



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO



NIVELES DE LIPOPERÓXIDOS Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN ADULTOS
MAYORES CON ENFERMEDAD PERIODONTAL

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTA:

SANTOS MARTÍNEZ CÉSAR GUADALUPE

DIRECTORA DE TESIS

ASESORA DE TESIS

DRA. MIRNA RUIZ RAMOS

DRA. BEATRIZ HERNÁNDEZ
MONJARAZ

Ciudad de México a 13 de enero de 2022



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

AGRADECIMIENTOS

A la unidad de investigación de gerontología de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza por permitirme el uso de sus instalaciones, bajo la dirección de la Dra. Mirna Ruiz Ramos así como de su motivación para la realización de este trabajo, su paciencia, tolerancia y sus consejos en cada sesión fueron de mucha ayuda y un aporte importante a mi desarrollo profesional.

A la Dra. Beatriz Hernández Monjaraz por el tiempo y dedicación que aportó para la realización de este trabajo, su conocimiento fue pieza importante para que este trabajo se desarrollara.

DEDICATORIAS

A Esmeralda Rangel González y Aztlán Santos.

Índice

	Página
I. Abreviaturas y acrónimos	5
II. Resumen	6
III. Introducción	7
IV. Marco Teórico	8
IV.I Estrés oxidativo	
IV.I.1 Definición	
IV.I.2 Generalidades	
IV.I.3 Efecto de los radicales libres sobre las enfermedades	
IV.2 Estrés oxidativo y enfermedad periodontal	
IV.2.1 Enfermedad periodontal	
IV.2.2 Fisiopatología	
IV.2.3 Relación con estrés oxidativo	
V Planteamiento	19
VI. Hipótesis	19
VII. Objetivos	19
VIII. Material y Métodos	20
IX. Resultados	
X. Discusión	26
XI. Conclusión	27
XII. Perspectivas	29
XIII. Referencias	
XIV. Anexos	30

I. ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

ADN	Ácido desoxirribonucleico
TBA	Ácido tiobarbitúrico
ATP	Adenosín trifosfato
AT	Antioxidantes totales
CAT	Capacidad antioxidante total
EP	Enfermedad periodontal
EROS	Especies reactivas de oxígeno
ERN	Especies reactivas del nitrógeno
EOx	Estrés oxidativo
GE	Grupo con experimental
GPx	Glutation peroxidasa
GR	Glutation reductasa
GC	Grupo control
IC	Inflamación crónica
IEP	Índice de enfermedad periodontal
IHOS	Índice de Higiene Oral Simplificado
LPO	Lipoperóxidos
LPS	Lipopolisacáridos
MDA	Malonaldehído
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato oxidasa
PMN	Polimorfonucleares
Redox	Oxido reducción
RL	Radicales libres
SOD	Superóxido dismutasa
UV	Ultravioleta

II. Resumen

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

Objetivo: Determinar los niveles de lipoperóxidos (LPO) y capacidad antioxidante (CAT) en muestras de saliva de adultos mayores con enfermedad periodontal.

Métodos: Se llevó a cabo un estudio observacional, prolectivo, transversal y comparativo con una muestra de 80 adultos mayores voluntarios sistémicamente sanos, divididos en dos grupos: (i) grupo control (GC) con 40 sujetos periodontalmente sanos y (ii) grupo con enfermedad periodontal (GE) con 40 sujetos que presentaban la enfermedad.

Para la evaluación clínica bucodental se utilizó el índice de Enfermedad Periodontal (IEP) y el Índice de Higiene Oral Simplificado (IHOS). Asimismo, se midieron en muestras de saliva: capacidad antioxidante total (CAT) y sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) por espectrofotometría. Los datos fueron analizados mediante t- Student, utilizando el programa SPSS V.16.0.

Resultados: Se encontró que los LPO en pacientes con enfermedad periodontal presentan un aumento frente a pacientes sanos ($0.33382 \pm 0.43^*$ vs 0.14905 ± 0.06 $\mu\text{mol/L}$, $p < 0.05$). Por otra parte, se encontró que la CAT en pacientes sanos se encuentran disminuidos frente a los pacientes con enfermedad periodontal (sanos 0.3797 ± 0.40 , EP 0.7437 ± 0.34 mmol/L , $p < 0.05$).

Conclusiones: Nuestros hallazgos sugieren que los adultos mayores que presenten alguna etapa de la enfermedad periodontal tendrán niveles mayores de LPO, y esto se acompañará de una CAT mayor que generada como un efecto compensatorio del organismo.

III. Introducción

La enfermedad periodontal (EP) es un padecimiento crónico que afecta los tejidos de soporte del diente y que, de no ser tratada a tiempo, causa la pérdida de los dientes. Esto no sólo conlleva las complicaciones a nivel local o nutricional, sino que repercute en el tratamiento de diversas enfermedades como la diabetes mellitus y cardiopatías, además de ser un factor de riesgo para artritis, infarto al miocardio y Alzheimer.

Este padecimiento se puede presentar a partir de la cuarta década de la vida y aumenta su incidencia conforme aumenta la edad, llegando a afectar hasta el 80% de adultos mayores de 60 años.

Se sabe que en este grupo se presentan una serie de modificaciones morfológicas y fisiológicas en todo el cuerpo que son consecuencia del paso del tiempo y que se denominan envejecimiento. Dentro de las diferentes teorías que intentan explicar este proceso, se encuentra la de los radicales libres (RL), donde los daños a los diferentes órganos y sistemas son ocasionados por el desbalance entre los desechos reactivos de las reacciones en las cuales se ve involucrado el oxígeno (radicales libres, RL) y la baja en la CAT del organismo ocasionando el estrés oxidativo (EOx).

Se ha reportado que el EOx también está involucrado en diversas patologías y entre ellas la EP, sin embargo las investigaciones al respecto son escasas y no se ha reportado una vinculación entre los marcadores de EOx en saliva y la EP, por lo cual, en esta investigación se determinarán los niveles de LPO y la CAT de saliva en adultos mayores para observar la relación existente entre el EOx y la EP.

IV. Marco Teórico

IV.I. Estrés oxidativo

El oxígeno (O_2) contenido en el aire que normalmente respiramos es fundamental para la vida, sin embargo, muchas reacciones en las que participa el O_2 generan especies reactivas de oxígeno (EROs), algunas tienen el carácter químico de ser radicales libres (RL), cuyas entidades bioquímicas en su estructura atómica presentan un electrón desapareado o impar en el orbital externo, dándole una configuración espacial que genera una alta inestabilidad con una enorme capacidad para combinarse con la diversidad de moléculas integrantes de la estructura celular: carbohidratos, lípidos, proteínas, ácidos nucleicos y derivados de cada uno de ellos, provocando importantes alteraciones funcionales. Por lo tanto, el oxígeno es una sustancia potencialmente tóxica, y aunque es necesaria para el metabolismo de los organismos aerobios, puede ser dañina en condiciones bioquímicas específicas; ante esta incongruencia, en cuanto a la necesidad-toxicidad del O_2 , se le ha denominado “la paradoja del oxígeno”.^{1,2}

El término estrés oxidativo (EOx) se refiere a una situación donde existe un aumento en la concentración de radicales libres y ocurre una disminución en los niveles de defensa antioxidante o excede la capacidad de la célula para eliminarlos y reparar el daño celular. Por lo tanto, la capacidad de los mecanismos antioxidantes se ve superada por los agentes oxidantes.³

La reducción tetravalente del oxígeno genera EROs, siendo los principales el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), el radical aniónico superóxido (O_2^-), oxígeno singulete (1O_2), el radical de óxido nítrico (NO^\bullet), peroxilo (ROO^\bullet), peroxinitrilo ($ONOO^-$) y el radical hidroxilo (OH^\bullet), este último extremadamente reactivo^{4, 5}.

IV.I.1 Radicales Libres

Los radicales libres (RL) son moléculas o fragmentos de moléculas, que contienen uno o más electrones desapareados en su orbital externo, estas moléculas tienden a ceder ese electrón o a adquirir uno por medio de una reacción Redox para obtener

una estabilidad electrónica, ocasionando que este sea altamente reactivo y que presente una vida media corta.^{6,7}

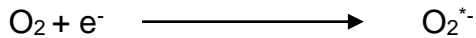
Las reacciones de óxido-reducción tienen una amplia distribución en el metabolismo celular, la transformación de los nutrientes orgánicos y la obtención de energía química. El término oxidación se refiere a la eliminación de electrones, generalmente los radicales libres son compuestos oxigenados, ya que son generados principalmente en sistemas biológicos a partir de compuestos endógenos, a estas moléculas se les conoce como especies reactivas de oxígeno (EROS)^{8,9}.

Los RL se generan a nivel intracelular y extracelular. Entre las células relacionadas con la producción de radicales libres del oxígeno se encuentran los polimorfonucleares (PMN), neutrófilos, monocitos, macrófagos, eosinófilos y las células endoteliales. Las enzimas oxidantes involucradas son la xantina-oxidasa, la indolamindioxigenasa, la triptofano-dioxigenasa, la mieloperoxidasa, la galactosa oxidasa, la ciclooxigenasa, la lipoxigenasa, la monoamino-oxidasa y la nadph oxidasa.^{10,11} También se producen RL por la administración de paracetamol, tetracloruro de carbono y furosemida, las bases de la toxicidad por paracetamol están bien estudiadas, al ingerir dosis grandes de la droga el citocromo P450 (CYP2E1, CYP1A2 y CYP3A) genera cantidades de N-acetil-p-benzoquinonemina (NAPQI), un metabolito intermedio que es capaz de agotar las reservas hepáticas de glutatión. Este metabolito ejerce su toxicidad al unirse de forma covalente a macromoléculas y produciendo radicales libres, desarrollando necrosis hepática en tan sólo 12 horas. En mucha menor medida, el mismo proceso puede ocurrir en el riñón y contribuir a la nefrotoxicidad⁸². Por último, no se puede olvidar agentes como el humo de cigarrillos, las radiaciones ionizantes, la luz solar, el shock térmico y las sustancias que oxidan el glutatión (gsh) como fuentes de RL.^{12,13}

Existen algunas circunstancias en que también se producen RL como la dieta hipercalórica o insuficiente en antioxidantes, procesos inflamatorios, traumatismos, isquemia, reperfusión y el ejercicio extenuante.

Existen muchas clases de RL, tanto especies reactivas de oxígeno (ERO) como especies reactivas de nitrógeno (ERN). Algunos de los radicales libres son:

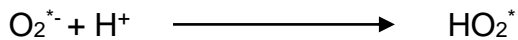
Anión superóxido: El oxígeno molecular tiene dos electrones que están en orbitales separados y con espines paralelos, el oxígeno al aceptar electrones forma especies reactivas de oxígeno, así la reducción del oxígeno con un electrón produce el radical anión superóxido ($O_2^{\cdot-}$)



Este anión está cargado negativamente, tiene una vida media corta y poca solubilidad en lípidos.

Radical Hidroperoxilo

Cuando el anión superóxido se protona, produce el radical hidroperoxilo

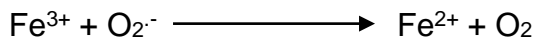


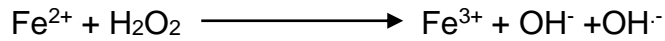
Este radical pueden asimismo contribuir a la formación de peróxido de hidrogeno en los tejidos, es una gente oxidante que puede alterar significativamente las moléculas biológicas y producir la destrucción celular y se considera una de las principales toxinas producida por los tejidos.^{14, 15}

Radical Hidroxilo

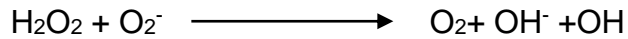
El radical hidroxilo es la especie más reactiva, el cual puede provocar rotura homolítica del agua corporal, un proceso para la formación de del radical hidroxilo es la llamada reacción de Fenton.

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





El anión superóxido puede reaccionar con el H_2O_2 para formar oxígeno molecular, ion hidroxilo y el radical hidroxilo. Esta es la reacción de Haber – Weiss. ^{16,17}



Especies Reactivas de Nitrógeno más Frecuentes

Óxido nítrico

El óxido nítrico (NO^*) es un radical libre ya que tiene un electrón desapareado aunque es bastante estable, se produce en el organismo por la conversión del aminoácido L-arginina a L- citrulina por la enzima óxido nítrico – sintetasa, al ser un gas y al no estar cargado puede difundir y atravesar la membrana y llega con facilidad al interior de la célula, el NO^* sirve como neurotransmisor, activador inmunitario, agregación plaquetaria y como regulador del flujo sanguíneo. ^{18,19}

Formación de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno

Cuando se produce el NO^* en grandes cantidades y este se combina con el O_2 o con el anión superóxido para formar especies reactivas de oxígeno y nitrógeno (RNO_2).

Cuando se combina el NO^* con el anión superóxido se forma el peroxinitros ONO_2^-

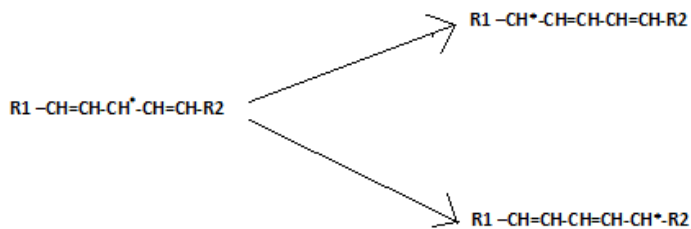
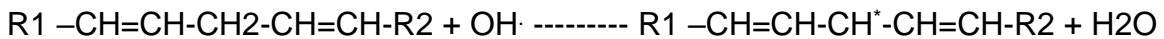
Estos son intermediarios estables y muy reactivos que a su vez también se pueden descomponer rápidamente en los radicales NO_2 e hidroxilo. ^{16,17}

Los RL pueden interaccionar con las diferentes macromoléculas (lípidos, proteínas, ácido desoxirribonucleico y carbohidratos) y generar daño. A continuación se presentan de manera sintetizada las principales modificaciones que sufren estas macromoléculas a causa de los RL.

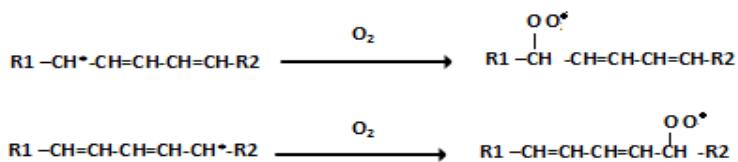
Radicales libres y lípidos.

Cuando los RL reaccionan con los lípidos se suscita la peroxidación lipídica, que es un proceso que afecta a las estructuras ricas en ácidos grasos poliinsaturados, ya que se altera la permeabilidad de la membrana celular y se produce edema y muerte celular. La peroxidación lipídica representa una forma de daño hístico que puede ser desencadenado por el oxígeno, el oxígeno singulete, el peróxido de hidrógeno y el radical hidroxilo. Los ácidos grasos insaturados son componentes esenciales de las membranas celulares, por lo que se cree son importantes para su funcionamiento normal; sin embargo, son vulnerables al ataque oxidativo iniciado por los radicales libres del oxígeno.^{20, 21}

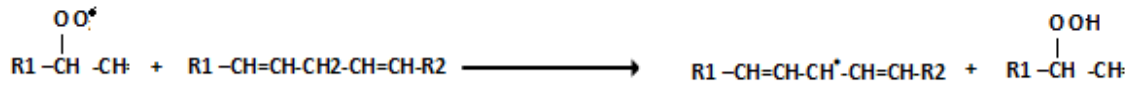
Los lipoperóxidos (LPO) se forman mediante la abstracción de hidrógeno por los radicales libres (hidroxilo) y otros residuos de ácidos grasos insaturados de los fosfolípidos de la membrana, formándose un RL lipídico.



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



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



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

El daño lipídico en la membrana de la célula establece un aumento en la permeabilidad de esta, provocando un alteración considerable en las funciones celulares.^{21, 22}

Los LPO al ser compuestos inestables, siendo muy difícil su detección, estos tienen a degradarse en dienos conjugados, alcanos (etano y pentanos), productos aldehídos (malonaldehidos) e isoprostanos.

Radicales libres y proteínas.

La oxidación de un grupo de aminoácidos como fenilalanina, tirosina, histidina y metionina forma entrecruzamientos de cadenas peptídicas, y la formación de grupos carbonilos. La cisteína es el principal aminoácido donde ataca las EROS, cuando ocurre la oxidación de cisteína, este puede ocasionar la formación de disulfuros mixtos entre los grupos tiol de las proteínas (-SH) y algunos tioles de bajo peso molecular.²³

Radicales libres y ácido desoxirribonucleico

El ácido desoxirribonucleico (ADN) es uno de los principales blancos del ataque por radicales libres en la célula y las modificaciones que sufre como consecuencia son relevantes para la pérdida de la homeostasis celular. Cuando los RL se combinan con el ADN, ocurren fenómenos de mutaciones y carcinogénesis, pérdida de expresión o síntesis de una proteína por daño a un gen específico, modificaciones

oxidativas de las bases, deleciones, fragmentaciones, reordenamientos cromosómicos y desmetilación de citosinas del ADN que activan genes.²⁴

El daño se puede realizar por la alteración (inactivación/pérdida de algunos genes supresores de tumores que pueden conducir a la iniciación, progresión, o ambas de la carcinogénesis). Los genes supresores de tumores pueden ser modificados por un simple cambio en una base crítica de la secuencia del ADN.²⁵

Radicales libres y carbohidratos

Los carbohidratos reaccionan con el radical hidroxilo, éstos sufren una peroxidación, formándose compuestos dicarbonílicos y peróxidos de hidrógeno.

Los carbohidratos también reaccionan como agentes protectores, siendo la glucosa un captador de peróxidos, impidiendo su acción en otras moléculas, a su vez la manosa y el manitol actúan como defensa contra el radical hidroxilo.^{20,25}

Para evitar el daño a las biomoléculas es necesario contar con un sistema de defensa eficiente, el cual se encargue de prevenir, retrasar o eliminar el daño por los RL, esto con el fin de mantener el equilibrio entre oxidantes/antioxidantes.^{26,27}

IV.I.2 Antioxidantes

El organismo dispone de un sistema antioxidante para contrarrestar la generación de EROs, con lo cual se mantiene un equilibrio homeostático; las enzimas antioxidantes superóxido dismutasa (SOD), glutatión peroxidasa (GPx), glutatión reductasa (GR) y catalasa (CAT), así como, las proteínas acarreadoras de metales (ceruplasmina, lactoferrina, transferrina, etc.), las vitaminas A, C y E, la bilirrubina, el ácido úrico y el selenio, entre otros, constituyen los elementos más importantes del sistema antioxidante^{14,17}

Características de las enzimas antioxidantes

Dentro de las enzimas antioxidantes con mayor distribución en el organismo humano se encuentra la catalasa, la cual está en alta concentración en hígado y riñón, baja concentración en tejido conectivo y epitelios, prácticamente nula en tejido

nervioso y se localiza a nivel celular: mitocondrias, peroxisomas, citosol (eritrocitos); presenta 2 funciones fundamentales: catalítica y peroxidativa y forma parte del sistema antioxidante catalasa/SOD que actúa en presencia de altas concentraciones de peróxido de hidrógeno.

La glutatión peroxidasa (GPx), es una enzima selenio-dependiente, cataliza la reducción de peróxido de hidrógeno a lipoperóxido (L-OOH), usa como agente reductor el glutatión reducido (GSH) y se localiza en: citosol (eritrocitos), lisosomas (neutrófilos, macrófagos y otras células del sistema inmune). Existen 3 formas de GPx: GPx-c o forma celular, tiene mayor afinidad por el peróxido de hidrógeno que por el lipoperóxido; GPx -p o forma extracelular, presenta afinidad semejante para ambos sustratos; GPx-PH, tiene afinidad específica para los LPO. Las formas GPx-c y GPx-p no son capaces de utilizar los LPO.

En cuanto a la superóxido dismutasa, esta enzima tiene distribución amplia en el organismo, está formada por un grupo de enzimas metaloides: Cu-SOD y Zn-SOD que contienen cobre y cinc en su sitio activo y se encuentran en el citosol y en el espacio inter-membranoso mitocondrial; Mn-SOD que contiene manganeso y se localiza en la matriz mitocondrial; Fe-SOD que contiene hierro y se localiza en el espacio periplasmático de la E. Coli. Estas enzimas dismutan el oxígeno para formar peróxido de hidrógeno y su principal función es la protección contra el anión superóxido¹⁷.

IV.I.3 Efecto de los radicales libres sobre las enfermedades

En un organismo saludable hay un buen equilibrio molecular entre la generación de RL y antioxidantes, pero si la balanza se inclina a favor de los RL, los daños generados por oxidación llevan a envejecimiento prematuro, cataratas, carcinogénesis y aterosclerosis. A su vez, esta última provoca hipertensión, angina, isquemia, accidentes cerebrovasculares y otros problemas. Los RL tienden a captar un electrón de otros átomos con el fin de alcanzar su estabilidad electroquímica, enfatiza una reactividad más alta comparada con moléculas cuyos átomos están ligados a otros por covalencia (enlace por compartición de electrones). Una vez que

el RL ha conseguido sustraer el electrón (reducción) que necesita, la molécula estable que lo pierde (oxidación) se convierte a su vez en un RL por quedar con un electrón desapareado, iniciándose así una reacción en cadena. Debido a que estas especies reactivas no poseen receptores específicos, tienen una capacidad de agresión indiscriminada sobre células y tejidos.¹⁵

El daño a biomoléculas que determinan los RL se haya implicado en la génesis o exacerbación de numerosos procesos:

IV.2. Estrés oxidativo y enfermedad periodontal

Dentro de las diversas enfermedades que se han relacionado con el estrés oxidativo, se encuentra la enfermedad periodontal (EP). La EP es una patología crónica inflamatoria de los tejidos de soporte de los dientes. Si bien, inicia por la mala higiene que causa la acumulación de bacterias anaerobias, la reacción que monta el organismo ante estas es la que produce la destrucción progresiva de los tejidos que están alrededor de los dientes: hueso alveolar, ligamento periodontal, cemento radicular y encía.¹¹

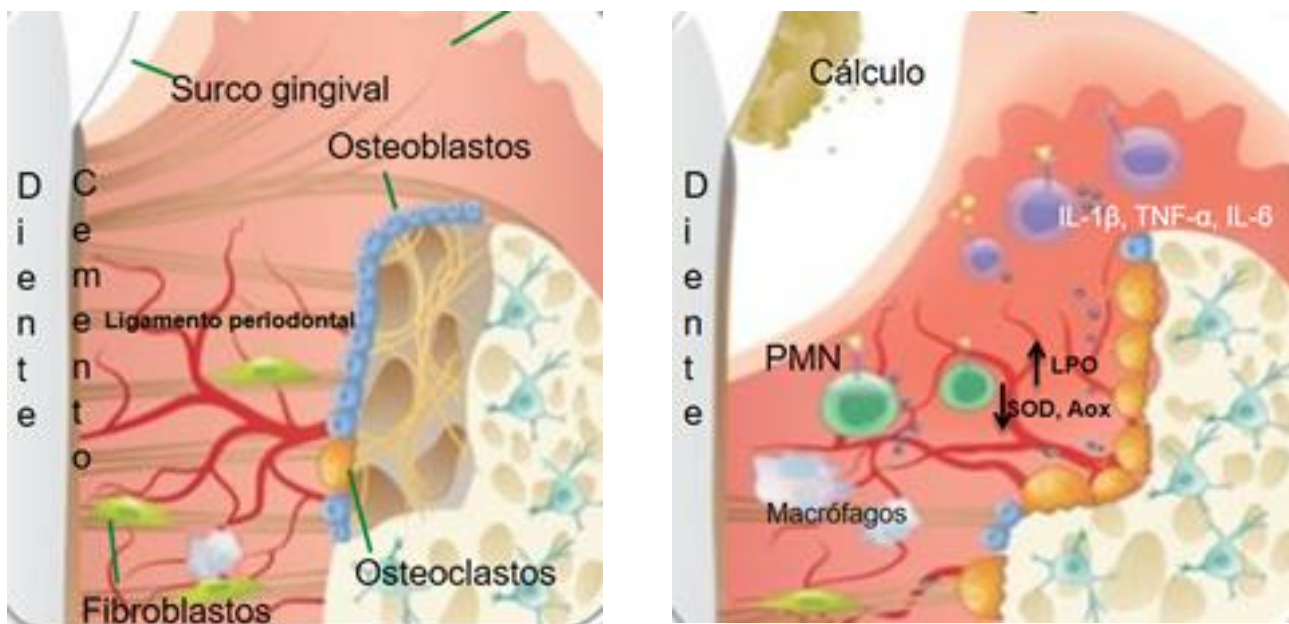


Figura 1. Fisiopatología de la enfermedad periodontal. Modificado de Sharma y col. (2011)

Una vez que los lipopolisacáridos de las bacterias son detectados por el sistema inmune, se monta una respuesta donde los PMN intentan controlar la infección. De esta forma, se ha detectado que los leucocitos PMN, tanto gingivales como periféricos de pacientes con EP, liberan mayor cantidad de EROS en presencia de estímulos como por ejemplo las bacterias periodontopáticas.^{35, 36} Se ha observado que la enzima mieloperoxidasa presenta una actividad incrementada en el fluido gingival de pacientes con periodontitis. El daño oxidativo a los lípidos y carbohidratos también se ha demostrado en esta enfermedad.³⁷ Con lo cual se propone que la EP está estrechamente relacionada con los altos niveles de EOx.

Por lo cual, se han propuesto diversas terapéuticas adicionales al tratamiento tradicional que ayuden a reducir el daño causado a los tejidos de soporte durante la EP. Entre estas terapias, destacan numerosas sustancias antioxidantes.^{16, 38}

El profundizar en el estudio de la participación del EOx en la patogenia de la EP puede ayudar a comprender mejor la etiopatogenia de la enfermedad y así proponer nuevas alternativas terapéuticas para mejorar la salud de los individuos.

En los últimos años, han surgido numerosos informes basados en estudios epidemiológicos, en los que las infecciones buco-dentales se asocian con enfermedades sistémicas, entre ellas alteraciones cerebrovasculares, respiratorias, diabetes mellitus y resultados adversos del embarazo, debido a los lipopolisacáridos (LPS), las bacterias Gram negativas viables del biofilm y citoquinas pro inflamatorias que pueden ingresar al torrente sanguíneo e influir en la salud general y susceptibilidad a ciertas enfermedades^{39,40}.

La EP es una agresión patógena e inflamatoria, continua a nivel sistémico, por la gran cantidad de superficie de epitelio ulcerado de las bolsas que permite a través de 3 mecanismos el paso de bacterias y sus productos al organismo:

Infección metastásica o bacteriemia: los microorganismos ingresan al torrente sanguíneo, no son eliminados y se diseminan.

El daño metastásico se da por las endotoxinas y LPS liberados y letales para las células; mientras que la inflamación metastásica se induce por las reacciones antígeno anticuerpo y la liberación de mediadores químicos⁴¹.

En la degranulación de los PMN también se liberan enzimas proteolíticas. La elastasa puede hidrolizar diferentes proteínas de la matriz extracelular como elastina, fibronectina y colágeno tipo III y IV. La colagenasa también es capaz de degradar el colágeno tisular. Deguchi *et al.* Fueron los primeros en demostrar el daño periodontal producido por los PMN, observaron que aumentaba la adherencia de PMN a fibroblastos del ligamento periodontal al ser estimulados por lipopolisacáridos (LPS). Como ya se ha comentado, la apoptosis juega un papel fundamental en la producción de daño tisular. Existen diferentes moléculas inflamatorias que retrasan esta apoptosis, dando lugar a un aumento de PMN en el lugar de la lesión, aumentando las posibilidades de destrucción de los mismos y liberación de sus productos tóxicos al espacio extracelular con el consiguiente daño tisular. La apoptosis de neutrófilos es un importante mecanismo que mantiene un número apropiado de células bajo condiciones fisiológicas. La disminución de este mecanismo se ha asociado con la aparición de diferentes enfermedades inflamatorias, tanto agudas como crónicas y parece estar mediado en gran medida por la excesiva producción de factor estimulador de colonias de granulocitos (G-CSF) y factor estimulador de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF) ^{42,43}.

V. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La EP es una de las enfermedades bucales más frecuentes en adultos mayores y su presencia no sólo tiene influencia localmente, sino también tiene repercusión a nivel sistémico, siendo factor de riesgo para numerosas enfermedades como Alzheimer, artritis y complicando su control como en el caso de la diabetes mellitus.

Si bien, esta enfermedad inicia con la colonización de patógenos anaerobios alrededor del diente, es la respuesta inmune del individuo lo que hace que la enfermedad progrese. En este sentido, los receptores de los PMN detectan patrones moleculares en la superficie de las bacterias, lo cual estimula la generación de RL y citosinas inflamatorias para contrarrestar con la infección.

Por lo cual, se ha planteado que tanto el EOx como la inflamación son dos procesos involucrados en la génesis y persistencia de la EP.

Si bien se han realizado algunos estudios para asociar el EOx y la EP, la gran mayoría de ellos utilizan pruebas en suero. Esto, además de ser un método invasivo, y muchas veces complicado de realizar en adultos mayores, tiene el inconveniente de diluir el verdadero estado oxidado de la boca. Por lo cual, lo ideal sería realizar una determinación *in situ* con una técnica mínimamente invasiva; sin embargo, son escasos los estudios que se han realizado en viejos y su asociación con el grado de afectación periodontal.

Es por ello, que nos planteamos la siguiente pregunta de investigación:

¿Cuáles son los niveles de lipoperóxidos y la capacidad antioxidante total en saliva en adultos mayores con enfermedad periodontal?

VI. Hipótesis

De acuerdo con la información teórica investigada, suponemos que los adultos mayores que presenten enfermedad periodontal tendrán niveles mayores de lipoperóxidos y una capacidad antioxidante total baja, comparada con los adultos mayores periodontalmente sanos.

VII. Objetivos

VII.1 Determinar los niveles de lipoperóxidos y la capacidad antioxidante total en muestras de saliva de una población de adultos mayores con enfermedad periodontal comparados con adultos mayores periodontalmente sanos.

VII.2 Determinar los niveles de lipoperóxidos y la capacidad antioxidante total en muestras de saliva de una población de adultos mayores con diferentes grados de enfermedad periodontal.

VIII. Material y métodos

VIII.1 Población y diseño

Previo consentimiento informado se realizó un estudio transversal analítico con 95 adultos mayores sin distinción de sexo, donde 55 personas fueron diagnosticadas con EP o gingivitis y otras 40 fueron periodontalmente sanos que constituyeron el grupo control. Ambos grupos fueron sistémicamente sanos o con enfermedades crónicas controladas y no consumieron suplementos antioxidantes ni anti-inflamatorios en 6 meses previos a la toma de muestra.

A ambos grupos se les midió la profundidad de surco gingival para clasificarlos en sanos o con EP. Posteriormente se colectaron 6 ml de saliva de ambos grupos, en tubos de polipropileno de 15mL, las cuales se centrifugaron a 2500rpm durante 10 minutos para después ser alicuotadas y congeladas a -80oC hasta su análisis.

VIII.2 Variables

Variable dependiente:

- Nivel de lipoperóxidos y capacidad antioxidante total en muestras de saliva.

Variable independiente:

- Enfermedad periodontal.
- Grados de enfermedad periodontal.

Operacionalización de variables:

Variables	Definición	Nivel de Medición	Categoría
Lipoperoxidación	Concentración de lipoperóxidos en muestras de saliva	Cuantitativa continua	μmol/L
Capacidad antioxidante total	Capacidad antioxidante total en muestras de saliva	Cuantitativa continua	mmol/L
Enfermedad periodontal	Profundidad de surco gingival mayor a 4 mm	Cualitativa nominal	Presencia de enfermedad periodontal Ausencia de enfermedad periodontal
Grado de enfermedad periodontal	Características clínicas de la encía y profundidad del surco gingival.	Cualitativa ordinal	Leve Moderada Severa

VIII.3 Técnicas

VIII.3.1 Material biológico

Se colectaron muestras de saliva tanto del grupo de pacientes con EP como los sanos, en tubos de polipropileno de 15m. Dichas muestras fueron centrifugadas a 2500rpm durante 10 minutos para posteriormente ser alicuotadas y congeladas a -80oC hasta su análisis.

VIII.3.2 Evaluación de marcadores de LPO y AOX en muestras de saliva.

Peroxidación lipídica por el método del ácido tiobarbitúrico (TBA)

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

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

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

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

Preparación de la curva estándar:

Preparar las siguientes soluciones:

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

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

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

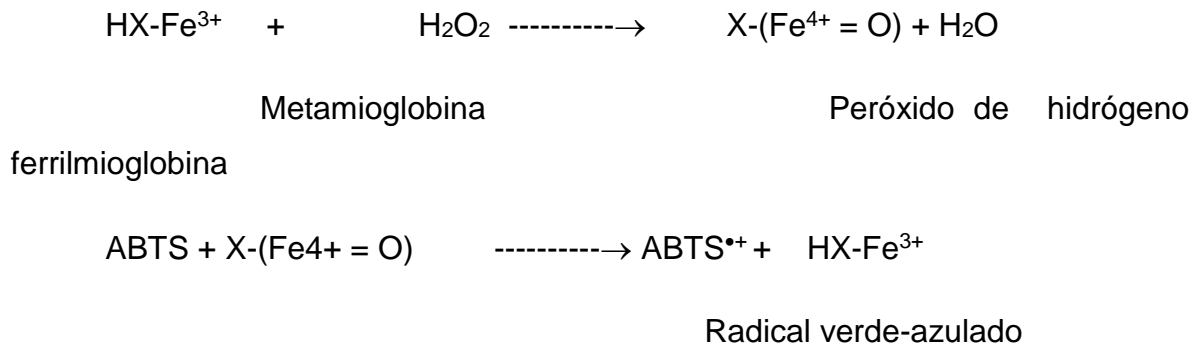
Tubo	TMP (μL)	H₂O (mL)	MDA(μmol/L)
1	0	1.000	0
2	5	0.995	0.2
3	10	0.990	0.4
4	20	0.980	0.8
5	30	0.970	1.2
6	50	0.950	2.0
7	70	0.930	2.8
8	100	0.900	4.0

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

- Determinación de Capacidad Antioxidante Total

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

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



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

VIII.3.3 Evaluación de la profundidad del surco gingival

Para ello, se usó la sonda periodontal recomendada por la OMS, la cual está particularmente diseñada para una manipulación suave de los tejidos blandos ubicados alrededor de la pieza dentaria. La sonda presenta una porción codificada, la cual debe usarse con una fuerza suave para determinar la profundidad de la bolsa y para detectar la presencia de cálculo subgingival. Esta presión no debe ser mayor de 20 gramos.

La sonda se introduce entre el diente y la encía, lo más paralelamente posible a la superficie de la raíz. La profundidad del surco gingivodentario se determina observando la marca, al nivel del margen gingival. El extremo de la sonda debe mantener el contacto con la superficie de la raíz.

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

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

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

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

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

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

IX. Análisis estadístico:

Los datos serán analizados utilizando medidas descriptivas, porcentajes, promedio y desviación estándar (DE); como pruebas de comparación se usará la prueba t de Student y ANOVA, post hoc de Tukey.

Para todas las pruebas se considerará un valor de $p < 0.05$ como significancia estadística. Para tal efecto se utilizó el programa de análisis estadístico SPSS versión 15.0.

X. Resultados

En el cuadro X.1 se presentan los datos demográficos de la población previos a la toma de muestra de saliva, no observándose diferencias estadísticamente significativas.

Respecto a los marcadores de EOX en saliva, se observó que las personas que clínicamente fueron diagnosticadas con enfermedad periodontal (EP), tienen concentraciones más elevadas de antioxidantes (CAT) en comparación a los pacientes sanos (0.7437 ± 0.34 vs. 0.3797 ± 0.40 mmol/L, $p < 0.05$). En cuanto a la concentración de lipoperóxidos (LPO) se observó que los pacientes con EP tenían concentraciones más elevadas que el grupo control de sanos (0.33382 ± 0.43 vs. 0.14905 ± 0.06 μ mol/L, $p < 0.05$). La diferencia en ambos parámetros fue estadísticamente significativa. (Cuadro X.1)

Por otra parte, al analizar los niveles de CAT en las personas con diferentes grados de EP, se observó que aquellos con EP leve tenían concentraciones menores que los pacientes con EP moderada o severa (0.247 ± 0.42 vs. 0.691 ± 0.33 y 0.736 ± 0.30 mmol/L, $p < 0.05$). En cuanto a las concentraciones de LPO el grupo con EP severa fueron quienes presentaron concentraciones más elevadas en comparación con los grupos con EP leve o moderada (0.399 ± 0.54 vs. 0.157 ± 0.06 y 0.187 ± 0.88 μ mol/L, $p < 0.05$). Ambos resultados fueron estadísticamente significativos. (Cuadro X.1)

Cuadro X.1 Datos demográficos de la población

	Sanos (n=40)	Con EP (n=55)
Edad (años)	68.2 ± 6.6	67.4 ± 4.7
Sexo		
Femenino	32 (80%)	48 (87.3%)
Masculino	8 (20%)	7 (12.7%)
IEP (mm)	1.5 ± 0.8	3.79 ± 0.4

IEP: índice de enfermedad periodontal; EP: enfermedad periodontal. Los valores muestran porcentajes y la media ± desviación estándar. Pruebas χ^2 y *t-Student*.

Cuadro X.2 Capacidad antioxidante total y nivel de lipoperóxidos por grupo de estudio.

Marcador	Sanos (n=45)	Con EP (n=50)
CAT	0.3797 ± 0.40	0.7437 ± 0.34*
LPO	0.14905 ± 0.06	0.33382 ± 0.43*

Los valores muestran la media ± desviación estándar. Prueba *T-Student*

* $p < 0.05$; EP: enfermedad periodontal; CAT: capacidad antioxidante total; LPO: lipoperóxidos.

Cuadro X.3. Niveles de lipoperóxidos y capacidad antioxidante total en pacientes con diferentes grados de enfermedad periodontal.

	Grado de enfermedad periodontal (n=73)		
	Leve (n=26)	Moderada (n=12)	Severa (n=17)
CAT (mmol/L)	0.247 ± 0.42*	0.691 ± 0.33	0.736 ± 0.30
LPO (µmol/L)	0.157 ± 0.06	0.187 ± 0.88	0.399 ± 0.54*

CAT: capacidad antioxidante total, LPO: lipoperóxidos. Prueba ANOVA, post hoc de Tukey, *p<0.05

XI. Discusión

El estrés oxidativo (EOx) es el desequilibrio entre las especies reactivas de oxígeno y la capacidad antioxidante del organismo que se inclina hacia las primeras. Este desequilibrio está involucrado en el desarrollo de diversas enfermedades como diabetes mellitus, Alzheimer y enfermedad periodontal (EP).

La EP es una fuente de inflamación de bajo grado que incrementa las concentraciones sanguíneas de proteína C reactiva, fibrinógeno y neutrófilos; los cuales se relacionan con un aumento del riesgo de enfermedad coronaria, hipertensión arterial y diabetes mellitus, aunque la relación también es inversa, debido a que las enfermedades sistémicas pueden acelerar la afección periodontal, como confirmaron recientemente Lee y colaboradores.⁵¹

En este sentido, se ha detectado que los leucocitos PMN tanto gingivales como periféricos de pacientes con EP, liberan mayor cantidad de especies reactivas de oxígeno (EROs) en presencia de estímulos como bacterias periodontopáticas a nivel del surco gingival lo cual causa la destrucción del hueso alveolar, encía, ligamento periodontal y cemento radicular que en conjunto fijan y amortiguan a los dientes dentro de la cavidad alveolar.^{47, 48}

En caso de que este cuadro no sea atendido prontamente, causa la pérdida dental y con ello problemas masticatorios, fonéticos, nutricionales e incluso es factor de riesgo para otras patologías como ya se mencionó.

En muchas ocasiones, la enfermedad tiene periodos de subclínicos pero eso no implica que los tejidos estén sanos. Es por ello que es importante tener indicadores bioquímicos que permitan tener una noción del proceso biológico que se está llevando a cabo y con ello plantear planes personalizados de tratamiento.

En este sentido, se han realizado diversos análisis con muestras de suero que han relacionado positivamente al EOx con la EP. Sin embargo, es necesario tener un indicador preciso del fenómeno a nivel local.

Es por ello que en el presente trabajo se analizaron los niveles de lipoperóxidos (LPO) y antioxidantes totales (AOX) de muestras de saliva de pacientes con EP

De acuerdo a nuestros resultados, las personas que cursan con EP, tienen mayores niveles de LPO en comparación con aquellos periodontalmente sanos y entre mayor sea el grado de la enfermedad, aumentan los niveles de LPO, lo cual concuerda con Voskresenskii ON y Bárbara E. García quienes han demostrado que existe daño oxidativo a los lípidos y carbohidratos en esta enfermedad.^{49, 50}

Además, se sabe que las especies reactivas de oxígeno (EROs) pueden dañar selectivamente los proteoglicanos asociados con los tejidos periodontales blandos y con el hueso alveolar⁵⁴; así como las cadenas de prolina de la colágena tipo 1⁵⁵, lo cual puede alterar significativamente las funciones de fibroblastos tales como la adhesión, proliferación, y la longevidad⁵⁶.

De esta forma, la producción excesiva de EROs por los neutrófilos o fibroblastos dentro de los tejidos periodontales activa al NF-κB con la consecuente cascada de señalización que activa a los osteoclastos y la inflamación⁵⁷. Asimismo, la generación de EOX causa desequilibrio de las metaloproteinasas y sus inhibidores tisulares, que en conjunto, conduce a la degradación de los tejidos periodontales^{58, 59, 60}

Pese a que encontramos niveles de LPO elevados en pacientes con EP y concuerda con otros reportes de investigación, no sucede lo mismo con los resultados de los CAT, donde los niveles de pacientes enfermos son más altos que los de aquellos que son periodontalmente sanos y entre mayor sea la severidad de la enfermedad, mayor concentración de éstos se observa. Ante esto, es probable que los niveles más altos de CAT indiquen un efecto compensatorio, es decir, que altos niveles de LPO inducen una respuesta antioxidante del organismo tal y como lo menciona Limón-Pacheco et al. (2009) quienes proponen una sobreproducción de antioxidantes⁵³

Si bien, una reducción de la CAT total es evidencia de daño puede indicar una falta de respuesta, disminución de antioxidantes o un insulto oxidativo que supera la

capacidad antioxidante y con ello la indicación de una intervención terapéutica antioxidante. Sin embargo, la situación inversa puede ser indicio de un mecanismo adaptativo compensatorio denominado hórmesis; en el cual la exposición continua a cantidades bajas de estresores, se traduce en una respuesta controlada y benéfica para el organismo, gracias a la cual aumenta la eficiencia antioxidante y antiinflamatoria⁶¹.

Existe una creciente evidencia de que la presencia continua de un pequeño estímulo, tal como bajas concentraciones de EROs, es capaz de inducir la expresión de enzimas antioxidantes y otros mecanismos de defensa. La base de este fenómeno puede ser abarcado, como se mencionó anteriormente, por el concepto de hórmesis, que puede ser caracterizado como una relación dosis- respuesta en particular, en el que una dosis baja de una sustancia es estimuladora y una dosis alta es inhibidora⁶².

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

Finalmente, observamos que es necesario realizar una valoración local de la EP para no sobremedicar o dar tratamientos insuficientes al paciente. ^{52,53}

XII. Conclusiones.

Hipótesis

De acuerdo con la información teórica investigada, suponemos que los adultos mayores que presenten enfermedad periodontal tendrán niveles mayores de lipoperóxidos y una capacidad antioxidante total baja, comparada con los adultos mayores periodontalmente sanos.

Conclusiones

- La pacientes con enfermedad periodontal tienen mayores niveles de lipoperóxidos y antioxidantes que los pacientes periodontalmente sanos.
- Los pacientes con enfermedad periodontal avanzada tienen mayores niveles de lipoperóxidos en comparación con grados leve y moderado.
- Los pacientes con enfermedad periodontal avanzada tienen mayores niveles de antioxidantes totales en comparación con grados leve y moderado.

XIII. Referencias

1. Clapés, S. Diabetes mellitus, estrés oxidativo y embarazo. Rev. Cubana Invest. Biomed. 19,191-5 (2000).
2. Rodríguez, J.M., Menéndez, J.R. & Trujillo, Y. Radicales libres en la biomedicina y estrés oxidativo. Rev. Cubana Med. Milit. 30,36-44 (2001).
3. Expósito LA, Kokoszka JE, Waymire KG. Mitochondrial oxidative stress in mice lacking the glutathione peroxidase-1 gene. Free Radic Biol Med 2000; 28(5):754-66.
4. Clapés, S. Diabetes mellitus, estrés oxidativo y embarazo. Rev. Cubana Invest. Biomed. 19,191-5 (2000).
5. Singh, R., Barden, A., Mori, T. & Beilin, L. Advanced glycation endproducts: a review. Diabetologia 44, 129-146 (2001).
6. Marroni Possa. Estresse oxidativo e antioxidantes, Editorial ULBRA, 1ª edición, Brasil 2002, pág. 23 – 31. 137 -139.
7. Gonzales-Torres MC, Betancourt-Rule M, Ortíz-Muñiz R. Daño Oxidativo y Antioxidantes. Bioquímica 2000; 25: 3-9.
8. Adonis E. Zorrilla García. Septiembre 2012.Envejecimiento y Estrés Oxidativo. Biomed, 21(3), pág. 2-23.
9. Sohal RS. The free radical hypothesis of aging: an appraisal of the current status. Aging Clin Exp. Res 1993; 5:3-17.
10. Turrens J. Fuentes intracelulares de especies oxidativas en condiciones normales y patológicas. Antioxidantes y Calidad de Vida 1994; 1:16-9.
11. Sun Y, Oberly LW. Redox regulation of transcriptional activator. Free Rad Biol Med 1996; 21:335-48.

12. Mc Cord Jm, Ormar BA. Sources of free radicals. *Toxicol Indust Health* 1993; 9:23-37.
13. Jerlick A, Pitt AR, Schaur RJ, Spickett CM. Pathway of phospholipid oxidation by HOC1 in human LDL, detected by LC-MS. *Free Radic Biol Med* 2000;28(5):673-82.
14. Zorrilla A, Fernández A. Diabetes mellitus y estrés oxidativo. *Bioquimia* 1999; 24(3):75-9. 18. Matés, J.M., Pérez-Gómez, C. & Núñez, D.I. Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin. Biochem.* 1999, 32, 595-603.
15. Finkel T, Holbrook NJ. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature* 2000; 408: 239-247.
16. Agarwal S, Piesco NP, Peterson DE, Charon J, Suzuki JB, Godowsky KC et al. Effects of sanguinarium, chlorhexidine and tetracycline on neutrophil viability and functions in vitro. *J Periodontal Res* 1997; 32:335-44.
17. Céspedes, C.T. & Sánchez. S.D. Algunos aspectos sobre el estrés oxidativo, el estado antioxidante y la terapia de suplementación. *Rev. Cubana Cardiol.* 14, 55-60 (2000).
18. Jaruga P, Dizdaroglu M. Repair of products of oxidative ADN base damage in human cells. *Nucleic Acids Res* 1996; 24:1389-94.
19. Rasmussen L, Sander M, Wewer UM, Bohr VA. Aging, longevity and health. *Mech Ageing Dev.* 2011; 132:522-32.
20. Reyli PM, Burkley GB. Tissue injury by free radicals and other toxic oxygen metabolites. *Br J Surg* 1990; 77:1324-5.
21. Spittler G. Lipid Peroxidation in aging and age- dependent diseases *Experimental Gerontology* 36 (2001) 1425-1457.

22. Moseley R, Waddington RJ, Embery G. Degradation of glycosaminoglycans by reactive oxygen species derived from stimulated polymorphonuclear leukocytes. *Biochim Biophys Acta* 1997; 1362:221-31.
23. Venereo Gutiérrez. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes, *Rev Cubana Med Milit* 2002; 31(2):126-33.
24. Jaruga P, Dizdaroglu M. Repair of products of oxidative ADN base damage in human cells. *Nucleic Acids Res* 1996; 24:1389-94.
25. Roche E. Estrés oxidativo y degradación de proteínas. *Med Clin* 1994;103:189-96
26. Pérez F, Carrasco E, Santos JL, Calvillán M, Albala C. Prevalencia de obesidad, hipertensión arterial y dislipidemia en grupos aborígenes rurales de Chile. *Rev Méd Chile* 1999; 127: 1169-75.
27. Cuneo, C. Lipoproteínas de alta densidad (HDL) y enfermedad coronaria. *Rev Fed Arg Cardiol.* 2001; 30:103-111.
28. Tsimikas S. Oxidative biomarkers in the diagnosis and prognosis of cardiovascular disease. *Am J Cardiol* 2006; 98: 9-17
29. Klipstein K y cols. Serum carotinoids and atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2000; 148: 49-56.
- 30.. Holmberg S y cols. Reactive oxygen species modify the structure and function of the cardiac sarcoplasmic reticulum calcium-release channel. *Cardiosci* 1991; 2: 19-25.
31. Villa-Caballero L, Nava-Ocampo A, Ponce-Monter H, Frati- Munari A. El estrés oxidativo. ¿Es necesario medirlo en el paciente diabético? *Gac Med Mex* 2000; 136: 249-255.

32. Ceriello A. New insights on oxidative stress and diabetic complications may lead to a “causal” antioxidant therapy. *Diabetes Care* 2003; 216: 1589-1596.
33. Pennathur S y cols. A hydroxyl radical-like species oxidizes cynomolgus monkey artery wall proteins in early diabetic vascular disease. *J Clin Invest* 2001; 107(7): 853-860.
34. Kato C, Suzuki M, Saito K. Chemiluminescence response and phagocytic activity of murine polymorphonuclear leukocytes to various species of oral bacteria. *Shigaku* 1989; 77:76-87.
35. Gustafson A, Asman B. Increased of free oxygen radicals from peripheral neutrophils in adult periodontitis after Fcγ-receptor stimulation. *J Clin Periodontol* 1996;38-44
36. Miyasaki KT, Nemirovskiy E. Myeloperoxidase isoform activities released by human neutrophils in response
37. Firatli E, Unal T, Onan U. Antioxidant activities of some chemotherapeutics. A possible mechanism in reducing gingival inflammation. *J Clin Periodontol* 1994; 21:680-3.
38. Singh, R., Barden, A., Mori, T. & Beilin, L. Advanced glycation endproducts: a review. *Diabetologia* 44, 129-146 (2001).
39. Liljemark WF, Bloomquist C. Human oral microbial ecology and dental caries and periodontal diseases. *Crit Rev Oral Biol Med* 1996; 7:180-98.
40. Mealey B, Koekkevoold P. *Medicina Periodontal*. En: Carranza. *Periodontología Clínica*. 9 ed. México: McGraw-Hill Interamericana; 2004. pp.243- 60.
41. Dibbert B, Weber M, Nikolaizik WH, Vogt P, Schoni MH, Blaser K, Simon HU. Cytokine-mediated Bax deficiency and consequent delayed neutrophil

apoptosis: a general mechanism to accumulate effector cells in inflammation.

42. Saba S, Soong G, Grenberg S, Prince A. Bacterial stimulation of epithelial G-CSF and GM-CSF expression promotes PMN survival in CF airways. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2002; 27: 561-7
43. Bascones A. Epidemiología de la enfermedad de la cavidad oral en el anciano. En: *Tratado de Odontología. T4. 3ª Ed.* Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 1999.
44. MacDonald DE. Principles of geriatric dentistry and their application to the older adult with a physical disability. *Clin Geriatr Med;* 2006; 22: 413–34.
45. Berenguer M. La salud bucodental en la tercera edad. *MEDISAN.* 1999; 3 (4): 53–56.
46. WHO. Elderly people. Improving oral health amongst the elderly. Washington: WHO; 2007.
47. Kato C, Suzuki M, Saito K. Chemiluminescence response and phagocytic activity of murine polymorphonuclear leukocytes to various species of oral bacteria. *Shigaku* 1989; 77:76-87.
48. Gustafson A, Asman B. Increased of free oxygen radicals from peripheral neutrophils in adult periodontitis after Fcγ-receptor stimulation. *J Clin Periodontol* 1996; 23:38-44.
49. García BE, García JC, Broche F, Rodríguez P, Rodríguez V, Saldaña A. La peroxidación lipídica en la enfermedad periodontal inflamatoria experimental. *Rev Cubana Estomatol* 1998; 35:25-9.
50. Moseley R, Waddington RJ, Embery G. Degradation of glycosaminoglycans by reactive oxygen species derived from stimulated polymorphonuclear leukocytes. *Biochim Biophys Acta* 1997; 1362:221-31.

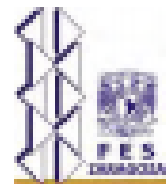
51. Lee KS, Kim EK, Kim JW, Choi YH, Mechant AT, Song KB, et al. The relationship between metabolic conditions and prevalence of periodontal disease in rural Korean elderly. *Arch Gerontol Geriatr.* 2014 [citado 22 mar 2014]; 58(1):125-9. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167494313001453?via=ihub>
52. Rendón A (2005) El daño oxidativo y la respuesta antioxidante durante la intoxicación con plomo en una población expuesta y los efectos del tratamiento con antioxidantes. Tesis de doctorado. Departamento de Bioquímica CINVESTAV.
53. Limón-Pacheco J, Gonsebatt ME. Limón J, Gonsebatt ME (2009) the role of antioxidants and antioxidant related enzymes in protective responses to environmentally induced oxidative stress. *Mutat Res* 674(1- 2): 137-147.
54. Waddington RJ, Embery G, Smith AJ. Immunochemical detection of the proteoglycans decorin and biglycan in human gingival crevicular fluid from sites of advanced periodontitis. *Arch Oral Biol* 1998; 43: 287–95.
55. Waddington RJ, Moseley R, Embery G. Reactive oxygen species: a potential role in the pathogenesis of periodontal diseases. *Oral Dis* 2000; 6: 138–51.
56. Rittie L, Monbiosse J-C, Gorisse M-C, Gillery P. Malondialdehyde binding to proteins dramatically alters fibroblast functions. *J Cell Physiol* 2002; 191: 227–36.
57. Jimi E, Aoki K, Saito H, D'Acquisto F, May MJ, Nakamura I, Sudo T, Kojima T, Okamoto F, Fukushima H, Okabe K, Ohya K, Ghosh S. Selective inhibition of NF- κ B blocks osteoclastogenesis and prevents inflammatory bone destruction in vivo. *Nat Med* 2004; 10: 617–24.

58. Verstappen J, Von den Hoff JW. Tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs): their biological functions and involvement in oral disease. *J Dent Res.* 2006; 85(12):1074-84
59. Pozo P, Valenzuela MA, Melej C, Zaldivar M, Puente J, Martinez B, Gamonal J. Longitudinal analysis of metalloproteinases, tissue inhibitors of metalloproteinases and clinical parameters in gingival crevicular fluid from periodontitis-affected patients. *J Periodontal Res* 2005; 40: 199–207.
60. García BE, García JC, Broche F, Rodríguez P, Rodríguez V, Saldaña A. La peroxidación lipídica en la enfermedad periodontal inflamatoria experimental. *Rev Cubana Estomatol* 1998; 35:25-9.
61. López-Díaz NE, González Puertos VY, Hernández-Bautista RJ, Alarcón-Aguilar A, Luna-López A, Königsberg Fainstein M. Hormesis: What doesn't kill you makes you stronger. *Gac Med Mex.* 2013; 149(4):438-47
62. Calabrese EJ, Baldwin LA. Hormesis: the dose-response revolution. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2003;43:175-97

XV. Anexos



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



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

Antecedente

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

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

Objetivo

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

Condiciones para ingresar al estudio

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

Riesgos

No existe ningún riesgo para su salud, las tomas de muestras sanguíneas serán llevadas a cabo por personal experimentado con material nuevo y desechable

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

Beneficios

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

Confidencialidad

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

Preguntas

Toda duda que tengan los participantes durante el tiempo que de la investigación, la podrán consultar con su médico tratante y con los integrantes de la Unidad de Investigación en Gerontología.

Derecho a rehusar

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

CONSENTIMIENTO

DECLARO QUE HE LEÍDO O ME HAN LEÍDO EN PRESENCIA DE UN FAMILIAR RESPONSABLE EL CONTENIDO DEL PRESENTE DOCUMENTO, COMPRENDO LOS COMPROMISOS QUE ASUMO Y LOS ACEPTO EXPRESAMENTE. POR ELLO, MANIFESTO MI DESEO DE PARTICIPAR EN ESTA INVESTIGACIÓN CON TÍTULO: **"EFECTO DEL TAI CHI EN LA SALUD DE ADULTOS MAYORES"** Y FIRMO VOLUNTARIAMENTE ESTE CONSENTIMIENTO INFORMADO.

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

Nombre y firma del participante

Nombre y firma de un familiar (testigo):

Nombre y firma del investigador:

C. D. Beatriz Hernández Monjaraz

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

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

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



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



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



ÍNDICE DE ENFERMEDAD PERIODONTAL DE RAMSFÖRD (IEP)

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

Diente	V	MV	I	IX	IEP
16					
21					
24					
36					
41					
44					

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

Parámetros para la comparación de la condición clínica del valor del IEP de Ramsford	
0	Ausencia de signos de inflamación.
1	Grignitis leve o moderada localizada.
2	ediaración leve o moderada generalizada.
3	Grignitis severa.
4	Presencia de bolsas periodontales hasta de 3 mm.
5	Presencia de bolsas periodontales hasta de 7 a 6 mm.
6	Presencia de bolsas periodontales de más de 6 mm.

Clasificación: _____

Actividad: _____