



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL EN PLASMA
DE INDIVIDUOS CON TABAQUISMO, SOBREPESO U OBESIDAD**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

PRESENTA:

ROSALBA ARMAS TELLEZ



MÉXICO, D.F.

2012



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.



JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Prof. Perla Carolina Castañeda López

VOCAL: Prof. Sobeida Sanchez Nieto

SECRETARIO: Prof. José Pedraza Chaverri

1 er. SUPLENTE: Prof. María Elena Bravo Gómez

2° SUPLENTE: Prof. Perla Deyanira Maldonado Jiménez

LUGAR EN DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

Laboratorio 209, edificio F, segundo piso. Departamento de Biología.
Facultad de Química, UNAM.

Esta tesis fue financiada en parte por PAPIIT IN210713, IN201910 y CONACYT 129838

ASESOR

Dr. José Pedraza Chaverri

SUSTENTANTE

Rosalba Armas Téllez



AGRADECIMIENTOS:

Gracias Padre Santo por tu paciencia, amor, misericordia y fidelidad hacía mi vida, pues aun en mi ceguera y sordera espiritual, tú ya me habías predestinado para ser parte de tu pueblo santo y preparaste mi corazón para poder recibirte. Gracias Señor porque has cambiado toda tristeza en gozo, el vacío por la llenura de tu Santo Espíritu, el desorden en orden y propósito verdadero para mi vida y toda tiniebla ha sido ahogada por el resplandor de la luz de Cristo mi Señor y Salvador; gracias por la vida abundante que me has dado. Gracias Padre porque por tu gracia en este tiempo permites la impresión de este trabajo, conforme a tu voluntad y propósito Padre dame victoria en este examen para honra, gloria y alabanza de tu nombre, amen.

Gracias por la vida de mi padres Ángel y Cristina, por todo sacrificio y esfuerzo, por soportar y amar mi vida, gracias papas. A mis hermanas Selene, Sandra, Elizabeth y hermanos Fernando y Ángel, Padre por tu gracia y misericordia permite que cada uno de ellos también te pueda conocer y deleitarse en tu presencia, amen.

Gracias Dios por la vida de cada uno de mis amigos y amigas en Cristo, gracias por la vida de Luis (por tu apoyo y paciencia), Víctor (por ayudarme con las gráficas y por tu memoria jajajajaja), a Chema y Ailed gracias por haber sido ese instrumento de Dios para mi vida (Dios bendiga su matrimonio y al pequeño Habacuc), gracias Sonia por ser como una hermana para mí por toooooo tu apoyo y amor hacia mi vida, Liz y Ángeles gracias por esas noches y salidas “muy bien planeadas” shhhhh jajajajaja, a Pastor Juan Carlos y Pastora Vero porque llegaron a ser como padres espirituales en esta nueva vida y gracias Dios por las vidas de tus siervos preciosos M. Abraham y Sara guardales y dales buena salud.

Dr. Chaverri muchas gracias por su paciencia y misericordia hacía mi vida, gracias a Dios por su vida y la de su familia; por toda palabra sabia, consejo, consuelo y amor espiritual. Dios siga utilizándoles como mensajeros de las buenas nuevas de salvación, amen.



Gracias por la vida de Angélica por tu disposición para apoyarme y paciencia para explicarme, por toda palabra de exhortación que me diste, gracias; Eliza y Amaury gracias por su colaboración.

Gracias a la Dra. Eunice del Hospital Adolfo López Mateos y al director de este Hospital por las facilidades otorgadas para la toma de las muestras de sangre y a Felipe.

Gracias por cada una de las personas que pusiste en mi vida, por toda situación que has permitido, ayúdame a estar siempre gozosa, orar sin cesar y dar gracias en todo y por todo; porque a los que amamos a Dios todas las cosas nos ayudan a bien, amen.



CONTENIDO	Página
ABREVIATURAS.....	6
1. RESUMEN.....	7
2. INTRODUCCIÓN.....	9
2.1 Radicales libres, especies reactivas de oxígeno (ERO) y estrés oxidante.....	9
2.2 Sistema de defensa antioxidante.....	10
2.3 Antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos.....	12
2.4 Métodos para determinar la capacidad antioxidante usando el radical DPPH.....	13
2.5 Estrés oxidante y enfermedad.....	14
2.6 Tabaquismo	14
2.7 Sobrepeso y Obesidad.....	16
3. JUSTIFICACIÓN.....	17
4. HIPÓTESIS.....	17
5. OBJETIVOS.....	17
6. MATERIAL Y MÉTODOS.....	18
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	20
8. CONCLUSIONES.....	29
9. BIBLIOGRAFIA.....	30
10. ANEXOS.....	33



ABREVIATURAS

ABTS	Ácido 2,2'azinobis-(3- etilbenztiazolina)-6-sulfónico
CLIDDA	Clínica de Detección y Diagnóstico Automatizado
ADN	Ácido desoxirribonucleico
DPPH	1,1-difenil-2-picrilhidrazilo
ERO	Especies reactivas de oxígeno
EPOC	Enfermedad obstructiva crónica
GSH	Glutación reducido
GSSG	Glutación oxidado
HC	Humo del cigarrillo
HO ₂ [•] ,	Hidroperoxilo
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrógeno
IMC	índice de masa corporal
ISSSTE	Instituto de Seguridad Social y Servicios de los Trabajadores del Estado
HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución
MDA	Malondialdehído
NO [•]	Óxido nítrico
NO ₂	Dióxido de nitrógeno
¹ O ₂	Oxígeno singulete
O ₂ ^{•-}	Radical superóxido
[•] OH	Radical hidroxilo
ONOO ⁻	Peroxinitrito
Q	Quinonas
QH ^{•-}	Semiquinona
QH ₂	Hidroquinonas
RO [•]	Radicales alcoxilos
RL	Radicales libres
ROO [•]	Radicales peroxilos



1. RESUMEN

Evaluación de la capacidad antioxidante total en plasma de individuos con tabaquismo, sobrepeso u obesidad.

INTRODUCCION. Las especies reactivas de oxígeno, incluyendo los radicales libres, y el estrés oxidante participan en un número creciente de afecciones de gran interés médico-social. El estrés oxidante está asociado a los mecanismos patogénicos de diferentes enfermedades como diabetes mellitus, obesidad, artritis reumatoide, la fibrosis pulmonar, tabaquismo, aterosclerosis, cáncer, enfermedad obstructiva crónica (EPOC) y a procesos fisiológicos como el envejecimiento. Por lo tanto, es de gran importancia clínica evaluar la capacidad antioxidante de células y fluidos corporales en estos trastornos; ya que si se encuentra significativamente baja, podría considerarse como un marcador indicativo para recomendar la ingesta de suplementos antioxidantes (en posteriores estudios), que puedan proteger al organismo de un aumento en el daño ocasionado por las especies reactivas de oxígeno.

OBJETIVO. Evaluar la capacidad antioxidante total en plasma, eritrocitos y sangre total de individuos con tabaquismo positivo activo, sobrepeso u obesidad.

MATERIAL Y METODOS: Se tomaron muestras de un total de 180 sujetos: 42 sujetos para el grupo control [mujeres y hombres no fumadores y con un índice de masa corporal (IMC) normal], 60 sujetos fumadores y 18 sujetos con sobrepeso y 60 sujetos con obesidad de la Clínica de Detección y Diagnóstico Automatizado (CLIDDA) del Instituto de Seguridad Social y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado (ISSSTE). Este estudio fue aprobado por el Comité de Ética Hospital Regional Lic. Adolfo López Mateos del ISSSTE. Luego del consentimiento informado los pacientes ingresaron a un protocolo donde se registraron antecedentes clínicos como: edad, sexo, peso, talla, IMC, ingesta de vegetales, si practicaban alguna dieta, número de cigarrillos fumados al día y años de fumar. Se excluyeron aquellos pacientes que no tenían su consentimiento informado completo o que no lo hubieran entregado. Este es un estudio de ensayo clínico observacional, transversal; donde se evaluó la capacidad antioxidante en plasma de los individuos que cumplieron los



criterios de inclusión (sujetos con cualquier sobrepeso y cualquier grado de obesidad no fumadores e individuos con tabaquismo y sujetos no fumadores y sin sobrepeso). La determinación se realizó mediante la técnicas espectrofotométrica con el radical 2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH). Se hizo una base de datos en el programa Excel y los valores de DPPH en los grupos de individuos con tabaquismo, sobrepeso u obesidad se compararon contra el grupo control usando una prueba de t no pareada. También se hicieron comparaciones agrupando a los individuos de acuerdo al género, edad, consumo de verduras y ejercicio. Una $p < 0.05$ se consideró significativa.

RESULTADOS: La capacidad antioxidante total disminuyó sólo en plasma en los individuos con tabaquismo positivo activo y con obesidad y en los eritrocitos de los fumadores. La capacidad antioxidante no se modificó en sangre total de ninguno de los grupos estudiados. También se encontró que la edad, el género, y el consumo de verduras no afectaron la capacidad antioxidante en los individuos obesos y fumadores y el ejercicio tampoco afectó dicha capacidad en los fumadores

CONCLUSION: La capacidad antioxidante total está disminuida en plasma de individuos con tabaquismo positivo activo y con obesidad y en los eritrocitos de los individuos fumadores.



2. INTRODUCCIÓN

2.1 Radicales libres, especies reactivas de oxígeno (ERO) y estrés oxidante.

Un radical libre es cualquier especie capaz de existir independientemente y que contiene uno o más electrones desapareados, ya sea por la pérdida o por la ganancia de ellos (Fig. 1). Un electrón desapareado es aquel que ocupa por sí mismo un orbital molecular o atómico y se puede generar por pérdida o ganancia de electrones o por ruptura homolítica como se presenta en la Figura 1 (Hansberg, 2002).

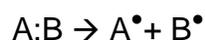
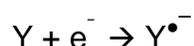
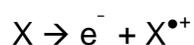


Figura 1. Representación esquemática de radicales libres.

Las especies reactivas de oxígeno (ERO) contienen oxígeno incompletamente reducido o con una distribución electrónica diferente al oxígeno molecular lo que les confiere una reactividad mayor. Las ERO se pueden generar por la reducción univalente del oxígeno (Fig. 2). Cuando el oxígeno molecular acepta uno, dos o tres electrones se produce el anión superóxido, el peróxido de hidrógeno y el radical hidroxilo, respectivamente (Fig. 2). Estas especies son metabolitos del oxígeno parcialmente reducidos. De las especies antes mencionadas, el anión superóxido ($O_2^{\bullet-}$) y el radical hidroxilo ($^{\bullet}OH$) constituyen radicales libres. Cuando el oxígeno molecular acepta cuatro electrones se reduce completamente a agua (Fig. 2).

El estrés oxidante se define como un desbalance entre la producción de ERO y la defensa antioxidante que cuando se prolonga provoca un daño oxidante sobre diversas biomoléculas (lípidos, proteínas, carbohidratos, ácidos nucleicos, etc.) lo cual causa alteraciones en la estructura y función de las mismas. El estrés oxidante se puede deber a una disminución en la defensa antioxidante o a un incremento en la producción de ERO (Halliwell y Gutteridge, 2007).

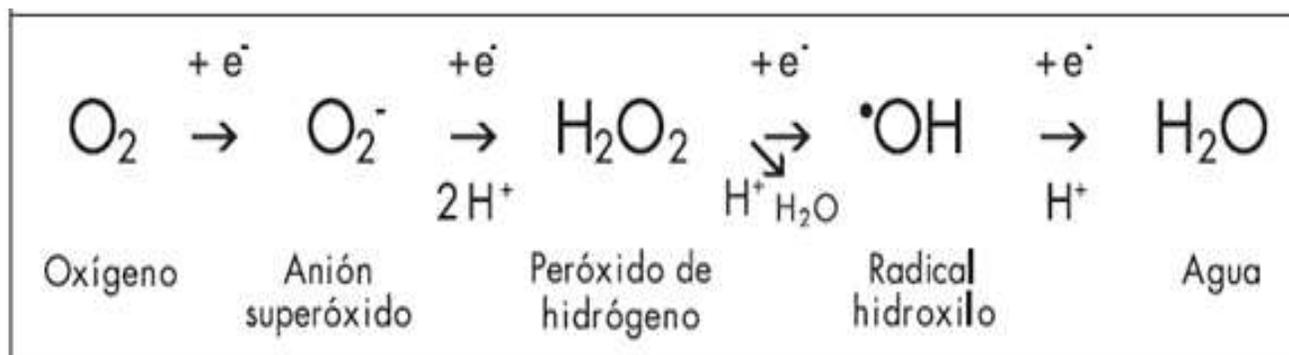


Figura 2. Reducción univalente del oxígeno. Mecanismo de formación de las especies reactivas de oxígeno a través de la ganancia de electrones (Galatro, Simontacchi y Puntarulo, 2006).

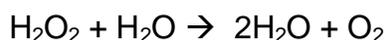
2.2 Sistema de defensa antioxidante.

Un antioxidante es una sustancia que retrasa, previene, disminuye o remueve la oxidación de las moléculas blanco, son esenciales para contrarrestar el daño producto del estrés oxidante, como la lipoperoxidación (Halliwell y Gutteridge, 2007). Los antioxidantes son compuestos que se encuentran de forma endógena como son el ácido úrico, la bilirrubina, el glutatión (Halliwell y Gutteridge, 2007) o como suplementos en la dieta como la vitamina A, E y C (Eberhardt, 2001). La vida en presencia del oxígeno molecular exige contar con una batería múltiple de defensa contra las diversas ERO, para poder lograr esto se debe limitar su formación y/o neutralizar las ERO formados. Estas defensas se efectúan en 5 niveles:

Primer nivel: Consiste en la reducción tetravalente consecutiva sin liberar los intermediarios parcialmente reducidos como $O_2^{\bullet-}$, $\bullet OH$ y H_2O_2 . Esto lo logra con gran eficiencia el sistema citocromo-oxidasa (complejo IV) de la cadena respiratoria mitocondrial que es responsable de más del 90% de la reducción del oxígeno en el organismo humano.

Segundo nivel: Lo constituyen enzimas especializadas en metabolizar el $O_2^{\bullet-}$

Tercer nivel: Está constituido por un grupo de enzimas especializadas en neutralizar el H_2O_2 . Entre ellas está la catalasa, que se encuentra en los peroxisomas y que catalizan la reacción de dismutación siguiente:





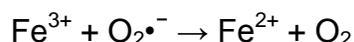
También en los mamíferos la glutatión-peroxidasa (GPx, enzima citoplasmática que contiene selenio), es la más importante y cataliza la reacción siguiente:



Cuarto nivel: El $\bullet\text{OH}$ puede ser neutralizado por la vitamina E o alfa-tocoferol, que es un antioxidante efectivo y que por su hidrofobicidad se encuentra en las membranas biológicas donde su protección es particularmente importante. También la vitamina C o ácido ascórbico es un agente reductor o donador de electrones y reacciona rápidamente con el $\bullet\text{OH}$.

La reacción de Haber-Weiss genera $\bullet\text{OH}$ a partir de H_2O_2 y $\text{O}_2^{\bullet-}$. Esta reacción puede ocurrir en las células vivas y como consecuencia la generación de estrés oxidante. La reacción directa es muy lenta, pero es catalizada por el hierro en estado de oxidación (III).

El primer paso del ciclo catalítico se produce por la reducción del catión férrico a catión ferroso:



El segundo paso es una reacción de Fenton:



La reacción neta es:



Quinto nivel: Una vez producido el daño molecular, existe un quinto nivel de defensa que consiste en la reparación. Está demostrado que los radicales libres son capaces de provocar rupturas de la cadena de ADN y aun de inducir mutagénesis, pero existen mecanismos enzimáticos de reparación que permiten restablecer la información genética.

2.3 Antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos.



Los antioxidantes se definen en dos grandes grupos: (1) antioxidantes no enzimáticos y (2) antioxidantes enzimáticos (Figura 3). Dentro del primer grupo, se encuentran los antioxidantes hidrosolubles y los liposolubles; algunos ejemplos de antioxidantes no enzimáticos endógenos y exógenos son: el GSH, algunas vitaminas, los compuestos carotenoides y los compuestos polifenólicos. El GSH, es un importante antioxidante endógeno, en su forma reducida protege los grupos -SH de las proteínas y puede reaccionar directamente con H_2O_2 , $O_2^{\bullet-}$, $\bullet OH$ y peroxinitrito ($ONOO^-$) (Cárdenas-Rodríguez y Pedraza-Chaverri, 2006). Algunas vitaminas como la vitamina C (ácido ascórbico) o vitamina E, las cuales desempeñan funciones importantes en el organismo, pueden atrapar $O_2^{\bullet-}$ y radicales peroxilo (ROO^\bullet). Los compuestos polifenólicos, que se consumen en la dieta, pueden atrapar ERO y algunos de ellos son quelantes de iones metálicos. Los compuestos carotenoides, son compuestos liposolubles que pueden reaccionar con $O_2^{\bullet-}$, $\bullet OH$ y oxígeno singulete (1O_2).

Algunos ejemplos de defensa antioxidante enzimática son la familia de enzimas superóxido dismutasas (SODs) las cuales catalizan la dismutación de $O_2^{\bullet-}$ a H_2O_2 . La enzima catalasa (CAT) que cataliza la reducción de H_2O_2 a agua.

La enzima GPx que remueve el H_2O_2 a agua acoplado a la reducción de GSH y la enzima glutatión reductasa (GR) que reduce el GSSG. También, entre éstas están las enzimas encargadas del metabolismo de xenobióticos (compuestos químicos exógenos) ya que muchos de éstos se conjugan con GSH por medio de la enzima glutatión-S-transferasa (GST) (Halliwell y Gutteridge, 2007). La enzima NADPH: quinona oxidoreductasa (NQO1), es una flavoenzima que cataliza la reducción en un solo paso de quinonas a hidroquinonas, evitando la formación de intermediarios que pueden dar lugar a la formación de ERO. Un último ejemplo es la HO-1, la cual degrada el grupo hemo.

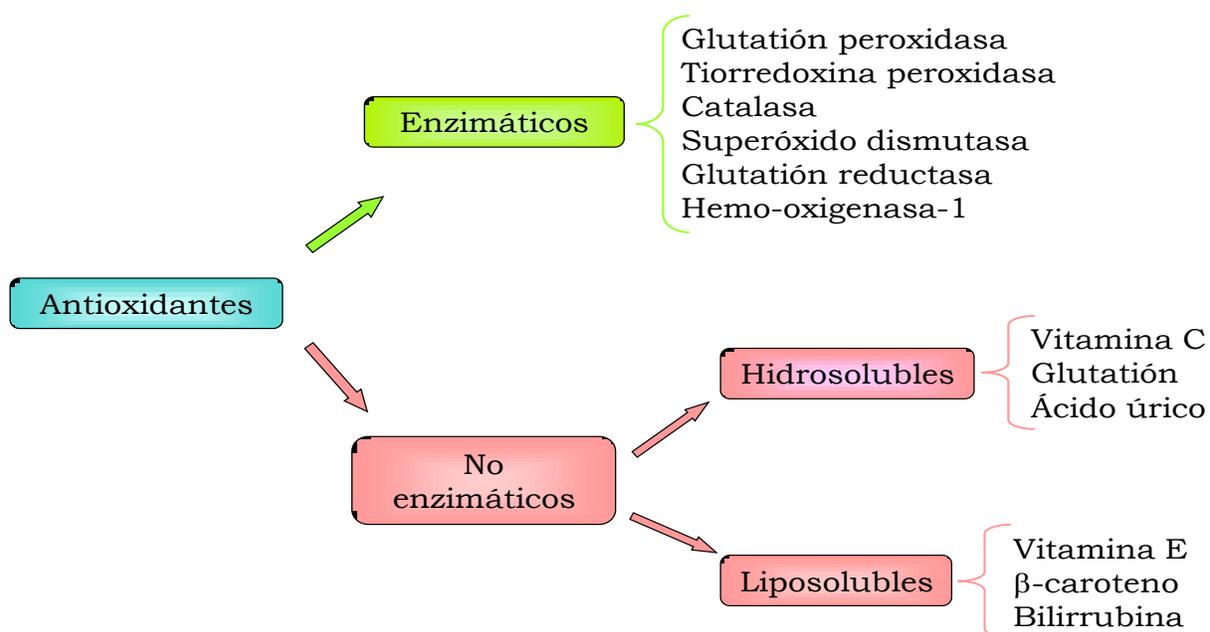


Figura 3. Clasificación de la defensa antioxidante: antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos.

2.4 Métodos para determinar la capacidad antioxidante usando el radical DPPH

El radical DPPH tiene un electrón desapareado y es de color azul-violeta (absorbe a 517 nm) y se decolora a amarillo pálido por la reacción con antioxidantes. Por diferencia de absorbancia (en ausencia y presencia del antioxidante) se determina el porcentaje de captación del radical DPPH (Koren, Kohen y Ginsburg, 2010)

La evaluación de actividad antioxidante a través del método que utiliza el radical DPPH, constituye un procedimiento relativamente sencillo, en el cual es necesario tener presentes algunos cuidados con el manejo de la solución de trabajo tales como tiempo de conservación y presencia de luz.



2.5 Estrés oxidante y enfermedad

El estrés oxidante está asociado a los mecanismos patogénicos de diferentes enfermedades como diabetes mellitus, obesidad, artritis reumatoide, fibrosis pulmonar, tabaquismo, aterosclerosis, cáncer, enfermedad obstructiva crónica (EPOC) y a procesos fisiológicos como el envejecimiento. Aunado a ello se encuentra el hecho de que la producción de ERO conlleva al daño de lípidos, proteínas y ADN, afectando su estructura y función. El sistema nervioso es susceptible al daño de lípidos debido a su gran cantidad presente en membranas, siendo la lipoperoxidación el efecto directo de las ERO sobre los lípidos. Los radicales $\cdot\text{OH}$ y $\text{HO}_2\cdot$, así como el $^1\text{O}_2$, pueden reaccionar con los fosfolípidos y otros componentes lipídicos de las membranas para formar hidroperóxidos lipídicos (Aikens y Dix, 1991; Choi y Yu, 1995; Halliwell y Gutteridge, 2007; Horton y Fairhurst, 1987; Niki et al., 1991; Schaich, 1992).

El ADN también puede resultar afectado por las ERO, debido a que estas especies reaccionan con las bases nitrogenadas y la desoxirribosa. Existen diversos sistemas de reparación del material genético, ya que estas especies se presentan en niveles basales en la célula (Lindahl y Wood, 1999); pero si las ERO se producen en sitios críticos o no se repara rápidamente, puede haber consecuencias perjudiciales que van desde producción de mutaciones hasta apoptosis, necrosis y carcinogénesis (Klaunig, Xu, Isenberg, Bachowski, Kolaja, Jiang, Stevenson y Walborg Jr, 1998).

2.6 Tabaquismo

El tabaquismo es la primer causa prevenible de muerte y de enfermedades en la población mundial. El tabaquismo en México se asocia estrechamente con los principales indicadores de morbilidad y mortalidad, que atañe a enfermedades cardiovasculares, pulmonares y diversos cánceres, por lo que constituye un importante problema de salud pública en nuestro país, tanto por su aspecto invalidante como por su elevada letalidad. Se estima que el 18.5% de la población en México tiene tabaquismo activo positivo (personas que fuman por los menos un cigarro por semana), lo cual representa cerca de 14 millones de mexicanos (Comisión Nacional contra las Adicciones).



El humo del cigarrillo (HC) afecta numerosos órganos y es el origen de diversas patologías. Siendo los sistemas cardiovascular y pulmonar particularmente afectados.

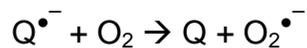
La siguiente es una lista de las enfermedades causadas por el HC:

- Enfermedad coronaria
- Accidente cerebrovascular
- Aneurisma de aorta
- Enfermedad vascular periférica
- Cáncer de pulmón y vías aéreas
- Enfermedad pulmonar obstructiva crónica
- Bronquitis crónica

Se han identificado en el HC aproximadamente 4,000 compuestos, la mayoría de ellos están constituidos por alcaloides, nitrosaminas, hidrocarburos aromáticos, hierro inorgánico y compuestos con arsénico. La nicotina que constituye la sustancia orgánica más abundante, aumenta las catecolaminas plasmáticas que modifican el tono vascular, generando cambios hemodinámicos (Cryer, Haymond, Santiago y Shah, 1976; Winniford, Wheelan, Kremers, Ugolini, van den Berg Jr, Niggemann, Jansen y Hillis, 1986).

Entre las defensas antioxidantes de los fumadores, lo que más se destaca es una disminución significativa de la vitamina C y esto se encuentra relacionado con una disfunción endotelial y un aumento en la adhesividad de los leucocitos (Fraga, Motchnik, Shigenaga, Helbock, Jacob y Ames, 1991).

El HC puede ser separado en dos fases: La gaseosa y la sólida. En la fase gaseosa se han detectado las siguientes ERO: $O_2^{\bullet-}$, $\bullet OH$, H_2O_2 , 1O_2 , óxido nítrico (NO^{\bullet}), radicales alcoxilos (RO^{\bullet}), ROO^{\bullet} , $ONOO^-$ y dióxido de nitrógeno (NO_2). La fase sólida del HC contiene cientos de compuestos orgánicos (Striker, Kaplan, Steien, Stampfer, Sober y Willett, 1988). Entre ellos se encuentran las quinonas (Q) como los más importantes y en una situación de equilibrio con las hidroquinonas (QH_2) formando el radical semiquinona ($QH^{\bullet-}$). De este último, se forman el $O_2^{\bullet-}$ y el H_2O_2 y en presencia de hierro producen el $\bullet OH$.





2.7 Sobrepeso y obesidad.

La clasificación de los individuos de acuerdo a su índice de masa corporal (IMC) está indicado en la Tabla 1:

Tabla 1. Índice de masa corporal [peso (kg) /talla² (m²)] en individuos con normopeso, sobrepeso u obesidad.

	IMC
Infrapeso	<18.50
Normopeso	18.50-24.99
Sobrepeso	≥25 y <30
Obesidad	>30

- **Clasificación de la OMS del estado nutricional de acuerdo con el IMC**

La obesidad constituye un gran reto de salud pública en el Siglo XXI, en México de 1980 a la fecha, la prevalencia de obesidad y sobrepeso se ha triplicado, con ello aumentó la diabetes asociada al incremento en obesidad; 90% de los casos de diabetes son atribuibles al sobrepeso y la obesidad.

Debido a esto, desde hace varios años, la obesidad ha dejado de ser solo una preocupación estética y un asunto privado para convertirse en un problema de salud pública, debido entre otros motivos, al incremento de padecimientos asociados con el exceso de peso. Las cifras reportadas por algunas organizaciones internacionales, han alertado también sobre la creciente prevalencia de la obesidad en México y sus implicaciones para la salud de millones de personas. Se estima que en México 72% de las mujeres adultas y 67% de los hombres sufren sobrepeso u obesidad.



El sobrepeso y la obesidad han aumentado en todas las edades, regiones y grupos socioeconómicos, lo que ha llevado a nuestro país a ocupar el segundo lugar en el mundo en obesidad en adultos y el primer lugar en obesidad infantil.

A causa de la obesidad, se corre el riesgo de que una persona sana padezca distintos tipos de enfermedades no transmisibles, como diabetes, hipertensión y enfermedades cardiovasculares.

No solo la salud se ve mermada, también la economía, ya que la diabetes representa el 34% del presupuesto del IMSS y se calcula que esta cifra se duplicará dentro de cinco años, lo que se traduce en 92,509 millones de los 272,088.7 millones de pesos totales autorizados para el IMSS.

3. JUSTIFICACIÓN

Dada la prevalencia de sobrepeso, obesidad y tabaquismo en la población mexicana, es importante caracterizar la capacidad antioxidante de los mexicanos ya que no hay estudios en donde se haya evaluado la capacidad antioxidante en eritrocitos y sangre. Los resultados de este estudio pueden ser usados para futuras investigaciones que permitan prevenir en la población mexicana el estrés oxidante.

4. HIPÓTESIS

Se observará disminución de la capacidad antioxidante en plasma, eritrocitos y sangre total de individuos con sobrepeso, obesidad y tabaquismo positivo activo.

5. OBJETIVOS

5.1 OBJETIVO GENERAL:

Evaluar la capacidad antioxidante total en plasma, eritrocitos y sangre total de individuos con sobrepeso, obesidad y tabaquismo positivo activo.

5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Analizar si existe alguna correlación entre el género y la dieta con la capacidad antioxidante.



6. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1 Pacientes. Se tomaron muestras de un total de 180 sujetos de la Clínica de Detección y Diagnóstico Automatizado (CLIDDA): 42 sujetos para el grupo control (mujeres y hombres con tabaquismo positivo activo y con un IMC normal), 18 sujetos con sobrepeso, 60 sujetos fumadores y 60 sujetos con obesidad. Cabe mencionar que este estudio fue aprobado por el Comité de Ética del Hospital Regional Lic. Adolfo López Mateos del ISSSTE. Luego del consentimiento informado (ver anexo 1) los pacientes ingresaron a un protocolo donde se registraron antecedentes clínicos como: edad, sexo, peso, talla, IMC, tipo de alimentación, años de fumar y cigarrillos fumados al día. Se excluyeron aquellos pacientes que no tenían su consentimiento informado completo o que no lo hubieran entregado. Se obtuvo de cada paciente 4 ml de sangre total periférica recolectada en tubo vacuttainer con EDTA.

6.2 Procesamiento de las muestras. Las muestras de sangre de los sujetos se centrifugaron a 1,500 x g durante 5 minutos para obtener el plasma y paquete eritrocitario de cada uno para realizar la técnica del radical DPPH. Los eritrocitos se lavaron tres veces con solución salina isotónica y se resuspendieron con solución balanceada de Hanks antes de medir su capacidad antioxidante con la técnica de DPPH.

6.3 Determinación de la capacidad antioxidante total mediante la técnica de 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH).

El DPPH es un polvo cristalino de color violeta intenso en disolución, y se torna incoloro o amarillo pálido cuando se neutraliza (reacción de reducción del DPPH mediante un agente atrapador, Figura 4); esta propiedad permite realizar un seguimiento visual de la reacción. Dicho método es empleado para evaluar la actividad antioxidante de un compuesto o bien de una mezcla, el método se basa en la reducción del DPPH, radical libre que posee un electrón desapareado; cuya absorbancia es a 517 nm (color violeta intenso), que en presencia de un antioxidante (donador de electrones o hidrógeno), la absorbancia disminuye.

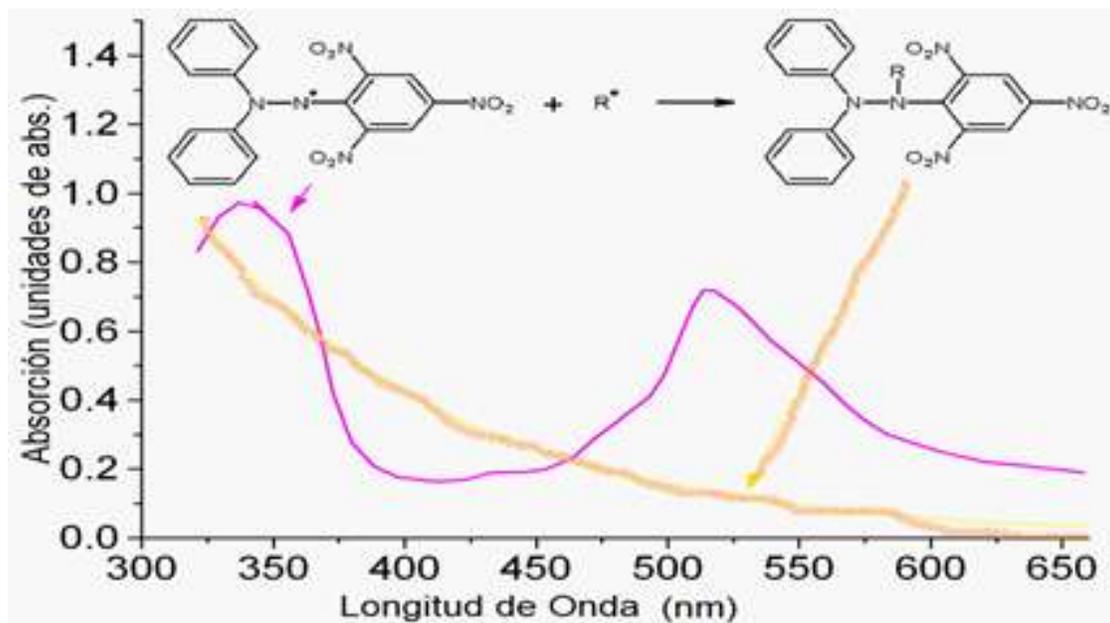


Figura 4. Reacción del radical DPPH con un agente atrapador, en el que el DPPH cambia de color debido a la reacción de reducción.

Método de DPPH para la determinación de la capacidad antioxidante en plasma, eritrocitos y sangre total.

El ensayo para determinar la capacidad antioxidante por la técnica del DPPH, se realizó de la siguiente forma: se colocaron en tubos eppendorf 50 μ l de solución salina, 25 μ l de la muestra (plasma, eritrocitos o sangre) y 50 μ l de DPPH (1 mM). Esta mezcla se incubó durante 2 minutos a temperatura ambiente y posteriormente se adicionaron 800 μ l y se incubó 2 minutos a temperatura ambiente (Koren, Kohen y Ginsburg, 2010). Finalmente se centrifugó a 1,500 x g por 2 minutos y se procedió a realizar la lectura del sobrenadante a 517 nm en un espectrofotómetro DU 640 Beckman Coulter

Estadística. Los datos obtenidos se expresan como media \pm D.E. Se hizo una base de datos en el programa Excel y los valores de DPPH en los grupos de individuos con tabaquismo, sobrepeso u obesidad se compararon contra el grupo control usando una prueba de t no pareada. También se hicieron comparaciones agrupando a los individuos de acuerdo al sexo, edad, dieta, índice de masa corporal y ejercicio. Una $p < 0.001$ se consideró significativa.



7. Resultados y discusión.

Las características de la población estudiada se presentan en la tabla 2. Se estudiaron cuatro grupos: Control, sobrepeso, obesidad y fumadores para los cuales se presentan los datos de género, edad, IMC, si es o no fumador, si practica o no ejercicio, si lleva a cabo o no alguna dieta y si consume verduras. Esta información se obtuvo de la Hoja de recolección de datos de cada persona (Anexo II).

Tabla 2. Características de la población estudiada.

VARIABLE	CONTROL	SOBREPESO	OBESIDAD	FUMADORES
GÉNERO	H 30 (50%) M 30 (50%)	H 5 (29.2%) M 13 (70.8%)	H 30 (50%) M 30 (50%)	H 30 (50%) M 30 (50%)
EDAD	<45 26 (43.3%) <50 13 (21.7%) <55 21 (35%)	<45 9 (50%) <50 5 (30%) <55 4 (20%)	<45 36 (60%) <50 18 (30%) <55 6 (10%)	<45 31 (51.6%) <50 22 (36.7%) <55 7 (11.7%)
IMC (kg/m²)	18.50-24.99	≥25 y <30	>30	18.50-24.99
FUMADOR	H (0%) M (0%)	26.7%	0 %	H 30 (50%) M 30 (50%)
EJERCICIO	Si 22 (36.7%) No 38 (63.3%)	Si 9 (50%) No 9 (50%)	Si 56 (93.3%) No 4 (6.7%)	Si 24 (40%) No 36 (60%)
DIETA	Si 9 (15%) No 51 (85%)	Si 3 (17.7%) No 15 (82.3%)	Si 5 (8.3%) No 55 (91.7%)	Si 5 (8.3%) No 55 (91.3%)
CONSUMO DE VERDURAS	Si 47 (78.3%) No 13 (21.7%)	Si 18 (100%) No 0 (0%)	Si 41 (68.3%) No 19 (31.7%)	Si 39 (65%) No 21 (35%)

H = hombres, M = mujeres



A continuación se presentan los datos de la capacidad antioxidante. Se encontró que la capacidad antioxidante disminuye en el plasma de los individuos con obesidad y de los individuos fumadores. En eritrocitos, solo se observó disminución significativa en el grupo de fumadores. No hubo cambios en la capacidad antioxidante en la sangre total de los individuos de ninguno de los grupos estudiados (Fig. 5).

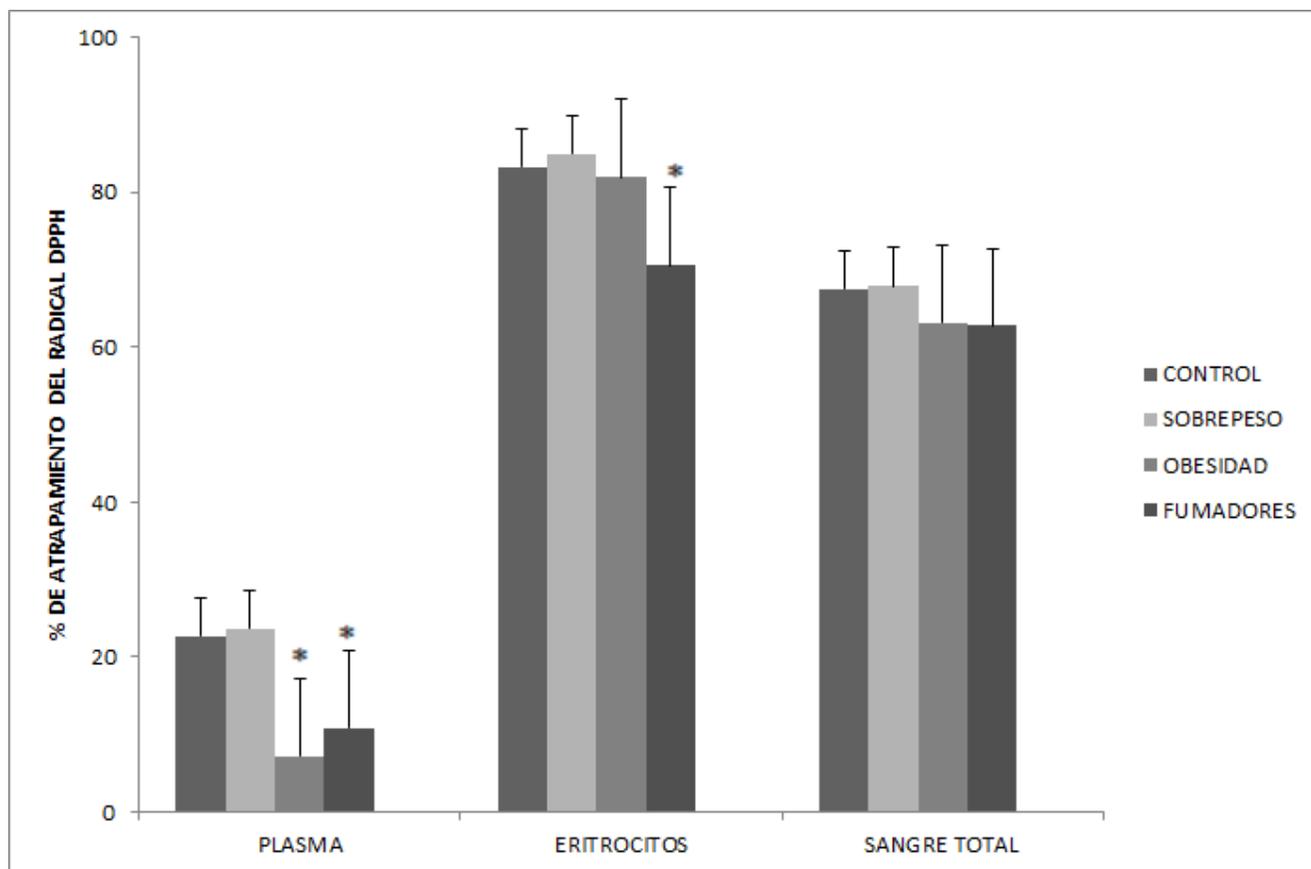


Figura 5. Capacidad antioxidante total en plasma, eritrocitos y sangre de individuos con sobrepeso, obesidad y tabaquismo comparados con los controles. Normopeso (control) n=42, sobrepeso n=18, obesidad n=60, fumadores n=60. Los datos se presentan como la media \pm D.E. * $p < 0.001$ vs. control.



Se analizó la capacidad antioxidante total en plasma, eritrocitos y sangre total de individuos obesos comparados con el grupo control estratificados de acuerdo al rango de edad. Para este caso no se observaron diferencias significativas en plasma, eritrocitos y sangre total (Fig. 6) por lo que se concluye que en nuestro estudio la edad no tiene efecto sobre la capacidad antioxidante.

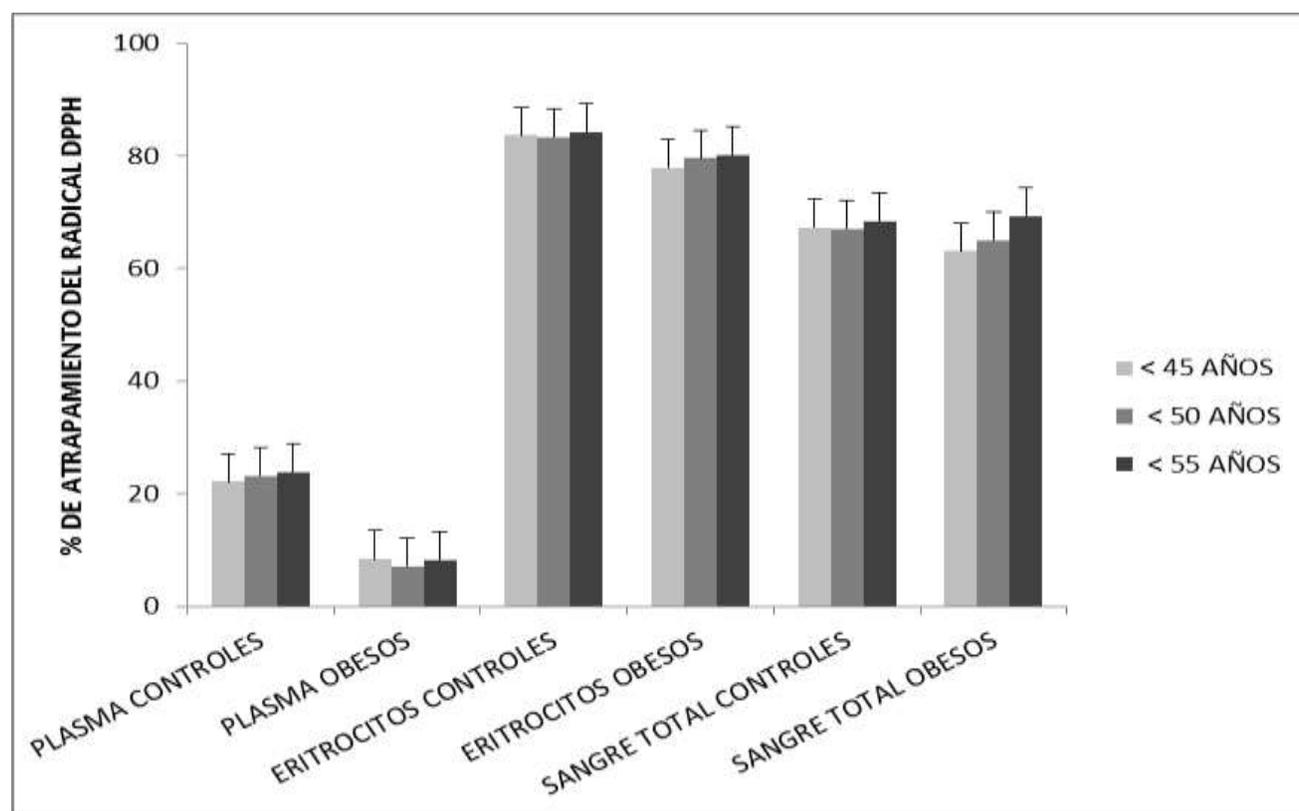


Figura 6. Capacidad antioxidante total en plasma, eritrocitos y sangre, de individuos obesos comparados con los controles de acuerdo al rango de edad., controles menores de 45 años n=26, controles menores de 50 años n=13, controles menores de 55 años n=21, obesos menores de 45 años n=36, obesos menores de 50 años n=18, obesos menores de 55 años n=6. Los datos se presentan como media \pm D.E.



También se analizó el efecto del género sobre la capacidad antioxidante total en plasma, eritrocitos y sangre total, no observando diferencias significativas, (Fig. 7) por lo que se concluye que el género no está asociado con la disminución de la capacidad antioxidante en la población de estudio,

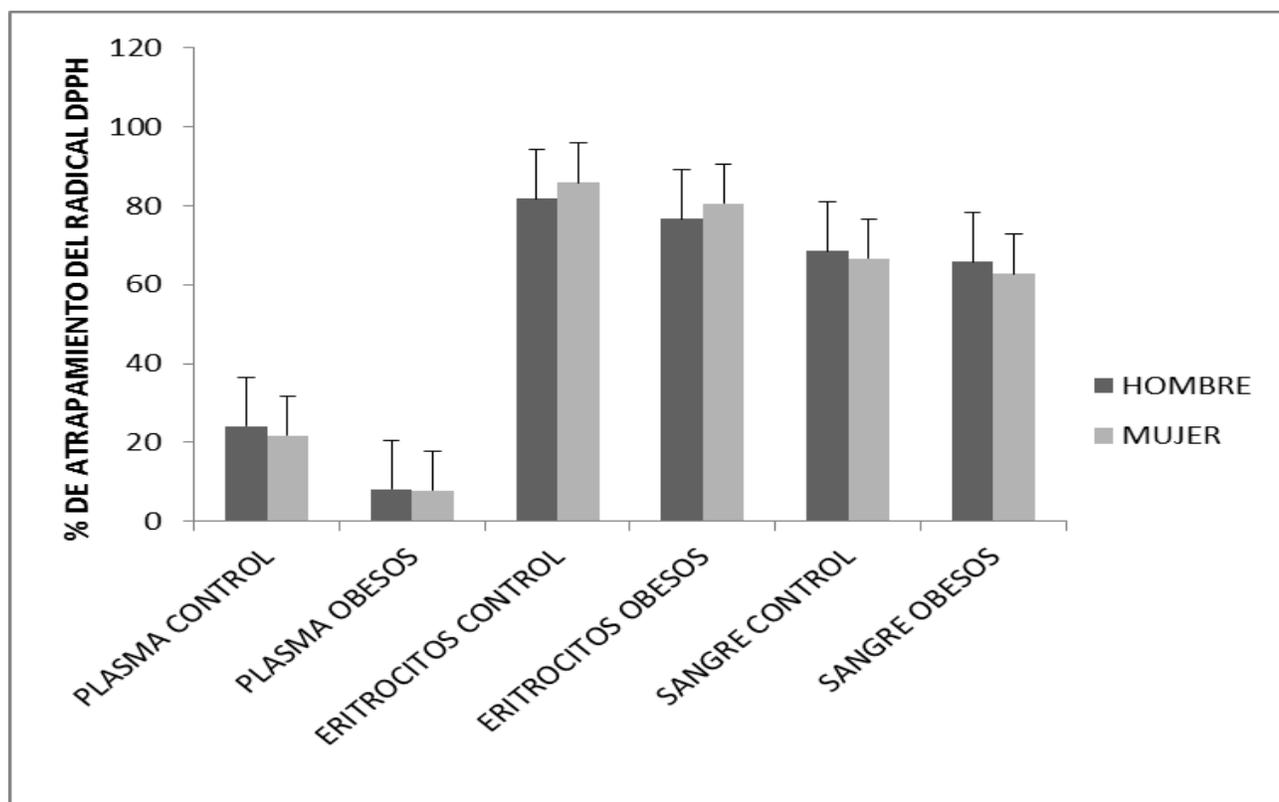


Figura 7. Capacidad antioxidante total en plasma, eritrocitos y sangre de individuos obesos comparados con los controles de acuerdo al género. n=30 (para cada uno de los grupos). Los datos se presentan como media \pm D.E.



Otro factor que se analizó fue el posible efecto del consumo de verduras. Se puede apreciar en la Fig. 8. que el consumo de verduras no influye en la capacidad antioxidante del plasma, eritrocitos y sangre total, para esta muestra y de acuerdo a la información recabada de los pacientes.

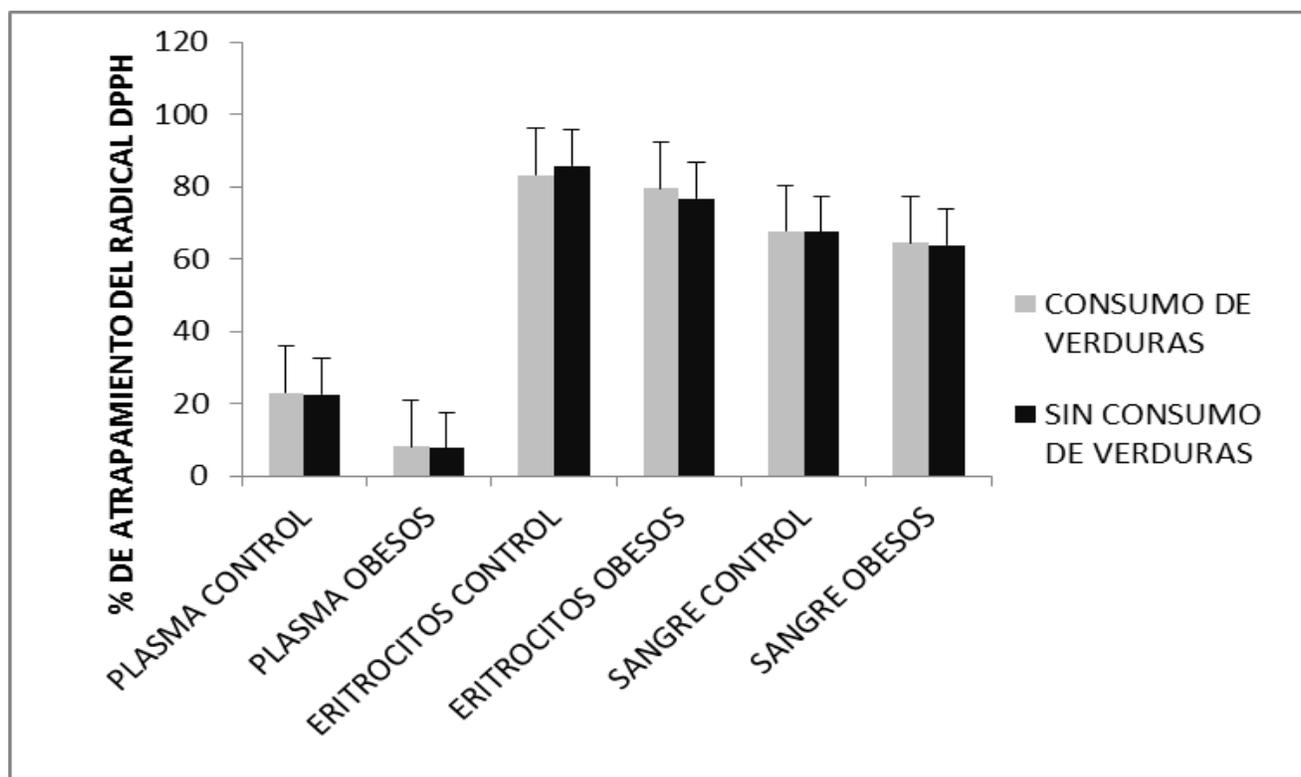


Figura 8. Capacidad antioxidante total en plasma, sangre, eritrocitos, de los sujetos control comparados con los sujetos obesos de acuerdo al consumo de verduras. Controles con consumo de verduras n=47, controles sin consumo de verduras n=13, obesos con consumo de verduras n=41, obesos sin consumo de verduras n=19. Los datos se presentan como media \pm D.E.



Se estudió el posible impacto de la edad en la capacidad antioxidante en los grupos control y fumadores. Se puede observar en la Fig. 9 que la edad no tiene efecto sobre la capacidad antioxidante en plasma, eritrocitos y sangre total en los dos grupos analizados.

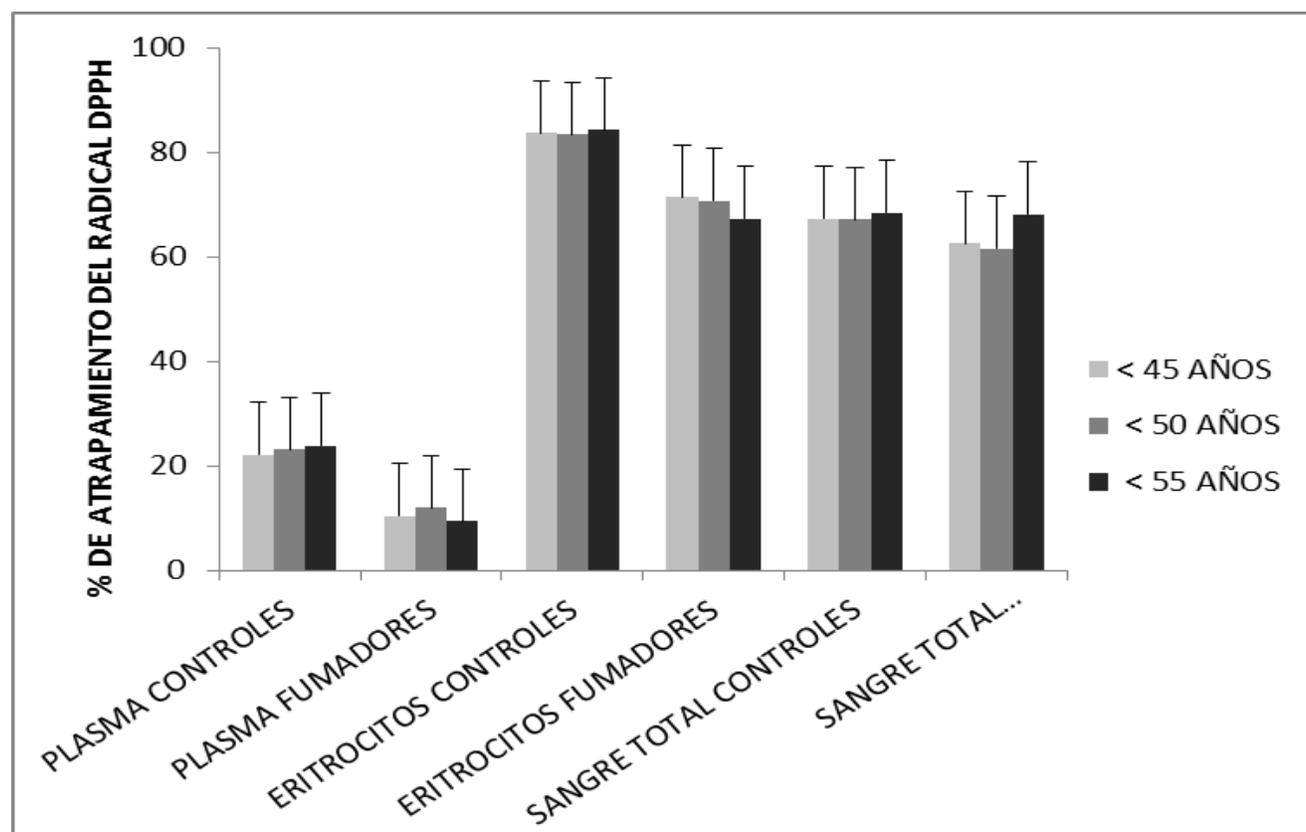


Figura 9. Capacidad antioxidante total en plasma, eritrocitos y sangre de los sujetos control comparados con los sujetos fumadores de acuerdo a la edad, controles menores de 45 años n=26, controles menores de 50 años n=13, controles menores de 55 años n=21, fumadores menores de 45 años n=31, fumadores menores de 50 años n=22, fumadores menores de 55 años n=7. Los datos se presentan como media \pm D.E.



Se estudió si el género afectaba la capacidad antioxidante de los fumadores. No se encontraron diferencias en plasma, eritrocitos y sangre total entre hombres y mujeres fumadores (Figura 10).

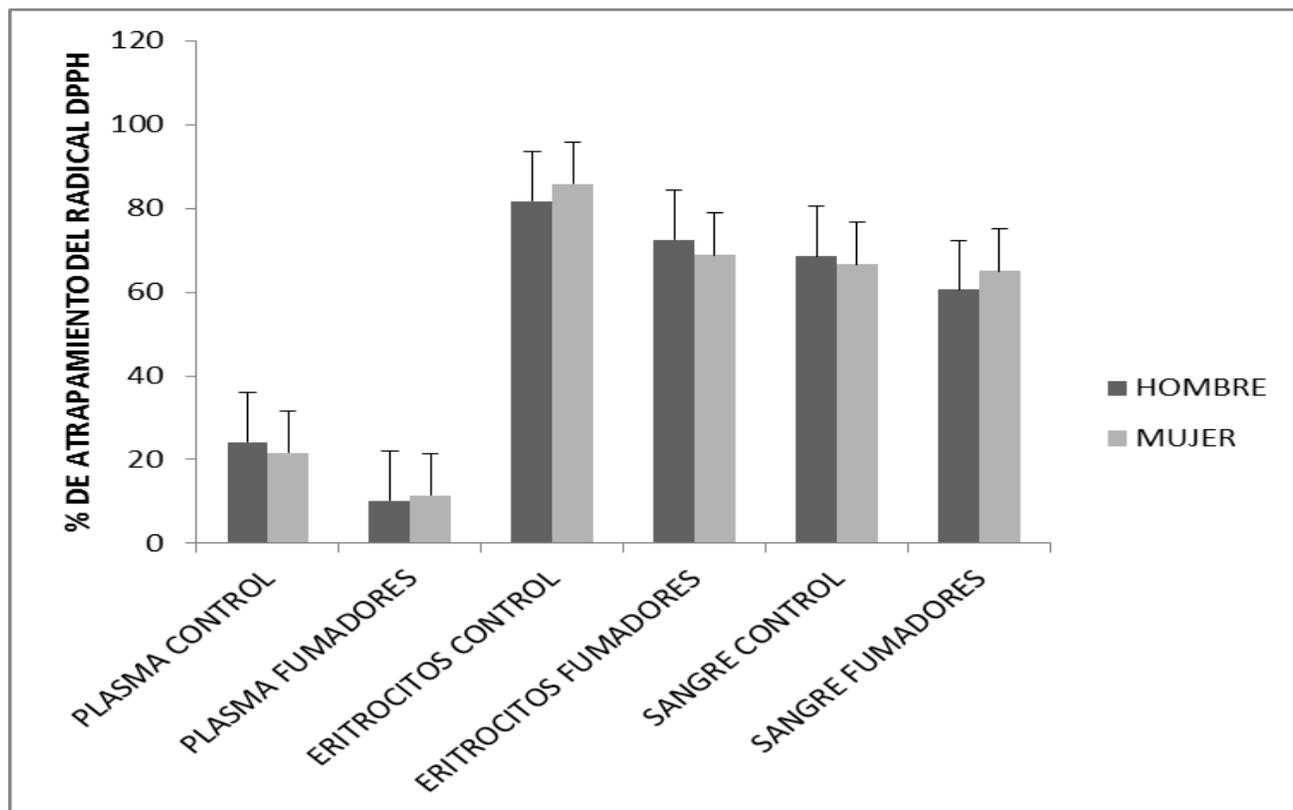


Figura 10. Capacidad antioxidante total en plasma, eritrocitos y sangre de los sujetos control comparados con los sujetos fumadores de acuerdo al sexo., con una n= 30 para cada uno de los grupos. Los datos se presentan como media \pm D.E.

También se evaluó si el consumo de verduras afecta la capacidad antioxidante total del plasma, eritrocitos y sangre total del grupo de los sujetos fumadores. Se observó que el coconsumo de verduras no afecta la capacidad antioxidante en esta población (Fig. 11).

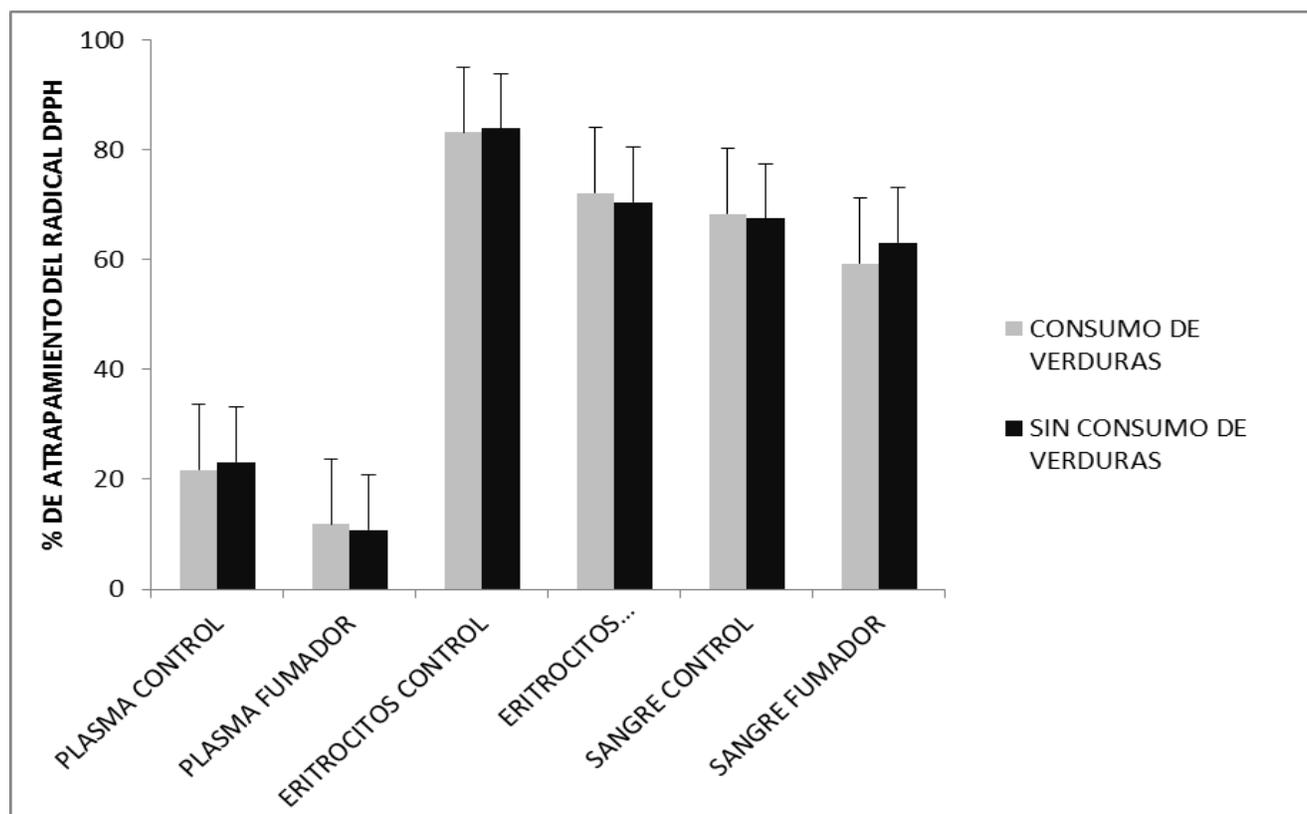


Figura 11. Capacidad antioxidante total en plasma, eritrocitos y sangre de los sujetos control comparados con los sujetos fumadores de acuerdo al consumo de verduras., controles con consumo de verduras n=47, controles sin consumo de verduras n=13, fumadores con consumo de verduras n=39, fumadores sin consumo de verduras n=21. Los datos se presentan como media \pm D.E.

Finalmente la capacidad antioxidante total se evaluó considerando el efecto del ejercicio en los sujetos fumadores. Se encontró que el ejercicio no impacta en la capacidad antioxidante del plasma, eritrocitos y sangre total de los sujetos estudiados (Fig. 12).

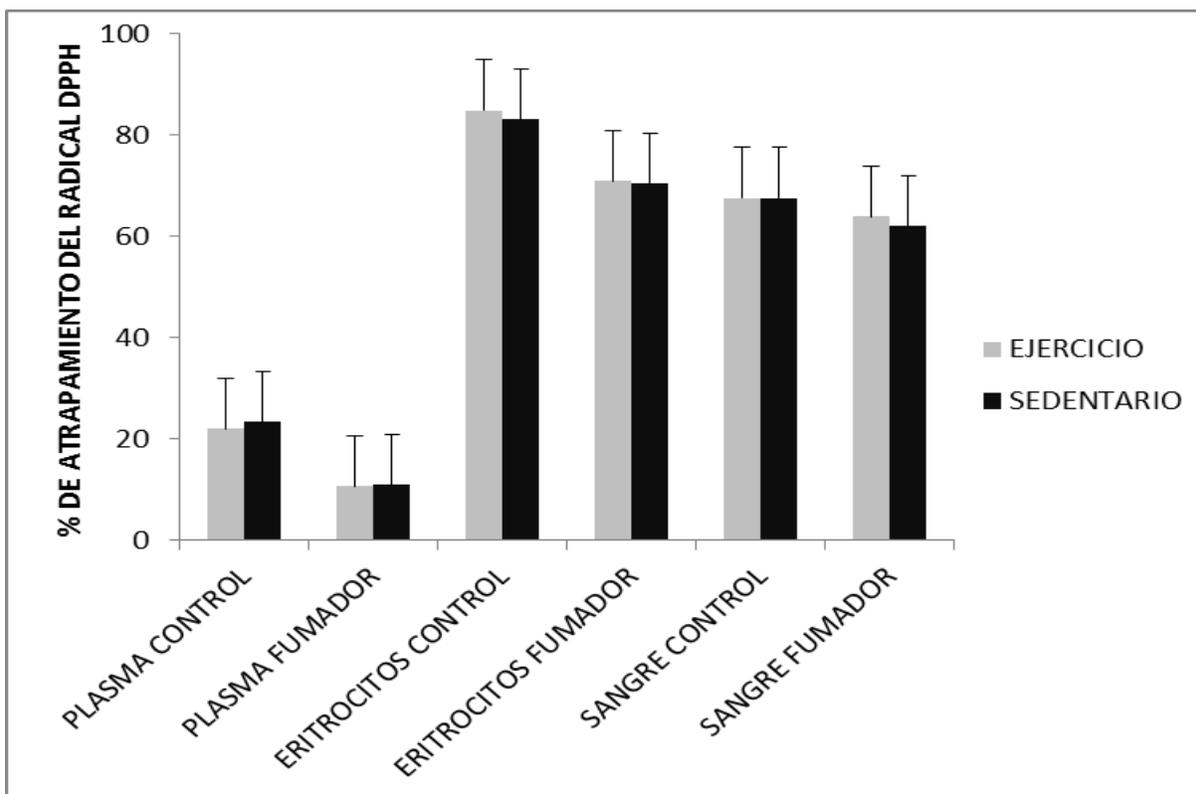


Figura 12. Capacidad antioxidante total en plasma, eritrocitos y sangre de los sujetos control comparados con los sujetos fumadores de acuerdo al ejercicio., controles sin ejercicio n=38, controles con ejercicio n=22, fumadores sin ejercicio n=36, fumadores con ejercicio n=24. Los datos se presentan como media \pm D.E.

Se encontró que la capacidad antioxidante total no se afecta al realizar ejercicio, es decir no importa si el grupo de los fumadores son sedentarios o si practican alguna actividad física.



8. CONCLUSIONES.

De acuerdo con los objetivos planteados en un inicio, podemos concluir que para este caso disminuye la capacidad antioxidante total en plasma en individuos con obesidad e individuos con tabaquismo positivo activo y en eritrocitos de individuos fumadores. No se observaron cambios en la capacidad antioxidante en sangre total en ninguno de los grupos estudiados. Tampoco se encontró que la edad, el consumo de verduras y el género impactaran la capacidad antioxidante en individuos obesos y con tabaquismo positivo activo y que la actividad física influyera en la capacidad antioxidante total en individuos fumadores.



9. BIBLIOGRAFIA

Aikens J, Dix TA. 1991. Peroxyl radical (HOO) initiated lipid peroxidation: the role of fatty acid hydroperoxides. *J Biol Chem* 266:15091-15098.

Cárdenas-Rodríguez N, Pedraza-Chaverri J. 2006. Especies reactivas de oxígeno y sistemas antioxidantes: aspectos básicos. *Educación Química* 17:164-173.

Cryer PE, Haymond MW, Santiago JV, Shah SD. 1976. Norepinephrine and epinephrine release and adrenergic mediation of smoking-associated hemodynamic and metabolic events. *N Engl J Med* 295:573-577.

Choi JH, YU BP. 1995. Brain synaptosomal aging free radicals and membrane fluidity. *Free Radic Biol Med* 18:133-139

Koren E, Kohen R, Ginsburg I, 2010. Polyphenols enhance total oxidant-scavenging capacities of human blood by binding to red blood cells. *Experimental Biology and Medicine* 235: 689–699.

Eberhardt MK, 2001. *Reactive Oxygen Metabolites*; CRC Press. Capítulo 3 y 8.

Fraga CG, Motchnik PA, Shigenaga MK, Helbock HJ, Jacob RA, Ames BN. 1991. Ascorbic acid protects against endogenous oxidative DNA damage in human sperms. *Proc Natl Acad Sci USA* 88:11003-11006.

Galatro A, Simontacchi M, Puntarulo S. 2001. Free radical generation and antioxidant content in chloroplasts from soybean leaves exposed to ultraviolet-B. *Physiologia Plantarum* 113:564-570



Halliwell B, Gutteridge J, 2007. Free Radicals in Biology and Medicine. *Oxford University Press*, 3a edición. Capítulos 1, 3 y 4.

Hansberg W. Biología de las especies de oxígeno reactivas. 2002. Mensaje Bioquímico, UNAM. XXVI:19-54

Horton AA, Fairhurst S. 1987. Lipid peroxidation and mechanism of toxicity. *Crit Rev Toxicol* 18: 27-79.

Klaunig JE, Xu Y, Isenberg JS, Bachowski S, Kolaja KL, Jiang J, Stevenson DE, Walborg EF Jr. 1998. The role of oxidative stress in chemical carcinogenesis. *Environ Health Perspect.* 106 Suppl 1:289-295.

Koren E, Kohen R, Ginsburg I. 2010. Polyphenols enhance total oxidant-scavenging capacities of human blood by binding to red blood cells. *Exp Biol Med (Maywood)* 235: 689-699.

Lindahl T, Wood RD. 1999. Quality control by DNA repair. *Science.* 286:1897-905.

Niki E, Yamamoto Y, Komuro E, Sato E. 1991. Membrane damage due to lipid oxidation. *Am J Clin Nutr* 53:2015-2055.

OMS. <http://www.euro.who.int/en/what-we-do/health-topics/disease-prevention/nutrition/a-healthy-lifestyle/body-mass-index-bmi>. Consultada en marzo 2012.

Schaich KH. 1992. Metals and lipid oxidation. *Lipids* 27:209-218.

Striker W, Kaplan L, Steien E, Stampfer MJ, Sober A, Willett WC. 1988. The relation of diet, CS and alcohol consumption to plasma beta-carotene and alpha-tocopherol levels. *Am J Epidemiol* 127:283-296.



Winniford MD, Wheelan KR, Kremers MS, Ugolini V, van den Berg E Jr, Niggemann EH, Jansen DE, Hillis LD. 1986. Smoking-induced coronary vasoconstriction in patients with atherosclerotic coronary artery disease: evidence for adrenergically mediated alteration coronary artery tone. *Circulation* 73:662-667.



10. ANEXOS

ANEXO I

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN EL ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN

EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL EN PLASMA DE INDIVIDUOS CON TABAQUISMO, SOBREPESO U OBESIDAD.

Dr. José Pedraza Chaverri, Facultad de Química, UNAM

Dra. Martha Eunice Rodríguez Arellano Hospital Regional Lic. Adolfo López Mateos.

pQFB Rosalba Armas Téllez, Facultad de Química, UNAM

Usted está siendo invitado a participar en un estudio de investigación realizado por el Dr. José Pedraza Chaverri, Facultad de Química, UNAM, la Dra. Martha Eunice Rodríguez Arellano Hospital Regional Lic. Adolfo López Mateos y la estudiante de Licenciatura pQFB Rosalba Armas Téllez, Facultad de Química, UNAM

Su participación en este estudio es totalmente voluntaria. Usted debe leer la siguiente información, y todas sus dudas deben ser aclaradas, antes de decidir si desea participar o no.

Su participación requiere de la aplicación de un cuestionario y la toma de una muestra de sangre (5 ml). En este estudio se incluirán alrededor de 200 individuos.

Propósito del estudio: demostrar que aquellos pacientes con obesidad e individuos con tabaquismo positivo disminuye la capacidad antioxidante del organismo (evaluación en plasma, eritrocitos y sangre total).

Procedimiento: si usted decide ser voluntario en este estudio su participación consistirá en lo siguiente:

Leer y contestar un cuestionario con preguntas sobre su tipo de alimentación y su historial médico.

Se tomará una muestra de sangre la cual se obtiene de la vena del brazo de la misma manera en que se toma para un análisis rutinario de sangre en un laboratorio clínico. La toma de la muestra de sangre será de aproximadamente 5 ml.



Riesgos potenciales y molestias:

1. La toma de la muestra de sangre puede ser incomoda y en ocasiones puede resultar en un pequeño moretón en el sitio de la punción. En raras ocasiones puede ocurrir una infección.
2. La muestra de sangre se etiquetara con su nombre.

Beneficios potenciales para los participantes: No hay beneficios directos para los participantes en este estudio.

Alternativas a la participación: usted puede elegir participar o no en este estudio.

Pago por la participación: todos los procedimientos en este estudio son gratuitos para los participantes. No habrá ninguna retribución económica para los participantes en este estudio.

Obligación financiera: su participación en el estudio no le generará costo para usted.

Cuidados en caso de urgencia y compensaciones por daños relacionados a su participación en el estudio:

Usted recibirá tratamiento gratuito si sufre algún daño como resultado de su participación directa en el estudio y los procedimientos no fueron realizados por una indicación médica para su beneficio. El Hospital Adolfo López Mateos del ISSSTE no brindara ninguna compensación adicional para cubrir el daño.

Participación y retiro de la investigación: su participación en esta investigación es VOLUNTARIA. Si usted decide no participar, no se afectara su relación con el Hospital Regional Lic. Adolfo López Mateos del ISSSTE o su derecho de salud u otros servicios a los que tiene derecho. Si usted decide participar, es libre de retirar su consentimiento y su participación en cualquier momento sin perjuicio de su cuidado futuro en el Hospital Regional Lic. Adolfo López Mateos del ISSSTE.



Declaración del paciente:

Yo _____ declaro que es mi decisión participar en este estudio. Mi participación es voluntaria. He sido informado que puedo retirarme del estudio en el momento que así lo decida, sin penalización alguna y sin perder mis beneficios. Si decido terminar mi participación, seguiré recibiendo atención médica en el Hospital Regional Lic. Adolfo López Mateos del ISSSTE y no se mostrará ningún perjuicio hacia mi para recibir atención médica o para participar en estudios de investigación futuros. Si tuviera alguna duda sobre mis derechos como participante del estudio. He leído y entendido toda la información que me ha sido proporcionada acerca de mi participación en este estudio. Se me dio la oportunidad de preguntar todas mis dudas y están han sido aclaradas a mi entera satisfacción. Entiendo y recibo una copia firmada de este consentimiento informado.

Firma del participante

Fecha



ANEXO II

HOJA DE RECOLECCION DE DATOS

Protocolo de Investigación

EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL EN PLASMA DE INDIVIDUOS CON TABAQUISMO, SOBREPESO U OBESIDAD.

FICHA DE IDENTIFICACION

Nombre: _____ fecha de nacimiento: ____/____/____/

Edad: _____ Sexo: M/F _____ nacionalidad: _____

Estatura: _____ peso: _____

ANTECEDENTES PERSONALES

Fuma SI/NO _____ ¿cuántos cigarros fuma al día? _____

¿Cuántos cigarros fuma a la semana? _____ Edad a la que comenzó a fumar

_____ ¿Cuántos años lleva fumando? _____ ¿actualmente sigue fumando?

SI/NO _____

¿Padece usted sobrepeso? SI/NO _____ ¿Padece usted obesidad? SI/NO

_____ ¿Lleva usted alguna dieta y/o tratamiento para bajar de peso? SI/NO

_____ ¿Cuál?



EVALUACION DE LA DIETA

Conteste **cuantas veces a la semana** consume cada uno de los siguientes alimentos:

ALIMENTO	VECES DE CONSUMO A LA SEMANA	ALIMENTO	VECES DE CONSUMO A LA SEMANA
Café		Aceite omega 3	
Chocolates		Cereal, pan, tortillas	
Te		Jugos (especifique si son naturales o no)	
Vegetales verdes (especifique cuales y cuantas veces)		ginseng	
Frutas (especifique cuales y cuantas veces)		VITAMINA C	
Algún suplemento alimenticio *		VITAMINA E	



*Los suplementos alimenticios:

- Se consumen por vía oral.
- Contienen un "ingrediente alimenticio" destinado a complementar la alimentación. Algunos ejemplos de suplementos dietéticos son las vitaminas, los minerales, las hierbas (una sola hierba o una mezcla de varias), otros productos botánicos, aminoácidos y componentes de los alimentos como las enzimas y los extractos glandulares.
- Vienen en diferentes presentaciones, como pastillas, cápsulas, cápsulas suaves de gelatina, cápsulas de gelatina, líquidos y polvos.
- Se identifican como suplementos dietéticos y/o alimenticios en la etiqueta.

Los suplementos dietéticos o alimenticios se venden en tiendas de comestibles, tiendas de productos dietéticos, en farmacias y en negocios de descuentos. También se venden por correo y en programas de ventas por televisión, a través de sitios Web o por ventas directas.