



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
“ZARAGOZA”**

**INFLUENCIA DEL LUGAR DE RESIDENCIA SOBRE  
EL ESTRÉS OXIDATIVO EN UNA POBLACIÓN  
DE ADULTOS MAYORES**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

**P R E S E N T A**

**ADA SARAÍ BERISTAIN PÉREZ**

**ASESORES:**

**DR. VICTOR MANUEL MENDOZA NÚÑEZ  
M. MARTHA A. SÁNCHEZ RODRÍGUEZ**



**2004**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

## DEDICATORIAS.

*Papá y mamá:*

*Juntos hemos vivido experiencias que nos han hecho crecer como familia.*

*Ustedes son los que han guiado mi camino y me han llevado hasta el lugar en el que hoy me encuentro.*

*Saben que son parte muy importante de mi vida y que les agradezco cada día de trabajo porque sé que era pensando en mi, les agradezco todo el amor y el apoyo desinteresado que me han brindado hasta el día de hoy y la infinita paciencia y comprensión que han tenido conmigo y con mi hermoso carácter.*

*Hoy puedo decir que gracias a Dios hemos dado un gran paso.*

*Joni:*

*No se que hubiera sido de mi sin tus ocurrencias y todas esas veces que me hacías reír.*

*Gracias familia, esta tesis es la culminación de nuestro esfuerzo realizado por muchos años y por eso es para ustedes:*

*Para mi amoroso papá, mi apapachadora mamá y mi ocurrente hermano.*

*Berna:*

*Tu gran amor y comprensión han sido motivos muy especiales en mi vida para seguir adelante.*

*Gracias por tener siempre el consejo adecuado en el momento oportuno.*

*Sin esa chispa que inyectaste a mi vida y sin esa palmadita en el hombro, tal vez todavía no tendrías esta tesis  
en tus manos.*

*A ti y tu inmenso amor, está dedicada esta tesis.*

*Te amo corazón.*

## AGRADECIMIENTOS.

*Muchas gracias a todos los miembros de la unidad de Investigación en Gerontología.*

*En especial, gracias al Dr. Víctor, a la Maestra Martha y a la Maestra Raquel por todas las asesorías que me han brindado en este tiempo, por compartir su conocimiento conmigo y por la confianza que han depositado en mi. Son un gran ejemplo a seguir.*

*Gracias a Mirna por apoyarme en el montaje y desarrollo de las técnicas del Laboratorio y por ser una gran amiga.*

*Juani:*

*Después de tanto tiempo hemos visto el fruto de nuestro esfuerzo, gracias por ser una amiga incondicional.*

## ÍNDICE

I. Resumen	1
II. Introducción	2
III. Marco teórico	4
III.1. Envejecimiento, transición demográfica y epidemiológica	5
III.2. Envejecimiento y daño oxidativo	9
III.3. Sistema de defensa antioxidante	15
III.4. Envejecimiento y estrés oxidativo	18
III.5. Estrés oxidativo, estilo de vida y factores ambientales	21
III.6. Envejecimiento, estrés oxidativo y lugar de residencia	25
IV. Planteamiento del problema	27
V. Hipótesis	28
VI. Objetivo	28
VII. Material y métodos	29
VII.1 Población y tipo de estudio	29
VII.2. Variables	29
VII.3 Técnicas	32
VII.4 Análisis estadístico	38
VIII. Resultados	39
IX. Discusión de resultados	48
X. Conclusiones	54
XI. Perspectivas	55
XII. Referencias	56

## I. RESUMEN.

**Antecedentes:** El estrés oxidativo (EOx) es un desequilibrio a favor de la formación de especies reactivas de oxígeno (EROs) con respecto a la acción del sistema antioxidante (SA) que compromete la homeostasis de los organismos. Esta alteración bioquímica se ha relacionado con el envejecimiento y la etiopatogenia de las enfermedades de mayor prevalencia durante la vejez. El EOx está determinado por mecanismos biológicos y ambientales, entre los que podemos destacar el envejecimiento y el ambiente urbano generador de contaminación ambiental y estrés psicológico, procesos vinculados con la mayor generación de EROs., sin embargo los reportes científicos al respecto son inconsistentes, de ahí la relevancia del presente estudio.

**Objetivo:** Determinar la influencia del lugar de residencia sobre el EOx en una población de adultos mayores (AM).

**Método:** Se llevó a cabo un estudio observacional, prolectivo, transversal y comparativo en una población de 153 AM ( $\geq 60$  años) de ambos sexos, clínicamente sanos desde el punto de vista gerontológico, 60 de Actopan, Hgo. (residencia rural) y 93 de la Cd. de México (residencia urbana). En ambos grupos se determinaron los marcadores biológicos de EOx: lipoperóxidos (LPO), daño oxidativo al ADN, y eficiencia del sistema antioxidante que por medio de la medición de las enzimas superóxido dismutasa (SOD) glutatión peroxidasa (GPx), antioxidantes totales (AT) y brecha antioxidante (GAP). Así mismo, se establecieron las categorías de sistema antioxidante eficiente (SAE), deficiencia antioxidante endógena (DAEN), deficiencia antioxidante exógena (DAEX) y deficiencia global del sistema antioxidante (DGSA). Para el análisis de los resultados se aplicaron las pruebas estadísticas de ANOVA, t de Student, ji cuadrada ( $\chi^2$ ) y razón de momios (RM) con un intervalo de confianza al 95%, estableciendo como significancia estadística cuando  $p < 0.05$ .

**Resultados:** Los AM del área urbana presentan niveles significativamente más altos de LPO que los AM que residen en el área rural ( $0.347 \pm 0.109$  mmol/L vs.  $0.233 \pm 0.103$  mmol/L,  $p < 0.0001$ ). Así mismo, el EOx fue más frecuente en AM del área urbana que en AM del área rural (97% vs. 60%;  $p < 0.0001$ ). Se encontró que el lugar de residencia urbano representa un factor de riesgo significativo para EOx (RM = 30.33, IC95%: 6.81-135.02,  $p < 0.0001$ ).

Por otro lado, los AM que no presentan daño oxidativo del área urbana presentaron un DGSA significativamente más alto que los residentes del área rural (urbana 19% vs rural 3%;  $p < 0.0001$ ); así mismo los AM del área rural mayor DAEN que los del área urbana (rural = 18% vs. urbana 6%;  $p < 0.05$ ) y mayor DAEX en el área rural que en la urbana (rural = 5% vs. urbana = 3%;  $p < 0.01$ ).

**Conclusiones:** Se concluye que el lugar de residencia urbano constituye un factor de riesgo significativo para el establecimiento del EOx en AM. Así mismo, los AM residentes en el área urbana presentan mayor deficiencia del sistema antioxidante, por lo que se justificaría la indicación de antioxidantes vitamínicos con fines preventivos en estos sujetos.

## **II. INTRODUCCIÓN**

El mundo está cursando por una transición demográfica y consecuentemente un envejecimiento poblacional, sobre todo en los países en desarrollo como es el caso de México, debido al incremento en la esperanza de vida y la disminución en las tasas de mortalidad y natalidad, lo cual está propiciando problemas sociales, económicos y de salud relacionados con la vejez, de ahí que en las últimas décadas el desarrollo de la Geriatria y Gerontología es considerado como prioritario.

Por tal motivo, en nuestro país se han impulsado líneas de investigación orientadas al estudio de los aspectos biológicos, psicológicos y sociales del envejecimiento y la vejez, con el fin de comprender el proceso y mecanismos involucrados en el envejecimiento usual, exitoso y patológico, tomando en cuenta nuestro entorno sociocultural, para dar respuesta a los retos identificados.

El presente estudio se enmarca en el enfoque teórico de la Biogerontología y del ciclo vital humano, por lo que asumimos que el envejecimiento biológico en el humano comienza a partir de la cuarta década con una longevidad potencial máxima de 130 años, el cual se caracteriza por modificaciones morfológicas, fisiológicas, bioquímicas y psicológicas que se producen de manera gradual e irreversible ante los retos que enfrenta el organismo y conducen a la pérdida progresiva de la respuesta homeostática, con lo que se incrementa la vulnerabilidad al padecimiento de enfermedades crónico-degenerativas.

Una de las teorías más plausibles para explicar el envejecimiento biológico y sus consecuencias es la de los radicales libres propuesta por Harman en 1956 en donde se señala que el envejecimiento es el producto del daño oxidativo acumulado en células y tejidos ocasionado por los radicales libres (RL) que se producen durante el metabolismo aeróbico normal.



Los RL se producen de manera normal en el organismo, ya que tienen una función fisiológica específica en los procesos inmunológicos y de regulación del tono vascular, sin embargo con el envejecimiento se genera una producción excesiva de dichas entidades bioquímicas, la cual es contrarrestada por un sistema antioxidante eficiente, no obstante cuando ocurre un desequilibrio a favor de los RL surge el denominado estrés oxidativo (EOx), el cual ha sido vinculado además del envejecimiento con la etiopatogenia de las principales enfermedades crónico-degenerativas de mayor prevalencia en la vejez.

Por otro lado, además de los mecanismos biológicos inherentes a la edad, el EOx se establece cuando la interacción de los organismos con el medio ambiente es desventajosa como es el caso del lugar de residencia en las grandes urbes como la ciudad de México. En este sentido, las investigaciones realizadas en adultos mayores (AM) con respecto a la influencia de los contaminantes ambientales, el estrés psicológico y consecuentemente el EOx a los que están sometidos, así como sus repercusiones sobre el estado de salud y mortalidad por vivir en zonas urbanas es escasa e inconsistente, de ahí la importancia de nuestra investigación. Por tal motivo, la finalidad del presente estudio fue determinar la influencia del lugar de residencia sobre el EOx en una población de AM.

### **III. MARCO TEÓRICO**

El envejecimiento es un proceso que experimenta todos los individuos que superan la edad adulta, en el cual se presentan cambios morfofisiológicos que pueden ocasionar una disminución en la respuesta homeostática. Esta disminución de la reserva homeostática incrementa la vulnerabilidad a los padecimientos crónico-degenerativos que tienen repercusiones en la funcionalidad de los ancianos como consecuencia de la declinación en su salud, con lo que se ve afectada su calidad de vida.

El envejecimiento como tal y los padecimientos crónico-degenerativos que se presentan en la vejez se han asociado de manera directa con el estrés oxidativo (EOx). En este sentido, se ha demostrado que sólo el 50% de los ancianos de la ciudad de México tienen daño oxidativo al ADN que aunado a la deficiencia en el sistema antioxidante, predispone a las enfermedades crónico-degenerativas.<sup>1</sup> Al respecto, el EOx y la génesis de los padecimientos crónico-degenerativos no sólo se encuentran determinados por mecanismos biológicos; ya que también se ven involucrados factores exógenos como los hábitos que conforman el estilo de vida y las condiciones ambientales en las que se han desarrollado a lo largo de ella, entre otros.

Es importante señalar que a pesar de que se han realizado investigaciones sobre daño oxidativo y antioxidantes, poco se sabe acerca del equilibrio dinámico que existe entre el daño oxidativo a macromoléculas y la eficiencia del sistema antioxidante, ya que hasta ahora la investigación sobre el EOx se ha realizado de manera fragmentada enfocada a los radicales libres o a los antioxidantes, sin abordarla de manera integral.

Por otro lado, las evidencias científicas sobre la influencia que los contaminantes ambientales de la atmósfera urbana tienen sobre el EOx en ancianos es escasa, por lo

que surge la necesidad de evaluar influencia del lugar de residencia urbano sobre el estrés oxidativo y eficiencia del sistema antioxidante.

A continuación se presentará la información teórica relevante y pertinente para enmarcar conceptualmente nuestra investigación y poder precisar el problema y la hipótesis. En este sentido, se incluyen algunos aspectos sobre transición demográfica en México, así como los procesos que conducen al daño oxidativo en DNA y lípidos, los cuales son considerados como buenos marcadores de EOx. Así mismo, se describen los factores que determinan la eficiencia del sistema antioxidante; y las evidencias científicas sobre la influencia de los contaminantes ambientales sobre el EOx y el sistema antioxidante.

### **III.1. Envejecimiento, transición demográfica y epidemiológica**

El envejecimiento humano es un proceso continuo, irreversible y multifactorial, el cual ha sido definido por la Unidad de Investigación en Gerontología de la FES Zaragoza, UNAM como un proceso gradual y adaptativo, caracterizado por una disminución relativa 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.<sup>1</sup>

El envejecimiento comienza en la cuarta década de la vida, sin embargo por consenso internacional, se ha aceptado 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 el nuestro, en el que por disposición federal se les considera "Adultos Mayores" (AM).<sup>2-4</sup>

La adaptación biológica que ocurre conforme avanza la edad, se lleva a cabo a través del mecanismo biológico denominado *alostasis*, mediante el cual se busca mantener la homeostasis del organismo en respuesta a retos y factores estresantes endógenos y exógenos. Sin embargo, en el intento para mantener la homeostasis del organismo, se genera una carga alostática, que es el precio que el cuerpo paga cuando el factor estresante se presenta de manera repetida y por periodos prolongados, con lo cual se incrementa la vulnerabilidad a ciertas enfermedades que pueden tener repercusiones sobre el estado de salud de los individuos, principalmente en esta etapa de la vida.<sup>5</sup>

Recientemente la ONU (2002)<sup>6</sup> en su resumen ejecutivo comunicó que en el año 2000, un 10% de la población mundial eran ancianos, para el año 2050 se espera que esta cifra aumente a un 21%, y se ha establecido que esta tendencia al envejecimiento de la población es casi irreversible ya que el grupo de personas de edad aumenta a razón de 2% por año y va acompañada de descensos en los porcentajes de jóvenes y en las tasas de fecundidad y mortalidad.

A pesar de que México no es considerado como un país de viejos, se encuentra en un franco proceso de envejecimiento poblacional, ya que la transición demográfica muestra que actualmente hay aproximadamente 7 millones de ancianos y se espera que para el año 2050 sean más de 32.5 millones, es decir, aproximadamente el 28% de la población mexicana.<sup>7</sup>

Este envejecimiento de la población debido a la transición demográfica requerirá ajustes en el ámbito económico, político y social de la mayoría de los países, incluyendo el nuestro. A nivel económico, los países que actualmente están enfrentando este problema, han tenido severas repercusiones debido al aumento obligado en la inversión en servicios de atención a la salud ya que el envejecimiento está asociado a la mayor

prevalencia de enfermedades crónico-degenerativas que gracias al pobre control terapéutico producen complicaciones que perjudican la funcionalidad de los ancianos.

El envejecimiento de la población repercute en las causas de morbilidad y mortalidad de la población. Sólo por citar un ejemplo, en la década de los 70's las principales causas de muerte a nivel general eran las enfermedades infecciosas y para el año 2001 la principal causa de muerte era la diabetes mellitus a nivel general y la tercera causa de muerte en ancianos (Cuadro III.1 y III.2), con lo que actualmente las enfermedades crónico-degenerativas, se han convertido en los principales problemas de salud de nuestro país.<sup>8</sup>

Cuadro III.1. Principales causas de mortalidad en edad posproductiva (>65 años) en la República Mexicana, 2001.

Núm. de orden	Causa	Defunciones	Tasa*	%
	Total	223,432	4,511.61	100
1	Enfermedades isquémicas del corazón	33,287	674.16	14.9
2	Diabetes mellitus	29,639	598.48	13.3
3	Enfermedad cerebrovascular	19,253	388.76	8.6
4	Enfermedad pulmonar obstructiva crónica	13,853	279.72	6.2
5	Cirrosis y otras enfermedades crónicas del hígado	8,043	162.41	3.6
6	Enfermedades hipertensivas	7,788	157.28	3.5
7	Infecciones respiratorias agudas bajas	7,253	146.45	3.3
8	Desnutrición calórico proteica	6,231	125.82	2.8
9	Nefritis y nefrosis	6,060	122.37	2.7
10	Tumor maligno de tráquea, bronquios y pulmón	4,223	85.27	1.9
11	Tumor maligno de próstata	3,560	71.88	1.6
12	Tumor maligno de estómago	2,951	59.59	1.3
13	Tumor maligno de hígado	2,667	53.85	1.2
14	Úlcera péptica	2,048	41.35	0.9
15	Anemia	2,047	41.33	0.9
16	Accidentes de trafico de vehículos de motor	1,771	35.76	0.8
17	Tumor maligno de páncreas	1,734	35.01	0.8
18	Enfermedades infecciosas intestinales	1,695	34.23	0.8
19	Tumor maligno del cuello del útero	1,653	33.38	0.7
20	Tumor maligno de colon y recto	1,534	30.98	0.7
	Causas mal definidas	6,576	132.78	2.9
	Las demás	59,466	1200.76	26.6

Tasa por 100, 000 habitantes. Fuente: INEGI/SSA. Available From: <http://www.salud.gob.mx>

Cuadro III.2. Evolución de las principales causas de mortalidad general el México (transición epidemiológica)

Orden	1940	1950	1960	1970	1980	1990	2000
1	Diarrea y Enteritis	Gastroenteritis	Gastroenteritis y colitis	Neumonía e Influenza	Accidentes	Enfermedades del Corazón	Diabetes Mellitus
2	Neumonía e Influenza	Neumonía e Influenza	Neumonía e Influenza	Enteritis y otras Enf. Diarreicas	Enteritis y otras Enf. Diarreicas	Tumores Malignos	Enfermedades del Corazón
3	Paludismo	Enf. Propias de la Infancia	Enf. Propias de la Infancia	Accidentes	Neumonía e Influenza	Accidentes	Tumores Malignos
4	Sarampión	Paludismo	Enfermedades del Corazón	Enfermedades del Corazón	Enfermedades del Corazón	Diabetes Mellitus	Enfermedades Cerebrovasculares
5	Homicidios	Enfermedades del Corazón	Accidentes	Causas Perinatales	Tumores Malignos	Causas Perinatales	Enfermedades del Hígado y Cirrosis
6	Bronquitis	Homicidios	Tumores Malignos	Tumores Malignos	Enfermedades Cerebrovasculares	Neumonía e Influenza	Causas Perinatales
7	Enfermedades del Hígado y Cirrosis	Accidentes	Homicidios	Enfermedades Cerebrovasculares	Enfermedades del Hígado y Cirrosis	Enteritis y otras Enf. Diarreicas	EPOC
8	Alteraciones Congénitas	Tosferina	Bronquitis	Sarampión	Diabetes Mellitus	Enfermedades Cerebrovasculares	Neumonía e Influenza
9	Enfermedades del Corazón	Tuberculosis	Tuberculosis	Enfermedades del Hígado y Cirrosis	Homicidios	Enfermedades del Hígado y Cirrosis	Accidentes
10	Tuberculosis Pulmonar	Bronquitis	Cirrosis Hepática	Tuberculosis	Tuberculosis	Homicidios	Homicidios

El proceso de envejecimiento como tal, abordado desde el punto de vista biológico y los padecimientos crónico-degenerativos que se presentan en esta etapa de la vida se han relacionado con el estrés oxidativo (EOx), ya que éste no sólo interviene en la etiología de las enfermedades sino también en la aparición de sus complicaciones; por esta razón es de suma importancia conocer los mecanismos biológicos involucrados y los factores que afectan al EOx.

### **III.2. Envejecimiento y estrés oxidativo**

#### **III.2.1. Daño oxidativo**

El proceso de envejecimiento se ha descrito por varias teorías, no obstante, la teoría de los radicales libres propuesta por Denhan Harman en 1956 ha recibido gran atención ya que propone que el envejecimiento es el producto de la acumulación de daño celular ocasionado por la inadecuada protección contra el efecto de los radicales libres formados durante el metabolismo aeróbico normal.<sup>9,10</sup>

Es por todos conocido que el oxígeno es un compuesto esencial en el metabolismo de todos los organismos aeróbicos, ya que participa en diversas reacciones de oxidación, incluyendo la síntesis de ATP; sin embargo, durante estos procesos, el oxígeno molecular se reduce dando origen a productos intermediarios y finales más reactivos conocidos como especies reactivas de oxígeno (EROs), que en su mayoría son radicales libres (RL).<sup>11</sup>

Asimismo, se sabe que la principal fuente endógena de RL es la mitocondria ya que ahí se lleva a cabo el metabolismo aeróbico, sin embargo, los RL también se producen por células fagocíticas; en reacciones donde intervienen enzimas de la familia NADPH oxidasas asociadas al metabolismo del ácido araquidónico, como la ciclooxigenasa, la lipooxigenasa, y el citocromo P450, y en respuesta a la exposición de factores exógenos como las radiaciones ionizantes, rayos UV, contaminación ambiental,

dieta hipercalórica, humo de cigarrillos, algunos fármacos, ejercicio extenuante e isquemia.<sup>11-13</sup>

Un radical libre (RL) es una especie química, que presenta al menos un electrón no apareado en el orbital externo, lo que le confiere una configuración espacial de alta inestabilidad. Se sabe que los RL más importantes en los sistemas biológicos son los radicales derivados del oxígeno. El oxígeno molecular ( $O_2$ ) es un birradical, ya que tiene 2 electrones no apareados con el mismo giro paralelo en su orbital externo, esto le impide que capte dos electrones simultáneamente en las reacciones en las que interviene por lo que se reduce de manera univalente, es decir, capta los electrones de uno en uno.<sup>9,14</sup>

En la producción de energía el oxígeno sufre cuatro reducciones sucesivas hasta formar agua y también genera RL. Así de la reducción univalente del oxígeno se deriva el ión superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ), de la segunda reducción univalente se produce el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) que no es un RL pero es considerado ERO y es capaz de participar en las reacciones de Haber Weiss y Fenton con el ión superóxido y metales de transición para producir el más dañino de todos los RL, el radical hidroxilo ( $OH\cdot$ ).<sup>14</sup>

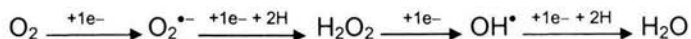


Figura III.1. Reducción del oxígeno molecular a agua y EROs intermediarios.



Figura III.2. Reacción de Fenton para producir  $OH\cdot$  a partir de  $H_2O_2$  y metales en transición.





Figura III.3. Reacción de Haber-Weiss catalizada por hierro para producir  $\text{OH}^{\bullet}$

Por su incrementada reactividad, los RL colisionan con macromoléculas esenciales sustrayendo un electrón al tratar de recuperar su estabilidad y producen la oxidación de lípidos, ADN, carbohidratos y proteínas que pueden perder su función específica o iniciar reacciones en cadena que producen más RL y conducen a la declinación funcional de las células.<sup>11,13</sup>

En los carbohidratos y las proteínas, los RL inducen fragmentación por lo que ocasionan la pérdida de la función molecular, además de su alteración como consecuencia del daño oxidativo sobre otras biomoléculas como ADN y lípidos.

### III.2.2. Daño oxidativo al ADN

Sin duda la integridad del ADN es de gran importancia en el mantenimiento de la funcionalidad celular ya que ahí se encuentra contenido el material genético. Los principales procesos que producen daño en el ADN son la metilación, despurinización, y desaminación, pero sin duda el más significativo es la oxidación.<sup>15</sup>

Se ha estimado en células humanas que el ADN está expuesto diariamente a 10 000 contactos con RL. Por otro lado, se ha demostrado que el ADN que se encuentra en la mitocondria es más susceptible al daño oxidativo comparado con el ADN nuclear. Esto se debe a que en la mitocondria se lleva a cabo el metabolismo aeróbico y el material genético ahí contenido se encuentra en contacto constante con las EROs, este hecho es de particular importancia ya que se ha estimado que la mitocondria consume del 90 al 95% del oxígeno celular y que el 2% de este oxígeno es convertido a radicales superóxido ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ ); además, el ADN mitocondrial es más compacto, no posee histonas

protectoras y no tiene sistemas de reparación tan eficientes como el ADN nuclear.<sup>9,11,16-19</sup>

Las principales alteraciones producidas por los RL en el ADN son la oxidación de desoxirribosa, modificación de bases, formación de sitios abásicos, rupturas de cadena sencilla y doble, entrecruzamiento entre DNA-proteínas, DNA-DNA, e intercambio de cromátidas hermanas.<sup>18,20</sup>

Cuando los RL reaccionan con la desoxirribosa, ésta al oxidarse induce el rompimiento del enlace con el grupo fosfato del nucleótido adyacente por lo que se forman rompimientos de cadena sencilla; si se forman numerosos rompimientos de cadena sencilla muy próximos, éstos pueden producir rompimientos de cadena doble, que provocan daño permanente en el material genético.<sup>11</sup>

Por otro lado, si los RL actúan sobre las bases nitrogenadas producen sustituciones, deleciones o inserciones y aunque las cuatro bases pueden ser modificadas por oxidación, las más susceptibles son las pirimidinas llegando a formar más de 25 subproductos. Al ser modificadas las bases, éstas tienen que ser removidas del ADN con lo que se crean sitios abásicos que no son capaces de codificar para la síntesis de proteínas.<sup>21</sup>

En la cromatina, los entrecruzamientos ADN-proteína y ADN-ADN se forman cuando un radical de ADN se combina con un radical de proteína, con un aminoácido o con una base de otro ADN.<sup>11</sup>

El daño provocado a nivel del ADN por los RL puede generar mutaciones somáticas que al acumularse no sólo ocasionan la síntesis de proteínas defectuosas por la ineficiencia en la transcripción, traducción y replicación del ADN, sino también llevan a la pérdida gradual de la capacidad bioenergética y eventualmente dan como

resultado envejecimiento y muerte celular o la producción de cáncer, entre otras enfermedades.<sup>11,12</sup>

A través de los años, los estudios realizados en la Unidad de Investigación en Gerontología de la FES Zaragoza han aportado conocimientos sobre el daño oxidativo al ADN en adultos mayores de nuestro país, ya que dentro de los datos que se arrojan de las investigaciones cabe destacar que al igual que en otros estudios, sólo alrededor del 50% de los ancianos tiene daño oxidativo al ADN,<sup>22</sup> y también se ha observado que un daño al ADN superior al 40% es considerado factor de riesgo para el padecimiento de enfermedades crónico degenerativas, ya que este daño oxidativo al ADN puede contribuir al establecimiento del EOX, sin embargo, no sólo el daño al ADN esta involucrado en este proceso, también el daño a los lípidos es fundamental.

### **III.2.3. Daño oxidativo a lípidos**

De los lípidos, los ácidos grasos poli-insaturados que se encuentran en las membranas celulares son particularmente susceptibles al daño oxidativo. Cuando los radicales hidroxilo se forman cerca de la membrana son capaces de extraer átomos de hidrógeno de los fosfolípidos que la componen, para producir un radical lipídico que después de un rearrreglo molecular reacciona con el oxígeno para originar el radical peroxilo (ROO·), éste puede reaccionar con otros ácidos grasos de membrana, formando más radicales lipídicos, mientras el mismo se transforma en hidroperóxido (ROOH), que en presencia de varios complejos metálicos puede descomponerse en más radicales, propagando el daño al resto de la membrana y, en ausencia de ellos produce aldehídos reactivos como el malondialdehído (MDA) que también puede provocar daño en el ADN.<sup>23,24</sup>

Esta destrucción oxidativa de los ácidos grasos poli-insaturados que se conoce como peroxidación lipídica, provoca alteraciones en la permeabilidad de la membrana con lo que se ve afectada la integridad celular.<sup>23-24</sup>

En otras circunstancias, los RL también propician la oxidación de las lipoproteínas LDL que intervienen en la génesis de la placa de ateroma y producen aterosclerosis como consecuencia primordial.<sup>24</sup>

En condiciones fisiológicas normales las EROs se producen y se eliminan de manera constante, sin embargo en algunas condiciones, la producción de especies oxidantes aumenta deliberadamente produciendo estrés oxidativo (EOx) si es que su efecto no es contrarrestado por la acción eficiente del sistema antioxidante. Este EOx se ha visto involucrado en la fisiopatogenia de enfermedades y complicaciones propias de la vejez (Figura III.4).<sup>25</sup>

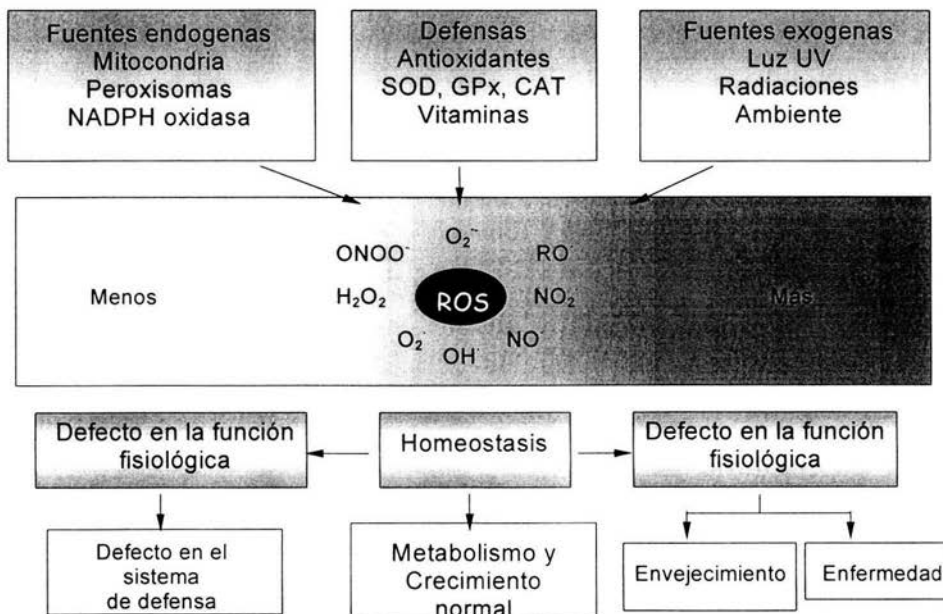


FIGURA III.4. Estrés oxidativo, homeostasis y enfermedad ( Tomado de :Finkel y Holbrook,2000 )

Afortunadamente los organismos poseen un sistema antioxidante que por diversos mecanismos de defensa limitan los niveles de moléculas reactivas oxidantes favoreciendo la homeostasis.

### III.3. Sistema de defensa antioxidante

Para prevenir la peroxidación lipídica y el daño oxidativo al ADN y a otras biomoléculas, el organismo posee un sistema de defensa antioxidante que por diversos mecanismos de protección que comprenden la prevención de la formación de EROs, la captura de intermediarios reactivos, la inhibición de su propagación y la reparación de lesiones en las macromoléculas, limita el daño oxidativo en las células.<sup>11, 26</sup>

Un antioxidante es aquella sustancia que presente en bajas concentraciones con respecto a un sustrato oxidable impide o retarda su oxidación.<sup>27</sup> Aunque existen diversas clasificaciones de los antioxidantes, la más plausible es la que los clasifica de acuerdo a su función en antioxidantes primarios, secundarios y terciarios (Figura III.5).<sup>26</sup>

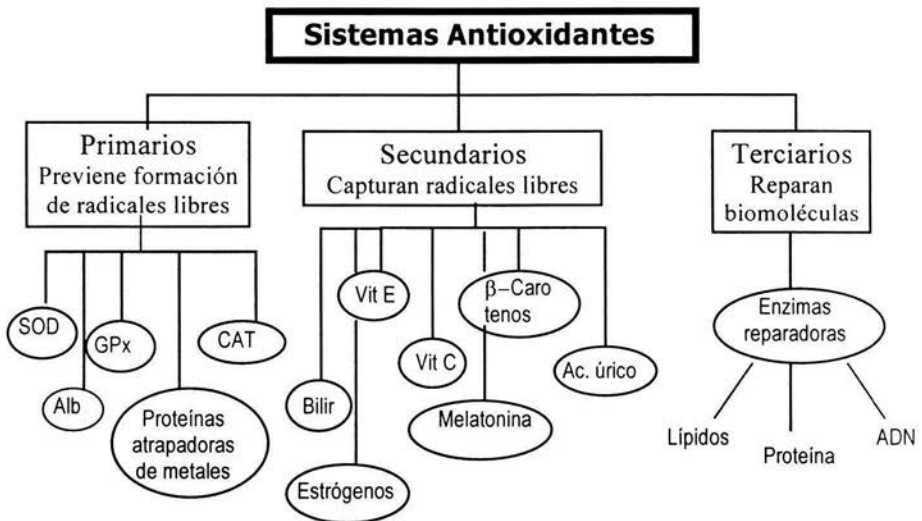
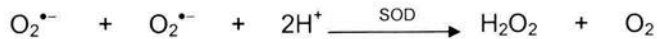


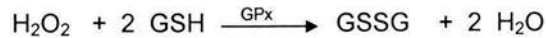
Figura III.5. Clasificación de los sistemas antioxidantes.

Los antioxidantes primarios previenen la formación de RL por diversos mecanismos. Uno de ellos comprende la descomposición enzimática del ión superóxido por la superóxido dismutasa (SOD) y del peróxido de hidrógeno y los hidroperóxidos formados, por las enzimas catalasa (CAT) y glutatión peroxidasa (GPx).

A) Superóxido dismutasa (SOD). Es una familia de tres metaloenzimas (citosólica Cu/Zn-SOD, mitocondrial Mn-SOD y extracelular EC-SOD) que catalizan la dismutación del ión superóxido en peróxido de hidrógeno de acuerdo a la siguiente reacción.<sup>28</sup>



B) Glutatión-peroxidasa (GPx). La GPx es una enzima que contiene una molécula de seleniocisteína esencial para su actividad, actúa en el citoplasma y la mitocondria y cataliza la reducción de hidroperóxidos usando glutatión (GSH).<sup>28</sup>



C) Catalasa (CAT). Es una hemoproteína que se encuentra en los peroxisomas celulares y en el citoplasma que cataliza eficientemente la descomposición de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> para formar agua y oxígeno molecular y la descomposición de otros hidroperóxidos.<sup>28</sup>



El balance entre la actividad de estas enzimas es determinante para la resistencia de las células contra el daño oxidativo. Por un lado, una actividad disminuida de SOD con respecto a la actividad de GPx o CAT favorece la acumulación de O<sub>2</sub><sup>•-</sup> que es tóxico para las macromoléculas, y por el otro, una actividad incrementada de SOD con respecto a GPx y CAT puede conducir a un sobreproducción de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> el cual es responsable de la génesis de otras EROs.<sup>29,30</sup>

El segundo mecanismo de prevención de los antioxidantes primarios lo llevan a cabo proteínas como la ferritina, transferrina, ceruloplasmina y albúmina que atrapan iones metálicos impidiendo que intervengan en las reacciones donde se producen las EROs.<sup>11</sup>

Los antioxidantes secundarios eliminan los RL ya formados para suprimir su actividad nociva frente a las células, actúan en compartimentos hidrofílicos e hidrofóbicos y dentro de estos antioxidantes se encuentran los carotenos, el  $\alpha$ -tocoferol, el ácido ascórbico, la bilirrubina, ácido úrico, melatonina y los estrógenos.<sup>11</sup>

Estos antioxidantes ceden uno de sus electrones a los RL convirtiéndose a sí mismos en radicales menos nocivos que pueden regenerarse posteriormente por otros antioxidantes. El ejemplo más claro de este mecanismo de acción es el de las vitaminas E y C. La vitamina E o  $\alpha$ -tocoferol presenta en su estructura un grupo  $-OH$ , del que el átomo de hidrógeno puede ser removido fácilmente. Los radicales peroxilo formados durante la lipoperoxidación se estabilizan con ese electrón ya que tienen una mayor afinidad por el  $\alpha$ -tocoferol, que por las cadenas de los ácidos grasos adyacentes, en consecuencia el  $\alpha$ -tocoferol se convierte en el radical tocoferoxilo que es poco activo e incapaz de reaccionar con otros ácidos grasos, con lo que se detiene la propagación de la lipoperoxidación. La vitamina C por su parte, permite la regeneración no enzimática del  $\alpha$ -tocoferol lo que produce un efecto sinérgico entre estas vitaminas.<sup>31,32</sup>

Por último, los antioxidantes terciarios están conformados por todas aquellas enzimas que reparan las lesiones oxidativas en las biomoléculas y son específicas para cada una de ellas.<sup>11,26</sup>

La defensa antioxidante enzimática es la primer línea de defensa contra el daño oxidativo, sin embargo, no lo hace con un 100% de eficiencia, por lo que se requiere de la acción de los antioxidantes no enzimáticos que con frecuencia se obtienen por fuentes exógenas, para complementar la acción antioxidante. Por lo tanto, la acción del

sistema antioxidante está determinada por el aporte de antioxidantes en la dieta, por la producción endógena de los mismos y por la producción de EROs que ocasionan una incrementada utilización de antioxidantes.<sup>33</sup>

#### **III.4. Estrés oxidativo y envejecimiento**

Es claro que la producción de EROs puede ocasionar daño celular y que el sistema de defensa antioxidante es de vital importancia para el mantenimiento celular. El EOx sólo se establece cuando se presenta un desequilibrio entre la producción de EROs y la eficiencia del sistema antioxidante a favor de la producción de especies oxidantes y se sabe que éste se debe a una excesiva producción de EROs, a la ineficiencia del sistema antioxidante o a ambas.

Sin embargo, que se establezca un equilibrio dinámico entre la producción de especies oxidantes y el sistema antioxidante es crucial en el envejecimiento ya que al lograrse este equilibrio se favorece la homeostasis del organismo que le permite al adulto mayor responder satisfactoriamente a las exigencias del medio, lo que representa una mayor reserva fisiológica y menor riesgo de enfermedad, lo que lo conduce al llamado “envejecimiento exitoso”, en el cual sólo se presentan los cambios morfo-fisiológicos inherentes a la edad, sin problemas de funcionalidad física, mental y social ni padecimientos crónico-degenerativos.<sup>1</sup>

La peroxidación lipídica causa de mutaciones del ADN que se acumulan con el paso del tiempo, que aunado a un antioxidante es deficiente se produce el EOx, con lo cual la reserva homeostática disminuye, incrementado la susceptibilidad para el desarrollo de enfermedades crónico-degenerativas, a cuyo proceso se le denomina “envejecimiento habitual” que al complicarse ocasiona discapacidades y dando origen al “envejecimiento con fragilidad” en el que se ve comprometida la funcionalidad física, mental y social del individuo.<sup>1,22</sup>



#### III.4.1. Marcadores biológicos de estrés oxidativo.

Los LPO, el daño oxidativo al ADN, las enzimas antioxidantes SOD, GPx y catalasa y los antioxidantes totales son los marcadores biológicos más aceptados en los estudios científicos sobre estrés oxidativo y envejecimiento.

Entre las técnicas para la determinar el daño oxidativo al ADN, se encuentra la electroforesis unicelular alcalina o ensayo cometa. Este método es confiable porque detecta rompimientos de cadena sencilla y doble, así como los sitios álcali lábiles y enlaces cruzados entre proteínas. Emplear esta técnica tiene ciertas ventajas ya que posee una alta sensibilidad en la detección de bajos niveles de daño al ADN, requiere de pequeñas cantidades de células, es un método flexible, de bajo costo, de fácil determinación y requiere poco tiempo para la obtención de resultados.<sup>34-38</sup>

Por otro lado, el malondialdehído (MDA) es el aldehído más abundante como resultado de la peroxidación lipídica y puede ser considerado como un buen marcador del daño oxidativo a lípidos. EL MDA generalmente se determina por el método del ácido tiobarbitúrico (TBA). En este método se forman aductos MDA-TBA, llamados sustancias reactivas de TBA (TBARS), después de que una molécula de MDA se hace reaccionar con dos moléculas de TBA.<sup>39</sup>

En cuanto a la evaluación del sistema antioxidante, se incluye la medición de los antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos.

Para la evaluación de antioxidantes enzimáticos se determina la actividad de las enzimas SOD, GPx y CAT, aunque las que se emplean con mayor frecuencia son las dos primeras. La determinación de la actividad de estas enzimas es un buen marcador de EOx, aunque el índice SOD/GPx ofrece una mejor estimación del desequilibrio entre estas enzimas, ya que se ha demostrado que las variaciones de este índice tienen efectos dramáticos en la resistencia de las células al daño inducido por oxidantes pues

un exceso de SOD y disminución de GPx implica un incremento en los niveles de  $H_2O_2$ .<sup>40,41</sup>

Las defensas antioxidantes no enzimáticas o exógenas están determinadas por la actividad de los antioxidantes totales (AT) y el GAP o capacidad antioxidante residual. Para la medición de AT existen varios métodos, pero el utilizado con mayor frecuencia es el que mide la capacidad antioxidante en equivalentes Trolox. Este método utiliza el radical catión ABTS, aunque realmente no mide la capacidad antioxidante total, pues no cuantifica los antioxidantes más importantes como son la albúmina y el urato.<sup>42</sup>

Por otro lado, los principales antioxidantes (por masa y actividad) del plasma humano son la albúmina y el ácido úrico, conformando más del 50% de la actividad antioxidante total del suero, sin embargo con frecuencia no son considerados en el análisis del EOx. Así mismo, la actividad residual considerada como GAP antioxidante tampoco es considerada en la evaluación del EOx, la cual refleja la actividad combinada de antioxidantes plasmáticos diferentes de la albúmina y ácido úrico, como son el ácido ascórbico,  $\alpha$ -tocoferol, bilirrubina, transferrina, haptoglobulina, b-caroteno y otras sustancias.<sup>43</sup>

Por todo lo anteriormente expuesto se sabe que el envejecimiento es un proceso gradual y adaptativo en el que la aparición de EOx, no sólo se debe a un proceso endógeno, ya que intervienen otros factores exógenos y ambientales que al interactuar pueden contribuir en la etiología de patologías asociadas con el envejecimiento, entre las cuales se encuentran distintos tipos de cáncer, aterosclerosis, enfermedades cardíacas y vasculares, diabetes mellitus, hipertensión arterial, desórdenes neurodegenerativos y trastornos artríticos.

### **III.5. Estrés oxidativo, estilo de vida y contaminantes ambientales**

El EOx es un proceso biológico, que puede ser causado por factores externos como el ejercicio físico extenuante, una dieta rica en grasas y pobre en pescado, frutas y verduras, y hábitos como el fumar o beber en exceso, los cuales pueden ser determinantes en la etiopatogenia de enfermedades crónicas y sus complicaciones.<sup>44</sup>

#### **III.5.1. Efecto de la alimentación sobre el EOx.**

La alimentación es un elemento fundamental en el mantenimiento del Eox, se ha demostrado que la desnutrición calórico-proteica (DCP) al igual que las dietas ricas en ácidos grasos poliinsaturados favorecen la aparición del EOx. En la DCP se presenta un decremento en la reserva proteica y disminución en el consumo de antioxidantes vitamínicos (vitamina A, C, y E) y minerales. Así mismo, los ácidos grasos poiinsaturados pueden ser fácilmente oxidados.<sup>33</sup>

Por otro lado, se ha demostrado que una dieta rica en pescado, frutas y verduras que contienen una alta concentración de antioxidantes, puede tener efectos positivos sobre el EO. Sin embargo, en los ancianos el éxito de los antioxidantes que se incluyen en la dieta depende de la cantidad, la forma química, la absorción y la biodisponibilidad además de que la calidad que se ve afectada por el almacenamiento, procesamiento y preparación de los alimentos y su interacción con otros antioxidantes.<sup>33</sup>

#### **III.5.2. Tabaquismo.**

Se estima que cada fumada de cigarro contiene alrededor de 100 billones de RL en su fase de alquitrán y mil billones de RL en su fase gaseosa, por lo que se señala que el tabaquismo es uno de los principales factores de riesgo de EOx. Así mismo, se ha demostrado que el tabaco induce la producción de RL de manera indirecta por la activación de neutrófilos que después de una serie de reacciones promueven la

formación de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, además de reducir los niveles plasmáticos de vitaminas antioxidantes por la disminución en el aporte y el incrementado uso metabólico.

Asimismo, el humo del cigarro contiene un gran número de agentes oxidantes capaces de producir RL y desencadenar EOx, además de afectar los procesos de reparación del ADN y los lípidos.<sup>33</sup>

### **III.5.3. Alcoholismo.**

Se sabe que un consumo moderado de alcohol favorece el incremento en la lipoproteínas de alta densidad (HDL) y reduce la agregación plaquetaria. EL vino tinto tiene propiedades antioxidantes por su alto contenido en flavonoides y taninos y reduce la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL).

Sin embargo, también se ha observado que el consumo desmedido de alcohol estimula la oxidación de las LDL e incrementa el riesgo de padecimientos crónicos, especialmente algunos tipos de cáncer, ya que hay un incremento en la producción de EROs, lo que propicia la lipoperoxidación y la oxidación de proteínas y ADN, afectando la integridad y funcionalidad celular.<sup>33</sup>

### **III.5.4. Ejercicio físico.**

El sedentarismo es uno de los factores que contribuyen a la aparición de las enfermedades crónico-degenerativas durante la vejez ya que se ha relacionado con la enfermedad coronaria, enfermedades cardiovasculares y con la obesidad, todas estas enfermedades contribuyen a la discapacidad, al incremento en el gasto médico y a la pérdida de la productividad.<sup>45</sup>

Se ha demostrado que en periodos de ejercicio moderado se generan RL que son neutralizados por la acción del sistema antioxidante, y también se ha evidenciado que puede aumentar la esperanza de vida, entre otras virtudes, sin embargo, una actividad física o ejercicio extenuante pueden aumentar los niveles de oxidantes intracelulares porque aumenta la demanda de la actividad mitocondrial.

Por otro lado, el ejercicio físico extenuante favorece la aparición de EOX con mayor intensidad en los AM, debido a que los cambios bioquímicos y estructurales relativos a la edad facilitan la formación de EROs, y los AM son más susceptibles a presentar daños musculares durante el ejercicio y consecuentemente procesos inflamatorios que también incrementan el EOX.<sup>46</sup>

#### **III.5.5. Horas de sueño.**

Durante el sueño se llevan a cabo funciones encaminadas a la recuperación y reparación de células, tejidos, órganos y sistemas, por lo que se ha señalado que durante el sueño se incrementan los niveles séricos de antioxidantes con el fin de eliminar el exceso de RL generados durante el estado de vigilia. En ocasiones los adultos mayores pueden presentar trastornos del sueño los cuales repercuten sobre el estado antioxidante de estos individuos.<sup>33</sup>

#### **III.5.6. Contaminación ambiental.**

Los contaminantes ambientales, el humo del tabaco, y la exposición a sustancias químicas, radiaciones ionizantes y radiación ultravioleta son los principales factores que inician las reacciones de radicales libres.<sup>33</sup> A continuación se describen cada uno de ellos.

➤ Radiaciones ionizantes.

La luz del sol y en especial la luz ultravioleta inician reacciones de radicales libres dentro de las células incluyendo la peroxidación lipídica y el daño al ADN.

Algunas fuentes de luz artificial o luz con espectro parecido producen efectos similares. Además, la radiación UV reduce el nivel de antioxidantes en la piel e induce inflamación. Así mismo, los cambios estructurales y funcionales de la piel que se presentan durante la vejez pueden afectar su función, se puede esperar que la protección contra estas radiaciones se vea disminuida por lo que hay un incremento en la generación de especies oxidantes.<sup>1,33</sup>

➤ Contaminantes ambientales.

En las grandes ciudades, la urbanidad ocasiona la acumulación de agentes contaminantes en el aire que son perjudiciales para la salud. Los principales contaminantes ambientales son el dióxido nítrico y el ozono que inducen peroxidación lipídica, dañan proteínas y material genético.

El ozono (O<sub>3</sub>) en la estratosfera es un agente protector contra los rayos UV provenientes del sol mientras que en la troposfera representa un importante contaminante ambiental productor de EOX. Se produce a partir del dióxido nítrico por reacciones fotoquímicas, del oxígeno y vapores de gasolina.

A pesar de que el ozono no es un RL es un fuerte oxidante y puede conducir a la producción de RL por reacción con los ácidos grasos poliinsaturados para formar ozónidos o por la inducción de autooxidación en lípidos. El ozono puede reaccionar con la vitamina E y la vitamina C directamente reduciendo al radical tocoferoxilo.

Otros contaminantes ambientales incluyen hidrocarburos halogenados y pesticidas que no generan RL espontáneamente, pero su metabolismo en el citocromo P-450 puede producir intermediarios activos que participan en reacciones de RL.<sup>33</sup>

### III.6. Envejecimiento, Eox y lugar de residencia

Se ha demostrado por estudios realizados que el EOX no constituye una característica constante en el envejecimiento. A este respecto, se ha demostrado que sólo el 50% de los adultos mayores de la ciudad de México tienen daño al ADN.<sup>22</sup> Asimismo, por la experiencia adquirida en la Unidad de Investigación en Gerontología se ha logrado determinar que el daño oxidativo a macromoléculas, específicamente al ADN, y un sistema antioxidante deficiente contribuyen al padecimiento de enfermedades crónico-degenerativas, también se ha demostrado que cuando el sistema antioxidante es eficiente los niveles de lipoperóxidos se mantienen en niveles bajos y conforme se presenta deficiencia parcial o total en el sistema antioxidante, estos niveles aumentan hasta valores que son considerados patológicos.<sup>22</sup>

En estudios realizados a nivel internacional aún no se ha determinado si los niveles de antioxidantes disminuyen o se mantienen con la edad, de ahí que este conocimiento es controversial.<sup>47</sup> En este sentido, se puede inferir que como el envejecimiento se presenta de manera gradual, el organismo tiene la capacidad de adaptarse y responder a las modificaciones o retos que le presenta el medio y esto se demuestra con los estudios realizados por Betti et al. (1994)<sup>48</sup> en donde no encontraron diferencias entre el daño al ADN con respecto a la edad.

Por otro lado, se ha demostrado que cuando los niveles de los componentes que forman parte del sistema antioxidante se encuentran alterados, no necesariamente están acompañados de daño oxidativo a lípidos o ADN y viceversa. En este sentido, en un estudio con AM realizado por la unidad de Investigación en Gerontología, se reportó que sujetos con niveles normales de antioxidantes tenían un mayor porcentaje de daño al ADN en comparación con sujetos con niveles de antioxidantes bajos, por lo que los antioxidantes bajos no deben ser considerados como predictores de daño al ADN.<sup>49</sup>

En este sentido, King et al. (1997)<sup>47</sup> encontraron que el daño al ADN no se modifica con la edad y que los antioxidantes como GPx y proteínas atrapadoras de metales se encuentran normales o incrementados en los ancianos, como consecuencia de un proceso adaptativo, constituyendo la base para el envejecimiento exitoso.

Como se puede observar el efecto del envejecimiento sobre el daño oxidativo y la eficiencia del sistema antioxidante es controversial; sin embargo, debemos considerar que los factores exógenos también condicionan estos procesos biológicos y que el lugar de residencia es un campo poco estudiado en Gerontología. Tan sólo en la ciudad de México se han encontrado el dióxido nítrico y el ozono como contaminantes del aire y si a esto aunamos el tráfico pesado y la localización geográfica de la ciudad, podemos considerar que existe una mayor concentración de contaminantes iniciando reacciones de RL. En este sentido Medina-Navarro et al. (1996)<sup>50</sup> encontraron que después de la exposición crónica (4 meses) a los contaminantes ambientales de la ciudad de México, la capacidad antioxidante de SOD disminuyó en un 50% y los niveles de LPO también disminuyeron en al menos 30%, es decir, los valores se volvieron comparables con los individuos que residían en la ciudad con anterioridad, por lo que se sugirió que se desarrolla un proceso adaptativo en respuesta a la exposición a los contaminantes.

Sin embargo, este estudio se llevó a cabo en individuos jóvenes, y como se ha mencionado anteriormente, en el envejecimiento se presentan cambios bioquímicos y fisiológicos que comprometen, en ocasiones, la respuesta homeostática del individuo, por lo que surgen dudas acerca del efecto de los contaminantes ambientales sobre la eficiencia del sistema antioxidante y el daño oxidativo en los adultos mayores.

Por esta razón surge la necesidad de realizar este estudio, ya que al determinar la relación entre el lugar de residencia y el EOx en ancianos, si se observa que el lugar de residencia tiene efectos negativos sobre el EOx en AM se podrán implementar programas de prevención que ayuden a controlar el desequilibrio entre oxidantes y antioxidantes y contribuir al establecimiento de un estado saludable en los ancianos.



#### **IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

El envejecimiento es un proceso gradual y adaptativo, determinado por factores genéticos, ambientales y estilo de vida. Al respecto, la teoría que propone a los radicales libres como productores de EOx es uno de los enfoques más aceptados para explicar los mecanismos biológicos involucrados en el envejecimiento y en las enfermedades de mayor prevalencia durante la vejez, de ahí la importancia de estudiar los principales factores pro-oxidantes, entre los que destacan el lugar de residencia urbano, como fuente generadora de EOx por la gran concentración de contaminantes ambientales y el estrés psicológico al que se exponen los adultos mayores.

En este sentido, se ha demostrado que la exposición a niveles altos de ozono favorece el daño oxidativo y la deficiencia en el sistema antioxidante, aunque también se ha establecido que cuando existe una exposición crónica a los contaminantes ambientales, los marcadores de daño oxidativo se encuentran normales debido a la respuesta adaptativa del sistema antioxidante, de ahí que sea controversial considerar el lugar de residencia como factor de riesgo pro-oxidante.

Por tal motivo y considerando que la asociación del lugar de residencia con el EOx en adultos mayores es controversial, nos planteamos la siguiente pregunta de investigación.

¿Cuál es la influencia del lugar de residencia sobre el estrés oxidativo, determinado por el sistema antioxidante, niveles de lipoperóxidos y daño oxidativo al ADN en una población de adultos mayores?

## **V. HIPÓTESIS.**

Considerando las evidencias científicas respecto a que la contaminación ambiental y el estrés psicológico son factores pro-oxidantes, suponemos que los AM residentes en la ciudad de México presentarán mayor estrés oxidativo, que los residentes de un área rural de Actopan, Hidalgo.

## **VI. OBJETIVOS**

### **V.1. Objetivo General:**

- Determinar la influencia del lugar de residencia sobre el EOx en una población de AM.

### **V.2. Objetivos específicos:**

- Evaluar la eficiencia del sistema antioxidante en AM con residencia en un área rural vs. urbana.
- Cuantificar los niveles de lipoperóxidos y daño al ADN en AM con residencia en un área rural vs. urbana.

## VII. MATERIAL Y MÉTODOS

### VII.1 POBLACIÓN Y TIPO DE ESTUDIO

Se llevó a cabo un estudio observacional, prolectivo, transversal y comparativo en una muestra de 153 adultos mayores ( $\geq 60$  años) de ambos sexos, con funcionalidad física y mental.

Con los individuos seleccionados a conveniencia se conformaron 2 grupos de la siguiente manera:

- ◆ Grupo 1 (n = 93): Adultos mayores residentes en la ciudad de México y área conurbada en los últimos 5 años que asisten regularmente al Club Ecológico de la Tercera Edad de Aragón y a la Unidad de Servicio Gerontológico de la UMAI ubicada en Los Reyes, La Paz.
- ◆ Grupo 2 (n = 60): Adultos mayores residentes en los últimos 5 años en Actopan, Hgo. que acuden regularmente al centro de jubilados y pensionados.

Se excluyeron a aquellos adultos mayores que estuvieran ingiriendo antioxidantes por indicación médica o por automedicación.

### VII.2. VARIABLES

#### **INDEPENDIENTE:**

- ◆ Lugar de residencia

### **DEPENDIENTES:**

- ◆ Daño oxidativo: Evaluado a través de la peroxidación lipídica y el daño al ADN.
- ◆ Eficiencia del sistema antioxidante: Evaluado a través de un constructo que incluye los parámetros razón SOD/GPx, antioxidantes totales (AT) y brecha antioxidante (GAP), con las siguientes categorías:
  - Sistema antioxidante eficiente (SAE). Cuando la razón SOD/GPx, AT y GAP se encuentran dentro de los valores de referencia.
  - Deficiencia antioxidante enzimática (DAEN). Cuando la razón SOD/GPx está incrementada y los AT y el GAP se encuentran dentro del rango de referencia.
  - Deficiencia antioxidante exógena (DAEX): Cuando la razón SOD/GPx se encuentra en rango normal y los AT y el GAP están disminuidos.
  - Deficiencia global del sistema antioxidante (DGSA). Si la razón SOD/GPx, los AT y el GAP están alterados.

### **CONFUSORAS**

- ◆ Sexo
- ◆ Grupo de edad
- ◆ Ingesta de alcohol
- ◆ Tabaquismo
- ◆ Actividad física
- ◆ Horas de sueño
- ◆ Obesidad
- ◆ Enfermedad por padecimientos crónico-degenerativos

## OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

VARIABLE	DEFINICIÓN	NIVEL DE MEDICIÓN	CATEGORÍAS
Lugar de residencia	Área donde radica el individuo	Cualitativa nominal	Rural, Urbana
Daño oxidativo:			
Peroxidación Lipídica.	Nivel de lipoperóxidos plasmáticos	Cuantitativa continua	μmol/L
		Cualitativa nominal	Valores normales: los < 0.340 μmol/L Valores altos: los ≥ 0.340 μmol/L
Daño al ADN.	Ruptura sencilla o doble de ADN en linfocitos de sangre periférica.	Cuantitativa continua	Número de células con daño
		Cualitativa nominal	Sin daño: < 6 células Con daño: ≥ 6 células
Sistema antioxidante:			
SOD y GPx	Actividad enzimática de superóxido dismutasa y glutatión peroxidasa	Cuantitativa continua	U/L
Razón SOD/GPx	Cociente de SOD y GPx	Cuantitativa continua	Sin unidades
		Cualitativa nominal	Valores normales: los < 0.023 Valores altos: Los ≥ 0.023
Antioxidantes totales	Cantidad de antioxidantes presentes en el plasma	Cuantitativa continua	mmol/L
		Cualitativa nominal	Valores normales: los > 0.90 mmol/L Valores bajos: Los ≤ 0.90 mmol/L
GAP	Actividad antioxidante residual	Cuantitativa continua	μmol/L
		Cualitativa nominal	Valores normales: los > 190 μmol/L Valores bajos: los ≤ 190 μmol/L
Eficiencia del sistema antioxidante	Eficiencia con la que actúa el sistema antioxidante	Cualitativa nominal	SAE, DAEN, DAEX y DGSA

VARIABLE	DEFINICIÓN	NIVEL DE MEDICIÓN	CATEGORÍAS
Sexo	Características fenotípicas del sujeto	Cualitativa nominal	Femenino, masculino
Grupo de edad	Grupo de edad al que pertenece el sujeto dentro de los AM	Cualitativa ordinal	60 a 69 años, 70 años y más
Ingesta de alcohol, tabaquismo y actividad física	Consumo de bebidas alcohólicas y tabaco, y realización de una actividad física.	Cualitativa nominal	Positivo, negativo
Horas de sueño	Número de horas de sueño por día reportadas por el sujeto	Cuantitativa discreta	Horas
Obesidad	Exceso de grasa evaluada por medio del índice de masa corporal (IMC) en Kg/m <sup>2</sup>	Cualitativa ordinal	Peso normal: IMC de 23.1-27.0 Sobrepeso: IMC > de 27.1 y < de 29.9 Obesidad: IMC > 30
Enfermedad	Presencia de uno o más padecimientos crónico-degenerativos	Cualitativa nominal	Sanos, enfermos

### VII.3 TÉCNICAS

#### A) RECOLECCION Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

A los individuos seleccionados se les tomó muestra de sangre venosa por la mañana, después de un ayuno mínimo de 8 horas. La muestra sanguínea se tomó en un tubo al vacío sin anticoagulante (Vacutainer, Beckton Dickinson); después de que coaguló se centrifugó a 3000 rpm por 10 min. para obtener suero con el cual se realizó la química sanguínea. Se tomó un tubo con EDTA disódico como anticoagulante, para la realización de la biometría hemática. Adicionalmente se tomó un tubo al vacío con

heparina como anticoagulante, de esta muestra se extrajeron 150  $\mu\text{L}$  para realizar GPx, 600  $\mu\text{L}$  para realizar SOD y 60  $\mu\text{L}$  para realizar daño al ADN. Después de extraer estas alícuotas, se centrifugó el tubo a 3000 rpm por 10 min. para separar el plasma y realizar la prueba de antioxidantes totales.

## **B) DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS BIOQUÍMICOS**

Para la determinación de la química sanguínea que incluye concentración de glucosa, urea, creatinina, ácido úrico, albúmina, colesterol, triglicéridos y HDL se emplearon estuches comerciales (Randox Laboratories, Ltd.). Las técnicas se realizaron manualmente por métodos colorimétricos empleando un espectrofotómetro de luz visible marca comercial Shimadzu.

La biometría hemática se determinó en forma manual. Se empleó el procedimiento con cianometahemoglobina para la concentración de hemoglobina; el micrométodo para la determinación del hematocrito, y la cuenta de leucocitos se realizó en una cámara de Neubauer. Se emplearon los valores de referencia obtenidos previamente por el laboratorio de Investigación en Gerontología de la FES Zaragoza, UNAM.<sup>51</sup>

## **C) MARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO**

### **DAÑO AL ADN**

La técnica de electroforesis unicelular alcalina o ensayo cometa se realizó acorde a Singh (1988).<sup>52</sup> Para preparar las laminillas se utilizaron portaobjetos esmerilados a los cuales se les colocó una capa de 120  $\mu\text{L}$  de agarosa regular (0.75% disuelta en PBS libre de  $\text{Ca}^{+2}$  y  $\text{Mg}^{+2}$ ) hasta que solidificaron. A continuación, cada muestra de sangre de 20  $\mu\text{L}$  se mezcló con 150  $\mu\text{L}$  de agarosa de bajo punto de fusión (0.5% disuelta PBS libre de  $\text{Ca}^{+2}$  y  $\text{Mg}^{+2}$ ) y se colocó sobre los portaobjetos preparados previamente, una vez solidificada la mezcla, se agregó otra capa de 75  $\mu\text{L}$  de agarosa de bajo punto de fusión. Finalmente, las laminillas se sumergieron en una solución fresca de lisis fría (1%

de lauril sarcosianato de sodio, NaCl 2.5M, EDTA disódico 10 mM, Tris-HCL 10 mM pH 10, 1% tritón y 10% DMSO) y se colocaron a 4°C por lo menos una hora.

Posteriormente, las laminillas se colocaron en una cámara de electroforesis la cual contenía un amortiguador pH 13 (1 mM de EDTA disódico, 300 mM NaOH) permitiendo que el ADN se desenrollara por 20 min.; después, se efectuó la electroforesis por 20 min. (estos pasos se realizaron protegidos de la luz) ajustando la fuente de poder a 25 volts y 300 miliamperes. Una vez apagada la fuente de poder se retiraron las laminillas de la cámara de electroforesis y se lavaron tres veces cuidadosamente con amortiguador de neutralización (0.4M de Tris-HCl, pH 7.5) durante 5 minutos cada uno.

Se escurrieron las laminillas del exceso de amortiguador y se colocaron en metanol para disecar la preparación, por 5 min. Pasado ese tiempo las láminas se secaron y tiñeron con 50 µL de bromuro de etidio 1x (1 mL de stock 10x 1 mg/10 mL con 9 mL de agua) cubriendo cuidadosamente con un cubreobjeto.

Las laminillas así preparadas se observaron al microscopio de fluorescencia con un filtro de excitación de 515-560 nm utilizando un aumento de 40x. Finalmente, con un ocular graduado y calibrado se midió el diámetro del núcleo y la longitud de la estela del cometa de 100 células. Se estableció que existe daño cuando la migración de ADN es mayor al 40% en relación al diámetro nuclear y posteriormente se realizó el conteo de las células con daño, en este caso se establece que existe daño cuando se tiene más de 6 células con daño superior al 40% y no existe daño si son menos de 6 células las que tienen daño superior al 40%.

### **PEROXIDACIÓN LIPÍDICA**

La prueba de ácido tiobarbitúrico (TBA) es el ensayo más usado para la medición de la lipoperoxidación. Con este método se miden los peróxidos lipídicos a través del malondialdehído (MDA): Una molécula de MDA reacciona con dos moléculas de TBA para producir un pigmento rosa que tiene un máximo de absorción a 532-535 nm.



Se empleó el método acorde a Jentsch (1996).<sup>53</sup> Una vez separado el plasma se adicionaron 10  $\mu\text{L}$  de butiril-hidroxitolueno (BHT) 2mM para evitar la autooxidación de las muestras. Se colocaron 400  $\mu\text{L}$  de plasma con 50 $\mu\text{L}$  de BHT (12.6 mM) y 400  $\mu\text{L}$  de ácido ortofosfórico (0.2 M). Se mezcló con vortex por 10s y posteriormente se adicionaron 50  $\mu\text{L}$  de TBA 0.11 M; esta mezcla se incubó a 90°C por 45 minutos y se colocaron en hielo para detener la reacción.

Posteriormente se adicionaron 1.2 mL de butanol y 100  $\mu\text{L}$  de una solución sobresaturada de NaCl, se centrifugó a 5000rpm por 1 min, y la fase alcohólica se leyó a 535 nm y a 572nm para corregir la absorción. Se establecieron como valores normales a aquellos valores < a 0.340  $\mu\text{mol/L}$  y como altos a aquellos valores  $\geq$  0.340  $\mu\text{mol/L}$ .

### **SUPERÓXIDO DISMUTASA (SOD)**

En la determinación de la actividad de SOD se empleó el equipo comercial RANSOD superóxido dismutasa (Randox Laboratories, Ltd) que se basa en el empleo de xantina y xantin oxidasa (XOD) para formar radicales superóxido que reaccionan con un cloruro de 2-(4-yodofenil)-3-(4-nitrofenol)-5-feniltetrazolio (I.N.T.) para formar un colorante formazán rojo. La actividad de SOD se mide por el grado de inhibición de esta coloración a 505 nm.

En este procedimiento se tomaron 500  $\mu\text{L}$  de la muestra de sangre total y se lavaron los eritrocitos 3 veces con 3 mL de solución de NaCl al 0.9%, centrifugando durante 10 min. a 3000 rpm después de cada lavado. A este centrifugado lavado de eritrocitos se adicionaron 2 mL de agua bidestilada fría, se mezcló y dejó reposar durante 15 min. a 4°C. Del lisado se tomaron 100  $\mu\text{L}$  y se diluyeron con 1.9 mL de amortiguador fosfato 0.01 mmol/L pH 7.0. Con la muestra así diluida se realizó el ensayo y la actividad de SOD se expresó en U/L. Los valores de corte normales para SOD son valores > 170 U/L, y bajos los valores  $\leq$  170 U/L.

### **GLUTATIÓN PEROXIDASA (GPx)**

Para la cuantificación de la actividad de glutatión peroxidasa se empleó el estuche comercial RANSEL glutatión peroxidasa (Randox Laboratories, Ltd). Este método está basado en el trabajo de Plagia y Valentine. La glutatión peroxidasa (GPx) cataliza la oxidación del Glutathion (GSH) por el hidroperóxido de cumeno.



El glutatión oxidado (GSSG) en presencia de glutatión reductasa (GR) y NADPH es convertido en su forma reducida con una oxidación de NADPH en  $\text{NADP}^+$ . Se mide la disminución de la absorción a 340 nm.



Para realizar este ensayo se diluyeron 0.05 mL de sangre entera heparinizada en 1 mL de solución diluyente, provista por Randox; se incubó durante 5 min. para posteriormente añadir 1 mL de reactivo de Drabkin a doble concentración. Las muestras se analizaron en los siguientes 20 min y la actividad de GPx se expresó en U/L. Se establecieron como valores normales de corte aquellos valores  $> 5500$  U/L y valores bajos aquellos  $\leq 5500$  U/L.

### **RAZÓN SOD/GPx**

Este parámetro se obtuvo como resultado del cociente entre la actividad de la enzima SOD y la actividad de la enzima GPx, ambas en U/L. Se consideraron valores normales a las razones  $< 0.023$ , valores altos a las razones  $\geq 0.023$ .

### **ANTIOXIDANTES TOTALES.**

Para la determinación de los antioxidantes totales se empleó el equipo comercial Estado de los antioxidantes totales (Randox Laboratories, Ltd). El análisis del estado de los antioxidantes totales es 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<sup>+</sup>. 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 que se lee a 600 nm. Los AT se expresaron en mmol/L, considerándose como valores de AT normales a los valores > 0.90 mmol/L, y bajo a los valores ≤ 0.90 mmol/L.

### **BRECHA ANTIOXIDANTE (GAP)**

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

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

El TEAC de albúmina es 0.69 y el TEAC del ácido úrico es 1.00.<sup>43</sup>

Los valores normales son aquellos > 190 μmol/L, y bajos los valores ≤ 190 μmol/L.

### **EFICIENCIA DEL SISTEMA ANTIOXIDANTE**

Con los parámetros razón SOD/GPx, AT y GAP así determinados se prosiguió a la integración del constructo para evaluar la eficiencia del sistema antioxidante como se describió en el apartado de variables.

### **D) MEDICIONES ANTROPOMÉTRICAS**

Para obtener las medidas antropométricas del adulto mayor se determinó el peso, talla, circunferencias de cintura y cadera, índice de masa corporal (IMC) e índice cintura-cadera (ICC).

**Peso.** Cada individuo se pesó en una báscula calibrada marca Torino con la menor cantidad de ropa o con una bata clínica.

**Talla.** Se colocó al adulto mayor con los talones juntos, los glúteos, hombros y

cabeza en contacto con el estadímetro y la mirada al frente.

La determinación de cada circunferencia se realizó con una cinta de asbesto sin hacer ninguna presión sobre el cuerpo; la circunferencia de la cintura se midió a nivel de la cicatriz umbilical y la circunferencia de cadera a nivel de la parte más prominente de los glúteos.

El IMC se obtuvo a través del cálculo de la razón del peso dividido entre la talla al cuadrado y se expresó en  $\text{kg/m}^2$ . El ICC se obtuvo al dividir el valor obtenido de la circunferencia de la cintura entre la circunferencia de la cadera.

### **E) CUESTIONARIO DE FACTORES PRO-OXIDANTES**

A cada individuo se le aplicó una batería de instrumentos validados (se incluyen en el anexo) en completa confidencialidad que incluye:

- Información general sobre el individuo. Información que abarca los datos personales, aspectos socioeconómicos, aspectos de salud, los hábitos y ejercicio.
- Cuestionario de actividades de la vida diaria para ancianos en comunidad.
- Cuestionario de actividades físicas de NAGI.
- Minivaloración nutricional (MNA) modificado.
- Frecuencia de consumo de alimentos.

### **VII.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Los datos se analizaron empleando el paquete estadístico SPSS V. 10.0. Para la descripción de los grupos se empleó la media y la desviación estándar y para la comparación se emplearon ANOVA, con la prueba de Tukey como post hoc, t de Student y  $\chi^2$ . Adicionalmente, se calculó la razón de momios (RM) con un intervalo de confianza al 95% (IC95%). Se consideró significancia estadística cuando  $p < 0.05$ .

---

---

## VIII. RESULTADOS

### VIII.1. Parámetros bioquímicos y antropométricos por lugar de residencia.

La población de estudio esta conformada por 60 AM del área rural y 93 AM del área urbana, en el área rural se tiene 43 mujeres y 17 hombres y en el área urbana se tienen 76 mujeres y 17 hombres.

En el cuadro VIII.1 se presenta la descripción de los parámetros bioquímicos y antropométricos de la población. Se observa que los niveles séricos de ácido úrico, colesterol y triglicéridos de los AM del área urbana son significativamente más altos que los del área rural ( $p < 0.05$ ), al igual que los niveles séricos de urea ( $p < 0.0001$ ).

### VIII.2. MARCADORES DE EOX POR LUGAR DE RESIDENCIA

Por lugar de residencia, en el cuadro VIII.2 se observa que los AM del área urbana presentan niveles de lipoperoxidos y una razón SOD/GPx más altos que en el área rural ( $0.347 \pm 0.109 \mu\text{mol/L}$  vs  $0.233 \pm 0.103 \mu\text{mol/L}$  y  $0.034 \pm 0.013$  vs  $0.022 \pm 0.005$  respectivamente,  $p < 0.0001$ ); los valores del GPx, antioxidantes totales y GAP se encuentran más bajos en el área urbana con respecto al área rural ( $5507 \pm 1927 \text{ U/L}$  vs  $7887 \pm 1705 \text{ U/L}$ ,  $0.85 \pm 0.15 \text{ mmol/L}$  vs  $1.11 \pm 0.23 \text{ mmol/L}$  y  $84 \pm 174$  vs  $332 \pm 251$ , respectivamente,  $p < 0.0001$ ). En el área urbana se tienen menos células con daño que en el área rural con diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ).

Para mantener un equilibrio oxidativo en el organismo es importante la eficiencia del sistema antioxidante. Cuando el sistema antioxidante es eficiente, es decir cuando todos sus componentes presentan valores óptimos, se observa (en la Figura VIII.1) que los LPO se encuentran disminuidos y cuando el sistema antioxidante es deficiente los

niveles de LPO se elevan de  $0.213 \pm 0.059 \mu\text{mol/L}$  a  $0.249 \pm 0.125 \mu\text{mol/L}$  en el área rural y de  $0.307 \pm 0.170 \mu\text{mol/L}$  a  $0.348 \pm 0.107 \mu\text{mol/L}$  en el área urbana.

En el cuadro VIII.3 se observa que el lugar de residencia influye en los niveles de LPO ya que cuando el sistema antioxidante es eficiente en el área rural los LPO se encuentran más bajos que en el área urbana ( $0.213 \pm 0.059 \mu\text{mol/L}$  vs  $0.307 \pm 0.170 \mu\text{mol/L}$ ) y cuando el sistema antioxidante es deficiente los LPO se encuentran significativamente más altos en el área urbana que en el área rural, ( $0.249 \pm 0.125 \mu\text{mol/L}$  vs  $0.348 \pm 0.107 \mu\text{mol/L}$ ,  $p < 0.0001$ ).

Con respecto a los componentes del sistema antioxidante se observa que la actividad de GPx, la razón SOD/GPx, AT y GAP se encuentran alterados en el área urbana y esa alteración en los valores repercute en la eficiencia del sistema antioxidante: Se observa que cuando el sistema antioxidante es deficiente en el área urbana, la actividad de GPx, los antioxidantes totales y el GAP antioxidante se encuentran significativamente disminuidos con respecto al área rural ( $p < 0.0001$ ), mientras que la razón SOD/GPx se encuentra significativamente elevada ( $p < 0.0001$ ).

En el cuadro VIII.4 y con base en el constructo planteado en el apartado de material y métodos se puede observar que los AM del área rural que tienen alguna deficiencia en sus sistema antioxidante, ya sea endógena, exógena o total, presentan niveles de LPO más altos que los que tienen un sistema antioxidante eficiente.

Los AM que tienen deficiencia antioxidante endógena o exógena en el área urbana presentan valores de LPO elevados con respecto a los que tienen un sistema antioxidante eficiente en el área rural ( $p < 0.01$ ) y los que presentan deficiencia antioxidante global en el área urbana tienen niveles de LPO significativamente elevados con respecto a los AM con SAE en el área rural ( $p < 0.0001$ ), que incluso sobrepasan los valores de corte.

En el cuadro VIII.5 se observan la frecuencias del daño oxidativo y la eficiencia del sistema antioxidante por lugar de residencia. Si definimos como EOX al desequilibrio entre oxidantes y antioxidantes, en este caso presentan EOX todos aquellos individuos que tienen daño oxidativo en lípidos y/o ADN, tienen deficiencia antioxidante endógena, exógena o total, o presentan ambas características. Por lo tanto, en el área rural, 24 individuos (40%) no tienen estrés oxidativo y el 60% si presenta estrés oxidativo; por otro lado, en el área urbana sólo 2 individuos no tienen EOX, que representa el 2% de la población urbana, contra un 98% de AM que si lo presentan. Estos datos muestran que en el área urbana es más frecuente el estrés oxidativo ( $p < 0.0001$ ).

Adicionalmente, se encontró que residir en el área urbana es un factor de riesgo para el EOX (RM= 30.33, IC95%: 6.81-135.02,  $p < 0.0001$ ).

De acuerdo a la relación que existe entre el daño oxidativo y la eficiencia del sistema antioxidante, se encontró que de los AM que residen en el área rural el 40% no presentan daño ni a lípidos ni al ADN y tienen un sistema antioxidante eficiente y por otro lado, se encontró que de los AM que residen en la ciudad, el 19% no tiene daño oxidativo ni en lípidos ni en el ADN pero su sistema antioxidante tiene deficiencia global ( $p < 0.0001$ ), en el 3% de los AM que no presentan daño oxidativo su sistema antioxidante presenta deficiencia exógena ( $p < 0.01$ ) y en el 6% de esos AM su sistema antioxidante presenta deficiencia endógena.

### **VIII.3. ESTILO DE VIDA Y DAÑO OXIDATIVO**

Se observó en el área urbana que el consumo de café y el alcoholismo representan factores de riesgo para el daño oxidativo a lípidos y ADN (RM= 1.775, IC95%: 1.280-2.460,  $p < 0.0001$ ; RM= 1.768, IC95%: 1.114-2.804,  $p < 0.01$ , respectivamente).

Cuadro VIII.1. Descripción de los parámetros bioquímicos de la población de estudio por lugar de residencia

PARÁMETRO	RURAL (n = 60)	URBANA (n = 93)	Valor de p
Edad (años)	70 ± 6.9	68.4 ± 6.3	>0.05
Índice de masa corporal (kg/m <sup>2</sup> )	27.89 ± 3.57	28.86 ± 4.14	>0.05
Índice cintura-cadera	0.93 ± 0.078	0.90 ± 0.089	<0.05
Glucosa (mg/dL)	105 ± 30	105 ± 34	>0.05
Urea (mg/dL)	32 ± 9	38 ± 8	<0.0001
Creatinina (mg/dL)	0.92 ± 0.15	0.93 ± 0.45	>0.05
Ácido úrico (mg/dL)	5.4 ± 1.2	4.9 ± 1.4	<0.05
Colesterol (mg/dL)	208 ± 29	224 ± 46	<0.05
Triglicéridos (mg/dL)	158 ± 60	197 ± 108	<0.05
HDL (mg/dL)	51 ± 11	52 ± 12	>0.05
Albúmina (g/dL)	4.4 ± 0.4	4.6 ± 0.4	>0.05
Hemoglobina (g/dL)	15.1 ± 1.5	14.8 ± 1.3	>0.05
Hematocrito (%)	46 ± 4	45 ± 4	>0.05
Eritrocitos (X10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup> )	5.05 ± 0.45	4.94 ± 0.47	>0.05
Leucocitos (cels/mm <sup>3</sup> )	5972 ± 1363	6188 ± 1292	>0.05

Promedios ± desviación estándar. Prueba t de Student.

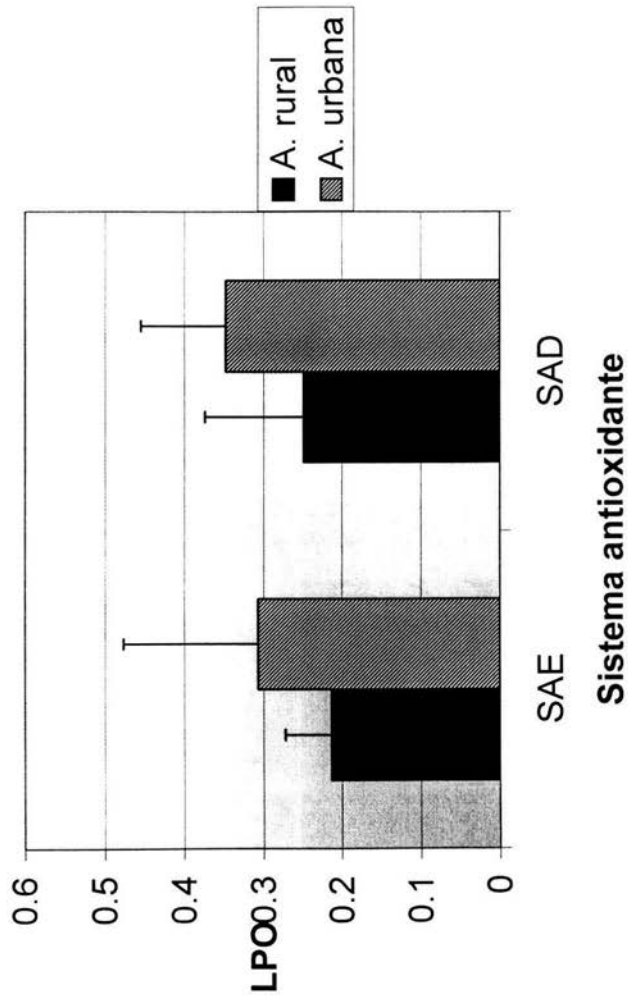


Cuadro VIII.2. Marcadores de EOx en AM por lugar de residencia.

PARÁMETRO	RURAL (n = 60)	URBANA (n = 93)	Valor de p
Lipoperóxidos ( $\mu\text{mol/L}$ )	$0.233 \pm 0.103$	$0.347 \pm 0.109$	<0.0001
Superóxido dismutasa (SOD) (U/L)	$170 \pm 6$	$169 \pm 9$	>0.05
Glutación peroxidasa (GPx) (U/L)	$7887 \pm 1705$	$5507 \pm 1927$	<0.0001
Razón SOD/GPx	$0.022 \pm 0.005$	$0.034 \pm 0.013$	<0.0001
Antioxidantes totales (mmol/L)	$1.11 \pm 0.23$	$0.85 \pm 0.15$	<0.0001
Brecha antioxidante (GAP) ( $\mu\text{mol/L}$ )	$332 \pm 251$	$84 \pm 174$	<0.0001
Células sin daño	$98 \pm 2$	$96 \pm 9$	<0.05

Promedios  $\pm$  desviación estándar, prueba t de Student,

Figura VIII.1. Niveles de lipoperoxidos plasmáticos (LPO) por lugar de residencia y estado del sistema antioxidante.



Las barras indican el promedio de LPO por lugar de residencia. SAE: Sistema antioxidante eficiente, SAD: Sistema antioxidante deficiente.

Cuadro VIII.3. Marcadores de EOX y sistema antioxidante (SA) por lugar de residencia.

PARÁMETRO	ÁREA RURAL			ÁREA URBANA		
	SA eficiente n = 26	SA deficiente n = 34	SA eficiente n = 3	SA eficiente n = 3	SA deficiente n = 90	
Lipoperóxidos (LPO) ( $\mu\text{mol/L}$ )	0.213 $\pm$ 0.059	0.249 $\pm$ 0.125	0.307 $\pm$ 0.170	0.348 $\pm$ 0.107 <sup>a</sup>		
Células sin daño	98 $\pm$ 2	98 $\pm$ 2	98 $\pm$ 3	96 $\pm$ 9		
Superóxido dismutasa (SOD) (U/L)	170 $\pm$ 6	170 $\pm$ 6	162 $\pm$ 3	169 $\pm$ 9		
Glutatión-peroxidasa (GPx) (U/L)	8982 $\pm$ 1073	7050 $\pm$ 1631	7473 $\pm$ 398	5441 $\pm$ 1923 <sup>b</sup>		
Razón SOD/GPx	0.019 $\pm$ 0.002	0.025 $\pm$ 0.005	0.021 $\pm$ 0.000	0.034 $\pm$ 0.011 <sup>c</sup>		
Antioxidantes totales (AT) (mmol/L)	1.20 $\pm$ 0.20	1.04 $\pm$ 0.23	1.03 $\pm$ 0.036	0.84 $\pm$ 0.15 <sup>d</sup>		
Brecha antioxidante (GAP) ( $\mu\text{mol/L}$ )	442 $\pm$ 202	247 $\pm$ 254	310 $\pm$ 104	76 $\pm$ 171 <sup>e</sup>		

Promedios  $\pm$  desviación estándar. ANOVA y prueba de Tukey. LPO: SA deficiente urbana vs. rural,  $p < 0.0001^a$ ; GPx: SA deficiente urbana vs. rural,  $p < 0.0001^b$ ; Razón SOD/GPx: SA deficiente urbana vs. rural,  $p < 0.0001^c$ ; AT: SA deficiente urbana vs. rural,  $p < 0.0001^d$ ; GAP: SA deficiente urbana vs. rural,  $p < 0.0001^e$ .

Cuadro VIII.4. Marcadores de daño oxidativo y eficiencia del sistema antioxidante por lugar de, promedios  $\pm$  desviación estándar.

	SISTEMA ANTIOXIDANTE	RURAL (n = 60)	URBANA (n = 93)
LIPOPEROXIDOS (LPO) ( $\mu$ mol/L )	SAE	0.213 $\pm$ 0.059	0.307 $\pm$ 0.170
	DAEN	0.191 $\pm$ 0.077	0.340 $\pm$ 0.109 <sup>a,b</sup>
	DAEX	0.292 $\pm$ 0.120	0.357 $\pm$ 0.130 <sup>c,d</sup>
	DGSA	0.320 $\pm$ 0.155	0.349 $\pm$ 0.106 <sup>e,f</sup>
CÉLULAS CON DAÑO (células)	SAE	98 $\pm$ 2	98 $\pm$ 3
	DAEN	98 $\pm$ 2	96 $\pm$ 7
	DAEX	99 $\pm$ 2	96 $\pm$ 5
	DGSA	99 $\pm$ 2	97 $\pm$ 4

SAE: Sistema antioxidante eficiente; DAEN: Deficiencia antioxidante endógena; DAEX: Deficiencia antioxidante exógena; DGSA: Deficiencia global del sistema antioxidante.

ANOVA y Tukey. LPO: DAEN urbana vs. SAE rural,  $p < 0.010^a$ ; DAEN urbana vs. rural,  $p < 0.010^b$ ; DAEX urbana vs. SAE rural,  $p < 0.010^c$ ; DAEX urbana vs. DAEN rural,  $p < 0.010^d$ ; DGSA urbana vs. SAE rural,  $p < 0.0001^e$ ; DGSA urbana vs. DAEN rural,  $p < 0.0001^f$ .

Cuadro VIII.5. Frecuencias de daño oxidativo y eficiencia del sistema antioxidante por lugar de residencia.

	LPO	ADN	RURAL	URBANA	Valor de p
SAE	Normales	Sin daño	24 (40%)	2 (2%)	>0.05
	Altos	Sin daño	1 (1%)	1 (1%)	>0.05
	Normales	Con daño	2 (3%)	0 (0%)	>0.05
	Altos	Con daño	0 (0%)	0 (0%)	>0.05
DAEN	Normales	Sin daño	11 (18%)	6 (6%)	<0.05
	Altos	Sin daño	4 (7%)	6 (6%)	>0.05
	Normales	Con daño	1 (2%)	4 (4%)	>0.05
	Altos	Con daño	0 (0%)	0 (0%)	>0.05
DAEX	Normales	Sin daño	3 (5%)	3 (3%)	<0.010
	Altos	Sin daño	5 (8%)	3 (3%)	>0.05
	Normales	Con daño	0 (0%)	2 (2%)	>0.05
	Altos	Con daño	0 (0%)	1 (1%)	>0.05
DGSA	Normales	Sin daño	2 (3%)	18 (19%)	<0.0001
	Altos	Sin daño	6 (10%)	32 (34%)	>0.05
	Normales	Con daño	1 (2%)	10 (11%)	>0.05
	Altos	Con daño	0 (0%)	5 (5%)	>0.05

SAE: Sistema antioxidante eficiente, DAEN: Deficiencia antioxidante endógena, DAEX: Deficiencia antioxidante exógena y DGSA: Deficiencia global del sistema antioxidante. LPO, normales: < 0.340  $\mu\text{mol/L}$  ; altos:  $\geq 0.340 \mu\text{mol/L}$ . ADN, con daño:  $\geq 6$  células; sin daño: < 6 células. Prueba ji cuadrada ( $\chi^2$ )

## **IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS**

El EOx no es una característica inherente al envejecimiento; ya que el proceso está determinado no sólo por cambios biológico y bioquímicos, sino también por factores ambientales y estilos de vida. Al respecto, aunque el envejecimiento se acompaña de mayor generación de RL, estos son contrarrestados por la acción eficiente de un sistema antioxidante, por lo que el EOx no siempre está presente en el proceso de envejecimiento, lo cual puede ser un factor determinante del "envejecimiento exitoso". Sin embargo, cuando el envejecimiento se acompaña de mayor EOx, propicia una disminución de la reserva homeostática e incrementa la vulnerabilidad para padecimientos infecciosos y crónico-degenerativos.<sup>54-56</sup>

El ambiente constituye un factor determinante en la capacidad de adaptación de los individuos que seguramente se verá reflejado en la vejez. En este sentido, se ha sugerido que el ambiente que se tiene en las grandes urbes es un factor pro-oxidante que repercute negativamente sobre el estado de salud, ya que los individuos de las ciudades tienen un ritmo de vida muy acelerado (estresante), que favorece la aparición de desórdenes alimenticios debido a la ausencia de horarios establecidos para la ingestión de alimentos y el tipo de alimentos que se ingieren que pueden ser poco nutritivos o ricos en grasas; las posibilidades de llevar a cabo ejercicio físico disminuye debido al sinnúmero de ocupaciones de los individuos, además de adoptar hábitos sociales que son nocivos para la salud como fumar, tomar bebidas embriagantes y dormir menos horas al día, y sobretodo la influencia de la contaminación ambiental que ha sido asociada con problemas de salud y mayor mortalidad en adultos mayores.<sup>57</sup>

En las ciudades, la contaminación ambiental es un problema de suma importancia, el tráfico terrestre suele ser una forma muy usual de contaminación, debido al ruido y los vapores tóxicos de gasolina que se liberan, aunque la acumulación de partículas como ozono y dióxido nítrico también son potente contaminantes y fuertes

oxidantes.<sup>1</sup> Sin embargo, el efecto de los contaminantes solo se observará en función de la adaptación de los individuos al ambiente.

Los resultados de nuestro estudio muestran que los AM residentes del área urbana presentan niveles significativamente más altos de colesterol y triglicéridos ( $p < 0.05$ ), debido probablemente a los hábitos alimenticios y estilo de vida, lo cual constituye un factor de riesgo para hipertensión arterial y diabetes mellitus tipo 2, cuya prevalencia es mayor en el área urbana que en la rural, tal como fue demostrado por Lerman y cols (1998).<sup>58</sup>

Las partículas tóxicas ( $PM_{10}$ ) que contiene el aire de las ciudades sin duda es fundamental en el estado oxidativo de las personas que habitan en ellas. En este sentido, en nuestro estudio encontramos mayor EOx en los AM residentes de la ciudad de México en comparación con los residentes de Actopan, Hidalgo, caracterizado por niveles significativamente más altos de LPO ( $p < 0.0001$ ), lo cual puede ser debido entre otros factores a las altas concentraciones de ozono y  $PM_{10}$  a los que están expuestos la mayor parte del tiempo los residentes de la ciudad de México, cuyas repercusiones biológicas a nivel de la membrana celular, pérdida de organelos citoplasmáticos y degeneración celular, propician daños en tejidos, órganos y enfermedades crónico-degenerativas.<sup>11,33</sup>

Por otro lado, también encontramos que el sistema antioxidante está significativamente disminuido en los AM del área urbana, los valores de GPx se encuentran por debajo de 5500 U/L, con lo cual ocasiona un aumento en la razón SOD/GPx, debido a la mayor actividad relativa de la SOD respecto a la actividad de GPx por lo que el balance entre estas enzimas se ve afectado, favoreciendo una mayor generación de  $H_2O_2$  y por medio de la reacción de Fenton incremento en la producción del radical hidroxilo y por lo tanto, la resistencia de las células al daño oxidativo se ve disminuida.<sup>59,60</sup> Al respecto, hay evidencias científicas respecto a que la actividad de ambas enzimas está determinada por la concentración de sus sustratos, por lo que es

de suponer que la SOD no aumenta porque el superóxido se degrada conforme se va produciendo y no es necesaria una mayor actividad enzimática, por otro lado, si la GPx no incrementa su actividad indica que no está respondiendo ante el estímulo y que no hay una respuesta adaptativa ante el estrés que se está produciendo.<sup>47,59</sup>

Respecto a los antioxidantes totales, encontramos en nuestro estudio actividad significativamente más baja en el área urbana que en la rural, lo cual podría constituir un factor de riesgo de EOx y mayor vulnerabilidad para los padecimientos crónico-degenerativos, sin embargo se ha demostrado que niveles bajos de AT no son predictores de daño oxidativo.<sup>49</sup> El GAP antioxidante, lo encontramos disminuido en AM del área urbana con respecto al área rural. En este sentido, el GAP refleja muchos de los antioxidantes no medibles (vitaminas, bilirrubina y proteínas atrapadoras de metales, entre otros), por lo que los niveles bajos son factores determinantes de EOx.<sup>61</sup>

En general los resultados de nuestro estudio demuestran que los AM residentes de el área urbana tienen un riesgo significativamente mayor de sufrir EOx que los residentes del área rural. En este sentido, la razón de momios pone en evidencia que los AM residentes de la ciudad de México tienen 29.3 veces más de presentar EOx que los AM de la comunidad de Actopan, (RM= 30.33, IC95%: 6.81-135.02,  $p < 0.0001$ ), sin embargo es importante señalar que la longevidad máxima y el estado de salud en general es mejor que la de otros estados de la República Mexicana,<sup>62</sup> lo cual podría ser debido a un proceso gradual y adaptativo que van desarrollando los habitantes de la ciudad de México a través del proceso fisiológico denominado hormesis, tal como fue demostrado por Hicks y cols (1996),<sup>63, 64</sup>

En el caso de los AM que viven en el área rural, la contaminación ambiental es menor, por lo que se genera menor cantidad de especies oxidantes, lo cual es benéfico para el organismo y protege en cierta medida contra los padecimientos infecciosos y



crónico-degenerativos, sin embargo se ha demostrado que la exposición gradual y constante a bajas dosis de RL libres podría propiciar una resistencia contra el EOx a través del proceso adaptativo denominado hormesis,<sup>63</sup> lo cual podría explicar las mejores condiciones de salud de los AM de la ciudad de México en comparación con los de Actopan, Hidalgo. En este sentido, aunque en la ciudad de México la exposición a RL por contaminantes no se lleva a cabo a bajas dosis, la exposición permanente a los RL podría favorecer el proceso adaptativo, sin embargo no debemos olvidar que estamos estudiando sujetos "supervivientes", los cuales no son representativos de la población residente de la ciudad de México, ya que muchos de ellos mueren antes de alcanzar los 60 años de edad.

Se ha demostrado que el daño oxidativo acumulado en macromoléculas y consecuentemente en las células incrementa la vulnerabilidad para las enfermedades infecciosas y crónico-degenerativas, no obstante si dicho daño es contrarrestado por la acción de un sistema antioxidante eficiente, no altera la homeostasis del organismo y por lo tanto se evita dicho riesgo. Al respecto, en nuestro estudio observamos que el 40% de los AM residentes en el área rural, presentaban un sistema antioxidante eficiente con niveles bajos de LPO y células sin daño al ADN, lo que demuestra que aunque se están generando EROs de manera normal en el organismo como producto del metabolismo aeróbico y otros procesos, el sistema antioxidante limita la formación de esas especies oxidantes y no permite que lleguen a macromoléculas blanco, por lo que no se ve afectada la respuesta homeostática de los AM, protegiendo contra las enfermedades vinculadas con el EOx.

Por otro lado, en el área urbana, la mayor parte de los componentes del sistema antioxidante se encuentran alterados en el 31% de los AM, sin embargo, los niveles de LPO son normales y sus linfocitos no presentan daño oxidativo al ADN. Al respecto, en el 19% de los AM que no presentan niveles altos de LPO ni daño oxidativo al ADN hay una deficiencia global, sin embargo como se señaló anteriormente es muy probable que los residentes de la ciudad de México están inmersos en un proceso biológico de

adaptación continua, tal como lo ha demostrado Medina-Navarro et al (1997)<sup>50</sup> en adultos jóvenes.

La eficiencia del sistema antioxidante en la vejez ha sido demostrada por King et al. (1997),<sup>47</sup> quienes encontraron que el sistema antioxidante en ancianos tiende a la adaptación para mantener los niveles de daño oxidativo semejantes a los de población joven, ya que en los individuos que no se presenta esta adaptación, la resistencia al EOx es menor y posiblemente no alcanzan la etapa de vejez, ya que perecen a causa de padecimientos infecciosos o crónico-degenerativos por su inadaptación biológica.

Considerando lo anterior, el proceso de adaptación alostático en el que las condiciones del medio interno buscan mantener la homeostasis en respuesta ante los retos externos, puede ser el factor determinante del envejecimiento exitoso. En este sentido, la exposición al ozono o la contaminación ambiental que ocurre en zonas urbanas constituye un agente estresante continuo, el cual es contrarrestado en todo momento a través del proceso alostático, en el que está involucrado el sistema antioxidante, de ahí la importancia de fortalecerlo con la ingesta de antioxidantes vitamínicos del tipo de la vitamina E y C, además de una dieta rica en frutas y verduras.

Por lo tanto, el proceso de adaptación constituye el mecanismo biológico fundamental para el envejecimiento exitoso, ya que de no presentarse, los individuos no llegan a la vejez y si lo hacen, cursan un envejecimiento con fragilidad, con repercusiones en la funcionalidad física, mental y social y en su calidad de vida en general.

Finalmente es importante señalar que a pesar de que el tamaño de la muestra de este estudio no nos permite extrapolar los resultados a la población en general, las evidencias epidemiológicas encontradas respecto al mayor riesgo de EOx por vivir en grandes urbes como la ciudad de México, justifica la recomendación de vitamínicos antioxidantes con fines preventivos y terapéuticos en los AM residentes en áreas urbanas, para contrarrestar el incrementado EOx que presentan por el ambiente y el estilo de vida urbano.

## **X. CONCLUSIONES.**

### **Hipótesis**

*Considerando las evidencias científicas respecto a que la contaminación ambiental y el estrés psicológico son factores pro-oxidantes, suponemos que los AM residentes en la ciudad de México presentarán mayor estrés oxidativo, que los residentes de un área rural de Actopan, Hidalgo.*

### **Conclusiones:**

1. Los AM de la ciudad de México tienen 29.3 veces mayor riesgo de EOx que los AM residentes de Actopan, Hidalgo.
2. La proporción de AM con EOx es significativamente mayor en el área urbana que en la rural.
3. El sistema antioxidante eficiente en los AM residentes del área rural se traduce en niveles bajos de LPO y baja proporción de células con daño al ADN.
4. Es probable que los AM de la ciudad de México desarrollen una adaptación biológica que les permite cursar con mayor EOx sin las repercusiones biológicas y físicas esperadas.

## **XI. PERSPECTIVAS**

- Es recomendable continuar con esta línea de investigación incrementado el tamaño de la muestra, además de diseñar un estudio de tipo longitudinal, para obtener resultados más concluyentes.
  
- Sería conveniente llevar a cabo estudios de intervención comunitaria para evaluar la efectividad de los antioxidantes vitamínicos para contrarrestar el mayor EOX generado por el lugar de residencia urbano.
  
- Sería de gran utilidad implementar programas de promoción de la salud para mejorar los hábitos y estilos de vida pro-oxidantes en los AM del área urbana.

---

---

## XII. REFERENCIAS

1. Rodríguez MAS, Núñez VMM. Envejecimiento, enfermedades crónicas y antioxidantes. México: Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM; 2003: p. 5-87.
2. Sohal RS, Weindruch R. Oxidative stress, caloric restriction, and aging. *Science* 1954; 119: 623-626.
3. Knight JA. Diseases/disorders linked to oxygen free radicals. In: *Laboratory medicine and the aging process*. Chicago: ASCP Press; 1996: p. 37-54.
4. Secretaría de desarrollo social. Ley de los derechos de las personas adultas mayores. *Diario oficial* 2002 jun 25; sección 1: 43-59.
5. United Nations. Population ageing 2002. Division Department of Economic and Social Affairs. United Nations 2002. Disponible en: <http://www.un.org/esa/population/publication>.
6. Partida BV. Monto y estructura de la población en el año 2000 y perspectivas en el 2050. *Demos. Carta demográfica sobre México* 2001; 1: 6-7.
7. Secretaría de salud. Causas de mortalidad general. Disponible en: <http://www.salud.gob.mx>.
8. Gutteridge JM. Free radicals and aging. *Rev Clin Gerontol* 1994; 4: 279-288.
9. Harman D. The aging process. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981; 78: 7124-7128.
10. González-Torres MC, Betancour-Rule M, Ortiz-Muñiz R. Daño oxidativo y antioxidantes. *Bioquímica* 2000; 25 (1): 3-9.
11. Capote KR, Miranda EC. Estrés oxidativo y envejecimiento. *Rev Cubana Invest Biomed* 1999; 18 (2): 67-76.
12. Cabrera TC, Serrano DS. Algunos aspectos sobre el estrés oxidativo, el estado antioxidante y la terapia de suplementación. *Rev Cubana Cardiol* 2000; 14 (1): 55-60.
13. Halliwell B, Gutteridge JMC, Cross CE. Free radicals, antioxidants and human disease: Where are we now? *J Lab Clin Med* 1992; 119: 598-620.
14. Ames BN. *Science* 1983; 221: 1256-1264.
15. Bruce R, Troen MD. The biology of aging. *Mount Sinai J Med* 2003; 70: 3-22.

16. Marcelino LA, Thilly WG, Mitochondrial mutagenesis in human cells and tissues. *Mutat Res* 1999; 434: 177-203.
17. Cadenas E, Davies JA. Mitochondrial free radical generation oxidative stress and aging. *Free Radic Biol Med* 2000; 29: 222-230.
18. Bohr V, Mazur S, Dianov G. Oxidative DNA damage processing and changes with aging. *Toxicol Lett* 1998; 102,103: 47-52.
19. Cadet J, Bardet M, Berger M, Berthod T, Delatour T, D'Ham C, et al. Oxidative base damage to DNA. Recent mechanistic aspects, measurement and repair. In: Dizdaroglu M and Karakaya AE editors. *Advances in DNA damage and repair*. New York: Plenum Publishers; 1999: p. 47-58.
20. Wallace SS. Biological consequences of free radical damaged DNA bases. *Free Radic Biol Med* 2002; 33 (1): 1-14.
21. Retana-Ugalde R, Altamirano-Lozano M, Mendoza-Núñez VM, Molina-Alvarez B. Daño en el ADFN como posible predictor de fragilidad en el proceso de envejecimiento. *Tópicos de Investigación y posgrado* 1997; 5(3): 180-184.
22. Gutteridge JMC. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem* 1995; 41: 1819-1828.
23. Knight JA. Free radicals: their presence in biological systems. In: *Free radicals, antioxidants, aging and disease*. Washington: AACCC Press; 1999: p. 21-43.
24. Finkel T, Holbrook NJ. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature* 2000; 408: 239-247.
25. Niki E. Action of antioxidants against oxidative stress. In: Dizdaroglu M and Karakaya AE editors. *Advances in DNA damage and repair*. New York: Plenum Publishers; 1999: p. 313-318.
26. Perón JMR, López JRM, López YT. Radicales libres en la biomedicina y estrés oxidativo. *Rev Cubana Med Milit* 2001; 30 (1): 36-44.
27. Mates JM, Pérez-Gómez C, De Castro IN. Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin Biochem* 1999; 32 (8): 595-603.

28. Cristiano F, De Haan JB, Iannello C, Kola I. Changes in the levels of enzymes which modulate the antioxidant balance occur during aging and correlate with cellular damage. *Mech Ageing Develop* 1995; 80: 93-105.
29. De Haan JB, Cristiano F, Iannello R, Bladier C, Kelner MJ, Kola I. Elevation in the ratio of Cu/Zn-superoxide dismutase to glutathione peroxidase activity induces features of cellular senescence and this effect is mediated by hydrogen peroxide. *Hum Mol Genetics* 1996; 5: 283-292.
30. Sies H, Stahl W. Vitamins E and C,  $\beta$ -carotene, and other carotenoids as antioxidants. *Am J Clin Nutr* 1995; 62 (suppl): 1315s- 1521s.
31. Mc Call MR, Frei B. Can Antioxidant Vitamins Materially reduce oxidative damage in humans? *Free Radic Biol Med* 1999; 26: (7,8); 1034-1053.
32. Papas AM. Determinants of antioxidant status in humans. In: *Antioxidant status, diet, nutrition, and health*. New York: CRC Press; 1999: p. 21-36.
33. McEwen BS. Sex, stress and the hippocampus: allostasis, allostatic load and the aging process. *Neurobiol Aging* 2002; 23: 921-939.
34. Valverde M, Ostrosky-Wegman P, Rojas E, Fortoui T, Meneses F, Ramírez M, et al. The application of single cell gel electrophoresis or comet assay to human monitoring studies. *Salud Publica Mex* 1999; 41 (Supl 2): S109-S113.
35. Prieto GE, Llopiz JN. Normalización de la electroforesis de células individuales (ensayo cometa). *Rev Cubana Invest Biomed* 1999; 18: 34- 36.
36. Collins AR, et al. DNA damage in diabetes: Correlation with a clinical marker. *Free Radic Biol Med* 1998; 25: 373-377.
37. Tice RR, Agurell E, Anderson D, Burlinson B, Hartman A, Kobayashi H, et al. Single cell gel/comet assay: guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing. *Environ Molec Mutat* 2000; 36: 206-221.
38. Testard I, Sabatier L. Assessment of DNA damage induced by high-LET ions human lymphocytes using the comet assay. *Mutat Res* 2000; 448: 105-115.
39. Gil P, Fariñas F, Casado A, López-Fernández E. Malondialdehyde: A posible marker of ageing. *Gerontol* 2002; 48 (4): 209-214.



40. Amstad P, Moret R, Cerutti P. Glutathione peroxidase compensates for the hypersensitivity of Cu,Zn-superoxide dismutase overproducers to oxidants stress. *J Biol Chem* 1994; 269 (3): 1606-1609.
41. Muchová J, et al. Influence of age on activities of antioxidant enzymes and lipid peroxidation products in erythrocytes and neutrophils of Down Syndrome patients. *Free Radic Biol Med* 2001; 31 (4): 499-508.
42. Prior RL, Cao G. In vivo total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods. *Free Radic Biol Med* 1999; 27 (11,12): 1173-1181.
43. Miller N. Nonvitamin Plasma Antioxidants. En: Armstrong D, Editor. *Methods in Molecular Biology, Vol 108. Free Radical and Antioxidant Protocols*. Totowa, New Jersey: Humana Press. 1998. p. 285-297.
44. Lesgards JF, Durand P, Lassarre M, Stocker P, Lesgards G, Lanteaume A, et al. Assessment of lifestyle effects on the overall antioxidant capacity of healthy subjects. *Environ Health Perspect* 2002; 110: 479-486.
45. González\_Chavez A, Becerra-Pérez AR, Carmona-Solís FK, Cerezo-Goiz IA, et al. Ejercicio físico para la salud. *Rev Mex Cardiol* 2001; 12 (4): 168-180.
46. Ji LL. Exercise at old age: does increase or alleviate oxidative stress? *ANN NY Acad Sci* 2001; 928: 236-247.
47. King CM, Bristow-Craig HE, Gillespie ES, Barnett YA. In vivo antioxidant status, DNA damage, mutation and DNA repair capacity in cultures lymphocytes from healthy 75- to 80-year-old human. *Mutat Res* 1997; 377: 137-147.
48. Betti C, Davini T, Giannessi L, Loprieno N, Barale R. Microgel electrophoresis assay (comet test) and SCE analysis in human lymphocytes from 100 normal subjects. *Mutat Res* 1994; 307: 323-333.
49. Mendoza-Nuñez VM, Retana-Ugalde R, Sánchez-Rodríguez M, Altamirano-Lozano MA. DNA damage in lymphocytes of elderly patients in relation with total antioxidant levels. *Mech Ageing Dev* 1999; 108: 9-23.
50. Medina-Navarro R, Lifshitz A, Wachter N, Hicks JJ. Changes in human serum antioxidant capacity and peroxidation after four months of exposure to air pollutants. *Arch Med Res* 1997; 28 (2): 205-208.

51. Sánchez-Rodríguez MA, Mendoza-Núñez VM, García-Sánchez A, González-González B, Rodríguez-Torres E, González-Obregón A. Valores de referencia de poblaciones senecta y adulta de la ciudad de México. Parámetros bioquímicos y hematológicos. *ABCLDL* 1998; 32: 397-405.
52. Singh NP, Danner DB, Tice RR, Pearson JD, Brant LJ, Morrell CH, y Schneider EL. Basal DNA damage in individual human lymphocytes with age. *Mutat Res* 1991; 256: 1-6.
53. Jentsch A, Bachmann H, F[ur]st P, Bielsalski H. Improved analysis of malondialdehyde in human body fluids. *Free Rad Biol* 1996; 20: 251-256.
54. Vaillant JE, Mukamal K. Successful aging. *Am J Psychiatry* 2001; 158: 839-847.
55. Karlamangla AS, Singer BH, Mc Ewen BS, Rowe JW, Seeman TE. Allostatic load as a predictor of functional decline MacArthur studies of successful aging. *J Clin Epidemiol* 2002; 55: 696-710.
56. Seeman TE, Mc Ewen BS, Rowe JW, Singer BH. Allostatic load as a marker of cumulative biological risk: MacArthur studies of successful aging. *PNAS* 2001; 98 (8): 4770-4775.
57. Téllez-Rojo MM, Romieu I, Ruiz-Velasco S, Lezana MA, Hernández-Avila MM. Daily respiratory mortality and PM10 pollution in Mexico City: importance of considering place of death. *Eur Respir J* 2000; 16: 391-396.
58. Lerman IG, Villa AR, Llaca-Martínez C, Cervantes-Turrubiatez R, Aguilar-Salinas CA, Wong B, Gómez-Pérez FJ, Gutiérrez-Robledo L.M. The prevalence of diabetes and associated coronary risk factors in urban and rural older Mexican populations. *J Am Geriatr Soc* 1998; 46: 1387-1395.
59. Michiels C, Raes M, Toussaint O, Remacle J. Importance of Se- Glutathione peroxidase, catalase, and Cu/Zn-SOD for cell survival against oxidative stress. *Free Radic Biol Med* 1994; 17 (3): 235-248.
60. de Haan JB, Cristiano F, Iannello R, Kola I. Cu/Zn-superoxide dismutase and glutathione peroxidase during aging. *Biochem Mol Biol Int* 1995; 35 (6): 1281-1297.

61. Malliaraki N, Mpliaplias D, Kampa M, Perakis K, Margioris AN, Castans E. Total and corrected antioxidant capacity in hemodialized patients. *BMC Nephrol* 2003; 4: 4.
62. FUNSALUD. Indicadores de salud de los adultos mayores en México. *Salud Publica Mex* 1996. 38: 541-546.
63. Bukowski JA, Lewis RF. Hormesis and health: a little of what you Fancy May. *South Med J* 2000; 93 (4): 371-374.
64. Hicks JJ, Medina-Navarro R, Guzman-Grenfell A, Wachter N, Lifshitz A. Possible effect of air pollutants (Mexico City) on superoxide dismutase activity and serum lipoperoxides in the human adult. *Arch Med Res* 1996; 27 (2): 145- 149.