi de lunes a viernes durante 6 meses.
- Firmar o poner la huella digital en la carta de consentimiento informado.

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

El programa de Tai Chi será llevado a cabo por personal calificado.

Beneficios

Las pruebas **no tendrán ningún costo** y los resultados de glucosa, perfil lipídico, biometría hemática, así como los de la revisión odontológica 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 tengan los participantes durante el tiempo que de la investigación, la podrán consultar con su médico tratante y con los integrantes de la Unidad de Investigación en Gerontología.

Derecho a rehusar

La aceptación a participar en este estudio es enteramente **VOLUNTARIA**. 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 TAI CHI EN LA SALUD DE 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):

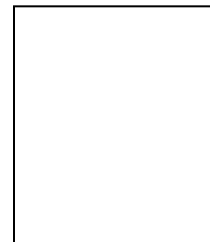
Nombre y firma del investigador:

C. D. Beatriz Hernández Monjaraz

México, D.F. a ____ de _____ del 2013.

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.

Para cualquier duda o aclaración, puede contactar al responsable del proyecto:



Dr. Víctor Manuel Mendoza Núñez. Unidad de Investigación en Gerontología, FES Zaragoza, UNAM. Batalla 5 de mayo s/n, esq. Fuerte de Loreto. Col. Ejército de Oriente, 09230, México, D.F. Teléfono: 56230700, ext. 39182. E-mail: mendovic@servidor.unam.mx

**ANEXO XVII. 2
ÍNDICE DE HIGIENE ORAL SIMPLIFICADO**



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

ÍNDICE DE HIGIENE ORAL SIMPLIFICADO (IHOS)



Nombre: _____ Edad: _____ Sexo: _____ Fecha de evaluación: _____ Folio: _____

IPDB-S		
16	11	26
		Total
46	31	36

IC-S		
16	11	26
		Total
46	31	36

Criterios de clasificación PDB

0	Ausencia de PDB o mancha extrínseca.
1	Presencia de PDB cubriendo hasta 1/3 de la superficie.
2	Presencia de PDB cubriendo más de 1/3 pero no más de 2/3 de la superficie.
3	Presencia de PDB cubriendo más de 2/3 de la superficie.

IPDB-S	IC-S	IHO-S

Condición	Parámetro
Buena	0.0 – 1.2
Regular	1.3 – 3.0
Mala	3.1 – 6.0

Criterios de clasificación Cálculo

0	Ausencia de cálculo supra subgingival
1	Presencia de cálculo supragingival cubriendo hasta 1/3 de la superficie.
2	Presencia de cálculo supragingival cubriendo más de 1/3 pero no más de 2/3 de la superficie.
3	Presencia de cálculo supragingival cubriendo más de 2/3 partes de la superficie o bien presencia de cálculo subgingival en banda.

Observaciones: _____

Evaluador(a): _____

Supervisor(a): _____

ANEXO 3 ÍNDICE PERIODONTAL DE RAMFJORD



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



ÍNDICE DE ENFERMEDAD PERIODONTAL DE RAMFJORD (IEP)

Nombre: _____ Edad: _____ Sexo: _____ Fecha de evaluación: _____ Folio: _____

Diente	V	MV	L	DL	IEP
16					
21					
24					
36					
41					
44					

Códigos y criterios del IEP	
0	Ausencia de signos de inflamación
1	Inflamación leve o moderada que no se extiende por completo alrededor del diente.
2	Inflamación leve o moderada que se extiende alrededor del diente.
3	Gingivitis severa, que se caracteriza por un marcado entorpecimiento, ulceración y tendencia a la hemorragia.
4	Hasta 3 mm de prolongación apical del surco a partir de la unión amelocementaria.
5	De 3 a 6 mm de prolongación apical del surco a partir de la unión amelocementaria.
6	De más de 6 mm de prolongación apical del surco a partir de la unión amelocementaria.

Parámetros para la comparación de la condición clínica del valor del IEP de Ramfjord	
0	Ausencia de signos de inflamación.
1	Gingivitis leve o moderada localizada.
2	Inflamación leve o moderada generalizada.
3	Gingivitis severa.
4	Presencia de bolsas periodontales hasta de 3 mm.
5	Presencia de bolsas periodontales hasta de 3 a 6 mm.
6	Presencia de bolsas periodontales de más de 6 mm.

Observaciones: _____ Supervisor(a): _____
Evaluador(a): _____

ANEXO XVII. 4.

BITÁCORA PARA LA REALIZACIÓN DE LA FORMA 8 DEL TCC

Calentamiento

El calentamiento es el primer paso de cualquier rutina de ejercicio. Es indispensable que siempre se lleve a cabo ya que prepara al cuerpo para esfuerzos mayores porque:

- Eleva la temperatura corporal PONER PUNTO AL FINAL DE CADA FRASE.
- Eleva la frecuencia cardiaca
- Mejora la distribución de oxígeno y nutrimentos necesarios para llevar a cabo la actividad física
- Mejora la contractilidad del músculo
- Mejora la elasticidad de todos los tejidos blandos con lo que se previenen lesiones.

Para calentar adecuadamente se necesita un tiempo mínimo de 10 min, a fin de tomar en consideración todas las partes del cuerpo, y movilizar la mayor cantidad de articulaciones. Es necesario llevar a cabo una sistematización por lo que a continuación sugerimos la siguiente rutina que debe empezar con la cabeza y terminar con los pies. Algunos entrenadores sugieren realizarla en sentido contrario.

Todos los movimientos implican la realización de varias repeticiones y su número depende del tiempo que se disponga para el calentamiento; de esta manera se pueden hacer 8, 10, o más repeticiones. La actividad que se realiza para el calentamiento debe empezar suavemente y poco a poco incrementar la intensidad sin llegar a ser brusca.

La posición inicial debe ser parada con los pies ligeramente separados a una distancia paralela a los hombros. En algunos movimientos las manos se pueden poner en la cintura ya que proporciona seguridad, o dejar los brazos a lo largo del cuerpo realizando un balance natural.

Cabeza

1. Decir que sí: Flexión y extensión de la cabeza hacia delante y hacia atrás (en el caso de los adultos mayores no es conveniente llevar la cabeza exageradamente hacia atrás, ya que se puede perder el equilibrio y caer).
2. Decir que no: movimientos laterales de la cabeza hacia la izquierda y hacia la derecha. Pedir a los adultos mayores que no arrastren la mirada porque también se provoca mareo, por lo tanto deben de mirar hacia un punto fijo cada vez que volteen la cabeza.
3. Rodar la cabeza sobre los hombros, primero hacia la derecha y luego hacia la izquierda.

Brazos

1. Encoger los hombros: colocar las manos en la cintura, levantar los hombros, subirlos y bajarlos suavemente, haciendo las repeticiones establecidas.
2. Rodar los hombros: en la misma posición llevar los hombros hacia adelante rodándolos y posteriormente rodarlos hacia atrás haciendo el mismo número de repeticiones.

3. Estirar los brazos alternadamente (primero uno y luego el otro) hacia arriba de la cabeza, hacer las repeticiones y luego llevarlos hacia adelante, tratando de alcanzar la mayor distancia posible.

4. Flexión de codos: con los brazos a lo largo del cuerpo, flexionar y estirar los codos. Este movimiento se puede realizar simultáneamente ambos brazos o primero uno y después el otro.

Manos

1. Con los brazos extendidos, flexionar y extender las muñecas con los puños cerrados y después con las manos abiertas.

2. En la misma posición mover las muñecas como si se estuvieran agitando los dados para tirarlos.

3. Abrir y cerrar las manos (haciendo un puño), contrayendo vigorosamente los músculos de las manos.

4. Separar y juntar los dedos de las manos.

5. Mover las muñecas en forma rotatoria, hacia afuera y luego hacia adentro.

Columna torácica, dorsal y lumbar

6. De pie, se flexiona la columna hacia adelante hasta alcanzar aproximadamente 90°. Hacer los movimientos de flexión y extensión suavemente. Aquí es necesario mantener siempre la vista hacia adelante y no bajar la cabeza ni mirar hacia el suelo; esta instrucción es especialmente importante para los diabéticos u otros pacientes con diagnóstico de retinopatía, ya que la atracción de la gravedad puede ayudar al desprendimiento de la retina.

7. Con las manos en la cintura flexionar el cuerpo lateralmente hacia la derecha y luego hacia la izquierda.

8. Poner las manos a los lados de la cabeza por atrás de las orejas y repetir la flexión lateral hacia la derecha y luego hacia la izquierda

9. Subir las manos colocando los brazos a los lados de la cabeza y tomar el pulgar de una mano con la otra; hacer las flexiones laterales jalando con una mano la otra, a fin de que se hagan más pronunciadas las flexiones. Aquí se puede utilizar un bastón (palo de escoba de 60-70 cm de largo aproximadamente en lugar de agarrarse el dedo de la otra mano.

10. Con los brazos estirados en igual posición a la anterior, girar el cuerpo hacia la derecha y luego hacia la izquierda.

Cadera, rodillas y tobillos

1. Con las manos en la cintura y los pies ligeramente abiertos, flexionar y estirar ligeramente la cadera y las rodillas.

2. Con las manos en la cintura levantar y bajar hacia delante la pierna derecha doblando la cadera y la rodilla, hacer las repeticiones establecidas y luego realizar el movimiento con la otra pierna. Al inicio del programa de entrenamiento se puede hacer este movimiento alternadamente: una flexión con la derecha y otro con la izquierda hasta completar el número de repeticiones.

3. Levantar hacia delante la pierna derecha doblando la cadera y la rodilla, abrir la pierna flexionada llevándola lateralmente y luego bajarla a la posición inicial. Realizar los movimientos siguiendo las instrucciones del ejercicio anterior.

4. Con los brazos a lo largo del cuerpo realizar el movimiento anterior y en el momento de la flexión, llevar los brazos hacia delante para volverlos a la posición inicial cuando se estiren las piernas.

5. Con las manos en la cintura flexionar y estirar ligeramente la cadera y las rodillas estirando los brazos lateralmente.

6. Con las manos en la cintura flexionar y estirar ligeramente la cadera y las rodillas estirando los brazos lateralmente y luego llevarlos arriba de la cabeza golpeando las palmas.

7. Desplantes hacia delante. Marchar en su sitio al compás de la música y después de cada tres pasos llevar hacia delante una pierna y después de otros tres pasos la otra pierna.

8. Desplantes hacia los lados. Igual que el anterior, pero en lugar de llevar la pierna hacia delante, llevarla hacia los lados.

El calentamiento finaliza con marcha sobre su lugar sin desplazarse durante un minuto para continuar con la forma 8 de TCC:

Forma número 8 de Tai Chi Chuan:

1. Girar los brazos al revés.
2. Limpiar la rodilla y empujar hacia adelante (el anciano empuja la puerta).
3. Acariciar la crin del caballo salvaje.
4. Mover las manos como nubes.
5. El gallo dorado se levanta sobre una pata.
6. Golpe de pie.
7. La cola del gorrión.

8. Cruzar las manos.

Enfriamiento

El enfriamiento es necesario para evitar descensos súbitos de la presión sanguínea y mareos, por lo que se realizará con los mismos movimientos que se llevan a cabo para el calentamiento, pero a la inversa con el fin de disminuir progresivamente la frecuencia cardiaca y respiratoria.

En esta etapa se pueden realizar estiramientos prolongados (10 seg para cada estiramiento) por lo que no es necesario realizar todos los movimientos que se hicieron en el calentamiento. Se recomienda que los estiramientos se realicen en esta etapa de la sesión de entrenamiento para disminuir el peligro de lesión (distensión, desgarro).

Ejercicios de enfriamiento

1. Flexionar el tronco hacia adelante, bajar los brazos, inspirar e ir subiendo sosteniendo el aire, subir los brazos por encima de la cabeza y bajarlos lentamente y exhalar. Repetir cuatro veces.
2. Flexionar el tronco hacia adelante, sin mirar el piso y estirar alternadamente brazo derecho e izquierdo como empujando con las manos, 8 veces. 3. Con las manos en la cintura hacer media sentadilla, repetir ocho veces.
4. Mover la cintura, balanceando la cadera, con las manos en la cintura hacia la izquierda y la derecha, 8 veces.
5. Patear suavemente hacia el frente, de manera alternada pierna derecha e izquierda, 16 tiempos.

6. Flexionar el tronco hacia adelante, bajar los brazos y abrir y cerrar las manos, 4 tiempos y repetir 4 veces.

7. Hacer desplantes hacia adelante, flexionando la pierna derecha y regresar al centro, 8 veces y repetir el mismo movimiento con la pierna izquierda.

8. Hacer desplante hacia el lado derecho, flexionando la pierna derecha y estirando ambas manos hacia el frente, ocho tiempos, regresar al centro y repetir toda la serie hacia el lado izquierdo.

9. Con las manos en la cintura, respirar profundamente, con los ojos cerrados, 8 tiempos.
