



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

**EFFECTO DEL CONSUMO DE FRUTOS DE *Sechium edule* SOBRE
MARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO, INFLAMACIÓN CRÓNICA Y DAÑO
OXIDATIVO AL ADN EN ADULTOS MAYORES CON SÍNDROME
METABÓLICO**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

DOCTORA EN CIENCIAS

PRESENTA:

TAIDE LAURITA ARISTA UGALDE

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS:

DR. VÍCTOR MANUEL MENDOZA NÚÑEZ
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA, UNAM.

COMITÉ TUTOR:

DR. EDELMIRO SANTIAGO OSORIO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA, UNAM.

DR. ALBERTO MONROY GARCÍA
CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI, INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL.

Ciudad de México, marzo de 2023



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

**EFFECTO DEL CONSUMO DE FRUTOS DE *Sechium edule* SOBRE
MARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO, INFLAMACIÓN CRÓNICA Y DAÑO
OXIDATIVO AL ADN EN ADULTOS MAYORES CON SÍNDROME
METABÓLICO**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

DOCTORA EN CIENCIAS

PRESENTA:

TAIDE LAURITA ARISTA UGALDE

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS:

DR. VÍCTOR MANUEL MENDOZA NÚÑEZ
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA, UNAM.

COMITÉ TUTOR:

DR. EDELMIRO SANTIAGO OSORIO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA, UNAM.

DR. ALBERTO MONROY GARCÍA
CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI, INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL.

Ciudad de México, marzo de 2023

COORDINACIÓN DEL POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

OFICIO CPCB/225/2023

ASUNTO: Oficio de Jurado

M. en C. Ivonne Ramírez Wence
Directora General de Administración Escolar, UNAM
P r e s e n t e

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día **07 de noviembre de 2022** se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **DOCTORA EN CIENCIAS** de la estudiante **ARISTA UGALDE TAIDE LAURITA** con número de cuenta **404001692** con la tesis titulada **“Efecto del consumo de *Sechium edule* sobre marcadores de estrés oxidativo, inflamación crónica y daño oxidativo al ADN en adultos mayores con síndrome metabólico”**, realizada bajo la dirección del **DR. VÍCTOR MANUEL MENDOZA NÚÑEZ**, quedando integrado de la siguiente manera:

Presidente: DR. JOSÉ PEDRAZA CHAVERRY
Vocal: DRA. ISABEL ARRIETA CRUZ
Vocal: DRA. MARÍA DEL CARMEN GARCÍA RODRÍGUEZ
Vocal: DRA. JUANA ROSADO PÉREZ
Secretario: DR. EDELMIRO SANTIAGO OSORIO

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

A T E N T A M E N T E
“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”
Ciudad Universitaria, Cd. Mx., a 28 de febrero de 2023

COORDINADOR DEL PROGRAMA



DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA



COORDINACIÓN DEL POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

Unidad de Posgrado, Edificio D, 1º Piso. Circuito de Posgrados, Ciudad Universitaria
Alcaldía Coyoacán. C. P. 04510 CDMX Tel. (+5255)5623 7002 <http://pcbiol.posgrado.unam.mx/>

AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES

Expreso mi agradecimiento total al Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM por haberme dado las herramientas necesarias para realizar este Doctorado.

El presente trabajo se desarrolló en el Laboratorio de Gerontología Clínica de la Unidad de Investigación en Gerontología en la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza de la UNAM. La investigación se realizó bajo la dirección del Dr. Víctor Manuel Mendoza Núñez y fue apoyada por los siguientes programas:

- a) Proyecto de investigación “Efecto del consumo del fruto de *Sechium edule* sobre marcadores de estrés oxidativo e inflamación crónica en adultos mayores con síndrome metabólico” del Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) con clave IN 218718 de la **Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA)**.
- b) Proyecto de investigación “Efecto del tratamiento complementario con fruto de *Sechium edule* sobre marcadores de estrés oxidativo e inflamación en ancianos con síndrome metabólico” de la **Secretaría de Ciencia, Tecnología e Innovación de la Ciudad de México** con clave SECITI/045/2018
- c) Proyecto de investigación “Efecto del consumo de fruto de *Sechium edule* sobre la longitud telomérica, el daño oxidativo y los niveles de expresión relativa de los ARNm de factores de transcripción asociados al estrés oxidativo en adultos mayores con síndrome metabólico” del Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) con clave IN215821 de la **Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA)**.

Agradezco también al Programa de Apoyos a los Estudios de Posgrado (PAEP) por el financiamiento brindado para participar en el Congreso “27th Annual Conference of the Society for redox Biology and medicina (SfRBM2020), el cual se llevó acabo en línea, vía remota.

Agradezco profundamente al Dr. Víctor Manuel Mendoza Núñez por la valiosa oportunidad de pertenecer a su equipo de trabajo, por su apoyo, dirección y enseñanza en el desarrollo de ésta investigación y de ésta tesis; quién también fue el tutor principal del comité. De la misma manera, agradezco al Dr. Edelmiro Santiago Osorio y al Dr. Alberto Monroy García por formar parte del comité y siempre haber direccionado y enriquecido con sus conocimientos y experiencias, el desarrollo de ésta investigación.

Quiero agradecer al jurado del examen de candidatura: Dra. Isabel Arrieta Cruz, Dra. María del Carmen García Rodríguez, Dr. José Pedraza Chaverri y Dr. Jorge Cadena Iñiguez, atesorando todo su apoyo y conocimientos compartidos.

AGRADECIMIENTOS

Dra. Juana Rosado Pérez: Por el apoyo incondicional y conocimiento compartido, mil gracias por siempre estar y compartir lo mejor de sí, admiro al gran ser humano que he podido conocer y agradezco su amistad.

Dra. Itzen Aguiñiga Sánchez: Por el conocimiento y apoyo brindado de manera continua, siempre haciendo equipo a pesar de cualquier circunstancia, gracias por los buenos momentos y su amistad.

Dr. Jorge Cadena Iñiguez y Dr. Edelmiro Santiago, muchas gracias por el financiamiento y todos los medios para el desarrollo de la investigación, por creer en los resultados y brindarme la oportunidad de realizar el trabajo de manera conjunta.

Dr. Ramón Marcos Soto Hernández por su valioso apoyo en la determinación de fitoquímicos presentados en ésta investigación, gracias por su tiempo y conocimientos compartidos.

Dr. Vicente Jesús Hernández Abad por su valiosa orientación y colaboración en el trabajo inicial del desarrollo de las cápsulas usadas en este trabajo.

Dra. Graciela Gavia García y Dr. David Hernández Álvarez por su apoyo y trabajo en equipo en ésta investigación, gracias por compartir sus valiosos conocimientos y agradable compañía.

Gracias a los miembros de la Unidad de Investigación en Gerontología que me acompañaron y dieron facilidades para el desarrollo de ésta investigación:

Dra. Susana Cocolletzi Kumul, Dra. Elsa Correa Muñoz, Dra. Raquel Retana Ugalde, M en C. Nayeli Anaí Vaquero Barbosa.

DEDICATORIAS

A mi amada hija:

Porque has sido el motivo principal para siempre seguir adelante, para buscar un mejor futuro, para darte lo mejor de mí. Gracias por siempre darme una sonrisa, acompañada del mayor amor que puedo sentir, aquél que es puro, inocente, aquel que me muestras siempre y que ilumina mis días cansados con un “te amo mami”. Te amo profundamente Taide Emireth, mi compañerita de vida.

A mi esposo:

Porque estás siempre dispuesto a apoyarme, a permanecer a pesar de los momentos difíciles, a continuar a pesar de los desvelos y los días nublados. Gracias por tus palabras de aliento, la protección y amor recibido. Otoniel, estaba escrito en las estrellas...

A mi Papá y Mamá

Emir y Araceli, gracias infinitas por todo lo que me han provisto, apoyo, consejos, porque me escuchan cuando lo necesito, gracias por su guía, porque siempre han creído en mí y a pesar de los años, siempre están presentes, saben que mis logros son suyos también. Gracias por su buen ejemplo, en la fe, en el trabajo y como seres humanos.

A mis queridos abuelitos:

Siempre he tenido un vínculo especial con ustedes, los respeto y admiro, gracias por mostrarme su amor siempre. Daniel y Daria, gracias por compartir consejos y vivencias, me gusta escuchar sus historias y pasar tiempo a su lado, gracias por su cariño continuo. Misael y Taide, atesoro los días que vivieron y confío en que nos volveremos a ver, gracias por sus enseñanzas, por su ejemplo de fe y amor.

Finalmente, pero no menos importante, agradezco a Dios, autor de la vida, quién ha sido mi sostén en los momentos difíciles, en quién siempre encuentro refugio, quién nunca falla y tiene cuidado de mí; estoy profundamente agradecida por que este ha sido su plan para mí y veo con gratitud su misericordia en mi vida y la de mi familia.

“Porque de Él, por Él y para Él son todas las cosas. A Él sea la gloria para siempre”... Romanos 11:36.

ÍNDICE

I.	RESUMEN	1
II.	ABSTRACT	2
III.	INTRODUCCIÓN	3
IV.	ANTECEDENTES	4
	IV.1 Síndrome metabólico	5
	IV.1.1 Síndrome metabólico y envejecimiento	5
	IV.2 Estrés oxidativo y enfermedades crónicas no transmisibles	8
	IV.2.1 Radicales libres y formación de especies reactivas de oxígeno	9
	IV.2.1.1 Especies reactivas de nitrógeno y radicales libres orgánicos	11
	IV.2.2 Daño oxidativo a biomoléculas	11
	IV.2.3 Marcadores biológicos del estrés oxidativo	13
	IV.3. Inflamación y envejecimiento	16
	IV.3.1 Marcadores biológicos del proceso inflamatorio crónico	19
	IV.4. Sistema antioxidante	20
	IV.4.1 Frutos comestibles como fuente de antioxidantes naturales..	23
	IV.5. Síndrome metabólico, tratamientos y terapias alternativas	24
	IV.5.1 Fitoquímicos y polifenoles	24
	IV.5.2 Cucurbitacinas	25
	IV.5.3 <i>Sechium edule</i> (Chayote)	26
V.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	32
VI.	HIPÓTESIS	32
VII.	OBJETIVOS	33
VIII.	MATERIAL Y MÉTODOS	34
	VIII.1 Población y diseño de estudio	34
	VIII.1.2 Criterios de inclusión y exclusión	34
	VIII.1.3 Criterios de eliminación	34
	VIII.2 Variables	35
	VIII.3. Técnicas	36
	VIII.3.1 Intervención	36
	VIII.3.2 Diagnóstico de síndrome metabólico	37
	VIII.3.3. Obtención de frutos de <i>Sechium edule</i> var. <i>nigrum espinosum</i>	37
	VIII.3.4 Formulación de cápsulas de <i>Sechium edule</i>	38
	VIII.3.5 Mediciones antropométricas y clínicas	38
	VIII.3.6 Composición corporal	39
	VIII.3.7 Obtención de las muestras	40
	VIII.3.8 Parámetros bioquímicos	41
	VIII.3.9 Determinación de marcadores biológicos de estrés oxidativo	44
	VIII.3.10 Medición de la concentración de 8-isoprostanos	45
	VIII.3.11 Medición del daño al ADN	49

VIII.3.12	Medición de marcadores biológicos de inflamación	51
VIII.3.13	Identificación de metabolitos secundarios por HPLC	53
VIII.4	Análisis de estadístico	55
IX.	RESULTADOS	56
X.	DISCUSIÓN	65
XI.	CONCLUSIONES	72
XII.	PERSPECTIVAS	72
XIII.	REFERENCIAS	73
XIV.	ANEXOS	83

LISTA DE FIGURAS

Figura IV.1.1 Relación entre la producción de EROS, envejecimiento y síndrome metabólico

Figura IV.1.2 Relación del síndrome metabólico con el EOX y el proceso inflamatorio crónico

Figura IV.2.1 Estrés oxidativo, homeostasis y enfermedad

Figura IV.2.1.1 Pasos de la reducción de oxígeno molecular a agua y la generación de tres especies reactivas de oxígeno

Figura IV.2.1.2. Reacción de Fenton que involucra la presencia de sales ferrosas

Figura IV.2.1.3. Reacción de Haber-Weiss catalizada por hierro.

Figura IV.2.2.1 Reacción de lipoperoxidación.

Figura IV.2.3.1 Formación del aducto 8-hidroxi-2'-deoxiguanosina (8-OHdG).

Figura IV.3.1 Estímulos proinflamatorios y antiinflamatorios, enfermedad e inflamación en la vejez.

Figura IV.4.1 Actividad de las enzimas antioxidantes

Figura IV.5.1.1 Clasificación de los polifenoles

Figura VIII.1: Esquema general del estudio.

Figura VIII.3.11.2.1 Preparación de diluciones, a partir de la solución estándar, para determinación de 8-OHdG.

Figura IX.1 Fragmentación de ADN por grupo de estudio basal y 3 meses de tratamiento.

LISTA DE CUADROS

Cuadro IV.1.1 Criterios del Tercer panel para el Tratamiento en Adultos del Programa Nacional de Educación sobre el Colesterol de EE.UU. (NCEP-ATP III)

Cuadro IV.4.1 Clasificación de los sistemas antioxidantes

Cuadro IV.5.3.1. Estudios sobre los efectos antioxidantes de varios componentes aislados de *Sechium edule*

Cuadro VIII.3.2.1 Criterios del Tercer panel para el Tratamiento en Adultos del Programa Nacional de Educación sobre el Colesterol de EE.UU. (NCEP-ATP III)

Cuadro IX.1. Contenido de metabolitos secundarios presentes en la cápsula de 500 mg de fruto seco de *Sechium edule* grupo varietal *nigrum spinosum*.

Cuadro IX.2. Parámetros clínicos y antropométricos antes, durante y después del tratamiento.

Cuadro IX.3. Parámetros bioquímicos pre y post-tratamiento por grupo de estudio

Cuadro IX.4 Parámetros de función renal en los grupos de estudio

Cuadro IX.5 Parámetros de función hepática en los grupos de estudio

Cuadro IX.6. Marcadores de estrés oxidativo pre y post-tratamiento por grupo de estudio.

Cuadro IX.7. Marcadores de estrés oxidativo pre y post-tratamiento por grupo de estudio.

Cuadro IX.8. Marcadores de inflamación pre y post-tratamiento por grupo de estudio

Cuadro IX.9. Control del síndrome metabólico a 6 meses de tratamiento

Cuadro IX.10. Criterios para síndrome metabólico en los grupos de estudio, basal, 3 y 6 meses de tratamiento.

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

- 8-OHdG: 8-hidroxi-2`desoxiguanosina
- ADN: ácido desoxirribonucleico
- ADNm: ADN mitocondrial
- ADNn: ADN nuclear
- AGEs: productos finales de glucosilación avanzada
- AM: adultos mayores
- AT: capacidad antioxidante total
- ATP: adenosín trifosfato
- BER: reparación por escisión de bases
- Cat: catalasa
- COX: ciclooxigenasa
- DL₅₀: dosis letal media
- DM: diabetes mellitus
- DPPH: 2,2-difenil-1-picrilhidracilo
- ECNT: enfermedades crónicas no transmisibles
- ELISA: ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas
- EOx: estrés oxidativo
- EROs: especies reactivas de oxígeno
- FITC: isotiocianato de fluoresceína
- TNF- α : factor de necrosis tumoral alfa
- GAP: capacidad antioxidante residual o brecha antioxidante
- GPx: glutatión peroxidasa
- GSH: glutatión reducido
- GSSG: glutatión disulfuro
- HDL-colesterol: contenido de colesterol en las lipoproteínas de baja densidad
- H₂O₂: peróxido de hidrógeno
- IC: inflamación crónica
- IL: interleucina
- IEOx: índice de estrés oxidativo
- JAK/STAT: citocinas Janus cinasa/ transductor de señal y activador de transcripción
- LDL-c: lipoproteínas de baja densidad del colesterol
-

LPO: lipoperoxidación o peroxidación lipídica

MAPK: proteína cinasas activadas por mitógenos (mitogen-activated protein kinases)

MDA: malondialdehído

NADPH: nicotinamida adenina dinucleótido fosfato

NCEP-ATP III: 3er panel para el tratamiento en adultos del programa nacional de educación sobre el colesterol de EE.UU. (National Adult Treatment Panel of the National Cholesterol Program III.)

NER: reparación por escisión de nucleótido

NOS: sintasa del óxido nítrico

O₂: oxígeno molecular

O₂^{-•}: anión superóxido

OH[•]: radical hidroxilo

PCR: proteína C reactiva

PIC: proceso inflamatorio crónico

RL: radical libre

RO[•]: radical alcoxilo

ROO[•]: radical peroxilo

S. edule: *Sechium edule*, chayote

SI: sistema inmunitario

SMet: síndrome metabólico

SOD: superóxido dismutasa

TBA: ácido tiobarbitúrico

TdT: desoxinucleotidil transferas

I. RESUMEN

Antecedentes: El síndrome metabólico (SMet) es un conjunto de alteraciones bioquímicas, clínicas y antropométricas, constituye un factor de riesgo para enfermedades cardiovasculares, diabetes mellitus tipo 2 y enfermedad de Alzheimer. La prevalencia es significativamente mayor en adultos mayores (AM) superando el 50% en población mexicana. También se ha relacionado con el estrés oxidativo (EOx) y la inflamación crónica (IC) y sus consecuentes alteraciones. Por ello, es importante proponer alternativas terapéuticas como el consumo de *Sechium edule* (chayote), fruto al que se atribuyen propiedades hipoglucemiantes, hipotensoras e inhibidoras de la lipogénesis.

Objetivo: Determinar el efecto del consumo de frutos de *Sechium edule* sobre marcadores de estrés oxidativo, inflamación crónica y daño oxidativo al ADN en adultos mayores con síndrome metabólico.

Método: Se llevó a cabo un estudio cuasi-experimental en una muestra a conveniencia de 81 AM con SMet, diagnosticado acorde con los criterios del NCEP/ATP III. Se conformaron dos grupos: (i) experimental (GE) (n = 41), a quienes se les administró 1,500 mg de concentrado de polvo de chayote (1 cápsula de 500 mg, tres veces al día) durante seis meses; (ii) placebo (GP) (n= 40), recibió capsulas con la misma dosis y presentación con lactosa monohidratada y talco de grado farmacéutico. A todos los participantes se les realizaron mediciones antropométricas y clínicas, determinaciones de marcadores bioquímicos, [biometría hemática, glucosa, perfiles lipídico, renal y hepático, hemoglobina glucosilada (HbA1c) y albuminuria] así como de marcadores de EOx, [lipoperóxidos por sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS), 8 isoprostanos (8-iso), enzimas antioxidantes y antioxidantes totales (AT), daño al ADN por 8-hidroxiguanosina (8-OHdG)] y marcadores de inflamación como las interleucinas (IL) 1, IL-6, IL-8, IL-10 y factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α). Los datos fueron analizados a través de medidas descriptivas y ANOVA de medidas repetidas. También se aplicó la prueba de chi-cuadrada para comparar proporciones, considerando significancia estadística cuando $p < 0.05$, para tal efecto se utilizó el paquete estadístico IBM SPSS V 21.

Resultados: Se observó una disminución estadísticamente significativa en el GE después de seis meses de tratamiento en la concentración de lipoperóxidos (basal, 0.30 ± 0.09 vs. post 0.20 ± 0.03 , $p < 0.05$), 8-Iso (basal, 347.7 ± 20.0 vs. post 239.3 ± 15.3 , $p = 0.05$), índice de estrés oxidativo (IEOx) (basal, 1.76 ± 0.9 vs. post 1.45 ± 1.1 , $p < 0.05$), 8-OHdG (basal, 30 ± 2.1 vs. post 20.5 ± 1.5 , $p < 0.01$), aunado a un incremento significativos en AT (basal, 1.1 ± 0.17 vs. post 1.3 ± 0.15 , $p < 0.05$), superóxido dismutasa (SOD) (basal, 181 ± 5.4 vs. post 183 ± 8.8 , $p < 0.05$), IL10 (basal, 2.2 ± 0.5 vs. post 4.1 ± 0.4 , $p < 0.05$).

Conclusión: Nuestros hallazgos demuestran que el consumo de 1,500 mg/día de concentrado en polvo de fruto seco de *Sechium edule* tiene un efecto antioxidante y antiinflamatorio significativo en adultos mayores con síndrome metabólico, por lo que podría ser una opción terapéutica complementaria, para dicha alteración.

Palabras clave: *Sechium edule*, síndrome metabólico, adultos mayores, estrés oxidativo, inflamación crónica, daño al ADN.

II. ABSTRACT

Background: Metabolic syndrome (MetS) is a set of biochemical, clinical and anthropometric alterations, it constitutes a risk a risk factor for cardiovascular diseases, type 2 diabetes mellitus and Alzheimer's diseases. The prevalence is significantly higher in elderly people, exceeding 50% in the Mexican population. It has also been related to oxidative stress (OxS) and chronic inflammation (CI) and its consequent alterations. For this reason, it is important to propose therapeutic alternatives such as the consumption of *Sechium edule* (chayote), a fruit to which hypoglycemic, hypotensive, and lipogenesis-inhibiting properties are attributed.

Objective: To determine the effect of consumption of *Sechium edule* fruits on markers of OxS, CI, and oxidative damage to DNA in older adults with MetS.

Method: We carried out a quasi-experimental study in a convenience sample of 81 older adults with MetS, diagnosed according to the NCEP/ATPIII criteria. Two groups were formed: (i) experimental (EG) (n=41), who were administered 1,500 mg of chayote powder concentrate (a capsule of 500mg three times a day) for six months; ii) placebo (PG) (n=40), received capsules with the same dose and presentation with lactose monohydrate and pharmaceutical grade talc. All participants underwent anthropometric and clinical measurements, determinations of biochemical markers [blood count, glucose, lipid, renal, and hepatic profiles, glycated hemoglobin (HbA1c) and albuminuria] as well as EOx markers (lipoperoxides by substances reactive to thiobarbituric acid [TBARS], 8 isoprostanes [8-iso], antioxidant enzymes and total antioxidants [AT], DNA damage by 8- hydroxyguanosine [8-OHdG]) and inflammatory markers such as interleukin (IL)1, IL6, IL-8, IL-10, and tumor necrosis factor α (TNF- α). The data were analyzed through descriptive measures and ANOVA of repeated measures. The chi-square test was also applied to compare proportions, considering statistical significance when $p < 0.05$, for this purpose the IBM SPSS V21 statistical package was used.

Results: A statically significant decrease in the EG was observed at 6 months after treatment in the concentration of lipoperoxides (baseline, 0.30 ± 0.09 vs. post. 0.20 ± 0.03 , $p < 0.05$), 8-iso (baseline, 347.7 ± 20.0 vs. post. 239.3 ± 15.3 , $p = 0.05$), oxidative stress index (baseline, 1.76 ± 0.90 vs. post. 1.45 ± 1.1 , $p < 0.05$), 8-OHdG (baseline, 30 ± 2.1 vs. post. 20.5 ± 1.5 , $p < 0.01$), coupled with a significant increase in AT (1.1 ± 0.17 vs. post. 1.3 ± 0.15 , $p < 0.05$), superoxide dismutase activity (SOD) (baseline, 181 ± 5.4 vs. post. 183 ± 8.8 $p < 0.05$), IL-10 (baseline, 2.2 ± 0.5 vs. post. 4.1 ± 0.4 , $p < 0.05$)

Conclusions: Our findings shows that the consumption of 1,500 mg/day of powdered concentrate of *Sechium edule* dried fruit has a significant antioxidant and anti-inflammatory effect in elderly people with MetS, so it could be a complementary therapeutic option for said alteration

Keywords: *Sechium edule*, metabolic syndrome, elderly people, oxidative stress, chronic inflammation, DNA damage.

III. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, nuestro país atraviesa por una transición demográfica caracterizada por un incremento en la proporción de adultos mayores (AM), cambio demográfico que se asocia con una transformación epidemiológica caracterizada por un incremento de las enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT), las cuales se presentan con alta prevalencia e incidencia en este grupo poblacional, entre las más frecuentes están la diabetes mellitus tipo 2 (DM2), la hipertensión arterial, las dislipidemias y el síndrome metabólico (SMet), esta última alteración se presenta en más del 50% de adultos mayores en México.

El SMet agrupa alteraciones clínicas y bioquímicas que tienen en común la resistencia a la insulina y se manifiesta por trastornos en el metabolismo de los lípidos, hipertensión arterial, intolerancia a la glucosa y obesidad visceral o central. Así mismo, el SMet favorece la generación de radicales libres (RL) por lo que se relaciona con el estrés oxidativo (EOx).

Por otro lado, el envejecimiento *per se* cursa con un incremento del EOx y un proceso de inflamación crónica (PIC) denominado "*inflammaging*", el cual incrementa la vulnerabilidad para la presencia de enfermedades crónicas. Este proceso inflamatorio se vincula directamente con el EOx, de ahí que se ha planteado el término "oxi-inflamm-aging" para denominar esta diada vinculada con el envejecimiento. La alteración bioquímica resultante de estos procesos constituye un factor de riesgo para varias enfermedades crónicas relativas al envejecimiento. Es por ello por lo que, el monitoreo de los marcadores de EOx y PIC durante el envejecimiento es fundamental para la prevención y diagnóstico oportuno de enfermedades como el SMet.

Por lo anterior, es necesario contar con tratamientos alternativos que coadyuven en el manejo de este síndrome debido a su alta prevalencia en nuestro país. En este contexto *Sechium edule*, es una planta comestible ampliamente utilizada con propósitos curativos en nuestro país y a nivel mundial, ya que de manera empírica y desde la época prehispánica ha tenido varios usos medicinales, se ha reportado que hojas y frutos tienen propiedades anticancerígenas, cardioprotectoras, anti ulcerosas, diuréticas y anti-inflamatorias, asimismo las hojas se han utilizado en el tratamiento de la arteriosclerosis, la hipertensión y para disolver cálculos renales.

Esto ha motivado la investigación de sus componentes y de los efectos farmacológicos a diversos niveles, sin embargo, a pesar de que se ha comprobado su actividad como antioxidante, hipoglucemiante, hipotensor, así como inhibidor de la lipogénesis, no se ha demostrado su efecto en pacientes con SMet. Por tal motivo, el propósito del presente estudio es determinar el efecto del consumo de concentrado en polvo de frutos de *Sechium edule* sobre marcadores de estrés oxidativo, inflamación crónica y daño oxidativo al ADN en adultos mayores con síndrome metabólico.

IV. ANTECEDENTES

IV.1. Síndrome metabólico

El SMet, fue descrito en 1988 por Reaven¹, también ha sido llamado síndrome X, síndrome de resistencia a la insulina, síndrome de Reaven y "el cuarteto mortal". Se define como un conjunto de alteraciones clínicas y bioquímicas caracterizadas por la resistencia a la insulina, obesidad central y abdominal, dislipidemia aterogénica, hipertensión sistémica y obesidad central. Es un estado protrombótico y proinflamatorio caracterizado por un aumento de la actividad de citocinas inflamatorias,² y afecta a la cuarta parte de la población mayor de 40 años.³ Se manifiesta principalmente por alteraciones en el metabolismo de los lípidos (particularmente concentraciones bajas de HDL colesterol, altas de triglicéridos y apoproteína B), hipertensión arterial, intolerancia a carbohidratos, hiperglucemia en ayuno y obesidad visceral. Este síndrome también se asocia comúnmente con enfermedad cardiovascular aterosclerótica acelerada, hiperuricemia/gota, enfermedad renal crónica, apnea obstructiva del sueño, micro albuminuria, esteatosis hepática no alcohólica, entre otros.²

Aunque los componentes del SMet se consideran en conjunto, es muy probable que exista una interacción causal entre ellos, es decir que mientras algunos de los componentes pueden ser la causa del síndrome, otros probablemente sean la consecuencia de los primeros. Por lo anterior, es posible que exista una secuencia temporal en la aparición de los distintos componentes, según sea la relación causa-efecto entre ellos.⁴ La principal causa de esta condición está relacionada con factores ambientales (sobrepeso y obesidad, sedentarismo y dietas ricas en carbohidratos) y predisposición genética.^{5,6}

Existen diferentes definiciones del síndrome metabólico propuestas por varios grupos como la Organización Mundial de la Salud (OMS), el Grupo Europeo de Estudio de la Resistencia a la Insulina (EGIR), la Asociación Americana de Endocrinólogos Clínicos (AACE), la Asociación Americana del Corazón (AHA), y el Tercer panel para el tratamiento en adultos del programa nacional de educación sobre el colesterol de EE.UU. (NCEP-ATP III), entre otros.⁷⁻¹⁰ La diferencia entre los distintos criterios propuestos radica principalmente en los puntos de corte y en algunos casos se incluyen marcadores cuya medición es más complicada, en este sentido, en la presente investigación se utilizaron los criterios NCEP-ATP III que identifica casos menos graves o avanzados en comparación con los criterios de la OMS cuyos valores de corte son en general más altos, de manera que el diagnóstico con los criterios NCEP-ATP III permiten un diagnóstico más oportuno¹¹ (Cuadro IV.1.1).

Cuadro IV.1.1 Criterios del Tercer panel para el Tratamiento en Adultos del Programa Nacional de Educación sobre el Colesterol de EE.UU. (NCEP-ATP III)

Criterios de diagnóstico para síndrome metabólico

Obesidad abdominal: circunferencia de cintura

- Hombres > 102 cm
- Mujeres > 88 cm

Triglicéridos \geq 150 mg/dL

HDL-Colesterol

- Hombres < 40 mg/dL
- Mujeres < 50 mg/dL

Presión sanguínea \geq 130/85 mmHg

Glucosa en ayuno (8 horas) \geq 110 mg/dL

Criterio clínico: debe tener tres de los cinco criterios señalados

IV.1.1 Síndrome metabólico y envejecimiento

En México existe una mayor prevalencia de SMet en AM de 60 años respecto a otros grupos de edad, prevalencia que ha ido en aumento a lo largo de los años, al respecto, Rojas-Martínez ¹² informó que, para este grupo etario, en el 2006 hubo una prevalencia de 59.3%, la cual incrementó a 69.6% en el 2012 y 70.17% en el 2018, según la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT 2018) en la cual utilizaron los criterios del NCEP-ATPIII. Asimismo, se reportó que la prevalencia es mayor en el área urbana en comparación con el área rural (56.98% vs. 53.97%) y mayor en mujeres (54%) que en hombres (46%), los datos de prevalencia son consistentes respecto a que ésta es mayor en las personas envejecidas. En este sentido, aunque no existe un acuerdo universal respecto al inicio del proceso de envejecimiento en el ser humano, en general, se acepta que inicia al final de la adultez (alrededor de los 45 años). No obstante, por consenso internacional se ha acordado catalogar como ancianos a aquellos individuos mayores de 65 años en países desarrollados y a individuos mayores de 60 años en países en desarrollo, como es el caso de nuestro país.¹³

En la Unidad de Investigación en Gerontología de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM, se define al envejecimiento como “un proceso gradual y adaptativo, que se caracteriza por la disminución de la respuesta homeostática, debida 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”.¹⁴ Esta definición se apoya en el enfoque

teórico de la alostasis (*Allostasis*) o proceso de adaptación ante retos o desafíos estresantes. Esta teoría establece que el organismo responde de manera activa ante amenazas o retos estresantes con el fin de mantener la homeostasis, sin embargo, el mecanismo de respuesta adaptativa denominada alostasis, representa un costo biológico, por lo que, cuando ocurre en forma repetida, propicia una carga alostática (*Allostatic load*), haciendo menos eficiente el proceso y favoreciendo la aparición de padecimientos infecciosos y crónico-degenerativos^{15,16} incluyendo los relacionados con el SMet. En este contexto, respecto al envejecimiento, es importante mencionar que existen varias teorías que pretenden explicarlo y a pesar de que existen varios enfoques, la teoría de los RL, una de las más conocidas y aceptadas; propuesta por Denhan Harman en 1956.¹⁷ Esta teoría estipula que la acumulación de daño oxidativo en las macromoléculas, favorecido por una inadecuada protección contra los RL que se derivan del metabolismo aeróbico normal, ocasiona un deterioro funcional progresivo a las biomoléculas, células, tejidos y órganos, lo que constituye el principal mecanismo endógeno que da origen al envejecimiento.¹⁸⁻²⁰ Esta teoría permite explicar también la forma en que los organismos pierden la habilidad para mantener la homeostasis en la última etapa de la vida, lo cual se traduce en un incremento de la vulnerabilidad a padecer enfermedades crónicas no transmisibles como aterosclerosis, Alzheimer, diabetes mellitus tipo 2, artritis reumatoide, cáncer, entre otras.^{21,22-24}

El proceso de envejecimiento se altera cuando están presentes enfermedades metabólicas y cardiovasculares, igualmente se ha demostrado que incrementa el riesgo de enfermedad conforme aumenta la edad. La presencia de variadas condiciones predisponentes se incrementa durante el envejecimiento como son la obesidad, resistencia a la insulina, inflamación, cambios en el eje hipotálamo-hipófisis, estrés e hipertensión, lo cual contribuye al incremento de la prevalencia de padecimientos incluido el SMet. Cuya alta prevalencia en los AM está relacionada con los cambios fisiológicos propios de esta etapa y además han sido vinculados con el EOx (Figura IV.1.1).^{14, 24-26}

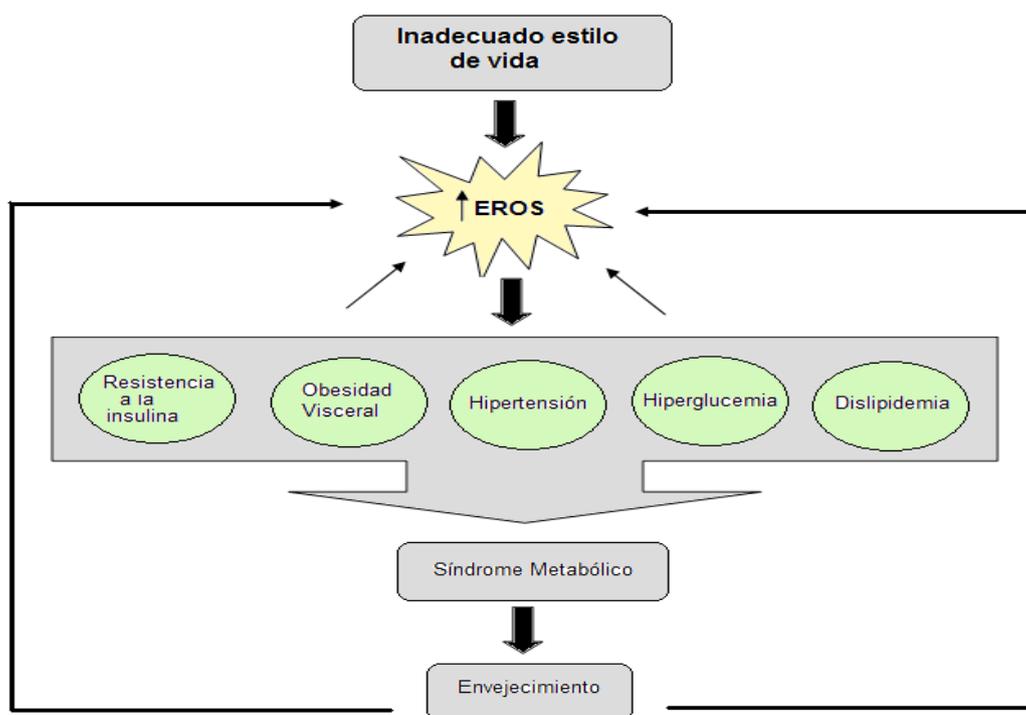


Figura IV.1.1 Relación entre la producción de especies reactivas de oxígeno (EROs), envejecimiento y síndrome metabólico (Tomado de Bonomini F, 2015)²⁶

Por lo anterior se ha sugerido un papel importante al estrés oxidativo en el desarrollo y mantenimiento del SMet. También se ha propuesto que una elevada producción de EROs de la cadena respiratoria en la mitocondria actúa como una señal de senescencia acelerada. Bajo estas condiciones y aunado a una sobrealimentación e inactividad física común en quienes cursan con SMet, una sobre activación sostenida de las vías de señalización redox pueden contribuir a la senescencia acelerada e inflamación crónica.²⁶

Entonces, en los AM que cursan con SM se encuentran las complicaciones propias de este síndrome, aunado a un aumento de RL asociado a la presencia de EOx y el proceso inflamatorio crónico (Figura IV.1.2.1). Es así como el envejecimiento, el desarrollo de resistencia a la insulina y las enfermedades cardiovasculares parecen acelerarse en el SMet, en donde el EOx y la inflamación crónica, se ha asociado con todos los componentes individuales y con la aparición de complicaciones cardiovasculares en sujetos con SMet.²⁹

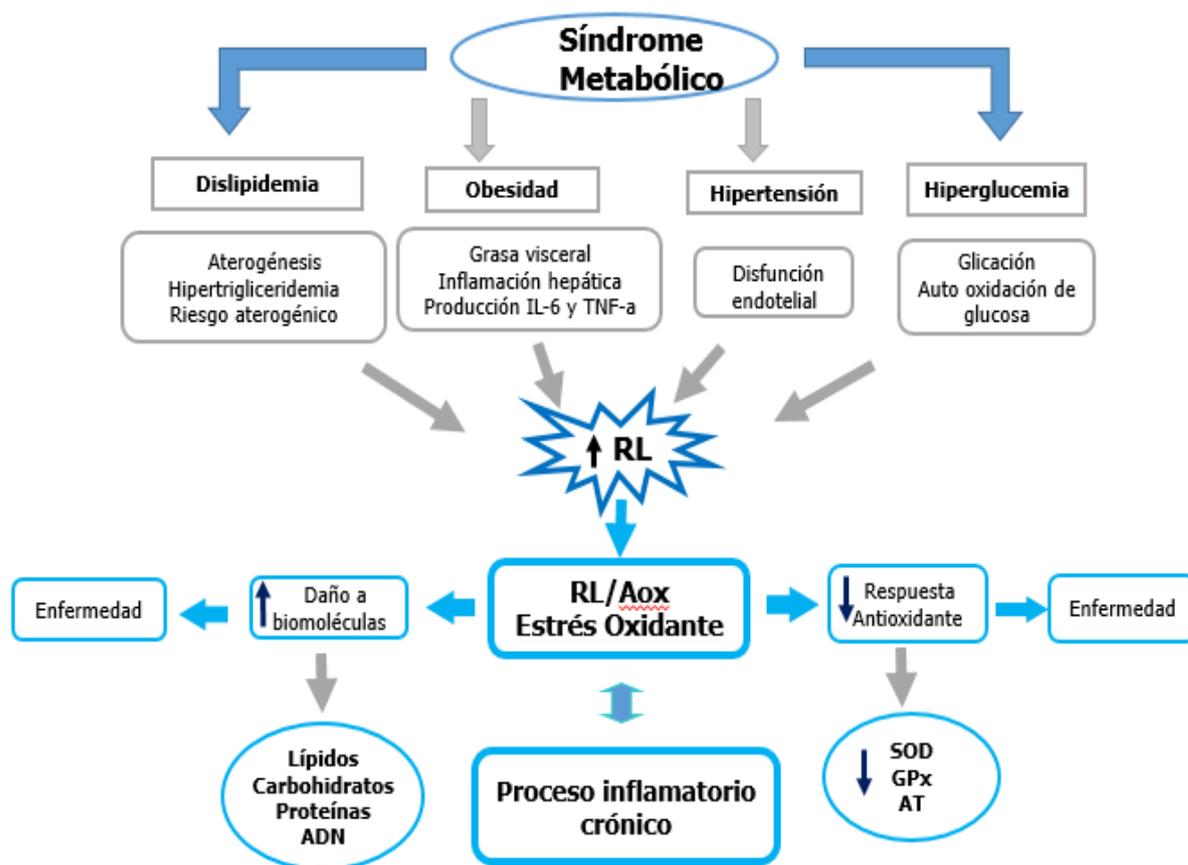


Figura IV.1.2 Relación del SMet con el EOx y el proceso inflamatorio crónico. SOD=Superóxido dismutasa. GPx= Glutación peroxidasa. AT=Capacidad antioxidante total

IV.2. Estrés oxidativo y enfermedades crónicas no transmisibles

El estrés oxidativo es el desequilibrio bioquímico propiciado por la producción excesiva de especies reactivas (ER) y RL que provocan daño oxidativo a las biomoléculas y que no puede ser contrarrestado por los sistemas antioxidantes.¹⁷ La producción de especies oxidantes es equilibrada por los sistemas antioxidantes, lo que promueve al mantenimiento de la homeostasis, los problemas se generan al perderse el equilibrio. Si hay una marcada disminución de la producción de EROs se afecta la defensa inmunológica celular y las reacciones involucradas en la generación de energía en la mitocondria, así como los procesos fisiológicos donde es indispensable la acción de los RL. Si el incremento de las EROs no puede ser contrarrestado por los sistemas antioxidantes, se desarrollará el EOx. Esto propicia el desarrollo de algunas enfermedades y sus complicaciones, además de ser una característica del envejecimiento (Figura IV.2.1).³⁰⁻³²

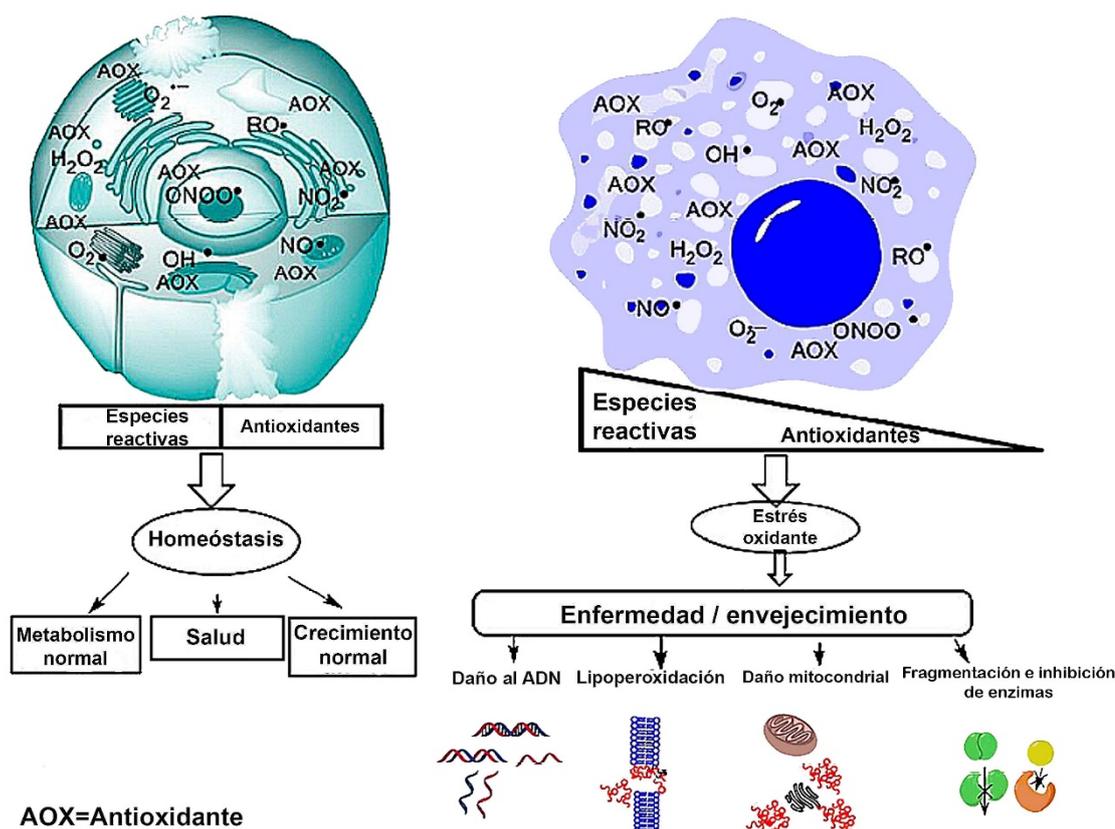


Figura IV.2.1 Estrés oxidativo, homeostasis y enfermedad (Tomado de Rosado-Pérez J, 2018)³³ La producción de EROs es necesaria para que el organismo sano realice sus funciones normales y mantenga la homeóstasis. Sin embargo, cuando se interrumpe el equilibrio entre RL y AOX, las EROs son capaces de dañar las biomoléculas y alterar sus funciones reguladoras a través del EOx, éste se relaciona con el proceso de envejecimiento, el desarrollo de enfermedades y sus complicaciones.

IV.2.1. Radicales libres y formación de especies reactivas de oxígeno (EROs)

Un RL es un átomo o molécula que tiene un electrón no apareado en su último orbital, por lo que su configuración espacial es inestable, altamente reactivo y su capacidad para combinarse inespecíficamente es alta y para estabilizarse necesita obtener un electrón, por lo que actúa sobre otras moléculas de las cuales obtiene el electrón, lo que resulta en un daño de esa molécula. Cuando se trata de biomoléculas celulares se puede afectar la fisiología de la célula al oxidar los lípidos de membrana, los carbohidratos, las proteínas, el ADN, lo que representa uno de los mecanismos de daño del EOx.^{34,35} Sin embargo, es importante aclarar que los RL son componentes de la fisiología celular e incluso tienen un papel fundamental en la homeostasis del organismo, en los mecanismos inmunológicos, en la regulación del tono vascular y agregación plaquetaria, en la tensión de oxígeno en la ventilación pulmonar, en la producción de eritropoyetina, así como en la señalización en la transducción de receptores de membrana en varios procesos fisiológicos.³⁶

Las EROs de naturaleza endógena son generadas en la célula durante el catabolismo de lípidos, proteínas, carbohidratos y ácidos nucleicos. El oxígeno molecular (O₂) es un compuesto esencial en el metabolismo de todos los organismos aeróbicos, pues participa en diversas reacciones de óxido-reducción como aceptor de electrones. Durante la síntesis de ATP por la cadena respiratoria mitocondrial, el O₂ sufre oxidaciones/reducciones sucesivas lo que da origen a RL intermedios y finales definidos como EROs.³⁷

Los RL se generan de manera continua durante el catabolismo, la respiración celular, en las reacciones donde intervienen enzimas de la familia de las nicotinamida adenin dinucleótido fosfato (NADPH) oxidasas asociadas al metabolismo del ácido araquidónico como la ciclooxigenasa, la lipooxigenasa, el citocromo P450 y como respuesta a la exposición a agentes exógenos como los rayos UV, radiaciones ionizantes, el ejercicio excesivo, entre otros.^{36,37} La producción excesiva de RL contribuye al desarrollo de desórdenes que se presentan durante el envejecimiento, así como en el desarrollo de enfermedades degenerativas y autoinmunes.³⁸

Una de las moléculas más susceptibles de ser transformadas, es el O₂ y muchas reacciones en las que participa generan RL, de ahí, que también se considera como una molécula potencialmente tóxica aparte de ser fundamental para la vida. La reducción del O₂ involucra cuatro electrones y genera tres EROs: anión superóxido (O₂^{•-}), peróxido de hidrógeno (H₂O₂) y radical hidroxilo (OH[•]) que es el que tiene mayor poder oxidante.^{37,39} (Figura IV.2.1.1)

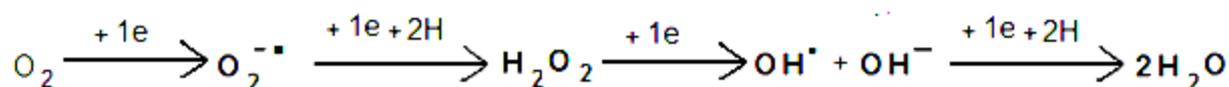


Figura IV.2.1.1 Pasos de la reducción de oxígeno molecular a agua y la generación de tres especies reactivas de oxígeno

El H₂O₂ no es un radical libre, pero cae en la categoría de EROs por ser un compuesto intermediario en la formación de los RL. En presencia de metales de transición, principalmente el hierro, se descompone y en presencia de metales de transición como el hierro (Fe²⁺), produce el OH[•], por medio de la reacción de Fenton (Figura IV.2.1.2).^{37,39,40}

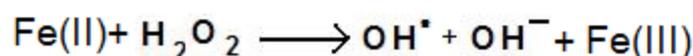


Figura IV.2.1.2 Reacción de Fenton que involucra la presencia de sales ferrosas

El O₂^{•-} reduce algunos quelatos férricos, lo que da origen a la formación de OH[•]. A la reacción condensada entre O₂^{•-} y H₂O₂, sin los intermediarios del hierro, se denomina reacción de Haber-Weiss (Figura IV.2.1.3).^{39,40}

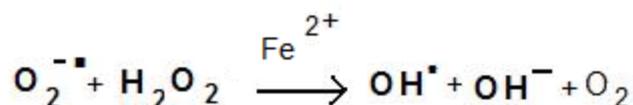


Figura IV.2.1.3 Reacción de Haber-Weiss catalizada por hierro.

IV.2.1.1 Especies reactivas de nitrógeno (ERNs) y radicales libres orgánicos

El nitrógeno también forma RL como el óxido nítrico (NO[•]) y el dióxido nítrico (NO₂[•]), denominadas especies reactivas del nitrógeno (ERNs).^{36,41} Los radicales OH[•], O₂[•] y NO[•] reaccionan con las biomoléculas, lo que origina RL orgánicos menos reactivos que las EROs.

El OH[•] reacciona con los carbonos centrales de las moléculas en forma RH, convirtiéndolas en radicales (R[•]), este RL carbono-central reacciona rápidamente con el oxígeno formando el radical peroxilo (ROO[•]) que es más estable y puede tomar parte en otras reacciones para producir radicales alcoxilos (RO[•]). De la misma manera, los átomos de azufre en forma de compuestos sulfhidrilo (RSH) también pueden ser convertidos en RL formando radicales tiol (RS[•]). Así, el O₂[•] reacciona con el NO[•] para formar el peroxinitrilo (ONOO⁻).^{40,41}

Las EROs participan en la señalización y regulación celular, normal y patológica. Por su alto carácter oxidante se les considera como productos tóxicos del metabolismo que pueden potencialmente ocasionar daño en lípidos, proteínas, carbohidratos y ADN.³⁶

IV.2.2. Daño oxidativo a biomoléculas

Las proteínas son menos susceptibles al ataque de los RL, pero al ser oxidadas por éstos, se fragmentan y se unen entre sí dando lugar a entrecruzamientos que resultan en la pérdida de la funcionalidad de la proteína. También se han observado enrollamientos erróneos de estructuras secundarias o pérdida de la conformación de estructuras terciarias y cuaternarias, reacciones espontáneas de glucosilación, etc.^{42,43}

Los efectos de los RL sobre los carbohidratos se concentran en las reacciones de glucosilación con proteínas. La glucosilación involucra la interacción no enzimática entre los azúcares reductores, principalmente glucosa, con los grupos amino de las proteínas lo que da lugar a las bases de Schiff, las que a su vez presentan un rearrreglo molecular y forman cetoaminas o compuestos de Amadori. Este proceso ocurre en varias semanas, por lo que afecta a proteínas de larga vida como colágeno, queratina, elastina, entre otras. Estos productos glicosilados en presencia de O₂[•] y Fe(II) forman productos de fragmentación que posteriormente se condensan formando los llamados productos finales de glucosilación avanzada (AGEs, del inglés Advanced Glycosylation End-products).^{43,44}

También el ADN puede ser dañado por EROs, a nivel tanto nuclear como mitocondrial (ADNm), este último puede ser oxidado unas 10 veces más que el

ADN nuclear (ADNn), debido a que en la mitocondria se lleva a cabo el metabolismo aeróbico y el material genético que se encuentra en la mitocondria está en constante contacto con las EROs, además de que el ADNm no tiene histonas protectoras y sus mecanismos de reparación son incompletos.⁴⁵

Las EROs también pueden causar entrecruzamiento de proteínas y ADN, intercambio de cromátides hermanas, daño a la estructura de desoxirribosa-fosfato y oxidación de las cuatro bases nitrogenadas, lo que produce mutaciones. La oxidación de la desoxirribosa puede inducir liberación de bases y rompimiento de cadena sencilla de las hebras de ADN.^{43,46}

Sin embargo, de todas las biomoléculas que son atacadas por los RL, los lípidos de la membrana celular son los más susceptibles, pues dichas membranas son ricas en ácidos grasos poli-insaturados que se oxidan fácilmente por un proceso llamado lipoperoxidación o peroxidación lipídica (LPO). Este proceso daña directamente a la estructura de la membrana e indirectamente a otros componentes celulares por la producción de aldehídos reactivos.

En la LPO se describen tres momentos: iniciación, propagación y terminación. En la iniciación un ácido graso poliinsaturado es atacado por un RL (OH^\bullet , RO^\bullet o ROO^\bullet) que sustrae un átomo de hidrógeno (H^\bullet) de un grupo metileno, ésta sustracción deja un carbono central desapareado. El radical sufre un rearrreglo molecular para formar un dieno conjugado que, después, se combina con O_2 para formar un ROO^\bullet , este nuevo RL puede a su vez, sustraer un átomo de hidrógeno de otro ácido graso y así se propaga la reacción.

La peroxidación continúa hasta que el sustrato se termina o se presenta un antioxidante para romper la secuencia de la propagación.^{41,42} (Figura IV.2.2.1)

La extensa LPO en las membranas celulares causa pérdida de la fluidez, caída del potencial de membrana, incremento de la permeabilidad a H^+ y otros iones y eventualmente, liberación del contenido celular y de los organelos causando la muerte celular. De la misma forma, fragmentos de ácidos grasos que contienen 3 o más ligaduras dobles, pueden producir malondialdehído (MDA) y la presencia de este producto puede ser cuantificado por reacción con el ácido tiobarbitúrico para producir color.⁴²

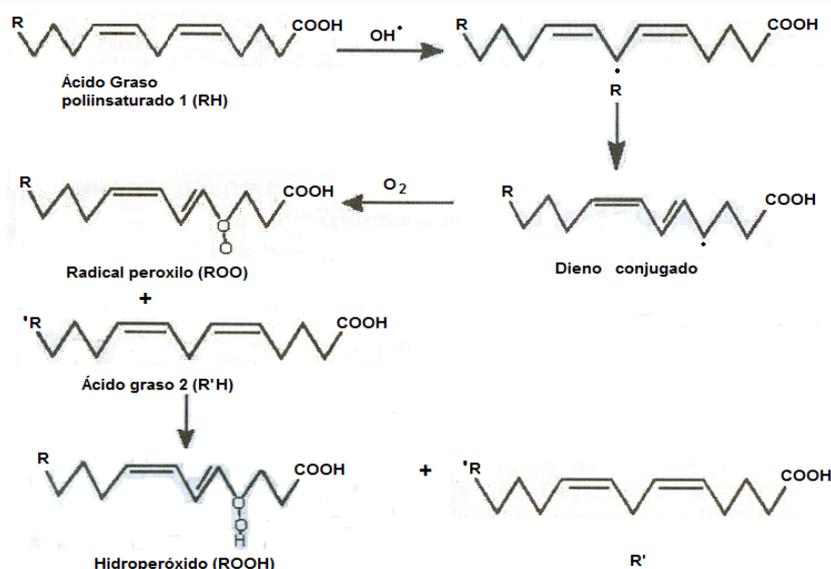


Figura IV.2.2.1 Reacción de lipoperoxidación.

IV.2.3. Marcadores biológicos del estrés oxidativo

Los daños causados por el EOX pueden ser evaluados por el estudio de biomarcadores sanguíneos:

Lipoperoxidación

La determinación de la concentración de lipoperóxidos, es un buen marcador de daño oxidativo a lípidos. En el proceso de LPO se generan una variedad de productos relativamente estables, principalmente aldehídos reactivos α,β -insaturados, tal como MDA, 4-hidroxi-2-nonenal (HNE), 2-propenal y 8-isoprostanos, los cuales pueden ser cuantificados en suero y en orina como una medida indirecta del EOX. El MDA, es considerado un buen marcador de peroxidación lipídica y se determina por medio del método del ácido tiobarbitúrico (TBA) en el que se forman aductos MDA-TBA, llamados sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS, del inglés thiobarbituric acid reactive substances), los cuales pueden cuantificarse espectrofotométricamente. Respecto a la concentración de 8-isoprostanos, las mediciones se pueden realizar con la técnica de enzimoinmunoanálisis competitiva.⁴⁶

Actividad del sistema antioxidante

La actividad del sistema antioxidante se mide con la concentración de la SOD, la GPx y la relación SOD/GPx, los cuales estiman la actividad antioxidante intracelular.⁴⁷ La eficiencia del sistema antioxidante extracelular se evalúa por la capacidad antioxidante plasmática total (AT) y la capacidad antioxidante residual o brecha antioxidante (GAP).⁴⁷ La AT evalúa la actividad acumulada de todos los antioxidantes plasmáticos. La GAP se calcula restando a la AT, la concentración de albúmina y ácido úrico, lo cual refleja la actividad de antioxidantes plasmáticos

como vitamina A, ácido ascórbico, α -tocoferol, bilirrubina, haptoglobulina y transferrina.^{48,49}

Oxidación de proteínas

Los marcadores de la oxidación de proteínas son derivados de proteínas carboniladas, cadenas laterales de aminoácidos oxidados, fragmentos de proteínas y formación de AGEs. Los derivados carbonilados son muy lábiles y los AGEs son difíciles de detectar analíticamente, es por eso que se emplean la formación de orto-tirosina (o-Tyr) y ditirosina en RNAsa purificada expuesta a oxidación catalizada por metales para determinar el daño oxidativo *in vitro*, como medida del EOx.⁴⁹

Daño al ADN

Un método para determinar el daño oxidativo al ADN es el denominado “ensayo cometa” que cuando se lleva a cabo a pH 13 se conoce como “electroforesis unicelular alcalina” en el que se pueden detectar rompimientos de cadena doble o sencilla, así como sitios álcali lábiles, entrecruzamientos con proteínas e incluso la reparación del daño inducido por agentes oxidantes, genotóxicos o radiación en células individuales.⁵⁰

También, se ha empleado la cuantificación de la 8-hidroxi-2`desoxiguanosina (8-OHdG u 8-oxodG) como marcador de daño al ADN por ser una lesión que tiene un papel importante en la mutagénesis y carcinogénesis. Cuando el ADN es atacado por los RL, la guanina es la más susceptible al daño oxidativo y puede ser transformada a 8-oxo-7,8-dihidroxi-guanina (8-oxo-G). Existen diferentes formas estructurales de ésta lesión, que consisten en la propia nucleobase, ribonucleósido y nucleósido como la 8-OHdG. Este aducto (8-OHdG) puede ser eliminado mediante reparación por escisión de bases (BER) por la 8-oxo-guanina glucosilasa (OGG1) o por el mecanismo de reparación por escisión de nucleótido (NER)⁵¹⁻⁵³ el cuál se ilustra en la figura IV.2.3.1.

De este modo, la medición de 8-OHdG extracelular también proporciona información sobre el mecanismo reparación del ADN, ya que la inhibición de los mecanismos de reparación del ADN es uno de los mayores de genotoxicidad, en donde el daño no reparado es esencial para la iniciación de la carcinogénesis en respuesta a sustancias endógenas o exógenas. Debido a que 8-OHdG es soluble en agua y permeable a la membrana, se secreta al espacio extracelular después de ser removido y eliminado de la hélice del ADN por los mecanismos de reparación, luego puede detectarse y medirse por orina, saliva o plasma. Existen diferentes técnicas para realizar la medición de 8-OHdG, uno de los más usados es el ensayo inmuno-enzimático ELISA (ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas).⁵¹⁻⁵⁴

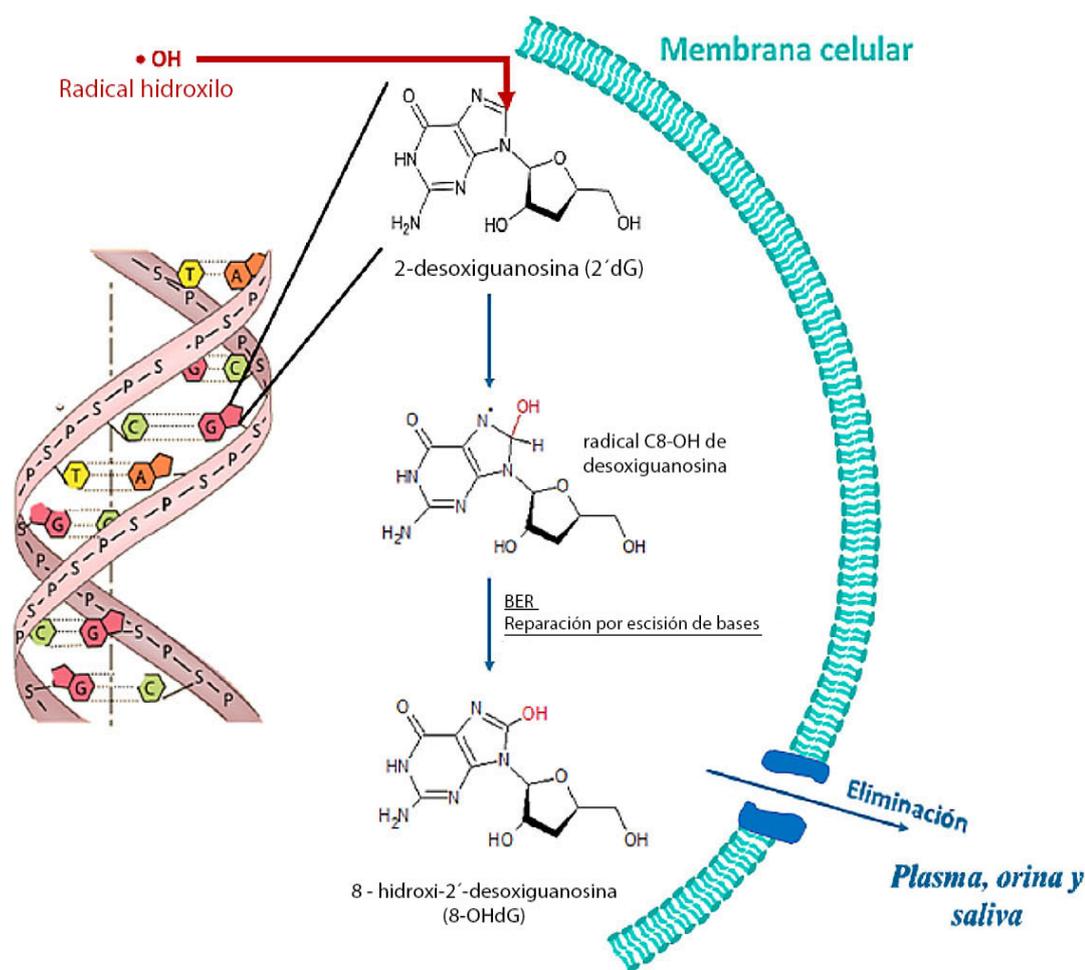


Figura IV.2.3.1 Formación del aducto 8-hidroxi-2'-deoxiguanosina (8-OHdG). El $\text{OH}\bullet$ interacciona con la 2-desoxiguanosina formando el radical C8-OH de la desoxiguanosina que forma un aducto. Al activarse los mecanismos de reparación (reparación por escisión de bases-BER), se elimina el aducto 8-hidroxi-2'-deoxiguanosina (8-OHdG) por lo que puede ser cuantificado en orina, plasma y saliva. (Tomado de Hernández-Cruz EY. 2019).⁵⁴

Ensayo TUNEL (marcaje de extremos con desoxinucleotidil transferasa dUTP terminal).

Es un método usado para detectar ADN fragmentado, por medio de una reacción catalizada por desoxinucleotidil transferasa (TdT) exógena denominada "marcaje de extremos" o "TUNEL" (por sus siglas en inglés: Terminal Transferase dUTP Nick End Labeling)

Uno de los últimos pasos en la apoptosis es la fragmentación del ADN, un proceso que resulta de la activación de endonucleasas durante el proceso de apoptosis. Estas nucleasas degradan la estructura de la cromatina de orden superior en fragmentos de 300 kb en promedio, y posteriormente en fragmentos de ADN más pequeños de unas 50 pb de longitud.^{55,56}

En el ensayo, la TdT cataliza una adición independiente del molde de trifosfatos de desoxiuridina bromolados (Br-dUTP) a los extremos 3'-hidroxilo (OH) del ADN

de cadena doble y sencilla. En los sitios OH se une el marcador Br-dUTP que luego es unido al antígeno que permitirá la unión a su fluorocromo como bromuro de etidio, yoduro de propidio, 4',6-diamidino-2-fenilindol (DAPI) o isotiocianato de fluoresceína (FITC) y el análisis multiparamétrico de células mediante citometría de flujo.⁵⁶

Otras mediciones para determinar el daño en el ADN incluyen el acortamiento de telómeros, la presencia de satélites en los cromosomas, entre otras.

IV.3 Inflamación y envejecimiento

La inflamación es una respuesta defensiva del organismo ante la agresión producida por agentes infecciosos, agentes químicos, estímulos antigénicos o lesiones físicas. En el proceso inflamatorio participan los sistemas nervioso, vascular, endocrino e inmunológico. Inicialmente la inflamación se caracteriza por: rubor, dolor, tumefacción, edema y disminución de las funciones del área afectada. Si el proceso de defensa no es eficiente, el proceso se convierte en una inflamación crónica, proceso fisiopatológico que favorece el incremento de RL y por consecuencia, un aumento de EOX.^{57,58}

Se sabe que el proceso de envejecimiento se acompaña de un proceso inflamatorio, incluso en ancianos sanos, ya que se ha demostrado que existe un incremento en la producción de citocinas proinflamatorias al aumentar la edad.⁵⁹⁻⁶¹ Durante el envejecimiento, el sistema inmunitario (SI) sufre cambios notables que en conjunto se conocen como inmunosenescencia. Es un fenómeno multifactorial y dinámico que afecta tanto la inmunidad natural como la adquirida y juega un papel fundamental en la mayoría de las enfermedades crónicas. Durante mucho tiempo, la inmunosenescencia se ha considerado perjudicial porque puede conducir a una inflamación crónica de bajo grado llamada "*inflammaging*" y una reducción progresiva en la capacidad de desencadenar respuestas celulares y de anticuerpos eficaces contra infecciones. Actualmente, puede considerarse este estado como una adaptación/remodelación resultante del desarrollo inmunológico a lo largo de la vida de las personas desde una perspectiva evolutiva. El *inflammaging* puede considerarse un proceso adaptativo porque puede desencadenar una respuesta antiinflamatoria para contrarrestar el entorno proinflamatorio relacionado con la edad.⁶²

En condiciones normales el sistema inmune se adapta a los diferentes retos a los que es sometido, a fin de que su funcionamiento sea óptimo (inmunidad innata), pero a lo largo de la vida se acumulan los efectos del estrés y la funcionalidad de sistema inmune disminuye, lo que permite que el estado inflamatorio se convierta en crónico (remodelación de la inmunidad innata). En los ancianos hay un incremento en el estímulo de los sistemas inmunológicos innato y adaptativo, sin embargo, la capacidad de respuesta del sistema inmunológico es menor.^{63,64}

En la inmunidad adaptativa el sistema inmune usa células como los macrófagos y los linfocitos T que permiten que el individuo responda a los agentes estresores, pero en el envejecimiento existe una disminución de la capacidad de éstas células para producir nuevas moléculas como mecanismo de defensa, (alteración de la inmunidad adaptativa) dando como resultado una mayor incidencia de enfermedades y fragilidad.⁶³

Se sabe que durante el envejecimiento hay un constante aumento del estado proinflamatorio, tanto para el sistema inmunitario innato como para el adaptativo, lo que se conoce como inmunobiografía y que a través del desgaste celular producido por los desafíos antigénicos resulta en una mayor estimulación sostenida de la respuesta inmune. Es así como los organismos, han desarrollado medios más eficaces para combatir al estrés generado por los procesos metabólicos y se puede considerar como un sistema anti estrés mediado por el mismo sistema inmunitario.⁶⁵

Cabe mencionar que, debido a los cambios epigenéticos y metabólicos a lo largo de la estimulación del sistema inmunitario, hay una constante activación gradual y mejorada, lo que le suministra una herramienta fuerte al sistema inmunológico para su defensa, pero que si traspasa el umbral de no retorno, entonces se volverá contra el organismo y generará un estado de paralización inmunitario dando como resultado mayor riesgo de enfermedades y fragilidad descontrolada que conducirán a un declive funcional temprano.^{62,65}

Diversos autores plantean que el proceso de “*inflammaging*” es probablemente uno de los factores responsables del desarrollo de la mayor parte de las enfermedades asociadas al envejecimiento como: los padecimientos cardiovasculares, el cáncer, la obesidad, diabetes, artritis, demencia, las enfermedades neurodegenerativas y también se le relaciona en procesos propios del envejecimiento.⁵⁹⁻⁶¹ Biológicamente hablando, las mitocondrias pueden contribuir a la inflamación ya sea directamente por la producción de radicales libres o por la producción de basura interna, como el ADNm liberado en el citosol y no olvidemos que las mitocondrias también producen varias moléculas que desempeñan funciones proinflamatorias o antiinflamatorias.⁶⁵ En el proceso de “*inflammaging*”, aumenta la síntesis y liberación de la lipoproteína a, el fibrinógeno, los factores de coagulación, las citocinas proinflamatorias como la IL6, IL1, el TNF- α y moléculas de adhesión.^{59,66,67}

Se ha observado en estudios con personas centenarias que tanto sanos como enfermos presentan “*inflammaging*”. Sin embargo, las personas sanas tienen una mayor concentración de moléculas antiinflamatorias como IL-10 e IL-4, es por ello por lo que se ha planteado la existencia de un proceso llamado “*anti inflammaging*”, vinculado con un polimorfismo genético, mismo que es un perfil constante en ancianos que cursan con envejecimiento exitoso.^{63,68}

En los ancianos el proceso “*inflammaging*” no se presenta de manera aislada, además de la carga antigénica que activa la respuesta inmunológica remodelada,

este proceso está vinculado con a la producción de las EROs que también actúan como agentes estresantes de este sistema. Por ello, en el organismo de un anciano se genera un proceso cíclico en donde el EOx estimula la respuesta del sistema inmune y viceversa. Las interleucinas (IL) implicadas en la inflamación activación son sensibles al EOx y modifican su actividad al cambiar el estado redox intracelular. Estas interleucinas a su vez estimulan la generación de más ER, lo que induce el envejecimiento y el proceso de “*inflammaging*”. Este desequilibrio entre la respuesta inmune y el EOx estimula la liberación constante de citocinas proinflamatorias.^{69,70}

La adaptación o mala adaptación a los estímulos proinflamatorios y antiinflamatorios de por vida, conducen a la longevidad o a las enfermedades. Los estímulos pro y antiinflamatorios a los que nuestro organismo está expuesto a lo largo de la vida, combinado con un estilo de vida saludable o no saludable (alimentación y actividad física) y la microbiota intestinal afecta el desencadenamiento de la remodelación del SI a manera de respuesta adaptativa o no adaptativa. La estimulación excesiva de las vías proinflamatorias y una respuesta antiinflamatoria ineficaz constituyen una fuerza impulsora para el desarrollo de enfermedades y discapacidades relacionadas con la edad. En cambio, lograr un envejecimiento y una longevidad exitosos están determinados por una menor predisposición a desarrollar procesos inflamatorios acompañados de una respuesta antiinflamatoria eficiente⁶². (Figura IV.3.1)

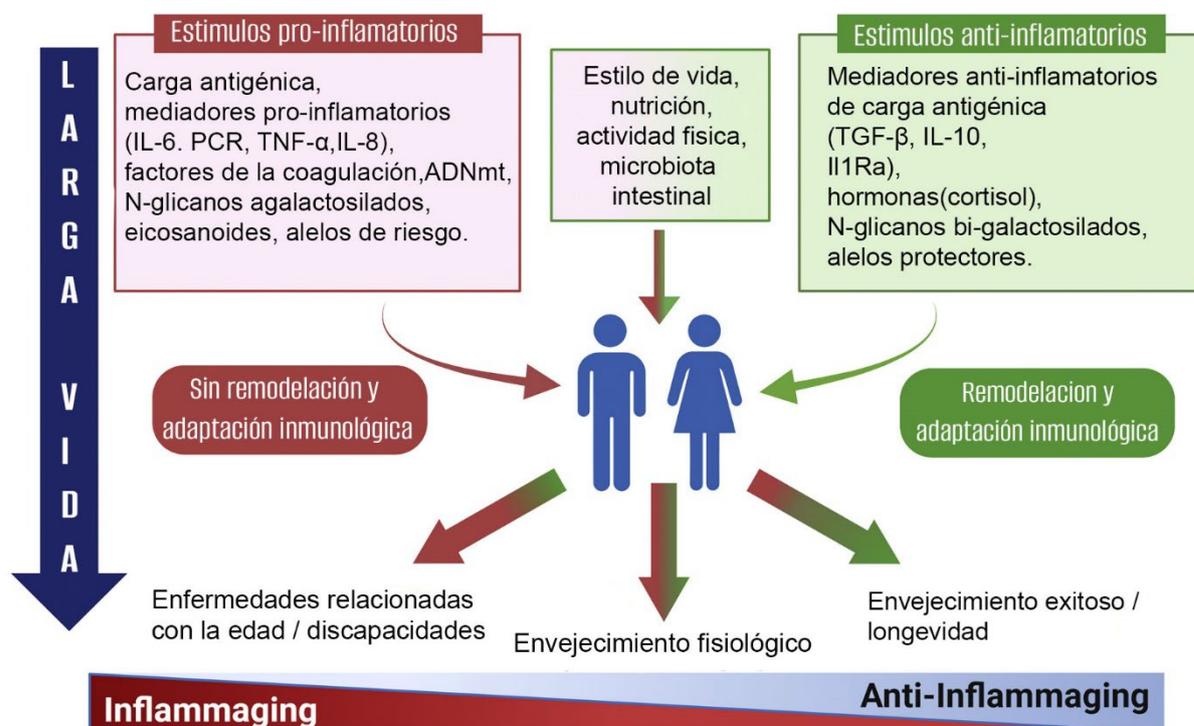


Figura IV.3.1. Estímulos proinflamatorios y antiinflamatorios, enfermedad e inflamación en la vejez. (Modificado de Santoro A, 2021).⁶²

Finalmente, el estilo de vida saludable, es decir, una dieta balanceada que incluya probióticos y prebióticos, así como la práctica de ejercicio regular pueden contribuir a reducir las patologías inflamatorias.^{62,64,65}

IV.3.1 Marcadores biológicos del proceso inflamatorio crónico

La proteína C reactiva (PCR) es una proteína cíclica pentamérica. Denominada así porque precipita el polisacárido somático C del *Streptococcus pneumoniae*. Es parte de la inmunidad innata y es producida principalmente por los hepatocitos como respuesta al daño tisular, infecciones, procesos inflamatorios y neoplasias. Se le conoce como proteína de fase aguda porque participa en respuestas de emergencia, que se incrementa al desequilibrarse ciertos mecanismos homeostáticos que mantienen funcionando al organismo ante diversos retos.⁷¹

La PCR es considerada como un buen marcador de inflamación sistémica. En personas sanas la concentración de ésta proteína es menor a 1 mg/L, mientras que en sujetos que presentan concentraciones entre 1 y 10 mg/L, padecen desórdenes metabólicos como el síndrome metabólico, elevado índice de masa corporal, aterosclerosis, diabetes, de artritis reumatoide, fiebre reumática, tuberculosis, lupus eritematoso y enfermedades coronarias, entre otras. Concentraciones séricas mayores a 10 mg/L, indican la presencia de una respuesta inflamatoria aguda.^{71,72} La expresión de la PCR está regulada por citocinas proinflamatorias como IL1, IL6 y TNF- α . Las citocinas son proteínas producidas por distintos tipos celulares del sistema inmune en respuesta a una activación celular. Su función fundamental es la regulación de la respuesta inmune e inflamatoria.⁷³

Las IL son glucoproteínas de bajo peso molecular (<80 kDa), permiten la comunicación entre las diferentes poblaciones de leucocitos. Estimulan la multiplicación, la diferenciación y la respuesta de los linfocitos T, B y otras células que participan en la respuesta del sistema inmune. Las interleucinas se clasifican en proinflamatorias (IL-1 α , IL-1 β , TNF- α , IL-6 IL-8) y anti-inflamatorias (IL-4 e IL-10).⁷²

IL-6

Es producida por linfocitos T y B, macrófagos, fibroblastos y varias líneas de células tumorales. Las endotoxinas son buenas inductoras de su síntesis. La IL-6 participa en la inducción de las reacciones inflamatorias junto con el TNF- α , estimula la respuesta de fase aguda, inhibe la proliferación celular, tiene efecto pirogénico, entre otros. El aumento de la concentración IL-6 y TNF- α en personas con SMeT, se asocia con un daño en el tejido periodontal.^{72,74}

IL-8

Es un pequeño péptido de 8 a 10 kDa producido por neutrófilos, linfocitos T, macrófagos y células endoteliales, participa como mediador de las reacciones inflamatorias. Esta IL causa inflamación aguda mediante el reclutamiento y la activación de los neutrófilos.⁷⁵ La IL-8 contribuye en la patogénesis de la aterosclerosis ya que las lipoproteínas de baja densidad del colesterol (LDL-c) oxidadas y los macrófagos presentes en las placas ateroscleróticas, estimulan la secreción de IL-8.⁷⁶

En los humanos se han asociado altas concentraciones de IL-8 con el aumento en la incidencia de enfermedades coronarias, además existen evidencias experimentales de que ésta citocina es producida también por el tejido adiposo en humanos.^{77,78}

TNF- α

Es una citocina proinflamatoria que es secretada por monocitos, macrófagos, neutrófilos, células NK y linfocitos T. Está compuesta por 3 subunidades enlazadas entre sí, cada subunidad está formada por un péptido de 17 kDa. Tiene una potente actividad citotóxica capaz de asesinar células tumorales y de actuar como un mediador letal en la respuesta inmune de enfermedades inflamatorias crónicas e infecciosas. Las infecciones bacterianas pueden acelerar la síntesis del TNF- α por los macrófagos. Ésta citocina participa en la apoptosis de células que expresan su receptor de membrana, puede inducir necrosis de tumores, estimular la fagocitosis, provocar necrosis hemorrágica de ciertos tumores y vasos sanguíneos, favorece la lipogénesis y aumenta la trigliceridemia^{70,76,79}

IL-10

Es una IL con actividad inmunosupresora y antiinflamatoria, que actúa inhibiendo la actividad de los linfocitos T, monocitos y macrófagos. La función principal de ésta IL, es limitar y terminar las respuestas inflamatorias. Regula el crecimiento y diferenciación de las células NK y células T cooperadoras, mastocitos, granulocitos, células dendríticas, queratinocitos y células endoteliales. Regula la sobreproducción de citocinas inflamatorias como TNF- α , IL-6, IL-8 e interferón gamma.^{72,79,80}

IV.4 Sistema antioxidante

Todos los organismos aeróbicos poseen sistemas de defensas antioxidantes, que les permiten prevenir la formación de moléculas oxidantes y reparar el daño oxidativo a los tejidos y biomoléculas. Un antioxidante es una molécula que retardan o inhiben la oxidación de los lípidos, las proteínas, los carbohidratos y el ADN.^{42,81}

Existen diversas clasificaciones para los antioxidantes, pero una de las más utilizadas con fines de investigación en humanos, agrupa a los antioxidantes en función de: la prevención del EOX, limitación o neutralización del EOX y reparación del daño molecular por EOX ¹⁴ como se presenta en el cuadro IV.4.1

Cuadro IV.4.1 Clasificación de los sistemas antioxidantes (Modificado de Rosado-Pérez J, 2018)³³

Primarios		Secundarios	Terciarios
Previene la formación de radicales libres		Capturan radicales libres	Reparan biomoléculas
Enzimas: Superóxido dismutasa (SOD) Glutación peroxidasa (GPx) Catalasa (CAT)	Proteínas atrapadoras de metales Albúmina Ceruloplasmina Transferrina Metalotioneina	Vitamina C Vitamina E Vitamina A, Carotenos Ácido úrico Bilirrubina Albúmina Melatonina Estrógenos	Enzimas reparadoras de lípidos: Fosfolipasas, glutación transferasas y acetiltransferasas. Actúan sobre proteínas: Proteinasas, proteasas y peptidasas Reparar ADN Exonucleasas y endo-nucleasas, glicosilasas, polimerasas y ligasas,

Antioxidantes primarios

Este grupo está formado por la SOD, glutación peroxidasa (GPx), catalasa (Cat), la albúmina y las proteínas atrapadoras de metales y conforman el mecanismo inicial de protección. Las enzimas antioxidantes contrarrestan el efecto de las EROs. La SOD acelera la dismutación del ión $O_2^{\cdot-}$ a H_2O_2 y oxígeno (Figura IV.4.1). Al producirse H_2O_2 , aumenta la lipoperoxidación y el daño celular. En el humano existen tres formas de SOD: citosólica (CuZnSOD), mitocondrial (MnSOD), y extracelular (EC-SOD).^{33,82,83}

Otro mecanismo, es la descomposición enzimática del H₂O₂ e hidroperóxidos. La Cat y la GPx actúan en cooperación en la conversión del H₂O₂ en agua (Figura IV.4.1). El H₂O₂ sobre el que actúan la GPx y la Cat, no sólo proviene de la actividad de la SOD, sino también de otras reacciones metabólicas.⁸³⁻⁸⁵

La GPx es una proteína que contiene selenio en su sitio activo. Se localiza en el citoplasma y la mitocondria, cataliza la oxidación del glutatión reducido (GSH) a glutatión disulfuro (GSSG) (Figura IV.4.1).⁸⁴

La Cat se encuentra en el citosol y los peroxisomas y contiene un grupo hemo responsable de su actividad catalítica. Cataliza la reacción de descomposición del H₂O₂ (Figura IV.4.1).⁸⁵

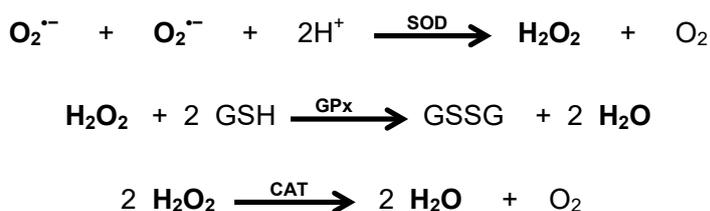


Figura IV.4.1 Actividad de las enzimas antioxidantes

El balance entre la actividad de estas enzimas es fundamental para la resistencia de las células contra el daño oxidativo. Si la actividad de SOD está disminuida con respecto a la actividad de GPx y Cat, se favorece la acumulación de ion O₂^{•-} que es tóxico para las macromoléculas. Una actividad incrementada de SOD con respecto a la actividad de GPx y Cat puede favorecer la sobreproducción de H₂O₂, el cual es responsable de la generación de otras EROs.^{48,85}

La albúmina es la más abundante de las proteínas séricas y tiene funciones de antioxidante primario, pero también de antioxidante secundario. Más del 35% de la actividad antioxidante del plasma se debe a la albúmina,⁵² la cual liga iones cobre y de este manera inhibe la LPO y la formación de OH[•], ambos dependientes del cobre. Aunque estas reacciones ocurren en la superficie de la proteína, debido a su alta concentración plasmática y su rápido recambio, el daño que le ocasiona es muy bajo. Por ello, se previenen reacciones de oxidación en otras biomoléculas. La lactoferrina, la transferrina, la ferritina y la ceruloplasmina son proteínas atrapadoras de metales cuya función es secuestrar iones metálicos como hierro y cobre, y así evitar que se encuentren disponibles para la formación de OH[•].^{86,87}

Antioxidantes secundarios

Este grupo incluye a las vitaminas A, C, E y componentes plasmáticos como la bilirrubina, el ácido úrico, la melatonina y los estrógenos. Los antioxidantes secundarios limitan o neutralizan el EOX ya que actúan en compartimientos hidrofóbicos o hidrofílicos eliminando, atrapando y estabilizando a las EROs ya formadas que han escapado de la primera línea de defensa antioxidante, evitando la iniciación o propagación de reacciones en cadena y limitando su efecto nocivo sobre moléculas blanco.^{33,87}

Si los otros dos sistemas antioxidantes no han sido eficientes y las biomoléculas son oxidadas, existe una tercera línea de defensa, que son los sistemas de reparación. Dentro de este grupo están las enzimas reparadoras de lípidos como las fosfolipasas, glutatión transferasas y acetiltransferasas, que comienzan a reparar en la membrana celular y actúan en forma de cascada, una tras la otra. También las proteinasas, proteasas y peptidasas, que actúan sobre las proteínas y las exo y endo-nucleasas, glicosilasas, polimerasas y ligasas, que intervienen en la reparación del ADN. Este tipo de antioxidantes se encargan de reparar las lesiones producidas en las biomoléculas oxidadas, restaurándolas a su conformación nativa.^{48,87}

Aunque algunos autores no consideran a las enzimas de reparación como parte del sistema antioxidante debido a la función que desempeñan, si forman parte de los mecanismos de defensa y protección contra el EOx, ya que se ha sugerido que el organismo podría sucumbir rápidamente al dañarse cualquiera de los componentes celulares vitales por daño oxidante si solo tuviéramos a las enzimas y compuestos antioxidantes como medios de protección.⁸⁷

IV.4.1 Frutos comestibles como fuente de antioxidantes naturales

Conocer el impacto de la actividad de los antioxidantes nos permite considerarlos como una alternativa en la intervención o tratamiento en ciertas enfermedades, al ser inocuos e inofensivos y que provienen de fuentes naturales como las frutas y verduras comestibles con alto contenido de antioxidantes.⁸⁸

Tradicionalmente, el consumo de frutas y verduras se considera como una hábito saludable, ya que sus compuestos pueden tener efectos a nivel molecular; en estudios recientes, se ha demostrado que alimentos con alto contenido de antioxidantes pueden reducir los niveles de especies reactivas.⁸² Por ejemplo, las vitaminas y metabolitos secundarios como los ácidos fenólicos, flavonoides, entre otros, pueden incidir en los niveles de EOx en ciertas enfermedades y en el envejecimiento.⁸⁸⁻⁹⁰ Esto puede ocurrir a través de varios mecanismos, ya sea evitando la formación de EROs o interrumpiendo las reacciones en cadena en donde participan. De ésta manera, se considera que los antioxidantes naturales, pueden equilibrar un ambiente oxidante, restaurar la homeóstasis celular y reducir los efectos nocivos de ciertas condiciones patológicas inducidas por el EOx.^{90,91}

Algunos vegetales crudos se han usado para tratar algunas enfermedades sin conocer el contenido de moléculas antioxidantes, según varios estudios, la mayoría de los vegetales tienen propiedades terapéuticas para la prevención de enfermedades neurológicas, cardiovasculares, diabetes, cáncer y SMet entre otras.⁹⁰⁻⁹³ Los frutos con capacidad antioxidante, incluyen diferentes tipos de bayas con alta concentración de compuestos fenólicos como el arándano, fresas, moras y frambuesas. Respecto a las frutas verdes, el chayote (*Sechium edule*) es rico en compuestos bioactivos como polifenoles y flavonoides.⁹⁴⁻⁹⁷

IV.5 Síndrome metabólico, tratamientos y terapias alternativas

Como hemos mencionado, la alta prevalencia del SMet en la población de AM requiere de opciones terapéuticas, actualmente se enfocan en tratamientos farmacológicos, cambios en el estilo de vida (dieta y ejercicio) o una intervención mixta.⁹⁸ Los tratamientos farmacológicos existentes, se enfocan en el control de cada uno de los componentes del SMet: la hipertensión, hiperglucemia, dislipidemias y obesidad central, por lo que muchas veces los pacientes caen en la práctica de polifarmacia y sus consecuencias. Por lo anterior se han buscado terapias alternas que coadyuven en el tratamiento de este síndrome y de ECNT.⁹⁹

La evidencia de la literatura científica respalda el uso de polifenoles de origen vegetal como agentes terapéuticos que podrían ser una alternativa para mitigar las preocupaciones sobre las ECNT. Hasta ahora se han realizado varias investigaciones *in vivo* e *in vitro* para evaluar sus consecuencias para la salud. Los polifenoles cumplen una función vital en la protección del organismo contra estímulos externos y en la eliminación de EROs, que son instigadoras de varias enfermedades. Los polifenoles están presentes en el té, el chocolate, las frutas y las verduras y tienen el potencial de influir de manera positiva en la salud humana ya que ayudan a mejorar el perfil de lípidos, la presión arterial, la resistencia a la insulina y la inflamación sistémica debido a que tienen acción antioxidante, citotóxica, antiinflamatoria, antihipertensiva y antidiabética

También se conoce que se practican terapias con antioxidantes naturales provenientes de las plantas medicinales podrían ayudar a prevenir o reparar el daño causado por los radicales libres, como el estrés oxidativo.^{99,100}

IV.5.1 Fitoquímicos y polifenoles

Los fitoquímicos se definen como compuestos vegetales bioactivos, se encuentran en frutas, verduras, granos y otros alimentos vegetales que se han relacionado con la reducción del riesgo de enfermedades crónicas importantes. Se estima que se han identificado más de 5,000 fitoquímicos individuales en frutas, verduras y granos, pero aún se desconoce un gran porcentaje, sin embargo, cada vez más evidencia convincente sugiere que los beneficios de los fitoquímicos en frutas y verduras pueden ser incluso mayores de lo que se cree actualmente, porque el estrés oxidativo inducido por los radicales libres está involucrado en la etiología de una amplia gama de enfermedades crónicas. Los fitoquímicos se pueden clasificar como carotenoides, fenoles, alcaloides, compuestos que contienen nitrógeno y compuestos organosulfurados, pero los fitoquímicos más estudiados son los fenoles y los carotenoides.¹⁰¹

Los polifenoles son conocidos como el grupo más grande de metabolitos secundarios provenientes de plantas y vegetales, su estructura varía desde fenoles simples con grupos hidroxilo conectados al anillo aromático hasta

compuestos poliméricos altamente complejos como taninos y lignanos. Los polifenoles están muy extendidos en las plantas y aparecen individualmente o en combinación con otros grupos de fitoquímicos.¹⁰² Los compuestos fenólicos son conocidos como antioxidantes naturales presentes en vegetales y biosintetizados a partir de tirosina o fenilalanina a través de la ruta del ácido shikímico. Un compuesto polifenólico es aquel que tiene más de un grupo fenol; la complejidad de los ácidos fenólicos varía de simples a conjugados, con efectos antioxidantes que se deben principalmente a los grupos hidroxilo en el anillo de benceno. Los compuestos polihidroxifenólicos son aquellos que incluyen más de dos grupos hidroxilo. Varias fuentes vegetales, como granos, verduras, semillas, té, frutas, bayas, bulbos de cebolla, aceites vegetales y vino, se han examinado exhaustivamente en busca de antioxidantes fenólicos.^{102,103}

Con base en su estructura, los polifenoles son excelentes compuestos antiinflamatorios y antioxidantes que se consideran para ser usados en el tratamiento de una amplia gama de enfermedades.^{99,104} Hay alrededor de 6,000 formas diferentes de flavonoides, que son un grupo importante de polifenoles con actividad biológica. La figura IV.5.1.1 muestra diferentes clases de polifenoles y su relación entre sí.

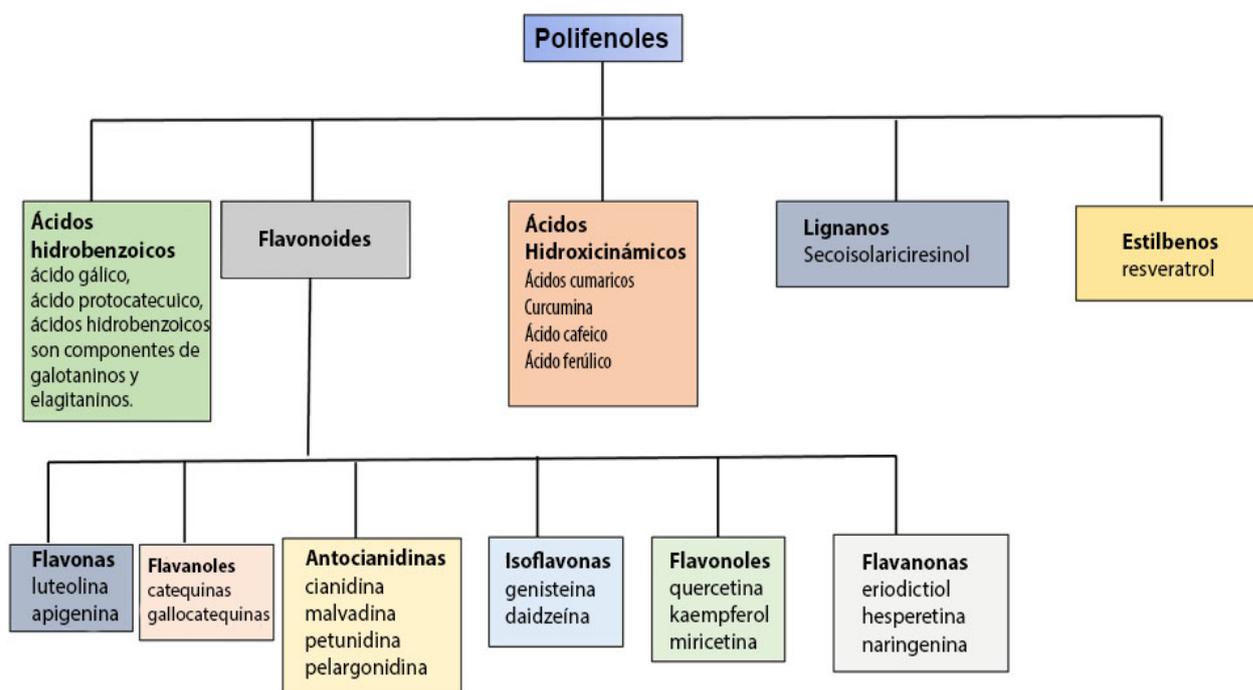


Figura IV.5.1.1 Clasificación de los polifenoles (Tomado de Rana A).⁹⁹

Los flavonoides se caracterizan por una estructura de 15 carbonos que comprende dos anillos aromáticos fusionados conectados a otro anillo aromático a través de un enlace carbono-carbono. La daidzeína y la genisteína (isoflavonas), la quercetina y el kaempferol (flavanoles), la epigallocatequina-3-galato (EGCG)

(flavanol) y las antocianinas son algunos de los flavonoides más conocidos de plantas medicinales y dietéticas con funciones protectoras en varias enfermedades neurodegenerativas.¹⁰⁵

IV.5.2 Cucurbitacinas

Las cucurbitacinas son triterpenoides tetracíclicos, conocidas por su amargor poseen una fuerte actividad antineoplásica y antiinflamatoria, antioxidante e inmunomodulador. y se dividen en 12 clases o categorías de la A a la T con más de 200 derivados. Los ocho componentes de cucurbitacina más activos contra el cáncer son cucurbitacina B, D, E, I, Ila, L glucósido, Q y R. Sus mecanismos de acción incluyen antiproliferación, inhibición de la migración e invasión, proapoptosis y promoción de la detención del ciclo celular. También se ha descubierto que las cucurbitacinas son inhibidores de las vías de señalización JAK-STAT3 (citocinas Janus cinasa/ transductor de señal y activador de transcripción 3), Wnt (vía que regula polaridad, migración celular y organogénesis: *polarity gene wingless int-1*), PI3K/Akt (fosfatidilinositol-3-proteína cinasa) y MAPK (proteína cinasas activadas por mitógenos), que desempeñan funciones importantes en la apoptosis y la supervivencia de las células cancerosas.^{105,106}

La cucurbitacina B y la cucurbitacina E han sido investigadas en lo que respecta a la respuesta inmunitaria, y desempeñan funciones tanto en la inmunidad innata como en la adaptativa. Los mecanismos más descritos son la inhibición de ciclooxigenasa-2 (COX-2) y sintasa del óxido nítrico (NOS), reducción del estrés oxidativo, supresión de citocinas proinflamatorias y modulación de proteínas de inmunidad adquirida. Se encontró que las cucurbitacinas son moléculas promisorias en la búsqueda de innovación terapéutica y tienen amplia versatilidad en la respuesta inmune y antioxidante.^{106,107}

IV.5.3 *Sechium edule* (chayote)

El *Sechium edule* es una planta comestible de la familia de las Cucurbitaceae. Se ha descrito que los frutos y las semillas son ricos en ácido aspártico, ácido glutámico, alanina, prolina, serina, tirosina, treonina y valina; vitaminas como la tiamina, riboflavina, niacina, vitamina A y ácido ascórbico y los minerales calcio, fósforo, hierro, nitrógeno, cobre, zinc, manganeso y potasio. Los estudios fitoquímicos han revelado la presencia de esteroides, alcaloides no fenólicos, triterpenos y saponinas. Así como flavonoides, incluyendo tres C-glicosilflavonas y cinco O-glucosil flavonas.¹⁰⁸⁻¹¹¹ En cuanto a sus usos medicinales, se ha descrito que las hojas y los frutos tienen propiedades anticancerígenas, cardioprotectoras, antiulcerosas, diuréticas y anti-inflamatorias, las hojas se han utilizado en el tratamiento de la arteriosclerosis, la hipertensión y para disolver cálculos renales.¹¹²⁻¹¹⁶

En varios experimentos se ha demostrado efectos farmacológicos importantes de sus extractos,¹¹⁷⁻¹¹⁸ por ejemplo, Wu et al.⁷⁵ describieron en un modelo celular y en rata con obesidad inducida, la activación de la vía MAPK cinasa y de PPAR

(receptores activados proliferadores de peroxisomas) cuya expresión reguló enzimas implicadas en la lipogénesis con la concomitante disminución del contenido sérico y hepático de triglicéridos y colesterol, también hubo reducción significativa de la glucosa.

Existen abundantes evidencias sobre la actividad antioxidante de los extractos de *Sechium edule*, debido a los beta-carotenos, así como la capacidad de donar hidrógeno en presencia del radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo) y un fuerte poder de reducción por el método del ferrocianuro de potasio. Este resultado se ha reportado consistentemente, ya que varios autores agregan que los efectos antioxidantes muestran una correlación significativa con el contenido de polifenoles.^{119,120} Recientemente, se demostró que los frutos de *Sechium edule* contiene ácidos fenólicos como el ácido gálico, clorogénico, vanílico, p-hydroxibenzoico, cafeico y p-cumárico; además también contiene flavonoides como florizidina, floretina y naringenina.^{33,96}

En el cuadro M.5.3.1 se presenta una síntesis de estudios sobre los efectos antioxidantes de varios componentes aislados de *Sechium edule*.

Cuadro IV.5.3.1. Estudios sobre los efectos antioxidantes de varios componentes aislados de *Sechium edule* (Tomado de Rosado-Pérez 2018)³³

Estudio	Objetivo	Determinaciones	Hallazgos	Referencia
Actividad antioxidante de los extractos acuosos y etanólico de tallos, hojas y semillas de chayote.	Los extractos se prepararon en diferentes solventes. Se determinó la actividad antioxidante de los extractos usando el método del blanqueamiento del β -caroteno. Se determinaron las concentraciones de flavonoides y compuestos fenólicos, así como su poder reductor.	Flavonoides en hojas: 0.2- 0.75 mg/dL. Flavonoides en tallos: 0.1- 0.2 mg/dL Compuestos fenólicos en hojas: 0.5-1.21 mg/dL. Compuestos fenólicos en tallos: 0.23-0.33 mg/dL Actividad antioxidante (%) en hojas: 58 -91% Actividad antioxidante (%) en tallos: 30-65% Poder reductor, actividad antirradical	Los componentes bioactivos de <i>Sechium edule</i> pueden actuar como antioxidantes primarios y secundarios, contienen un alto poder reductor y pueden secuestrar RL inhibiendo la lipoperoxidación.	Ordoñez 2006
Actividad antioxidante e inhibidora de la actividad de α -glucosidasa en cucurbitáceas	Se estudiaron los frutos de 7 vegetales de la familia cucurbitácea: *Concentración de compuestos fenólicos (TPC) *Actividad de eliminación de RL (antirradical) (DPPH)	*Concentración de compuestos fenólicos (TPC) *Actividad de eliminación de RL (antirradical) (DPPH) *Poder reductor *Actividad inhibidora de la de α -glucosidasa *Potencia quelante	El extracto de acetato de etilo de <i>Sechium edule</i> mostró la más alta actividad antirradical (DPPH), respecto a los otros 6 vegetales *Se observó la correlación más alta entre los valores de TPC y DPPH en <i>Sechium edule</i> *Se encontró que el ácido gálico es el Aox principal y el constituyente más activo en el extracto de acetato de etilo de <i>Sechium edule</i>	Shaída, 2013
Actividad anti-angiogénica y antioxidante del extracto etanólico de hojas de chayote en embrión de Pato	Se estimó el contenido fenólico total en el extracto de hojas de chayote, por medio del análisis fotoquímico cuantitativo con ácido gálico. Para determinar las propiedades anti-angiogénicas del extracto, se utilizó en un ensayo en la membrana de pato.	*Concentración letal media (LC ₅₀) *Actividad antioxidante (DPPH, actividad antirradical) *Contenido fenólico total	*No existe LC ₅₀ ya que en el experimento no murieron más del 50% de los huevos de artemia salina usando una concentración de 100%. * Se observó una alta actividad anti-angiogénica en el extracto de mayor concentración. *La inhibición de la formación de radicales libres es directamente proporcional a la concentración del extracto, hay mayor actividad antioxidante a mayor concentración.	Kathleen 2006

			*El contenido fenólico total del extracto es de 0.73 mg/g de hoja seca.	
Actividad antirradical de un compuesto llamado Bio-catalizador (Bio-normalizer) y su subproducto.	Se estudió el efecto antioxidante de un compuesto en polvo, hecho de levaduras de la fermentación de la glucosa, <i>Carica papaya</i> Linn., <i>Pennisetum purpureum</i> Schum., y <i>Sechium edule</i> Swartz.	*Actividad antirradical DPPH y superóxido *Formación de TBARS como productos oxidantes de lípidos en ratas con epilepsia inducida por hierro.	*Se observó que el compuesto y su producto neutralizó un alto porcentaje de radicales libres formados. *Las pruebas in vivo mostraron que la ingesta de 1 g / kg de peso corporal de Bio-catalizador inhibió la formación de TBARS en ratas con epilepsia inducida. Lo que sugiere que Bio-catalizador o su subproducto pueden ser alimentos saludables contra la peroxidación lipídica neural, epilepsia traumática y envejecimiento.	Santiago 1991
Actividades vasoactivas y antioxidantes de las plantas usadas en la medicina tradicional mexicana para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares	Se estudiaron 10 plantas medicinales: * <i>Agastache mexicana</i> * <i>Bocconia frutescens</i> L. * <i>Chenopodium murale</i> L. * <i>Chirantodendron pentadactylon</i> Larreat * <i>Dracocephalum moldavica</i> L. * <i>Magnolia grandiflora</i> L. * <i>Prunus serotina</i> ssp. <i>Capuli</i> * <i>Psittacanthus calyculatus</i> * <i>Sechium edule</i> Sw. * <i>Solanum rostratum</i> Dunal	*Concentración de flavonoides *Concentración de compuestos fenólicos *Efecto vaso relajante *Actividad antirradical	<i>Sechium edule</i> Sw, <i>Agastache mexicana</i> , <i>Chenopodium murale</i> L., <i>Chirantodendron pentadactylon</i> , <i>Dracocephalum moldavica</i> L., <i>Psittacanthus calyculatus</i> , <i>Prunus serotina</i> sp., contienen metabolitos secundarios que promueven la relajación vascular y muestran actividad antioxidante. Los efectos antioxidantes mostraron una correlación significativa con el contenido de polifenoles. Sin embargo, se observó una menor correlación entre la actividad antioxidante y el efecto vasodilatador máximo, lo que sugiere que la vasodilatación provocada por los extractos de plantas podría atribuirse solo en parte a sus propiedades antioxidantes.	Ibarra-Alvarado 2010
Efecto de genoprotección a largo plazo del extracto del fruto de <i>Sechium edule</i> contra la radiación UVA en los queratinocitos	Investigar el efecto en la fotoprotección contra radiación UVA en queratinocitos primarios humanos.	Keratinocitos obtenidos de biopsias humanas, luego fueron cultivados y expuestos a radiación UVA. Algunos cultivos fueron tratados con el extracto de <i>Sechium edule</i> . *Determinación de EROS intracelular. *Cuantificación de sitios sensibles a Fpg mediante ensayo de cometa.	Los queratinocitos protegidos con <i>Sechium edule</i> , mostraron una disminución intracelular de las especies reactivas de oxígeno, así como una reducción de las lesiones oxidativas del ADN después de la exposición a radiación UVA. Por medio de biochips se observó la reparación enzimática de ADN. Por lo anterior se explica los beneficios de protección de <i>Sechium edule</i> contra radiación UVA por una combinación de actividad antioxidante, reducción de daño al ADN y mejora en la capacidad de reparación.	Metral 2018

En relación al efecto hipoglucemiante, en varios estudios en ratas se ha reportado regulación de la concentración de glucosa.¹²¹⁻¹²⁴ Mayti S. et al.¹²³ evaluaron su efecto en un modelo de diabetes inducida en ratas, y se observó que la administración oral ayudó a disminuir significativamente el nivel de glucosa en la sangre, el perfil lipídico también mostró mejoras.

Santiago et al.¹²⁵ describieron la actividad antioxidante en un compuesto denominado Bio-catalizador a.p N° 11 y su subproducto los cuales son elaborados por fermentación de glucosa, *Carica papaya* Linn., *Pennisetum purpureum* Schum, y *Sechium edule* Jacq. Swartz, los cuales mostraron capacidad antioxidante in vitro, la administración en ratas inhibió significativamente la formación de lipoperóxidos. Este mismo compuesto (también denominado ImunoAge), se ha administrado a pacientes alcohólicos en quienes los niveles de lipoperóxidos e hidroperóxidos plasmáticos redujeron significativamente tras dos semanas, lo mismo se observó en biopsias gástricas. En otro estudio también en alcohólicos se observaron mejoras en las propiedades reológicas de la sangre, así como en la concentración plasmática de GSH y lipoperóxidos, lo cual sugiere un potente efecto antioxidante a pesar de la condición de exposición al alcohol de los pacientes.¹²⁵⁻¹²⁷

En nuestro grupo de investigación se evaluó en un modelo *in vivo* en ratón la toxicidad del extracto de *Sechium edule*, encontrando que la DL₅₀ (dosis letal media) vía intraperitoneal y gástrica es mayor a 5000 mg/kg de peso, lo cual de acuerdo a los criterios de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE) y OMS indica inocuidad; además se observó que no hubo diferencias en la concentración de enzimas hepáticas o de los componentes del perfil renal, respecto a los parámetros hemáticos se observó un incremento en los glóbulos blancos, específicamente en los linfocitos. Así mismo se observó una disminución significativa de la glucosa. No hubo cambios en los índices esplénico, hepático y del timo.⁹⁶

A pesar de la abundante información respecto a los efectos farmacológicos de *Sechium edule* en estudios preclínicos, en nuestra población no se ha evaluado de manera formal su efectividad, de ahí que se plantea la determinación del efecto de la suplementación de frutos secos de *Sechium edule* en los marcadores clínicos, inflamatorios y de EOx en AM con SMet

V. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El SMet es un conjunto de alteraciones que tienen en común la resistencia a la insulina, se caracteriza por hipertensión, obesidad abdominal, dislipidemia, hiperglucemia y obesidad visceral. En los AM este síndrome se presenta con alta prevalencia, lo cual se ha asociado con la mayor predisposición a padecer enfermedades crónicas en esta etapa de la vida debido a los cambios asociados por se al envejecimiento, así como al EOX e inflamación también vinculados a este proceso. Por lo anterior, es importante implementar terapias complementarias, que sean seguras e inocuas, que coadyuven con los tratamientos tradicionales para el SMet.

Al respecto, se han estudiado varios compuestos naturales, que contienen altos niveles de antioxidantes y de compuestos bioactivos con propiedades antiinflamatorias y antioxidantes. *Sechium edule*, es un fruto consumido en nuestro país desde tiempos prehispánicos, se ha descrito que tiene propiedades antihipertensivas, hipoglucemiantes, propiedades como inhibidor de la lipogénesis, altos niveles de antioxidantes y de compuestos antiinflamatorios, sin embargo, no se ha evaluado su efecto en AM con SMet.

Por tal motivo, nos planteamos la siguiente pregunta de investigación:

¿Cuál es el efecto del consumo de concentrado en polvo de *Sechium edule* sobre marcadores de estrés oxidante, inflamación crónica y daño oxidativo al ADN en adultos mayores con síndrome metabólico?

VI. HIPÓTESIS

Considerando las evidencias que demuestran que el extracto de *Sechium edule* tiene alto contenido de compuestos bioactivos con actividad antioxidante y antiinflamatoria, suponemos que la administración de concentrado de fruto seco en polvo de *Sechium edule* tendrá un efecto antioxidante, antiinflamatorio y protector para el daño al ADN estadísticamente significativo en adultos mayores con síndrome metabólico.

VII. OBJETIVOS

General:

Determinar el efecto del consumo de frutos de *Sechium edule* sobre marcadores de estrés oxidativo, inflamación crónica y daño oxidativo al ADN en adultos mayores con síndrome metabólico.

Específicos:

- Evaluar el efecto del consumo de *Sechium edule* sobre la concentración sanguínea de lipoperóxidos, 8-isoprostanos, SOD, GPx, AT, razón SOD/GPx, brecha antioxidante, en adultos mayores con SMet.
- Evaluar el efecto del consumo de *Sechium edule* sobre la fragmentación de ADN y concentración de 8-OHdG en adultos mayores con SMet.
- Evaluar el efecto del consumo de *Sechium edule* sobre IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70, TNF- α y proteína C reactiva en adultos mayores con SMet
- Evaluar el efecto del consumo de *Sechium edule* sobre los criterios de diagnóstico de SMet.
- Determinar el efecto de *Sechium edule* sobre la composición corporal.

VIII. MATERIALES Y MÉTODOS

VIII.1.1 Población y diseño de estudio

Previo consentimiento informado y siguiendo los aspectos éticos de la declaración de Helsinki¹²⁸, se llevó a cabo un estudio cuasi-experimental el cual fue aprobado por el Comité de Bioética y Bioseguridad de Investigación de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM (23/02-SO/2.4.2) y registrado en el International Standard Randomised Controlled Trial Number (ISRCTN43215432).

Población

Por convocatoria abierta a población con obesidad se reclutaron 364 personas a quienes se evaluó para diagnosticar SMet conforme a los criterios del NCEP-ATPIII, 133 personas cumplieron los criterios de inclusión y fueron asignadas de manera aleatoria a dos grupos: (i) grupo experimental (GE) n =67, quienes consumieron tres cápsulas de 500mg de *Sechium edule* por día durante seis meses; (ii) grupo placebo (GP) n=66, quienes consumieron tres cápsulas sin el principio activo pero de apariencia idéntica, por el mismo periodo de tiempo. En la figura VIII.1 se presenta el esquema general de la investigación.

VIII.1.2 Criterios de inclusión y exclusión

Adultos mayores de 60 a 74 años sin distinción de sexo, que presentaron SMet de acuerdo con los criterios del NCEP-ATPIII. Sin ingesta de suplementos antioxidantes y tratamiento crónico con antiinflamatorios, con enfermedades crónicas no transmisibles controladas en los últimos tres meses y que firmaran el consentimiento informado.

Se excluyeron del estudio aquellos participantes que consumían suplementos alimenticios, que tuvieran enfermedades no controladas o cáncer.

VIII.1.3 Criterios de eliminación

Fueron eliminadas del estudio las personas que no consumieron las 3 cápsulas del tratamiento al día, decidieron voluntariamente no continuar en el programa, no se presentaron a la toma de muestras sanguíneas o que fueron hospitalizados.

Todos los participantes fueron evaluados por un médico general para corroborar el cumplimiento de los criterios de inclusión.

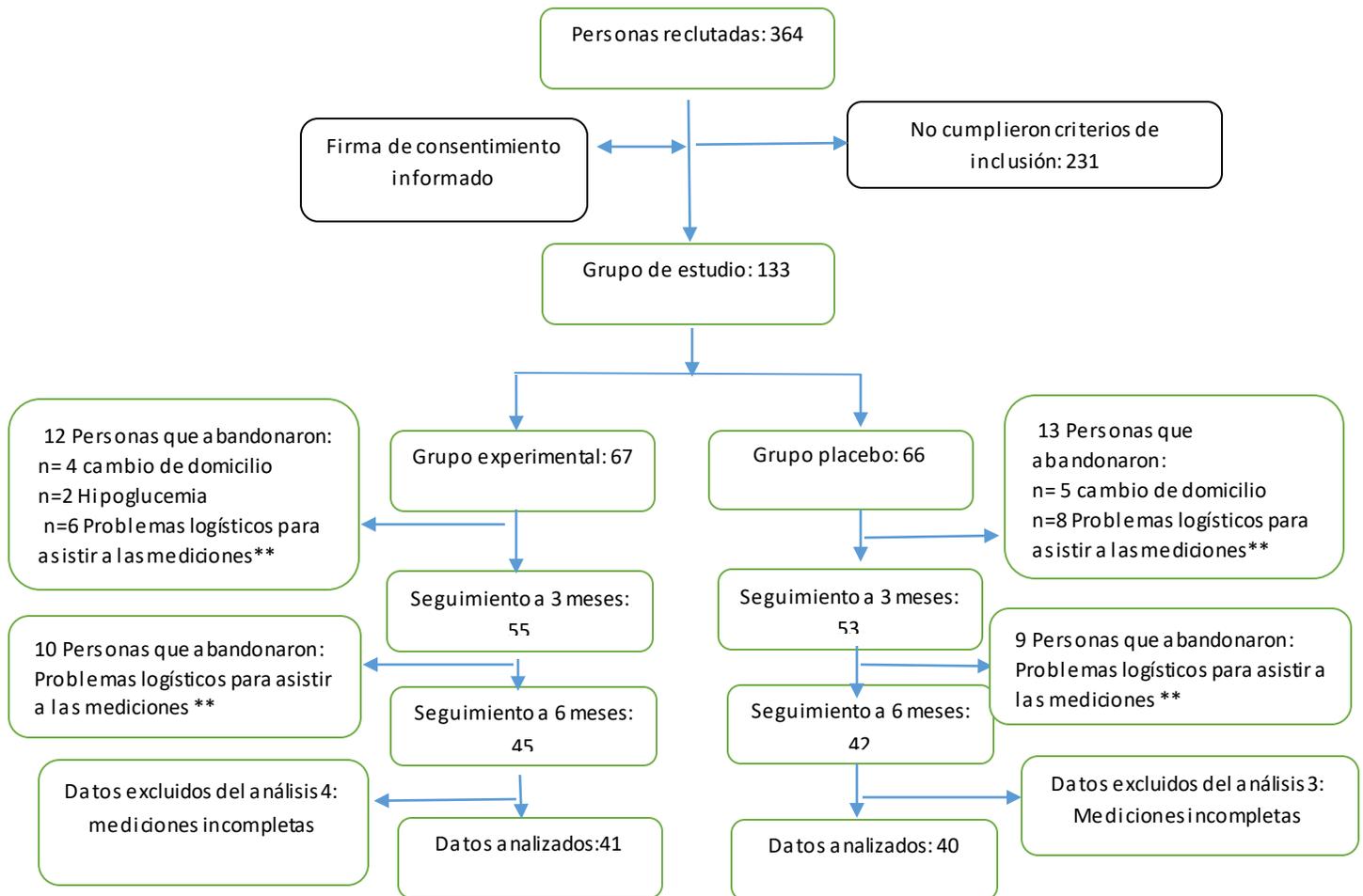


Figura VIII.1: Esquema general del estudio. **Se refiere a: Cita médica en sede distinta el día de la medición, falta de acompañante, largas distancias por recorrer, sin tiempo disponible suficiente para desplazarse a la sede.

VIII.2 Variables

- **Independiente:**

Tratamiento:

- Consumo de 1 cápsula de 500mg de fruto seco de *Sechium edule*, 3 veces al día durante 6 meses.
- Consumo de 1 cápsula de 500mg de placebo, 3 veces al día durante 6 meses.

- **Dependientes:**

Estrés oxidativo evaluado a través de los siguientes marcadores:

- Lipoperóxidos
- 8-isoprostanos (8-iso)
- Superóxido dismutasa (SOD)
- Glutación peroxidasa (GPx)
- Capacidad antioxidante total (AT)
- Relación SOD/GPx
- Brecha antioxidante (GAP)
- Índice de estrés oxidativo (IEOx)

Daño oxidante al ADN: Fragmentación de ADN y concentración de 8-OHdG

Proceso inflamatorio crónico: IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70, TNF- α y proteína C reactiva (PCR).

VIII.3 Técnicas

VIII.3.1 Intervención

Se convocó a AM, para que de manera voluntaria participaran en el proyecto. La población de estudio se reclutó bajo una convocatoria abierta distribuida por redes sociales en donde se especificaban los objetivos del estudio y los criterios para ser candidatos a participar, es decir ser mayor de 60 años y presentar obesidad o sobrepeso, así como tener residencia en la Ciudad de México. Se reclutaron 364 personas de ambos sexos, de las cuales 231 no cumplieron con los criterios de inclusión (presentar SMet), quedando 133 personas en el grupo de estudio.

Todos los participantes firmaron un consentimiento informado y fueron programados para la evaluación basal. Posterior a ésta se hizo la asignación aleatoria a los grupos de estudio y se les proporcionó el tratamiento, así como los datos de contacto y los mecanismos de comunicación con los coordinadores de la investigación. En la medición basal, a los tres y seis meses de tratamiento se determinaron parámetros antropométricos y bioquímicos a todos los participantes, marcadores de EOx, de daño al ADN y citocinas inflamatorias y antiinflamatorias en suero. Durante la investigación, se programaron reuniones mensuales para entregar los tratamientos,

hacer retroalimentación y detección de efectos no deseados, así como favorecer el apego al tratamiento.

VIII.3.2 Diagnóstico de síndrome metabólico

Todos los participantes fueron diagnosticados con SMet de acuerdo con el NCEP/ATP III, en el cual se considera SMet, la presencia de al menos tres de los cinco parámetros que se evalúan¹⁵.

Cuadro VIII.3.2.1. Criterios del Tercer panel para el Tratamiento en Adultos del Programa Nacional de Educación sobre el Colesterol de EE.UU. (NCEP-ATP III)

<i>Criterios de diagnóstico para síndrome metabólico</i>
Obesidad abdominal: circunferencia de cintura
<ul style="list-style-type: none"> • Hombres > 102 cm • Mujeres > 88 cm
Triglicéridos ≥ 150 mg/dL
HDL-Colesterol
<ul style="list-style-type: none"> • Hombres < 40 mg/dL • Mujeres < 50 mg/dL
Presión sanguínea ≥ 130/85 mmHg
Glucosa en ayuno (8 horas) ≥ 110 mg/dL
Criterio clínico: debe tener tres de los cinco criterios señalados

VIII.3.3 Obtención de frutos de *Sechium edule* var. *nigrum spinosum*

Se utilizaron frutos de *Sechium edule* grupo varietal *nigrum spinosum*, procedentes del Banco Nacional de Germoplasma de *Sechium edule*, ubicado en Huatusco, Veracruz, específicamente en el CRUO (Centro Regional Universitario Oriente) perteneciente a la Universidad Autónoma Chapingo. Los frutos fueron recolectados en madurez hortícola (estado en que se encuentran aptos para su consumo), una vez lavados y secos, fueron cortados en hojuelas, se incluyó exocarpo, mesocarpo, endocarpo, espinas y semilla. Posteriormente se realizó un secado a 40°C en un horno con circulación de aire (BLUE-M, electronic company/blue Island, Illinois, USA.) hasta su deshidratación completa (aproximadamente 48 horas). Finalmente, los frutos secos fueron molidos a un tamaño de partícula de 2 mm y tamizados con una malla No. 40 para separar las espinas. Este proceso se realizó en el Laboratorio de Acondicionamiento de la Unidad Multidisciplinaria de Investigación Experimental Zaragoza (UMIEZ) donde se cuenta con equipo grado alimentario y estuvo a cargo de personal capacitado.

VIII.3.4 Formulación de cápsulas de *Sechium edule*

Se formularon las cápsulas de polvo de *Sechium edule* y placebo usando buenas prácticas de fabricación en el Laboratorio de Tecnología Farmacéutica de la FES Zaragoza, determinada la composición, los tratamientos se maquilaron en una empresa farmacéutica especializada en el ramo naturista a la cual se entregaba el polvo obtenido en el Laboratorio de Acondicionamiento. El material biológico fue sanitizado y posteriormente encapsulado y acondicionado en frascos que contenían el tratamiento suficiente para un mes (90 cápsulas). Las cápsulas de placebo eran de apariencia idéntica a las de *Sechium edule* pero contenían lactosa monohidratada y talco, ambos de grado farmacéutico y acorde a la Farmacopea de los Estados Unidos (USP) (Sigma, St. Louis, MO, EUA.), fueron acondicionadas y etiquetadas de la misma manera que los tratamientos activos para mantener el cegamiento de los participantes.

VIII.3.5. Mediciones antropométricas y clínicas.

Las medidas antropométricas se obtuvieron siguiendo el protocolo establecido en la Unidad de Investigación en Gerontología:

Registro del peso: Las personas fueron pesadas con la menor cantidad posible de ropa en una báscula calibrada marca SECA® (Hamburgo, Alemania).

Registro de la estatura: Los pacientes se colocaron con los talones juntos, glúteos, hombros y cabeza en contacto con un estadiómetro marca SECA® (Hamburgo, Alemania) con los ojos mirando al frente y el plano de Frankfurt paralelo al suelo.

Circunferencia de la cintura: se midió el perímetro de la cintura a nivel de la cicatriz umbilical, utilizando una cinta métrica, sin hacer ninguna presión sobre el cuerpo.

Índice cintura-cadera: Se obtuvo al dividir el valor obtenido de la circunferencia de la cintura entre la circunferencia de la cadera.

Presión arterial: se tomó siguiendo la técnica que se establece en el apéndice B de la NOM- 030-SSA2-1999 para la prevención, tratamiento y control de la hipertensión arterial.¹²⁹ Dicha medición se determinó con el paciente sentado con un soporte para la espalda, con el brazo descubierto y flexionado a la altura del corazón. Se utilizó un esfigmomanómetro mercurial, el observador se situó de manera que podía ver el menisco de la columna de mercurio, se colocó el brazalete situando el mango sobre la arteria humoral y mientras se palpa la arteria humoral se infla rápidamente el mango hasta que el pulso desaparece a fin de determinar por palpación la presión arterial sistólica (PAS), se desinfla nuevamente el mango y se coloca la cápsula del estetoscopio sobre la arteria humoral, se infla rápidamente

el mango 30 ó 40 mm Hg por arriba del nivel palpatorio de la presión sistólica, se desinfla a una velocidad de 2 mm Hg/seg. La aparición del primer sonido de Korotkoff (fase I) marca el nivel de PAS y el quinto la presión arterial diastólica (PAD).

VIII.3.6 Composición corporal

Para conocer la composición corporal se usó el método de impedancia bioeléctrica mono frecuencia con el equipo RJL System (50 kHz, Quantum X), para esta medición, los pacientes requirieron de ayuno (al menos 8 horas) y retirarse objetos de metal como relojes o joyería, para que no interfirieran con las frecuencias eléctricas que genera el equipo. El paciente debe estar acostado boca arriba sobre una superficie plana y se colocan cuatro electrodos, dos en el dorso de la mano y dos en el dorso del pie del lado derecho, se obtienen datos de resistencia (R) y reactancia (Xc).

Masa muscular esquelética

Con la resistencia y la reactancia se estima la masa muscular esquelética (MME), la cual se calcula usando la ecuación de Janssen.¹³⁰

$$\text{MME(kg)} = \left[\frac{\text{estatura cm}^2}{\text{resistencia}} \times 0.401 \right] + (\text{sexo} \times 3.825) + (\text{edad} - 0.071) + 5.102$$

Donde sexo: Mujer =1 Hombre= 0

Finalmente, con la MME, se calcula el índice de masa músculo esquelética (IMME), que es la relación de masa muscular esquelética y la talla:

$$\text{IMME} = \text{MME} / (\text{estatura m}^2)$$

Masa libre de grasa

Para el cálculo de la masa libre de grasa (MLG) se usó la siguiente ecuación:¹³⁰

$$\text{MLG (kg)} = \left[(0.7374) \times \frac{\text{estatura cm}^2}{\text{resistencia}} \right] + \left[(0.1763 \times \text{peso}) \right] - \left[(0.1773 \times \text{edad}) \right] + \left[(0.1198 \times \text{reactancia}) \right] - 2.4658$$

Donde la edad se reporta en años y el peso en kg.

Masa grasa

Para el cálculo de la masa grasa (MG) se usó la ecuación:

$$\text{MG (kg)} = \text{Peso(kg)} - \text{MLG}$$

Porcentaje de masa libre de grasa (%MLG)

Se determina con la siguiente ecuación:

$$\%MLG = [(MLG(Kg) \times 100) / \text{peso (kg)}]$$

Porcentaje de masa grasa

Se usa la ecuación:

$$\%MG = 100 - \%MLG$$

VIII.3.7. Obtención de las muestras

A los sujetos participantes en el estudio se les tomaron muestras sanguíneas por venopunción, las cuales fueron obtenidas entre las 8:00 y 9:00 h con ayuno previo de 8 h, en tubos al vacío (Beckton-Dickinson, México); sin anticoagulante para las determinaciones bioquímicas (glucosa, perfil lipídico, perfil renal, 8-OHdG, interleucinas y PCR), con EDTA disódico para la biometría hemática y HbA1c y con heparina para las pruebas de estrés oxidativo. Para la determinación de los parámetros bioquímicos se centrifugaron las muestras coaguladas a 2,100 x g durante 10 min y se separó el suero en alícuotas y se congeló a -70°C para la determinación posterior de las citocinas y de la 8-OHdG. Las determinaciones bioquímicas (glucosa, perfil renal y perfil lipídico) se realizaron utilizando un equipo automatizado Selectra Junior (Vital Scientific, Holanda). De la sangre anticoagulada con EDTA se realizó la biometría hemática en un equipo Spincell 5 (Spinreact, España) y se separó una alícuota para la HbA1c, el resto de la muestra se centrifugó para obtener plasma que se separó en alícuotas para la determinación posterior de la concentración de 8-isoprostanos. Para las pruebas de EOx, se separaron 600 µL de sangre total anticoagulada para SOD, 100 µL para GPx, plasma heparinizado 100 µL para AT y 1,000 µL para lipoperóxidos.

Las muestras sanguíneas fueron recolectadas por personal capacitado siguiendo un protocolo establecido en el laboratorio clínico de la Unidad de Gerontología. Previa toma de muestra se entregó por escrito las instrucciones para asistir a la misma y se les solicitó el chorro medio de la primera orina de la mañana con la cual se realizó el examen general de orina y la cuantificación de albúmina en orina.

VIII.3.8. Parámetros bioquímicos

Para realizar las determinaciones se utilizó un equipo automatizado marca Vitalab Selectra Junior (Vital Scientific, Holanda), de acuerdo a los siguientes métodos:

Glucosa: Se utilizó un estuche comercial de Laboratorios Randox (Ltd; UK,) usando el método de glucosa-oxidasa. La glucosa se determina colorimétricamente después de una oxidación enzimática en presencia de glucosa oxidasa. La muestra y el patrón se mezclan e incuban durante 10 min a 15-25°C y se lee la absorbencia a 500 nm frente a blanco de reactivo.

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

Triglicéridos: Se usó el estuche comercial para la determinación de triglicéridos Randox GPO-PAP (Randox Laboratories Ltd, UK). Se determina tras hidrólisis enzimática con lipasas. El indicador quinoneimina se forma a partir de peróxido de hidrógeno, 4-amino-fenazona y 4-clorofenol bajo influencia catalítica de la peroxidada. El blanco, el patrón y la muestra se agitan e incuban con el reactivo de color de 10 a 15 min a 20-25° ó 5 min a 37°C, se mide la absorbencia a 500 nm antes de trascurridos 60 min.

HDL-colesterol: Se empleó el Estuche comercial para la determinación de HDL-directo, método de aclaramiento (Randox Laboratories Ltd, UK, CH3811A). La determinación se da tras la eliminación de quilomicrones, VLDL y LDL colesterol por medio de colesterol esterasa, colesterol oxidasa y subsecuentemente catalasa; la determinación posterior es específica para HDL-colesterol con la formación de un pigmento de quinona que se lee a 578 nm.

LDL-colesterol: La concentración de LDL-colesterol se calcula a partir de las concentraciones de colesterol total, HDL-colesterol y triglicéridos mediante la ecuación de Friedewald:

$$\text{LDL} = \text{Colesterol total} - (\text{Triglicéridos} / 5 + \text{HDL-Col}).^{131}$$

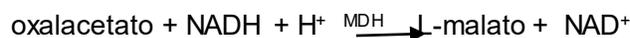
Ácido úrico: Estuche comercial para la determinación de ácido úrico. Método enzimático colorimétrico (Randox Laboratories Ltd, UK). El ácido úrico se convierte, catalizado por uricasa en alantoína y peróxido de hidrógeno, el cual a su vez

reacciona con el reactivo de color para producir un compuesto de quinoneimina rojo violeta que se lee a 520 nm. Las muestras y el patrón se mezclan e incuban con el reactivo de color durante 15 min a 25°C y se mide la absorbencia frente a reactivo blanco.

Albúmina: Se empleó el método de verde de bromocresol en el que la albúmina del suero se une cuantitativamente con el indicador 5,5-dibromo-o-cresol sulfoftaleina (verde de bromocresol BCP). El complejo albúmina-BCP presenta una absorción máxima a 600 nm. Se siguió el procedimiento sugerido por la casa comercial de acuerdo al estuche de Randox Laboratories, Albúmina AB388A.

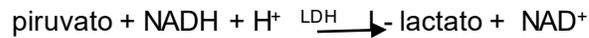
Bilirrubina tota y bilirrubina directa (conjugada): La bilirrubina sérica se convierte en azobilirrubina mediante la reacción con ácido sulfanílico diazotado, la cual puede medirse espectrofotométricamente. De las dos fracciones presentes en suero, solo la bilirrubina directa (bilirrubin-glucurónico) reacciona en medio acuoso y la bilirrubina indirecta (bilirrubina libre ligada a la albúmina) precisa la solubilización con dimetilsulfóxido (DMSO) para su reacción; el color formado en la reacción es proporcional a la concentración de la bilirrubina presente en la muestra. En la determinación de la bilirrubina indirecta también se determina la directa y el resultado corresponde a la bilirrubina total.

Aspartato amino transferasa (AST/TGO): Se realizó la cuantificación de AST en suero por medio de un método enzimático y medido en espectro UV, usando el estuche de reactivos de Randox laboratories (United Kingdom) Cat No. AS1202. Las aminotransferasas son un grupo de enzimas que catalizan las inter conversiones de aminoácidos y α -oxoácidos por medio de la transferencia de grupos amino. La AST inicialmente llamada transaminasa glutamato oxaloacética (TGO) cataliza la transferencia reversible de un grupo amino del aspartato al α -oxoglutarato con formación de glutamato y oxalacetato. El oxalacetato producido es reducido a malato en presencia de malato deshidrogenasa y NADH



Los niveles elevados de AST y ALT pueden ser una señal de infarto de miocardio, enfermedad hepática, distrofia muscular y daño de órganos.

Alanina amino transferasa (ALT/TGP): Se realizó la cuantificación de ALT en suero por medio de un método enzimático y medido en espectro UV, usando el estuche de reactivos de Randox laboratories (United Kingdom) Cat No. AL1200. Inicialmente llamada transaminasa glutámico pirúvica (TGP) cataliza la transferencia reversible de un grupo amino de la alanina al α -oxoglutarato con formación de glutamato y piruvato. El piruvato producido es reducido a lactato en presencia de lactato deshidrogenasa (LDH) y NADH:



Hemoglobina A_{1c}:

Determinación de la hemoglobina total: El método implica la conversión de todos los derivados de hemoglobina en hematina en una solución alcalina de un detergente no iónico. La reacción se inicia añadiendo la muestra previamente tratada al reactivo de hemoglobina total, resultando en una solución verde. La conversión de diferentes especies de hemoglobina en hematina alcalina con un espectro de absorción definido permite la medición punto final de la hemoglobina total a 600 nm.

Determinación de HbA_{1c}: Se basa en el análisis de inhibición del aglutinador de látex. El aglutinador es un polímero sintético que contiene copias múltiples de la parte inmunoreactiva de HbA_{1c}. Éste causa la aglutinación del látex cubierto con anticuerpos de HbA_{1c} específicos monoclonales.

Se siguió el procedimiento sugerido por la casa comercial de acuerdo al estuche Hemoglobina A_{1c} (HbA_{1c}) HA3830.

Albuminuria: La concentración de albúmina en orina se determinó por método turbidimétrico en el equipo Selectra Junior (Vital Scientific, Holanda), usando el estuche de reactivos de Randox laboratories (United Kingdom) Cat No. MA2426

La albúmina es una de las principales proteínas plasmáticas y puede estar en concentraciones muy bajas en la orina. El daño a la membrana basal glomerular puede alterar su permeabilidad, lo que significa que la albúmina y otras proteínas generalmente reabsorbidas y recirculadas en la sangre ingresan a la orina. Las elevaciones sostenidas de las concentraciones de albúmina urinaria se denominan microalbuminuria, la cual está asociada con un control glucémico deficiente, hipertensión y otras complicaciones diabéticas, incluida la cardiopatía isquémica, la retinopatía diabética y la neuropatía. La microalbuminuria es un predictor de enfermedad renal progresiva.

VIII.3. 9 Determinación de marcadores biológicos de estrés oxidativo

Lipoperoxidación plasmática

La lipoperoxidación lipídica se cuantificó por el método del ácido tiobarbitúrico (TBA). La prueba del TBA es el ensayo más usado para la medición de la lipoperoxidación. Durante la prueba, la muestra se trató con TBA a pH bajo; en la reacción del TBA, una molécula de 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)¹³². Se recolectó sangre total en tubos con anticoagulante heparina, se centrifuga inmediatamente la sangre 10 minutos a 2,100 x g para obtener el plasma, al cual se le adicionaron 10 µL de butiril-hidroxitolueno (BHT) 2mM por mL de sangre, para evitar la auto-oxidación de las muestras. Se colocaron 200 µL de plasma con 25 µL de BHT (12.6 mmol/L) y 200 µL de ácido ortofosfórico (0.2M) se agitó en vortex 10 seg. y posteriormente se adicionaron 25 µL de TBA (0.11 mol/L), se agitó en vortex por 10 segundos. 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 minutos para detener la reacción.

Posteriormente se adicionaron 500 µL de butanol (Sigma-Aldrich) en cada tubo y 50 µL de solución salina saturada de NaCl (Sigma), se agitó vigorosamente por 30 seg., se centrifugó a 4,200 x g 1 minuto, se pasó la fase de butanol a un pozo de una placa y se midió la absorbancia a 535 nm y 572 nm usando un espectrofotómetro Multiskan Go Microplate (Thermo Scientific ^{MR})

La concentración de TBA que reacciona se calculó 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:

Se prepararon las siguientes soluciones:

- 1.- TMP 1mM. - Diluir 17 µL 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 preparó cada vez que se usó.
- 3.- Se prepararon 8 tubos con diferentes concentraciones de TMP, como se describe a continuación:

Tubo	TMP (μL)	H ₂ O (mL)	MDA($\mu\text{mol/L}$)
1	0	400	0
2	10	390	0.4
3	20	380	0.8
4	40	360	1.6
5	60	340	2.4
6	100	300	4
7	140	260	5.6
8	200	200	8

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

Superóxido dismutasa (SOD)

Se empleó el equipo comercial Ransod (Randox Laboratorios Ltd, UK). La técnica se basa en la reacción entre la xantina y la xantina oxidasa para generar radicales O_2^- , los cuales reaccionan con sales de p-iodonitrotetrazolio (INT) para producir el colorante rojo formazán. La SOD presente en las muestras compite con el INT por los radicales superóxido y por tanto inhibe la producción del colorante formazán. La SOD se mide por el grado de inhibición de la formación del colorante formazán, a 505 nm.

Procedimiento: Se tomaron 500 μL de sangre total y se lavaron los eritrocitos 3 veces con 3 mL de solución de NaCl al 0.9 % cada vez, centrifugando durante 10 min. A 2,000 x g en cada lavado. Al botón de eritrocitos lavados se adicionaron 2 mL de agua destilada fría, se mezclaron y se dejaron reposar durante 15 min a 4 °C. Del lisado se tomaron 100 μL y se diluyeron con 1.9 mL de tampón de fosfato 0.01 mmol/L pH 7.0.

Para el ensayo se pipetearon 6 μL de muestra diluida y se adicionaron 200 μL de sustrato mixto (xantina 0.05 mmol/L, I:N:T: 0.025 mmol/L, solución preparada siguiendo las instrucciones de fabricante), después de mezclar, se agregaron 30 μL de xantin oxidasa (0.94 mmol/L preparada siguiendo las instrucciones del fabricante). Se mezcló y se registró la absorbencia A1 al cabo de 30 seg. y se empezó a cronometrar el tiempo simultáneamente para leer la absorbencia final A2 al cabo de 3 min frente al blanco de agua a una longitud de onda de 505 nm. Para

la lectura se usó un espectrofotómetro Multiskan Go Microplate (Thermo Scientific MR).

Con los datos se calculó: $\Delta = \frac{A_2 - A_1}{3}$

Para el blanco, se siguieron estos pasos utilizando como muestra 6 μ L de amortiguador de fosfatos, el blanco se hizo por duplicado y se calculó el promedio de las deltas/minuto

Para determinar el porcentaje de inhibición se realiza el siguiente calculo:

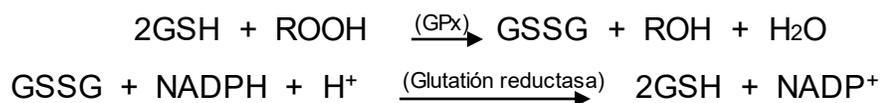
$$\%_{inhibición} = 100 - \left(\frac{\frac{\Delta_{muestra}}{min} * 100}{\frac{\Delta_{blanco}}{min}} \right)$$

Para obtener la actividad de la SOD en U/mL se extrapolaron los porcentajes de inhibición en la siguiente ecuación de la recta de calibración:

$$\text{Actividad de la enzima} = [1.21 + (0.01 \times \% \text{ inhibición})] \times 100$$

Glutación peroxidasa (GPx)

Fundamento: La cuantificación de esta enzima se basa en el método desarrollado por Paglia y Valentine con base en la siguiente reacción¹³³:



GSH = Glutación

ROOH = hidroperóxido

GPx = Glutación peroxidasa GSSG = glutación disulfuro

La actividad de GPx se evaluó por la disminución en absorción a 340 nm, debida a la oxidación de NADPH a NADP⁺.

Se empleó el estuche comercial Ransel (Randox Laboratorios Ltd, UK).

Procedimiento: Se colocaron 0.05 mL de sangre entera heparinizada en 1 mL de solución diluyente (proporcionada por Randox), se incubaron por 5 min. Después se añadió 1 mL de reactivo de Drabkin a doble concentración. Las muestras se analizaron en los siguientes 20 min.

Para el ensayo, se colocaron 0.02 mL de muestra diluida, 1 mL de reactivo de trabajo (glutación 4 mmol/L, glutación reductasa ≥ 0.5 U/L y NADPH 0.34 mmol/L) y 0.04 mL de cumeno (hidroperóxido de cumeno 0.18 mmol/L). Se mezcló y se leyó la absorbencia inicial al cabo de 1 min. y se empezó a cronometrar simultáneamente para leer de nuevo después de 1 y 2 min. La cinética de esta reacción se leyó a 340 nm en un espectrofotómetro marca Multiskan Go Microplate (Thermo Scientific MR).

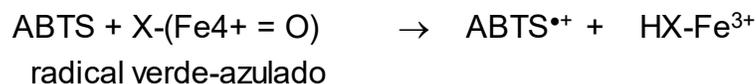
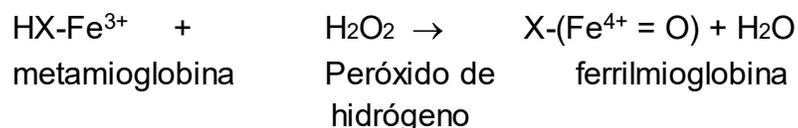
Cálculo de la razón SOD/GPx

La relación SOD/GPx es un indicador del funcionamiento del sistema enzimático, ofrece una estimación del desequilibrio entre las enzimas, el cual tiende a generar un aumento de radicales libres que no puede ser cubierto por el segundo.¹³⁴

Capacidad antioxidante plasmática total (AT)

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 sulfonato) para dar como resultado la formación del radical catión ABTS^{•+}. Este radical presenta una coloración verde-azulada, la presencia de antioxidantes en la muestra produce una supresión de esta coloración siendo ésta proporcional a la concentración de antioxidantes. La cinética de la reacción se mide a 600 nm.



Procedimiento: Se tomaron con una pipeta 5 μL de plasma heparinizado y se adicionaron 250 μL de cromógeno, después de mezclar se prosiguió a la lectura de la absorbencia inicial A1, después de esto se adicionaron 50 μL de sustrato, se empezó a cronometrar para leer la absorbencia A2 al cabo de exactamente 3 min. las lecturas se realizaron a 600 nm. El espectrofotómetro usado fue Multiskan Go Microplate (Thermo Scientific ^{MR}).

Cálculo de la capacidad antioxidante residual (GAP)

Se calculó a partir de la AT en $\mu\text{mol/L}$, las concentraciones de albúmina y ácido úrico en las mismas unidades y los valores de AT en equivalente en Trolox (TEAC) para albúmina y ácido úrico, con base en la siguiente fórmula:¹³⁵

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

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

Cálculo del nivel de estrés oxidativo

Para determinar la existencia de alteraciones en los parámetros y determinar la existencia de EOx se manejan como valores de corte los siguientes, obtenidos de una población de adultos jóvenes de Actopan, Hidalgo.¹³⁴

Lipoperóxidos $\mu\text{mol/L}$	≥ 0.34
SOD (U/L)	≤ 170
GPx (U/L)	≤ 5500
SOD/GPx	≥ 0.023
CAT mmol/L	≤ 0.90
GAP $\mu\text{mol/L}$	≤ 190

Para determinar si los sujetos presentan EOx, se ha obtenido un índice, el cual se calculó al dicotomizar cada uno de los parámetros determinados, dando el valor de 1 cuando las concentraciones estaban 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 tiene un índice igual a 6 y EOx grave.

Para evaluar grados de EOx se aplicó el índice de estrés oxidativo (IEOx):

Índice: 0 Sin EOx

Índice: 1-2 EOx leve

Índice: 3-4 EOx moderado

Índice: 5-6 EOx grave

Y finalmente se dicotomizó el índice para clasificar a los sujetos sin estrés o con estrés, sin estrés cuando el índice está entre cero y dos y con estrés con valores de tres en adelante.

Para determinar la existencia de alteraciones en los parámetros y la presencia de EOx se manejaron como valores de corte los valores obtenidos de una población de adultos jóvenes de Actopan, Hidalgo:

Lipoperóxidos ($\mu\text{mol/L}$)	≥ 0.340
SOD (U/L)	≤ 170
GPx (U/L)	≤ 5500
SOD/GPx	≥ 0.023
CAT (mmol/L)	≤ 0.90
GAP ($\mu\text{mol/L}$)	≤ 190

VIII.3.10 Medición de la concentración de 8-Isoprostanos

Las mediciones se realizaron con la técnica de enzimoimmunoanálisis (EIA) competitivo utilizando el estuche: 8-Isoprostane EIA. Ítem No. 516351 de Cayman Chemical Company (Ann Arbor, Michigan, EUA). La técnica se basa en la competencia entre el 8-isoprostano libre y el 8-isoprostano-acetilcolinesterasa (AChE) conjugado (8-isoprostano trazador) para un número limitado de sitios de unión del antisuero de conejo específico para 8-isoprostanos. La concentración del trazador 8-isoprostano es constante mientras que la concentración del 8-isoprostano libre varía. Este antisuero complejo de conejo 8-isoprostano (ya sea libre o trazador) se une al anticuerpo monoclonal del conejo IgG ratón que ha sido unido al pozo de la placa, luego, la placa es lavada para quitar los reactivos sin unir y después se agregan un sustrato de AChE al pozo en donde se observa el desarrollo de un color amarillo como producto de la reacción enzimática, el cual se leyó a 410 nm en el espectrofotómetro Multiskan Go Microplate (Thermo Scientific^{MR}), la intensidad del color fue proporcional a la cantidad de 8-isoprostanos libres presentes en el pozo. Los valores fueron expresados como pg/ μ L.

VIII.3.11 Medición del daño al ADN

Análisis de fragmentación del ADN

Se realizó usando el ensayo TUNEL.

Obtención de leucocitos: Los tubos en donde se extrajeron las muestras sanguíneas y que contenían sangre total, se homogeneizaron y se realizó un lavado con PBS, se centrifugaron a 300 x g por 5 minutos; estos pasos se repitieron 2 veces. Con la muestra de sangre, se recolectaron los leucocitos mediante técnica de gradiente de densidad usando Histopaque (Ficoll, SIGMA), con la ayuda de una centrifuga a 300 x g por 5 minutos y se repitieron los pasos para el lavado, luego se criopreservaron las muestras (-70°C) hasta su análisis usando la técnica de TUNEL.

Procedimiento: Los leucocitos fueron descongelados para su evaluación con el estuche APO-BRDU (BD Pharmingen), las células fueron fijadas con paraformaldehído al 1% en PBS con pH 7.4, luego se realizaron lavados con amortiguador de fosfatos (PBS) y centrifugados a 300 x g x 5 minutos, se desechó el sobrenadante, posteriormente se permeabilizó la membrana célula con etanol al 70% el cual se dejó actuar por 30 minutos, para después lavar. Se aplicó la enzima desoxinucleotidil transferasa (Tdt) con el marcador de trifosfato de Bromodesoxiuridina bromolado (Br-dUTP), el cual se dejó durante 12 horas con

agitación constante y en oscuridad, posteriormente se colocó el anticuerpo anti-BrdU y el fluorocromo FITC, luego las muestras fueron analizadas en un citómetro de flujo FACS Aria-II (Becton Dickinson).

Determinación de 8-hydroxi-2'-deoxiguanosina (8-OHdG)

La medición de 8-OHdG se llevó a cabo con un estuche de ELISA (Wuhan Fine Biotech Co., Ltd), el cual se basa en la detección por medio de una Elisa competitiva en que el anticuerpo monoclonal 8-OHdG reacciona competitivamente con el 8-OHdG unido a la placa y la 8-OHdG de las muestras de suero. La adición de la solución de sustrato da como resultado el desarrollo de color en proporción a la cantidad de anticuerpo anti-8-OHdG unido a la placa. La reacción se terminó con ácido sulfúrico y se midió la absorbencia a 450 nm. La concentración de 8-OHdG se calcula a partir de la curva estándar.

Curva estándar: Se agregó 1 mL de amortiguador de dilución en el vial del estándar liofilizado (etiquetado como tubo cero), se mezcló suavemente y se dejó reposar por 10 minutos. Se etiquetaron 7 tubos eppendorf de la siguiente manera: $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{8}$, $\frac{1}{16}$, $\frac{1}{32}$, $\frac{1}{64}$ y blanco, a los cuales se agregaron 0.3 mL de amortiguador de dilución, luego al primer tubo (marcado como $\frac{1}{2}$) se le agregó 0.3 mL de la solución del estándar contenido en el tubo cero y se mezcló bien, de este tubo se transfirieron 0.3 mL al tubo siguiente (marcado como $\frac{1}{4}$) y se mezcló bien y así sucesivamente hasta llegar a la última dilución ($\frac{1}{64}$). El amortiguador de dilución fue usado como blanco

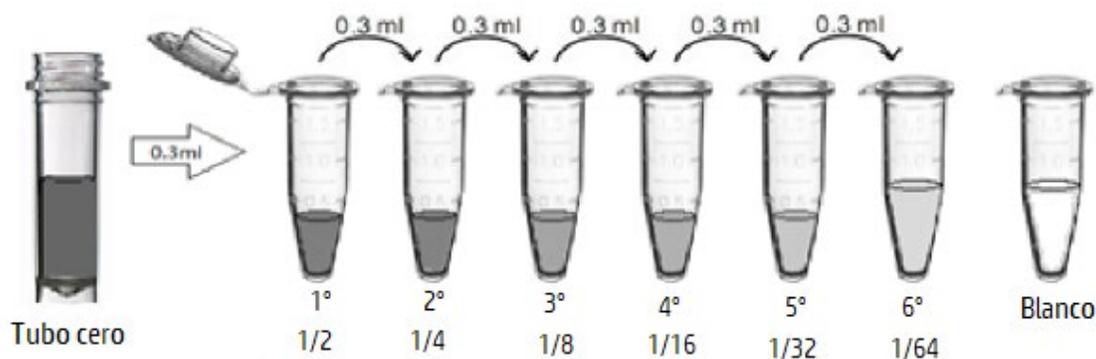


Figura VIII.3.11.2.1 Preparación de diluciones, a partir de la solución estándar, para determinación de 8-OHdG

Preparación de la solución de trabajo de anticuerpos marcados con biotina y el conjugado HRP-estreptavidina (SABC):

Se agregaron 70 μL de agua purificada al vial que contenía anticuerpos marcados con biotina, se mezcló perfectamente y luego se realizó una dilución 1:100 con el amortiguador de dilución tomando en cuenta que cada pozo requiere de 50 μL de ésta solución de trabajo. Se mezcló el SABC con amortiguador de dilución para SABC en una relación 1:100 y se calculó el volumen requerido tomando en cuenta que cada pozo requirió 0.1 mL de ésta solución de trabajo.

Ensayo: Antes de agregar los estándares, las muestras (plasma con EDTA) y el control (blanco) a la placa provista por el estuche, se lavó 2 veces la placa con 350 μL de amortiguador de lavado en cada pozo, el cual se dejó de 1 a 2 minutos y luego se desechó el amortiguador por inversión de la placa. Luego de los lavados, se agregaron 50 μL de estándares, muestras y control en los pozos asignados para cada uno, inmediatamente se agregaron 50 μL de solución de trabajo de anticuerpos marcados con biotina, mezclando suavemente e incubando por 45 minutos a 37°C. Se lavó cada pozo de la placa 3 veces con amortiguador de lavado, dejándolo actuar por 1 minuto y luego decantando el sobrenadante. Posteriormente, se agregaron 100 μL de solución de trabajo SABC en cada pozo y se incubó por 30 minutos a 37°C, luego de ésta segunda incubación se realizaron 5 lavados a cada pozo como ya se describió anteriormente. Se agregaron 90 μL de sustrato TMB a cada pozo, cubriendo la placa e incubando en obscuridad por 20 minutos a 37°C (hasta el cambio del color en los pozos), una vez que eso ocurrió se paró la reacción con 50 μL de solución de paro en cada pozo e inmediatamente se leyó en un espectrofotómetro Multiskan Go Microplate (Thermo Scientific™) a 450 nm. Los cálculos se realizaron interpolando los resultados con la curva estándar.

VIII.3.12 Medición de marcadores biológicos de inflamación

Proteína C reactiva (PCR):

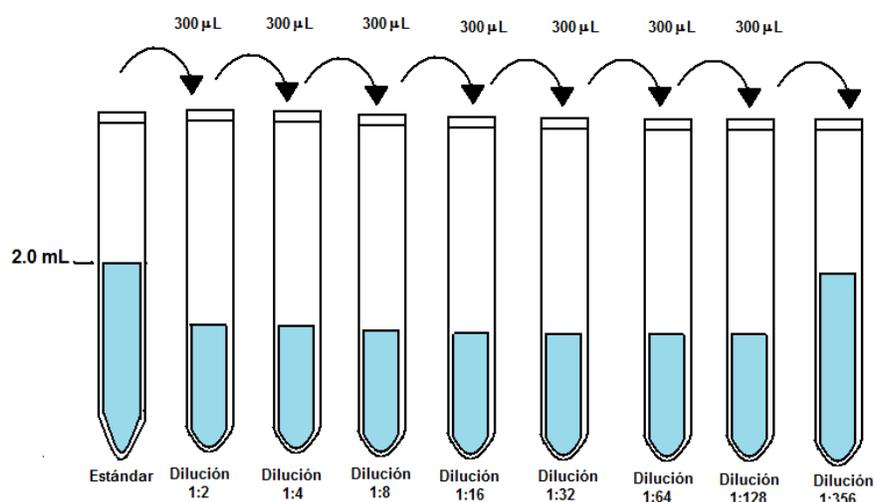
Se usó el estuche comercial de Spin react CRP-Turbilatex 1107101L, para PCR de alto rango, cuya determinación es turbidimétrica. La muestra reacciona con un anticuerpo contra PCR unido a partículas de látex. La determinación se basa en la formación del complejo antígeno-anticuerpo la cual resulta en un incremento de la turbidez el cual es medido como la cantidad de luz absorbida a 540 nm. Por construcción de una recta con la absorbencia de las soluciones estándar, la concentración de la PCR en las muestras puede ser calculada. La determinación se llevó a cabo en el equipo automatizado Selectra Junior (Vital Scientific, Holanda) utilizando suero como muestra.

Se consideraron como valores elevados de PCR ≥ 0.6 mg/dL.

Cuantificación de citocinas

La concentración de citocinas proinflamatorias (IL-1 β , IL-6, IL-8 y TNF α) y antiinflamatoria (IL-10) se midieron utilizando el estuche y la técnica de Cytometric Bead Array (CBA) Human Inflammatory Cytokines estuche de BD. Las cuantificaciones se realizaron por el método de citometría de flujo usando el citómetro BD Accuri™ C6 Plus para la medición y el programa FCAP Array™ v3.0 (FCAP Array, Becton, Dickinson and Company) para la conversión a pg/mL. Se realizaron los siguientes pasos para su evaluación:

1. Preparación de los estándares. Se realizaron diluciones seriadas en el siguiente orden 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, 1:128 y 1:256. En el tubo inicial se colocaron 2 mL de solución madre, luego se transfirieron 300 μ L de dicha solución a los siguientes tubos, como se muestra en la siguiente figura.



2. Preparación de la mezcla de perlas: Se colocaron en un tubo 5 μ L de solución de cada perla de captura (IL-6, IL-8, IL-10 y TNF α) para tener una solución de todas ellas, luego se mezclaron suavemente.

Nota: Para realizar la curva estándar, se tomó de cada tubo de dilución 25 μ L y se colocó en un tubo eppendorf, siguiendo el mismo tratamiento que para las muestras.

3. Preparación de las muestras. En un tubo eppendorf se colocaron 25 μ L de suero desconocido y se adicionaron 25 μ L de la mezcla de perlas a cada una de las muestras, se mezclaron suavemente. Se incubó el suero y las perlas durante 1.5 horas a temperatura ambiente y protegidas de la luz.

4. Al término de la incubación se realizó un primer lavado adicionando 500 μ L de amortiguador de lavado a cada tubo eppendorf y se centrifugó a 200 x g durante 5 minutos. Se aspiró cuidadosamente el sobrenadante de cada tubo y se desechó, dejando aproximadamente 50 μ L de líquido en cada tubo.
5. Se adicionó 25 μ L de Human Inflammatory Cytokine PE Detection Reagent (fluorocromo) a cada tubo de ensayo, se mezcló la solución suavemente hasta resuspender el botón formado. Luego se llevó a cabo una segunda incubación de las muestras con el fluorocromo durante 1.5 horas a temperatura ambiente y protegidas de la luz.
6. Una vez transcurrida ésta segunda incubación, se realizó un segundo lavado colocando 500 μ L de amortiguador de lavado en cada tubo de ensayo, mezclando suavemente y centrifugando a 200 x g durante 5 minutos.
7. Se aspiró cuidadosamente el sobrenadante de cada tubo y se desechó. Se agregaron 150 μ L de amortiguador de lavado a cada tubo de ensayo hasta resuspender el botón.
8. El contenido de cada tubo se transvasó a un tubo de mayor capacidad y se llevaron al citómetro de flujo para su análisis y adquisición de datos.
9. El análisis de datos se realizó mediante el uso de FCAP Array software para convertir los eventos en concentraciones de pg/mL.

VIII.3.13. Identificación de metabolitos secundarios por Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (HPLC)

Para la extracción, se inició tomando el contenido de una cápsula (500 mg de polvo seco), al cual se le agregó 1 mL de metanol grado HPLC (Sigma Aldrich, USA). Se homogeneizó la muestra en un tubo de ensayo, agitando en vortex durante 1 minuto y se dejó reposar durante 14 días, luego se recuperó el sobrenadante, siendo filtrado con una membrana de 0.45 μ m (Milipore, Irlanda). Todo el sobrenadante filtrado se colocó en un vial para HPLC, Este procedimiento se realizó por duplicado.

Las cucurbitacinas fueron analizadas en una columna Symmetry Shield C18 (4.6 x 250mm) (Waters, España), por análisis isocrático, en disolventes agua: metanol: acetonitrilo (50:30:20); con flujo de 1 ml min⁻¹; temperatura 25°C; volumen de

inyección 40 µL; la detección se hizo a 235 nm y tiempo de análisis 60 minutos (se muestra en cuadro). Se tomaron como estándares de referencia cucurbitacina E, I, B y D (Sigma-Aldrich, USA).⁹⁶

Tiempo de retención y longitud de onda para los estándares de Cucurbitacinas

Compuesto	λ 235nm	Tiempo de retención (min)
Cucurbitacina B		38.83
Cucurbitacina D		15.69
Cucurbitacina E		52.87
Cucurbitacina I		19.79

Para la detección tanto de ácidos fenólicos como de flavonoides, se utilizó un cromatógrafo de líquidos marca Agilent modelo 1100, equipado con un inyector automático modelo 1200 y un detector de arreglo de diodos modelo 1100. Se usó una columna Hypersyl ODS (125 × 40 mm) Hewlett Packard. Como fase móvil: a) agua pH 2.5 con ácido trifluoroacético y b) acetonitrilo. El análisis fue por gradiente: 15 a 35% B de 0.1 a min, 35% B de 20 a 25 min. La velocidad de flujo fue de 1 mL·mín⁻¹, temperatura 30°C, con flujo volumen de inyección: 15–20 µL; el detecto se ajustó a: λ₁ 254 nm, λ₂ 280 nm, λ₃ 330 nm, λ₄ 365 nm a diferentes tiempos de retención y tiempo de análisis 25 min.

Tiempo de retención y longitud de onda para los estándares de ácidos fenólicos

Compuesto	Tiempo de retención (minutos)
λ 254 nm	
Ácido protocatecuico	2.09
Ácido p-hidroxibenzoico	2.56
Ácido vainílico o caféico	3.39
Ácido b-resorcílico	4.26
Ácido 3,5-di-hidroxibenzoico	11.27
λ 280 nm	
Ácido gálico	1.55
Ácido siríngico	3.00
Ácido p-cumárico	5.29
λ 330 nm	
Ácido clorogénico	3.70
Ácido sináptico	5.96
Ácido ferúlico	6.10
Ácido rosmárico	9.27

Tiempo de retención y longitud de onda para los estándares de flavonoides

Compuesto	Tiempo de retención (minutos)
λ 254 nm	
Rutina	2.09
Morina	2.56
Quercetina	3.39
λ 280 nm	
Catequina	2.43
Hesperidina	8.25
Floridtzina	9.06
Naringenina	15.8
Floretina	16.2
λ 330 nm	
Apigenina	17.1
λ 365 nm	
Miricetina	9.1
Kaempferol	17.5
Isorhamnetina	18.2

Se programó el detector para obtener los espectros de absorción de cada uno de los componentes de las muestras analizadas y poderlos comparar con los espectros de los estándares. Dependiendo de los máximos de absorción se crearon las curvas de calibración en las cuatro distintas longitudes de onda programadas. Los estándares de referencia usados fueron de la marca Sigma-Aldrich, U.

Los estándares de flavonoides fueron rutina, quercetina, florizidina, miricetina, naringenina, fletina y apigenina. Finalmente, los resultados determinaron la concentración de los compuestos en base al volumen de inyección y microgramos detectados. La fracción de terpenos se tomó como concentración de referencia de $2 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, siendo $40 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ para los flavonoides.

VIII.4 Análisis estadístico

Para realizar el análisis de los datos se empleó el paquete estadístico SPSS versión 15.0. Para las variables cuantitativas se calcularon el promedio y desviación estándar (DE) como medidas descriptivas y para las variables cualitativas se obtuvieron frecuencias y porcentajes.

Para la comparación entre grupos se realizó el análisis de varianza de medidas repetidas (ANOVA de Medidas Repetidas) con un 95% de confianza.

Se obtuvieron las proporciones de la presencia del Smet en los participantes así como del número de criterios para Smet que tuvieron los grupos de estudio antes, durante y después de la intervención, los cuales se compararon usando la prueba χ^2 .

Para todas las pruebas se consideró un valor de $p < 0.05$ como significancia estadística y una tendencia cuando $p < 0.20$.

IX. RESULTADOS

Al inicio del estudio, se realizó el análisis fitoquímico del contenido de metabolitos presentes en las cápsulas de 500 mg de fruto seco de *Sechium edule*, que consumieron los participantes en el grupo experimental. En éste sentido, se encontraron componentes de flavonoides, ácidos fenólicos y cucurbitacinas (Cuadro IX.1)

Cuadro IX.1. Contenido de metabolitos secundarios presentes en el fruto seco de *Sechium edule* grupo varietal *nigrum spinosum*. *

Nombre del Metabolito	Concentración (µg)	Desviación estándar
Flavonoides		
Rutina	45.49	12.44
Quercetina	1.30	0.176
Apigenina	0.014	0.007
Miricetina	2.38	0.129
Florizina	14.26	2.28
Naringenina	48.85	7.046
Acidos fenólicos		
Ácido siríngico	8.7	0.034
Ácido protocatecuico	3.3	1.56
Ácido caféico	9.27	0.066
Ácido p-hidroxibenzoico	0.115	0.019
Ácido gálico	38.83	1.37
Ácido p-cumárico	1.69	0.23
Ácido clorogénico	1.39	0.30
Ácido ferúlico	7.03	0.37
Cucurbitacinas		
Cucurbitacina D	6.11	0.63
Cucurbitacina B	89.94	18.15
Cucurbitacina E	154.8	3.3
Cucurbitacina I	0.71	0.26

* Análisis por duplicado independiente en HPLC.

En el cuadro IX.2 se presentan los parámetros clínicos y antropométricos de los grupos de estudio (GE y GP) antes del tratamiento, a los 3 y 6 meses después del consumo del tratamiento. El GE presentó una disminución del peso corporal con una significancia estadística limítrofe a los 6 meses (basal, 74.0 ± 11.0 vs. post. 72.0 ± 11.2, p=0.05). Igualmente se observó una disminución estadísticamente limítrofe en la PAS a los tres meses (basal, 128.9±10.8 vs. post. 125.4±10.2, p=0.05) y 6 meses (basal, 128.9±10.8 vs. post. 121.6±10.5) y en la PAD, a los 3 meses (basal, 84.1 ± 8.7 vs. post. 78.2 ± 7.9, p=0.05) y a los 6 meses (basal, 84.1±8.7 vs. post. 78.6±8.5 p<0.05) en el GE.

Cuadro IX.2. Efecto de *S. edule* sobre parámetros clínicos y antropométricos

Parámetro	Grupo placebo n=40	Grupo experimental n=41	Valor de p
Edad (años)	70.7± 7.5	67.2± 7.2	0.26
Peso (Kg)			
Basal	78.3 ± 16.4	74.0 ± 11.0	
3 meses	77.4 ±15.9	72.6 ± 10.8	0.06
6 meses	77.6 ± 13.0	72.0 ± 11.2	0.05*
Kg de MG			
Basal	39.2 ± 10.6	35.3 ± 8.0	
3 meses	37.6 ± 10.8	34.6 ± 7.9	0.22
6 mese	38.6 ± 11.1	34.0 ± 7.9	0.05*
Kg de MLG			
Basal	39.7 ± 9.8	38.8 ± 7.8	
3 meses	40.1 ± 8.9	38.2 ±8.6	0.81
6 meses	39.9 ± 9.1	38.2 ± 7.9	0.41
% de MG			
Basal	48.7 ± 6.7	47.7 ± 7.5	
3 meses	47.2 ± 6.9	47.5 ± 8.0	0.53
6 meses	48.0 ± 6.8	47.0 ± 7.5	0.85
% de MLG			
Basal	51.2 ± 6.7	52.3 ± 7.3	
3 meses	52.8 ± 6.9	52.5 ± 7.8	0.53
6 mese	52 ± 6.8	53 ± 7.1	0.85
MME (kg)			
Basal	21.2 ± 6.7	19.5 ± 4.7	
3 meses	21.0 ± 6.8	19.3 ± 4.9	0.52
6 meses	20.9 ± 6.7	19.2 ± 4.5	0.22
IMME			
Basal	8.37 ± 1.7	8.27 ± 1.4	
3 meses	8.30 ± 1.6	8.20 ± 1.6	0.35
6 meses	8.24 ± 1.6	8.20 ± 1.6	0.42
Circunferencia cintura			
Basal	104.2 ± 14.9	104.0 ± 11.8	
3 meses	102.9 ± 13.9	104.9 ± 13.6	0.26
6 meses	101.7 ± 14.0	102.9 ± 10.2	0.18
PAS			
Basal	138.8 ± 10.5	128.9 ± 10.8	
3 meses	132.9 ± 12.7	125.4 ± 10.2	0.05*
6 meses	136.0 ± 12.4	121.6 ± 10.5	0.05*
PAD			
Basal	89.5 ± 7.3	84.1 ± 8.7	
3 meses	86.8 ± 7.2	78.2 ± 7.9	0.05*
6 meses	86.9 ± 7.5	78.6 ± 8.5	0.04*

Promedio ± desviación estándar, prueba de ANOVA de medidas repetidas, significancia al 95%. Se muestran p basal vs. 3 meses y basal vs. 6 meses inter grupo. Kg: Kilogramo. MME: masa muscular esquelética. IMME: Índice de masa muscular esquelética. PAS: presión arterial sistólica. PAD: presión arterial diastólica. MG: masa grasa. MLG: masa libre de grasa

Respecto a los parámetros bioquímicos, el GE mostró un aumento estadísticamente significativo en la concentración de colesterol en las lipoproteínas de alta densidad (HDL-Col) a los 3 meses (basal, 42.6 ± 10.1 vs. post. 46.0 ± 9.2 , $p=0.05$) y seis meses (basal, 42.6 ± 10.1 vs. post. 47.4 ± 10.7 $p<0.05$) y 6 meses ($p<0.05$) después del tratamiento. Asimismo, se encontró una disminución en la concentración de HbA1c con una significancia estadística limítrofe a los seis meses (basal, 6.3 ± 1.2 vs. post. 5.9 ± 0.8 , $p=0.05$) en el GE (Cuadro IX.3). ($p=0.05$) a los 6 meses en el GE (Cuadro IX.3).

Cuadro IX.3. Parámetros bioquímicos pre y post-tratamiento por grupo de estudio

Parámetro	Grupo placebo n = 40	Grupo experimental n = 41	Valor de p
Glucosa (mg/dL)			
Basal	113 ± 43	113 ± 37	
3 meses	123 ± 43	105 ± 29	0.20
6 meses	118 ± 40	103 ± 28	0.14
Colesterol Total (mg/dL)			
Basal	188 ± 39	203 ± 50	
3 meses	194 ± 53	206 ± 43	0.46
6 meses	183 ± 44	213 ± 41	0.52
Triglicéridos (mg/dL)			
Basal	179 ± 66	178 ± 75	
3 meses	169 ± 60	168 ± 58	0.19
6 meses	172 ± 67	161 ± 70	0.09
HDL-col. (mg/dL)			
Basal	40.3 ± 10.3	42.6 ± 10.1	
3 meses	41.5 ± 8.0	46.0 ± 9.2	0.05*
6 meses	40.6 ± 10.4	47.4 ± 10.7	0.04*
Ácido úrico (mg/dL)			
Basal	4.9 ± 1.2	5.0 ± 1.2	
3 meses	5.0 ± 1.3	4.8 ± 1.6	0.08
6 meses	4.8 ± 1.2	5.0 ± 1.3	0.10
HbA1c (%)			
Basal	6.8 ± 1.9	6.3 ± 1.2	
3 meses	6.5 ± 1.8	5.6 ± 1.2	0.19
6 meses	6.7 ± 1.9	5.9 ± 0.8	0.05*

Promedio ± desviación estándar, Prueba de ANOVA de medidas repetidas, significancia al 95%. Se muestran p basal vs. 3 meses y basal vs. 6 meses inter grupo. HDL- col.: HDL-colesterol. HbA1c: hemoglobina glicosilada.

También se realizaron mediciones sobre marcadores del funcionamiento renal (cuadro IX.4) y se observó una disminución significativa en la concentración sérica de urea (basal, 33.6 ± 11.1 vs. post. 31.1 ± 8.7 , $p=0.05$), creatinina (basal, 0.84 ± 0.14 vs. post. 0.73 ± 0.23 , $p<0.05$) y albúmina en orina (basal, 9.7 ± 4.7 vs. post. 6.7 ± 4.6 , $p<0.05$) después de tres meses de tratamiento.

Cuadro IX.4 Efecto de *S. edule* sobre parámetros de función renal

Parámetro	Grupo placebo n = (40)	Grupo experimental n = (41)	Valor de p
Urea (mg/dL)			
Basal	36.6 ± 12.4	33.6 ± 11.1	
3 meses	36.7 ± 14.5	31.1 ± 8.7	0.05*
6 meses	35.5 ± 10.5	34.5 ± 10.1	0.23
Creatinina (mg/dL)			
Basal	0.85 ± 0.19	0.84 ± 0.14	
3 meses	0.88 ± 0.20	0.73 ± 0.23	0.013*
6 meses	0.89 ± 0.15	0.80 ± 0.12	0.14
Albumina (mg/dL)			
Basal	4.45 ± 0.24	4.46 ± 0.29	
3 meses	4.56 ± 0.28	4.37 ± 0.31	0.47
6 meses	4.51 ± 0.23	4.37 ± 0.28	0.26
Micro albúmina (mg/L)			
Basal	13.9 ± 10.7	9.7 ± 4.7	
3 meses	13.6 ± 10.7	6.7 ± 4.6	0.035*
6 meses	13.6 ± 11.0	9.9 ± 6.6	0.17

Promedio \pm desviación estándar, Prueba de ANOVA de medidas repetidas, significancia al 95%. Se muestran p basal vs 3 meses y basal vs 6 meses inter grupo.

Se midieron también marcadores de funcionamiento hepático, permaneciendo sin cambio en ambos grupos de estudio después del tratamiento (cuadro IX.5).

Cuadro IX.5 Efecto de *S. edule* sobre parámetros de función hepática

Parámetro	Grupo placebo n = (40)	Grupo experimental n = (41)	Valor de p
TGO (U/L)			
Basal	27.5 ± 8.9	26.4 ± 8.9	
3 meses	26.2 ± 8.3	26.8 ± 9.5	0.43
6 meses	25.2 ± 8.3	26.8 ± 8.8	0.44
TGP (U/L)			
Basal	27.6 ± 10.8	30.5 ± 17.5	
3 meses	22.1 ± 10.6	30.2 ± 21.8	0.22
6 meses	27.5 ± 10.8	27.7 ± 19.3	0.33
Bilirrubina Total (mg/dL)			
Basal	0.67 ± 0.37	0.60 ± 0.24	
3 meses	0.57 ± 0.26	0.62 ± 0.22	0.49
6 meses	0.54 ± 0.22	0.57 ± 0.21	0.55
Bilirrubina Dir. (mg/dL)			
Basal	0.21 ± 0.14	0.22 ± 0.12	
3 meses	0.17 ± 0.11	0.21 ± 0.09	0.25
6 meses	0.15 ± 0.62	0.24 ± 0.10	0.11

Promedio ± desviación estándar, Prueba de ANOVA de medidas repetidas, significancia al 95%. Se muestran p basal vs 3 meses y basal vs 6 meses inter grupo. TGO: Transaminasa glutámico oxalacética. TGP: Transaminasa glutámico pirúvica. Dir: directa

Respecto a los marcadores de EOx, se observó una disminución estadísticamente significativa en la concentración de lipoperóxidos a los tres meses (basal, 0.30 ± 0.09 vs. post. 0.23 ± 0.08 , $p < 0.05$) y seis meses (basal, 0.30 ± 0.09 vs. 0.20 ± 0.03 , $p < 0.05$) en el GE. Igualmente se encontró un incremento significativo en la actividad y de la SOD a los tres meses (basal, 181 ± 5.4 vs. 184 ± 8.9 , $p < 0.05$) y seis meses (basal, 181 ± 5.4 vs. 183 ± 8.8 , $p < 0.05$). También se encontró un incremento en la concentración de AT a los tres meses (basal, 1.1 ± 0.17 vs. 1.2 ± 0.15 , $p < 0.05$) y seis meses (basal, 1.1 ± 0.17 vs. 1.3 ± 0.15 , $p < 0.05$), en congruencia con una disminución del IEOx en el GE a los seis meses (basal, 1.76 ± 0.9 vs. 1.45 ± 1.1 , $p < 0.05$) (Cuadro IX.6).

Asimismo, se observó una disminución en la concentración de 8-isoprostanos con una significancia estadística limítrofe (basal, 347.7 ± 20.0 vs. post. 239.3 ± 15.3 , $p = 0.05$) aunada a una disminución estadísticamente significativa de 8-OHdG (basal, 30 ± 2.1 vs. post. 20.5 ± 1.5 , $p < 0.01$) a los seis meses en el GE (basal, 30 ± 2.1 vs. post. 20.5 ± 1.5 , $p < 0.01$) (Cuadro IX.7).

Cuadro IX.6. Efecto de *S. edule* sobre marcadores de estrés oxidativo

Parámetro	Grupo placebo n = 40	Grupo experimental n = 41	Valor de p
Lipoperóxidos (µmol/L)			
Basal	0.22 ± 0.04	0.30 ± 0.09	
3 meses	0.21 ± 0.06	0.23 ± 0.08	0.013*
6 meses	0.21 ± 0.03	0.20 ± 0.03	0.011*
SOD (U/mL)			
Basal	170 ± 13.3	181 ± 5.4	
3 meses	181 ± 12.4	184 ± 8.9	0.01*
6 meses	162 ± 15.2	183 ± 8.8	0.03*
GPx (U/L)			
Basal	6896 ± 2235	5759 ± 1838	
3 meses	6097 ± 1318	7051 ± 2131	0.16
6 meses	4178 ± 1311	6997 ± 3839	0.09
AT (mmol/L)			
Basal	1.3 ± 0.23	1.1 ± 0.17	
3 meses	1.1 ± 0.21	1.2 ± 0.15	0.04*
6 meses	1.2 ± 0.15	1.3 ± 0.15	0.015*
SOD/GPx			
Basal	0.027 ± 0.009	0.032 ± 0.005	
3 meses	0.031 ± 0.007	0.031 ± 0.007	0.21
6 meses	0.031 ± 0.011	0.034 ± 0.007	0.64
GAP			
Basal	525 ± 171	356 ± 169	
3 meses	270 ± 194	306 ± 222	0.034*
6 meses	569 ± 213	461 ± 240	0.01*
Índice de estrés oxidativo			
Basal	1.68 ± 0.7	1.76 ± 0.9	
3 meses	1.80 ± 1.1	1.59 ± 1.3	0.06*
6 meses	2.36 ± 1.1	1.45 ± 1.1	0.01*

Promedio ± desviación estándar, Prueba de ANOVA de medidas repetidas, significancia al 95%. Se muestran p basal vs 3 meses y basal vs 6 meses inter grupo. SOD: Superóxido dismutasa; GPx: glutatión peroxidasa; AT: antioxidantes totales.

Cuadro IX.7. Efecto de *S. edule* sobre 8-Isoprostanos y 8-OHdG

Parámetro	Grupo placebo n=40	Grupo experimental n=41	Valor de p
8-isoprostanos (pg/ μ L)			
Basal	300.6 \pm 23.3	347.7 \pm 20.0	
3 meses	290.2 \pm 24.5	292.4 \pm 21.8	0.09
6 meses	318.2 \pm 18.7	239.3 \pm 15.3	0.05 *
8-OHdG (ng/mL)			
Basal	31.1 \pm 1.6	30 \pm 2.1	
3 meses	29.8 \pm 1.6	24 \pm 1.7	0.09
6 meses	31.5 \pm 1.4	20.5 \pm 1.5	0.001*

Promedio \pm desviación estándar, Prueba de ANOVA de medidas repetidas, significancia al 95%. 8-OHdG: 8-hidroxydeoxiguanosina.

Se analizó la fragmentación del ADN en los grupos de estudio durante la investigación y se observó que a los 3 meses de intervención disminuye la fragmentación del ADN en el grupo experimental, aunque la diferencia no fue estadísticamente significativa (basal, 51.5 \pm 18.4 vs. post. 28.7 \pm 24.8, p>0.05) (Figura IX.1).

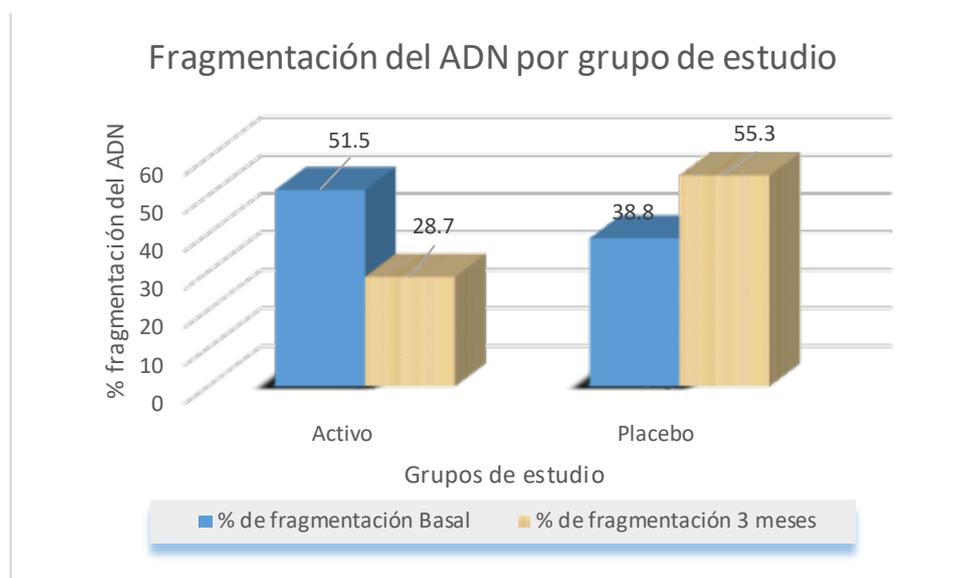


Figura IX.1 Efecto de *S. edule* sobre la fragmentación de ADN, basal y 3 meses de tratamiento (n=10 en cada grupo). El porcentaje de fragmentación del ADN en el GE mostró una disminución (basal 51.5 \pm 18.4 vs. post. 28.7 \pm 24.8). En contraste el GP se encontró un incremento (basal 38.8 \pm 28.2 vs. 55.2 \pm 12.5). Prueba ANOVA de medidas repetidas (p<0.05).

Los marcadores de inflamación crónica revelaron un aumento estadísticamente significativo en el GE en la concentración sanguínea de IL-10 a los seis meses (basal, 2.2 ± 0.5 vs. post. 4.1 ± 0.4 , $p < 0.05$) y limítrofe en IL-6 (basal, 6.4 ± 0.9 vs. 11.1 ± 0.6 , $p = 0.05$), los demás marcadores no mostraron cambios significativos (Cuadro IX.8).

Cuadro IX.8. Efecto de *S. edule* sobre marcadores de inflamación crónica

Parámetro	Grupo placebo n=40	Grupo experimental n=41	Valor de p
IL-12p70 (pg/dL)			
Pre intervención	4.3 ± 0.3	2.8 ± 0.3	
3 mes intervención	4.7 ± 0.4	4.1 ± 0.3	0.18
6 mes intervención	4.9 ± 0.3	4.1 ± 0.3	0.20
TNF- α (pg/dL)			
Pre intervención	4.7 ± 0.4	4.3 ± 0.4	
3 mes intervención	4.6 ± 0.3	4.4 ± 0.4	0.19
6 mes intervención	4.7 ± 0.3	4.6 ± 0.4	0.22
IL-10 (pg/dL)			
Pre intervención	3.5 ± 0.3	2.2 ± 0.5	
3 mes intervención	1.9 ± 0.2	3.8 ± 0.4	0.05*
6 mes intervención	2.9 ± 0.4	4.1 ± 0.4	0.04*
IL-6 (pg/dL)			
Pre intervención	8.6 ± 0.4	6.4 ± 0.9	
3 mes intervención	6.1 ± 0.4	7.7 ± 0.6	0.09
6 mes intervención	8.2 ± 0.4	11.1 ± 0.6	0.05*
IL-1 β (pg/dL)			
Pre intervención	9.9 ± 0.5	8.6 ± 0.4	
3 mes intervención	10.3 ± 0.3	9.6 ± 0.4	0.76
6 mes intervención	11.4 ± 0.3	10.2 ± 0.5	0.46
IL-8 (pg/dL)			
Pre intervención	14.2 ± 0.3	13.5 ± 0.4	
3 mes intervención	18.1 ± 0.4	14.8 ± 0.5	0.8
6 mes intervención	18.9 ± 0.4	16.5 ± 0.4	0.59
PCR (mg/dL)			
Pre intervención	0.52 ± 0.08	0.60 ± 0.09	
3 mes intervención	0.52 ± 0.12	0.53 ± 0.01	0.5
6 mes intervención	0.46 ± 0.08	0.52 ± 0.05	0.5

Promedio \pm desviación estándar, Prueba de ANOVA de medidas repetidas, significancia al 95%. IL: Interleucina; TNF- α : Factor de necrosis tumoral α ; PCR: Proteína C reactiva.

Respecto al efecto de *Sechium edule* sobre el control clínico del SMet, se observó una reversión del SMet en el GE, el cambio de la proporción de sujetos sin SMet fue estadísticamente significativa tanto a los 3 meses (GE, 30% vs. GP, 13%, $p < 0.05$) y mostró un mayor incremento a los 6 meses (GE, 56%, vs. GP 13%, $p < 0.05$) (Cuadro IX.9).

Cuadro IX.9. Efecto de *S. edule* sobre el control del síndrome metabólico

	Grupo placebo n = 40 (%)		Grupo experimental n = 41 (%)	
	Con SMet	Sin SMet	Con SMet	Sin SMet
Basal	40 (100)	0 (0)	41 (100)	0 (0)
3 meses	35 (87)	5 (13)	29 (70)	12 (30) *
6 meses	35 (87)	5 (13)	18 (44)	23 (56) *

Se muestran proporciones, Prueba Ji², significancia al 95%, *p < 0.05.
SMet: Síndrome metabólico

Cuadro IX.10. Efecto de *S. edule* sobre el número de criterios de síndrome metabólico

# de criterios	Grupo placebo			Grupo experimental		
	Basal n(%)	3 meses n(%)	6 meses n(%)	Basal n(%)	3 meses n(%)	6 meses n(%)
0	0	0	0	0	0	1(2) *
1	0	0	0	0	4(10) *	5(12)
2	0	5 (13)	5 (13)	0	8(20) *	17(42) *
3	14 (35)	13 (32)	17(42)	20(49)	14(34)	15(37) *
4	24 (60)	20 (50)	16(40)	14(34)	14(34)	3(7)
5	2 (5)	2 (5)	2 (5)	7(17)	1 (2)	0
Total	40	40	40	41	41	41

Prueba Ji². $p \leq 0.05$. Si presenta 3 o más criterios, tiene síndrome metabólico.

X. DISCUSIÓN

En México la prevalencia de personas con SMet es superior al 50%, y se ha proyectado que más del 7% desarrollará DM2 en los próximos 10 años y más del 11% enfermedades cardiovasculares, lo cual se asocia a malos hábitos alimenticios, factores genéticos y estilos de vida.¹² El SMet se ha vinculado con varias enfermedades crónicas de alta prevalencia en la vejez como el cáncer, enfermedad de Alzheimer, artritis, DM2 y enfermedades cardiovasculares, entre otras. Así mismo, el EOx es una de las alteraciones bioquímicas relacionadas con la etiología y complicaciones tanto del SMet como de las enfermedades ya mencionadas.^{14,17,36,40}

La evidencia científica ha demostrado que la actividad física regular y el consumo de una dieta saludable, son las estrategias más eficaces para prevenir el desarrollo de ECNT y el SMet, asimismo permiten mitigar los síntomas y disminuir el riesgo de complicaciones.

Eventualmente, la dieta saludable contribuye al tratamiento farmacológico, y potencialmente podría sustituirlo. Asimismo, el consumo crónico de fármacos constituye un riesgo de efectos secundarios y muchas veces se convierte en una carga financiera importante para los pacientes. Dado que el SMet es una condición multifactorial, el abordaje terapéutico farmacológico requiere el uso de múltiples medicamentos para controlar las anomalías o desequilibrios metabólicos que van desde la hipertensión, la hipercolesterolemia, dislipidemia, hiperglucemia hasta la obesidad, por lo que los efectos secundarios se multiplican debido a la polifarmacia. Un estilo de vida saludable (especialmente la dieta saludable) podría ser capaz de prevenir o incluso, controlar algunas de disfunciones metabólicas, lo cuál sería una ventaja en estos pacientes.¹³⁶

Algunos estudios han demostrado que consumir frutos y vegetales que nutricionalmente se distinguen por su alto contenido de compuestos fenólicos, tiene el potencial de coadyuvar con el manejo de varias anomalías metabólicas relacionadas con el SMet.¹³⁷ En éste sentido, se ha reportado que *Sechium edule* (Chayote) contiene varios compuestos bioactivos como alcaloides, saponinas, peroxidases, ácidos fenólicos, flavonoides, carotenoides, cucurbitacinas, fitoesteroles, entre otros,^{138,139} además de altas concentraciones de antioxidantes por lo que se le han atribuido propiedades farmacológicas con propiedades hipotensoras, antiinflamatorias, hipoglucemiantes, antioxidantes así como de inhibidor de la lipogénesis.^{44,140,141} Por tal motivo, el propósito del presente estudio fue determinar el efecto del consumo del fruto seco de *Sechium edule var. nigrum espinosum* sobre los marcadores de EOx, inflamación crónica y daño al ADN en adultos mayores con SMet, considerando que esta condición metabólica es un factor que contribuye a los procesos del EOx e *inflammaging* inherentes al envejecimiento y por lo tanto mayor riesgo para para presentar ECNT.

En el presente estudio se observó que el consumo de *Sechium edule* en pacientes con SMet induce una disminución en el peso corporal y masa grasa después de seis meses del tratamiento con significancia estadística límite, estos datos coinciden y confirman resultados previos de nuestro grupo de trabajo, en los que se observó el mismo efecto con la misma dosis a los tres meses de tratamiento.¹⁴⁰ Estos hallazgos sugieren que existe un efecto lipolítico que se mantiene a largo plazo; esto puede explicarse considerando el alto contenido de fibra insoluble como celulosa, lignina y hemicelulosa presente en *Sechium edule*, la cual tiene un efecto directo sobre el proceso digestivo, asimismo se ha señalado que el consumo elevado de fibra reduce el riesgo de obesidad, hipertensión y DM2.^{140,142} Sin embargo, no se observó un efecto sobre la masa magra (muscular), debido probablemente al tiempo de intervención, ya que se han reportado como posibles mecanismos subyacentes a la pérdida de masa muscular (sarcopenia), el estrés oxidativo y la elevación de citocinas inflamatorias.¹⁴³ Es por ello que, se infiere que si se mantiene la disminución del estrés oxidativo y el proceso inflamatorio crónico, el consumo del extracto de chayote podría ser una alternativa para prevenir o retardar la sarcopenia.

Con relación a la presión arterial, en nuestro estudio se observó una disminución de la PAS y PAD a los tres meses del tratamiento la cual se mantiene hasta los seis meses, este hallazgo coincide con lo informado en otros estudios *in vivo* en donde se observó un efecto hipotensor y vasodilatador luego del tratamiento. El efecto se atribuye a la alta concentración de polifenoles que contiene *Sechium edule*, puesto que se ha demostrado que estos compuestos actúan en el sistema renina-angiotensina a través de la modulación del calcio^{144,145} Existe otro mecanismo el cual señala a los flavonoides como la quercetina que actúa sobre los transportadores de iones que regulan la concentración citosólica de Cl⁻ a través de la activación del cotransportador 1-Na⁺-K⁺-2Cl⁻ (NKCC1), que controla la acción antihipertensiva.^{146,147} Dados los resultados y los mecanismos mencionados podemos sugerir que el consumo de *Sechium edule* tuvo un efecto hipotensor en los pacientes, el cual permaneció durante el tiempo de tratamiento.

Respecto al efecto hipoglucemiante de *Sechium edule*, en este estudio se encontró una disminución del porcentaje de HbA1c a los seis meses del tratamiento, lo que coincide con lo informado previamente por nuestro grupo de investigación¹⁴⁰ y puede explicarse por el aumento de la liberación de insulina al modificar el metabolismo del calcio en las células de los islotes de Langerhans, efecto que se atribuye a flavonoides como la epicatequina, quercetina, apigenina, 2-viceninina y 7-O rutinósido presentes en altas concentraciones en *Sechium edule*. Asimismo, se ha demostrado que los polifenoles, antocianinas y la proteína vegetal que contiene *Sechium edule*, tienen un efecto inhibitorio sobre la expresión de la proteína tirosina fosfatasa 1β (PTP1β), que es reguladora

negativa de la vía de señalización de la insulina, cuya inhibición resulta en un aumento de la sensibilidad a la insulina, lo que se manifiesta como un efecto hipoglucemiante.^{97,122,148-152} Es por esto, y de acuerdo con nuestros hallazgos, el consumo de *Sechium edule* puede ser considerado como un tratamiento complementario para el control de DM2, debido a su efecto sobre la sensibilidad de la insulina, en la DM2 y obesidad.^{140,149}

En cuanto al perfil de lípidos, observamos un aumento estadísticamente significativo de HDL-colesterol en el GE a los tres y seis meses de tratamiento, en comparación con el GP. Lo anterior coincide con otros estudios en donde se observó este mismo efecto,^{140,153} el cual es de utilidad clínica en la prevención y el control de las enfermedades cardiovasculares.¹⁵⁰ En este sentido, respecto a los posibles mecanismos implicados, se ha demostrado que los alimentos ricos en polifenoles tienen propiedades antiateroscleróticas al prevenir la acumulación de colesterol en los macrófagos presentes en las placas ateroscleróticas, suprimiendo la oxidación de lipoproteínas de baja densidad y regulando la captación y salida del colesterol.¹⁵⁴ Además, se ha informado que los polifenoles pueden proteger de enfermedades cardiovasculares a través de efectos antiplaquetarios, antiinflamatorios y antioxidantes, ya que son capaces de aumentar los niveles de lipoproteínas de alta densidad (HDL) y mejorar las funciones endoteliales.^{99,155}

Al evaluar los marcadores de función renal, se observó una disminución significativa de la concentración sérica de urea y creatinina, así como de la microalbúmina en orina a los tres meses de tratamiento en el GE. Estos resultados concuerdan con lo demostrado en otros estudios tanto pre clínicos como clínicos, en donde después del tratamiento con *Sechium edule* se observa una disminución significativa de estos marcadores de función renal en suero^{140,153} la cual es acompañada de una mejoría en la histología renal tubular y de los glomérulos luego del tratamiento como han revelado los estudios pre clínicos.¹⁵⁶ Estos resultados sugieren que los activos presentes en el chayote mejoran el aclaramiento renal, lo cual es clínicamente relevante debido a que se ha demostrado que las alteraciones metabólicas presentes en el SMet y sus complicaciones están asociadas con daño renal y el EOx. En ese sentido, se ha reportado que la administración de flavonoides disminuye el EOx, por lo que podemos suponer que las moléculas presentes en dicho fruto actúan de manera sinérgica, lo que resulta en un efecto de protección renal, lo anterior podría considerarse como una alternativa complementaria para la prevención o como terapia en el daño renal.^{140,153,157,158}

Por otro lado, en estudios pre clínicos, se ha encontrado un efecto hepatoprotector de *Sechium edule* pues se ha reportado una disminución de las enzimas hepáticas (AST y ALT) después de la administración de un extracto etanólico en ratones; en este mismo estudio, se observó que no hubo

alteraciones en los indicadores de daño hepático en los ratones sanos sometidos al mismo tratamiento.¹⁵⁹ Al respecto, en nuestro estudio no se observaron cambios en los marcadores de función hepática en los participantes, lo que demuestra que en esta población el consumo de *Sechium edule* no modificó el funcionamiento hepático, lo cual lo coloca como una terapia inocua en AM con SMet. Lo anterior, concuerda con lo reportado respecto a que la DL₅₀ de *Sechium edule var nigrum espinosum* es mayor a 5,000mg/kg en ratones machos y hembras.⁹⁶

En lo que se refiere a los marcadores de EOX, encontramos una disminución estadísticamente significativa de la concentración plasmática de lipoperóxidos y 8-isoprostanos a los tres meses y que permanece hasta los seis meses, lo que implica una disminución en el daño oxidativo de los lípidos. Esto concuerda con lo reportado anteriormente por nuestro grupo de investigación puesto que se observó una disminución de lipoperóxidos en pacientes con SMet luego del consumo de *Sechium edule* en polvo durante seis semanas y tres meses de tratamiento.^{140,153} Este efecto se atribuye a la gran cantidad de moléculas antioxidantes presentes en *Sechium edule* como son los polifenoles (ácido cumárico, vanílico, gálico y caféico) y flavonoides (principalmente naringenina, floretina, florizina y apigenina)¹⁶⁰

El efecto antioxidante de los flavonoides ha sido ampliamente estudiado y se ha demostrado que la naringenina, una molécula abundante en *Sechium edule*, presenta más de un mecanismo de acción antioxidante, se ha demostrado que es capaz de transferir un átomo de hidrógeno de sus grupos OH directamente a los RL para estabilizar la molécula y evitar propagación del daño; asimismo, el grupo 5,7-dihidroxi del anillo A de la naringenina aumenta la estabilidad de los RL por vía resonancia electrónica; otro mecanismo de acción de este compuesto es a nivel celular ya que se acumula en la bicapa lipídica de la membrana celular, lo que reduce la peroxidación lipídica y permite mantener la funcionalidad de la membrana.^{33,161}

Debido a la alta cantidad de compuestos bioactivos presentes en *Sechium edule*, suponemos que en conjunto tienen un efecto sinérgico que se manifiesta con la disminución significativa en los marcadores de oxidación lipídica.

En este sentido, es importante resaltar que nuestros resultados, también hacen evidente una disminución significativa de la concentración de 8-OHdG en el GE luego del tratamiento. La 8-OHdG es un derivado oxidado de la base de guanina, su generación es una de las lesiones más comunes inducidas por RL a nivel de ADN y es muy estudiada debido a su relación con la carcinogénesis, enfermedades cardiovasculares, entre otras,^{162,163} aunque éstas lesiones se reparan continuamente, la acumulación de bases dañadas puede exacerbar enfermedades degenerativas, además de que se ha reportado que se encuentran relacionadas con la edad;¹⁶⁴ de ahí la relevancia de este hallazgo.

En cuanto a los componentes del sistema antioxidante, nuestros resultados mostraron un aumento significativo de la actividad enzimática de SOD, de la capacidad antioxidante total sérica y de GAP a los tres y seis meses del tratamiento con *Sechium edule*. Estos resultados coinciden con lo reportado previamente por nuestro grupo de trabajo en donde se han observado un aumento de estos marcadores de actividad antioxidante luego de seis semanas y tres meses del consumo del polvo de *Sechium edule* en AM con SMet.^{140,153} Estos resultados son consistentes con el efecto observado sobre la oxidación de los lípidos y daño al ADN ya que observamos una disminución en los marcadores de oxidación y un aumento en los componentes del sistema antioxidante, adicionalmente, esto concuerda con la disminución significativa de IEOx que nos muestra de manera integral el comportamiento del sistema oxidante/antioxidante de los pacientes.

Este efecto puede explicarse debido a que *Sechium edule* tiene un alto contenido de flavonoides y compuestos bioactivos, el efecto antioxidante de los extractos de *Sechium edule* ha sido ampliamente demostrado y algunos de los mecanismos han sido dilucidados, como se mencionó, la capacidad antioxidante es a nivel intra y extracelular para prevenir o frenar reacciones de oxidación relacionadas con la generación de RL más potentes como el radical hidroxilo (reacciones de Fenton), o bien, actúa en la bicapa lipídica celular, favoreciendo el mantenimiento de la rigidez de la membrana, lo que reduce la peroxidación lipídica celular y el posible daño posterior a otras biomoléculas.^{33,96,161,165-167}

Estos resultados sugieren que los compuestos bioactivos presentes en *Sechium edule* son capaces de modular el equilibrio de oxidantes y antioxidantes, llevándolo a un estado menos oxidado.^{33,140,153} Lo anterior, respalda las recomendaciones del consumo de alimentos ricos en antioxidantes como lo es *Sechium edule* como coadyuvante en el control de EOX en adultos mayores con SMet y otras enfermedades crónicas como la DM2.

Respecto a los marcadores de inflamación, encontramos un aumento significativo de IL-6 e IL-10 en el GE. La IL 10 tiene un papel antiinflamatorio y la IL-6 posee actividad proinflamatoria y antiinflamatoria. Este hallazgo ha sido informado anteriormente por nuestro grupo de investigación^{153,160} los resultados pueden deberse a la capacidad que tienen los flavonoides para bloquear moléculas clave en procesos inflamatorios y protrombóticos como el factor nuclear κ B (NF κ B), así como la actividad reguladora de los polifenoles sobre la señalización de factores de transcripción proinflamatorios STAT y la modulación de las vías de la MAPK y ácido araquidónico.^{145,168}

Asimismo, se ha reportado que la IL-6 tiene un efecto modulador del sistema inmunológico y se le atribuye un papel mediador de los procesos metabólicos ligados a la resistencia a la insulina debido a una mayor sensibilidad¹⁶⁹, por lo tanto, el incremento de la producción de IL-6 mostrado en este estudio es relevante ya que, puede contribuir en la regulación de la homeóstasis, el

transporte de la glucosa y de los lípidos.¹⁷⁰⁻¹⁷² Lo anterior, es consistente con el efecto hipoglucemiante y la disminución de la masa grasa observada en el GE. Los ácidos fenólicos pueden suprimir la expresión de genes del receptor tipo toll (TLR) y proinflamatorios, su actividad antioxidante y su capacidad para inhibir las enzimas involucradas en la producción de eicosanoides (moléculas de carácter lipídico originadas de la oxidación de los ácidos grasos esenciales) también contribuyen con sus propiedades antiinflamatorias. Inhiben ciertas enzimas involucradas en la producción de ROS de especies reactivas de oxígeno como la xantina oxidasa y la NADPH oxidasa (NOX), mientras que regulan al alza otras enzimas antioxidantes endógenas como la SOD, la catalasa y la GPx. Además, inhiben la fosfolipasa A2 (PLA2), la ciclooxigenasa (COX) y la lipoxigenasa (LOX), lo que conduce a una reducción de la producción de prostaglandinas (PG) y leucotrienos (LT) y al antagonismo de la inflamación. Los efectos de estos compuestos biológicamente activos sobre el sistema inmunitario están asociados con beneficios de salud para diferentes enfermedades inflamatorias crónicas.¹⁶⁸

Los estudios de extractos y compuestos de plantas muestran que los polifenoles pueden desempeñar un papel benéfico en la prevención y el progreso de enfermedades crónicas relacionadas con la inflamación, como la DM, la obesidad, la neurodegeneración, el cáncer y las enfermedades cardiovasculares.¹⁶⁸ Otras moléculas contenidas en el chayote y que se ha reportado que tienen un efecto sobre la respuesta inmunitaria, son las cucurbitacinas B y E, éstas desempeñan un papel activo en el desarrollo de la inmunidad innata y adaptativa, los mecanismos atribuidos son la inhibición de COX-2 y NOS reducción del EOX, supresión de citocinas proinflamatorias y modulación de proteínas de inmunidad adquirida. Es por ello que las cucurbitacinas son moléculas promisorias en la búsqueda de innovación terapéutica por su versatilidad en la modulación de la respuesta inmune.¹⁰⁷

En nuestro estudio, no se observaron cambios significativos en el resto del perfil de citocinas en ninguno de los grupos de estudio, posiblemente debido al tiempo que duró la intervención.

Finalmente, cuando se evaluó el control del SMet, se encontró una disminución significativa en el número de criterios para el diagnóstico de SMet en el GE tanto a los tres meses como a los seis meses de tratamiento de manera gradual, lo cual no se observó en el GP. Lo anterior es consistente con los resultados obtenidos sobre la incidencia del SMet en los participantes del GE, ya que, tanto a los tres como a los seis meses de tratamiento, se redujo el número y proporción de pacientes con SMet, lo cual coincide con la reducción cuantitativa observada en los parámetros utilizados para el diagnóstico. Estos resultados concuerdan con lo reportado en un estudio previo¹⁴⁰ y en lo reportado en la literatura en donde se propone la reversión del SMet tras el consumo de polifenoles, ácidos grasos, ácidos fenólicos y otras moléculas antioxidantes.¹³⁶ Lo anterior se debe a la disminución los niveles de algunos, parámetros de

diagnóstico como la glucosa, tensión arterial, aumento de HDL-colesterol, etc y una vez revirtiendo uno o dos criterios, varios pacientes que consumieron *Sechium edule* dejaron de tener al menos tres criterios de diagnóstico para SMet.

Cabe señalar que la aparición de SMet está estrechamente relacionada con la disfunción mitocondrial inducida por el EOx, la acumulación de grasa ectópica y el deterioro del sistema antioxidante, lo que a su vez agrava aún más el desequilibrio oxidante intracelular y la respuesta inflamatoria. Como componentes antiinflamatorios y antioxidantes enriquecidos en las plantas y frutas, los polifenoles naturales tienen efectos benéficos, entre los que destacan disminuir la acumulación de grasa en el hígado y la dislipidemia, reduciendo la presión arterial. Por lo tanto, es plausible la utilidad del consumo de polifenoles en la prevención y el manejo de SMet. En la actualidad, los estudios epidemiológicos indican que existe una correlación negativa entre la ingesta de polifenoles y la incidencia de SMet.^{136,137}

Por todo lo expuesto y los resultados obtenidos en este estudio, nuestros hallazgos apoyan la propuesta de que el consumo del concentrado de *Sechium edule* podría considerarse como un coadyuvante en el tratamiento convencional del control del SMet, también podría ser una terapia coadyuvante para lograr la reversión de este síndrome, así como en su prevención.

XI. CONCLUSIONES

Hipótesis:

*Considerando las evidencias científicas que demuestran que el extracto de *Sechium edule* tiene alto contenido de compuestos bioactivos con actividad antioxidante y antiinflamatoria, suponemos que la administración de concentrado de fruto seco en polvo de *Sechium edule* tendrá un efecto antioxidante, antiinflamatorio y protector para el daño al ADN estadísticamente significativo en adultos mayores con síndrome metabólico.*

Conclusiones:

Nuestro hallazgos demuestran que el consumo de 1,500 mg/día de concentrado en polvo de fruto seco de *Sechium edule* tiene un efecto significativo antioxidante, antiinflamatorio y protector de daño al ADN, además de propiedades hipoglucemiantes e hipotensoras en adultos mayores con síndrome metabólico, debido al efecto sinérgico de los compuestos bioactivos que contiene. También se observó que promueve una mejora del funcionamiento renal mientras que no afecta funcionamiento hepático, por lo cual, puede proponerse como una alternativa inocua coadyuvante en el tratamiento del SMet en AM

XII. PERSPECTIVAS

- Incrementar el tamaño de la muestra, así como llevar a cabo estudios a diferentes dosis por tiempo prolongado, para verificar el mantenimiento del efecto terapéutico.

XIII. REFERENCIAS

1. Reaven GM. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes*. 1988; 37: 1595-1607.
2. McCracken E, Monaghan M, Sreenivasan S. Pathophysiology of the metabolic syndrome. *Clin Dermatol*. 2018;36(1):1420.doi:10.1016/j.jclindermatol.2017.09.004.
3. Lerman GI, Aguilar-Salinas C, Gómez-Pérez F, Reza AA, Hernández JS, Vázquez CC, *et al*. El síndrome metabólico. Posición de la sociedad Mexicana de nutrición y endocrinología, sobre la definición, fisiopatología y diagnóstico. Características del síndrome metabólico en México. *Revista de Endocrinología y Nutrición*. 2004; 12 (3): 109-122.
4. Oxford University Press on behalf of the British Geriatrics Society. The metabolic syndrome in older persons: a loosely defined constellation of symptoms or a distinct entity?. *Age Ageing*. 2009; 38: 494-497.
5. Grundy SM. Metabolic syndrome pandemic *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2008;28(4):619-636. doi: 10.1161/ATVBAHA.107.151092.
6. Chew GT, Gan SK, Watts GF. Revisiting the metabolic syndrome. *Med J Aust*. 2006; 185(8):445-9. doi:10.5694/j.1326-5377.2006.tb00644.x.
7. World Health Organization: Definition Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its Complications: Report of a WHO Consultation. Geneva: WHO; 1999.
8. Executive summary of the third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert panel on detection, evaluation and treatment of high cholesterol. *JAMA*. 2001; 285: 2486-2497.
9. Balkau B, Charles MA, Drivsholm T, Borch-Jhonsen K, Wareham N, Yudkin JS, *et al*. European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR): Frequency of the WHO metabolic syndrome in European cohorts, and the alternative definition of an insulin resistance syndrome. *Diabetes Metab*. 2002; 28: 364-376.
10. Bloomgarden ZT. American Association of clinical Endocrinologists (AAACE). Consensus Conference on the Insulin Resistance Syndrome, 25-26 August 2002, Washington, DC. *Diabetes Care*. 2003; 26:1297-1303.
11. Aguilar-Salinas C, Rojas R, Gómez-Pérez F, Valles V, Ríos-Torres J, *et al*. Analysis of agreement between the World Health Organization criteria and the National Cholesterol Education Program III definition of the metabolic syndrome. *Diabetes Care*. 2003; 26: 1635.
12. Rojas-Martínez R, Aguilar-Salinas CA, Romero-Martínez M, Castro-Porras L, Gómez-Velasco D, Mehta R. Trends in the prevalence of metabolic syndrome and its components in Mexican adults, 2006-2018. *Salud Publica Mex*. 2021;63:713-724. doi:10.21149/12835.
13. Secretaría de Desarrollo Social. Ley de los derechos de las personas adultas mayores. México: Diario Oficial 2002 Jun 25; sección 1: 43-59.
14. Sánchez-Rodríguez M, Mendoza-Núñez V. Envejecimiento, enfermedades crónicas y antioxidantes. México: FES Zaragoza; 2003.p. 5-82.
15. Logan JG, Barksdale DJ. Allostasis and allostatic load: expanding the discourse on stress and cardiovascular disease. *J Clin Nurs*. 2008;17(7B):201-208. doi:10.1111/j.1365-2702.2008.02347.x
16. McEwen BS. Sex, stress and hippocampus: allostasis, allostasis load and the aging process. *Neurobiol Aging*. 2002; 23:921-939.
17. Harman D. Free radical theory of aging. *Mutat Res*. 1992; 275: 257-266.
18. Hayflick L. Theories of biological aging. *Exp Gerontol*. 1985; 20: 145-159.

19. Halliwell B, Gutteridge JMC, Cross CE. Free radicals, antioxidants, and human disease: Where are we now? *J Lab Clin Med.* 1992; 119: 598-620.
20. Harman D. Aging: A theory based on free radical and radiation chemistry. *J Gerontol.* 1956; 11:298-300.
21. Gutteridge JMC. Free radicals and aging. *Rev Clin Gerontol.* 1994; 4: 279-288
22. Halliwell B, Gutteridge JMC, Cross CE. Free radicals, antioxidants, and human disease: Where are we now? *J Lab Clin Med.* 1992; 119: 598-620.
23. Harman D. The aging process. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1981; 78 (11):7124-7128.
24. Baños G, El Hafidi M, Pérez-Torres I, Guarner V. Insulin resistance and the metabolic syndrome. In: Yao EB, editor. *Insulin Resistance: New Research.* USA: Nova Biomedical Books Publishers. 2009.49–97.
25. Guarner V, Rubio-Ruiz ME, Perez-Torres I, Baños de McCarthy G. Relation of aging and sex hormones to metabolic syndrome and cardiovascular disease. *Exp Gerontol.* 2011;46:517–523.
26. Bonomini F, Rodella L, Rezzani R. Metabolic Syndrome, Aging and Involvement of Oxidative Stress. *Aging Dis.* 2015; 6 (2): 109-120.
27. Betteridge DJ. What is oxidative stress?. *Metabolism.* 2000;49(2 Suppl 1):3-8. doi:10.1016/s0026-0495(00)80077-3.
28. Harman D. The biologic clock: the mitochondria?. *J Am Geriatr Soc.* 1972; 20:145–147.
29. Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M, Iwaki M, Yamada Y, Nakajima Y, *et al.* Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J Clin Invest.* 2004; 114 (12): 1752-1756.
30. Halliwell B. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiol.* 2006; 141(2): 312- 22.
31. Genestra M. Oxy radicals, redox-sensitive signalling cascades and antioxidants. *Cell Signal.* 2007; 19(9): 1807-19.
32. Kregel KC, Zhang HJ. An integrated view of oxidative stress in aging: basic mechanisms, functional effects, and pathological considerations. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2007; 292(1): R18-36.
33. Rosado-Pérez J, Aguiñiga-Sánchez I, Arista-Ugalde TL, Santiago-Osorio E, Mendoza-Núñez VM. The Biological Significance of Oxidative Stress, Effects of Fruits as Natural Edible Antioxidants. *Curr Pharm Des.* 2018;24(40):4807-4824. doi:10.2174/1381612824666190114164758.
34. Gutteridge JMC. Free radicals and aging. *Rev Clin Gerontol.* 1994; 4: 279-288.
35. Harman D. Aging: A theory based on free radical and radiation chemistry. *J Gerontol.* 1956; 11:298-300.
36. Drögue W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev.* 2002; 82: 48-80.
37. Halliwell B. Reactive oxygen species in living systems: source biochemistry, and role in human. *Am J Med.* 1991; 91 Suppl 3C: 14S-22S.
38. Harman D. The aging process. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1981; 78 (11):7124-7128.
39. Chesseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull.* 1993; 49:481-493.
40. Halliwell B, Gutteridge JMC, Cross CE. Free radicals, antioxidants, and human disease: Where are we now?. *J Lab Clin Med.* 1992; 119: 598-620.
41. Knight JA. Free radicals: their presence in biological systems. In: Free radicals, antioxidants, aging and disease. *Washington: AACCC Press.* 1999. p. 21-43.
42. Gutteridge JMC. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem.* 1995; 41: 1819-1828.
43. González-Torres MC, Betancourt-Rule M, Ortiz-Muñiz R. Daño oxidativo y antioxidantes. *Bioquímica.* 2000; 25: 3-9.

44. Thomas MC. Advanced glycation end products. *Contrib Nephrol.* 2011;170:66-74. doi:10.1159/000324945.
45. Van Houten B, Woshner V, Santos JH. Role of mitochondrial DNA in toxic responses to oxidative stress. *DNA Rep.* 2006; 5: 145-152.
46. Dalle-Donne I, Rossi R, Colombo R, Giustarini D, Milzani A. Biomarkers of oxidative damage in human disease. *Clin Chem.* 2006;52: 601-623.
47. Abdilla N, Tormo MC, Fabian MJ, Chaves FJ, Saez G, Redon J. Impact of the components of metabolic syndrome on oxidative stress and enzymatic antioxidant activity in essential hypertension. *J Hum Hypertens.* 2007; 21: 68-75.
48. Matés JM, Pérez-Gómez C, De Castro IN. Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin Biochem.* 1999; 32 (8): 595-603.
49. De Zwart LL, Meerman JHN, Commandeur JNM, Vermeulen NPE. Biomarkers of free radical damage applications in experimental animals and in humans. *Free Radic Biol Med.* 1999; 26: 202-226.
50. Collins A, Horvathová E. Oxidative DNA damage, antioxidants and DNA repair: applications of the comet assay. *Biochem Soc Transac.* 2001; 29 (2): 337-341.
51. Talhaoui I, Matkarimov BT, Tchenio T, Zharkov DO, Saparbaev M. Aberrant base excision repair pathway of oxidatively damaged DNA: Implications for degenerative diseases. *Free Radic Biol Med.* 2017;107:266-277. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2016.11.040.
52. Bach J, Peremartí J, Annangi B, Marcos R, Hernández A. Reduced cellular DNA repair capacity after environmentally relevant arsenic exposure Influence of Ogg1 deficiency. *Mutat Res.* 2015;779: 144-51. doi:10.1016/j.mrfmmm.2015.07.004
53. Evans MD, Dizdaroglu M, Cooke MS. Oxidative DNA damage and disease: induction, repair and significance. *Mutation Res.* 2004.567: 1-6. doi:10.1016/j.mrrev.2003.11.001
54. Hernández Cruz EY. Efecto de la (-)-epigallocatequina-3-galato sobre la inducción de micronúcleos, el sistema antioxidante endógeno, la apoptosis y la reparación del daño al ADN en ratones tratados con cromo hexavalente[tesis de Maestría]. Ciudad de México: Posgrado en Ciencias Biológicas, FES "Zaragoza", UNAM 2019.
55. Li X, Traganos F, Melamed MR, Darzynkiewicz Z. Single-step procedure for labeling DNA strand breaks with fluorescein- or BODIPY-conjugated deoxynucleotides: detection of apoptosis and bromodeoxyuridine incorporation. *Cytometry.* 1995;20(2):172-180. doi:10.1002/cyto.990200210.
56. Walker PR, Kokileva L, LeBlanc J, Sikorska M. Detection of the initial stages of DNA fragmentation in apoptosis. *Biotechniques.* 1993;15(6):1032-1040.
57. Panchard NA, Whelan CJ, Adcock I. The journal of inflammation. *J Inflamm (Lond).* 2004;1(1):1.
58. Castelo-Branco C, Soveral I. The immune system and aging: a review. *Gynecol Endocrinol.* 2014;30(1):16-22. doi:10.3109/09513590.2013.852531.
59. Forsey RJ, Thompson JM, Ernerudh J, Hurst TL, Strindhall J, Johansson B, Nilsson B, Wikby A. Plasma cytokine profiles in elderly humans. *Mech Ageing Dev.* 2003; 124: 487-493.
60. McGeer PL, McGeer EG. Inflammation and the degenerative diseases of aging. *Ann N Y Acad Sci.* 2004; 1035: 104-116. doi:10.1196/annals.1332.007
61. Florez H, Troen RB. Fat and inflammaging: a dual path to unfitnes in elderly people. *J Am Geriatr Soc.* 2008; 56:558-560.
62. Santoro A, Bientinesi E, Monti D. Immunosenescence and inflammaging in the aging process: age-related diseases or longevity?. *Ageing Res Rev.* 2021;71:101422. doi:10.1016/j.arr.2021.101422.

63. Franceschi C, Capri M, Monti D, Giunta S, Olivieri F, Sevini M, *et al.* Inflammaging and anti-inflammaging: A systemic prespective on aging and longevity emerged from studies in humans. *Mech Ageing Dev.* 2007; 128: 92-105.
doi:10.1016/j.mad.2006.11.016
64. Franceschi, C., Garagnani, P., Parini, P. *et al.* Inflammaging: a new immune–metabolic viewpoint for age-related diseases. *Nat Rev Endocrinol*, 2018;14:576–590.
doi:10.1038/s41574-018-0059-4.
65. Fulop T, Larbi A, Pawelec G, Khalil A, Cohen AA, Hirokawa K, *et al.* Immunology of Aging: the Birth of Inflammaging [published online ahead of print, 2021 Sep 18]. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2023;64(2):109-122. doi:10.1007/s12016-021-08899-6.
66. Franceschi C, Campisi J. Chronic inflammation (inflammaging) and its potential contribution to age-associated diseases. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2014;69 (Suppl 1): S4-9. doi: 10.1093/gerona/glu057.
67. Ershler W, Keller ET. Age-associated increased interleukin 6 gene expression, late-life diseases and frailty. *Annu Rev Med.* 2000, 51: 245-270.
68. Spranger J, Kroke A, Möling M, Hoffman K, Bergmann M, Ristow M, Inflammatory cytokines and the risk to develop type 2 diabetes. *Diabetes.* 2003; 52:812-817.
69. Wellen KE, Hotamisligil GS. Inflammation, stress and diabetes. *J Clin Invest.* 2005; 115:1111-19.
70. Abdel-Khalek M, Bierhaus A, Schiekofer S, Tritschler H, Ziegler R, Nawroth P. The role of oxidative stress and NF-kB activation in the late diabetic complications. *Bio Factors.* 1999; 10:156-167.
71. Rashidi-Springall M, Bojalil-Parra R. Proteína C Reactiva: más que un marcador sistémico de inflamación. *ContactoS.* 2001; 60:37-41.
72. Mendoza-Núñez V, Retana-Ugalde R. Estrés Oxidativo e inflamación. Medición e interpretación diagnóstica. México: UNAM; 2009.
73. Ridker PM, Haughie P. Prospective studies of C-reactive protein as a risk factor for cardiovascular disease. *J Investig Med.* 1998;46(8):391-395.
74. Ershler W, Keller ET. Age-associated increased interleukin 6 gene expression, late-life diseases and frailty. *Annu Rev Med.* 2000, 51: 245-470.
75. Wu CH, Ou TT, Chang CH, Chang XZ, Yang MY, Wang CJ, *et al.* The polyphenol extract from *Sechium edule* shoots inhibits lipogenesis and stimulates lipolysis via activation of AMPK signals in HepG2 cells. *J Agr Food Chem.* 2014; 62(3):750-759. 759. doi:10.1021/jf404611a.
76. Panchard NA, Whelan C, Adcock I. The journal of inflammation. *J Inflamm (Lond).* 2004;1(1):1. doi:10.1186/1476-9255-1-1.
77. Ishikawa S, Kayaba K, Gotoh T, Nakamura Y, Kajii E. Metabolic Syndrome and C-Reactive protein in the general population: JMS cohort study. *Circ J.* 2007; 71: 26-31.
78. Goldsby R, Kindt T, Osborne B, Kuby J. Inmunología. México: Mc Graw-Hill Interamericana; 2004. p. 357-380.
79. Forsey RJ, Thompson JM, Ernerudh J, Hurst TL, Strindhall J, Johansson B, Nilsson B, Wikby A. Plasma cytokine profiles in elderly humans. *Mech Ageing Dev.* 2003; 124: 487-493.
80. Ershler W, Keller ET. Age-associated increased interleukin 6 gene expression, late-life diseases and frailty. *Annu Rev Med.* 2000, 51: 245-270.
81. Halliwell B. The definition and measurement of antioxidants in biological systems. *Free Radic Biol Med.* 1995;18:125-126.
82. Koningsberg JC, van Asbeck BS, van Faassen E, Wiegman LJJM, van Hattum J, van Berge Henegouwen GP, *et al.* Copper, zinc-superoxide dismutase and hydrogen peroxide: a hydroxyl radical generating system. *Clin Chem Acta.* 1994; 230: 51-61.

83. Halliwell B, Gutteridge JMC. Free radicals in Biology and medicine. 2° Ed. London: Oxford University Press. 1995: 86-276.
84. Pippenger CE, Browne RW, Armstrong D. Regulatory antioxidant enzymes. *Methods Mol Biol.* 1998;108:299-313. doi:10.1385/0-89603-472-0:299
85. Amstad P, Peskin A, Shah G, Mirault ME, Moret R, Zbinden I, *et al.* The balance between Cu, Zn-Superóxide dismutase and catalase affects the sensivity of mouse epidermal cells to oxidative stress. *Biochem.* 1991; 30: 9305-9313.
86. Miller NJ. Nonvitamin plasma antioxidants. *Methods Mol Biol.* 1998;108:285-297. doi:10.1385/0-89603-472-0:285
87. Pisoschi AM, Pop A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *Eur J Med Chem.* 2015;97:55-74. doi:10.1016/j.ejmech.2015.04.040.
88. Yahia EM, Maldonado Celis ME, Svendsen M. The contribution of fruit and vegetable consumption to human health. In: Fruit and vegetable phytochemicals. Oxford, United Kingdom: Wiley-Blackwell; 2017.p. 3-51.
89. Shahidi F, Ambigaipalan P. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects-A review. *J Funct Foods.* 2015; 18: 820-827.
90. Chang SK, Alasalvar C, Shahidi F. Review of dried fruits: Phytochemicals, antioxidant efficacies, and health benefits. *J Funct Foods.* 2016; 21: 113-32.
91. Zhang YJ, Gan RY, Li S, *et al.* Antioxidant phytochemicals for the prevention and treatment of chronic diseases. *Molecules.* 2015; 20(12): 21138-56.
92. Lu B, Li M, Yin R. Phytochemical content, health benefits, and toxicology of common edible flowers: A review (2000-2015). *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2016; 56(1) (Suppl. 1): S130-48.
93. Kowalska K, Olejnik A. Current evidence on the health-beneficial effects of berry fruits in the prevention and treatment of metabolic syndrome. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2016; 19(6): 446-52.
94. Skrovankova S, Sumczynski D, Mlcek J, Jurikova T, Sochor J. Bioactive compounds and antioxidant activity in different types of berries. *Int J Mol Sci.* 2015; 16(10): 24673-706.
95. de Souza VR, Pereira PAP, da Silva TLT, de Oliveira Lima LC, Pio R, Queiroz F. Determination of the bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Brazilian blackberry, red raspberry, strawberry, blueberry and sweet cherry fruits. *Food Chem.* 2014; 156: 362-8.
96. Aguiñiga-Sánchez I, Cadena-Íñiguez J, Santiago-Osorio E, Gómez-García G, Mendoza-Núñez VM, Rosado-Pérez J, *et al.* Chemical analyses and in vitro and in vivo toxicity of fruit methanol extract of *Sechium edule* var. *nigrum spinosum*. *Pharm Biol.* 2017; 55(1): 1638-1645. doi:10.1080/13880209.2017.1316746
97. Loizzo MR, Bonesi M, Menichini F, Tenuta MC, Leporini M, Tundis R. Antioxidant and carbohydrate-hydrolysing enzymes potential of *Sechium edule* (Jacq.) Swartz (Cucurbitaceae) peel, leaves and pulp fresh and processed. *Plant Foods Hum Nutr.* 2016; 71(4): 381-7. doi: 10.1007/s11130-016-0571-4.
98. Guzmán A, Navarro E, Obando L, Pacheco J, Quirós K, Vásquez L, *et al.* Effectiveness of interventions for the reversal of a metabolic syndrome diagnosis: An update of a meta-analysis of mixed treatment comparison studies. *Biomedica.* 2019;39(4):647-662. doi:10.7705/biomedica.4684.
99. Rana A, Samtiya M, Dhewa T, Mishra V, Aluko RE. Health benefits of polyphenols: A concise review. *J Food Biochem.* 2022;46(10):e14264. doi:10.1111/jfbc.14264.
100. Ganesan K, Xu B. A Critical Review on Polyphenols and Health Benefits of Black Soybeans. *Nutrients.* 2017;9(5):455. doi:10.3390/nu9050455.

101. Liu RH. Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. *J Nutr.* 2004;134(12 Suppl):3479S-3485S. doi:10.1093/jn/134.12.3479S.
102. Ganesan K, Xu B. A Critical Review on Polyphenols and Health Benefits of Black Soybeans. *Nutrients.* 2017;9(5):455. Published 2017 May 4. doi:10.3390/nu9050455.
103. Zeb A. Concept, mechanism, and applications of phenolic antioxidants in foods. *J Food Biochem.* 2020;44(9):e13394. doi: 10.1111/jfbc.13394.
104. Si TL, Liu Q, Ren YF, Li H, Xu XY, Li EH, Pan SY, Zhang JL, Wang KX. Enhanced anti-inflammatory effects of DHA and quercetin in lipopolysaccharide-induced RAW264.7 macrophages by inhibiting NF- κ B and MAPK activation. *Mol Med Rep.* 2016. 14(1);499-508.
105. Ferrazzano GF, Amato I, Ingenito A, Zarrelli A, Pinto G, Pollio A. Plant polyphenols and their anti-cariogenic properties: a review. *Molecules.* 2011;16(2):1486-1507. doi:10.3390/molecules16021486
106. Cai Y, Fang X, He C, Li P, Xiao F, Wang Y, Chen M. Cucurbitacins: A Systematic Review of the Phytochemistry and Anticancer Activity. *Am J Chin Med.* 2015;43(7):1331-1350. doi:10.1142/S0192415X15500755.
107. Silvestre GFG, de Lucena RP, da Silva Alves H. Cucurbitacins and the Immune System: Update in Research on Anti-inflammatory, Antioxidant, and Immunomodulatory Mechanisms. *Curr Med Chem.* 2022;29(21):3774-3789. doi:10.2174/0929867329666220107153253.
108. Newstrom LE. Evidence for the origin of chayote, *Sechium edule* (Cucurbitaceae). *Econ Bot.* 1991;45(3):410-428.
109. Dhiman K, Gupta A, Sharma DK, Gill NS, Goyal A. A review on the Medicinally Important Plants of the family curcubitaceae. *Asia Pac J Clin Nutrition.* 2012; 4(1):16-26.
110. Mitchell SA, Ahmad MH. A review of medicinal plant research at the University of the West Indies, Jamaica, 1948–2001. *West Indian Med J.* 2006; 55: 243–269.
111. Cadena-Iñiguez J, Arévalo-Galarza L, Avendaño-Arrazate CH, Soto-Hernández M, Ruiz-Posadas L, Santiago-Osorio E, *et al.* Production, genetics, postharvest management and pharmacological characteristics of *Sechium edule* (Jacq.) Sw. *Fresh Prod.* 2007;1(1) 41–53.
112. Aguiñiga-Sánchez I, Soto-Hernández M, Cadena-Iñiguez J, Ruíz-Posadas L del M, Cadena-Zamudio JD, González-Ugarte AK, *et al.* Fruit extract from a *Sechium edule* hybrid induce apoptosis in leukaemic cell lines but not in normal cells. *Nutr Cancer.* 2015;67(2):250-257. doi: 10.1080/01635581.2015.989370.
113. Wu TH, Chow LP, Lin JY. Sechiumin, a ribosome-inactivating protein from the edible gourd, *Sechium edule* Swartz--purification, characterization, molecular cloning and expression. *Eur J Biochem.* 1998;255(2):400-8. doi: 10.1046/j.1432-1327.1998.2550400.x.
114. Sateesh G, Hussaini SF, Kumar GS, Siva Rao BS. Anti-Ulcer activity of *Sechium edule* ethanolic fruit extract. *Pharma Innovation.* 2012;1(5) 77-79.
115. Neeraja K, Debnath R, Firdous SM. Cardioprotective activity of fruits of *Sechium edule*. *Bangladesh J Pharmacology.* 2015; 10(1):125-130.
116. Salama AM, Achenbach H, Sánchez L M, Gutiérrez GM. Aislamiento e identificación de glicósidos antiinflamatorios de los frutos de *Sechium edule*. *Rev Colombiana Cien Quím.–Farm.* 1987; 16: 15–16.

117. Firdous SM, Sravanthi K, Debnath R, Neraja K. Protective effect of ethanolic extract and its ethylacetate and n-butanol fractions of *Sechium edule* fruits against carbon tetrachloride induced hepatic injury in rats. *Int J Pharm Pharm Sci.* 2012; 4: 354-59.
118. Yang MY, Chan KC, Lee YJ, Chang XZ, Wu CH, Wang CJ. *Sechium edule* shoot extracts and active components improve obesity and a fatty liver that involved reducing hepatic lipogenesis and adipogenesis in high-fat-diet-fed rats. *J Agric Food Chem.* 2015; 63(18):4587-4596. Doi:10.1021/acs.jafc.5b00346.
119. Chao PY, Lin SY, Lin KH, Liu YF, Hsu JI, Yang CM, *et al.* Antioxidant Activity in Extracts of 27 Indigenous Taiwanese Vegetables. *Nutrients.* 2014; 6(5):2115-2130. doi :10.3390/nu6052115.
120. Sulaiman SF, Ooi KL, Supriatno. Antioxidant and α -glucosidase inhibitory activities of cucurbit fruit vegetables and identification of active and major constituents from phenolic-rich extracts of *Lagenaria siceraria* and *Sechium edule*. *J Agric Food Chem.* 2013;61(42):10080-10090. doi:10.1021/jf4031037.
121. Simpson R, Morris GA. The anti-diabetic potential of polysaccharides extracted from members of the cucurbitfamily : A review. *Bioact Carbohydr Diet Fibre.* 2014; 3(2):106-114.
122. Tiwari AK, Anusha I, Sumangali M, Kumar DA, Madhusudana K, Agawane SB. Preventive and therapeutic efficacies of *Benincasa hispida* and *Sechium edule* fruit's juice on sweet-beverages induced impaired glucose tolerance and oxidative stress. *Pharmacologia.* 2013. 4(3). 197-207. doi:10.17311/pharmacologia.2013.197.207
123. Maity S, Firdous SM, Debnath R. Evaluation of antidiabetic activity of ethanolic extract of *Sechium edule* fruits in alloxan-induced diabetic rats. *World J Pharm Pharm Sci.* 2013; 2: 3612-21.
124. Ammar NM, Al-Okbi SY. Effect of four flavonoids on blood glucose of rats. *Arch Pharmacol Res.* 1988. 11(2):166-168.
125. Santiago LA, Osato JA, Hiramatsu M, Edamatsu R, Mori A. Free radical scavenging action of Bio-catalyzer alpha.rho No.11 (Bio-normalyzer) and its by-product. *Free Radic Biol Med.* 1991;11(4):379-83. doi: 10.1016/0891-5849(91)90154-u.
126. Marotta F, Tajiri H, Barreto R, Brasca P, Idéo GM, Mondazzi L, *et al.* Cyanocobalamin absorption abnormality in alcoholics is improved by oral supplementation with a fermented papaya-derived antioxidant. *Hepato gastroenterology.* 2000;47(34):1189-1194.
127. Marotta F, Safran P, Tajiri H, Princess G, Anzulovic H, Idéo GM, *et al.* Improvement of Hemorheological Abnormalities in Alcoholics by an Oral Antioxidant. *Hepato gastroenterology.* 2001; 48(38):511-517.
128. Asociación Médica Mundial (AMM). Declaración de Helsinki. Principios éticos para las investigaciones con seres humanos. 64^a Asamblea General, Fortaleza, Brasil, Octubre 2013. [En línea]. Disponible en: <http://www.wma.net/es/30publications/10policies/b3/index.html>
129. Secretaría de Salud, Norma Oficial Mexicana NOM-030.SSA2-1999, para la prevención, tratamiento y control de la hipertensión arterial. México D.F: Secretaría de salud, 1999.
130. Janssen I, Heymsfield SB, Baumgartner RN, Ross R, Vetrano DL, Landi F, *et al.* Estimation of skeletal muscle mass by bioelectrical impedance analysis. *J Appl Physiol* 2000. 89:465-471.
131. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem.* 1972; 18: 499–502.

132. Jentzsch A, Bachmann H, Fürst P, Bielskaski HK. Improved analysis of malondialdehyde in human body fluids. *Free Radic Biol Med*. 1996; 20: 251-256.
133. Paglia DE and Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med*. 1967; 70:158-169.
134. Sánchez-Rodríguez M, Santiago-Osorio E, Vargas A, Mendoza-Núñez VM. Propuesta de un constructo para evaluar íntegramente el estrés oxidativo. *Bioquímica* 2004; 29 (3): 81-90.
135. Miller NJ. Nonvitamin plasma antioxidants. In: Armstrong D. Free radical and antioxidant protocols. *New Jersey: Humana Press*. 1998.p.285-297.
136. Vendrame S, Del Bo' C, Ciappellano S, Riso P, Klimis-Zacas D. Berry Fruit Consumption and Metabolic Syndrome. *Antioxidants (Basel)*. 2016;5(4):34. doi:10.3390/antiox5040034.
137. Zhang S, vieiXu M, Zhang W, Liu C, Chen S. Natural Polyphenols in Metabolic Syndrome: Protective Mechanisms and Clinical Applications. *Int J Mol Sci*. 2021;22(11):6110. doi:10.3390/ijms22116110.
138. Siciliano T, De Tommasi N, Morelli I, Braca A. Study of flavonoids of *Sechium edule* (Jacq) Swartz (Cucurbitaceae) different edible organs by liquid chromatography photodiode array mass spectrometry. *J Agric Food Chem*. 2004;52(21):6510-6515. doi:10.1021/jf040214q
139. Cadena-Iñiguez J, Arévalo-Galarza L, Avendaño-Arrazate CH, Soto-Hernández M, Ruiz-Posadas LdM, Santiago-Osorio E, *et al*. Production, genetics, postharvest management and pharmacological characteristics of *Sechium edule* (Jacq.) Sw. *Fresh Prod*. 2007;1:41-53.
140. Gavia-García G, Rosado-Pérez J, Aguiñiga-Sánchez I, Santiago-Osorio E, Mendoza-Núñez VM. Effect of *Sechium edule* var. *nigrum spinosum* (Chayote) on Telomerase Levels and Antioxidant Capacity in Older Adults with Metabolic Syndrome. *Antioxidants (Basel)*. 2020;9(7):634. doi:10.3390/antiox9070634.
141. Iñiguez-Luna MI, Cadena-Iñiguez J, Soto-Hernández RM, Morales-Flores FJ, Cortes-Cruz M, Watanabe KN. Natural Bioactive Compounds of *Sechium* spp. for Therapeutic and Nutraceutical Supplements. *Front Plant Sci*. 2021;12:772389. doi: 10.3389/fpls.2021.772389.
142. Modgil M, Modgil R, Kumar R. Carbohydrate and mineral content of Chayote (*Sechium edule*) and Bottle Gourd (*Lagenaria Siceraria*). *J Hum Ecol*. 2004; 15: 157–159.
143. Can B, Kara O, Kizilarlanoglu MC, Arik G, Aycicek GS, Sumer F, *et al*. Serum markers of inflammation and oxidative stress in sarcopenia. *Aging Clin Exp Res*. 2017;29(4):745-752. doi:10.1007/s40520-016-0626-2
144. Lombardo-Earl G, Roman-Ramos R, Zamilpa A, Herrera-Ruiz M, Rosas-Salgado G, Tortoriello J, *et al*. Extracts and fractions from edible roots of *Sechium edule* (Jacq.) Sw. with antihypertensive activity. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2014; 2014: 594326. Doi:10.1155/2014/594326.
145. Vieira EF, Pinho O, Ferreira IM, Delerue-Matos C. Chayote (*Sechium edule*): A review of nutritional composition, bioactivities and potential applications. *Food Chem*. 2019; 275: 557–568.
146. Marunaka Y. Actions of quercetin, a flavonoid, on ion transporters: its physiological roles. *Ann N Y Acad Sci*. 2017;1398(1):142-151. doi:10.1111/nyas.13361.
147. Marunaka Y, Marunaka R, Sun H, Yamamoto T, Kanamura N, Inui T, *et al*. Actions of Quercetin, a Polyphenol, on Blood Pressure. *Molecules*. 2017;22(2):209. doi:10.3390/molecules22020209.

148. Hii CS, Howell SL. Effects of flavonoids on insulin secretion and $^{45}\text{Ca}^{2+}$ handling in rat islets of Langerhans. *J Endocrinol.* 1985;107(1):1-8. doi:10.1677/joe.0.1070001
149. Tiwari AK, Kumar DA, Sweeya PSR, Abhinay KM, Hanumantha AC, Lavanya V, *et al.* Protein-tyrosine phosphatase 1β inhibitory activity potential in vegetables' juice. *Pharmacologia.* 2013, 4, 311–319. Doi:10.5567/pharmacologia.2013.311.319.
150. Millar CL, Duclos Q, Blesso CN. Effects of dietary flavonoids on reverse cholesterol transport, HDL metabolism, and HDL function. *Adv Nutr.* 2017; 8(2): 226–239. doi:10.3945/an.116.014050
151. Demirbag R, Yilmaz R, Gur M, Celik H, Guzel S, Selek S, *et al.* DNA damage in metabolic syndrome and its association with antioxidative and oxidative measurements. *Int J Clin Pract.* 2006;60(10):1187–1193. doi:10.1111/j.1742-1241.2006.01042.x
152. Vávrová L, Kodytková J, Zeman M, Dušejovská M, Macášek J, Staňková B, *et al.* Altered activities of antioxidant enzymes in patients with metabolic syndrome. *Obes Facts.* 2013;6(1):39-47. doi: 10.1159/000348569.
153. Rosado-Pérez J, Aguiñiga-Sánchez I, Santiago-Osorio E, Mendoza-Núñez VM. Effect of *Sechium edule* var. *nigrum spinosum* (chayote) on oxidative stress and pro-inflammatory markers in older adults with metabolic syndrome: An exploratory study. *Antioxidants (Basel).* 2019;8(5):146. doi:10.3390/antiox8050146
154. Ito F. Polyphenols can Potentially Prevent Atherosclerosis and Cardiovascular Disease by Modulating Macrophage Cholesterol Metabolism. *Curr Mol Pharmacol.* 2021;14(2):175-190. doi:10.2174/1874467213666200320153410.
155. Sanches-Silva A, Testai L, Nabavi SF, Battino M, Pandima Devi K, Tejada S, *et al.* Therapeutic potential of polyphenols in cardiovascular diseases: Regulation of mTOR signaling pathway. *Pharmacol Res.* 2020;152,104626. doi:10.1016/j.phrs.2019.104626.
156. Firdous SM, Shounak P, Bag AK. Effect of *Sechium edule* on chemical induced kidney damage in experimental animals. *Bangladesh J Pharmacol.* 2013;8, 28–35.
157. Trujillo J, Chirino YI, Martínez-Tagueña N, Pedraza-Chaverri J. Renal damage in the metabolic syndrome (MetSx): Disorders implicated. *Eur J Pharmacol.* 2017, 818, 554–568. doi:10.1016/j.ejphar.2017.11.032
158. La Russa D, Giordano F, Marrone A, Parafati M, Janda E, Pellegrino D. Oxidative Imbalance and Kidney Damage in Cafeteria Diet-Induced Rat Model of Metabolic Syndrome: Effect of Bergamot Polyphenolic Fraction. *Antioxidants (Basel).* 2019;8(3):66. doi:10.3390/antiox8030066
159. Gómez García G. Efecto hepatoprotector “in vivo” de extractos de *Sechium P. Browne* [tesis de Maestría]. Estado de México: Postgrado de Botánica, Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo; 2019.
160. Aguiñiga-Sánchez I, Soto-Hernández M, Cadena-Iñiguez J, Suwalski M, Colina J, Castillo I, *et al.* Phytochemical Analysis and Antioxidant and Anti-Inflammatory Capacity of the Extracts of Fruits of the *Sechium* Hybrid. *Molecules.* 2020;25(20):4637. doi:10.3390/molecules25204637.
161. Maatouk M, Elgueder D, Mustapha N, Chaaban H, Bzéouich IM, Loannou I, *et al.* Effect of heated naringenin on immunomodulatory properties and cellular antioxidant activity. *Cell Stress Chaperones.* 2016; 21(6): 1101-9. doi:10.1007/s12192-016-0734-0.
162. Valavanidis A, Vlachogianni T, Fiotakis C. 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG): A critical biomarker of oxidative stress and carcinogenesis. *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev.* 2009;27(2):120-139. doi:10.1080/10590500902885684.

163. Kroese LJ, Scheffer PG. 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine and cardiovascular disease: a systematic review. *Curr Atheroscler Rep*. 2014;16(11):452. doi:10.1007/s11883-014-0452-y.
164. Black CN, Bot M, Scheffer PG, Penninx BW. Sociodemographic and Lifestyle Determinants of Plasma Oxidative Stress Markers 8-OHdG and F2-Isoprostanes and Associations with Metabolic Syndrome. *Oxid Med Cell Longev*. 2016;2016: 7530820. doi:10.1155/2016/7530820.
165. Heim KE, Tagliaferro AR, Bobilya DJ. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure activity relationships. *J Nutr Biochem*. 2002;13(10): 572-84.
166. Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radic Biol Med*. 1996; 20(7): 933-956.
167. Kaneko T, Kaji K, Matsuo M. Protection of linoleic acid hydroperoxide-induced cytotoxicity by phenolic antioxidants. *Free Radic Biol Med*. 1994; 16(3): 405-409.
168. Yahfoufi N, Alsadi N, Jambi M, Matar C. The immunomodulatory and anti-inflammatory role of polyphenols. *Nutrients*. 2018;2: 16–18. doi:10.3390/nu10111618.
169. Carey AL, Febbraio MA. Interleukin-6 and insulin sensitivity: Friend or foe? *Diabetologia*. 2004; 47(7): 1135–1142. doi:10.1007/s00125-004-1447-y
170. Febbraio MA, Pedersen BK. Muscle-derived interleukin-6: Mechanisms for activation and possible biological roles. *FASEB J*. 2002; 16(11): 1335–1347. doi: 10.1096/fj.01-0876rev.
171. Stouthard JM, Oude-Elferink RP, Sauerwein HP. Interleukin-6 enhances glucose transport in 3T3-L1 adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun*. 1996; 220(2): 241–245. doi: 10.1006/bbrc.1996.0389.
172. Wallenius V, Wallenius K, Ahrén B, Rudling M, Carlsten H, Dickson SL, et al. Interleukin-6-deficient mice develop mature-onset obesity. *Nat Med*. 2002; 8(1): 75–79. doi:10.1038/nm0102-75

XIV. ANEXOS

CONSENTIMIENTO INFORMADO



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



EFFECTO DEL CONSUMO DE *Sechium Edule* EN LA SALUD DE ADULTOS MAYORES CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Antecedente

El chayote es ampliamente consumido en nuestro país y existen investigaciones que demuestran que contiene compuestos como los β -carotenos, flavonoides y otros con propiedades antioxidantes, hipoglucemiantes, hipotensoras, cardioprotectoras y anti inflamatorias.

El consumo regular del polvo de chayote puede beneficiar a los adultos que lo consuman ayudando a mejorar su salud y coadyuvando con el tratamiento de algunas enfermedades como diabetes, hipertensión y obesidad.

Objetivo

Conocer el efecto del consumo de *Sechium edule* (Chayote) 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 tomar 3 cápsulas de 500mg Chayote 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.

Beneficios

Las pruebas **no tendrán ningún costo** y los resultados de glucosa, perfil lipídico, biometría hemática 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 CONSUMO DE *Sechium Edule* EN LA SALUD DE ADULTOS MAYORES”** Y FIRMO VOLUNTARIAMENTE ESTE CONSENTIMIENTO INFORMADO.

Al firmar este consentimiento no renuncio a ninguno de mis derechos.

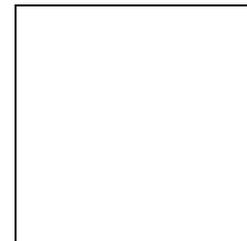
Nombre y firma del participante _____

Nombre y firma de un familiar (testigo): _____

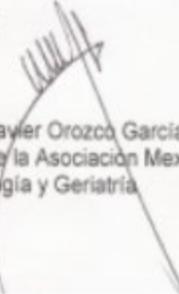
Nombre y firma del investigador: M en C. Taide Arista Ugalde

México, D.F. a ____ de _____ del 2019.

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.



COMPROBANTES DE CONGRESOS

	Asociación Mexicana de Gerontología y Geriatria A.C. IAGG Member	
MESA DIRECTIVA 2016-2018		
Dr. Ignacio Javier Orozco Garcia PRESIDENTE		Ciudad de México, a 11 de Abril de 2018
Dr. Armando González Bedoy SECRETARIO		
Dra. Ivonne K. Becerra Laparra VOCAL ACTIVIDADES CIENTÍFICAS	La Asociación Mexicana de Gerontología y Geriatria, A.C., extiende la presente Constancia de Participación en el <u>Concurso de Trabajos Libres</u> , durante el XXXII Congreso Internacional de la AMGG 2018 celebrado del 6 al 11 de abril del presente año, en la Unidad de Congresos del Centro Médico Nacional Siglo XXI del IMSS, en la Ciudad de México, a:	
Dr. Francisco Moreno y Turbay Dr. Francisco González Martínez VOCALES INVESTIGACIÓN	Arista Ugalde Taide, Rosado Perez Juana, Aguiñiga Lozano Itzen, Santiago Osorio Edelmiro, Mendoza Nuñez Victor Manuel	
Dr. Raúl Valencia López Dr. Lorenzo Garcia VOCALES ADMISIÓN	Con el trabajo titulado:	
MGS Gustavo Loreto Sierra VOCAL ACTIVIDADES GERONTOLÓGICAS	"EFECTO DEL CONSUMO DE SCECHIUM EDULE SOBRE PARAMETROS BIOQUIMICOS, CLINICOS Y ANTROPOMETRICOS EN ADULTOS MAYORES CON SDX METABOLICO".	
L.O. Ana María Rosas Muñoz VOCAL ODONTOGERIATRÍA	Agradeciendo su asistencia y felicitándoles por su labor de investigación en el área de Gerontología y Geriatria	
L.T.S. Marina A. Victoria Canchola VOCAL ACTIVIDADES SOCIALES	Atentamente	
Psic. Irma Escamilla Granados VOCAL PSICOGERIATRÍA		
Bigo. Luis Enrique Cervantes González TESORERO	Dr. Ignacio Javier Orozco Garcia Presidente de la Asociación Mexicana De Gerontología y Geriatria	



Contents lists available at ScienceDirect

Free Radical Biology and Medicine

journal homepage: www.elsevier.com/locate/free-radbiomed

Aging

300

Antioxidant Effect of *Sechium edule* (Chayote) Supplement Intake in Older Adults with Metabolic Syndrome: An Exploratory Study

Talde Arista-Ugaldé¹, Edelmiro Santiago-Osorio, Alberto Monroy-García, Jorge Cadena-Iñiguez², Víctor Manuel Mendoza-Núñez

¹Universidad Nacional Autónoma de México, México,
²Colegio de Postgraduados, México

Background: Metabolic syndrome (MetS) is a risk factor for frailty and other complications in older adults. Oxidative stress (OxS) is one of the pathophysiological mechanisms that occurs in MetS. For this reason, harmless antioxidant therapeutic alternatives have been proposed, such as the consumption of *Sechium edule* (chayote), but the evidence is inconclusive. **Objective:** To determine the antioxidant effect of *Sechium edule* supplement intake in older adults with MetS. **Method:** A pre-experimental exploratory study was carried out in a sample at convenience of 31 older adults with an average age of 66 ± 7 years (23 women and 8 men) with diagnosis of MetS according to the NCEP/ATP III criteria. All participants consumed a dried fruits supplement of *Sechium edule* var. *nigrum spinosum* (one 500 mg capsule three times daily) for 12 weeks, plasma total antioxidant status (TAS) were measured before and after treatment in addition to the biochemical markers of MetS. **Results:** A statistically significant increase in TAS was found (baseline 1.1 ± 0.02 vs. 1.3 ± 0.06 mmol/L, p < 0.05), in addition to a significant decrease in serum glucose concentration (baseline 131 ± 11.2 vs. 117 ± 9.4 mg/dL, p < 0.05). **Conclusions:** Our findings suggest that the consumption of *Sechium edule* supplement has an antioxidant and hypoglycemic effect in older adults with MetS. **Grants:** SECTI 045/2018, DGAPA, UNAM. PAPIIT: IN218718

nicotinamide mononucleotide (NMN), the prime NAD⁺ precursor in mammalian cells. In the current study, we identified a tryptophan-containing tri-peptide IRW, which directly interacts with active sites of NAMPT. Treatment of cultured L6 cells with IRW (25 and 50 μM) for 24h increased the intracellular NAMPT. IRW also ameliorated downregulated NAD⁺ levels following FK866 treatment, indicating its ability to block binding of NAMPT inhibitors. IRW also stabilized SIRT1, promoted FOXO3a production, and increased intracellular NAD⁺ levels. Similar results were observed in C57BL/6J obese mice fed IRW (45 mg/kg BW) for 6 weeks. Dosing of C57BL/6J obese mice with IRW elevated liver and muscle NAD⁺. The increase in liver NAMPT was confirmed using RNA-Seq, which also indicated an increase in other NAD⁺ related genes such as NQO1 and NMRK2. Interestingly, IRW treatment also increased levels of Cox subunits: C1, NDUFB8, CII, 30kDa, CIII-core protein 2, CIV subunit I and CV alpha subunit in both cultured L6 cells and C57BL/6J liver. Further, *Drosophila melanogaster* fed IRW for 1 week (25 and 50 μM) also showed increased levels of the NAD⁺ biosynthetic enzyme PNCl and a concomitant increase in mitochondrial NAD⁺. However, NAMPT levels remained unaltered in SIRT1 KO cells. As higher intracellular and tissue levels of NAD⁺ are linked to mitigation of aging pathologies, NAMPT activator such as IRW is a pioneering and novel approach to achieve salutary effects associated with increasing NAD⁺.

<https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2019.10.347>

302

Cyb5R3 in Alveolar Epithelial Cells Confers Protection Against the Development of Lung Fibrosis Through Suppression of TGF-β Signaling

Marta Berra, Diana Alvarez, Josselin Calvez, Christian



CERTIFICATE OF ATTENDANCE

26th Annual Conference of the
Society for Redox Biology and Medicine

This certifies that

Taide Laurita Arista Ugalde

has attended SfRBM 2019, held November 20-23, 2019,
at the Planet Hollywood Resort & Casino in Las Vegas, NV, USA.

A handwritten signature in black ink that reads "Kent Lindeman". The signature is written in a cursive style and is positioned above a horizontal line.

Kent Lindeman, CMP
Executive Director
November 23, 2019

Society for Redox Biology and Medicine | 8365 Keystone Crossing, Suite 107
Indianapolis, IN 46240 | (317) 205-9482 | info@srbm.org | srbm.org



ASOCIACIÓN MEXICANA DE GERONTOLOGÍA Y GERIATRÍA A.C.

otorga el presente

DIPLOMA

a

*Rosado-Pérez Juana
Arista Ugalde Taide Laurita
Cadena-Iñiguez J.
Mendoza-Núñez Víctor Manuel*

Por haber obtenido el

TERCER LUGAR

En el concurso de Trabajos Libres del 34 Congreso Internacional AMGG 2020
con el tema:

**"Efecto del consumo de *séchium edule* sobre marcadores
bioquímicos-clínicos en adultos mayores con síndrome metabólico"**

Ciudad de México, a 19 de noviembre de 2020.


Dr. Armando González Bedoy
Presidente


Dra. Irma Érika Druán de la Fuente
Secretaria



EFFECTO ANTIOXIDANTE DEL CONSUMO DE *Sechium edule* (CHAYOTE) EN ADULTOS JÓVENES CON SÍNDROME METABÓLICO. UN ESTUDIO EXPLORATORIO

UNAM
POSGRADO
Ciencias Biológicas
POS-04

Arista Ugaldé Talde L., Santiago Osorio Edelmirio, Monroy García Alberto, Cadena Iñiguez Jorge, Mendoza Núñez Víctor Manuel.
E-mail: talarista@gmail.com. Unidad de Investigación en Geriología, FES Zaragoza.

INTRODUCCIÓN

El síndrome metabólico (SM) es un problema de salud debido a su alta prevalencia en la población adulta, dicho síndrome se vincula con la resistencia a la insulina y se caracteriza por obesidad, hipertiglicidemia, hipertensión, hiperglicemia, dislipidemia, en quienes lo padecen. En México la prevalencia del SM en adultos jóvenes es de alrededor del 30%. (1) El estrés oxidativo (EOx) es uno de los mecanismos fisiopatológicos que se presentan en el SM, lo que explica los altos niveles de oxidantes en quienes lo padecen. Por lo anterior, se han buscado alternativas terapéuticas antioxidantes que coadyuven al tratamiento del SM.(2) Al respecto se ha reportado que el consumo de *S. edule*, un fruto comestible de la familia de las cucurbitáceas, tiene efectos antioxidantes, anti-inflamatorios, anticancerígenos, cardioprotectores, entre otros. Al respecto, existen estudios que han reportado la disminución sérica de triglicéridos, colesterol, glucosa, lipoproteínas (LPO) y aumento de antioxidantes en quienes lo consumen, debido al alto contenido de flavonoides y otros metabolitos presentes en dicho fruto.(3) sin embargo, no se han reportado resultados de estudios en población de adultos jóvenes Mexicanos.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Cuál es el efecto del consumo del fruto seco de *Sechium edule* luego de 12 semanas de tratamiento, en adultos jóvenes mexicanos con SM?

OBJETIVO

Determinar el efecto antioxidante del consumo de *Sechium edule* var. nigrum spinosum luego de 12 semanas de tratamiento, en adultos jóvenes con SM que viven en la Cd. De México.

METODOLOGÍA

Diseño y población de estudio

Se llevó a cabo un estudio exploratorio pre-experimental en una muestra a conveniencia de 15 adultos jóvenes con una edad promedio de 42 ± 8 años (10 mujeres y 5 hombres) con SM acorde a los criterios del NCEP/ATPIII.

Técnicas

Se midieron pre y post-intervención a todos los pacientes, la tensión arterial (TA) y medidas antropométricas de acuerdo al protocolo de evaluación estandarizado de la Unidad de Investigación en Geriología de la FES Zaragoza de la UNAM. Asimismo, previo a esto se tomaron muestras sanguíneas para la determinación de los parámetros bioquímicos: glucosa, albumina, hemoglobina glicosilada, perfil renal y hepático así como para la medición de enzimas antioxidantes (SOD y GPx), antioxidantes totales (AT) y niveles de lipoproteínas (LPO). Las muestras se analizaron en un equipo automatizado Selecta Jr. mediante técnicas colorimétricas con estudios de Laboratorio Randos. Se determinó el SM de acuerdo a los criterios establecidos por el ATPIII (Glucosa ≥110mg/dL, Triglicéridos ≥150 mg/dL, TIA ≥130mg/dmHg, HDL: Hombres <40 mg/dL, Mujeres <50 mg/dL, y Cintura: Hombres >102cm, Mujeres >88cm). Previa firma de consentimiento informado, los participantes consumieron un suplemento en polvo de fruto seco de *Sechium edule* var. *Nigrum spinosum* (una cápsula de 500mg 3 veces al día) durante 12 semanas.

Análisis estadístico

Se calcularon medias y desviación estándar y se compararon por la prueba t para muestras relacionadas. El análisis se realizó en el paquete estadístico SPSS V18, con una confiabilidad del 95%.

RESULTADOS

En el cuadro 1 se observan los parámetros clínicos en donde no se encontraron diferencias significativas.

Cuadro 1. Parámetros clínicos de la población. Promedio y error estándar

Parámetro	Pre intervención	Post intervención	Valor de P
Edad	42.6 ± 8.0		
Peso (kg)	95.9 ± 5.7	96.2 ± 6.5	0.54
TAB (mm Hg)	120 ± 3.4	122 ± 2.8	0.27
TAD (mm Hg)	84 ± 2.9	83 ± 3.1	0.73
Circunferencia de cintura (cm)	122 ± 6.7	123 ± 6.4	0.30
Circunferencia de cadera (cm)	125 ± 6.2	129 ± 6.9	0.33

T de Student, p < 0.05 TAB: Tensión arterial sistólica, TAD: Tensión arterial diastólica

En el cuadro 2 se observan una disminución significativa de la glucosa, y creatinina después del tratamiento. También observamos un aumento de la fracción HDL-Colesterol. No se observaron cambios en el perfil lipídico

Cuadro 2. Parámetros bioquímicos. Promedio y error estándar.

Parámetro	Pre intervención	Post intervención	Valor de P
Glucosa (mg/dL)	128.6 ± 19.8	107.4 ± 8.0	0.05
Colesterol Total (mg/dL)	193.8 ± 7.7	196 ± 11.7	0.87
Triglicéridos (mg/dL)	195.8 ± 7.7	199.0 ± 17	0.040
HDL-Col. (mg/dL)	44.0 ± 2.0	48.6 ± 2.7	0.05
Ácido Úrico (mg/dL)	4.5 ± 1.0	4.0 ± 1.8	0.035
HbA1c (%)	6.0 ± 0.55	5.5 ± 0.41	0.09
Urea (mg/dL)	27.1 ± 1.0	28.4 ± 1.4	0.41
Creatinina (mg/dL)	0.80 ± 0.03	0.66 ± 0.06	0.06
Albumina (mg/dL)	4.51 ± 0.09	4.4 ± 0.07	0.51
Micro albumina (mg/L)	11.7 ± 3.6	11.4 ± 3.1	0.88
TCO (U/L)	31.6 ± 3.0	35.0 ± 4.3	0.17
TCP (U/L)	4.8 ± 5.3	47.5 ± 7.9	0.06
Bilirrubina Total (mg/dL)	0.91 ± 0.06	0.36 ± 0.03	0.34
Bilirrubina Dir. (mg/dL)	0.19 ± 0.04	0.14 ± 0.02	0.47

T de Student, p < 0.05. HDL-Col: Lipoproteínas de alta densidad, Dir: Directa, HbA1c: Hemoglobina glicosilada, TCO: Transaminasa glutámico oxalotica, TCP: Transaminasa glutámico

En el cuadro 3 se muestran los marcadores de estrés oxidativo, en donde se observa un aumento significativo de los AT y una disminución de los lipoproteínas

Cuadro 3. Marcadores de estrés oxidativo pre y post intervención. Promedio y error estándar.

Variable	Pre intervención	Post intervención	Valor de P
Lipoproteínas (µmol/L)	0.22 ± 0.04	0.19 ± 0.13	0.05
SCD (LUX)	175 ± 2.2	178 ± 2.0	0.40
OPx (U/L)	6735 ± 714	5812 ± 555	0.11
AT (nmol/L)	0.99 ± 0.24	1.20 ± 0.29	0.01
SCDGPx	0.02 ± 0.006	0.03 ± 0.006	0.33

T de Student, p < 0.05. SCD: Superóxido dismutasa, OPx: glutatión peroxidasa, AT: antioxidantes totales.

DISCUSIÓN

El SM es un problema de salud debido a su alta prevalencia y a las complicaciones que padecen quienes cursan con él. En este estudio, encontramos una disminución de la glucosa sérica, lo cual ya se ha sido reportado por otros autores, dicho efecto se explica por la alta cantidad de flavonoides que contiene el chayote, mismos que provocan un efecto hipoglucemiante secundario a la mejora en la sensibilidad de la insulina, dada por las modificaciones del metabolismo en las células de Langerhans del páncreas.(4) También observamos una disminución de los triglicéridos y aumento del HDL-colesterol, lo cual refleja un efecto antioxidante y la prevención de la homeostasis de colesterol debido a la presencia de flavonoides antioxidantes como la naringenina, que promueven una mejora en la función cardiovascular. Respecto a los marcadores de funcionamiento hepático no se encontraron diferencias significativas, pero sí una disminución de la creatinina, lo cual refleja una mejora en el funcionamiento renal, estos resultados coinciden con otros estudios en donde después de la administración de extractos de *S. edule* en ratas con daño renal, se observó una disminución de urea y creatinina.(5) Respecto al aumento significativo de AT, es consistente con lo reportado anteriormente sobre los diferentes componentes activos de *S. edule* como los ácidos gálico, clorogénico, vanílico, caftarico y cumárico; flavonoides como Flortidina, naringenina, fureína y apigenina. Estas moléculas han sido estudiadas y se ha reportado que tienen potentes propiedades antioxidantes y antiinflamatorias.(6) El incremento de AT está acompañado de la disminución de los lipoproteínas, lo cual muestra la magnitud del efecto que puede estar asociado al consumo del chayote sobre la oxidación de los lípidos, principalmente (4)

CONCLUSIONES Los resultados sugieren que el consumo de *S. edule* coadyuva en el aumento de antioxidantes totales y HDL-colesterol, así como en la disminución de los niveles de LPO, triglicéridos, glucosa y creatinina en los adultos jóvenes con SM.

AGRADECIMIENTOS DGAPA-UNAM, PAPIIT: IN218718 y al Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM

REFERENCIAS

1. Wang D, et al. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*. 2017;22(4):365-367.
2. Rosado-Pardo J. *J Nutr Health Aging*. 2012; 16(7):540-545.
3. Aguayo-Soto L. *Pharm. Res*. 2017; 36, 1633-43
4. García-García G. *Antioxidants*. 2020; 9: 604
5. Finkova S. *J. Pharmacol*, 2010, 9-28-25



UNIVERSIDAD
NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO



Reconocimiento

Que otorga la
**FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES ZARAGOZA**
a través de la División de
Estudios de Posgrado e
Investigación

A *Taide Laurita Arista Ugalde, Edelmiro Santiago Osorio, Alberto Monroy García, Jorge Cadena Iñiguez, Víctor Manuel Mendoza Núñez*

Como ponentes del trabajo Efecto antioxidante del consumo de *Sechium edule* (chayote) en adultos jóvenes con síndrome metabólico. Un estudio exploratorio (POS-04), en el marco del 16° Congreso de Investigación de la FES Zaragoza, los días 23 al 27 de noviembre del 2020, en la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza.

“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”

Ciudad de México, a 22 de enero de 2021

Dr. David Nahum Espinosa Organista

Jefe de la División



Aging

206

Unacylated Ghrelin Protects Against Neurogenic Atrophy and Contractile Dysfunction in a Redox-dependent Sarcopenia

Bumsoo Ahn, Rojina Ranjit, Holly Van Remmon

Oklahoma Medical Research Foundation, USA

Sarcopenia, the progressive loss of muscle mass and dysfunction, universally affects the elderly and is closely associated with frailty, but no interventions are currently available. Ghrelin is a gut-released hormone that increases appetite and body weight through acylation (acyl ghrelin, AG), which binds to its receptors (GHSR1a) in pituitary and hypothalamus. AG and “unacyl” ghrelin (UnAG) both directly increase proliferation in cultured myotubes and ameliorates a loss of muscle mass in acute pathological conditions (e.g. denervation), independent of GHSR1a receptor activation. Activation of GHSR1a promotes adiposity, which is detrimental to muscle function. Therefore, we hypothesized that AG and UnAG protects against loss of muscle mass and function in redox-dependent sarcopenia. We used a mouse model of redox dependent sarcopenia, mice lacking cytoplasmic superoxide scavenger CuZnSOD (Sod1KO) that show accelerated loss of muscle mass and function in young male mice. Starting at 2 months of age when the mice begin to exhibit atrophy, UnAG (100 µg/kg/day) was continuously released in WT and Sod1KO mice for 4 weeks using osmotic pumps. In contrast to AG, UnAG did not affect food consumption or body weight. Muscle mass of gastrocnemius and quadriceps were ~20-30% decreased in Sod1KO mice, but UnAG ameliorated the atrophy by 50-70% for both muscles. Specific force (force per cross-sectional area) of isolated EDL muscle was diminished by ~30% in Sod1KO, but UnAG restored the force deficit by ~80% in the KO mice. Further, our preliminary analyses to investigate the protective mechanisms of UnAG suggest that upregulation of protein kinase A (PKA) and hyper-phosphorylation of FoxO3a signaling pathways may contribute to the protective effect of UnAG. Our data indicate, for the first time, a direct role of UnAG on redox-dependent sarcopenia independent of changes of food consumption or body weight, suggesting that UnAG might be an effective therapy in age-dependent sarcopenia.

doi: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2020.10.261>

207

Mitochondrial Fragmentation and Decreased Oxygen Consumption Rates in Skeletal Muscle Derived Cells from an Old Human Donor

José A. Arevalo, Marvin Miller, José Pablo Vazquez-Medina, George A. Brooks

University of California, Berkeley, USA

With age, skeletal muscle mitochondria lose their ability to fuse and regenerate leading to fragmentation. These phenomena increase the risk of developing age-related diseases such as sarcopenia and metabolic inflexibility. Our objective was to investigate mitochondrial morphology and maximal oxygen consumption rates (OCR) of skeletal muscle cells derived from healthy young and old human donors. Primary skeletal muscle cells derived from the Rectus abdominis muscle of healthy active eighteen and sixty-nine-year-old human donors were obtained from Cook MyoSite Inc. (Pittsburgh, PA). Cells were stained with MitoTracker Red and mitochondrial morphology was observed in live cells using a Zeiss LSM 710 AxioObserver inverted confocal scanning microscope. The footprint of the mitochondrial network was analyzed using the Mitochondrial Network Analysis tool in ImageJ. Oxygen consumption rates were measured in intact cells using Seahorse Cell Mito Stress Tests and a XFp extracellular flux analyzer. Primary cells derived from the young donor had a larger mitochondrial footprint, longer branch length, and a greater number of network branches compared to the cells derived from the old donor (Footprint: 34.65 ± 25.30 vs. 11.64 ± 9.53 µm²; Branch Length: 20.59 ± 7.23 vs. 12.10 ± 6.84 µm; Network: 17.25 ± 0.16 vs. 7.67 ± 4.97 counts). Basal and Maximal OCR were also higher in cells derived from the young donor than in cells derived from the old donor (Basal: 38.78 ± 8.34 vs. 12.82 ± 2.07; Maximal: 60.09 ± 10.84 vs. 20.52 ± 2.36 pmol/min/protein). These preliminary results suggest that dysregulated mitochondrial dynamics in aging is related to impaired mitochondrial function. Moreover, these results also suggest that studies of mitochondrial fragmentation in primary human cells could be useful to elucidate the effects of aging on skeletal muscle mitochondrial dysfunction and loss of metabolic flexibility.

doi: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2020.10.262>

208

Antioxidant Effect of *Sechium edule* (Chayote) Supplement Intake in Older Adults with Metabolic Syndrome

Tzide Arista-Ugaldé¹, Edelmiro Santiago-Ovorio¹, Alberto Monroy-García¹, Jorge Cadena-Iñiguez², Víctor Manuel Mondrón-Núñez¹¹Universidad Nacional Autónoma de México, México, ²Colegio de Postgraduados, México

Background. Metabolic syndrome (MetS) is a risk factor for diabetes, cardiovascular disease and frailty among other complications in older adults. Oxidative stress (OxS) is one of the pathophysiological mechanisms that occur in MetS linked to these diseases. For this reason, harmless antioxidant therapeutic alternatives have been proposed, such as the consumption of *Sechium edule* (chayote), but the evidence is low. **Objective.** To determine the antioxidant effect of *Sechium edule* supplement for 8 months intake, in older adults with MetS. **Methods.** A quasi-experimental

study was carried out in a sample of 60 older adults with diagnosis of MetS according to the NCEP/ATP III criteria. The subjects were randomly assigned into two groups: placebo group (PG) n=30, and experimental group (EG) n=30, both EG and PG intake three 500 mg capsules/day of *Sechium edule* or placebo (one before each meal) for six months. We measured thiobarbituric acid reactive species (TBARS), total antioxidant status (TAS), before and after treatment in addition to the biochemical markers of MetS. Results. A statistically significant increase was found in TAS (baseline 1.0 ± 0.17 vs. post-treatment 1.3 ± 0.15 mmol / L, $p < 0.05$), in addition to a decrease of TBARS (baseline 0.31 ± 0.11 vs. post-treatment 0.23 ± 0.09 μ mol / L, $p < 0.05$) in the EG compared to the PG that did not show significant changes. Conclusions. Our findings suggest that the consumption of *Sechium edule* supplement has an antioxidant effect in older adults with MetS.

doi: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2020.10.263>

209

Mitofusin 1 Regulates Platelet Function and is Associated with Age-related Thrombosis

Andrea Braganza Jardim, Gowtham Annarapu, Christopher Reyes, Katherine Wood, Sruti Shiva

University of Pittsburgh, USA

Aging increases the risk of deadly cardiovascular thrombotic diseases such as stroke, deep vein thrombosis and myocardial infarction. Platelet activation and aggregation lead to thrombus formation and increase with age. Platelets contain fully functional mitochondria that regulate platelet function through the production of ATP and reactive oxygen species (mtROS). Recent data from our lab demonstrates that platelet bioenergetics are altered with age. However, the mechanisms underlying age-associated platelet mitochondrial alterations and their role in regulating platelet activation remain unclear. We observed that platelets isolated from healthy older human subjects show altered mitochondrial bioenergetics associated with increased mtROS production compared to platelets from young subjects. Notably, we found that the expression of mitofusin 1 (MFN1), a protein catalyst of mitochondrial fusion, decreases significantly in human platelets with age. Here we hypothesize that MFN1 regulates platelet mitochondrial function and loss of MFN1 stimulates thrombotic activation. We show that in wildtype mice, platelet MFN1 expression decreases with age (similar to humans) and older wildtype mice (1.5 year) have an increased propensity for clot formation in a ferric chloride (FeCl₃)-model of vascular injury. To specifically test the role of MFN1 in platelet function, we developed a novel platelet-specific MFN1 knockout (MFN1 KO) mouse. These mice showed no change in platelet number compared to wildtype mice but demonstrated an increase in platelet activation and mtROS even at a young (12 weeks) age (phenocopying old wildtype mice). Additionally, young MFN1 KO mice showed a shorter time to complete occlusion in the FeCl₃-vascular injury model compared to age-matched wildtype mice. These studies demonstrate for the first time that MFN1 plays a role in

platelet function and activation. Ongoing studies are investigating the mechanisms by which MFN1 regulates platelet activation and thrombosis as well as the factors that decrease MFN1 expression with age.

doi: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2020.10.264>

210

The lipid hydroperoxide scavenger liproxstatin-1 reduces denervation-induced muscle pathology

Jacob Brown, Rojina Ranjit, Lauren Oliver, Holly Van Remmen

Oklahoma Medical Research Foundation, USA

Loss of motor neurons and impaired innervation of neuromuscular junctions are key drivers of age-related loss of muscle mass and function (sarcopenia). The generation of hydroperoxides in isolated skeletal muscle mitochondria and fiber bundles is dramatically elevated in denervated skeletal muscle, and strongly correlated to the extent of muscle atrophy in different neurogenic atrophy models. Experiments from our laboratory show hydroperoxides generated from denervated muscle are primarily composed of lipid hydroperoxides (LOOH) generated by the mitochondria. To test whether LOOHs play a causal role in denervation induced atrophy, we treated mice with liproxstatin-1, an LOOH scavenger and measured the effect on muscle atrophy and muscle degenerative pathways. One day prior to denervation surgery and daily for 7 days following surgery, mice were treated with Liproxstatin-1 or vehicle. Mice were subjected to sciatic nerve transection surgery, a model to mimic age-related loss of motor neuron innervation to skeletal muscle. Transection was performed on the left hindlimb and the contralateral limb was used as a sham surgery control. After 7 days, the gastrocnemius muscle was collected for measuring hydroperoxide generation in muscle fibers, electron microscopy and histology. We found that liproxstatin-1 decreased hydroperoxide generation in permeabilized muscle fibers by ~60% when compared to fibers from vehicle treated denervated muscle. Strikingly, we also found a ~28% protection from denervation-induced loss of muscle mass in liproxstatin-1 treated mice. Electron microscopy analysis of denervated muscle revealed mitochondria are larger in size and have altered morphology after denervation, which was reversed in liproxstatin-1 treated mice. There was a trend for a ~20% increase in mean fiber cross sectional area in denervated muscle from mice treated with liproxstatin-1 when compared to denervated muscle from vehicle treated mice. These data suggest targeting LOOHs could be an effective strategy to protect against denervation-induced muscle loss.

doi: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2020.10.265>



The Officers and Council of the

are pleased to recognize

Taide Arista-Ugalde

Universidad Nacional Autónoma de México

For presentation titled:

Antioxidant effect of *Sechium edule* (Chayote) supplement intake in older adults with metabolic syndrome

at the SfRBM 2020 Meeting

November 20, 2020

Date

Phyllis Dennerly, MD, President



LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
Y EL DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA SALUD



Otorgan la presente
Constancia

A: Arista Ugalde Taide Laurita, Correa Arévalo José Antonio, Rosado Pérez Juana, Aguiñiga Sánchez Itzen, Gavia García Graciela, Hernández Álvarez David, Cadena Iñiguez Jorge, Santiago Osorio Edelmiro, Mendoza Núñez Víctor Manuel

Por la presentación del trabajo:

Efecto antioxidante del consumo de *Sechium edule* en adultos mayores con hipertensión: un estudio exploratorio

En el XXVII Simposio del Departamento de Ciencias de la Salud

Celebrado del 28 de noviembre al 2 de Diciembre del 2022



Dr. Fernando Rivera Cabrera
Jefe del Departamento de Ciencias de la Salud

Comité Organizador: Dra. Adriana Alarcón Aguilar, Dra. Eisa Cervantes Ríos, Dra. Norma Edith López Díaz-Guerrero, Dra. Ofelia Limón Morales, Dra. Bárbara Vargas Miranda, Dr. Noé Salinas Arreortua



ARTÍCULO PRODUCTO DE LA INVESTIGACIÓN



antioxidants



Article

Antioxidant and Anti-Inflammatory Effect of the Consumption of Powdered Concentrate of *Sechium edule* var. *nigrum spinosum* in Mexican Older Adults with Metabolic Syndrome

Taide Laurita Arista-Ugalde ¹, Edelmiro Santiago-Osorio ², Alberto Monroy-García ³, Juana Rosado-Pérez ¹, Itzen Aguiñiga-Sánchez ⁴, Jorge Cadena-Iñiguez ⁵, Graciela Gavia-García ¹ and Victor Manuel Mendoza-Núñez ^{1,*}

- ¹ Research Unit on Gerontology, FES Zaragoza, National Autonomous University of Mexico, Mexico City 09230, Mexico; tdlarista@comunidad.unam.mx (T.L.A.-U.); juanarosadoperez@comunidad.unam.mx (J.R.-P.); ggg1501@hotmail.com (G.G.-G.)
- ² Hematopoiesis and Leukemia Laboratory, Research Unit on Cell Differentiation and Cancer, FES Zaragoza, National Autonomous University of Mexico, Mexico City 09230, Mexico; edelmiro@unam.mx
- ³ Immunology and Cancer Laboratory, Medical Research Unit in Oncological Diseases, CMN SXXI, Instituto Mexicano del Seguro Social, Mexico City 06720, Mexico; albertomong13@comunidad.unam.mx
- ⁴ Postgraduate College, Campus San Luis Potosí, Iturbide No. 73 Street, Salinas de Hidalgo, San Luis Potosí 78600, Mexico; liberitzen@comunidad.unam.mx
- ⁵ Department of Biomedical Sciences, School of Medicine, FES Zaragoza, National Autonomous University of Mexico, Mexico City 09230, Mexico; jocadena@colpos.mx
- * Correspondence: mendovic@unam.mx; Tel: +52-55-5623-0721; Fax: +52-55-5773-6330



Citation: Arista-Ugalde, T.L.; Santiago-Osorio, E.; Monroy-García, A.; Rosado-Pérez, J.; Aguiñiga-Sánchez, I.; Cadena-Iñiguez, J.; Gavia-García, G.; Mendoza-Núñez, V.M. Antioxidant and Anti-Inflammatory Effect of the Consumption of Powdered Concentrate of *Sechium edule* var. *nigrum spinosum* in Mexican Older Adults with Metabolic Syndrome. *Antioxidants* 2022, 11, 1076. <https://doi.org/10.3390/antiox11061076>

Academic Editors: Gianluca Rizzo and Mauro Lombardo

Received: 26 April 2022

Accepted: 26 May 2022

Published: 28 May 2022

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: Metabolic syndrome (MetS) has a high prevalence in older adults and is a risk factor for cardiovascular diseases and complications of old age. It has also been related to oxidative stress (OxS) and chronic inflammation (CI) and their consequent alterations. Therefore, it is important to propose therapeutic alternatives such as the consumption of *Sechium edule* (Chayote), since hypoglycemic, hypotensive, and lipogenesis inhibitor properties are attributed to it. We carried out a study in 81 older adults (OA) with MetS to determine the effect of consumption of chayote powder concentrate (500 mg, three times a day) for six months, with a baseline measurement, at three and six months in an experimental group (EG) ($n = 41$) and a placebo group (PG) ($n = 40$), all with a diagnosis of MetS according to the criteria of National Adult Treatment Panel of the National Cholesterol Program III (NCEP/ATP III). Anthropometric, biochemical, OxS markers, and inflammation measurements were performed on all participants, basal, three, and six months after. A statistically significant decrease was found in the concentration of lipoperoxides (TBARS), 8-isoprostanes, 8-OHdG, oxidative stress score (OSS), HbA1c, blood pressure, and in the number of MetS diagnostic criteria, as well as an increase in total antioxidant status (TAS), antioxidant gap (GAP), superoxide dismutase (SOD), interleukin 10 (IL-10), and HDL-cholesterol in EG. The results suggest that the consumption of *Sechium edule* powder has a hypotensive, hypoglycemic, antioxidant, and anti-inflammatory effect in OA with MetS and reduced the percentage of patients with MetS.

Keywords: metabolic syndrome; oxidative stress; anti-inflammatory; *Sechium edule*; older adults

1. Introduction

Oxidative stress (OxS) is a biochemical alteration characterized by an imbalance between the generation of free radicals and antioxidants, in favor of the former, which causes oxidative damage to macromolecules (proteins, carbohydrates, lipids, and DNA). This alteration has been linked to aging and the pathophysiology of more than 100 chronic non-communicable diseases, including metabolic syndrome (MetS) [1–3].

On the other hand, it has been pointed out that aging per se occurs with a chronic inflammatory process (CIP) called “inflamm-aging”, which increases vulnerability to the