UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES

ZARAGOZA

SÍNDROME METABÓLICO COMO FACTOR DE RIESGO PARA DAÑO AL ADN Y ESTRÉS OXIDATIVO EN ADULTOS MAYORES

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICA FARMACÉUTICO BIOLÓGICA

P R E S E N T A

GRISELDA SERRALDE FIERROS

DIRECTOR DE TESIS: DRA. MIRNA RUIZ RAMOS

ASESOR DE TESIS: DRA. RAQUEL RETANA UGALDE

MÉXICO, D.F. FEBRERO 2016

Universidad Nacional Autónoma de México
UNAM
Biblioteca Central
Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

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.

Nuestra recompensa se encuentra en el esfuerzo y no en el resultado. Un esfuerzo total es una victoria completa.

Mahatma Gandhi.

Los genes al igual que los diamantes, son para siempre.

Richard Dawkins.

Dejamos de temer aquello que se ha aprendido a entender.

Marie Curie.

AGRADECIMIENTOS

Gracias al Programa de Becas de Educación Superior, por el apoyo otorgado para poder realizar y concluir este proyecto, con el folio No. 858180 de la Secretaria de Educación Pública.

Gracias a los integrantes de la Unidad de Investigación en Gerontología de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, que hicieron posible la realización de este trabajo y por el conocimiento que compartieron conmigo.

Al Dr. Víctor Manuel Mendoza Núñez responsable de la unidad, que me permitió realizar éste proyecto. A la Dra. Mirna Ruiz Ramos por el apoyo, paciencia, y dirección para la elaboración de este proyecto.

A la Dra. Raquel Retana Ugalde por su apoyo incondicional, consejos y a las asesorías brindadas.
A la Dra. Juana Rosado Pérez y QFB Taide Laurita Arista Ugalde por su paciencia, consejos y el apoyo brindado para la realización de este proyecto.

A mis sinodales, la Dra. Juana Rosado Pérez, QFB Taide Laurita Arista Ugalde, QFB. Fco. Javier Parada García, por las correcciones dadas, así como la asesoría brindada.

A mis compañeros y amigos por el apoyo en la parte experimental de este proyecto: Erick Jacinto González Alcántara, Ana Karen Martínez Trejo, Eder Alexis Batalla González, QFB. Gie Bele García Discua, Mtra. Beatriz Hernández Monjaraz, muchas gracias a todos.

DEDICATORIAS

A mis padres, las dos personas más importantes para mí, que a lo largo de mi vida siempre me han apoyado, y guiado para ser una mujer de bien, dándome consejos, siendo comprensivos, cariñosos, enseñándome cada día un poco más, preparándome para todo, y mostrándome las cosas más bellas e importantes de la vida, en fin me faltan palabras para agradecer todo lo que han hecho por mí. Gracias por todo LOS AMOOOOOOO!!!

A mi hermano, por su apoyo durante toda mi vida, por esos buenos momentos de convivencia y de diversión desde que éramos pequeños, por ser un gran amigo, y escucharme siempre. Quiero decirte que siempre ante todo estaré ahí para ti, y persona mi mal humor a veces. :P . Tratare toda la vida de siempre ser un buen ejemplo para ti. TE AMO MUCHISIMO MONTO!!!

A mi tío Ing. Oscar Serralde Mexicano, por darme siempre su apoyo tanto en lo académico como en lo personal, por su consejo, y por alentarme siempre a seguir a delante, mil gracias!!

A mis amigos, Mónica, Tania, Ana, Andrea, Evelin, Julia, Erick, Mario, Eduardo, Tlakaelel y Karen, por esa gran amistad que me han brindado, he pasado grandiosos momentos con ustedes tanto en lo personal como en lo académico, espero de todo corazón sigamos siendo grandes amigos después de terminar esta etapa en nuestras vidas, sobre todo mi mejor amiga Karen que en tan poco tiempo llegamos a ser buenas amigas casi hermanas, TKMMM!! También gracias a todos mis compañeros que conocí a lo largo de mi vida académica y que también saben que son importantes para mí. Y a mis nenas, monina y beba por acompañarme todos estos años, por darme tanto amor y buenos momentos, las amo muchísimo.

Y por supuesto gracias a Eder, a ti corazón por tu apoyo incondicional durante toda la carrera, por tu entusiasmo, el ánimo que me das, por estar ahí cuando más te necesito, en esos momentos de alegría y tristeza, agradezco enormemente a dios por ponernos en el mismo camino y habernos conocido, eres un hombre increíble, súper paciente, alegre, inteligente, cariñoso y romántico, juntos hemos aprendido muchas cosas, a superar malos momentos y a disfrutar en grande los buenos momentos, en verdad amo enormemente tu compañía. Y gracias por tu apoyo en esta gran aventura que acabamos de comenzar con nuestro propio negocio y por todo lo que viene a futuro. Gracias por todo eso, eres y serás siempre mi mejor amigo y por supuesto mi amor…TE AMO!!!

INDICE

I. ABREVIATURAS 8
II. RESUMEN 11
IV. INTRODUCCION 12
V. MARCO TEORICO 13
V.1 ENVEJECIMIENTO 13
V.2 TEORÍAS DEL ENVEJECIMIENTO 14
V.3 RADICALES LIBRES 18
V.4 FUENTES DE RADICALES LIBRES 20
V.5 ANTIOXIDANTES Y ENZIMAS ANTIOXIDANTES 21
V.6 ESTRÉS OXIDATIVO 23
V.7 DAÑO A BIOMOLÉCULAS 24
V.8 SÍNDROME METABÓLICO 29
CUADRO 2. ESTRÉS OXIDATIVO, DAÑO AL ADN Y SÍNDROME METABÓLICO. 34
VI PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA 37
VII HIPOTESIS 38
VIII OBJETIVOS 38
GENERAL: 38
ESPECÍFICOS: 38
IX MATERIAL Y MÉTODO 39
IX.1 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN 39
IX.2 CRITERIOS DE INCLUSIÓN 39
IX.3 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN 39
IX.4 VARIABLES 40
IX.5 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES 40
X PROCEDIMIENTO Y TÉCNICAS 43
X.1 MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS 43
X.2 TÉCNICAS BIOQUÍMICAS: 43
X.2.1 RECOLECCIÓN DE MUESTRAS SANGUÍNEAS 43
X.2.2 PRUEBAS BIOQUÍMICAS DE RUTINA 44
X.2.3 MARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO 46

X.2.4 ELECTROFORESIS UNICELULAR ALCALINA (ENSAYO COMETA).....53
X.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....55
XI RESULTADOS 56
CUADRO 1. CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN. 57
CUADRO 2. MARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO EN AM CON Y SIN SM....58
CUADRO 3. ESTRÉS OXIDATIVO EN ADULTOS MAYORES CON Y SIN SÍNDROME METABÓLICO. 59
FIGURA 1. MEDIA Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR DEL DAÑO EN EL ADN MEDIDO EN MICRAS EN LOS ADULTOS MAYORES CON Y SIN SM. 60
CUADRO 4. DAÑO AL ADN SEGÚN LOS CRITERIOS DE ANDERSON, EN SUJETOS SIN Y CON SÍNDROME. 61
CUADRO 5. DAÑO AL ADN EN ADULTOS MAYORES CON Y SIN SÍNDROME METABÓLICO.....61
CUADRO 6. MAGNITUD DEL DAÑO AL ADN EN AM CON Y SIN SM. 62
CUADRO 7. SÍNDROME METABÓLICO COMO FACTOR DE RIESGO PARA PRESENTAR DAÑO AL ADN Y EOX. 62
XII DISCUSIÓN DE RESULTADOS 63
XIII CONCLUSIONES 67
XIV PERSPECTIVAS.....67
XV REFERENCIAS.....68
XVI ANEXOS.....75
XVI.1 CONDICIONES PARA INGRESAR AL ESTUDIO.....75
XVI.2 CONSENTIMIENTO INFORMADO.....76

I. ABREVIATURAS

ABTS	2, 2-azido-di-[3-etilbenzotiazolinsulfanato]
ADN	ácido desoxirribonucleico
ADNmt	ADN mitocondrial
AM	Adultos mayores
AOx	Antioxidantes
ARN	Ácido ribonucleico
ATP-III	Panel de tratamiento del adulto
BHT	Butiril-Hidroxitolueno
°C	Grados centígrados
Ca	Calcio
CAT	Capacidad Antioxidante Total
cHDL	Colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad
DE	Desviación estándar
dL	Decilitros
DM2	Diabetes Mellitus tipo 2
DMSO	Dimetil sulfóxido
EOx	Estrés oxidativo
ERNS	Especies reactivas de nitrógeno
EROS	Especies reactivas de oxigeno
g	Gramos
GAP	Capacidad antioxidante residual
GHS	Glutatión reducido
GPx	Glutatión peroxidasa
GR	Glutatión reductasa
GSSG	Glutatión oxidado
H^+	Protón
H_2O	Agua
H_2O_2	Peróxido de hidrogeno
Hb	Hemoglobina
HPLC	Cromatografía liquida de alta resolución
IMC	Índice de masa corporal
INT	4-(4-yodofenil)-3-(4-nitrofenol)-5-feniltetrazolio
IR	Resistencia a la insulina

Kg	Kilogramo
L	Litro
LPO	Lipoperóxidos
m^2	metro cuadrado
MDA	Malondialdehído
Mg	Manganeso
mg	Miligramo
min	Minuto
mmHg	Milímetros de mercurio
mmol	Milimoles
N_2O_3	Trióxido de dinitrógeno
N_2O_4	Tetra óxido de dinitrógeno
NADPH	Nicotin adenin di nucleótido fosfato reducido
NaOH	Hidróxido de sodio
nm	Nanómetros
NO	Óxido nítrico
$NO_{2^{\cdot}}$	Dióxido de nitrógeno
O	Oxígeno
$O_{2^{\cdot -}}$	Radical anión superóxido
$^1O_2$	Oxígeno singulete
$O_{2^{\cdot -}}$	Ion peróxido
OH^-	Ion hidroxilo
$OH^{\cdot}$	Radical libre hidroxilo
ONOO-	Radical peroxinitrilo
O-O	Unión oxigeno-oxigeno
PBS	Amortiguador salino de fosfatos
pH	Potencial de hidrógeno
RL	Radical libre hidroxilo
RM	Razón de momios
R-OO	Radical peroxilo
R-OOH	Radical hidroperoxilo
rpm	Revoluciones por minuto
SM	Síndrome Metabólico
SOD	Superóxido dismutasa
TAD	Tensión arterial diastólica

TAS	Tensión arterial sistólica
TBA	ácido tiobarbitúrico
TBARS	Especies reactivas de ácido tiobarbitúrico
TEAC	Actividad antioxidante en equivalentes Trolox
µL	Microlitro
µmol	Micromol
UV	Ultravioleta
XOD	Xantin oxidasa

II. RESUMEN

Introducción: El síndrome metabólico (SM) se define como la presencia concomitante de tres situaciones de las cinco siguientes: obesidad abdominal, hipertensión arterial, hiperglucemia en ayunas, hipertrigliceridemia y concentraciones bajas de la fracción de colesterol HDL, según el panel de tratamiento de adultos III (ATP-III).
En este sentido el SM se ha vinculado estrés oxidativo (EOx) así como a la hipertensión arterial (HTA), cáncer, diabetes mellitus (DM), y otras enfermedades. El EOx es un estado en el cual la célula se encuentra alterada por el desequilibrio entre radicales libres (RL) y los antioxidantes, a favor de los primeros causando daño en las biomoléculas. Sin embargo son escasos los estudios en México respecto a la relación entre el SM y el EOx en ancianos es por ello que con el presente trabajo nos planteamos conocer si el SM es un factor de riesgo para el daño al ADN y el EOx en una población de adultos mayores (AM).

Objetivo: Determinar si el síndrome metabólico es un factor de riesgo para daño al ADN y EOx en una población de adultos mayores del Estado de Hidalgo.

Metodología: El estudio se llevó a cabo en una muestra a conveniencia con 24 pacientes sanos y 27 pacientes con SM del Estado de Hidalgo. Se tomaron medidas antropométricas, así como muestras sanguíneas en ayuno para la determinación de biometría hemática, química sanguínea, así como las concentraciones de los marcadores de EOx, y el daño al ADN.

Resultados: Se observó que hay una diferencia estadísticamente significativa mayor en las concentraciones de lipoperóxidos ($p=0.016$), y la capacidad antioxidante residual ($p=0.033$) en los pacientes con SM respecto a los AM sin SM. El SM es un posible factor de riesgo para presentar daño al ADN mayor al 40% (RM=3.143), al igual que presentar concentraciones de LPO mayor o igual a 0.340µmol/L.

Conclusiones: Los hallazgos de esta investigación sugieren que existe una diferencia estadísticamente significativa en las concentraciones de LPO, y la GAP en los pacientes que tienen SM con respecto a los sanos. El SM es un posible factor de riesgo para presentar daño al ADN y concentraciones de LPO mayores y por lo tanto relacionarse con el EOx.

IV. **INTRODUCCION**

El SM de acuerdo al panel de tratamiento de adultos III (ATP III) se define como la presencia concomitante de tres situaciones de las cinco siguientes: obesidad abdominal, HTA, DM, hipertrigliceridemia y concentraciones bajas de la fracción de colesterol HDL. Lo cual se presenta con alta frecuencia en AM y se asocia con otras enfermedades, principalmente problemas cardiovasculares.

En este sentido, investigaciones recientes señalan que el EOx se vincula con la HTA, cáncer, DM, SM y otros. Se reportado, que existe un desequilibrio redox en los pacientes con SM, caracterizado por una declive de su capacidad antioxidante, de igual manera se han correlacionado los niveles de triglicéridos con el EOx.

En este sentido se ha mencionado que, el hecho de que el CAT en plasma disminuye al aumentar el número de componentes del SM indica que tener una condición de menor defensa antioxidante se asocia con mayor expresividad clínica del SM.

Sin embargo, las investigaciones al respecto en AM son escasas por tal motivo la finalidad de este estudio fue conocer si el SM es un factor de riesgo para el daño al ADN y la presencia de EOx en una población de AM.

V. MARCO TEORICO

V.1 ENVEJECIMIENTO

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

En México existe una población de 114, 255, 555 personas. La mayor parte de la población se encuentra en edades jóvenes; respecto al grupo de 65 años y más, se observan los efectos de una mayor esperanza de vida, en el año 2013 había 24 adultos mayores por cada 100 jóvenes, y para el año 2030 se estima que habrá aproximadamente 44 adultos mayores por cada 100 jóvenes. A nivel nacional el grupo de las personas de la tercera edad, registra el mayor crecimiento, ya que en dos décadas y media su población casi se duplicó en 6.4 millones de personas (de 4.3 a 5.9%).[2, 3]

Entre las enfermedades más comunes que son causa de muerte en las personas de la tercera edad son, en primer lugar las enfermedades cardiovasculares (32% de 6.4 millones de personas de la tercera edad a nivel nacional), seguido de tumores malignos (representado por un 15%), diabetes mellitus (14.3%), enfermedades respiratorias crónicas y digestivas (9%). Estas enfermedades se han vinculado con los cambios que se dan en el envejecimiento, el cual es un proceso multifactorial cuya explicación ha llevado al desarrollo de diversas teorías.[3]

V.2 TEORÍAS DEL ENVEJECIMIENTO

Se han propuesto varias teorías para poder explicar el proceso de envejecimiento, se han dividido en dos grandes categorías:

-*teorías estocásticas*: estas afirman que el proceso de envejecimiento es el resultado de la suma de alteraciones que ocurren en forma aleatoria y que se acumulan a lo largo del tiempo

-*teorías no estocásticas*: las que suponen que el envejecimiento está predeterminado.[4]

- Teorías estocásticas: también es conocido como teorías ambientales, estas se fundamentan en acumulaciones casuales de factores exógenos adversos, que comportan una serie de variables aleatorias que hacen que este fenómeno sea producto del azar.[5-6]

  - Teoría genética

    Esta teoría propone que los daños provocados al azar en el genoma que ocasionan el envejecimiento, son causados por el entorno celular. Sustentada a su vez con tres teorías independientes pero relacionadas entre sí.[5-6]

    1. Teoría de la regulación genética: La cual nos explica que el envejecimiento celular tendrá una relación directa con el desequilibrio de los factores que permiten el mantenimiento de la fase de reproducción
    2. Teoría de la diferenciación terminal. De acuerdo a esta teoría, el envejecimiento celular se debe a una serie de alteraciones en la expresión genética. Se hace especial énfasis en los efectos negativos del metabolismo sobre la regulación genética.

3. Teoría de la inestabilidad genética. La causa de envejecimiento según esta teoría es debida a la inestabilidad del genoma, produciéndose modificaciones tanto al nivel del ADN como afectando a la expresión de los genes sobre el ácido ribonucleico (ARN) y proteínas.

❖ Teoría de la mutación somática: Establece que el envejecimiento ocurre como un resultado de la acumulación de mutaciones en el ADN nuclear de las células somáticas, estas lesiones en el ADN serían fundamentales a nivel mitocondrial.[5-6]

❖ Teoría error-catástrofe: Fue formulada en 1963 y reformulada en 1970 por L.E Orgel. La teoría de error-catástrofe propone que errores aleatorios en la síntesis eventualmente se producen en las proteínas que sintetizan ADN u otras moléculas. Las moléculas que están implicadas contienen un error en la síntesis de proteínas. Esto podría resultar en una amplificación tal que, la rápida acumulación subsiguiente de moléculas que contienen un error daría lugar a un "error-catástrofe" que sería incompatible con la función normal y la vida.[5-7]

❖ Teoría de uniones cruzadas de estructuras celulares: Formulada por M. Brownlee en 1991 en donde postula que la formación de enlaces moleculares entre proteínas o cadenas de ácidos nucleicos, aumenta con la edad. Esto como consecuencia de la acción de los RL producidos por la misma célula.[4-6]

❖ Teoría inmunológica: Se basa en dos observaciones principales: (a) la capacidad funcional del sistema inmunológico disminuye con la edad, como se evidencia por una disminución de la respuesta de las células T a mitógenos y la resistencia a las enfermedades infecciosas; y (b) los fenómenos autoinmunes aumentan con la edad, tales como un aumento de autoanticuerpos séricos.[5-8]

❖ Teoría de acumulación de productos de desecho: Sheldrake en 1974 propuso que el envejecimiento era causado por la acumulación de los productos de desecho metabólico tanto en la célula como en su totalidad en el organismo. En el envejecimiento se produce una disminución de los procesos metabólicos y un aumento del material inactivo, con la consiguiente pérdida de la capacidad funcional.[5, 9.]

- Teorías no estocásticas: Sugieren que una serie de procesos del envejecimiento están programados dentro del genoma de cada organismo.[6]

❖ Teoría de la capacidad replicativa finita de las células: Hayflick y Moorhead dieron a conocer en 1961 que los fibroblastos humanos normales tenían una limitación del número de veces que podían dividirse. Este "límite de Hayflick" describe el fenómeno de la esperanza de vida proliferativa finita que muestran las células humanas in vitro.

También la hipótesis del telómero del envejecimiento celular da un mecanismo que explica la capacidad replicativa finita de estas células somáticas normales. Explican que la longitud del telómero como la actividad telomerasa son biomarcadores que pueden estar implicados en el envejecimiento celular e inmortalización.[6, 10]

❖ Teoría neuroendocrina: Esta teoría propone que hay un déficit en Las funciones del sistema neuroendocrino, es decir en las neuronas y sus hormonas asociadas, que son fundamentales para el proceso de envejecimiento. Esta teoría sostiene que el eje hipotalámico-pituitario-adrenal es el regulador maestro de envejecimiento en un organismo. El sistema neuroendocrino regula el desarrollo temprano, el crecimiento, la pubertad, el control del sistema reproductivo, el metabolismo, y muchos otros aspectos de la fisiología normal, por lo que si ocurren cambios funcionales en este sistema podrían ejercer efectos en todo el organismo.[7, 9.]

❖ Teorías evolutivas: El envejecimiento es un proceso normal pero perjudicial en la vida de los animales superiores, explicando la causa con tres teorías: [5-6.]

1) Teoría del envejecimiento como un proceso de adaptación: La teoría postula que la senescencia es una adaptación necesaria, programada como desarrollo.

2) Teoría de las mutaciones tardías: La teoría propone que las mutaciones perjudiciales que se activan tarde son las responsables del envejecimiento.

3) Teoría del soma desechable: Esta teoría afirma que el nivel óptimo de inversión en el mantenimiento somático es menor que el nivel que se necesitaría para la longevidad somática indefinida.

❖ Teoría de los radicales libres: Harman (1956) propuso inicialmente que la mayoría de los cambios del envejecimiento se deben al daño molecular causado por los RL, que son átomos o moléculas que contienen un electrón no apareado, por lo que son muy reactivos.

Las reacciones de los RL contribuyen considerablemente al desarrollo de desórdenes estocásticos observados durante el envejecimiento. Además, están implicados en enfermedades degenerativas como arteriosclerosis, demencia senil tipo Alzheimer, enfermedades autoinmunes.[5-7, 9. 11]

V.3 RADICALES LIBRES

De acuerdo a la teoría de Harman (1956) un RL es una especie química que presenta al menos un electrón no apareado en su último orbital, lo que los hace altamente inestables. Por lo tanto, si dos radicales se encuentran, pueden combinar sus electrones no apareados y unirse para formar un enlace covalente. [12-14]

Harman predijo que la vida útil de un organismo se puede aumentar disminuyendo la velocidad de la iniciación de reacciones de RL al azar. Es decir, cuanto mayor sea la tasa metabólica de un organismo, mayor es la producción de especies reactivas de oxígeno y por lo tanto más corta será la duración de la vida. [15-16]

La mitocondria es productora de una buena cantidad de RL ya que aproximadamente el 98% del oxígeno (O_2) que el humano metaboliza es manejado por una sola enzima, la citocromo oxidasa mitocondrial, la cual transfiere 4 electrones al O_2 en una reacción conjunta para producir dos moléculas de agua como producto. [17]

La mayoría de estos electrones de alta energía se transfieren al $NADP^+$ para producir NADPH, el cual por sí mismo es cinéticamente resistente a la reacción con O_2, pero algunos de estos electrones se desprenden y reaccionan con moléculas de O_2, resultado así por ejemplo la formación del anión superóxido. Durante estos procesos metabólicos el O_2 se reduce, dando origen a las llamadas especies reactivas, las que en su mayoría son RL. [17-19]

Existen varios tipos de RL, los principales por su abundancia son las especies reactivas de oxigeno (EROs) y las especies reactivas de nitrógeno (ERNs).

EROs: Bajo condiciones biológicas normales y dadas sus características del RL el oxígeno puede tomar electrones de otras moléculas por autooxidaciones no enzimáticas.[12, 17, 20]

- Radical anión superóxido

  Radical Superóxido ($O_2^{\bullet -}$) se forma cuando un electrón entra en un orbital de oxígeno. La química de este radical es diferente dependiendo en gran medida de su solución. En solución acuosa $O^{\bullet -}$ es un agente oxidante débil capaz de oxidar moléculas tales como ácido ascórbico y tioles. Sin embargo, $O_2^{\bullet -}$ es un agente reductor mucho más fuerte y puede reducir varios complejos de hierro, el superóxido desaparece rápidamente en solución acuosa debido a su reacción de dismutación en el que se forman peróxido de hidrógeno y oxígeno.[14, 21]

$$O_2^{\bullet -} + O_2^{\bullet -} + 2H^+ \longrightarrow H_2O_2 + O_2$$

- Peróxido de hidrogeno (H_2O_2)

  Si se transfieren dos electrones al O_2 entonces el producto es el ion peróxido ($O^{\bullet 2-}$) que no es RL y que en presencia de dos protones forma H_2O_2.

  El peróxido de hidrógeno es un oxidante débil y un agente reductor débil que es relativamente estable en ausencia de iones de metales de transición.[14, 21.]

- Radical hidroxilo

Algunos metales como el hierro y el cobre en su forma reducida son capaces de transferir un tercer electrón al H_2O_2, lo que ocasiona una ruptura de la unión oxígeno-oxígeno (O-O) y da lugar al ion hidroxilo (^{-}OH) y al RL hidroxilo ($OH^{\bullet}$). Este radical puede iniciar la peroxidación de lípidos y causar rompimientos en las cadenas de ADN. Es el radical más reactivo encontrado en los sistemas, *In vivo* puede generarse como consecuencia de radiaciones. [12, 14, 17, 20, 22.]

$$H_2O_2 + O_2 \bullet^{-} \rightarrow O_2 + OH^{-} + OH^{\bullet}\}$$

ERNs: Comprenden además del óxido nítrico (NO), al dióxido de nitrógeno ($NO_2^{\cdot}$), trióxido de dinitrógeno (N_2O_3), tetróxido de dinitrógeno (N_2O_4) y al peroxinitrito ($ONOO^{-}$). Las ERNs son capaces de realizar diversas reacciones, tales como nitrosación, oxidación, hidroxilación y nitración de diversas biomoléculas.[23, 24]
Estas modificaciones se realizan durante el metabolismo normal de las células y forman parte de diversos procesos fisiológicos; sin embargo, en ciertas condiciones, la formación de las ERNs y/o de EROs puede estar exacerbada, superando a los mecanismos de protección del organismo contra ellas. [24]

V.4 FUENTES DE RADICALES LIBRES

Existen diferentes fuentes de RL, las endógenas y las exógenas; se ha sugerido que las fuentes endógenas de RL parecen dar cuenta de la mayor parte de los oxidantes producidos por las células, como consecuencia de la respiración aeróbica normal, las mitocondrias consumen O_2 para producir H_2O. Dando como productos de este proceso, O_2, H_20_2, y ^{-}OH. Por otro lado las fuentes exógenas puede estar aumentado significativamente la carga oxidante endógena, como las radiaciones ionizantes, radiación ultravioleta, la visible o térmica, drogas antitumorales, algunos productos químicos carcinogénicos, agentes

contaminantes, pesticidas y humo del cigarro. Los NO en el humo del cigarrillo, causan la oxidación de macromoléculas y agotan los niveles de antioxidantes. Al igual que fumar ya que es un factor de riesgo para enfermedades del corazón, así como una amplia variedad de tipos de cáncer, entre ellas cáncer de pulmón. [18, 25-26]

Sin embargo nuestro cuerpo es capaz de compensar esta producción de especies reactivas a través de la actividad de los antioxidantes.

V.5 ANTIOXIDANTES Y ENZIMAS ANTIOXIDANTES

Existen mecanismos para contrarrestar la producción de RL tanto endógenos como exógenos, los antioxidantes (AOx) son moléculas que en bajas concentraciones son capaces de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas mediante reacciones, estas finalizan eliminando intermedios que se producen por los RL, inhibiendo otras reacciones de oxidación, oxidándose ellos mismos.

Existen AOx naturales o sintéticos, entre los naturales tenemos a la vitamina C y vitamina E, el primero es un antioxidante soluble en agua y el antioxidante α-tocoferol que es soluble en lípidos. [17- 20.]

Las enzimas antioxidantes son las encargadas de mantener en un nivel aceptable los niveles de RL, por ejemplo la superóxido dismutasa (SOD) es una enzima antioxidante que elimina el $O_2^{\cdot -}$, la catalasa y la glutatión peroxidasa (GPx) las cuales catalizan el peróxido de hidrógeno y peróxidos orgánicos.

La SOD cataliza la reacción:

$$O_2^{\cdot -} + O_2^{\cdot -} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$$

Esta reacción de dismutación utiliza el hecho de que el $O_2^{\cdot -}$ es un oxidante y un reductante ávido de librarse de su electrón extra o de tomar otro. La enzima usa un $O_2^{\cdot -}$ para oxidar otro.[17, 20.]

Las catalasas trabajan de la misma manera, puesto que el H_2O_2 puede ser un reductante débil, así como un fuerte oxidante: [27]

$$H_2O_2 + H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$$

También las GPx tienen un papel preponderante en adición a la catalasa. Estas enzimas utilizan NADPH como la especie reductora para el H_2O_2:

$$NADPH + H^+ + H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + NADP^+$$

Pueden reducir peróxidos lipídicos así como H_2O_2. De esta manera participan en la prevención de la peroxidación de lípidos para mantener la estructura y función de las membranas biológicas. [17, 27]

V.6 ESTRÉS OXIDATIVO

Cuando se da el desequilibrio entre estas especies, puede desarrollarse el EOx (Figura 1) este se puede definir como un estado donde las especies oxidantes superan los sistemas antioxidantes con un consecuente daño en las biomoléculas.[28-29]

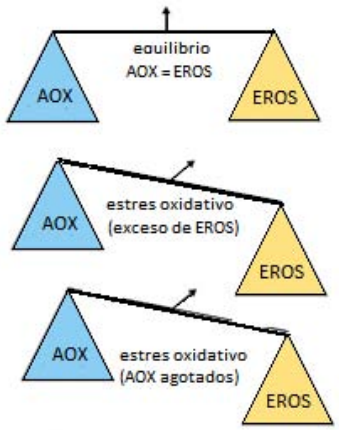

Figura 1. El EOx resulta de un desequilibrio entre los niveles de especies reactivas de oxígeno (EROs) y antioxidantes (AOx) [30]

Bajo circunstancias normales, las células son capaces de equilibrar la producción de oxidantes y antioxidantes (tales como catalasa y SOD), resultando en equilibrio redox. El EOx se produce cuando las células se someten a niveles excesivos de EROs, o como resultado del agotamiento en las defensas antioxidantes.[30]

El EOx no sólo tiene un efecto citotóxico, sino que también desempeña un papel importante en la modulación de los mensajeros que regulan las funciones esenciales de la membrana celular, que son vitales para la supervivencia. También puede influir en muchos procesos biológicos tales como la apoptosis, la proliferación viral, y las reacciones inflamatorias.[29]

V.7 DAÑO A BIOMOLÉCULAS

Las consecuencias de las reacciones de los RL con diferentes materiales celulares pueden ser muy variadas. Los objetivos celulares frecuentemente atacados son los lípidos membranales, las proteínas, los carbohidratos y el ADN. A nivel de organelos, se ha observado que las mitocondrias son sumamente sensibles a la presión oxidativa, lo que se refleja en cantidades elevadas de oxidación en lípidos y proteínas, y en mutaciones del ADN mitocondrial.[18]

- Daño a lípidos

  La oxidación de los lípidos membranales provoca alteraciones en la permeabilidad, o la pérdida de la integridad de la membrana plasmática y la de los organelos celulares. Con respecto a la permeabilidad se afecta tanto el transporte pasivo como el activo al alterarse las interrelaciones de fluidez de los lípidos que forman las membranas biológicas.[18, 21]

  Los ácidos grasos poli-insaturados, que predominantemente se ubican en las membranas celulares, son particularmente susceptibles al ataque de los RL. Cuando los radicales hidroxilo se forman cerca de la membrana son capaces de extraer átomos de hidrógeno de los fosfolípidos que la componen, después de esta reacción aunque el hidroxilo original se ha inactivado, se forma un radical lipídico, el que después de un rearreglo molecular, puede reaccionar con el O_2 para originar el radical peroxilo (R-OO.), este puede reaccionar con otros ácidos grasos de la membrana, formando más radicales lipídicos, mientras él mismo se transforma en hidroperóxido (R-OOH), el que en presencia de varios complejos metálicos puede descomponerse en más radicales, incluyendo entre ellos al radical hidroxilo, lo que provoca un fenómeno de expansión del daño.(Figura 2).[21]

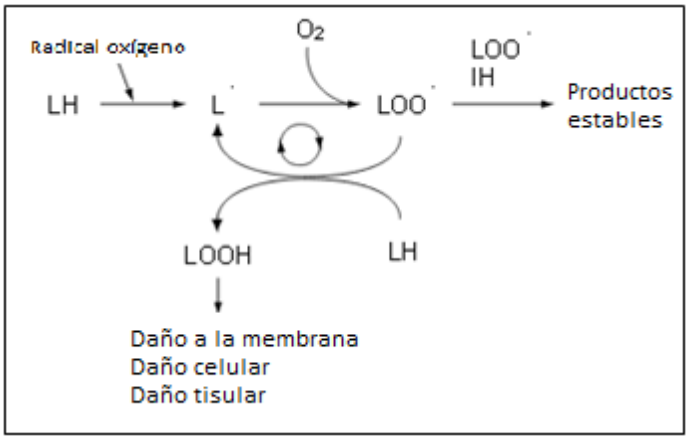

Figura 2. Se muestran las reacciones que causa la lipoperoxidación.[28]

Dentro del proceso mismo de la lipoperoxidación, los radicales que se forman pueden causar también daños a las proteínas membranales, inactivando receptores o enzimas unidas a las membranas. [18, 31.]

- Daño a proteínas

Los aminoácidos aromáticos, la cisteína, los enlaces disulfuro y peptídicos son fragmentados por los RL alterando su estructura y función. [18, 19.]

El radical hidroxilo es muy reactivo con las proteínas y puede causar modificaciones en casi todos los residuos de aminoácidos, pero en particular ataca a la tirosina, fenilalanina, triptofano, histidina, metionina y cisteína, formando entrecruzamientos de tipo covalente induciendo la fragmentación de la cadena polipeptídica, lo que se traduce en una pérdida de la función, o en mayor susceptibilidad a las enzimas proteolíticas.

Las proteínas oxidadas son fácilmente degradadas por enzimas proteolíticas debido a la formación de grupos carbonilo, a la creación de nuevos grupos N-terminales, o a cambios conformacionales de la molécula. (Figura 3). Datos experimentales muestran que el radical

peroxinitrito (ONOO-) oxida a las proteínas membranales y citoplásmicas, afectando su naturaleza física y química.[18-19, 23, 31]

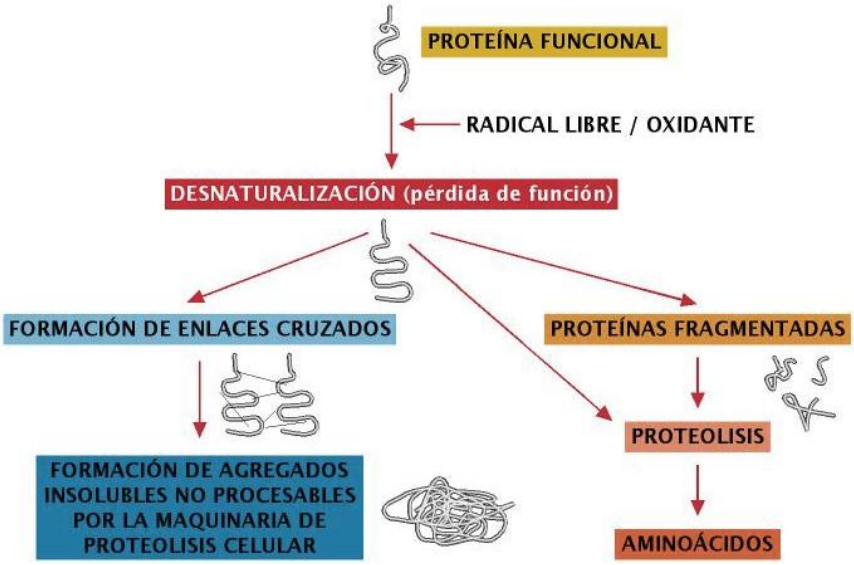

Figura 3. Se muestra el efecto de los RL sobre las proteínas. [32]

- Daño al ADN

El ADN es el material hereditario que se encuentra en todas las células, la mayor parte se encuentra en el núcleo de la célula llamado ADN nuclear y una pequeña cantidad se puede encontrar en las mitocondrias, a este se le llama ADN mitocondrial o ADNmt. [33-35.]

La información del ADN se almacena como un código compuesto por cuatro bases químicas: adenina (A), guanina (G), citosina (C) y timina (T). El ADN consta de aproximadamente 3 mil millones de bases, y más de 99 % de esas bases son los mismos en todas las personas. El orden o secuencia, de estas bases determina la información disponible para la construcción y mantenimiento de un organismo.[33-36]

En este sentido el daño del ADN es el rompimiento de cadenas sencillas, dobles y sitios sensibles al álcali en linfocitos de sangre periferica. Este deterioro representa una amenaza crítica para la función celular, ya que si el daño es grave o su acumulación excede su eliminación por mecanismos de reparación del ADN, la senescencia celular y la apoptosis se producen y esto puede contribuir al proceso de envejecimiento. Este deterioro puede generar alteraciones como mutaciones somáticas, que llevarían a la síntesis de proteínas defectuosas, deleciones y posiblemente a la generación de transformaciones malignas. Las alteraciones a las secuencias génicas pueden ser perjudiciales ya que pueden alterar el desarrollo y la fisiología extremadamente compleja y finalmente sincronizada. [18-19, 37-40]

Los RL productos del metabolismo celular reaccionan en ocasiones con las bases del ADN y las alteran de modo que sus propiedades de apareamiento de bases son modificadas, un ejemplo de ello es la radiación ultravioleta ya que promueve enlaces covalentes entre dos bases pirimidina. Uno de los componentes de la molécula de ADN que es susceptible a ser dañado por RL es la desoxirribosa, la que al oxidarse puede inducir el rompimiento del enlace entre este azúcar y el grupo fosfato del siguiente nucleótido, mecanismo mediante el cual se forman rompimientos de cadena sencilla, los que son reparados por medio de las enzimas correspondientes.[18-19, 40-41]

La mayoría del daño al ADN solo es temporal debido a que es inmediatamente corregido por los procesos que colectivamente se denominan reparación del ADN, sin embargo en algunos casos los procesos de replicación y reparación del ADN de una célula fallan y ocasiona que se produzca un cambio permanente en el ADN, esto se denomina mutación. Una mutación que afecta a un solo par de nucleótidos

puede comprometer gravemente la salud de un individuo si el cambio es causado en una posición vital en la secuencia de ADN; por ejemplo una proteína con una secuencia alterada podría funcionar escasamente o perder su actividad.[40]

Se ha demostrado que las proteínas, el ADN y los telómeros están dañados de forma activa por EROs durante el envejecimiento, lo que lleva a la muerte celular. Entre el daño a una sola hebra se encuentra la guanina, la modificación a esta base produce el 8-oxo-2-desoxiguanosina (8-oxo-dG) que es la lesión oxidativa mayor, identificada hasta el momento; por lo que el nivel de 8-oxo-dG en el ADN se ha utilizado constantemente como una medida de daño oxidativo al ADN en estudios de envejecimiento. Aunque la medición precisa de 8-oxo-dG en el ADN se ve obstaculizada por la oxidación de la guanina durante la reparación de ADN.[38, 42-44]

Actualmente diferentes métodos han sido utilizados para medir la concentración de daño oxidativo en el ADN como la cromatografía de gases con detección de espectrometría de masas (GC-MS), la cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) con detección electroquímica (HPLC-EC, y otras técnicas que hacen uso de endonucleasas de reparación con especificidad para el daño oxidativo de base para hacer rupturas en el ADN en los sitios de daño.[45] Un método alternativo para determinar el daño al ADN es denominado ensayo cometa o electroforesis unicelular alcalina en la que se pueden detectar los sitios de rompimientos de cadena sencilla o doble, así como los sitios álcali lábiles, entrecruzamientos con proteínas e incluso la reparación del daño inducido por agentes oxidantes o radiación en células individuales.[46-47]

Es importante la determinación del EOx dado que se ha vinculado con el proceso de envejecimiento, así como algunas enfermedades, incluido el SM.

V.8 SÍNDROME METABÓLICO

Se ha señalado que el EOx está asociado con diversas enfermedades como HTA, cáncer, DM, SM y otros. El síndrome metabólico o síndrome poli metabólico, es la presencia de tres situaciones o más de las cinco siguientes: obesidad abdominal, HTA, hiperglucemia en ayunas, hipertrigliceridemia y concentraciones bajas de la fracción HDL del colesterol (según los criterios del ATPIII).[47]

El estudio del SM es importante ya que en la actualidad es uno de los principales problemas de salud pública en los países desarrollados e incluso en vía de desarrollo, por lo que los investigadores han prestado particular atención.[48]

Desde 1923 Eskil Kylin describió un síndrome que involucraba hipertensión, hiperglicemia e hiperuricemia. Para 1947, Vague escribió sobre la obesidad abdominal, la distribución de la grasa y su relación con la diabetes y otros desórdenes. Posteriormente en 1965 Avogaro y Crepaldi describieron un síndrome que incluía hipertensión, hiperglicemia y obesidad. Gerry Reaven, en 1988, basado en sus observaciones clínicas, hallo cierta asociación entre algunos factores de riesgo cardiovascular tales como obesidad, diabetes, hipertensión y dislipidemia.

Describió así un síndrome que denomino síndrome X. Sus investigaciones posteriores lo llevaron a la conclusión que su base fisiopatológica se relacionaba con la resistencia a la actividad periférica de la insulina, siendo este uno de sus aportes más significativos. Hacia 1999, la Organización Mundial de la Salud (OMS) informó lo que serían los primeros criterios diagnósticos para el SM.[49-52]

La OMS afirmaba que el síndrome está definido por la presencia de diabetes tipo 2 o alteración de la tolerancia a la glucosa, coincidiendo con al menos dos de los cuatro factores que se citan a continuación: hipertensión, hiperlipidemia, obesidad, y rastros de proteína en la orina (microalbuminuria).[48-52] En 2001, el Panel III de

Tratamiento de Adultos (ATP III) del Programa Nacional de Educación sobre el Colesterol de los EEUU propuso un conjunto de criterios similar al propuesto por la OMS, con la diferencia de que, en lugar de que la insensibilidad a la insulina sea un componente necesario, es uno de entre cinco de los cuales debe de haber al menos tres presentes a un mismo tiempo. Uno de estos componentes clave es la obesidad visceral.[48-52]

No solo existen distintas definiciones del SM sino que las diferencias de un país a otro obedecen a discrepancias en la prevalencia de obesidad, la composición genética, la edad de la población y el sexo. Sin embargo, es claro que es un problema muy frecuente en todo el mundo, por ejemplo en México, Aguilar-Salinas informó una prevalecía ajustada por edad de 13.6 % con los criterio de la OMS y de 26.6 % con los criterio ATPIII en personas de 20 a 69 años de edad, provenientes de la Encuesta ENSA-2000. así mismo se ha reportado que en México, el 50% de los decesos en la población de más de 60 años ocurre por enfermedades derivadas del SM, como problemas cardiovasculares, de ahí la importancia de su diagnóstico.

En este sentido, el ATP-III establece el diagnóstico de SM cuando hay tres o más de los siguientes hallazgos (cuadro 1).[52-54]

Cuadro 1. Criterios del ATP-III

Criterio	Valores
Obesidad abdominal (circunferencia de la cintura).	>102 cm en varones > 88 cm en mujeres
Hipertrigliceridemia	>150 mg/dL
cHDL	<40 mg/dL en varones < 50 mg/dL en mujeres
Hipertensión arterial	>130/85 mmHg
Glucemia	>100mg/dL

En cuanto a los criterios, la dislipidemia del SM se caracteriza fundamentalmente por aumento de los triglicéridos, disminución del colesterol-HDL y preponderancia de las LDL pequeñas y densas, defectos que contribuyen de manera significativa al incremento de riesgo de enfermedad cardiovascular.[55]

Por otro lado existe una estrecha correlación entre obesidad abdominal y los factores de riesgo que definen el SM, especialmente la hipertrigliceridemia. El aumento del tejido adiposo intraabdominal o visceral provoca un aumento del flujo de ácidos grasos libres hacia la circulación, mientras que los derivados del tejido subcutáneo evitan el paso hepático y sus consecuencias (aumento de la producción de glucosa y síntesis de lípidos). En este sentido las lipoproteínas que se asocian con incremento del riesgo de arteriosclerosis son las LDL elevadas y las HDL bajas, causando hipertensión, esta causa engrosamiento de la íntima así como de la capa media, contribuyendo a la arteriosclerosis.[56]

Así mismo la hiperglucemia es la causante de las complicaciones microvasculares de la diabetes a través de los productos finales de glucosilación, que provocan formación de RL cuando reaccionan con el oxígeno molecular.[56]

Como se ha visto en varios estudios el mayor factor de riesgo es la obesidad que trae como consecuencia la HTA, la hiperglucemia y la hipertrigliceridemia. Las modificaciones saludables en el estilo de vida, en especial la reducción del peso y el aumento de la actividad física, son la estrategia central del tratamiento del síndrome metabólico.

De igual manera se relacionado al SM con el EOx, se ha reportado que existe un desequilibrio redox en los pacientes con SM, caracterizado por una disminución de su CAT y también se sugiere que el sistema antioxidante total en plasma disminuye al aumentar el número de componentes del SM, de igual manera, se resalta el sistema de adaptación de pacientes con SM en los que, a pesar de la condición indicada, no hay daño oxidativo.[57-58, 67]

En el cuadro 2 se muestra una síntesis de estudios en los que se relaciona el EOx, el daño al ADN y el SM, sin embargo los estudios son escasos sobre todo en adultos mayores, de ahí la relevancia de la presente investigación, en la cual se determinó si el SM es un factor de riesgo para el daño al ADN y EOx en ancianos.

CUADRO 2. ESTRÉS OXIDATIVO, DAÑO AL ADN Y SÍNDROME METABÓLICO.

Autor-año	Universo de estudio	Objetivos	Marcadores medidos	Hallazgos
2012-Sankhla M, Sharma TK, et al.[59]	150 personas (120 hombres y 30 mujeres), entre los 17 y 26 años	Investigar la relación entre el EOx y la obesidad y a su vez provocar síndrome metabólico.		Se encontró que el EOx aumentaba conforme aumentaba el Índice de Masa Corporal, con un incremento sustancial en los sujetos obesos comparados con los de peso normal.
2007- Fangfang SON, Wenbo JIA, et al.[60]	92 sujetos con NGT (tolerancia normal a la glucosa), 78 pacientes con IGR (alteración de la regulación de la glucosa) y 113 pacientes con diagnóstico reciente de diabetes.	Investigar la asociación entre el EOx y daño al ADN con la alteración en la regulación de la glucosa, tolerancia normal de la glucosa, y diabetes.	SOD, CAT, MDA, Ensayo cometa.	Se sugiere que la hiperglucemia en un estado IGR causó el predominio del EOx sobre los sistemas de defensa antioxidantes, que conduce a daño oxidativo del ADN.
2007- Martínez-Cruz M, Sánchez-Rodríguez M, Ruiz-Ramos M, Correa-Muñoz E, Mendoza-Núñez V.M. [61]	84 AM con SM, los cuales fueron diagnosticados acorde con los criterios del Adult Treatment Panel III (ATP III)	Determinar la asociación del EOx como factor de riesgo de HTA en AM con SM.	LPO, SOD, GPX, CAT, AOX,	Se sugiere que el EOx grave constituye un factor de riesgo de HTA en AM con SM

2006- Beristain A.S, Sánchez Rodríguez M, Ruiz Ramos M, Mendoza Núñez V.M.[62]	162 AM: 33 con DM, 40 con HTA, 26 con Osteoartritis y 63 clínicamente sanos.	Determinar la influencia del EOx como factor de riesgo de DM, osteoartritis o HTA en una población de AM.	LPO, SOD, GPX, CAT, Daño al ADN.	Se sugiere que el EOx constituye un factor de riesgo para enfermedades crónico-degenerativas, especialmente para DM e HTA.
2004-Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M, et al. [63]	69 hombres y 71 mujeres, pacientes con diabetes, enfermedad cardiovascular, daño renal o hepático. Y ratones.	Investigar el impacto del EOx en la obesidad sobre el síndrome metabólico.	LPO, SOD, GPX, PCR, 8-epi-prostaglandin a F2a.	Se demostró que el aumento del estrés oxidativo en la grasa acumulada es un importante mecanismo patogénico del síndrome metabólico asociado a la obesidad.
2004- Hansel B, Giral P, Nobecourt E, et al. [64]	10 pacientes con síndrome metabólico y 11 pacientes sanos.	Investigar la asociación de SM con la elevación del EOx y la función anormal de las lipoproteínas y la actividad antioxidante.	c-LDL, Glucosa, 8-isoproones, HDL, actividad antioxidante.	Se sugiere que existe una actividad antioxidante pequeña, el HDL alterado en el síndrome metabólico y asociado con la elevación del estrés oxidativo y la resistencia a la insulina.
2006- Gary P. Van Florín, Greta L. Hoetzer, Jared J. Greiner, Brian L. Stauffer, y Christopher A.[65]	Cuarenta y ocho de peso normal y 40 obesos (20 con SM 20 y sin síndrome metabólico)	Influencia del síndrome metabólico en los biomarcadores de estrés oxidativo y la inflamación en adultos obesos.	LDL oxidada, proteína C-reactiva, FNT, (IL) -6, IL-18.	Este estudio probó la hipótesis de que la obesidad con SM se asocia con un mayor EOx.

2014- Galván-Meléndez M, Calderón-Salinas J, et al.[66]	50 mujeres de 30 a 50 años de edad, con diagnóstico de síndrome metabólico, de acuerdo con los componentes establecidos en el criterio del ATP III.	Relacionar los marcadores del estrés oxidativo con la expresividad clínica del síndrome metabólico.	Capacidad antioxidante residual, GPx, AOx, LPO, daño al ADN, Carbonilación de proteínas.	Se sugiere que el sistema antioxidante total en plasma disminuye al aumentar el número de componentes del SM. Resalta el sistema de adaptación de las pacientes con síndrome metabólico en las que, a pesar de la condición indicada, no hay daño oxidativo.
2009- González Sotolongo M D; Arpa Gámez M A; González Menocal M; Pérez Alejo J L[67]	30 pacientes con síndrome metabólico según los criterios del ATP III y 25 controles sanos.	Determinar la relación existente entre el síndrome metabólico y el estrés oxidativo, y la fuerza de asociación de sus diversas variables constitutivas.	GSH* y MDA	Existió un desequilibrio redox entre los pacientes con síndrome metabólico, caracterizado por una disminución de su capacidad antioxidante. Los triglicéridos fueron la única variable del síndrome metabólico que tuvo una correlación significativa con el EOx.
2010- Sánchez-Rodríguez MA, Martínez-Cruz M, Correa-Muñoz E, Mendoza-Núñez VM[68]	113 sujetos de edad avanzada (≧ 60 años de edad); 50 de ellos no tenían síndrome metabólico y 63 tenían síndrome metabólico	Determinar la relación entre el SM componentes y el EOx en ancianos mexicanos	Se midió TAS, LPO, SOD, SOD/GPx,	Nuestros resultados sugieren que SM está vinculada a EOx graves, que el número de componentes del SM es un factor de riesgo importante en el desarrollo de EOx en los ancianos.

VI PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El SM se define como la presencia de por lo menos 3 de las cinco siguientes alteraciones: obesidad abdominal, HTA, hiperglucemia en ayunas, hipertrigliceridemia y concentraciones bajas de la fracción de colesterol HDL, según el ATP-III. Entre los AM se presenta con alta frecuencia y se relaciona con otras enfermedades, como problemas cardiovasculares, especialmente.

En este sentido, investigaciones recientes sugieren que el EOx se relaciona en su mayoría con la HTA, cáncer, DM, SM y otros. El EOx es un estado donde las especies oxidantes superan los sistemas antioxidantes con un consecuente daño en las biomoléculas (los lípidos membranales, las proteínas, los carbohidratos, y el ADN); por lo cual el daño al ADN representa una amenaza para la función celular, contribuyendo a la aparición de enfermedades y desordenes metabólicos.

Sin embargo, los estudios al respecto son escasos y en especial en población senil, por lo que nos hemos planteado la siguiente pregunta

¿Es el síndrome metabólico un factor de riesgo para presentar daño al ADN y estrés oxidativo en adultos mayores?

VII HIPOTESIS

De acuerdo a las evidencias científicas que muestran una relación entre el síndrome metabólico y el estrés oxidativo, suponemos que los adultos mayores con síndrome metabólico presentarán mayor daño al ADN, así como mayor estrés oxidativo, en comparación con los adultos mayores sanos.

VIII OBJETIVOS

GENERAL:

Determinar si el SM es un factor de riesgo para daño al ADN y el EOx en una población de AM del Estado de Hidalgo.

ESPECÍFICOS:

- Determinar las concentraciones de lipoperóxidos, actividad enzimática de SOD y GPx, y capacidad antioxidante total.
- Evaluar el daño al ADN en sujetos con y sin SM.

IX MATERIAL Y MÉTODO

IX.1 Diseño de la investigación

Se llevó a cabo un estudio observacional, prolectivo, transversal y comparativo. En una población de 51 adultos mayores tomando en cuenta los siguientes criterios:

IX.2 Criterios de inclusión

- Individuos que acepten participar en el estudio (firma del consentimiento informado)
- Adultos mayores de 60 años
- Que presenten o no síndrome metabólico
- Sexo indistinto.

IX.3 Criterios de exclusión

- Que no se encuentren dentro del rango de edad
- Presentar problemas oncológicos
- Tomar antioxidantes
- Intervenciones de otro tipo
- Otras enfermedades crónico no trasmisibles (artritis, demencia, etc)

IX.4 Variables

Clasificación de variables

Independiente.

- Síndrome metabólico (Diagnostico: Con y sin síndrome metabólico de acuerdo a los criterios del ATP III)

Dependiente.

- Daño oxidativo al ADN (medido por electroforesis unicelular alcalina)
- Estrés oxidativo medido a través de: LPO (por el método de TBAR), capacidad antioxidante, y actividad eritrocitaria de las enzimas SOD y GPx.

IX.5 Operacionalización de variables

Independiente

Variables	**Definición**	**Nivel de Medición**	**Categoría**
Síndrome metabólico	La presencia concomitante de tres situaciones de las cinco siguientes: obesidad abdominal, hipertensión arterial, hiperglucemia en ayunas, hipertrigliceridemia y concentraciones bajas de la fracción HDL del colesterol.[48]	Cualitativa nominal	Sin síndrome Con síndrome

Dependiente

Variables	Definición		Nivel de Medición	Categoría
Daño oxidativo al ADN	Rompimiento de cadenas sencillas, dobles y sitios sensibles al álcali en linfocitos de sangre periférica.[37]		Cuantitativa continua	Micrómetros
			Cualitativa nominal	Sin daño (<40% de migración) Con daño (≥40% de migración)
			Cualitativa ordinal	Sin daño (< 5% de migración) Daño bajo (5-20% de migración) Daño medio (21-40% de migración) Daño alto (41-94% de migración) Daño total (≥95% de migración)
Estrés oxidativo	Estado donde la oxidación supera los sistemas antioxidantes debido a que el equilibrio entre ellos se ha perdido.	SOD	Cuantitativa nominal	Normal: >170 U/mL Riesgo: ≤170 U/mL
		GPx	Cuantitativa nominal	Normal: >5500 U/L Riesgo: ≤5500 U/L
		AOx	Cuantitativa nominal	Normal: >0.90 mmol/L Riesgo: ≤0.90 mmol/L
		GAP	Cuantitativa nominal	Normal: >190 µmol/L Riesgo: ≤190 µmol/L

	Medido a través de marcadores:	Razón SOD/GPx	Cuantitativa nominal	Normal: < 0.023 Riesgo: ≥ 0.023
		LPO	Cuantitativa nominal	Normal:<0.340 µmol/L Riesgo: ≥0.340 µmol/L
		Índice de EOx	Cuantitativa ordinal	Índice de 0 a 6
		Cualitativa ordinal		Sin estrés oxidativo Estrés oxidativo leve Estrés oxidativo moderado Estrés oxidativo severo

X PROCEDIMIENTO Y TÉCNICAS

X.1 Medidas antropométricas

Para determinar el peso, se pesaron a los pacientes en una báscula calibrada En el caso de la estatura, los pacientes se colocaron con los talones juntos, glúteos, hombros y cabeza en contacto con el estadiómetro, y los ojos mirando al frente.

El índice de masa corporal (IMC) se obtuvo a través de la razón peso dividido entre la estatura al cuadrado (kg/m^2).

Para obtener el perímetro de la cintura se realizaron las medidas a nivel de la cicatriz umbilical y el perímetro de la cadera se determinó midiendo la parte más prominente de los glúteos, en ambos casos se utilizó una cinta métrica de asbesto sin hacer ninguna presión sobre el cuerpo. El índice cintura-cadera se obtuvo al dividir el valor obtenido del perímetro de la cintura entre el perímetro de la cadera.

X.2 Técnicas bioquímicas:

X.2.1 Recolección de muestras sanguíneas

Previo consentimiento informado, se tomaron muestras sanguíneas por venopunción con un ayuno de 8 horas, en tubos al vacío (Vacutainer, Beckton-Dickinson), sin anticoagulante para la determinación de química sanguínea, un tubo con EDTA para la biometría hemática, hemoglobina glicosilada, y cuantificación del daño al ADN, y un tubo con heparina para la medición de los marcadores de EOx.

Todos los reactivos que se utilizaron en las determinaciones bioquímicas se obtuvieron de Randox Laboratories, Ldt. (Crumlin, Co, Antrim, UK). Los valores de corte fueron determinados en el laboratorio de investigación clínica

gerontológica de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Campus Zaragoza, en la ciudad de México.

X.2.2 Pruebas Bioquímicas de Rutina

La biometría hemática se realizó en un equipo automatizado MICROS 60. Los parámetros bioquímicos se determinaron en suero por métodos colorimétricos con reactivos comerciales en el equipo Selectra Jr.

Glucosa

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

Colesterol

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

Triglicéridos

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

HDL-Colesterol

Se empleó el reactivo precipitante-colesterol catálogo Ch204 (paquete suplementario para colesterol CHOD-PAP) (Randox Laboratories Ltd, UK). La determinación se fundamenta en que las lipoproteínas de baja densidad (LDL), muy baja densidad (VLDL) y las fracciones de quilomicrones se precipitaron cuantitativamente al añadir ácido fosfotúngstico en presencia de Mg2+; se tomó el sobrenadante y de éste se determinó la fracción de HDL posteriormente por el método enzimático de punto final para colesterol total.

Urea

Se empleó el estuche comercial para la determinación de urea (Randox Laboratories Ltd, UK UR107). El método utilizado es ureasa-Berthelot modificado. Los iones amonio producidos por acción enzimática reaccionaron con salicilato e hipoclorito sódico para formar un complejo verde que se leyó a 600nm. Las muestras y el patrón se mezclaron con ureasa por 5 min a 25°C y posteriormente con hipoclorito sódico, se leyó contra el blanco de reactivo tras incubar 10 min.

Ácido úrico

Se empleó el estuche comercial para la determinación de ácido úrico. El método enzimático colorimétrico (Randox Laboratories Ltd, UK, UA 230). El ácido úrico se convierte, catalizado por uricasa en alantoína y peróxido de hidrógeno, el cual a su vez reacciona con el reactivo de color para producir un compuesto de quinoneimina rojo violeta, se leyó a 520 nm. La muestra y el patrón se mezclaron e incubaron con el reactivo de color durante 15 min a 25°C y se midió la absorbancia frente al blanco de reactivo.

Creatinina

Se empleó el estuche comercial para la determinación de creatinina método colorimétrico (Randox Laboratories Ltd, UK, CR510). La creatinina en solución alcalina reacciona con ácido pícrico para formar un complejo coloreado, en cantidad proporcional a la concentración de creatinina. Las muestras y el patrón se mezclaron con el reactivo de color y se leyó la absorbancia A1 al cabo de 30 segundos y exactamente después de 2 min se leyó la absorbancia A2, se obtuvo la diferencia y se calculó comparándolo con el estándar.

Hemoglobina glucosilada (HbA1c)

Se empleó el stuche comercial para la determinación de hemoglobina glucosilada (Randox HA 3830a). El primer paso involucra el pretratamiento de la muestra de sangre total, se alisan las células rojas y se provoca la hidrolisis de la hemoglobina por la acción de una enzima proteasa, posteriormente la presencia de HbA1c se mide por aglutinación en látex, compitiendo la glucohemoglobina con anticuerpos monoclonales HbA1c.

X.2.3 Marcadores de estrés oxidativo

Lipoperóxidos (LPO): Esta técnica utiliza el malondialdehído (MDA) como marcador de lipoperoxidación, mediante una reacción con ácido tiobarbitúrico (TBA), el cual forma un pigmento de color rosa que se mide a 535nm. La formación del complejo TBA-MDA por eliminación de oxígeno se ve favorecida por la adición de butiril-hidroxitolueno (BHT). La muestra utilizada es plasma heparinizado, al cual se adicionan 10mL de BHT 2mmol por mL de plasma en caso de que éste no se vaya a ensayar inmediatamente, para prevenirla auto-oxidación de la muestra. El método utilizado se basa en el análisis realizado por Jentzsch en 1996 en relación al MDA en fluidos corporales humano.

Procedimiento:

1. Se marcan tubos de vidrio, ocho para la curva estándar y el resto para las muestras a medir.
2. Se colocan 400 µL de plasma heparinizado a los 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.
3. Se adicionan 50 µL de TBA 0.11mol/L, se mezclan y agitan en vórtex por 10 seg.
4. Se tapan los tubos y se colocan en un baño de agua a 90ºC por 45 min.
5. Cuidadosamente se sacan los tubos del baño y se colocan en hielo, una vez fríos, se agrega a cada tubo 1200 µl de butanol y 100 µL de solución saturada de cloruro de sodio.
6. Se mezclan y agitan en vórtex por 10 seg. Posteriormente se centrifugan a 4200 x g durante 1min
7. Se extrae el sobrenadante y se lee contra blanco de butanol a 535nm y a 572nm para hacer corrección de lectura por presencia de aductos coloridos que se forman durante la reacción y se calcula la diferencia.
8. 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 µL 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).

Recta de calibración

Para la recta se preparan las siguientes soluciones a partir de la sustancia patrón que es el TMP.

a) TMP 1mM: se diluyen 17µL de TMP en 100mL de agua destilada (solución madre preparada en función del peso molecular del TMP)

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

Se preparan 8 tubos de concentraciones crecientes como se muestra a continuación:

Tubo	TMP (µL)	H2O (mL)	MDA (µmol/L)
1	0	1.000	0
2	5	0.995	0.2
3	10	0.990	0.4
4	20	0.980	0.8
5	30	0.970	1.2
6	50	0.950	2.0
7	70	0.930	2.8
8	100	0.900	4.0

1. Se marcan ocho tubos y se miden 400µL de cada estándar en el respectivo tubo, 50µL de BHT 12.6 mM y 400µL de ácido orto fosfórico 0.2mol/L consecutivamente, se mezclan y se agitan en vórtex por 10seg.
2. Se adicionan 50µL de TBA 0.11mol/L, se mezclan y agitan en vórtex por 10seg.
3. Se tapan los tubos y se colocan en un baño de agua a 90°C por 45min.
4. Cuidadosamente se sacan los tubos del baño y se colocan en hielo, una vez fríos, se agrega a cada tubo 1200µL de butanol y 100µL de solución saturada de cloruro de sodio.
5. Se mezclan y agitan en vórtex por 10seg, posteriormente se centrifugan a 5000rpm por 2 min.

6. Se extrae el sobrenadante por pipeteo y se lee contra un blanco de butanol a 535nm y a 572nm para hacer corrección de lectura por presencia de aductos coloridos que se forman durante la reacción y se calcula la diferencia.
7. Se calcula el delta de absorción sustrayendo la lectura obtenida a 572nm de la lectura de 535nm.
8. Se construye la recta. Concentraciones vs delta de absorbancia.
9. Se interpolan los deltas de absorbancia de las muestras para obtener la concentración de Lipoperóxidos en µmol/L.

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

$$\text{Xantina} \xrightarrow{\text{XOD}} \text{Ácido úrico} + O_2^{\cdot -}$$

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

$$\text{INT} \xrightarrow{O_2^{\cdot -}} \text{colorante Formazán}$$

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

$$O_2^{\cdot -} + O_2^{\cdot -} + 2H^+ \xrightarrow{\text{SOD}} O_2 + H_2O_2$$

Procedimiento.

Procedimiento: Se toman 500 µL de la muestra de sangre total y se lavan los eritrocitos 3 veces con 3 mL de solución de NaCl al 0.9%, centrifugando durante 10 min a 2000 g después de cada lavado.

A el botón de eritrocitos lavados, se adicionan 2 mL de agua bidestilada fría, se mezcla y deja reposar durante 15 min a 4°C. Del lisado se tomaran 100 μL y se diluyen con 1.9 mL de tampón fosfato 0.01 mmol/L pH 7.0. Se pipetearan 0.05mL de la muestra diluida y se adicionaran 1.7mL de sustrato mixto (xantina 0.05mmol/L, I.N.T. 0.025mmol/L). Después de mezclar perfectamente se agregan 0.25mL de xantin oxidasa (xantin oxidasa 0.94mmol/L). Se mezcla y se registra la absorbancia A1 al cabo de 30seg y se comenzara a cronometrar el tiempo simultáneamente para leer la absorbancia final A2 al cabo de 3 min frente a blanco de agua a una longitud de onda de 505nm en un espectrofotómetro.

Glutatión peroxidasa (GPx): Para la cuantificación de la actividad de glutatión peroxidasa se emplea el equipo comercial de Randox, Ransel glutatión peroxidasa. La GPx cataliza la oxidación del Glutatión (GSH) por el hidroperóxido de cumeno.

$$2\ GSH + ROOH \xrightarrow{GPx} NADP^{+} + 2\ GSH + H_2O$$

El GSSG en presencia de GR y NADPH es inmediatamente convertido en su forma reducida con una oxidación concomitante de NADPH en $NADP^{+}$. Se mide la disminución de la absorbancia a 340nm.

$$GSSG + NADPH + H^{+} \xrightarrow{GR} NADP^{+} + 2\ GSH$$

Procedimiento: Se diluyen 0.05mL de sangre entera heparinizada en 1mL de solución diluyente, provista por Randox; se incuba durante 5 min para posteriormente añadir 1mL de reactivo de Drabkin a doble concentración. Las muestras se analizaran en los siguientes 20 min.

Para el ensayo, se colocan 0.02mL de la muestra diluida, 1mL de reactivo (glutatión 4mmol/L, glutatión reductasa ≥ 0.5 U/L y NADPH 0.34mmol/L) y 0.04mL de cumeno (hidroperóxido de cumeno 0.18mmol/L).

Se mezcla y se lee la absorbancia inicial de la muestra y del reactivo blanco al cabo de un minuto y se comienza a cronometrar simultáneamente para leer de nuevo al cabo de 1 y 2min La cinética de esta reacción se lee a 340nm.

Razón SOD/GPx: Las células necesitan mantener un adecuado balance entre la actividad de SOD y GPx ya que pequeñas alteraciones en este balance pueden tener efectos dramáticos en la función celular. Se ha considerado que el cálculo de la razón SOD/GPx ofrece un mejor estimador del equilibrio entre las dos enzimas antioxidantes que el valor de la actividad de cada una de ellas por separado.

Se calculó este parámetro como cociente entre los valores de la actividad enzimática de SOD y GPx en U/L.

Capacidad sérica antioxidante total (CAT): Para la determinación de la capacidad antioxidante total se empleó un equipo comercial (Total antioxidant status, Randox Laboratories Ltd, UK). El análisis del estado de los antioxidantes totales, se basa en una prueba donde se combinan la peroxidasa (metamioglobina) con peróxido de hidrógeno y ABTS 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 pipetearon 20 μL de plasma y se adicionó 1mL de cromógeno. Después de mezclar perfectamente se prosiguió a la lectura de la absorbancia inicial A1 a una longitud de onda de 600nm. Se adiciono 200 μL de sustrato, y posterior a la mezcla se comenzó a cronometrar simultáneamente para leer la absorbancia A2 al cabo de exactamente tres min.

Cálculo de la capacidad antioxidante residual (GAP): Los principales antioxidantes del plasma humano (por masa y actividad) son la albumina y el ácido úrico, los cuales conforman más de 50% de la actividad antioxidante total de la mayoría de las muestras. La actividad residual puede ser referida como GAP

antioxidante y refleja la actividad combinada de los antioxidantes plasmáticos diferentes de albumina y ácido úrico, por ejemplo: ácido ascórbico, α-tocoferol, bilirrubina, transferencia, haptoglobulina, β-caroteno, y otra sustancia.

El GAP se calculó a partir de AT en umol/L, las concentraciones séricas de albumina y ácido úrico en umol/L y los valores de la actividad antioxidante equivalente en Trolox (TEAC) para albumina y ácido úrico, con la base en la siguiente fórmula

GAP antioxidante = AT – [(albúmina x TEAC) + (ácido úrico x TEAC)]

El TEAC de albúmina es 0.69 y el TEAC para el ácido úrico es 1.

Para determinar la existencia de alteraciones en los parámetros y determinar la existencia de EOx se manejaran como valores de corte los siguientes, obtenidos de una población de adultos mayores

LPO (μmol/L)	≥ 0.340
SOD (U/L)	≤170
GPx(U/L)	≤5500
SOD/GPx	≥0.023
CAT(mmol/L)	≤0.90
GAP(μmol/L)	≤190

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

de 1 cuando las concentraciones están por arriba (en el caso de lipoperóxidos y la razón SOD/GPx) o por debajo (todos los demás parámetros) del valor de corte. Así el sujeto con todos los parámetros alterados tuvo un índice igual a 6 y EOx severo.

Para evaluar grados de EOx se generó una escala:

- Índice 0, Sin EOx
- Índice 1-2, EOx leve
- Índice 3-4, EOx moderado
- Índice 5-6, EOx severo

Para dicotomizar el índice se clasificó a los sujetos sin estrés o con estrés, sin estrés cuando el índice estaba entre cero y dos; y con estrés con valores de tres en adelante.

X.2.4 Electroforesis unicelular alcalina (ensayo cometa)

Es una técnica que permite cuantificar el daño al ADN de manera independiente en cada célula de una población, mediante la detección de rompimientos de cadenas sencillas de ADN.

1. Se prepararon laminillas en portaobjetos esmerilados a los cuales se les coloco una capa de 120µL de agarosa regular (0.75% disuelta en PBS libre de Ca^{+2} y Mg^{+2}), se dejaron solidificar.
2. A continuación 10µL de cada muestra de sangre se mezclaron con 75 µL de agarosa de bajo punto de fusión (0.5% disuelta en PBS libre de Ca^{+2} y Mg^{+2})
3. Se colocaron sobre los portaobjetos preparados con la capa anterior, una vez solidificada la mezcla se agregó otra capa de 75µl de agarosa de bajo punto de fusión.

4. Las laminillas se sumergieron en solución fresca de lisis fría (1% lauril sarcosianato de sodio, 2.5M NaCl, 100mM Na2 EDTA, 10mM Tris-HCl pH 10, 1% tritón X-100 y 10% DMSO se añadieron a la solución recién preparada) y se colocaron a 4ºC.
5. Posteriormente las laminillas se colocaron en una cámara de electroforesis, la cual contenía un amortiguador pH 13 (1mM Na2 EDTA, 300mM NaOH) que cubría totalmente las laminillas permitiendo que el ADN se desenrollara por 20 minutos
6. Después se ajustó la fuente de poder a 25 volts y 300 miliampers para efectuar la electroforesis por 20 minutos (es importante señalar que los pasos anteriores se realizaron protegido de la luz). Una vez apagada la fuente de poder se retiró cuidadosamente las laminillas de la cámara de electroforesis y se lavaron tres veces con amortiguador de neutralización (0.4 M Tris-HCl, pH 7.5) durante 5 minutos.
7. Se escurrieron las laminillas del exceso de amortiguador y se colocaron por 5 minutos en metanol absoluto, se dejó secar al aire
8. Se tiñeron con 50µl de bromuro de etidio 1x (1mL de "stock" 10x [1mg/10mL] con 9mL de H_2O) cubriendo cuidadosamente con un cubreobjetos, para su observación al microscopio de fluorescencia.
9. Las laminillas se observaron al microscopio de fluorescencia Nikon Optiphoto-2 microscope (Nikon, Japan) con un filtro de excitación de 515-560nm utilizando un aumento de 40x. Finalmente con un ocular graduado y calibrado, se midió el diámetro del núcleo y la longitud de la estela del cometa de 100 células.

El control positivo se realizó utilizando 200µL de sangre total que se colocaron en 1mL de solución de Hanks (libre de Ca^{++}, Mg^{++}) que contenía 200µM de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) por 30 minutos, sumergida en agua fría. Al final del periodo de tratamiento se eliminó el sobrenadante y el botón celular se utilizó para realizar la prueba.

La migración se calculó como la diferencia entre la longitud de las estelas de los cometas y el diámetro del núcleo.

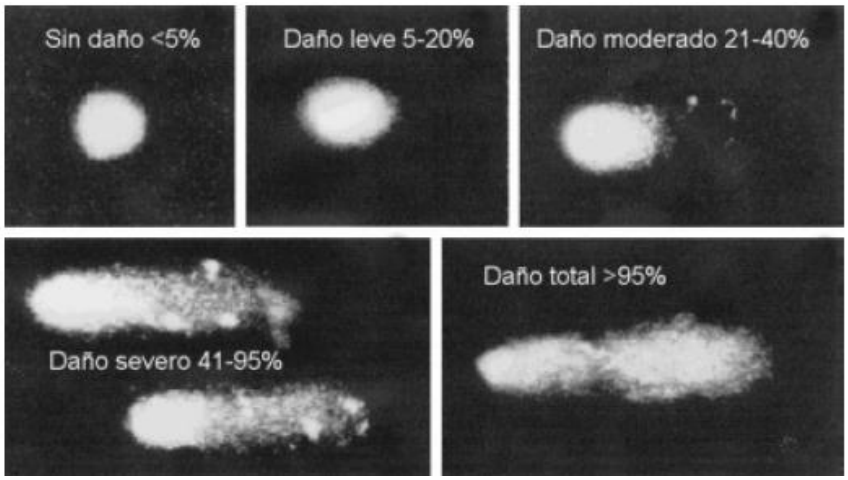

Figura. Clasificación de D. Anderson (1994), para el daño al DNA. Método de ensayo cometa. (Tomado del Weidner (2004).

X.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados obtenidos se procesaron con el programa SPSS versión 20, analizando estadística descriptiva por frecuencias, porcentajes y valores promedio ± desviación estándar (DE). Como pruebas de comparación se llevaron a cabo t de Student, y χ^2 de Pearson, para el cálculo de riesgos la razón de momios. Para todas las pruebas se consideró un valor de $p<0.05$ como significancia estadística.

.

XI RESULTADOS

En el cuadro 1 se presentan los datos bioquímicos, clínicos y medidas antropométricas por grupo, en donde se puede observar que los valores de glucosa, colesterol, triglicéridos, colesterol HDL, hemoglobina glucosilada, así como la presión arterial sistólica, presión arterial diastólica, circunferencia de la cintura, e índice de masa corporal son significativamente mayores en los adultos mayores con síndrome metabólico.

Con relación a los marcadores de EOx, el grupo de AM con SM mostró niveles de LPO, y GAP significativamente mayores que los AM sin SM (Cuadro 2).

Respecto al daño al ADN se encontró que la media de las células y sus cometas (medido en micrómetros) es mayor en sujetos que presentan SM, sin embargo no hubo una diferencia estadísticamente significativa. (Figura 1).

En el cuadro 5, observamos que el 22% de los AM con SM presentan daño al ADN mayor al 40% en comparación con un 8% en los que no tienen síndrome, sin embargo esta diferencia no es estadísticamente significativa. Con el fin de observar si el daño si era apreciable en el grupo de sujetos con síndrome, se realizó un cuadro para medir la magnitud del daño observando que de los 51 pacientes en total, 21 de ellos presentan daño; de los sujetos con SM el 27% presentan más de 6 células dañadas de las 100 medidas, en comparación con un 17% de los que no tienen síndrome.

En el cuadro 7, podemos observar que el presentar un daño mayor al 40% es 2 veces más frecuente en los pacientes con síndrome, por lo que el SM es un posible factor de riesgo para presentar daño al ADN. En cuanto a los valores de LPO que son un marcador de EOx, encontramos que el presentar valores plasmáticos superiores o iguales a 0.340 µmol/L es casi 2 veces más frecuente en el grupo de pacientes con síndrome con una significancia limítrofe, por lo que el SM puede ser un factor de riesgo para presentar EOx.

Cuadro 1. Características de la población.

	Sin síndrome metabólico (n=24)	Con síndrome metabólico (n=27)
Edad (años)	70 ± 4	67 ± 5
Glucosa (mg/dL)	102 ± 7	156 ± 65*
Colesterol (mg/dL)	212 ± 46	239 ± 41*
Triglicéridos (mg/dL)	120 ± 45	241 ± 112*
c-HDL (mg/dL)	59 ± 12	53 ± 14*
Albumina (mg/dL)	4.54 ± 0.18	4.50 ± 0.20
Ácido úrico (mg/dL)	2.8 ± 1.8	2.5 ± 2.3
Hemoglobina glucosilada (mg/dL)	5.4 ± 0.5	7.1 ± 1.9*
Tensión arterial sistólica (mmHg)	113 ± 10	139 ± 16*
Tensión arterial diastólica (mmHg)	72 ± 8	83 ± 12*
Circunferencia de la cintura (cm)	86.9 ± 9.5	96.1 ± 9.9*
Índice de masa corporal (Kg/m2)	26.5 ± 2.2	29.6 ± 3.9*

Prueba t de Student *$p<0.05$. Se muestran promedio más menos desviación estándar.

Cuadro 2. Marcadores de estrés oxidativo en AM con y sin SM.

	Sin síndrome metabólico (n=24)	Con síndrome metabólico (n=27)
Lipoperóxidos (LPO)	0.296 ± 0.074	0.350 ± 0.080*
Glutatión peroxidasa (GPx)	15006 ± 8611	14606 ± 6907
Superóxido dismutasa (SOD)	172 ± 9	172 ± 11
Razón SOD/GPx	0.016 ± 0.009	0.015 ± 0.009
Antioxidantes (CAT)	0.87 ± 0.17	0.96 ± 0.20
Capacidad antioxidante residual (GAP)	251 ± 178	362 ± 182†

Prueba t de Student *p=0.016, †p=0.033. Se muestran promedio más menos desviación estándar.

Cuadro 3. Estrés oxidativo en adultos mayores con y sin síndrome metabólico.

	Sin síndrome metabólico (%)	Con síndrome metabólico (%)
Sin EOx	0	1 (4)
EOx leve	14 (58)	18 (56)
EOx moderado	10 (42)	8 (30)
EOx grave	0	0

Prueba χ^2, $p>0.05$. Se muestran porcentajes.

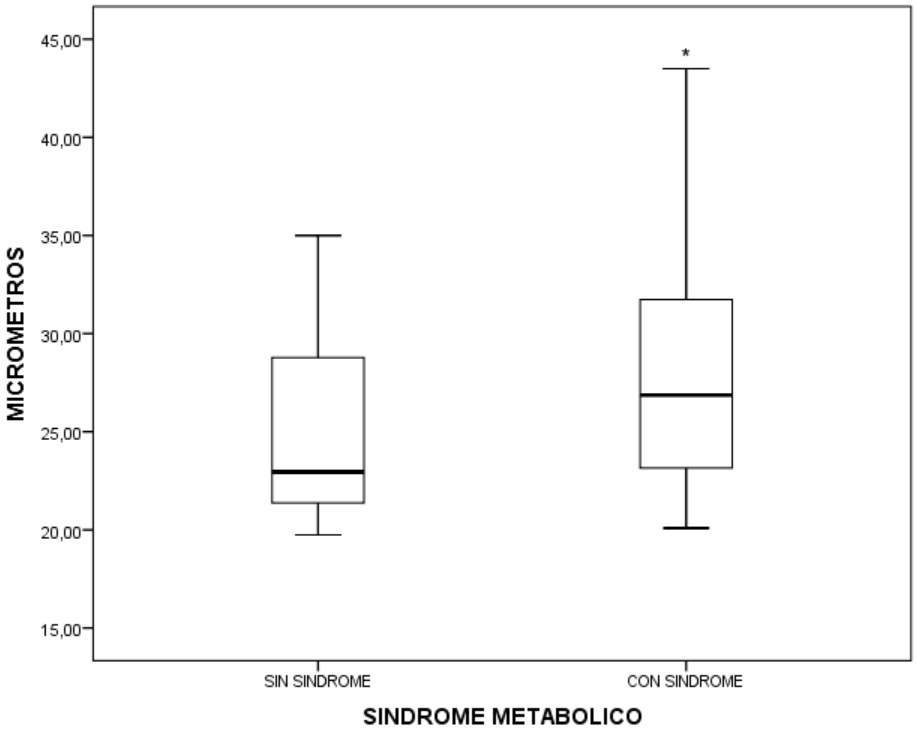

Figura 1. Media y desviación estándar del Daño en el ADN medido en micras en los adultos mayores con y sin SM. Prueba t de Student, significancia al 95%, p=0.062

Cuadro 4. Daño al ADN según los criterios de Anderson, en sujetos sin y con síndrome.

	Sin síndrome metabólico (%)	Con síndrome metabólico (%)
SIN DAÑO	15(63)	9 (33)
DAÑO BAJO	3 (12)	8 (30)
DAÑO MEDIO	4 (17)	4 (15)
DAÑO ALTO	2 (8)	6 (22)
DAÑO TOTAL	0	0

Prueba χ^2, p>0.05. Se muestran porcentajes.

Cuadro 5. Daño al ADN en adultos mayores con y sin síndrome metabólico

	Sin síndrome metabólico (%)	Con síndrome metabólico (%)
≤40 % DE DAÑO	22 (92)	21 (78)
>40% DE DAÑO	2 (8)	6 (22)

Prueba χ^2 p > 0.05. Se muestran porcentajes.

Cuadro 6. Magnitud del daño al ADN en AM con y sin SM.

Magnitud del daño Al ADN	Sin síndrome metabólico (%)	Con síndrome metabólico (%)
1-5 células	5 (83)	11 (73)
>6 células	1 (17)	4 (27)

Prueba χ^2 $p > 0.05$. Se muestran porcentajes.

Cuadro 7. Síndrome metabólico como factor de riesgo para presentar daño al ADN, concentración alta de LPO y EOx.

	RM	IC 95%	p
LPO (>0.34µmol)	2.909	0.926-9.136	0.064
EOx	0.589	0.185-1.877	0.369
Daño (≥40%)	3.143	0.569-17.348	0.255
Magnitud Daño al ADN (>6células)	1.82	0.160-20.714	1.000

RM=razón de momios, $IC_{95\%}$ intervalo de confianza al 95%, $p>0.05$, Prueba de χ^2

XII DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El SM es la presencia de por lo menos tres situaciones de las cinco siguientes: obesidad abdominal, hipertensión, hiperglucemia en ayunas, hipertrigliceridemia y concentraciones bajas de la fracción HDL del colesterol (ATP II). Esta patología se presenta con alta frecuencia entre los AM y se asocia con otras enfermedades, principalmente con problemas cardiovasculares.[26]

Es claro que el SM es un problema muy frecuente en todo el mundo, en México, se ha reportado que el 50 % de los decesos en la población de más de 60 años ocurre por enfermedades derivadas del SM, como son los problemas cardiovasculares, de ahí la importancia de su diagnóstico[27]. Aguilar-Salinas informó una prevalencia de 13.6 % con el criterio de la OMS y de 26.6 % con el criterio ATPIII en personas de 20 a 69 años de edad, provenientes de la Encuesta ENSA-2000; por otro lado González-Villalpando en el Estudio de Diabetes de la ciudad de México informó prevalencias de 39.9 y 59.9 % para hombres y mujeres, respectivamente, con base en el criterio de la ATPIII.

El estudio del síndrome metabólico es importante ya que en la actualidad es uno de los principales problemas de salud pública en países desarrollados e incluso en vía de desarrollo, por lo que los investigadores han prestado particular atención en su diagnóstico oportuno para evitar posteriores complicaciones. [48]

Así mismo, investigaciones recientes señalan que el EOx se vincula con la HTA, el cáncer, la DM, el SM, entre otros. El EOx es un desequilibrio en donde las especies oxidantes superan los sistemas antioxidantes con un consecuente daño en las biomoléculas (los lípidos membranales, las proteínas, los carbohidratos, y el ADN); en éste sentido, el daño al ADN representa una amenaza crítica para la función celular, si el deterioro es grave o su acumulación excede su eliminación se producen primeramente mecanismos de reparación, senescencia celular y la apoptosis, lo que puede contribuir al proceso de envejecimiento. Sin embargo, los

estudios al respecto son escasos, sobre todo en AM, de ahí la importancia del presente estudio.

Al analizar nuestros resultados podemos observar que los parámetros bioquímicos como glucosa, colesterol, triglicéridos, colesterol HDL, hemoglobina glucosilada así como la presión arterial sistólica, presión arterial diastólica, circunferencia de la cintura, e índice de masa corporal, son significativamente más altos en los pacientes con síndrome, lo que se esperaba ya que estos son los criterios de diagnóstico para el SM, lo cual puede ser explicado a que el desarrollo de la resistencia a la insulina se debe al exceso de ácidos grasos libres circulantes, esto supone un exceso de sustrato para los tejidos sensibles a la insulina provocando alteraciones en el sistema de señales que regulan el metabolismo de la glucosa. Así mismo el músculo, en pacientes resistentes a la insulina, obesos y con DM tipo 2 se han encontrado defectos intracelulares en la fosforilación oxidativa de las mitocondrias que se relacionan con la ocupación de las vías metabólicas por los lípidos, llegando incluso a su acumulación en forma de triglicéridos, esta elevación de triglicéridos junto con las lipoproteínas de muy baja densidad y un descenso de lipoproteínas de alta densidad ocasiona la dislipidemia en el SM.[56]

Como consecuencia de esta alteración de lípidos encontramos la lipoperoxidación, esto es la oxidación de lípidos membranales, lo que pone en riesgo la integridad de la célula llegando a causar daño a la membrana provocando así la muerte celular. En este estudio encontramos una mayor concentración de LPO en pacientes con SM en comparación con los sanos siendo esta diferencia estadísticamente significativa, lo que coincide con Zacarías-Flores M, Et al. (2014) el cual menciona que el riesgo de LPO séricos altos se incrementa con la asociación de SM.

Estudios recientes sugieren que existe relación entre la grasa visceral, la concentración plasmática de triglicéridos, y el LDL-colesterol; principalmente en relación con el riesgo cardiovascular en los pacientes con SM[67] lo que se explica por la alteración del metabolismo lipídico, asociándose de igual forma al EOx ya que los LPO es uno de los marcadores.

Estos resultados sugieren que los sujetos con SM, se encuentran expuestos a una mayor concentración de RL lo que provoca una respuesta en el organismo, a través del aumento en la capacidad antioxidante, para compensar el desequilibrio entre las especies reactivas de oxígeno y los antioxidantes, de esta manera evitar el EOx. Estos hallazgos concuerdan con lo que se ha reportado en otros estudios, en donde se ha visto que cuando existe un ataque oxidativo continuo de las especies reactivas se produce peroxidación lipídica de la membrana que induce una disfunción celular. La oxidación de los lípidos de la membrana provoca alteraciones en la permeabilidad, o la pérdida de la integridad de la membrana plasmática y la de los organelos celulares por lo que el organismo trata de contrarrestar este deterioro estructural con el aumento de los antioxidantes, lo que explica que se presente un aumento de éstos en los AM con SM, esta diferencia no es estadísticamente significativa sin embargo seria de utilidad aumentar el tamaño de la muestra.[12, 23],

Con relación al grado de EOx, encontramos que no se presentaron diferencias estadísticamente significativas, entre los dos grupos de estudio esto debido, por una parte, a que en el envejecimiento *per se* hay un aumento de EOx y también a que la mayoría de los ancianos con AM son controlados, lo cual es verificable con la media de los parámetros bioquímicos y antropométricos, que se evalúan para el diagnóstico de síndrome. Lo anterior coincide con lo reportado en la literatura en la cual, en 2014 Galván- Meléndez M y colaboradores menciona que en el estudio realizado por ellos resalta el sistema de adaptación de las pacientes con SM en las que, a pesar de la condición indicada, no hay tanto daño oxidativo.[66]

Respecto al daño en el ADN se puede observar que los AM con SM presentan un deterioro mayor a 40% en el ADN en comparación con los que no presentan síndrome, esto muestra que la presencia de síndrome genera una mayor producción de EROs que provocan daño celular en el organismo a nivel de membrana y núcleo, es por ello que estos sujetos presentan, además de daño alto al ADN, niveles altos de LPO. De igual manera al analizar la magnitud de daño en los sujetos de los grupos de estudio, se observa que el 27% de los AM que presentan síndrome tiene una mayor magnitud de daño en comparación con los ancianos sanos con un 17%, sin embargo se debe aumentar el número de pacientes para ver diferencias entre los grupos de estudio.

El SM es una asociación de factores de riesgo cardiovasculares que engloban todas estas situaciones, en cuanto a esto se encontró que los AM con SM tienen dos veces mayor riesgo de presentar LPO altos y daño al ADN mayor al 40% en comparación a los que no presentan SM. Sánchez-Rodríguez MA y colaboradores (2010) resultados sugieren que SM está vinculada a EOx graves.[68]

Por último, se puede observar entonces que como resultado del desequilibrio lipídico se puede ver aumentado significativamente el índice de masa corporal, el colesterol, los triglicéridos, y una disminución del colesterol HDL, lo que conlleva a padecer obesidad, que es una característica del SM, lo cual podría provocar a su vez EOx, esto ha sido similar a lo reportado en otras investigaciones, por ejemplo, en el 2012 Shankhala M, Shama TK y colaboradores, encontraron que el EOx aumentaba conforme aumentaba el índice de masa corporal.. Además en 2004 Furukama S, Fujita T, Shinaburo M, y colaboradores demostraron que el aumento del estrés oxidativo en la grasa acumulada es un importante mecanismo patogénico del SM asociado a la obesidad.[58,62]

XIII CONCLUSIONES

Los adultos mayores con síndrome metabólico mostraron niveles altos de lipoperóxidos así como un daño al ADN mayor al 40% que los adultos mayores sanos, por lo que los hallazgos de esta investigación sugieren que el síndrome metabólico aumenta el estrés oxidativo y el daño al ADN por lo que podría constituir un posible factor de riesgo.

XIV PERSPECTIVAS

- Esto con el propósito de generar información que permita proponer estilos de vida saludables que eviten el SM y con ello el EOx en los adultos mayores.
- Aumentar el tamaño de la población, para corroborar los hallazgos mencionados

XV REFERENCIAS

1. Rodríguez M.S, Núñez VMM. Envejecimiento, enfermedades crónicas y antioxidantes. México D.F: DGAPA U. UNAM: 2003.

2. Secretaria General de la CONAPO. Dinámica demográfica 1990-2010 y proyecciones. 2010-2030. Disponible en: URL. http://www.conapo.gob.mx/es/CONAPO/Proyecciones

3. Secretaria General de la CONAPO. Principales causas de mortalidad en México.1980-2007. Disponible en: URL. http://www.conapo.gob.mx/es/CONAPO/Principales_causas_de_mortalidad_en_Mexico_1980__2007

4. Envejecimiento biológico, Disponible en: URL. http://escuela.med.puc.cl/publ/manualgeriatria/PDF/EnvejeBiologico.pdf.

5. Hernando Ibeas M.V. El fenómeno del envejecimiento. Disponible en: URL. http://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=2756876.

6. Pardo A G. Consideraciones generales sobre algunas de las teorías del envejecimiento. Rev. Cub Invest Biomed. 2003; 22: 58-67.

7. Bruce R. Troen, M.D. The biology of aging. The Mount Sinai Journal of Medicine. 2003; 70: 7-13

8. Cascales A M, García B P. Bioquímica y fisiopatología del sistema inmune. Instituto de España, Madrid. 2007; 193-214.

9. Martínez M L. Teorías del envejecimiento. Disponible en: URL https://www.uam.es/personal_pdi/elapaz/mmmartin/2_asignatura/temas/unidad1/3/tema3.pdf

10. Harley CB, Homayoun V, Christopher M, Counter R, Allsopp C. The telomere hypothesis of cellular aging. Exp Gerontol. 1992; 27:375-82.

11. Harman D, Eddy DE. Free radical theory of aging. En Jonhson JE, Walford R, Harman D, Miquel J, eds. Free radical age and degenerative diseases. 1986:109-122.

12. Guerra J.I. Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos Antioxidantes. Servicio de Medicina Interna del Hospital de Navarra. Madrid, España: Aran ediciones: 2001.

13. Halliwell B, Gutteridge, Cross C. Free Radicals, antioxidants, and human disease. J lab clin med, 1992; 119 (6).

14. Mairena E. Radicales Libres, Alcoholismo y Daño Hepático. Revista Médica Hondurena. 1994; 62.

15. Harmann D. Free radical theory of aging. Elsevier Science Publishers. 1992.

16. Finkel T, Holbrook N. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. Nature. 2000; 408.

17. Hernandez-Saavedra D, McCord M J. Evolución y radicales libres. Importancia del estrés oxidativo en la patología humana. Rev. Medica del instituto mexicano del seguro social. 2007.

18. González-Torres, Betancourt-Rule, Ortiz-Muñiz. Daño Oxidativo y Antioxidantes. Asociación Mexicana de Bioquímica Clínica. 2000; 25.

19. Rodríguez C K, Céspedes M E. Estrés oxidativo y envejecimiento. Instituto de Ciencias Básicas y Preclínicas "Victoria de Girón". Revista cubana Invest Biomedic. 1999.

20. Knight, M. D. Free radicals, antioxidants, aging, and disease. Library of congress cataloging. 1996.

21. Gutteridge J M.C. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. Clinical Chemistry. 1995.

22. Wickens A P. Ageing and the free radical theory. Editorial Elsevier. México. 2001.

23. Tomris O. Free radicals, oxidative stress, and antioxidants. Pathological and physicological significance. Nato Asi Series. Antalya Turquey. 1997.

24. Guzmán G A, Velázquez G A, Sierra V M. P. Óxido nítrico, estrés nitrosante y función mitocondrial. Medigraphic. Revista de Endocrinología y Nutrición. 2006.

25. Bruce N.A, Shigenaga M, Hagen T. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. Proc. Natl. Acad. Sci. 1993.

26. Instituto Saurina News. La contaminación y el estrés oxidativo. Barcelona Provenca. No 5, 2012.

27. Apel K, Hirt H, Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress and signal transduction. Rev Plant Biol, 2004.

28. Toshikazu Y, Yuji N. What Is Oxidative Stress?. Journal of the Japan Medical Association. Kyoto Prefectural University of Medicine. 2002.

29. Charlene D H. Oxidative stress & free radical damage. Innovatives kincare. 2007.

30. Scandalios J. G. Oxidative stress responses - what have genome-scale studies taught us?. Department of Genetics USA. 2002.

31. Zorrilla G A. El envejecimiento y el estrés oxidativo. Centro Nacional Coordinador de Ensayos Clínicos. Rev Cubana Invest Biomed. 2002.

32. ¿En qué forma afectan los radicales libres a las biomoléculas?, Universidad de Cantabria. Biogerontologia. 2011. Disponible en: URL http://ocw.unican.es/ciencias-de-la-salud/biogerontologia/materiales-de-clase-1/capitulo-7.-dano-oxidativo-y-envejecimiento/7.5-bfen-que-forma-afectan-los-radicales-libres-a

33. Koolman, Rohm. Bioquímica. Texto y atlas. 3° edición. Madrid España: Ed Medica Panamericana: 2004.

34. Watson J. D., Crick F. H. C. The structure of DNA. Cavendish Laboratory, Cambridge, England.

35. Tretyakova N, Lavery Richard. Introduction to DNA. College of Pharmacy, U. of Minnesota, Institut de Biologie Physico-Chimique.

36. http://www.cimat.mx/ciencia_para_jovenes/tcj/2000/biologia/intro.html

37. Jian-Hua C, Halesy C N, Ozanne S E. DNA damage, cellular senescence and organismal ageing: causal or correlative?. Nucleic Acids Research. 2007; 35 (22).

38. Richter C. Reactive oxygen and DNA damage in mitochondria. Elsevier Science Publishers. 1992.

39. Bruce A. Introducción a la biología celular. 2° edición. Buenos Aires: Ed. Medica Panamericana: 2006.

40. Collins A. R., Horvathovat E. Biochemical and Biomedical Aspects of Oxidative Modification. Biochemical Society Transactions. 2001; 29.

41. Pidder Jansen-Dürr, Heinz D. Osiewacz. Healthy ageing: a question of stress, damage and repair. European Molecular Biology Organization. 2002; 3.

42. Halliwell B, Auroma O. DNA damage by oxygen derived species. Elsevier Science Publishers. London. 1991.

43. KanekoT., Shoichi T, Taguchi T, Kondo H. Accumulation of oxidative DNA damage, 8-oxo-2-deoxyguanosine, and change of repair systems during in vitro cellular aging of cultured human skin fibroblasts. Elsevier Science Publishers, Japan, 2001.

44. Collins A, Dusinska M, Gedik C, Stetina R. Oxidative Damage to DNA: Do We Have a Reliable Biomarker?. Environmental Health Perspectives. 1996.

45. Singh NS. Microgels for estimation of AND stran breaks, AND protein crosslinks and apoptosis. Mutat Res. 2000; 455: 111-127

46. Tice RR. Agurell E, Anderson D, Burlinson B, Hartmann A, Kobayashi H. Single cell gel/comet assay: guidelines for in vitro genetic toxicology testing. Environ Mol Mutagen. 2000; 35: 206-221

47. Albert k, Zimmet P, Shaw J. The metabolic syndrome a new wold wide definition. Lancent 2005; 336 (9491): 1059-62.

48. PLM. Sociedad Colombiana de Farmacología. Guía del Síndrome Metabólico. Edición 1: Colombia. 2009.

49. Moreno M.A., Baluja P.R. Síndrome Metabólico. Educación Continuada en el Laboratorio Clínico. 2009; 12: 36-46

50. Carrasco N F., Galgani J. E. F., Reyes M.J. Síndrome de resistencia a la insulina. Estudio y manejo. Revista. Medica. Clínica. CONDES. 2013; 24(5) 827-837

51. Crepaldi G., Maggi S. Diabetes y síndrome metabólico. Diabetes Veice. 2006; 5: 8-10

52. Wacher-Rodarte N. Epidemiología del síndrome metabólico. Gaceta Médica de México. 2009; 145 (5): 384-88

53. Aguilar-Salinas C, Rojas R, Gómez-Pérez F, Valles V, Ríos-Torres J,Franco A, et al. High prevalence of metabolic syndrome in Mexico. Arch Med Res. 2004; 35:76-81

54. Albert K, Zimenet P, Shaw D, The metabolic syndrome a new wold wide definition. Lancent 2005; 336 (949): 1059-62

55. Rodríguez P.A., Sánchez L.M, Martínez V.L. Síndrome Metabólico. Revista cubana de endocrinología. 2002; 13 (3).

56. Laclaustra G. M, Bergua M.C., Pascual C. I, Casasnovas L. J. Síndrome metabólico. Concepto y fisiopatología. Revista Española Cardiología Suplemento. 2005; 5:3D-10D

57. Contreras-Leal E A, Santiago-García J. Obesidad, síndrome metabólico y su impacto en las enfermedades cardiovasculares. Revista biomed. 2011; 22:103-115.

58. Dorado M C, Rugerio V C, Rivas A S. Estrés oxidativo y neurodegeneración. Revista facultad de medicina. 2003; 46 (6): 2-8

59. Sankhla M, Sharma TK, et al. Estrés oxidativo, obesidad y Síndrome metabólico, Pubmed Clin Lab. 2012; 58(5-6):385-92

60. Fangfang S, Wenbo J, Ying Y, Yafei H, Lin L, Jie L, Xiufa S and Liegang L. Oxidative stress, antioxidant status and DNA damage in patients with impaired glucose regulation and newly diagnosed Type 2 diabetes. Clinical Science. 2007; 112: 599–606

61. Martínez-Cruz M, Sánchez-Rodríguez M, Ruiz-Ramos M, Correa-Muñoz E, Mendoza-Núñez V.M. Estrés oxidativo como factor de riesgo para hipertensión arterial en adultos mayores con síndrome metabólico. Bioquímica. 2007; 32 (SuA): 129.

62. Beristain A.S, Sánchez R M, Ruiz R M, Mendoza N V.M. Estrés oxidativo como factor de riesgo para el desarrollo de diabetes mellitus, osteoartritis o hipertensión arterial en adultos mayores. Bioquímica. 2006; 31(1): 13-22.

63. Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M, et al. El aumento de estrés oxidativo en la obesidad y su impacto sobre el síndrome metabólico. The Journal of Clinical Investigation. 2004; 114(12).

64. Hansel B, Giral P, Nobecourt E, Chantepie S, Bruckert E, Chapman J. Metabolic syndrome is associated with elevated oxidative stress and dysfunctional dense high density lipoprotein particles displaying impaired antioxidative activity. The journal of clinical endocrinology & metabolism. 2006; 89 (10): 4965-4971

65. Gary P, Huetzer G, Greiner J, Stauffer B. Influence of metabolic syndrome on biomarkers of oxidative stress and inflammation in obese adults. Obesity. 2006; 14 (12).

66. Galván-Meléndez M, Calderón-Salinas J, Intriago-Ortega M, Torres-Castorena A, Zamarripa-Escobedo R, Meléndez-Hurtado C. Estrés oxidativo en pacientes con diferente expresividad clínica del síndrome metabólico. 2014; 30: 651-659.

67. González SM, Arpa GM, González MM, Pérez AJ. Valoración de estrés oxidativo en pacientes con síndrome metabólico. Rev Cub de med Mil. 2009; 38 (3-4): 40-52.

68. Sánchez-Rodríguez MA, Martínez-Cruz M, Correa-Muñoz E, Mendoza-Núñez VM. Relación entre el síndrome metabólico Componentes y estrés oxidativo en personas mayores de la comunidad que habita los mexicanos. Ann Nutr Metab. 2010; 56:302-7.

XVI ANEXOS

XVI.1 CONDICIONES PARA INGRESAR AL ESTUDIO

- Adultos mayores
- Clínicamente sanos o con enfermedades no transmisibles controladas.
- Firmar o poner su huella digital en esta carta de compromiso.

Riesgos

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

Beneficios

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

Confidencialidad

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

Preguntas

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

Derecho a rehusar

La aceptación a participar en este estudio es enteramente **VOLUNTARIA**, puede decidir abandonar el estudio en el momento que usted lo considere conveniente.

XVI.2 CONSENTIMIENTO INFORMADO

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: **"SINDROME METABOLICO COMO FACTOR DE RIESGO PARA TENER DAÑO OXIDATIVO AL DNA Y ESTRÉS OXIDATIVO EN ADULTOS MAYORES"** Y FIRMO VOLUNTARIAMENTE ESTE CONSENTIMIENTO INFORMADO.

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

Nombre y firma del participante_____

Nombre y firma de un familiar (testigo): _____

Nombre y firma del investigador:_____

Pachuca, Hidalgo a ____de _____del _____.

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