



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

Determinación de los niveles inmunológicos en una muestra de alumnos de la Carrera de QFB de la FES Zaragoza: para conocer su posible relación con el síndrome de quemarse en el estudio (burn out).

TESIS

Que presenta:

Lisete Vera Tolentino

Para obtener el título de:

Química Farmacéutica Bióloga

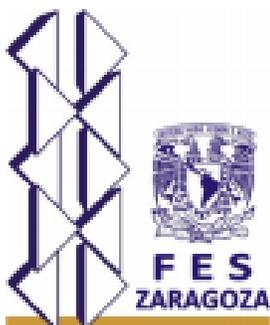
México, D.F., Febrero de 2012

Dr. José Luis Alfredo Mora Guevara

DIRECTOR DE TESIS

Mtra. Yolanda Flores Cabrera

ASESOR DE TESIS





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

AGRADECIMIENTOS

- En primer lugar te agradezco a ti Dios, por ser mi fortaleza y maestro de la vida; por ayudarme a terminar este proyecto y por cada regalo de gracia que me has dado y que inmerecidamente he recibido, a ti toda la gloria y alabanza.
- A mis padres Arturo y Carmen, les agradezco su apoyo, su guía y su confianza en la realización de mis sueños; soy afortunada por contar con su amor, comprensión y ejemplo. Esta tesis es suya.
- A mi hermanita Janai, por ser mí mejor amiga, mi aliada, mi ejemplo; gracias por todo el apoyo y cariño en mi vida.
- A mis amigos Paulina, Jesús y Toño; por ser unos amigos increíbles con quienes he compartido muchos momentos que han marcado mi vida de alguna forma y que siempre llevaré en mi corazón; ustedes han enriquecido mi vida con su cariño y su alegría.
- A mis profesores Luis Mora, Yolanda Cabrera, Rubén Marroquín; quienes compartieron conmigo sus conocimientos, amistad, amor por la Carrera y sobre todo por su apoyo incondicional para que este trabajo de investigación se llevara a cabo.
- Y a todas aquellas personas que de una u otra forma, colaboraron o participaron en la realización de esta tesis, hago extensivo mi más sincero agradecimiento.

Con todo mi cariño, Liss

CONTENIDO

| | |
|---|-----------|
| RESUMEN | 1 |
| INTRODUCCIÓN | 2 |
| 1. MARCO TEÓRICO | 3 |
| BURN OUT | 3 |
| ESTRÉS..... | 8 |
| FAGOCITOSIS..... | 11 |
| ETAPAS DE LA FAGOCITOSIS | 13 |
| ÓXIDO NÍTRICO (NO); | 17 |
| PEROXIDACIÓN LIPÍDICA. | 21 |
| CORTISOL..... | 24 |
| FENÓMENOS DE FASE AGUDA..... | 27 |
| DESCRIPCIÓN DE LA PCR | 28 |
| CERULOPLASMINA | 31 |
| 2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA..... | 35 |
| 3. OBJETIVOS..... | 36 |
| 4. HIPÓTESIS | 37 |
| 5. POBLACIÓN DE ESTUDIO | 38 |
| 6. CRITERIOS DE SELECCIÓN | 38 |
| 7. VARIABLES DE ESTUDIO..... | 39 |
| 8. MATERIAL, REACTIVOS Y EQUIPO..... | 40 |
| 9. MÉTODO..... | 44 |
| 10. ANÁLISIS ESTADÍSTICO..... | 50 |
| 11. RESULTADOS..... | 51 |

| | | |
|------------|-------------------------------------|-----------|
| 12. | ANÁLISIS DE RESULTADOS | 77 |
| 13. | CONCLUSIONES..... | 81 |
| 14. | REFERENCIAS..... | 82 |
| 15. | ANEXOS | 86 |

RESUMEN

El síndrome de burnout o de estar quemado en el estudio engloba una serie de respuestas a situaciones de estrés mismas que alteran la función inmunológica; liberando por periodos largos de tiempo citocinas pro-inflamatorias, las cuales pueden generar consecuencias negativas para el cuerpo y aumentar el riesgo de enfermedades cardiacas, osteoporosis y diabetes tipo 2. En el presente trabajo se describió la relación entre el Síndrome de *burnout* (estrés estudiantil) y los efectos que generaron en el sistema inmunológico en una muestra de 279 alumnos de la Carrera de QFB de la FES Zaragoza, que cursan los bloques básicos, intermedios y terminales; se determinaron los niveles de nitritos mediante el método de Griess, Ceruloplasmina por el método de Mancini, peroxidación lipídica siguiendo el método del ácido tiobarbitúrico y proteína C reactiva; así como la presencia de cortisol con el método de ELISA competitivo.

Resultados: se observó que hubo alteraciones en los niveles de peroxidación lipídica, y cortisol; con respecto a los niveles de nitritos y ceruloplasmina los alumnos presentan niveles normales. Por lo que con base en los resultados se puede sugerir que las determinaciones de Cortisol, Peroxidación lipídica, y proteína C reactiva pueden ser empleadas como indicadores del síndrome de Burnout.

INTRODUCCIÓN

El síndrome de *burnout* o de quemarse en el trabajo debe ser entendido como una respuesta al estrés laboral que aparece cuando fallan las estrategias funcionales de afrontamiento que generalmente usa el sujeto, y se comporta como una variable mediadora entre el estrés percibido y sus consecuencias; así el síndrome de quemarse es considerado un paso intermedio entre el estrés y las consecuencias nocivas para el individuo, en forma de enfermedad o falta de salud con alteración psicosomática como problemas en vías respiratorias, jaquecas, alteraciones cardiorrespiratorias, problemas gástricos, dificultades para dormir, mareos y náuseas, etc.; en el año de 1976, la psicóloga Cristina Maslach, estudió las respuestas emocionales de los empleados de profesiones de tipo asistencial del sector salud y decidió emplear esta misma expresión por su gran aceptación social: tras su introducción, el término *burnout* se ha popularizado, con la intención de brindar una realidad sociolaboral, tanto en las publicaciones profesionales de médicos, enfermeras, trabajadoras sociales, profesores, policías y directivas, como en los medios de comunicación. El objetivo de esta investigación fue describir la relación entre el Síndrome de *burnout* (estrés estudiantil) determinado mediante la aplicación de un cuestionario ya estandarizado y los efectos que se pudiesen generar en el sistema inmunológico en una muestra de 279 alumnos de la Carrera de QFB de la FES Zaragoza, de los semestres iniciales, intermedios y finales; para el procesamiento de datos se utilizó el paquete estadístico del SPSS ambiente Windows versión 11.5.

1. MARCO TEÓRICO

BURNOUT

El síndrome de agotamiento profesional o *burnout*, es un término que traducido al castellano significa “estar o sentirse quemado por el trabajo, agotado, sobrecargado, exhausto”, fue descrito por primera vez por el psicoanalista Herbert J. Freudenberger en 1973, a partir de observar cambios en él y en otros profesionales (psicólogos, consejeros, médicos, asistentes sociales, enfermeros, dentistas), se observó que después de cierto tiempo estos profesionales perdían mucho de su idealismo y también de su simpatía hacia los pacientes; Freudenberger describe el *burnout* como un conjunto de síntomas médico-biológico y psicosociales inespecíficos, que se desarrollan en la actividad laboral como resultado de una demanda excesiva de energía¹. Asimismo síndrome de *burnout* se define como una respuesta al estrés laboral crónico integrado por actitudes y sentimientos negativos hacia las personas con las que se trabaja y hacia el propio rol profesional, así como por la vivencia de encontrarse emocionalmente agotado, esta respuesta ocurre con mayor frecuencia en los trabajadores de la salud producido por la relación profesional-paciente y por la relación profesional-organización, sin embargo, no sería completa la descripción del síndrome si no se describe el contexto económico, social y laboral en el cual surge; el Síndrome de *burnout* según Maslach y Jackson (1981), está constituido por tres dimensiones: agotamiento emocional, despersonalización y falta de realización personal; esta situación nos precisa a que recurramos a su concepto más común, donde se considera al *burnout* como un síndrome constituido por tres dimensiones: el agotamiento emocional, la despersonalización y la baja realización personal².

El agotamiento emocional se refiere a una disminución de los aspectos emocionales y al sentimiento de que no tenemos nada que ofrecer a los demás, acompañados de manifestaciones somáticas y psicológicas, como el abatimiento, la ansiedad y la irritabilidad; la despersonalización se refiere al desarrollo de actitudes negativas y de insensibilidad hacia los clientes o receptores de servicios,

así como también hacia los colegas, que conduce con mucha frecuencia a la idea de que son la verdadera fuente de los problemas, se asocia con una actitud un tanto cínica e impersonal, con el aislamiento de los demás, y el etiquetamiento despectivo para calificar a los otros con intentos de culpabilizarlos de la frustración y el fracaso propio en el cumplimiento de los compromisos laborales^{3,4}.

La baja realización personal se refiere a la percepción de que las posibilidades de logro en el trabajo han desaparecido, junto con vivencias de fracaso y sentimientos de baja autoestima, generalmente afecta al rendimiento laboral, sobre la base de una autoevaluación negativa, a veces encubierta con una actitud de "omnipotencia" que hace redoblar los esfuerzos aparentando interés y dedicación aún mayores, que, a la larga, profundizan el *burnout*.

Los trabajos sobre el *burnout* pueden ser agrupados en tres perspectivas diferentes: psicosocial, organizativa e histórica (Gil-Montes y Peiró, 1999):

1) La perspectiva psicosocial: pretende explicar las condiciones ambientales en las cuales se origina el Síndrome de *burnout*, los factores que ayudan a mitigarlo (especialmente el apoyo social) y los síntomas específicos que caracterizarían el síndrome, fundamentalmente de tipo emocional, en las distintas profesiones, además, en este enfoque se desarrolló el instrumento de medición más ampliamente utilizado para evaluar este síndrome, el Maslach *burnout* Inventory en su versión Human Services Survey (MBI-HSS)⁵.

2) La perspectiva organizativa: que se centra en que las causas del Síndrome de *burnout* se originan en tres niveles distintos, el individual, el organizativo y social; el desarrollo del Síndrome de *burnout* genera en los profesionistas respuestas al trabajo, que no tienen que aparecer siempre, como la pérdida del sentido del trabajo, idealismo y optimismo, o la carencia de simpatía y tolerancia hacia los clientes e incapacidad para apreciar el trabajo como desarrollo personal.

3) La perspectiva histórica: es un fruto de los estudios realizados sobre las consecuencias de los rápidos cambios sociales en Estados Unidos después de la Segunda Guerra Mundial en el trabajo y las condiciones laborales.

El “*burnout*” es un síndrome, porque une síntomas (manifestaciones sugestivas, por ejemplo, desánimo o cefalea) y signos (manifestaciones objetivas o verificables, por ejemplo hipertensión, disminución del sistema inmune, aumento de los niveles de colesterol); se manifiesta como alteraciones cognoscitivas, emocionales y psicosomáticas, acompañadas generalmente por las del comportamiento, que con frecuencia extienden sus efectos a los compañeros de trabajo como un contagio; se entiende como un proceso gradual de pérdida de interés en el trabajo, pérdida de responsabilidad hasta llegar a una depresión severa que puede invalidar a quien lo padece, en el desarrollo del proceso, el trabajador podría encontrarse con algunos de los siguientes síntomas y signos físicos⁶:

Psicosomáticos:

- Cansancio hasta el agotamiento y malestar general.
- Fatiga crónica.
- Alteraciones funcionales en casi todos los sistemas del organismo.
- Complicaciones cardiovasculares, hipertensión arterial, incluso anginas e infarto de miocardio.
- Dolores de cabeza.
- Problemas de sueño.
- Alteraciones gastrointestinales.
- Pérdida de peso.
- Molestias y dolores musculares.
- Crisis de asma.

De conducta:

- Ausentismo laboral.

- Abuso de drogas (café, alcohol, tabaco, fármacos...etc.).
- Conductas violentas.
- Superficialidad en la relación con los demás.

Emocionales:

- Distanciamiento afectivo.
- Aburrimiento.
- Impaciencia e irritabilidad.
- Desorientación.
- Incapacidad de concentración.
- Sentimientos depresivos.

En el ambiente laboral:

- Comunicaciones deficientes.
- Detrimento de la calidad.
- Detrimento de la capacidad de trabajo.
- Aumento de Interacciones hostiles.
- Ironía.

Podríamos hablar de cinco fases en su desarrollo:

- a) Fase inicial, de “Entusiasmo”. El trabajador ante el nuevo puesto de trabajo experimenta entusiasmo, gran energía, no le importa alargar la jornada laboral.
- b) Fase de “Estancamiento”. No se cumplen las expectativas profesionales, percibe que la relación entre el esfuerzo y la recompensa

no es equilibrada, aparece un desequilibrio entre las demandas y los recursos (ESTRÉS).

- c) Fase de “Frustración”. El profesional experimenta frustración, desilusión, desmoralización; el trabajo carece de sentido, cualquier cosa irrita, la salud puede empezar a fallar, aparecen problemas emocionales, fisiológicos y conductuales.
- d) Fase de “Apatía”. Aparecen cambios de actitud y de conducta (mecanismo defensivo), atiende a los clientes de forma mecánica y distanciada.
- e) Fase de “Quemado en el trabajo”. Aquí existe un colapso emocional y cognitivo; aparece una clínica importante, que puede llevar a la baja laboral e Incluso puede dejar el empleo y su vida profesional está llena de frustración e insatisfacción⁷.

La ampliación del concepto de *burnout* para la población de estudiantes, es decir a una categoría preprofesional, ha sido propuesta con rigor y se partió de la premisa según la cual la sobrecarga laboral podría ser equiparada a la sobrecarga de actividades y tareas escolares, así el Síndrome de Burnout en estudiantes también está constituido por tres dimensiones:

- a) Agotamiento caracterizado por el sentimiento de estar exhausto en virtud de las exigencias del estudio;
- b) Cinismo, entendido como el desarrollo de una actitud cínica y distanciada en relación con el estudio;
- c) Competencia percibida, caracterizada por la percepción de que están siendo incompetentes como estudiantes.

El inicio de este síndrome en estudiantes puede ocurrir entonces, desde la etapa académica universitaria y durante el período de preparación para el trabajo; los procesos de enseñanza y aprendizaje exigen de los estudiantes una adaptación a constantes cambios sociales, como por ejemplo la evolución tecnológica y el conocimiento humano, varias son las dificultades vivenciadas por los estudiantes

durante su formación: esquema de estudio, sensaciones experimentadas en clase y en las prácticas, sentimiento de desamparo en relación con el poder de los profesores, en la vida personal es posible identificar la falta de tiempo para las actividades recreativas, la familia, los amigos, las necesidades personales, las preocupaciones.

Se considera importante el desarrollo del estudio en esta población, dado el papel que desempeña hoy el estrés en la salud de los seres humanos que se desenvuelven en un mundo en transición entre lo moderno y premoderno, caracterizado por el cambio y lo transitorio, que incrementa el riesgo de desadaptación académica⁸.

ESTRÉS

El término estrés deriva del vocablo inglés *stress*, usado durante la Edad Media para denotar el sufrimiento y pobreza de las personas; *stresse* a su vez, tiene su origen en los vocablos *destresse* y *estrece* del francés antiguo, ambos con significados de opresión, dolor y sufrimiento: la raíz más antigua de la cual deriva *estrece* es del latín *strictia*, término vulgar para el vocablo latino *strictus*; este último es el pasado participio de *stringere* que significa oprimir, apretar o atar, la palabra estrés inicialmente se usó en el campo de la ingeniería para hacer referencia a la fuerza o sistema de fuerzas que, aplicadas sobre una estructura o un metal, conducen a la deformación; en 1936 Hans Selye introdujo el término estrés al campo de las ciencias biológicas para denotar un síndrome producido por diversos agentes nocivos, cuya finalidad era promover la adaptación del organismo a su medio cambiante, actualmente se considera que el concepto estrés denota la relación que existe entre estímulos negativos que perturban gravemente la homeostasis del organismo y las respuestas, fisiológicas y conductuales del organismo, ante la estimulación^{9,10}. La respuesta al estrés está controlada por el sistema nervioso central (SNC) y la coordinación que éste ejerce sobre los tres sistemas encargados de mantener la homeostasis: autónomo, endocrino e inmune, el principal efector de la respuesta al estrés es el eje hipotálamo-hipófisis-glándulas suprarrenales (HHS), en el hipotálamo, las

neuronas de la región parvocelular del núcleo paraventricular poseen axones que se proyectan a la capa externa de la eminencia media donde secretan la hormona liberadora de corticotrofina (CRH) esta hormona desde la circulación porta-hipofisiaria estimula a las células corticotropas de la adenohipófisis a que secreten hormona adrenocorticotrófica (ACTH); el ACTH tiene como órgano blanco la corteza de las glándulas suprarrenales, específicamente las porciones fasciculada y reticular, que en respuesta a la estimulación de la ACTH secretan glucocorticoides; en el ser humano el principal glucocorticoide es el cortisol¹¹. El sistema nervioso autónomo en su división simpática es otro efector de la respuesta al estrés; la exposición del organismo a condiciones adversas genera activación de las neuronas preganglionares simpáticas, ubicadas en el asta intermedio lateral de los segmentos torácico 1 a lumbar 2 de la médula espinal, y liberación concomitante de noradrenalina por las neuronas posganglionares simpáticas; asimismo, la activación simpática estimula a las células cromafines de la médula de las glándulas suprarrenales a que secreten adrenalina al torrente sanguíneo, la adrenalina aumenta las tasas cardíaca - respiratoria y el flujo sanguíneo a los músculos, con lo que prepara al organismo para emitir una de dos respuestas, pelear o huir, ambos tipos hormonales, glucocorticoides y catecolaminas, liberados durante la exposición del organismo al estrés, ejercen funciones inmunomoduladoras, con lo que contribuyen a regular el funcionamiento del tercer efector de la respuesta al estrés, el sistema inmunológico; los glucocorticoides y las neurohormonas adrenalina y noradrenalina, en el intento por restablecer la homeostasis del organismo y hacer frente a la situación de estrés, inhiben el funcionamiento de los sistemas con mayor gasto energético como el digestivo, el crecimiento y el sistema inmunológico; así, durante la exposición del organismo al estrés ocurre hipofuncionamiento del sistema inmune, con lo que el organismo queda expuesto a la acción de los agentes infecciosos del ambiente, es más susceptible a padecer enfermedades e incluso puede sucumbir; los principales mediadores de los efectos inmunomoduladores del estrés, glucocorticoides y las catecolaminas, adrenalina y noradrenalina, ejercen influencia directa sobre el funcionamiento de las células inmunes al acoplarse a

sus receptores específicos, localizados en el citoplasma y membrana celular, respectivamente; y también ejercen efectos indirectos al alterar la producción de citocinas como el interferón gamma, el factor de necrosis tumoral y las interleucinas 1, 2 y 6 (IL-1, IL-2 e IL-6) ¹². Así los efectos inmunomoduladores de los glucocorticoides, los cuáles al acoplarse a sus receptores citoplásmicos en las células del sistema inmune, se traslocan al núcleo y funcionan como factores de la transcripción para numerosas proteínas sintetizadas por linfocitos, macrófagos y otros tipos celulares del sistema inmune; entre las proteínas, cuyos genes poseen elementos de respuesta a los glucocorticoides, se encuentran las citocinas, receptores y antígenos de superficie de las células inmunológicas; las catecolaminas, adrenalina y noradrenalina modulan el funcionamiento del sistema inmune a través de sus receptores β localizados en todos los órganos inmunes y en los linfocitos T y B, las células asesinas naturales (NK, pssei), los monocitos y macrófagos; el sistema nervioso autónomo, en su división simpática, inerva la red vascular y parénquima de los órganos linfoides primarios, como la médula ósea y el timo, y también inerva a los órganos linfoides secundarios, el bazo, los ganglios linfáticos y el tejido linfoide asociado a la mucosa pulmonar y al intestino; las fibras del sistema nervioso simpático arborizan dentro de compartimentos específicos en los órganos linfáticos, en la vaina periarteriolar linfática y seno marginal de la pulpa blanca del bazo y en los cordones medulares, corteza y paracorteza de los ganglios linfáticos; y establecen contactos, similares a sinapsis neurona-neurona con células inmunes como linfocitos T, granulocitos, macrófagos y células NK, la inervación simpática de los órganos del sistema inmune promueve la maduración y movilización de los linfocitos, timocitos, células NK y granulocitos en condiciones normales y durante infección del organismo; mientras que la denervación, por el uso de antagonistas noradrenérgicos o por simpatectomía, produce supresión de la respuesta inmune ante la inoculación con agentes extraños al organismo, como lipopolisacáridos.

Sin lugar a dudas, el tema que más interés ha suscitado desde un principio en este ámbito han sido los procesos inmunológicos que están relacionados con la etiología del fenómeno *burnout*, los cuales desarrollaremos a continuación ¹³.

FAGOCITOSIS

La **fagocitosis** (del griego *-phagos*, 'el que come', *kytos*, 'célula'), es un tipo de endocitosis por el cual algunas células rodean con su membrana citoplasmática a una sustancia extracelular (generalmente un sólido) y la introducen al interior celular; los organismos unicelulares utilizan la fagocitosis como mecanismo de nutrición a partir de la ingestión de materia del exterior (bacterias, otras células, materia inorgánica, etc.); es uno de los medios de transporte grueso que utilizan para su defensa algunas células de los organismos pluricelulares, en muchos organismos superiores, la fagocitosis es una función de células especializadas (fagocitos profesionales) del sistema inmune capaces de remover cuerpos extraños y combatir infecciones como primera línea de defensa natural. Varias células ejercen funciones fagocíticas tales como los neutrófilos, monocitos, macrófagos, células dendríticas, otras células como las células de Kupffer en el hígado, las células de la microglía en el cerebro, las células de Langerhans en la piel, etc., son fagocitarias en la mayoría de los animales, todas estas células son macrófagos que reciben diferentes nombres según el lugar donde se encuentren, debido a que históricamente no se reconocían como el mismo tipo celular; los eosinófilos y los basófilos son granulocitos que se desgranulan liberando sus sustancias químicas sobre células o microorganismos dañinos provocando su muerte, los neutrófilos son tanto fagocitos como granulocitos, contienen gránulos llenos de sustancias químicas potentes, éstas además de destruir microorganismos, desempeñan una función clave en las reacciones inflamatorias agudas; los macrófagos son células fagocíticas de gran tamaño presentes en la mayoría de los tejidos y cavidades, proceden de los monocitos que migran desde la sangre hacia los tejidos, algunos permanecen en los tejidos durante años y otros circulan por los tejidos linfoides secundarios, también pueden actuar como células presentadoras de antígenos; expresan receptores de membrana para numerosos antígenos bacterianos, por ejemplo: receptor para lipopolisacárido (CD14), receptores C11b/CD18, receptores para manosas, y receptor para glúcidos entre otros, participan en gran medida de la respuesta inmune innata a infecciones gracias a sus receptores "scavengers", o

barredores, que poseen una especificidad a ligandos muy amplia como: lipoproteínas, proteínas, poli y oligonucleótidos, polisacáridos aniónicos, fosfolípidos y otras moléculas¹⁴. Los macrófagos son activados por gran variedad de estímulos durante la respuesta inmune; uno de los más potentes activadores de macrófagos es el interferón gamma y así tienen la capacidad de quimiotaxis, es decir la de ser atraídos y desplazados hacia una determinada localización por la presencia de determinados factores quimiotácticos, como la interleucina-1, trombina, factor de crecimiento derivado de las plaquetas, factor de complemento C5a, fragmentos de colágeno, elastina, fibronectina, calicreína, activador del plasminógeno, leucotrienos e inmunoglobulinas; por lo cual procesan y presentan los antígenos en el complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) de clase II, allí son reconocidos por los linfocitos T colaboradores, que producen linfocinas que activan a los linfocitos B y los anticuerpos producidos por los linfocitos B activados se adhieren a los antígenos bacterianos o de células invadidas por virus y así atraen con mayor avidez a los macrófagos para fagocitarlos; los neutrófilos son los leucocitos más abundantes (>70%), su tamaño es de 10-20 μm de diámetro y se clasifican como granulocitos debido a sus gránulos citoplasmáticos de lisosimas y de lactoferrina, pasan menos de 48 horas en la circulación antes de migrar a los tejidos, debido a la influencia de los estímulos quimiotácticos, es en ellos donde ejercen su acción fagocítica y eventualmente mueren; los monocitos son células circulares cuyo diámetro oscila entre 15 a 30 μm y poseen una alta relación núcleo/citoplasma, se originan en la médula ósea y constituyen cerca del 5% del total de leucocitos de la sangre, donde permanecen sólo unos tres días, después atraviesan las paredes de las vénulas y capilares (diapédesis) donde la circulación es lenta, una vez en los órganos, se transforman en macrófagos, lo que se refleja en el aumento de su capacidad fagocítica, de la síntesis de proteínas, el número de lisosomas y la cantidad de aparato de Golgi, microtúbulos y microfilamentos; estos últimos se relacionan con la formación de pseudópodos, responsables del movimiento de los macrófagos^{15,16}.

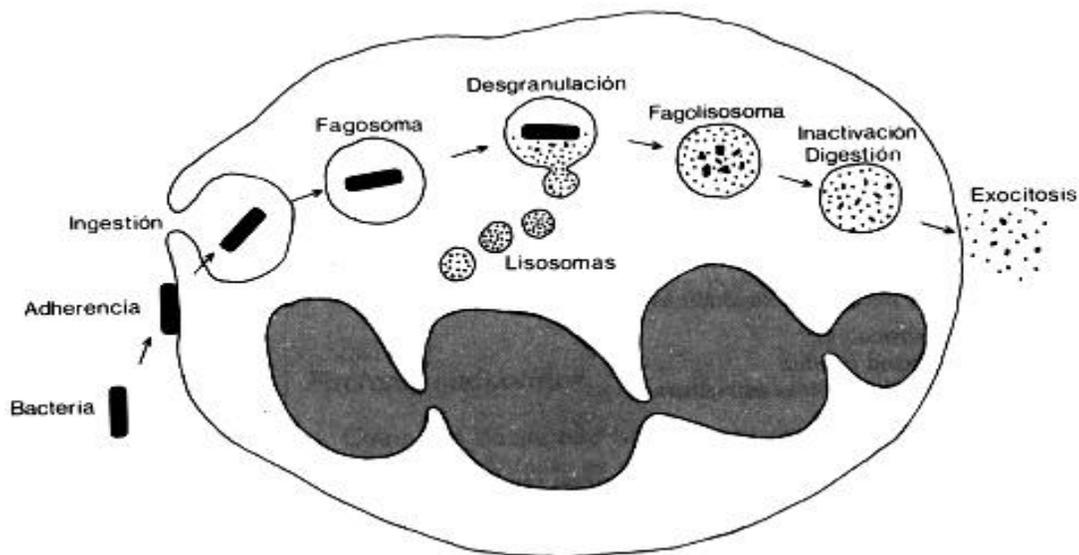


Figura 1. Proceso de la fagocitosis. ¹⁶

ETAPAS DE LA FAGOCITOSIS

1- Quimiotaxis

Es la etapa de movilización y reclutamiento de células fagocíticas por medio de interacciones celulares a la zona o tejido lesionado; el fagocito se adhiere a la superficie del endotelio previamente activado por citocinas, a través de uniones moleculares de baja afinidad entre receptores en el fagocito y selectinas presentes en el endotelio; en un punto específico, determinado por la presencia y activación de quimiocinas, los fagocitos movilizados establecen interacciones intercelulares de gran afinidad con el endotelio por medio de integrinas y otros ligandos endoteliales, en especial las moléculas endoteliales LFA-a, CR3 y VLA-4 se adhieren a ligandos específicos sobre los fagocitos, entre ellos VCAM-1 e ICAM-1; los fagocitos atraídos por gradientes de concentración de las quimiocinas, atraviesan entonces el epitelio vascular hacia el foco de infección patógena.

2- Oponización

La oponización se consigue recubriendo las partículas con anticuerpos específicos de la clase IgG, con o sin complemento, debido a que los fagocitos tienen receptores de membrana para el fragmento Fc de IgG, reconocen a estas partículas recubiertas por los anticuerpos, así la IgM no tiene capacidad de

opsonizar, pero su unión a las partículas induce la activación del sistema de complemento; esto lleva a que el componente C3b se deposite sobre las partículas, las cuales son reconocidas por los receptores de los fagocitos para el fragmento C3b; a pesar que el reconocimiento de partículas recubiertas con IgG y/o C3b vía los receptores Fc y C3b, es el principal mecanismo de ingestión de partículas extrañas, llamado “fagocitosis inmune”, existen otros factores que median o ejercen su influencia sobre este proceso.

3- Adherencia

Receptores específicos sobre la membrana de los fagocitos permiten la adherencia sobre los microorganismos, ya sea a productos microbianos específicos o sobre opsoninas del sistema inmune del hospedador.

Receptores de membrana presentes en las células fagocíticas:

- **Receptor para manosa;** este receptor tiene afinidad por los componentes de manosa presentes en las glucoproteínas y glucolípidos de las paredes celulares bacterianas.
- **Scavenger;** estos receptores se unen directamente a microorganismos y a moléculas de LDL modificadas.
- **CD14;** es un ligando con preferencia específica al lipopolisacárido presente en ciertas bacterias y está asociado a un receptor tipo *Toll*.
- **Transmembrana de 7 hélices alfa;** es un receptor recientemente descubierto, cuya función está asociada a señales de quimiocinas y ciertos péptidos microbianos.
- Receptores para los fragmentos Fc de los anticuerpos opsonizantes IgG2 e IgG3.

4- Ingestión

La unión a receptores de adherencia promueve señales de comunicación intracelular que resultan en la invaginación de la membrana del fagocito rodeando

al receptor y su ligando patogénico, al rodear por completo al complejo receptor-molécula, la membrana se une en sus extremos y libera al interior de la célula un **fagosoma**; esto puede ocurrir en más de un punto de la membrana celular.

5- Digestión

Los fagocitos cuentan con variados mecanismos microbicidas, los cuales se activan al fusionarse el fagosoma con un lisosoma intracelular, las enzimas del lisosoma se liberan dentro del *fagolisosoma* recién formado actuando sobre su contenido. Otros componentes tóxicos usados en la digestión de microorganismos son los intermediarios reactivos del O_2 y el óxido nítrico. El macrófago luego de fagocitar al antígeno lo transporta a los ganglios linfáticos, allí presenta fragmentos del antígeno a los linfocitos T, que produce la formación de linfocitos T citotóxicos, que pueden destruir directamente las células infectadas y de linfocitos T helper, que facilitan el desarrollo de los linfocitos B; los linfocitos T citotóxicos presentan en su superficie unas moléculas receptoras semejantes a los anticuerpos, mediante las cuales se unen específicamente a los antígenos de la membrana de las células, el linfocito inyecta sus enzimas en el interior de la célula y provoca su degradación; los linfocitos B se activan ante la presencia del antígeno y se encargan de elaborar anticuerpos específicos, sin embargo, no empiezan a producir anticuerpos hasta que no reciben la "señal" de los linfocitos T helper, finalmente, superada la infección, otro tipo de linfocitos T supresores se encargan de detener las reacciones inmunitarias^{17,18}.

ÓXIDO NÍTRICO (NO);

El NO es un radical libre gaseoso que se sintetiza a partir del aminoácido L-arginina por acción de la enzima óxido nítrico sintetasa (NOS), la reacción produce L-citrulina y requiere la presencia de dos cofactores, el oxígeno y el fosfato dinucleótido adenina nicotinamida (NADPH); el metabolismo del NO genera productos como los nitritos, nitratos, radicales libres y nitrosotioles, el NO es producido por una amplia variedad de tipos celulares que incluyen células epiteliales, nerviosas, endoteliales e inflamatorias; existen tres isoformas de NOS, dos denominadas constitutivas y dependientes del calcio (cNOS), que son la endotelial y la neuronal, las cuales sintetizan NO en condiciones normales, y una inducible e independiente del calcio (iNOS), que no se expresa o lo hace muy débilmente en condiciones fisiológicas; la NOS tipo I se expresa en cerebro y nervios periféricos mientras que la tipo III lo hace en células endoteliales y la expresión de ambas es similar ya que se consideran constitutivas y aunque se derivan de dos genes diferentes; la NOS tipo II o inducible, es una enzima predominantemente del citosol que puede ser expresada por muchos tipos de células, incluidos los macrófagos, músculo liso, fibroblastos y hepatocitos después de su exposición a varios mediadores inflamatorios tales como las citocina IL-1 y TNF- α , la activación de muchos tipos celulares por una simple citocina es suficiente para causar la expresión de la iNOS, pero la combinación de dos o más estímulos produce un incremento en su expresión. Este radical NO difunde fácilmente desde las células donde se origina hacia las células musculares lisas vasculares, en donde estimula a la guanilatociclasa soluble y cataliza la formación de GMPc que provoca vasodilatación, además reduce la agregación plaquetaria y es citotóxico para ciertos microorganismos y células tumorales, asimismo puede oxidar grupos sulfhidrilo de las proteínas con el consiguiente agotamiento del glutatión citosólico, y puede reaccionar con el anión superóxido para formar dióxido de nitrógeno que es un fuerte oxidante y un radical hidroxilo y peroxinitrilos¹⁹.

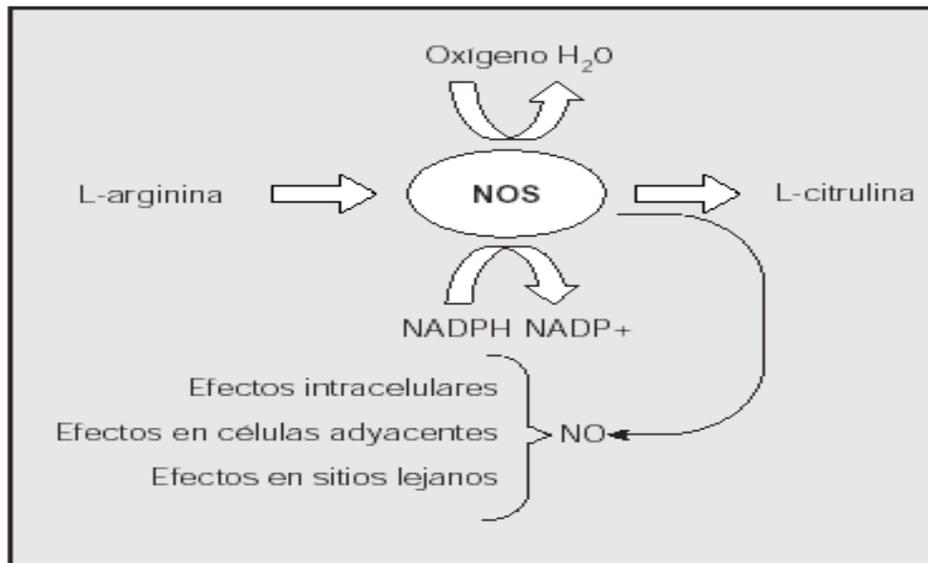


Figura 2. Síntesis de óxido nítrico (NO); el aminoácido L-arginina es el sustrato para la producción de NO.²¹

Entre las funciones más importantes que cumple el óxido nítrico en el organismo, cabe mencionar el efecto modulador del tono vascular, neurotransmisor central y periférico, inmunológico y la agregación plaquetaria:

- Acción moduladora del tono vascular;

El sistema nervioso autónomo controla la liberación de óxido nítrico a nivel de los vasos; los nervios parasimpáticos que terminan en las arterias cerebrales, retinianas, renales, pulmonares y gastrointestinales contienen NOS (óxido nítrico sintetasa), que al liberar óxido nítrico, difunde hacia las células del músculo vascular liso, originando vasodilatación, a ese nivel el óxido nítrico regula la presión y el flujo sanguíneo.

- Neurotransmisión central y periférica

La neurona presináptica libera óxido nítrico, con base en la liberación de mecanismos químicos que activan la óxido nítrico sintetasa, y posteriormente difunde a la neurona post-sináptica, donde se une a la guanilatociclasa, activando

la enzima, para finalmente producir guanocinamonofosfato cíclico (GMPc), en algunos grupos de neuronas, como es el caso del plexo mientérico, se ha encontrado NOS, donde la liberación del óxido nítrico produce dilatación intestinal, como respuesta al bolo alimenticio.

•Mecanismo inmunológico;

En algunas situaciones, la óxido nítrico sintetasa inducible (NOSi) de los macrófagos, produce grandes cantidades de óxido nítrico, que inhibe la producción de adenosintrifosfato (ATP) y de ADN, por consiguiente impide la proliferación patógena de bacterias, hongos y parásitos.

El NO puede ser cuantificado por métodos directos (cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, cromatografía de líquidos de alta eficiencia acoplada a detectores electroquímicos, resonancia electrónica paramagnética quimioluminiscencia) y por métodos indirectos (espectrometría de masas, espectrometría de UV-Vis y métodos electrométricos), las concentraciones de éste en un organismo vivo se encuentran entre 10 nM a 1 µM y su vida media en disolución acuosa (entre 3.8 a 6.2 s) reducen la aplicabilidad de estos métodos para la evaluación de muestras biológicas; debido a lo anterior, las dificultades inherentes a la cuantificación del NO pueden ser reducidas cuantificando sus metabolitos estables NO_2^- y NO_3^- , pero en muestras plasmáticas, el NO es oxidado completamente a NO_3^- , el cual es estable durante varias horas; en contraste, el NO_2^- es convertido rápidamente a NO_3^- en la sangre mediante la oxidación de la hemoglobina por el NO_2^- bajo condiciones aeróbicas mediante la transferencia de un electrón del NO_2^- hacia la oxihemoglobina unida; se han reportado varias técnicas para la detección de los metabolitos estables del NO (NO_2^- y NO_3^-), siendo la más utilizada la detección colorimétrica con reactivos de Griess; esta reacción involucra la formación de un cromóforo mediante la diazoación de la sulfanilamida con ácido nitroso, seguido de la unión con una amina bicíclica, debido a que la reacción de Griess no detecta al anión NO_3^- , se ha propuesto la reducción de NO_3^- a NO_2^- con metales reductores tales como el cadmio (Cd), o

bien, mediante métodos enzimáticos tales como la reducción con nitrato reductasa bacteriana^{19,20}.

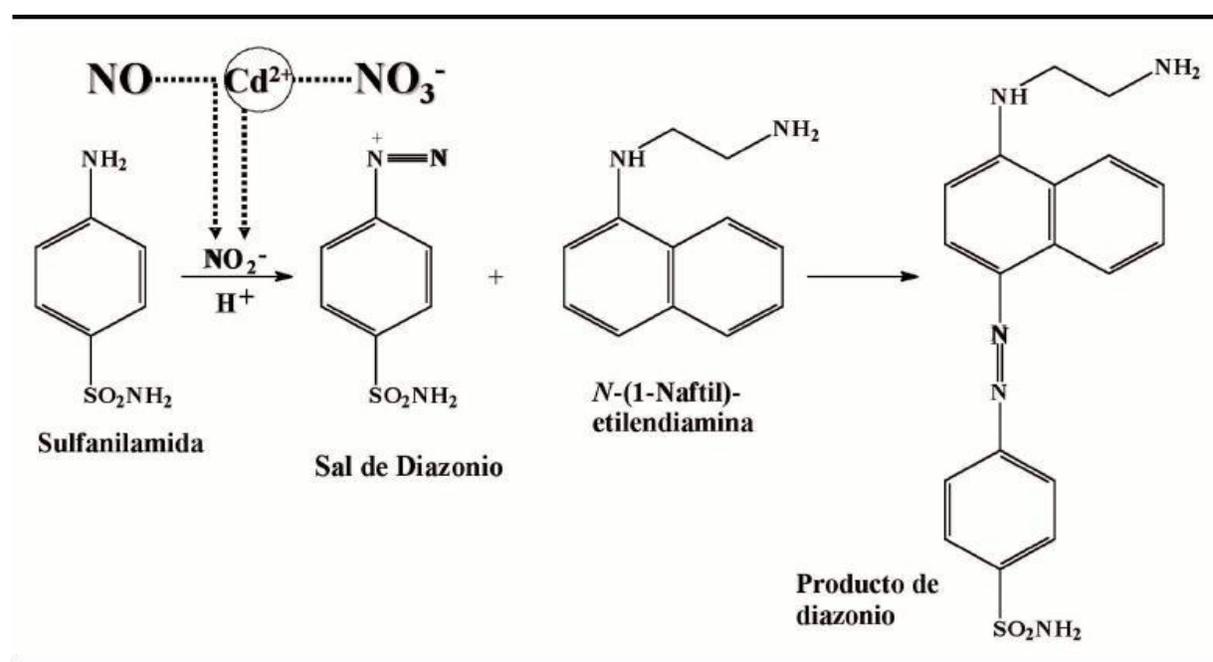


Figura 3. Reacción de Griess para la detección de NO_3^- y NO_2^- .²¹

PEROXIDACIÓN LIPÍDICA.

La peroxidación lipídica es un proceso que se relaciona con la formación de radicales libres reactivos e inestables a nivel de membrana celular, mediante reacciones en cadena que causan la degradación de lípidos, en particular su acción es a nivel de la membrana celular; los peróxidos lipídicos alteran la estructura primaria de moléculas endógenas por medio del entrecruzamiento y fragmentación de moléculas, este proceso se relaciona con diversas alteraciones patológicas como la inflamación, toxicidad hepática, trastornos vasculares, envejecimiento y es catalizada por enzimas o por mecanismos no enzimáticos (radiaciones, catalizados por metales), en ambos casos la peroxidación lipídica, se inicia por el ataque de un radical libre reactivo sobre un ácido graso poliinsaturado (AGP), con la abstracción de un átomo de hidrógeno y la formación de un radical del ácido graso (AGP) que sufre una reorganización formándose un dieno conjugado que rápidamente reacciona con oxígeno para formar el radical lipoperóxido (AGPOO), este radical puede atacar a otros ácidos grasos formándose hidroperóxidos lipídicos (AGPOOH) y nuevos radicales libres propagando el proceso; la fase de finalización ocurre cuando dos radicales libres reaccionan entre sí, o cuando el radical reacciona con una sustancia donante de átomos de hidrógeno (llamada antioxidante, reductor o captador de radicales libres), dando lugar a productos inactivos; como productos finales del proceso están los hidroperóxidos, hidroxiácidos grasos, epoxiácidos grasos, aldehídos poliinsaturados, hidroxialdehídos, cetonas, y otros que pueden reaccionar con grupos aminos de proteínas, fosfolípidos y ácidos nucleicos, lo que contribuye al daño tisular; uno de los productos formados en este proceso es el malondialdehído (MDA) que tiene la capacidad de formar productos coloreados (rosa) con el ácido tiobarbitúrico (TBA), dando un máximo de absorción de 532 nm; este es el procedimiento químico más usado para determinar la extensión de la peroxidación^{21,22}.

Todas las células están rodeadas por una membrana celular que las separa del medio extracelular; la membrana celular contiene enzimas, canales, receptores y antígenos que juegan papeles vitales en la interacción de la célula con otras células, hormonas y otros agentes reguladores del líquido extracelular, la estructura básica de todas las membranas biológicas es la bicapa lipídica, la que funciona como una barrera de permeabilidad selectiva, éstas son ricas en ácidos grasos polinsaturados (PUFAs pssei) y por lo tanto vulnerables al ataque de radicales libres. De particular importancia son las reacciones mediadas por radicales libres que traen como consecuencia la peroxidación lipídica, esta es generalmente inducida por un radical hidroxilo (HO·) que sustrae un hidrógeno a la cadena lateral de un ácido graso formando un radical carbonado (R·), este último reacciona con oxígeno para formar peróxidos cíclicos y radicales hidroperóxidos (ROO·) que propagan esta reacción en cadena; se forman igualmente radicales alcoxicos lipofílicos (RO·); la peroxidación lipídica puede seguir propagándose en presencia de metales de transición (Meⁿ⁺) existentes en el plasma, los que son catalizadores oxidativos²³.

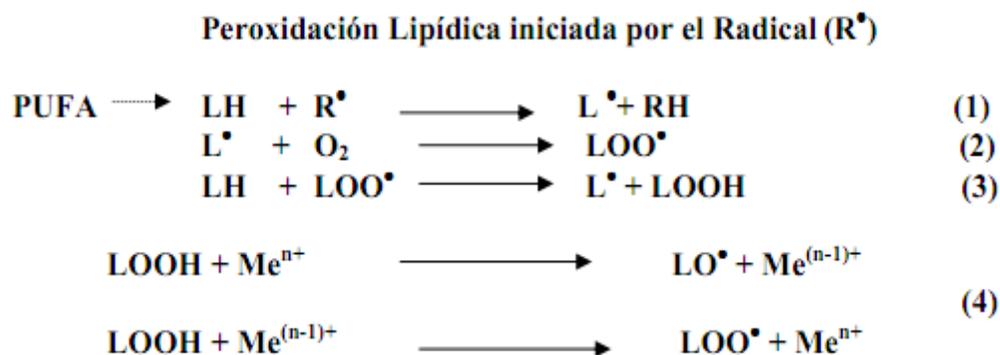


Figura 4. Representación de las reacciones de peroxidación Lipídica.²⁴

Fases de la peroxidación lipídica;

(1) Fase de iniciación: provocada por el radical (R·), el que reacciona con un grupo metileno de un PUFA; (2) etapa de propagación; el oxígeno molecular reacciona con el radical carbonilo y forma rápidamente el radical lipoperóxido

(LOO•), éste puede sustraer un hidrógeno de otro ácido graso poliinsaturado (PUFA), análogo a (1); (3) reacción que termina la propagación formándose el producto estable de la peroxidación, el hidroperóxido lipídico (LOOH), pero implica la posible conversión de numerosos PUFAs en hidroperóxidos; (4) en presencia de metales de transición el hidroperóxido lipídico (LOOH) puede generar radicales capaces de reiniciar la lipoperoxidación lipídica por el ciclo redox de estos iones metálicos.

La peroxidación lipídica puede ser determinada a través de los productos de la degradación metabólica de los lipoperóxidos, como los isoprostanos y los isómeros de la prostaglandina producidos a partir del ácido araquidónico a través de una vía metabólica catalizada por radicales libres y que se eliminan por orina, pero son, fundamentalmente, los diferentes aldehídos reactivos formados por la descomposición de los peróxidos lipídicos presentes en el suero los que son objeto de cuantificación, el malondialdehído (MDA) es el aldehído más significativo obtenido en dicha degradación y también el más cuantificado; entre la variedad de métodos analíticos desarrollados para determinar el malondialdehído endógeno el más comúnmente utilizado se basa en la reacción del mismo con el ácido 2-tiobarbitúrico (TBA), así el MDA, en condiciones de bajo pH y alta temperatura, reacciona con el TBA dando lugar a un producto MDA-TBA cromógeno o pigmento rojo que es detectable por espectrofotometría o por fluorimetría; el MDA que se forma in vivo tiene una vida media muy corta, pues reacciona rápidamente con grupos amino libres procedentes de los fosfolípidos, aminoácidos y proteínas presentes en el suero, dando productos fluorescentes, estos grupos amino libres también compiten con el MDA por su capacidad de unirse al TBA; por otro lado, existen fuentes no lipídicas en el suero como los carbohidratos y las glicoproteínas que producen MDA-TBA durante la reacción colorimétrica, además, el TBA también reacciona con varios compuestos presentes en el suero (pirimidinas, hemoglobina y bilirrubina) y con sus productos de oxidación para formar compuestos que interfieren en los ensayos fluorimétricos y espectrofotométricos²⁴.

CORTISOL

Origen endógeno de los glucocorticoides

La corteza suprarrenal es el sitio anatómico en el que los glucocorticoides son sintetizados y liberados, mientras que las catecolaminas son liberadas de la porción medular de las glándulas suprarrenales, normalmente, no existen reservas de hormonas preformadas, por lo que los procesos de síntesis son permanentes, con establecimiento del ritmo de la intensidad de la secreción; a partir de la molécula de colesterol, la corteza es capaz de sintetizar esteroides con diferentes números de átomos de carbono, generando dos tipos básicos:

- 1) Corticoides de 21 átomos de carbono: Son las hormonas más importantes y las responsables de las funciones endocrinas de la corteza suprarrenal, tienen acción básica sobre el metabolismo hidrocarbonado y proteínico (principalmente la cortisona y la hidrocortisona), y los mineralocorticoides, que afectan el equilibrio hidroelectrolítico (de los cuales la aldosterona es el prototipo).
- 2) Corticoides de 19 átomos de carbono: se trata de los andrógenos y los estrocorticoides principalmente la dihidroepiandrosterona, de débil acción androgénica.

Así pues, existen tres tipos de hormonas esteroides: los esteroides sexuales, los mineralocorticoides y los glucocorticoides, que a veces se conocen sólo como corticosteroides o simplemente corticoides, sin duda los esteroides de 21 átomos de carbono son los más importantes, el cortisol de acción predominante en el metabolismo hidrocarbonado, proteico y lipídico, y gran actividad antiinflamatoria; el colesterol es el precursor obligado en la síntesis de los corticosteroides, aunque la corteza suprarrenal tiene la maquinaria enzimática necesaria para poder realizar la síntesis del colesterol a partir de compuestos endógenos comunes como lo es el acetato, lo cierto es que la producción de colesterol es mínima.

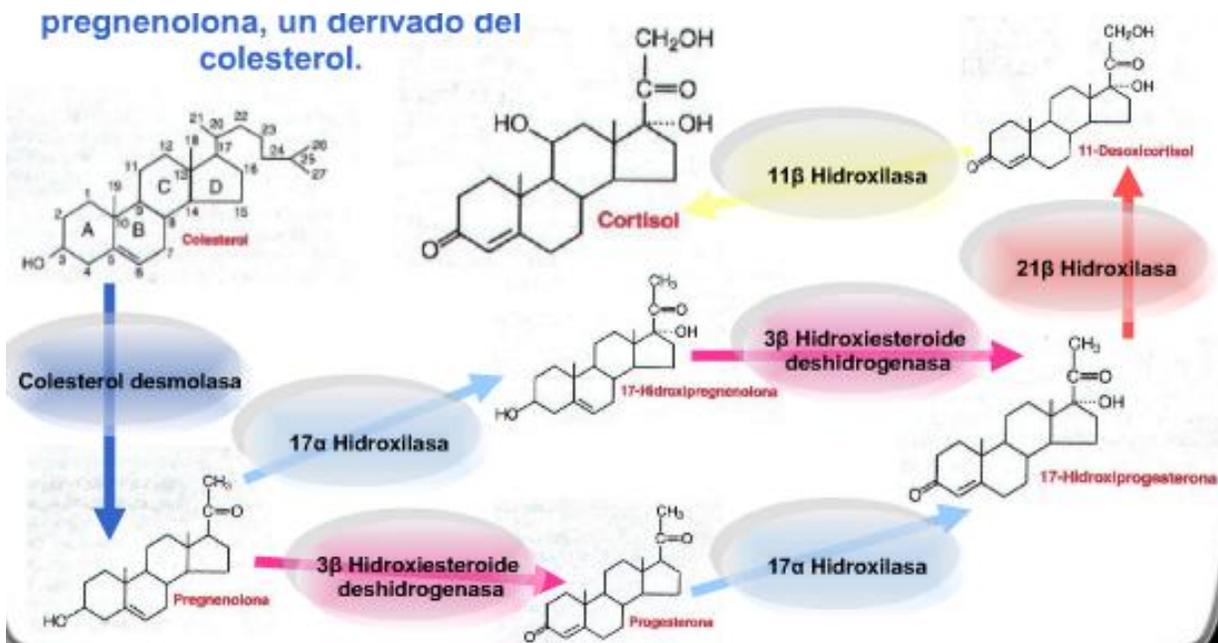


Figura 5. Síntesis de la hormona cortisol.¹⁸

El cortisol es un producto final de la función del eje HPA (hipotalámico-hipofisario-adrenal), cuando es estimulado, el hipotálamo segrega la hormona liberadora corticotropina (CRH), en respuesta, la glándula pituitaria secreta la hormona adrenocorticotrófica (ACTH), que a su vez, estimula la secreción de cortisol a partir de la corteza de la glándula suprarrenal; en general, el mismo eje HPA-regula a través de la retroalimentación negativa por el cual eleva los niveles circulantes de cortisol, conduce a la supresión de la CRH y la liberación de ACTH, lo que reduce la producción de cortisol, en humanos se secreta durante el día, en respuesta a la estimulación de la hormona trófica, los niveles pico de cortisol son en la mañana, antes de despertar, y disminuyen progresivamente durante el día hasta llegar a niveles bajos en la noche²⁵. Tanto el estrés como el ciclo circadiano están íntimamente relacionados con la actividad del eje HPA, aunque las vías centrales por los que están relacionados con el hipotálamo no se comprenden; el cortisol circula en la sangre tanto en forma libre como en forma envolvente; la vida media biológica del cortisol es de alrededor de 80 minutos, en el plasma, el cortisol es mayormente unido a la globulina fijadora de corticosteroides, una pequeña cantidad de cortisol envolvente se une de manera imprecisa a la albúmina, y otra parte se encuentra libre; la molécula de cortisol libre es lipofílica y tiene un bajo peso molecular (MW ~ 362 Da), pasando de los capilares hacia los tejidos

principalmente por difusión pasiva; la Globulina transportadora de corticosteroides (CBG) es una glicoproteína con un peso molecular de entre 50 y 60 kDa, el CBG se une a cortisol estequiométricamente y con alta afinidad, la Transcortina es un sinónimo de CBG, lo que implica una función de transporte, sin embargo CBG no es esencial para el transporte de cortisol como esta función se puede realizar por la albúmina y, además, el cortisol es suficientemente soluble en agua a concentraciones fisiológicas^{25,26}. El método para determinar cortisol en saliva empleado fue el ELISA competitivo.

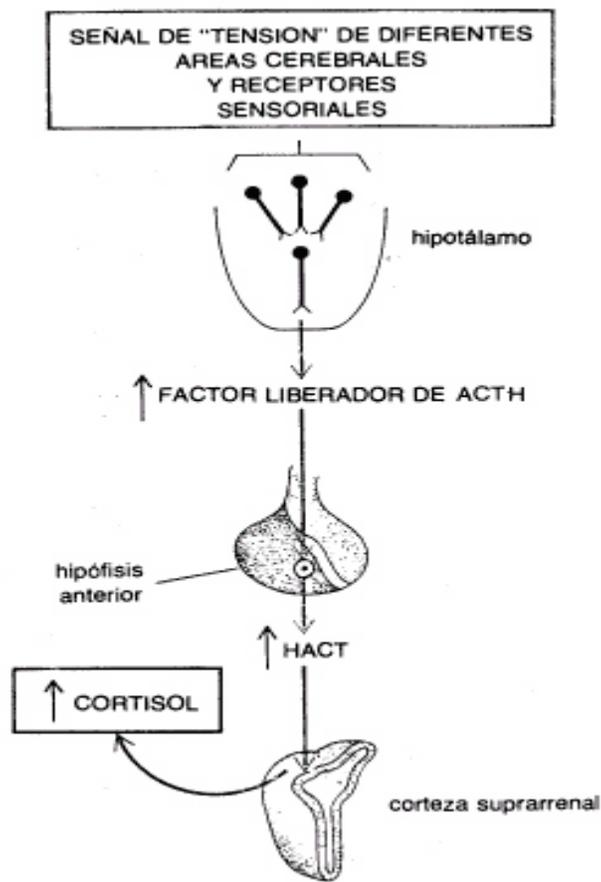


Figura 6. Vía por la cual los estímulos tensionantes provocan el aumento de secreción de cortisol. ¹⁸

FENÓMENOS DE FASE AGUDA

Los fenómenos de fase aguda comprenden cambios bioquímicos inespecíficos en respuesta a diversas formas de daño tisular por infección, inflamación o neoplasia; muchos elementos de esta respuesta parecen representar mecanismos de defensa tempranos de la inmunidad innata que preceden a la activación de la inmunidad adaptativa, de manera característica hay alteración en la síntesis de varias proteínas plasmáticas, con cambios en su concentración y en el tiempo de respuesta.²⁷.

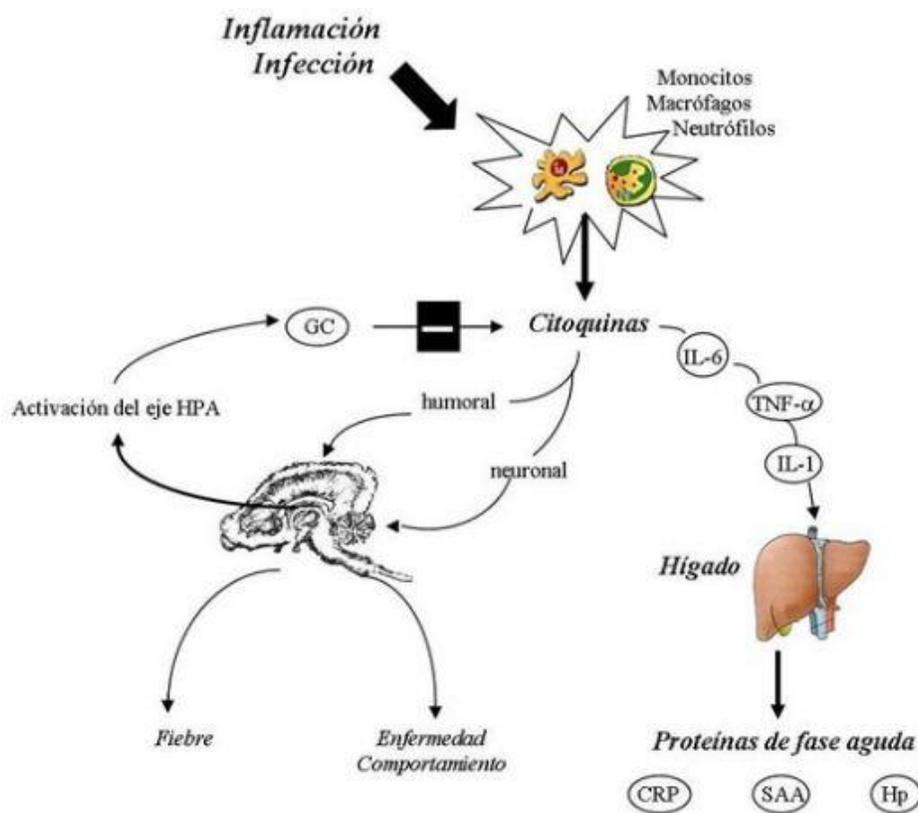


Figura 7. Liberación de proteínas de fase aguda.²⁸

La cuantificación directa de proteínas producidas durante los fenómenos de fase aguda es un método más fidedigno y confiable, de éstas, la proteína C reactiva (PCR) es la más difundida y la más accesible para el clínico, el advenimiento de inmunoensayos de alta sensibilidad para PCR en la década pasada, aumentó el interés en el estudio de esta proteína, no sólo como marcador de inflamación, sino

como una molécula funcionalmente clave en las respuestas de la inmunidad innata; el concepto de que la PCR es también un mediador directo de diversos procesos patológicos llegó al demostrarse que los niveles séricos elevados de PCR (aún dentro de los parámetros considerados como normales) predicen el desarrollo de futuros eventos coronarios.

DESCRIPCIÓN DE LA PCR

La Proteína C reactiva (PCR) fue descubierta originalmente por Tillett y Francis en 1930 como una sustancia en el suero de pacientes con inflamación aguda que reaccionaban con el polisacárido C del neumococo; inicialmente se pensaba que la Proteína C reactiva podía ser una secreción patógena ya que se daba en cantidad elevada en gente con muchas enfermedades entre las que se incluían carcinomas; el descubrimiento de la síntesis hepática y secreción de Proteína C reactiva cerró ese debate, se cree que la Proteína C reactiva está relacionada con la fosfocolina, iniciando el reconocimiento y la fagocitosis de las células dañadas; el gen PCR se encuentra en el primer cromosoma (1q21-q23), es sintetizada por hepatocitos y células del endotelio vascular y su expresión está regulada por citocinas, particularmente por la interleucina 6 (IL-6) y, en menor grado, la interleucina 1 (IL-1) y el factor de necrosis tumoral α (TNF- α), la PCR pertenece a una familia de proteínas pentaméricas dependientes de calcio llamadas pentraxinas, aunque la PCR se produce como monómero, la molécula funcional está compuesta por cinco subunidades polipeptídicas de 23 kDa idénticas asociadas de manera no covalente en una configuración anular con simetría cíclica; las pentraxinas son proteínas que han permanecido a través de la evolución, con proteínas homologas entre especies filogenéticamente distantes, sin embargo, hay grandes variaciones en la organización de las subunidades, en el ensamblaje proteico y en la cinética de la PCR entre especies, por lo que se deben extremar precauciones al extrapolar al humano los datos obtenidos en modelos animales; está compuesta por 5 polipéptidos idénticos que están unidos por medio de interacciones no covalentes, se fija a gran cantidad de microorganismos y activa el complemento, lo que da por resultado depósito de la

opsonina C3b sobre la superficie de los microorganismos; las células fagocíticas, que expresan el receptor C3b, pueden fagocitar después con facilidad los agentes patógenos cubiertos por esta opsonina; es una proteína no glucosidada de síntesis hepática, la síntesis extrahepática no contribuye a los niveles en suero^{28,29}.

- La síntesis normal diaria es de 1-10 mg/día incrementándose a 1g/día en casos de inflamación aguda.
- La vida media en circulación es de 19 horas, la función biológica es la de unirse a sustancias endógenas y exógenas para su remoción de la sangre y tejidos por medio de opsonización.

Los niveles de PCR son más comúnmente elevados en meningitis bacterianas, puede elevarse a las 2 horas después de una cirugía o infección y comenzar a disminuir a las 48 horas si no ocurre otro evento inflamatorio²⁹.

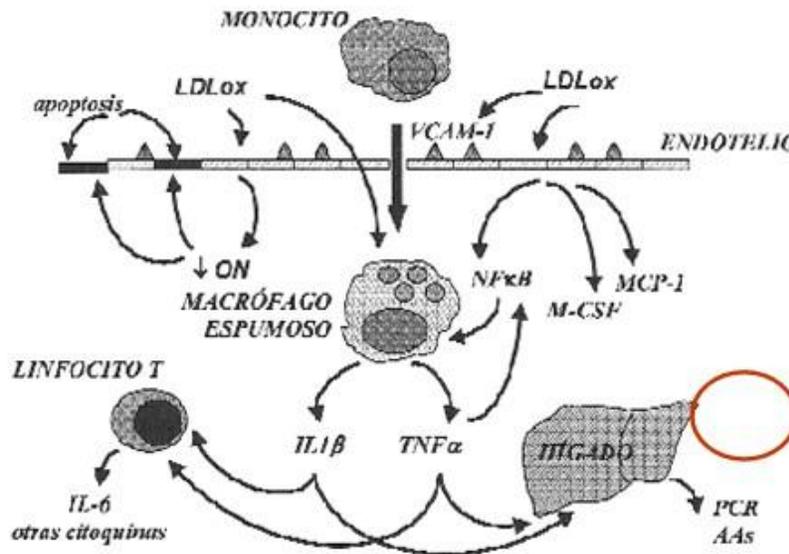


Figura 8. Producción de PCR.³⁰

La PCR constituye un marcador muy sensible de inflamación o daño tisular y su concentración en el suero puede incrementarse con rapidez en respuesta a una gran variedad de estímulos, en condiciones normales, no se encuentra presente

en el torrente sanguíneo, asimismo provoca una aglutinación de las partículas de látex recubiertas con anticuerpos anti-proteína C-reactiva humana dicha aglutinación de las partículas de látex es proporcional a la concentración de PCR y puede ser cuantificada por turbidimetría; los niveles en suero aumentan enormemente en infarto de miocardio, estrés, traumatismos, infecciones, inflamaciones, intervenciones quirúrgicas y en procesos neoplásicos, el aumento de la PCR de hasta 2000 veces superior al normal se produce en las primeras 24-48 horas, aunque dicho aumento no es específico, y aunque la PCR tradicionalmente se ha utilizado para monitorizar o detectar procesos inflamatorios agudos, en diferentes estudios se ha puesto de manifiesto elevaciones de su concentración dentro del intervalo de referencia convencional³⁰.

CERULOPLASMINA

La ceruloplasmina (Cp) se sintetiza principalmente en hígado como una cadena polipeptídica simple y se secreta como una α 2-glicoproteína a nivel plasmático, pertenece a la familia de las multicuprooxidasa, estas enzimas constituyen un grupo de proteínas evolutivamente conservado, se caracterizan desde el punto de vista estructural por presentar tres tipos de sitios de unión para el cobre con características espectroscópicas diferentes y, desde el punto de vista funcional, por catalizar la reducción de una molécula de oxígeno con formación de una de agua, sin la liberación de intermediarios potencialmente tóxicos (O_2^- , H_2O_2); su actividad oxidasa es inespecífica y participa en reacciones de oxidación de diversos sustratos orgánicos e inorgánicos *in vitro*, como por ejemplo: Fe^{2+} , bencidina, p-fenilendiamina, N,N'- dimetilfenilendiamina y otros, sin embargo, sólo el ión Fe^{2+} se considera un sustrato biológico para esta enzima. El hígado es la mayor fuente de Cp sérica y un aumento en el *pool* hepático de cobre resulta en un aumento sostenido en la concentración de Cp, mientras que en el suero de individuos que presentan deficiencia nutricional de este oligoelemento, se observa una disminución en la concentración de Cp circulante; tras un daño tisular (traumático, infeccioso, inflamatorio, etc.), el organismo lleva a cabo una serie de complejas reacciones que son:

- Aislar e inactivar el agente causal.
- Prevenir daño tisular.
- Activar los mecanismos de reparación necesarios para retornar a la normalidad.

Este proceso llamado inflamación y las reacciones inmediatas que se llevan a cabo tras el daño constituyen la respuesta de la fase aguda, que es desencadenada por la acción de varias citocinas sobre el SNC, las principales son la IL-1, IL-6 y TNF; estas citocinas son liberadas a partir del foco de inflamación y su concentración aumenta en el plasma, estos eventos provocan cambios en la síntesis de proteínas de fase aguda que aumentan en su nivel plasmático durante la inflamación; la síntesis de estas proteínas se lleva a cabo principalmente en el

hígado, ya que los hepatocitos incrementan la biosíntesis de estas proteínas incrementando consecuentemente su concentración, por lo que son llamados reactantes positivos de fase aguda y a su vez los hepatocitos disminuyen la síntesis de otras proteínas llamadas reactantes negativos de fase aguda; entre las proteínas de fase aguda que son reactantes positivos tenemos la globulina alfa, que se dividen en los grupos $\alpha 1$ y $\alpha 2$ ³¹. Dentro de las globulinas $\alpha 2$ encontramos la ceruloplasmina, su síntesis es inducida por la acción de IL-6, por lo que es llamada proteína de fase aguda tipo 2, la ceruloplasmina es una proteína de color azul debido a su contenido de cobre y transporta el 90% de este metal presente en el plasma, con un peso de 132 kDa, punto isoelectrico de 4.4, movilidad electroforética de 4.6; clasificada dentro de las proteínas de cinética de evolución lenta, ya que aumenta su concentración en un 50% sobre su nivel basal, alcanzando un pico detectable de 3-4 días, con una vida media de entre 3-6 días y retornando a la normalidad de 10 a 15 días; se sabe que la ceruloplasmina juega un papel de ferroxidasa que ayuda en la importación y exportación del hierro a través de la membrana celular, catalizando la conversión de hierro ferroso (Fe^{+2}) a su forma férrica (Fe^{+3}).

Las funciones fisiológicas de la ceruloplasmina incluyen

- Transporte de cobre.
- Coagulación.
- Angiogénesis.
- Ayuda en el estrés oxidativo por captación de radicales superóxidos y secuestro de iones libres de cobre.
- Oxidación de lipoproteínas de baja densidad.
- Homeostasis de hierro como ferroxidasa, catalizando la conversión de Fe^{+2} tóxico en Fe^{+3} no tóxico.

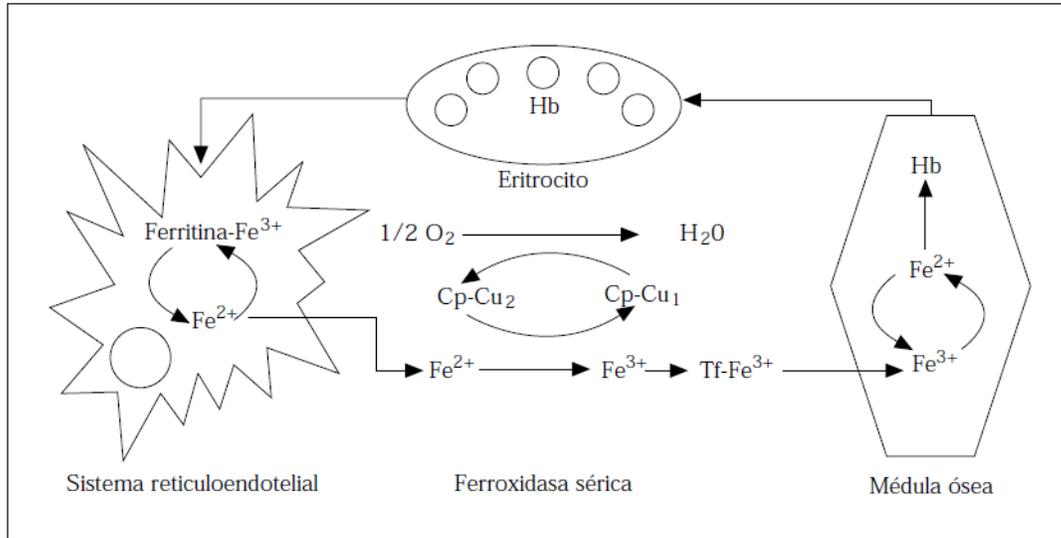


Figura 9. Papel de la ceruloplasmina como plasmaferroxidasa³¹.

La Cp es una proteína multifuncional; la función que la misma cumpla dependerá de los cambios en las condiciones fisiológicas y patológicas presentes en el organismo frente a una situación determinada, aunque su aumento después de procesos inflamatorios y traumáticos se usó para clasificarla como proteína de fase aguda, su función fisiológica puede ser amplia y variada, además de participar en la homeostasis del hierro, se le reconocen propiedades antioxidantes contra la peroxidación lipídica y oxidantes frente a varias aminos; en circulación, la proteína se encuentra como apoceruloplasmina y holoceruloplasmina, la primera de estas formas corresponde a la enzima sin actividad, mientras que la segunda corresponde a la enzima activa, la incorporación de cobre en su estructura proteica promueve un cambio conformacional esencial desde la forma apo hacia la de holoenzima, la apoceruloplasmina contribuye aproximadamente en un 10% a la concentración proteica total de Cp en adultos presumiblemente sanos; esta proteína es abundante en suero pero no en la barrera hematoencefálica por lo que no es posible su detección directamente en el SNC, al haber gran cantidad de Fe⁺² se incrementa el daño secundario y una disminución de la funcionalidad, originando una neurodegeneración; se ha encontrado que los niveles de Cp sérica y la actividad del cobre se incrementan en enfermedades autoinmunes o en las de

daño celular, el transporte de cobre en los conductos biliares es interrumpido por el colapso de estos y por tanto el cobre se acumula en el hígado, así es probable que los niveles de Cp aumenten para metabolizar los acúmulos de cobre en el hígado, sin embargo, los niveles de Cp en suero no son significativos para diagnosticar enfermedades autoinmunes, pero si en cicatrización del hígado por ejemplo cuando se encuentra dañado por factores físicos, químicos o biológicos^{27,32}.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Se define al Síndrome de *burnout* (Sb) como el agotamiento emocional, despersonalización y la falta de realización personal que puede padecer una persona que trabaja en la prestación de servicios, algunos de los síntomas son dolor de espalda y cuello, sensación de persecución, ausentismo laboral y hasta deseos de suicidarse, es a partir del año 1974 cuando se comienza a hablar de este síndrome como una respuesta al estrés crónico sufrido sólo en un contexto laboral; lo que más ha llamado la atención de esta manifestación es el alcance de sus síntomas, ya que este mismo conlleva consecuencias negativas para el individuo y su lugar de trabajo, por ende para demostrar el impacto que tiene el estrés laboral se han realizado diversos estudios con aplicación psicológica con el propósito de proponer e implementar programas de prevención y tratamiento a nivel individual, social y organizacional, pero a pesar de los avances y datos obtenidos, aún existen muchas controversias acerca del concepto y el tipo de intervención más eficaz para reducir los síntomas del SB. Cabe mencionar que debido a los escasos antecedentes de estudios en torno al síndrome de *burnout* a nivel de afectación del sistema inmunológico y en especial a su detección en el sector estudiantil; se ha planteado la necesidad de determinar la frecuencia del Síndrome de *burnout* en estudiantes de la FES Zaragoza, y su relación con factores inmunológicos tales como cortisol, proteína C reactiva, peroxidación, ceruloplasmina, nitritos.

3. OBJETIVOS

3.1 GENERAL

- Determinar los valores de los factores inmunológicos que se ven alterados por el Burnout en una muestra de alumnos de la Carrera de QFB de la FES Zaragoza

3.2 ESPECÍFICOS

- Probar y estandarizar las técnicas de Cortisol, Ceruloplasmina, Proteína C reactiva, Peroxidación lipídica, Nitritos.
- Indagar si se alteran algunos factores inmunológicos (Cortisol, Ceruloplasmina, Proteína C reactiva, Peroxidación lipídica) por el Burnout en los alumnos de la Carrera de QFB de la FES Zaragoza.
- Obtener la presión arterial, índice de masa corporal y hábitos tóxicos tales como fumar, beber, sedentarismo, entre otros y su relación con los factores inmunológicos.

4. HIPÓTESIS

Debido a los factores estresores del Síndrome de Burnout los alumnos de la Carrera de QFB la FES Zaragoza, presentarán alteraciones en los niveles de Cortisol, Ceruloplasmina, Proteína C reactiva, Peroxidación lipídica y Nitritos.

5. POBLACIÓN DE ESTUDIO

La población de esta investigación estuvo compuesta por 279 alumnos de la Carrera de QFB de la FES Zaragoza de los primeros semestres, semestres intermedios y de último año escolar por invitación.

6. CRITERIOS DE SELECCIÓN

6.1 Criterios de inclusión

- a) Sean alumnos inscritos en la carrera de QFB, en el semestre 2011-1 y 2011-2.
- b) Que acepten participar mediante la firma del consentimiento informado sobre el proyecto de investigación.
- c) Que presenten el síndrome de burnout.

6.2 Criterios de exclusión

- a) Alumnos que en el momento de realizar la toma de muestras se encuentren en periodos de examen.
- b) Sean alumnos de edades entre 18 a 27 años.

6.3 Criterios de eliminación

- a) Falsos positivos en las diferentes determinaciones

7. VARIABLES DE ESTUDIO

7.1 INDEPENDIENTES:

- ⌘ Semestre que cursa
- ⌘ Edad
- ⌘ Sexo

7.2 DEPENDIENTES:

- ⌘ Concentración de marcadores de inflamación (PCR y ceruloplasmina).
- ⌘ Concentración de peroxidación lipídica
- ⌘ Concentración de óxido nítrico
- ⌘ Concentración de cortisol en saliva

8. MATERIAL, REACTIVOS Y EQUIPO

8.1 Material biológico

- ⌘ Plasmas de los alumnos de la Carrera de QFB, obtenidos empleando heparina como anticoagulante.
- ⌘ Paquetes celulares eritrocitarios, de las muestras de alumnos.
- ⌘ Suero de conejo anti-ceruloplasmina.
- ⌘ Eritrocitos de carnero (GRC)
- ⌘ Carbohidrato C de neumococo (50 $\mu\text{g/mL}$).
- ⌘ Saliva

8.2 Material

| Material | Marca |
|---|------------------------------|
| Agujas estériles para Vacutainer (0.8X38mm) | Becton, Dickinson&Company |
| Cámaras de Neubauer | American Optical Corporation |
| Camisas para aguja | Vacutainer Brand |
| Celdas de cuarzo | Kartell |
| Gradillas de metal | |
| Jeringas (5mL) | BD Plastipak |
| Ligaduras | |
| Matraz aforado (10mL, 25mL, 100mL) | Pyrex |
| Matraz Erlenmeyer (125mL, 250mL) | Kimax |
| Papel aluminio | Alupack |
| Papel Parafilm | Pechiney, Plastic Packaging |
| Pipetas graduadas (5mL, 1mL, 10mL) | Pyrex |
| Pipetas Pasteur | |
| Placas Falcon (35mm) | Falcon |
| Placas de poliestireno para ELISA | Costar |
| Puntas para micropipetas | BIOHIT |
| Torundas con alcohol | |
| Tubos con heparina (10mL) | Vacutainer |
| Tubos de plástico (13x100mm) | |
| Tubos de vidrio (13x100mm) | |
| Tubos Eppendorf (1mL) | Fisher Brand |
| Vasos de precipitado (50mL, 250mL) | Pyrex |

8. 3 Reactivos

| Reactivo | Proveedor |
|--|---|
| 1,1,3,3 Tetrametoxipropano (TMP) | Sigma Aldrich |
| 2,6-Diterbutil-4-metilfenol (BHT) | Sigma Aldrich |
| Ácido ortofosfórico | |
| Ácido tiobarbitúrico (TBA) | Sintetizado en el laboratorio de química orgánica, FES Zaragoza por el M. en C. Rodolfo Carreón Sánchez |
| Agarosa | Bioxon |
| Agua destilada | |
| Borato de sodio | J.T. Baker |
| Cadmio metálico | Aldrich |
| Cianuro de potasio | J.T. Baker |
| Cloruro de amonio | J.T. Baker |
| Cloruro de sodio | J.T. Baker |
| Cloruro de potasio | J.T. Baker |
| Etanol absoluto | J.T. Baker |
| Ferrocianuro de potasio | J.T. Baker |
| Fosfato de potasio monobásico | J.T. Baker |
| Fosfato de sodio dibásico | J.T. Baker |
| Fosfato de sodio monobásico | J.T. Baker |
| Kit para investigar PCR (Proteína C Reactiva) por aglutinación de partículas látex | LICON Laboratorios |
| n-Butanol | J.T. Baker |
| Nitrito de sodio | Mallinckrodt |
| Sulfanilamida | Merck |
| Sulfato de cobre pentahidratado | J.T. Baker |
| Sulfato de zinc | Hycel de México |

8.4 Equipo

| Nombre | Características |
|---|---|
| Agitador Rocker | Rocker Platform Bellco Glass |
| Agitador Vortexgenie | Scientific Industries |
| Balanza Analítica | OHAUS |
| Baño María | Precisión |
| Centrífuga | Hamilton BelVan Guard V 6500 |
| Centrífuga para Eppendorf | HERMLE Z 233 M-2 |
| Congelador | Reico |
| Cronómetro | |
| Espectrofotómetro | JENWAY 6305 UV/VIS |
| Horno de microondas | |
| Micropipeta | Finnpipette – Labsystems (5-40 μ L) |
| Micropipeta (0.5-10 μ L) (10-100 μ L), (100-1000 μ L) | BIOHIT Proline |
| Papel aluminio | Alupack |
| Papel parafilm | Pechiney, Plastic Packaging |
| Pipetor automático | Powerpette |
| Refrigerador | Twist aire- Mabe |
| Trampa de vacío | |

9. MÉTODO

9.1 Toma de muestra por punción venosa

- ⌘ Se colocó un torniquete en la parte superior del brazo para producir congestión venosa.
- ⌘ Se le pidió al estudiante que extendiera el brazo y cerrara el puño varias veces.
- ⌘ Se limpió el sitio de punción con una torunda de algodón con alcohol.
- ⌘ Se puncionó la vena para extraer la muestra. .
- ⌘ Una vez que penetrada la vena, se colocó un tubo con vacío Vacutainer con heparina y se extrajo la muestra.
- ⌘ Se retiró el torniquete antes de extraer la aguja.
- ⌘ Se extrajo la aguja, se aplicó presión y una cinta adhesiva estéril en el sitio de la punción.
- ⌘ Se mezclaron los tubos de sangre con el anticoagulante.

9.2 Tratamiento previo de las muestras a trabajar

- ⌘ De los tubos con muestras sanguíneas se les centrifugó durante cinco minutos a 10000 rpm.
- ⌘ Se tomó con una pipeta Pasteur el plasma separado y se vació en un tubo de ensaye de 13 x 100, este se cubrió con papel Parafilm y se colocó en una gradilla.
- ⌘ Se tomaron alícuotas de 300 μ L de plasma de cada tubo y se colocaron en un tubo Eppendorff esto para las pruebas de proteína C reactiva, nitritos, ceruloplasmina.
- ⌘ Se tomaron alícuotas de 100 μ L de plasma de cada tubo de ensaye y se les agregó 10 μ L de BHT conservándolas en un tubo Eppendorff, esto para la prueba de peroxidación lipídica.
- ⌘ Se alicuotaron 500 μ L de saliva en tubos Eppendorff.

⌘ Todas las muestras se colocaron en gradillas debidamente etiquetadas y se llevaron al congelador a una temperatura de $-24\text{ }^{\circ}\text{C}$, esto con el fin de preservarlas antes de procesarlas.

9.3 Ceruloplasmina

Preparación de las placas

1. Se pesaron 0.3 g de agarosa en balanza analítica.
2. Se colocó 0.3 g de agarosa en un matraz Erlenmeyer de 125mL y se adicionaron 30 mL de PBS.
3. Se colocaron 6 tubos de ensayo de 13X100 en un baño María a $45\text{ }^{\circ}\text{C}$.
4. El matraz se le colocó en un horno de microondas cada 10 segundos hasta observar el agar completamente disuelto, cuidando que no se derramara producto del calentamiento.
5. A este matraz se le adicionaron 2 mL de agarosa al 1% en cada tubo, conservándolos en baño María a $45\text{ }^{\circ}\text{C}$.
6. Se vertieron 150 mL de suero de conejo anti-ceruloplasmina y se agitaron con un vortex.
7. Se vaciaron cada uno de los tubos en las placas de 35 mm Falcon.
8. A estas placas se les dejó solidificar a temperatura ambiente.
9. Se realizaron 4 perforaciones de 3 mm en cada placa y se procedió a realizar una curva de calibración usando estándares de ceruloplasmina humana de 15, 30, 45 y 60 mg/dL, contenidos en 5 μL . Se colocaron 5 μL de las muestras y se incubaron por 48 h, se leyeron los halos de inhibición y se interpolaron en la curva de precipitación.

9.2 Nitritos

9.2.1 Plateado del cadmio

1. En tubos de 13 X 100 se colocaron 0.5g de cadmio metálico y se agregaron 2 mL sulfato de cobre al 5% y se agitó por 10 minutos en una plataforma de agitación (rockerplatform).
2. Se lavó 3 veces con agua destilada para eliminar el cobre.
3. Se hizo un último lavado con HCl 0.1N para remover el hidróxido de cadmio, aproximadamente a 2 volúmenes con el tubo lleno.
4. Se procedió a lavar el cadmio con cloruro de amonio al 5% a un pH de 9.

9.2.2 Preparación de la muestra

1. A 100 μ L de suero o plasma se le adicionaron 300 μ L de agua destilada (obteniendo una dilución 1:4), se agregaron 20 μ L de la solución de $ZnSO_4$, se agitó perfectamente (esta solución formó un precipitado de proteínas) y se centrifugó a 10 000 rpm durante 5min.
2. A los tubos con el cadmio activado (provenientes del paso 4 del Plateado del cadmio), se les tiró el NH_4Cl y posteriormente se les adicionó el sobrenadante del centrifugado del paso 1.
3. Se tapó con el parafilm y se colocó en una plancha de agitación horizontal por 15 minutos.
4. Se centrifugaron los tubos a 3500 rpm por 5 minutos y se tomaron 200 μ L del sobrenadante.
5. Se realizó la curva de calibración con el patrón.
6. Curva patrón, concentración estándar de 200 μ g/mL de nitrito de sodio y procesamiento de la muestra.
7. Se determinó la concentración de nitritos en suero problema y se reportaron los resultados con la utilización de la curva patrón de nitrito de sodio.

9.3 Peroxidación lipídica

9.3.1 Procesamiento de la muestra

1. Se recolectaron 100 μ L de la muestra del plasma de cada paciente en tubos Eppendorf y se les adicionó a cada uno 10 μ L de BHT 2mM.
2. Se diluyó el plasma a 1:5 con PBS (100 μ L de plasma en 400 μ L de PBS).
3. Se tomaron 400 μ L de plasma con 50 μ L de BHT 12.6 mM y 400 μ L de ácido ortofosfórico 0.2M.
4. Se mezclaron en el Vortex por 10 segundos, adicionando después 50 μ L de TBA 0.11M/L y mezclando de nuevo con vortex.

9.3.2 Producción de color

1. Se colocó la mezcla de la reacción en un baño de agua a 90⁰C por 15 minutos, los tubos se taparon con papel aluminio.
2. Posteriormente se enfriaron en hielo y se les agregó 1000 μ L de n- butanol y 100 μ L de NaCl solución saturada agitándolos vigorosamente por 30 segundos.
3. Se centrifugaron a 5000 rpm por 1 minuto, y se transfirieron 500 μ L de la fase de butanol a una celda.
4. Se realizó la lectura a 535 nm y a 572 nm, para con ello corregir la absorción.
5. Se realizó la curva estándar de MDA, para obtener las concentraciones de MDA y poder reportar la peroxidación lipídica del paciente.

9.4 PROTEÍNA C REACTIVA

9.4.1 Preparación de diluyente glicina salina concentrada:

El frasco de diluyente glicina salina concentrado se aforó con agua destilada al volumen suficiente según correspondiera a la presentación. Ejemplo:

- ⌘ 50 mL (para 50 pruebas)
- ⌘ 100 mL (para 100 pruebas)
- ⌘ 40 mL (para 40 pruebas), etcétera

9.4.3 Método cualitativo

Nota: El látex Anti-PCR debió estar a temperatura ambiente antes de ser utilizado.

1. Se colocó en una gradilla un tubo de 13 x 100 mm.
2. Se agregaron 0.95 mL del frasco No. 4 (Diluyente glicina-salina concentrado pH 8.2) diluido.
3. Se añadieron 0.05 mL del suero problema.
4. Después de haber agregado el suero problema, la dilución obtenida fue 1:20 y estuvo lista para su uso.
5. En un anillo de la placa se depositaron 0.05 mL del suero diluido.
6. En otro anillo se depositó una gota del frasco No. 2 (suero control positivo).
7. En un tercer anillo se depositó una gota del frasco No. 3 (suero control negativo).
8. Se añadió a cada uno de los 3 anillos una gota del frasco No. 1 (Látex anti-Proteína «C» Reactiva) previamente resuspendido.
9. Se mezcló manualmente la placa de reacción durante 2 minutos.
10. Posteriormente se realizó la lectura del resultado en este momento bajo una fuente de luz directa.

9.4.4 Método semicuantitativo

1. Se seleccionaron los sueros positivos obtenidos en la prueba cualitativa.
2. Se colocaron en una gradilla 5 tubos de 12 x 75 mm y se numeraron.
3. Se depositó al tubo No. 1, 0.95 mL del frasco No. 4 (Diluyente glicina-salina concentrado, pH 8.2) diluido.
4. Se depositaron del tubo No. 2 al 5, 0.5 mL del frasco No. 4 (Diluyente glicina-salina concentrado pH 8.2) diluido.
5. Se añadieron al tubo No. 1, 0.05 mL del suero problema dilución 1:20, posteriormente se mezcló.
6. Se pasaron 0.5 mL del tubo No. 1 al tubo No. 2 y se mezclaron.
7. Se pasaron 0.5 mL del tubo No. 2 al tubo No. 3 y se mezclaron.
8. Se continuó esta operación hasta el tubo No. 5.

9. Posteriormente se depositaron 0.05 mL de cada una de las diluciones en anillos diferentes de la placa.
10. Se añadió una gota del frasco No.1 (látex Anti-Proteína «C» Reactiva) a cada una de las diluciones.
11. Se mezcló manualmente la placa de reacción durante dos minutos.
12. Se realizó la lectura del resultado en ese momento.

9.5 CORTISOL

9.5.1 Método de ensayo.

Cada corrimiento incluyó una curva estándar.

1. Se etiquetó cada muestra.
2. Se agregó 100 µL del estándar, del control y de las muestras, en cada ocasión con nuevas puntas desechables, en los pocillos correspondientes.
3. Se agregaron 200 µL de conjugado enzimático en cada pocillo. Mezclar bien durante 10 segundos. Fue importante tener una mezcla completa en este paso.
4. Se incubó durante 60 minutos a temperatura ambiente
Nota: La incubación en un agitador a 300 rpm es recomendable.
5. Se agitó enérgicamente el contenido de los pozos. Se lavaron los pocillos cinco veces con solución de lavado diluido (400 µL por pocillo). Decantando fuertemente para quitar las gotas residuales.
Nota: la sensibilidad y la precisión de este ensayo dependió del correcto procedimiento de lavado.
6. Se añadieron 200 µL de solución de sustrato a cada pocillo.
7. Se procedió a incubar durante 30 minutos a temperatura ambiente.
8. Se detuvo la reacción enzimática añadiendo 100 µL de solución en cada pocillo.
9. Se determinó la absorbancia de cada pocillo a 450 ± 10 nm, leyendo las placas antes de 10 minutos.

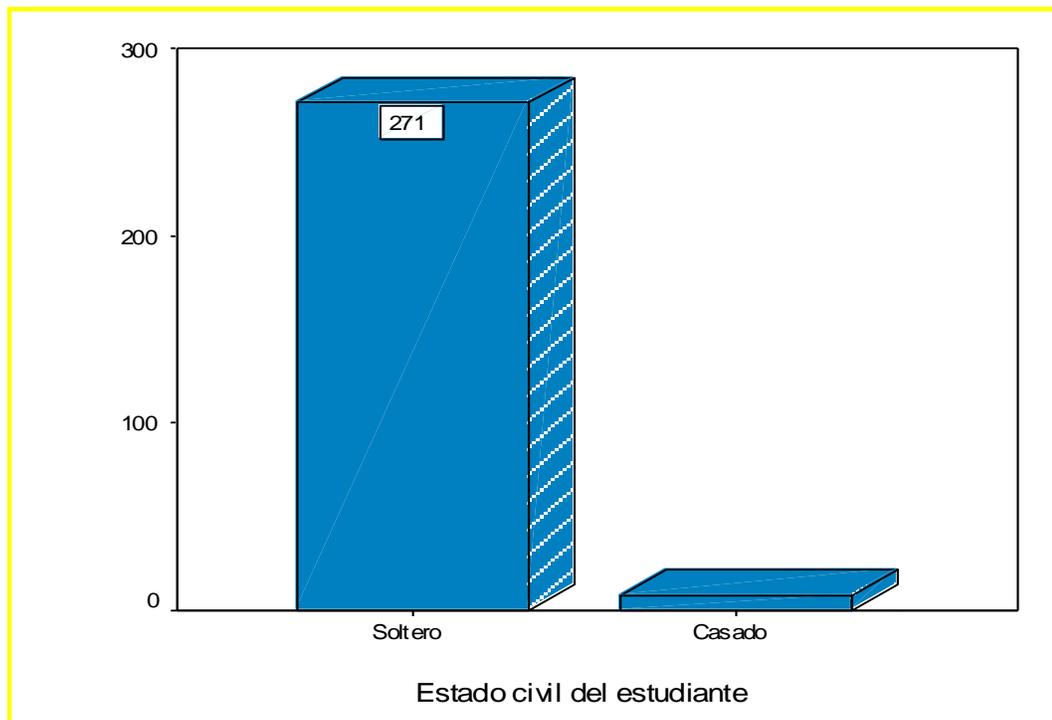
10. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se obtuvo la media, desviación estándar, análisis de varianza para las medias y los coeficientes de correlación entre los valores de los factores inmunológicos y los bloques del semestre que cursan los estudiantes, esto se efectuó aplicando el programa estadístico SPSS para ambiente de Windows versión 11.5

11. RESULTADOS

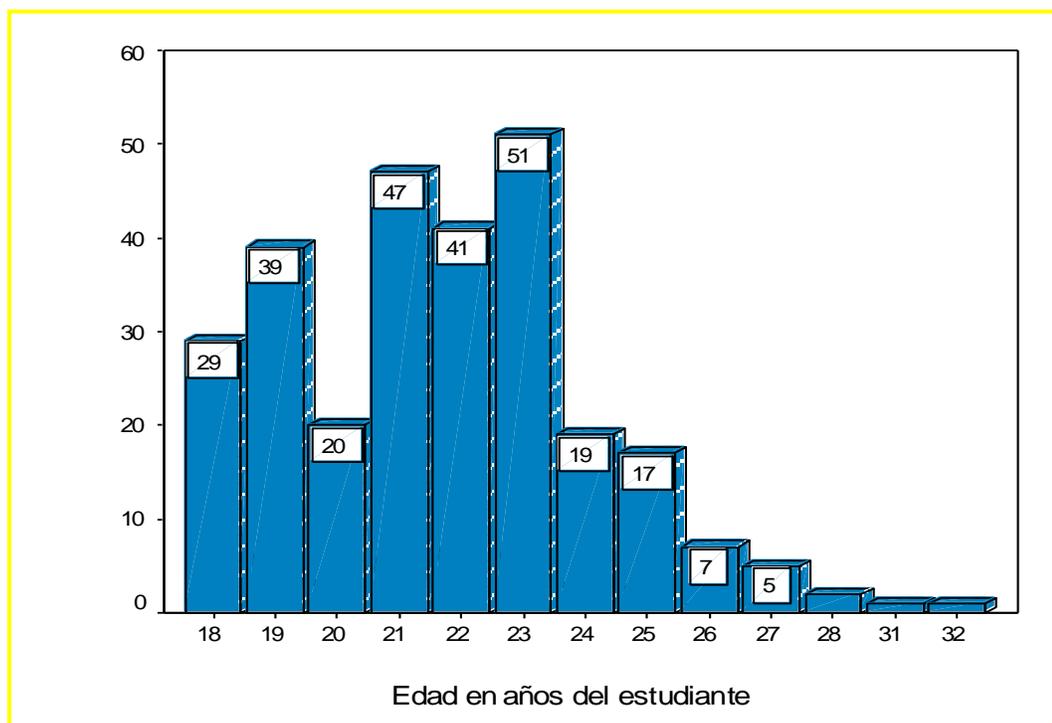
11.1 ASPECTOS DESCRIPTIVOS

De los 279 alumnos encuestados de la carrera de QFB, 271(97.1%) dicen ser solteros y sólo el 2.9% de ellos son casados; como se muestra en la gráfica 1.



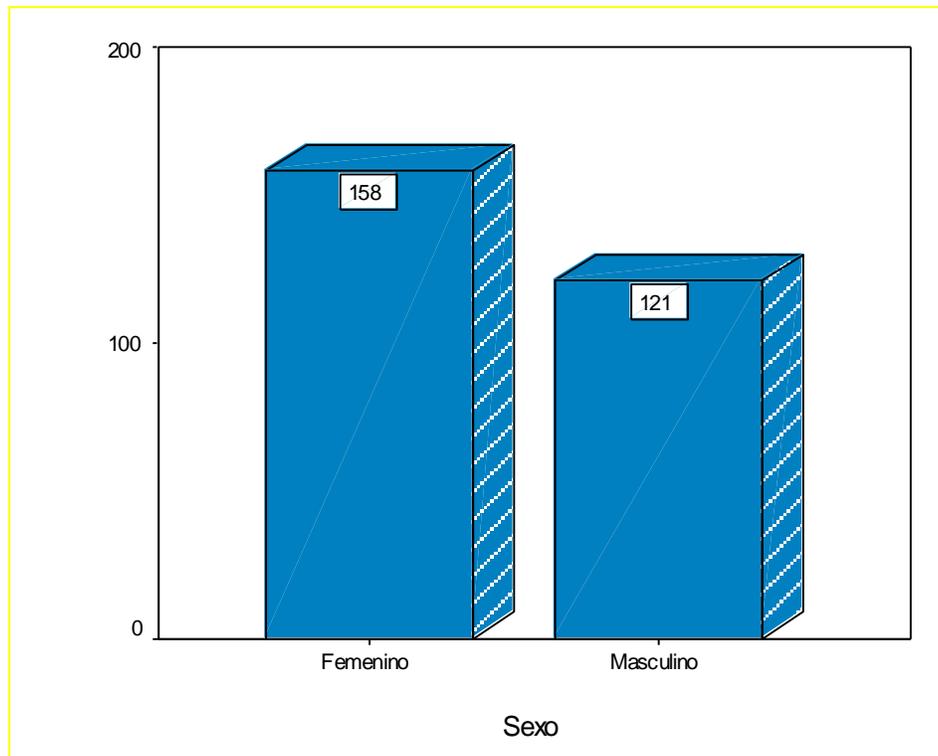
Gráfica 1. Frecuencia del estado civil de los alumnos encuestados de la carrera de QFB

De los 279 estudiantes encuestados, 29 (10.4%) tienen la edad de 18 años, 39 (14%) presentan la edad de 19 años, 20 (7.2%) estudiantes poseen 20 años, 47 estudiantes (16.8%) muestran la edad de 21 años, 41 estudiantes (14.7%) tienen la edad de 22 años, 51 estudiantes (18.3%) de ellos presentan la edad de 23 años, 19 (6.8%) poseen la edad de 24 años, 17 estudiantes (6.1%) muestran la edad de 25 años, 7 estudiantes (2.5%) tienen la edad de 26 años, 5 estudiantes (1.8%) presentan la edad de 27 años, 2 (0.7%) estudiantes poseen la edad de 28 años, 1 (0.4%) estudiante muestra la edad de 31 años y el estudiante restante (0.4%) tiene 32 años, estos resultados se aprecian en la gráfica 2.



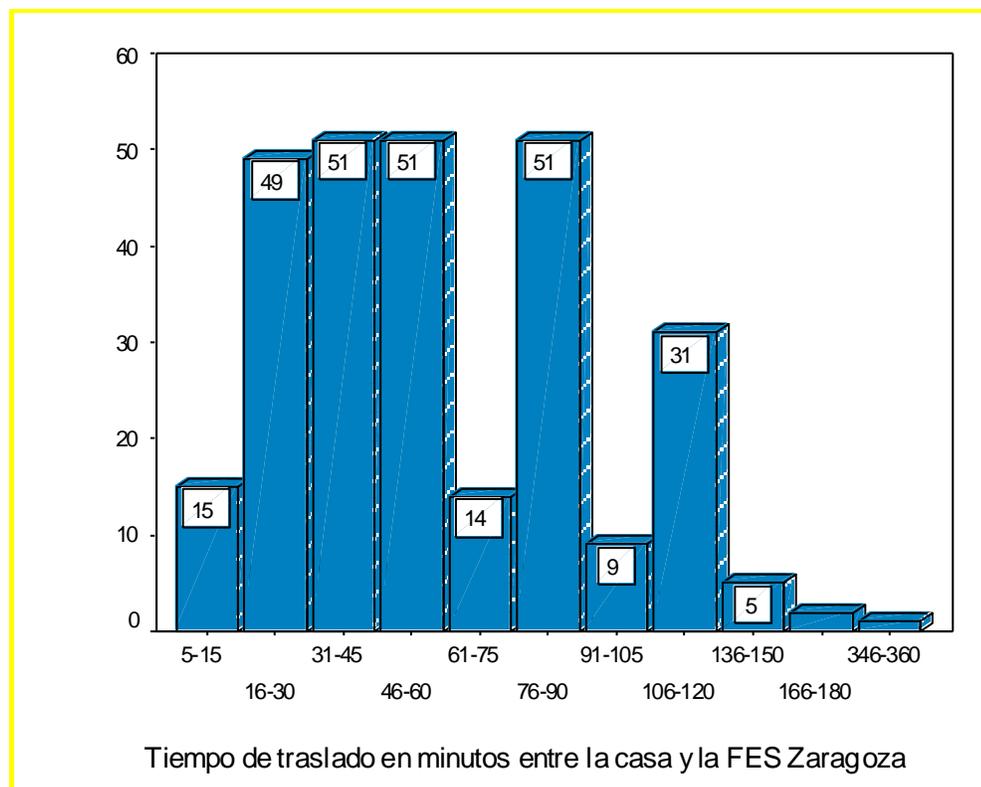
Gráfica 2. Frecuencia de las edades de los estudiantes encuestados

De los 279 estudiantes encuestados, 158 (56.6%) pertenecen al sexo femenino, y los otros 121 (43.4%) representan al sexo masculino como se muestra en la gráfica 3.



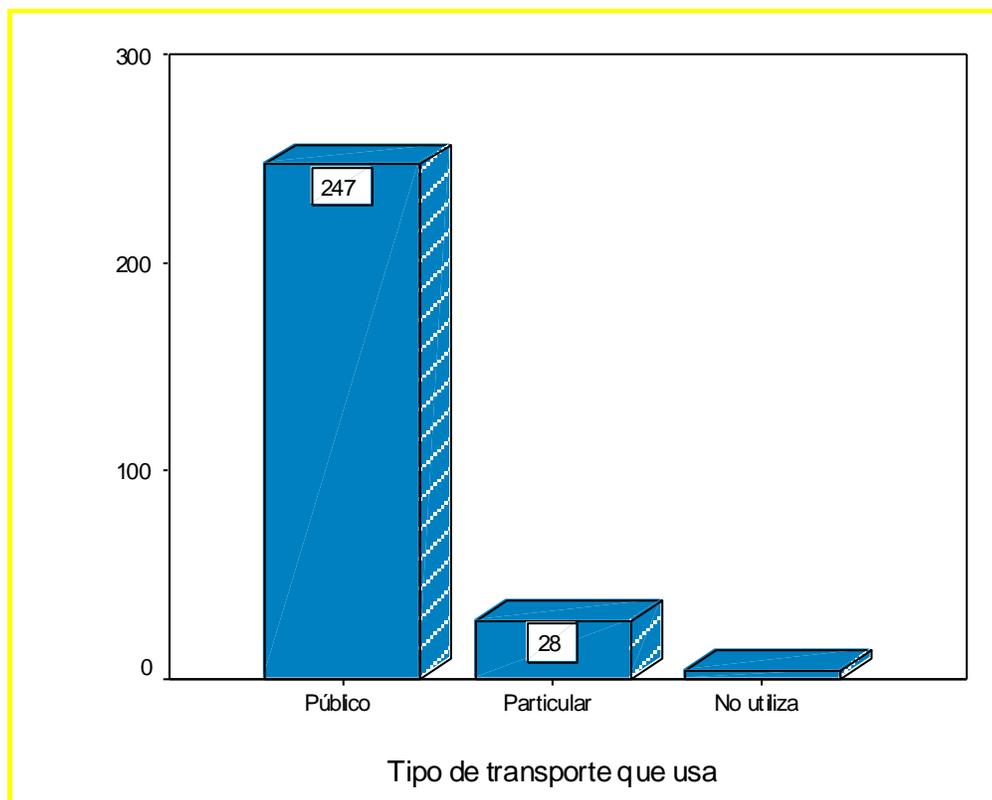
Gráfica 3. Frecuencia del sexo de los alumnos encuestados.

De los 279 alumnos encuestados con respecto al tiempo de traslado en minutos que les lleva entre la casa y la FES Zaragoza, 15 (5.4%) estudiantes les lleva de 5-15 minutos, 49 estudiantes (17.6%) les lleva de 16-30 minutos, 51 (18.3%) estudiantes se tardan de 31-45 minutos, a otros 51 estudiantes (18.3%) se trasladan en un tiempo de 46-60 minutos, 14 (5%) estudiantes se trasladan en un tiempo de 61-75 minutos, 51 estudiantes (18.3%) les lleva de 76 -90 minutos en trasladarse, 9 (3.2%) estudiantes se transportan en un tiempo de 91-105 minutos, 31 estudiantes (11.1%) les lleva de 106-120 minutos en trasladarse, 5 (1.8%) estudiantes se trasladan en un tiempo de 136-150 minutos, 2 estudiantes (0.7%) les lleva de 166-180 minutos en trasladarse y al (0.4%) que es 1 estudiantes le lleva de 346-360 minutos en trasladarse como se observa en la gráfica 4.



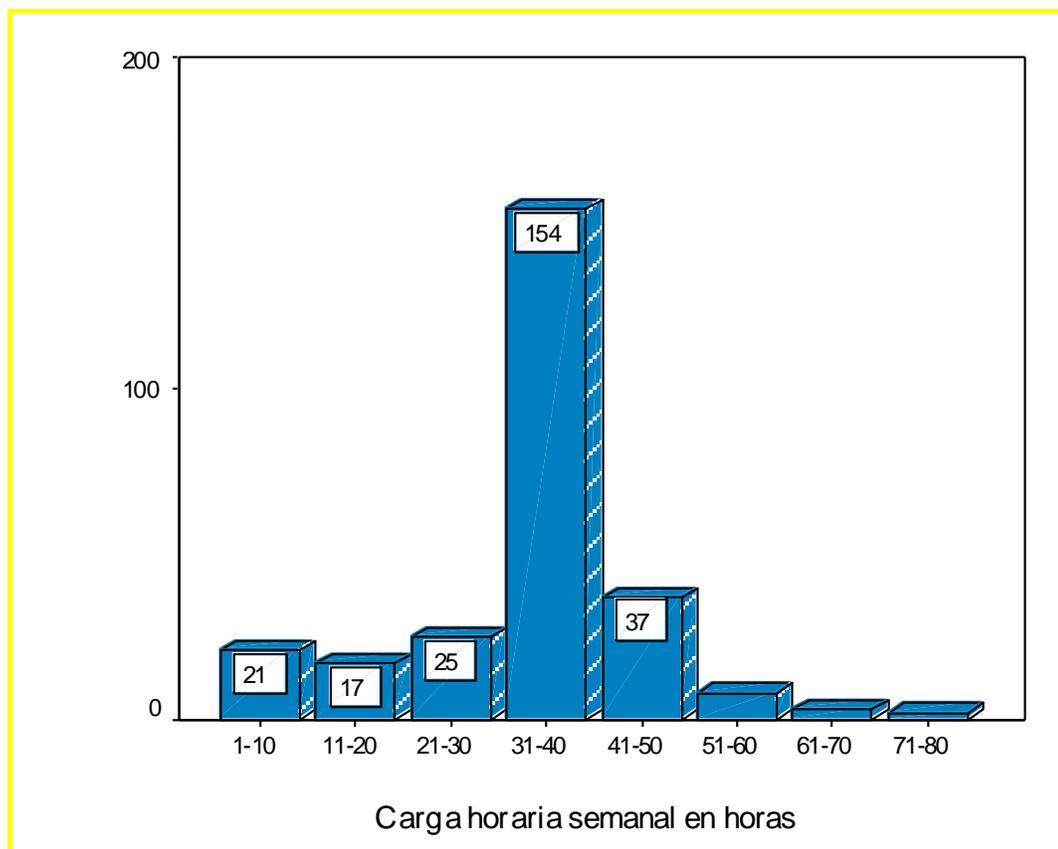
Gráfica 4. Frecuencia del tiempo de traslado en minutos entre la casa y la FES Zaragoza

De los 279 alumnos encuestados con respecto al tiempo de transporte que usa, 247 (88.5%) estudiantes usa el transporte público, 28 estudiantes (10%) usan el transporte particular y 4 (1.4%) de ellos no utiliza ningún transporte; como se muestra en la gráfica 5.



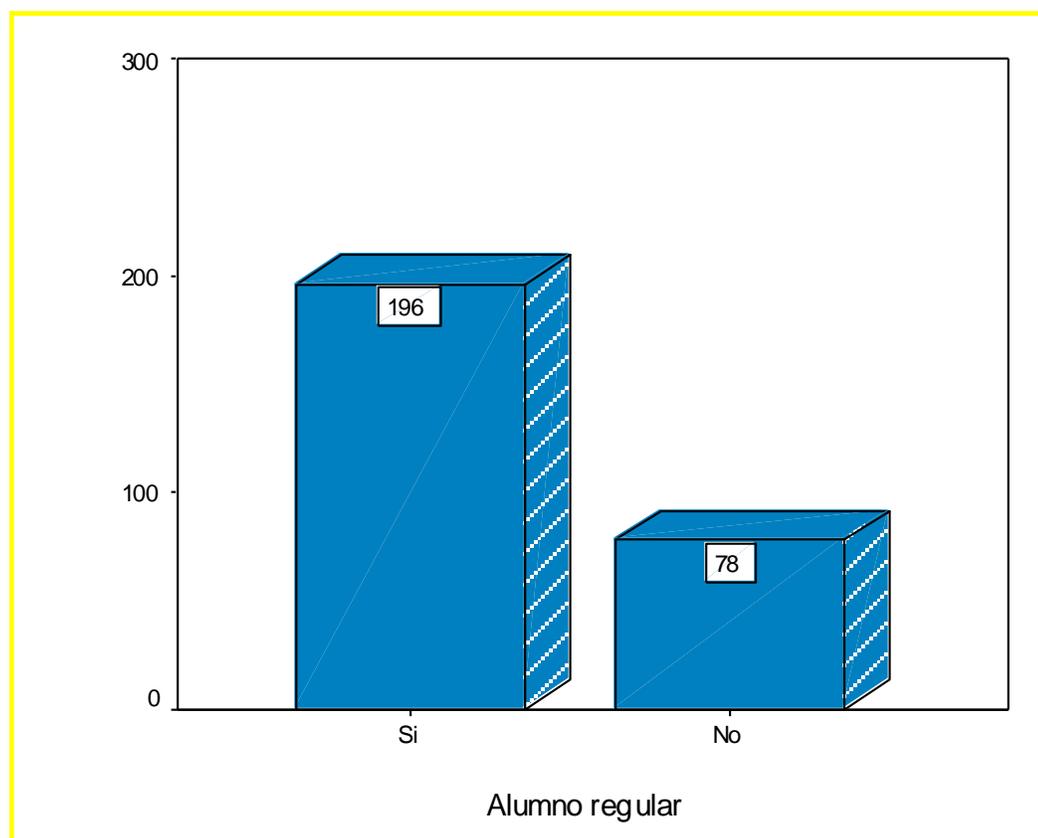
Gráfica 5. Frecuencia del tipo de transporte que usa

Como se muestra en la gráfica 6 con respecto a la carga horaria semanal en horas, 21 (7.5%) estudiantes sólo tienen de 1-10 horas de carga horaria, 17 estudiantes (6.1%) presentan de 11-20 horas de carga horaria, 25 (9%) estudiantes poseen 21-30 horas de carga horaria, 154 estudiantes (55.2%) tienen de 31-40 horas de carga horaria, 37 (13.3%) estudiantes presentan de 41-50 horas de carga horaria, 8 estudiantes (2.9%) tienen de 51-60 horas de carga horaria, 1.1% (3) estudiantes presentan de 61-70 horas tienen carga horaria, y 0.7% (2) estudiantes presentan de 71-80 horas carga horaria.



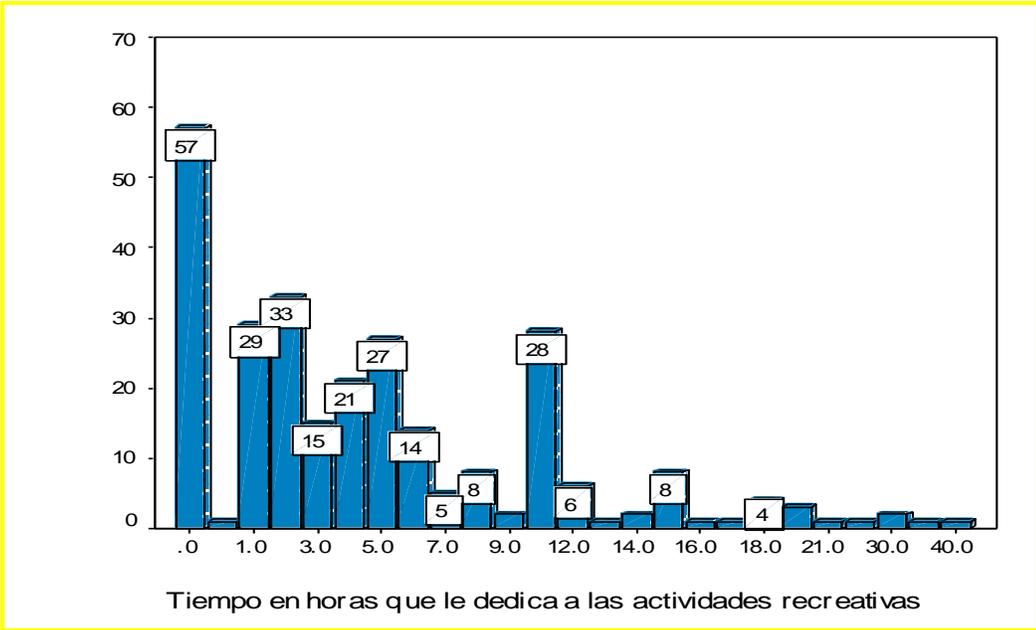
Gráfica 6. Frecuencia de la carga horaria semanal en horas.

De los 279 estudiantes encuestados, 196 estudiantes (70.3%) son alumnos regulares y el 28% (78) restante son irregulares y el 1.8% (5) no especificaron su situación escolar como se muestra en la gráfica 7.



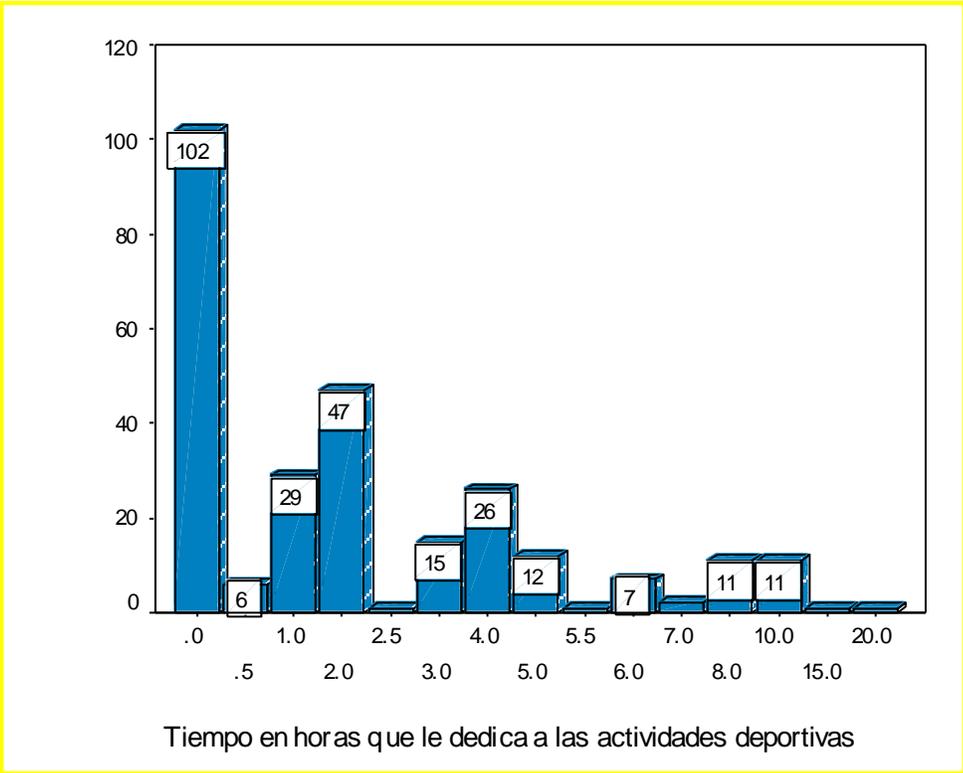
Gráfica 7. Frecuencia de la situación escolar.

Como se muestra en la gráfica 8 con respecto al tiempo en horas que le dedica a las actividades recreativas, el 20.4% (57 estudiantes) no realizan actividades recreativas, 1 alumno (0.4%) realiza 0.5 horas de actividad recreativa, 10.4% (29 estudiantes) tienen 1 hora de actividad recreativa, 33 estudiantes (11.8%) tienen 2 horas de actividades recreativas, 5.4% (15 estudiantes) tienen 3 horas de actividades recreativas, 21 estudiantes (7.5%) realizan 4 horas de actividades recreativas, 9.7% (27 estudiantes) realizan 5 horas de actividades recreativas, 14 estudiantes (5%) realizan 6 horas de actividades recreativas, 1.8% (5 estudiantes) realizan 7 horas de actividades recreativas, 8 estudiantes (2.9%) realizan 8 horas de actividades recreativas, 0.7% (2 estudiantes) realizan 9 horas de actividades recreativas, 28 estudiantes (10%) realizan 10 horas de actividades recreativas, 2.2% (6 estudiantes) realizan 12 horas de actividades recreativas, 1 estudiante (0.4%) realiza 13 horas de actividades deportivas, 0.7% (2 estudiantes) realizan 14 horas de actividades recreativas, 8 estudiantes (2.9%) realizan 15 horas de actividades recreativas, 0.4% (1 estudiante) realiza 16 horas de actividades recreativas, 1 estudiante (0.4%) realiza 17 horas de actividades recreativas, 1.4% (4 estudiantes) realizan 18 horas de actividades recreativas, 3 estudiantes (1.1%) realizan 20 horas de actividades recreativas, 0.4% (1 estudiante) realiza 21 horas de actividades recreativas, 1 estudiante (0.4%) realiza 24 horas de actividades recreativas, 2 estudiantes (0.7) realizan 30 horas de actividades recreativas, 0.4% (1 estudiante) realiza 32 horas de actividades recreativas y el 0.4% (1 estudiante) restante realiza 40 horas de actividades recreativas a la semana de acuerdo a un total de 272 estudiantes encuestados y 7 datos perdidos del sistema.



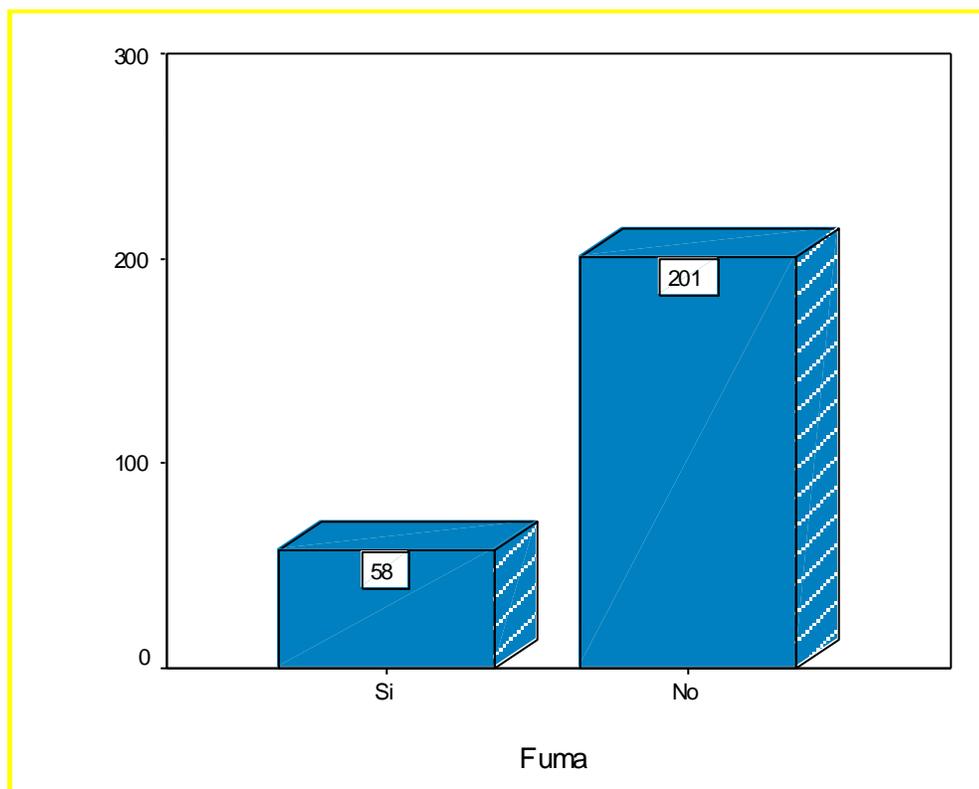
Gráfica 8. Frecuencia del Tiempo en horas que le dedica a las actividades recreativas.

Como se muestra en la gráfica 9 con respecto al tiempo en horas que le dedica a las actividades deportivas, el 36.6% (102 estudiantes) no realizan actividades deportivas, 6 alumnos (2.2%) realiza 0.5 horas de actividad deportiva, 10.4% (29 estudiantes) tienen 1 hora de actividad deportiva, 47 estudiantes (16.8%) tienen 2 horas de actividades deportivas, 0.4% (1 estudiante) tiene 2.5 horas de actividades deportivas, 15 estudiantes (5.4%) realizan 3 horas de actividades deportivas, 9.3% (26 estudiantes) realizan 4 horas de actividades deportivas, 12 estudiantes (4.3%) realizan 5 horas de actividades deportivas, 0.4% (1 estudiante) realiza 5.5 horas de actividades deportivas, 7 estudiantes (2.5%) realizan 6 horas de actividades deportivas, 0.7% (2 estudiantes) realizan 7 horas de actividades deportivas, 11 estudiantes (3.9%) realizan 8 horas de actividades deportivas, 3.9% (10 estudiantes) realizan 10 horas de actividades deportivas, 1 estudiante (0.4%) realiza 15 horas de actividades deportivas, 0.4% (1 estudiante) realiza 20 horas de actividades deportivas a la semana de acuerdo a un total de 272 estudiantes encuestados y 7 datos perdidos del sistema.



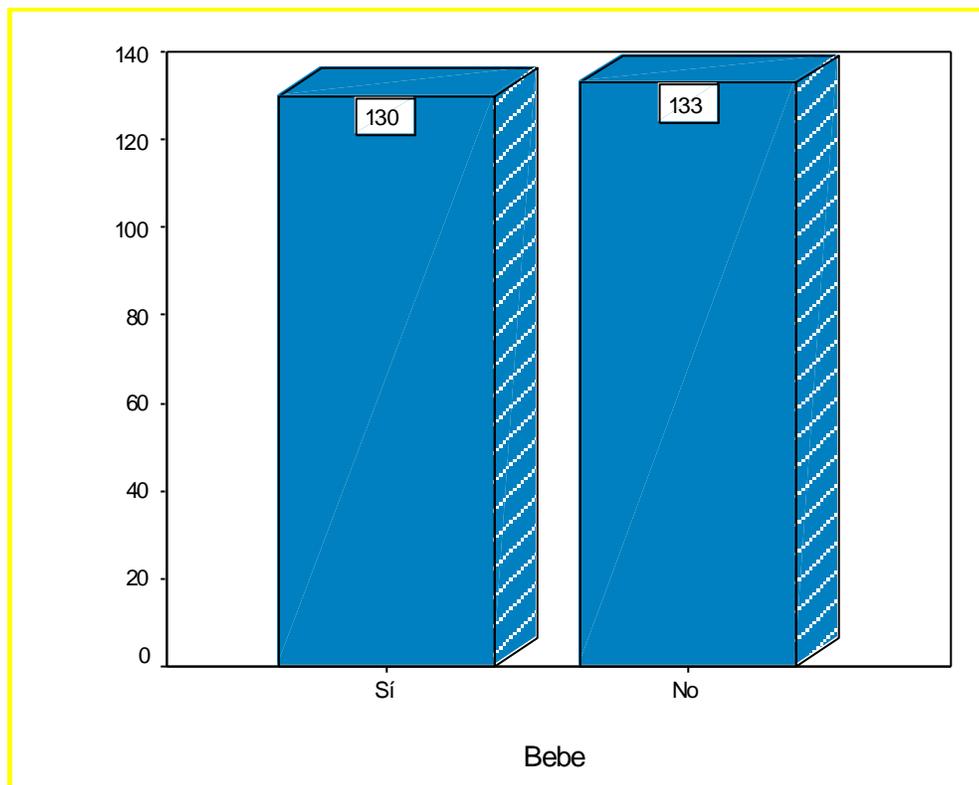
Gráfica 9. Frecuencia del tiempo en horas que le dedica a las actividades deportivas.

De los 259 estudiantes encuestados con respecto a si fuman, el 72% (201 estudiantes) refieren que no fuman y el 20.8% (58 estudiantes) sí fuman, como se muestra en la gráfica 9, con 20 datos perdidos del sistema.



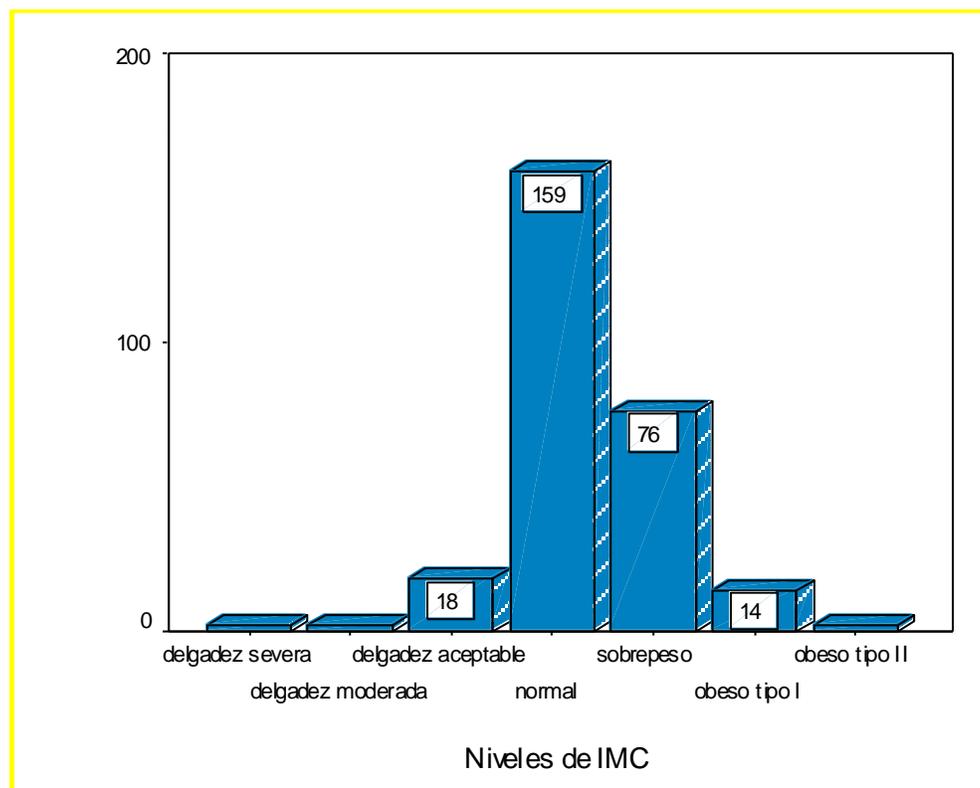
Gráfica 10. Frecuencia con respecto a si fuman.

De los 263 estudiantes encuestados con respecto a si beben, el 47.7% (133 estudiantes) refieren que no beben y el 47.7% (133 estudiantes) sí beben, como se muestra en la gráfica 10, con 16 datos perdidos del sistema.



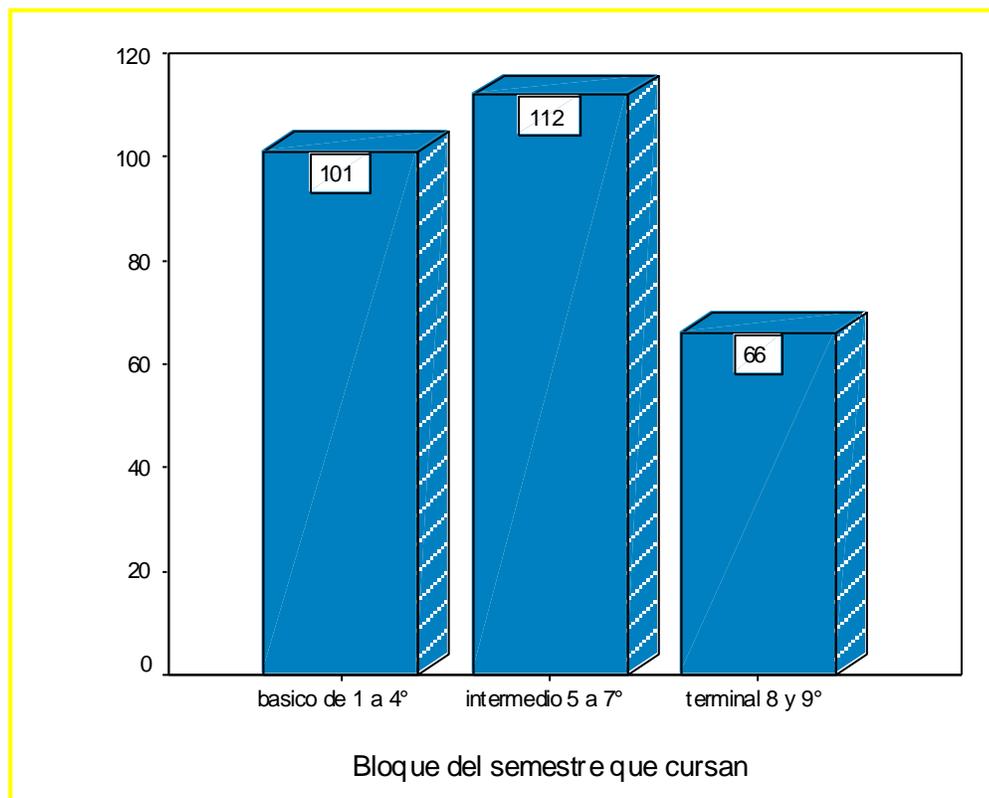
Gráfica 10. Frecuencia con respecto a si beben.

De los 273 estudiantes encuestados con 6 datos perdidos del sistema con respecto a los niveles de Índice de Masa Corporal (IMC), el 0.7% (2 estudiantes) presentan delgadez severa, 2 estudiantes (0.7%) tienen delgadez moderada, el 6.5% (18 estudiantes) muestran delgadez aceptable, 159 estudiantes (57%) exhiben un nivel de IMC normal, el 27.2% (76 estudiantes) tienen sobrepeso, 14 estudiantes (5%) presentan obesidad tipo I, 0.7% (2 estudiantes) poseen obesidad tipo II, como se muestra en la gráfica 11.



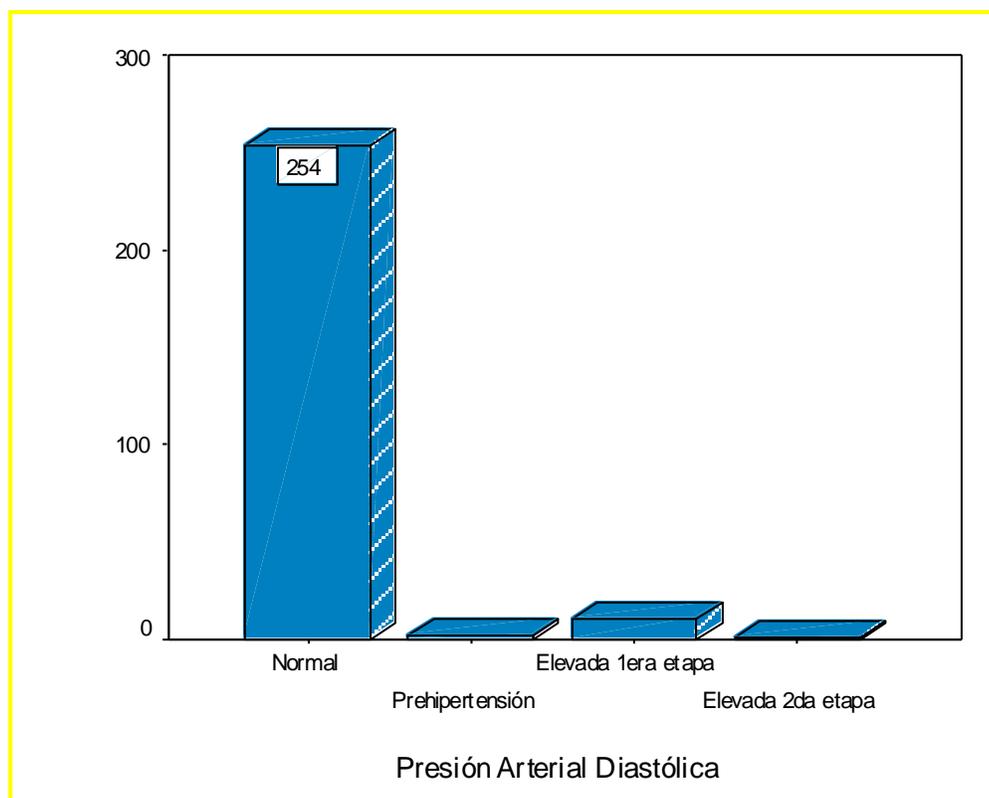
Gráfica 11. Frecuencia de los niveles de IMC.

Como se muestra en la gráfica 12 con respecto al bloque del semestre que cursan, el 36.2% (101 estudiantes) cursan el bloque básico de 1 a 4°, 112 estudiantes (40.1%) cursan el bloque intermedio 5 a 7°, 23.7% (66 estudiantes) cursan el bloque terminal de 8 y 9°.



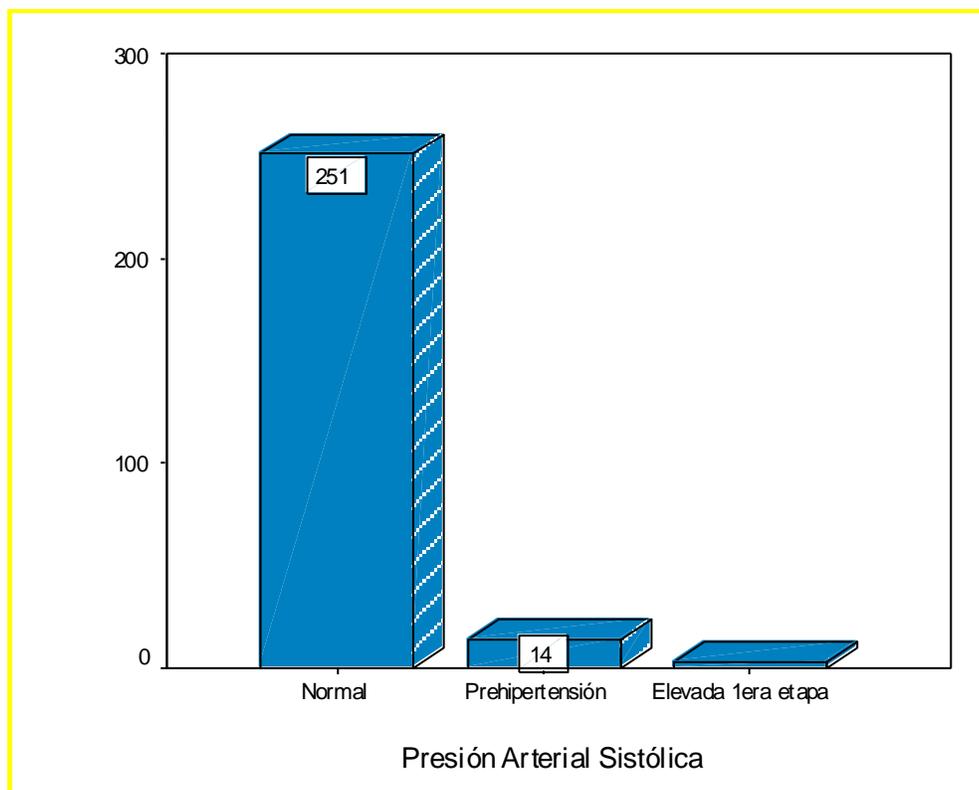
Gráfica 12. Frecuencia del bloque del semestre que cursan

De 279 estudiantes con 11 datos del sistema perdidos y 268 estudiantes encuestados con respecto a la presión menor o diastólica que presentaron, el 91% (254 estudiantes) tienen la presión diastólica normal, 2 estudiantes (0.7%) muestran prehipertensión, el 3.9% (11 estudiantes) poseen la presión diastólica elevada en primer etapa y 1 estudiante (0.4%) tiene la presión diastólica elevada en segunda etapa como se muestra en la gráfica 12.



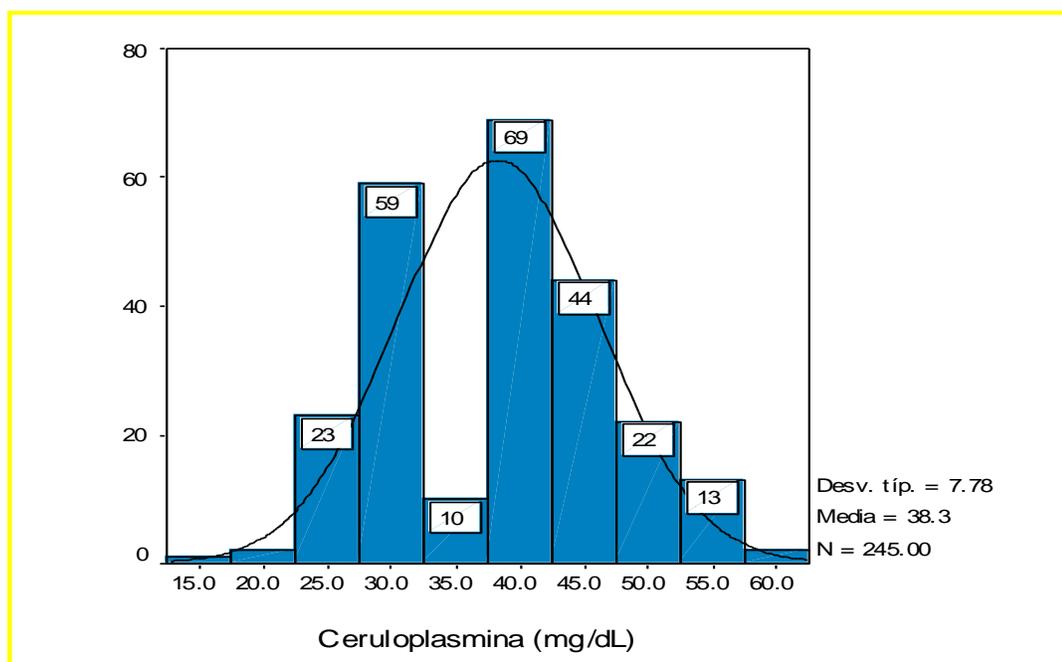
Gráfica 13. Frecuencia de la Presión Arterial Diastólica

De 279 estudiantes con 11 datos del sistema perdidos y 268 estudiantes encuestados con respecto a la presión mayor o sistólica que presentaron, el 90% (251 estudiantes) tienen la presión diastólica normal, 14 estudiantes (5%) presentan prehipertensión, el 1.1% (3 estudiantes) muestran la presión sistólica elevada en primer etapa como se muestra en la gráfica 14.



Gráfica 14. Frecuencia de la Presión Arterial Sistólica

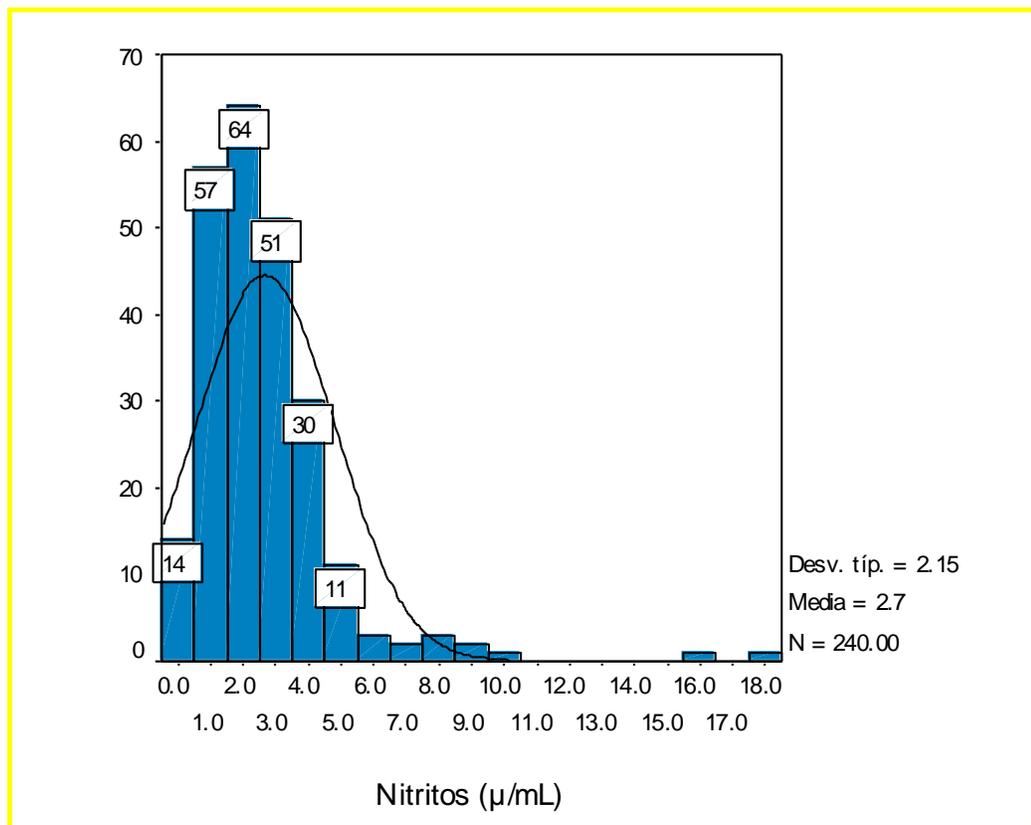
De un total de 245 muestras de estudiantes con 34 datos perdidos del sistema con respecto a los niveles de ceruloplasmina (CP), 5 estudiantes presentan niveles de CP entre 16.20 a 24.30 mg/dL, 23 estudiantes tienen niveles de CP de entre 24.30 a 27 mg/dL, 59 estudiantes muestran niveles de CP entre 27 a 32.40 mg/dL, 10 estudiantes poseen niveles de CP entre 35.10 a 37.80 mg/dL, 69 estudiantes exhiben niveles de CP entre 40.50 a 43.20 mg/dL, 44 estudiantes se les ha encontrado niveles de CP entre 45.90 a 48.60 mg/dL, 22 estudiantes se observan con niveles de CP entre 51.30 a 54 mg/dL, los 13 estudiantes restantes presentan niveles de CP entre 54 a 59.40 mg/dL, como se muestra en la gráfica 15.



Gráfica 15. Frecuencia de los niveles de Ceruloplasmina (mg/dL).

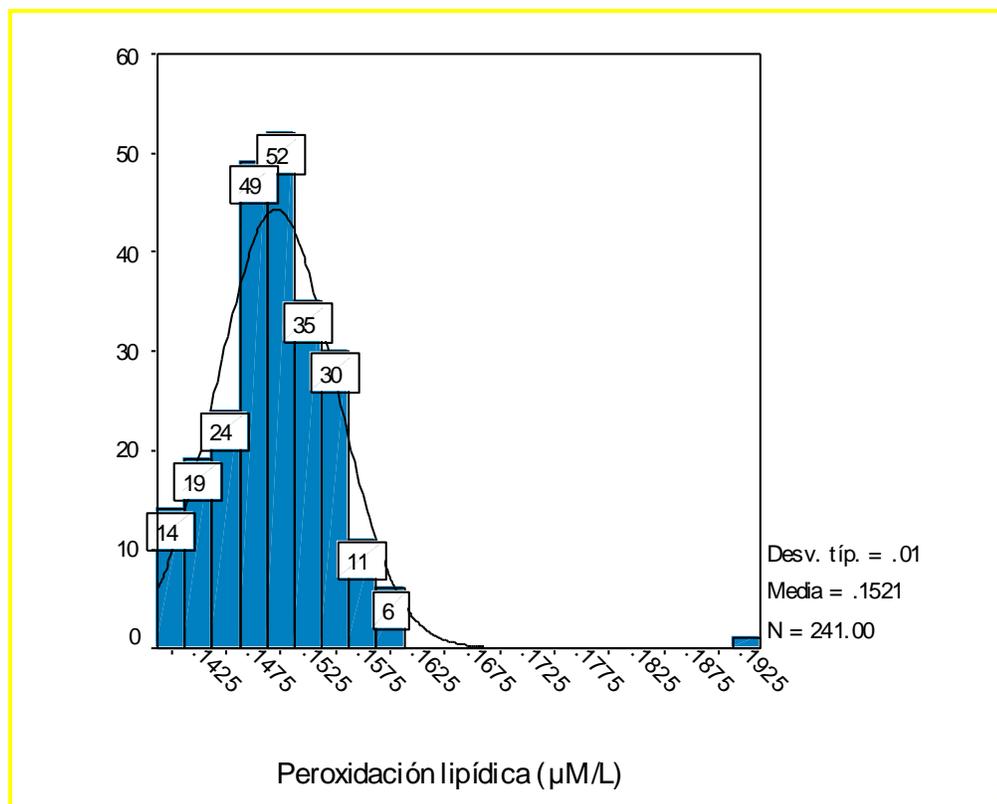
De un total de 240 muestras de estudiantes con 39 datos perdidos del sistema con respecto a los niveles de nitritos que presentan, 14 estudiantes presentan niveles de nitritos entre 0.066 a 0.990 $\mu\text{M}/\text{mL}$, 57 estudiantes tienen niveles de nitritos

entre 1.056 a 1.980 $\mu\text{M}/\text{mL}$, 64 estudiantes poseen niveles de nitritos entre 2.011 a 2.970 $\mu\text{M}/\text{mL}$, 51 estudiantes muestran niveles de nitritos entre 3.016 a 3.913 $\mu\text{M}/\text{mL}$, 30 estudiantes exhiben niveles de nitritos entre 4.026 a 4.950 $\mu\text{M}/\text{mL}$, 11 estudiantes ostentan niveles de nitritos entre 5.016 a 5.676 $\mu\text{M}/\text{mL}$, los 13 estudiantes restantes presentan niveles de nitritos entre 6.006 a 17.887 $\mu\text{M}/\text{mL}$ como se muestra en la gráfica 16.



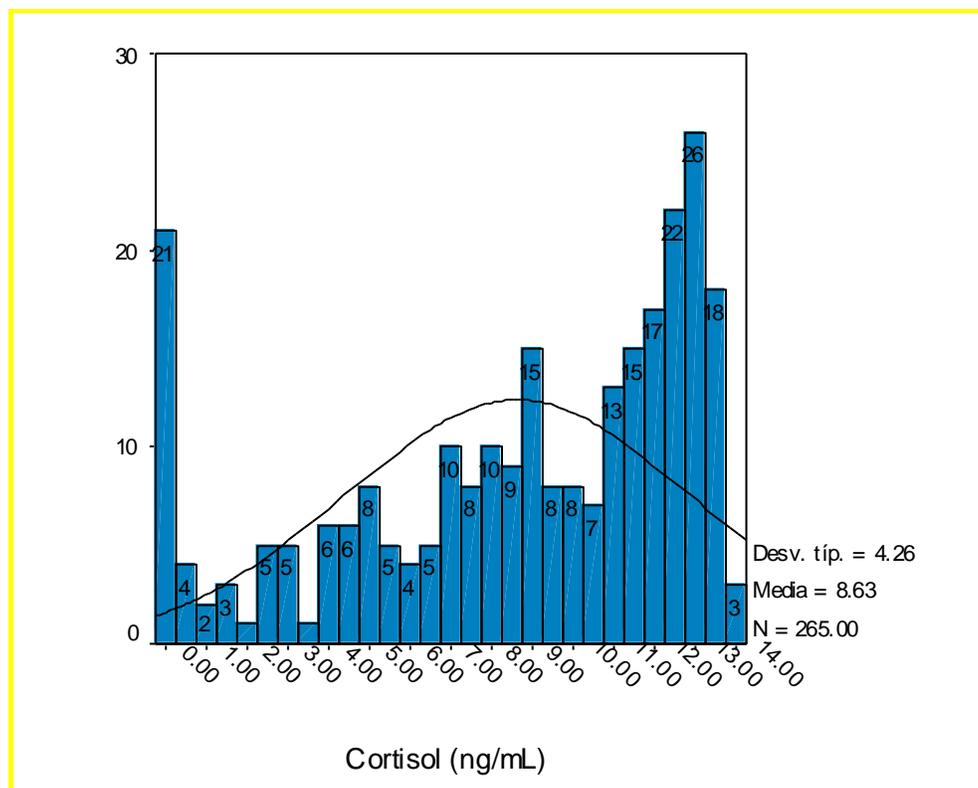
Gráfica 16. Frecuencia de los niveles de Nitritos ($\mu\text{M}/\text{mL}$)

De un total de 241 muestras de estudiantes con 38 datos perdidos del sistema con respecto a los niveles de peroxidación lipídica (PL) que presentan; 33 estudiantes tienen niveles de PL entre 0.1419 a 0.1473 $\mu\text{M/L}$, 73 estudiantes muestran niveles de PL entre 0.1475 a 0.1523 $\mu\text{M/L}$, 87 estudiantes poseen niveles de PL entre 0.1525 a 0.1574 $\mu\text{M/L}$, 41 estudiantes exhiben niveles de PL entre 0.1575 a 0.1601 $\mu\text{M/L}$, 6 estudiantes se les observa con niveles de PL entre 0.1601 a 0.1618 $\mu\text{M/L}$, 1 estudiante presenta niveles de PL de 0.1949 $\mu\text{M/L}$, como se muestra en la gráfica 17.



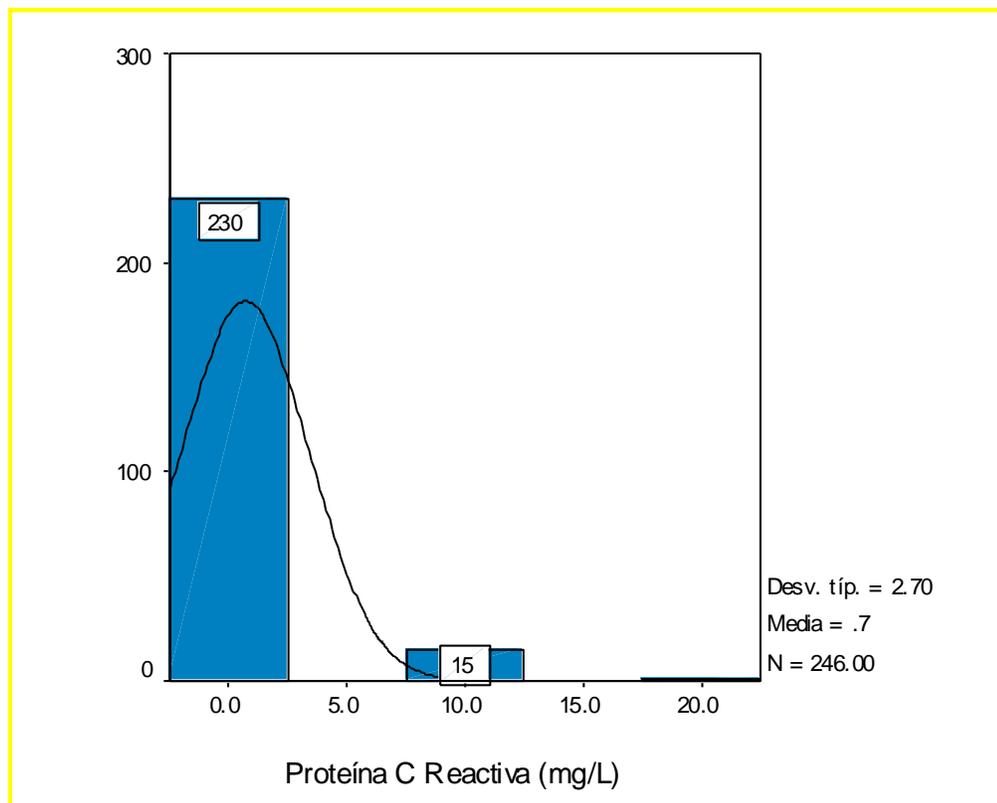
Gráfica 17. Frecuencia de los niveles de Peroxidación lipídica ($\mu\text{M/L}$).

De un total de 265 muestras de estudiantes con 14 datos perdidos del sistema con respecto a los niveles de cortisol que presentan, 25 estudiantes presentan niveles de cortisol entre 0 a 0.90 ng/mL, 5 estudiantes tienen niveles de cortisol entre 1.11 a 1.93 ng/mL, 6 estudiantes muestran niveles de cortisol entre 2.37 a 3.01 ng/mL, 6 estudiantes poseen niveles de cortisol entre 3.14 a 3.86 ng/mL, 12 estudiantes presentan niveles de cortisol entre 4.04 a 4.93 ng/mL, 13 estudiantes tienen niveles de cortisol entre 5.01 a 5.89 ng/mL, 9 estudiantes muestran niveles de cortisol entre 6.01 a 6.99 ng/mL, 18 estudiantes poseen niveles de cortisol entre 7.14 a 7.97 ng/mL, 19 estudiantes presentan niveles de cortisol entre 8.02 a 8.99 ng/mL, 23 estudiantes tienen niveles de cortisol entre 9.07 a 9.87 ng/mL, 15 estudiantes muestran niveles de cortisol entre 10.02 a 10.95 ng/mL, 28 estudiantes poseen niveles de cortisol entre 11.05 a 11.98 ng/mL, 39 estudiantes exhiben niveles de cortisol entre 12 a 12.98 ng/mL, 44 estudiantes presentan niveles de cortisol entre 13.03 a 13.95 ng/mL y los 3 estudiantes restantes poseen niveles de cortisol de 14 ng/mL, como se muestra en la gráfica 18.



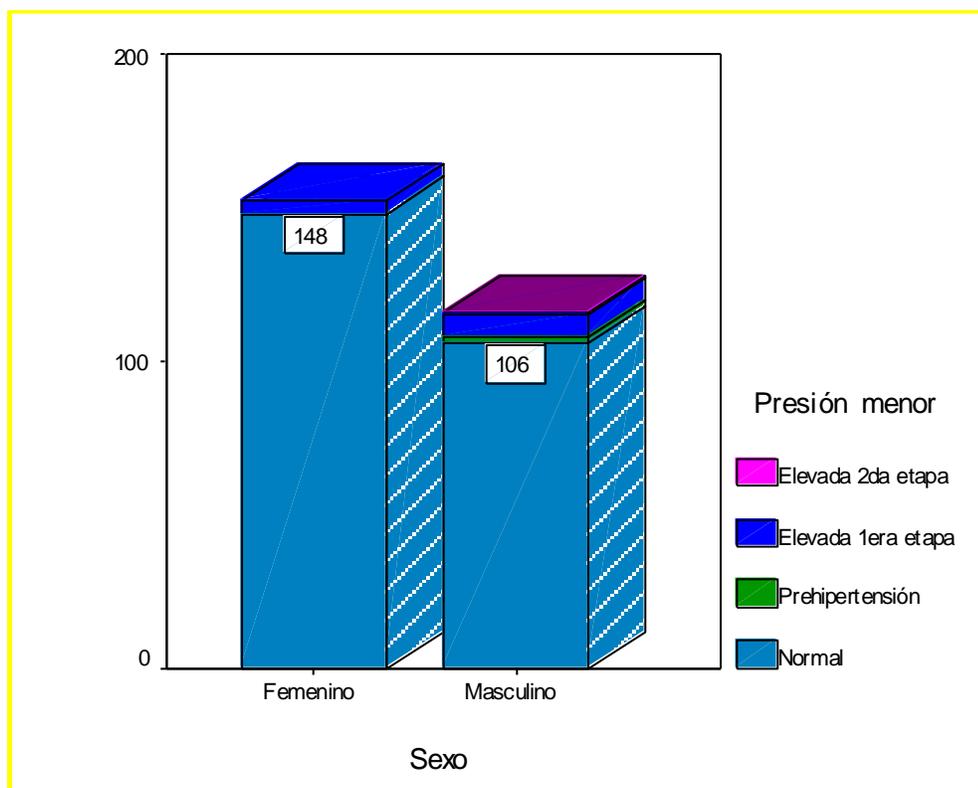
Gráfica 18. Frecuencia de los niveles de Cortisol (ng/mL).

De un total de 246 muestras de estudiantes con 33 datos perdidos del sistema con respecto a los niveles de Proteína C Reactiva (PCR), 230 estudiantes (82.4%) presentan niveles de PCR de cero mg/L, 5.4% (15 estudiantes) muestran niveles de PCR de 10 mg/L y 1 estudiante (0.4%) presenta un nivel de PCR de 20 mg/L, como se muestra en la gráfica 19.



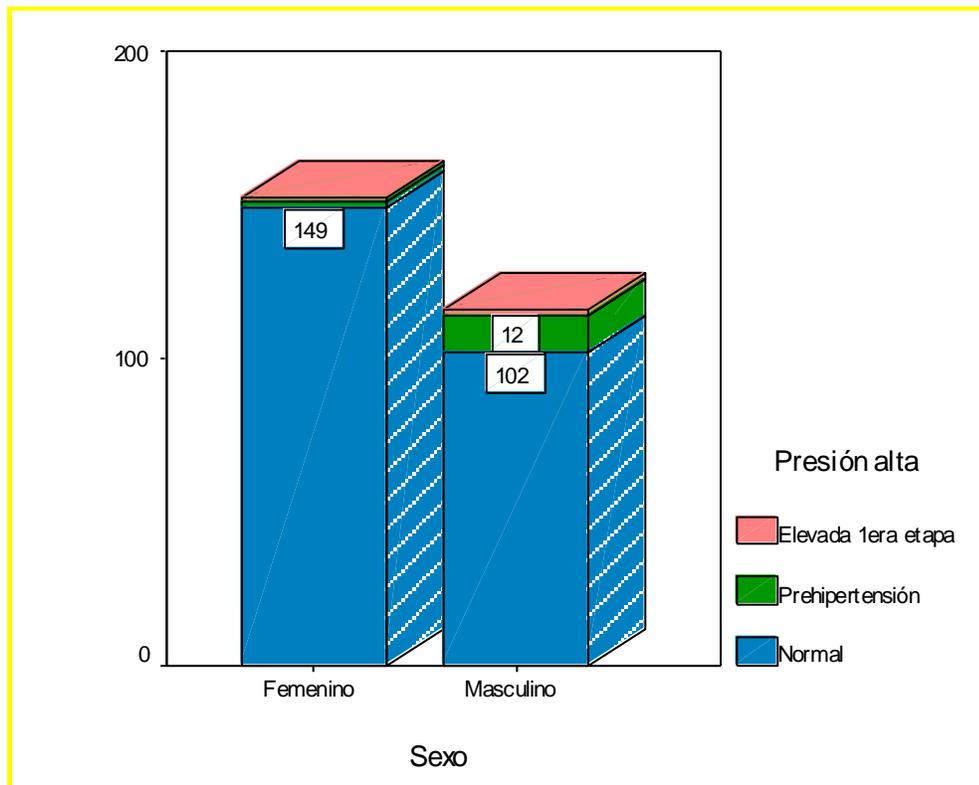
Gráfica 19. Frecuencia de los niveles de PCR (mg/L).

Se realizó una tabla de contingencia con respecto a los niveles de presión menor y su relación con el género de 268 estudiantes encuestados, mostrando que el 97.4% del sexo femenino tiene un nivel de presión normal y el 2.6% de este mismo género con niveles de presión elevada en primera etapa; el género masculino mostró que el 91.4% tiene niveles normales de presión menor, 1.7% de prehipertensión y el 6% restante con presión menor elevada en primera etapa, se realizó la prueba de Chi cuadrado teniendo un valor de significancia de 0.110 con lo que nos indica que hay independendencia entre el género y la presión menor, esto como se observa en la gráfica 20.



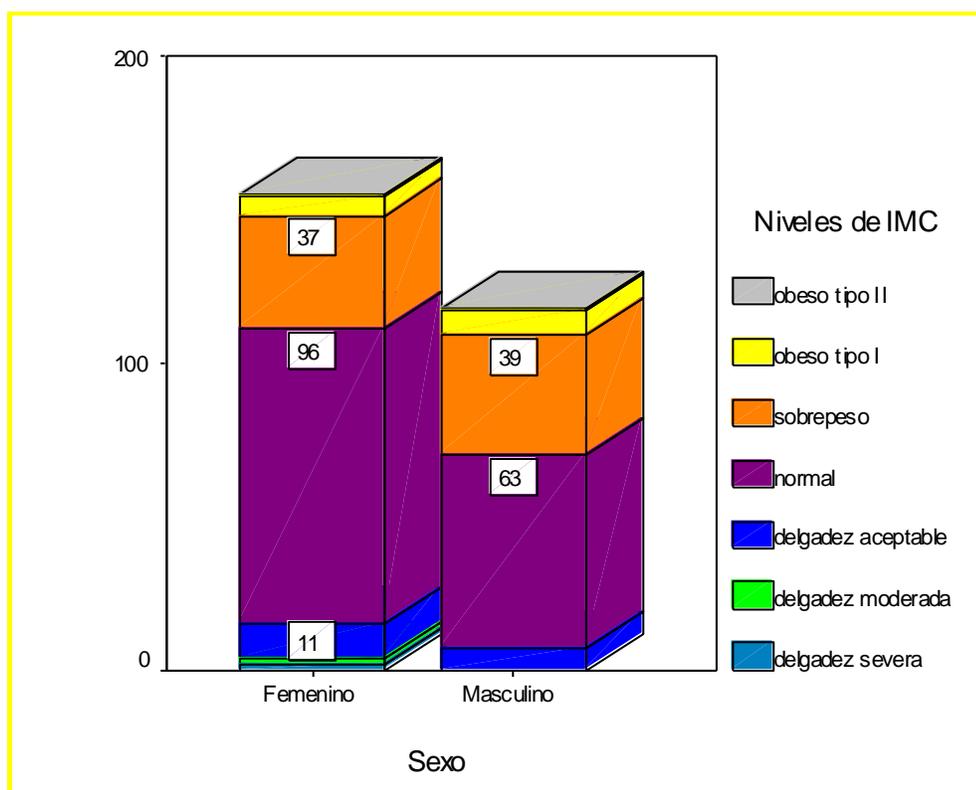
Gráfica 20. Tabla de contingencia de Presión menor con respecto al género.

Se realizó una tabla de contingencia con respecto a los niveles de presión alta y su relación con el género de 268 estudiantes encuestados, mostrando que el 98% del sexo femenino tiene un nivel de presión normal, 1.3% con prehipertensión y el 0.7% de este mismo género con niveles de presión elevada en primera etapa; el género masculino mostró que el 87.9% tiene niveles normales de presión alta, 10.3% de prehipertensión y el 1.7% restante con presión elevada en primera etapa, se realizó la prueba de Chi cuadrado teniendo un valor de significancia de 0.003 con lo que nos indica que hay asociación entre el género y la presión alta, esto como se observa en la gráfica 21.



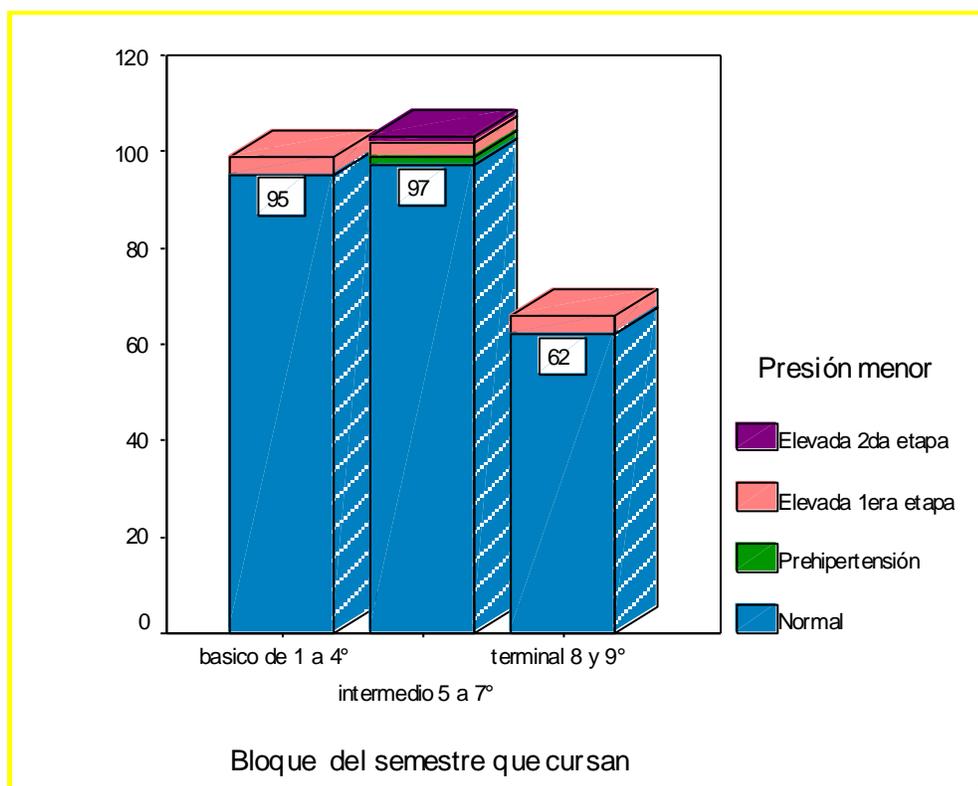
Gráfica 21. Tabla de contingencia de Presión alta con respecto al género.

Se realizó una tabla de contingencia con respecto a los niveles de Índice de Masa Corporal (IMC) y su relación con el género de 273 estudiantes encuestados, mostrando que el 1.3% del sexo femenino tiene un nivel de delgadez severa, 1.3% con delgadez moderada, 7.1% con delgadez aceptable, 61.9% con IMC normal, 23.9% con sobrepeso, 3.9% con obesidad tipo I y el 0.6% restante presenta obesidad tipo II; el género masculino mostró que el 5.9% tiene delgadez aceptable, 53.4% poseen niveles normales de IMC, 33.1% poseen sobrepeso, 6.8% presenta obesidad tipo I y el 0.8% con obesidad tipo II, como se observa en la gráfica 22.



Gráfica 22. Tabla de contingencia de los niveles de IMC con respecto al género.

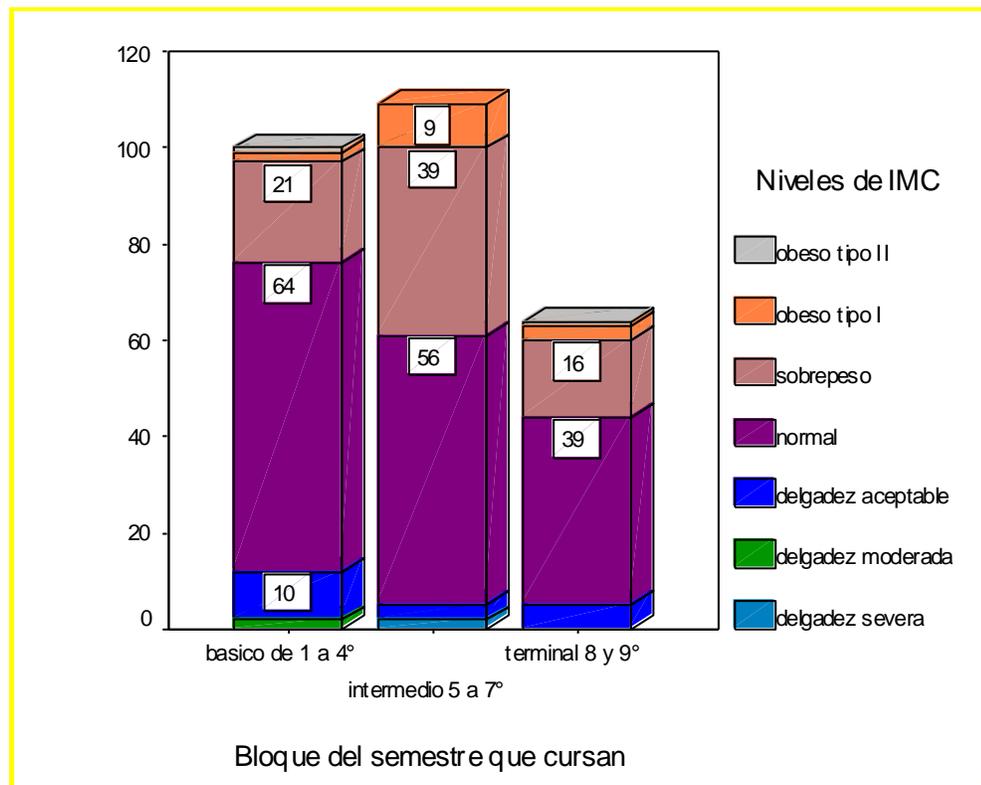
Se realizó una tabla de contingencia con respecto a los niveles de presión menor y su relación al bloque del semestre que cursan los estudiantes encuestados, mostrando que el 96% de los estudiantes del bloque básico de 1 a 4º semestre tiene presión menor normal y el 4% de ellos presenta presión menor elevada en primera etapa; el 97.6% de los estudiantes del bloque intermedio de 5 a 7º semestre presenta 94.2% de presión menor normal, 1.9% con prehipertensión, 2.9% con presión menor elevada en primera etapa y el 1% restante con presión menor elevada en segunda etapa; en el bloque terminal de 8 y 9º semestre se tiene que el 93.9% de los estudiantes muestran niveles normales de presión menor y el 6.1% de ellos presenta presión menor elevada en primera etapa, se realizó la prueba de Chi cuadrada dando un valor de significancia de 0.446 indicando que hay independencia con respecto al bloque del semestre que cursan y la presión menor de los estudiantes, como se observa en la gráfica 23.



Gráfica 23. Tabla de contingencia del bloque del semestre que cursan y la presión menor.

Se realizó una tabla de contingencia con respecto a los niveles de IMC y su relación al bloque del semestre que cursan los estudiantes encuestados,

mostrando que el 2% de los estudiantes del bloque básico de 1 a 4º semestre presenta delgadez moderada, 10% con delgadez aceptable, 64% con niveles normales de IMC, 21% con sobrepeso, 2% tiene obesidad tipo I y el 1% restante muestra obesidad tipo II; el 1.8% de los estudiantes del bloque intermedio de 5 a 7º semestre presenta delgadez severa, 2.8% posee delgadez aceptable, 51.4% tiene niveles de IMC normales, 35.8% muestra sobrepeso y el 8.3% restante exhibe obesidad tipo I; en el bloque terminal de 8 y 9º semestre se tiene que el 7.8% de los estudiantes presenta delgadez aceptable, 60.9% tiene niveles normales de IMC, 25% con sobrepeso, 4.7% tiene obesidad tipo I y el 1.6% restante presenta obesidad tipo II, se realizó la prueba de Chi cuadrada dando un valor de significancia de 0.035 indicando que hay asociación con respecto al bloque del semestre que cursan y el IMC de los estudiantes, como se observa en la gráfica 24.



Gráfica 24. Tabla de contingencia del bloque del semestre que cursan con respecto a los niveles de IMC.

Prueba T

Se realizó una prueba T de student de muestras independiente mostrando que no se han encontrado diferencias estadísticamente significativas entre las muestras en lo referente a su media por lo tanto NO se rechaza la hipótesis nula y se concluye que no hay evidencia que los niveles de los factores inmunológicos en los estudiantes estén relacionados con el síndrome de burnout.

Ho: $X_1 = X_2$ sig. ≥ 0.05

ANOVA

Se realizó una prueba de ANOVA mostrando que en los niveles de cortisol, peroxidación lipídica y proteína C reactiva es menor el valor de significancia por lo que sí existe diferencia entre las medias de los valores obtenidos en las determinaciones rechazándose la hipótesis nula.

Ha: $X_1 \neq X_2$ sig. ≤ 0.05

Pruebas post hoc

Al realizar esta prueba se muestra que hay diferencias significativas con respecto al bloque del semestre que cursan los estudiantes y los niveles de peroxidación lipídica ya que los niveles elevados se encuentran en el ciclo terminal de 8 y 9° semestre; asimismo al comparar los niveles de cortisol y de proteína C reactiva se encuentra niveles elevados en el ciclo intermedio de 5 a 7° semestre.

12. ANÁLISIS DE RESULTADOS

La población de estudio estuvo conformada por 279 estudiantes del bloque básico, intermedio y terminal de la Carrera de QFB de la FES Zaragoza, cuyas edades oscilaban entre 20-27 años, con media de edad de 23 años ($S \pm 1,43$); el género tuvo una distribución casi simétrica: 43.4% de hombres vs. 56.6 % de mujeres, 77.1% son solteros y el 2.9% casados; de conformidad con la diferenciación de la población, edad promedio de los estudiantes es menor al rango que se considera factor de riesgo para SB: 35 a 45 años, igualmente la mayoría son solteros, el estudio efectuado en los estudiantes expresa que se han descrito factores de riesgo para desarrollar el SB, entre los cuales se encuentran personas jóvenes del sexo femenino, solteros o sin pareja estable, lo anterior, concuerda con este trabajo en relación con el sexo femenino, el ser soltero, no se encontró asociación estadística entre SB y el género, como tampoco entre alguna de las categorías y el sexo, a diferencia de la mayoría de los estudios que encuentran asociación entre Burnout y sexo femenino; ser soltero no presentó asociación estadística con Síndrome de Burnout; sin embargo, mostró la mayor prevalencia comparativamente con el otro grupo de estado civil. La no tendencia a la asociación entre el SB y las variables socio demográficas y académicas encontrada en este estudio, es similar a lo reportado por el estudio sobre la prevalencia del Burnout en lo profesional.

Variables relacionadas con los hábitos tóxicos

- Consumo de Alcohol

El consumo de alcohol declarado no reflejó respuestas significativas ya que muy pocos de los estudiantes reconoce consumirlo excesivamente, con todas las reservas que este aspecto de su conducta conlleva y por ende esta variable no influyó sobre el nivel de los factores inmunológicos analizados.

- Fuma

Clásicamente se ha asociado el consumo de cigarrillos con la ansiedad y el estrés, en esta revisión se analiza el estado actual de esta cuestión y su relación con los

estudiantes ya que se encuentra una clara y significativa asociación entre fumar y distintos trastornos de ansiedad, fumar incrementa el estrés, con respecto a lo que refirieron los alumnos tenemos que esta población que no son fumadores y el 20.8% si son fumadores, por ende aunque la mayoría de los datos denotan que no fuman los estudiantes se pueden ver alterados los valores de cortisol y de peroxidación como se describe posteriormente.

Discusión sobre los parámetros inmunológicos obtenidos

Ceruloplasmina (Cp)

La evaluación de Cp puede realizarse indistintamente en suero o plasma, ya que no existen diferencias significativas usando uno y otro, de acuerdo a los resultados obtenidos se encontró que dicho analito está en niveles fuera de los valores de referencia (17-37 mg/dL) lo cual nos muestra que la Cp tiene una actividad antioxidante y es catalogada como anti-inflamatorio de fase aguda teniendo así un papel activo en la regulación de la homeostasis del cobre y del hierro; la concentración en plasma puede ser de dos a tres veces mayor durante procesos inflamatorios, el embarazo y otros estados patológicos.

Proteína C reactiva

La Proteína C reactiva (PCR) es una proteína plasmática con estructura pentamérica (compuesta por 5 subunidades de 23KDa) sintetizada principalmente por los hepatocitos (aunque también por los adipocitos) en respuesta a procesos infecciosos, inflamatorios y de daño tisular; además de ser un indicador de inflamación, esta proteína se encuentra involucrada en diversas funciones inmunomoduladores, participa en la opsonización de bacterias ya que se liga a la fosforilcolina de los microorganismos, se ha demostrado que los niveles de PCR se incrementan en los episodios coronarios agudos y como muchas proteínas de fase aguda, se encuentra normalmente en niveles séricos menores de 10 mg/L; la PCR fue encontrada en este estudio en concentraciones normales en la mayoría de los estudiantes por lo que se considera un marcador confiable para la determinación de inflamación de fase aguda.

Nitritos

El óxido nítrico (NO) es una molécula endógena de señalización intercelular y que se forma a partir del aminoácido L-arginina a través de la enzima ON-sintasa (ONS), dicha síntesis puede ser estimulada por las citoquinas inflamatorias y las endotoxinas, que conllevan una acción citostática y bactericida; la relación entre las cifras de nitritos (NO₂) /nitratos (NO₃⁻) y los niveles de óxido nítrico en sangre ha quedado patente en diferentes estudios, dichos sustratos serían metabolitos estables del NO susceptibles de ser detectados en la sangre y se elevarían en los casos de sepsis o inflamación al igual que sucede con el óxido nítrico; el NO es considerado un potente vasodilatador destacando entre sus funciones principales la regulación del tono vascular, interviene de esta manera en el mantenimiento de la Presión Arterial (PA) normal. En el presente estudio se detectó un aumento en los valores de NO plasmático con la presión arterial sistólica, teniendo como una influencia desfavorable sobre la función endotelial.

Peroxidación lipídica

La incorporación de una molécula de oxígeno a nivel de los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) va a originar el inicio de un proceso en cadena, conocido como peroxidación lipídica, en el cual se forman los hidroperóxidos lipídeos los cuales son moléculas estables a temperaturas fisiológicas pero en presencia de metales catalizan su descomposición; el Malondialdehído (MDA) es una molécula volátil, de bajo peso molecular (C₃H₄O₂), de cadena corta, 1,3 dicarbonílica, se forma como uno de los productos finales por la vía de descomposición, tanto primaria como secundaria, en la peroxidación lipídica su determinación se considera como un índice inespecífico de peroxidación lipídica, esto es debido a que no todos los lípidos que han sufrido un proceso de peroxidación generan MDA ya que este analito no es el único (aldehído) producto final que se produce en la descomposición de los peróxidos, como tampoco es una sustancia generada exclusivamente en la peroxidación lipídica. Con respecto a los resultados obtenidos en esta prueba se tiene que hay niveles normales de peroxidación

lipídica (0.20-6.5 μ M/L) por lo que nos indica que los estudiantes no están expuestos a estrés oxidativo.

Cortisol

El cortisol es un aliado incondicional del cerebro, su objetivo principal es proveer de glucosa al cerebro para lo cual destruirá todo el tejido, proteínas musculares y utilizará ácidos grasos asimismo cerrará la entrada de glucosa a los otros tejidos, es decir que regula los 3 combustibles en pos de este objetivo; los niveles corporales de cortisol en la sangre muestran lo que se denomina una variación diurna, lo cual significa que las concentraciones normales de cortisol varían a lo largo de las 24 horas de día, siendo más elevados en la mañana temprano, cerca de las 6-8 hs, y más bajos cerca de la medianoche, el cortisol es liberado a la circulación sanguínea con el fin de ejercer sus efectos en el tejido periférico donde se une a la globulina específica unidora de glucocorticoides α_2 , llamada transcortina; cerca del 75% del cortisol se une a esta proteína, 15 al 20% se une menos fuertemente a la albúmina y el 5% restante es cortisol libre, este es un factor importante a tener en cuenta, a la hora de realizar mediciones de cortisol. Los niveles de cortisol encontrados en esta investigación revelan que se encuentran elevados con respecto a los valores de referencia (1.2-14.7 ng/mL), lo que nos indica que cuando el cortisol está elevado envía grasa que se almacena en el abdomen lo cual tiene relación directa con los niveles de IMC que presentan los estudiantes ya que se presenta sobrepeso, obesidad tipo I y obesidad tipo II.

13. CONCLUSIONES

Como se desprende de los resultados existe una elevada relación con los factores inmunológicos en este sector estudiantil ya que de acuerdo a la bibliografía consultada se establece que el síndrome de burnout puede afectar a personas de cualquier edad, aunque existe un predominio en edades donde se alcanza la madurez de este síndrome; sin embargo debemos considerar que es la primera vez que se realiza una investigación experimental del burnout con estudiantes de nivel licenciatura y de acuerdo con el objetivo general se logro determinar algunos factores inmunológicos que se alteran con el síndrome de quemarse en el estudio en los alumnos de la Carrera de QFB de la FES Zaragoza; asimismo, el primer objetivo específico que nos pide estandarizar las técnicas inmunológicas de Cortisol, Ceruloplasmina, Proteína C reactiva, Peroxidación lipídica y nitritos se logro con éxito; para el segundo y tercer objetivos específicos, que nos pide relacionar los valores inmunológicos de las muestras biológicas con respecto a presión arterial, índice de masa corporal y hábitos tóxicos de los alumnos encuestados, se encontró ciertas alteraciones en algunos de estos factores inmunológicos debido a que los alumnos realizan muy poca o nula actividad deportiva con lo cual podrían reducir sus niveles de cortisol, además de que hay presencia tanto de sobrepeso como de obesidad en sus dos tipos; prehipertensión, así como la adicción a drogas lisitas como el alcohol y el tabaco son factores biológicos que están relacionadas con el síndrome de Burnout.

14. REFERENCIAS

1. Ríos de Molina MC. El estrés oxidativo y el destino celular. Química Viva [seriada en línea]. 2003 [citado 2011 Jun 20]; 2(1). Disponible en: www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar/Actualizaciones/estres%20oxidativo.html
2. Chen Q, Vazquez EJ, Moghaddas S, Hoppel CL, Lesnefsky EJ. Production of reactive oxygen species by mitochondria. J. Biol. Chem. 2003; 278(38):36027-36031.
3. Avello M, Suwalsky M. Radicales libres, estrés oxidativo y defensa antioxidante celular [sitio en internet]. Sin fecha de publicación [citado 2011 Julio 13]. Disponible en: www.ciencia-ahora.cl/Revista17/03RadicalesLibres.pdf
4. Keller S, Schleifer J, Bartlett J.A., et al. Stress, Depression, Immunity, and Health. In: Goodking K. Psychoneuroimmunology; Stress, Mental Disorders, and Health. Inc. Washington D.C.: American Psychiatric Press; 2000.
5. Clapés S, Torres O, Companioni M, Villariño U, Broche F, Céspedes EM. Peroxidación lipídica y otros indicadores de estrés oxidativo en pacientes diabéticos. Rev Cubana Invest Biomed. 2001; 20(2):93-98. Disponible en http://bvs.sld.cu/revistas/ibi/vol20_2_01/ibi022001.pdf
6. Bermúdez Pirela VJ, Bracho V, Bermúdez Arias FA, Medina Reyes MT, Núñez Pacheco M, Amell de Díaz A, Cano Ponce C. Comportamiento del malondialdehído y el óxido nítrico séricos en pacientes con infarto de miocardio. Rev Esp Cardiol 2000; 53: 502-506.

7. Jordán García I. Óxido nítrico espirado y nitritos y nitratos en sangre en el recién nacido con alto riesgo de infección perinatal [Tesis doctoral]. Barcelona: Universidad de Barcelona; 2006.
8. Zhang J. Nitric Oxide Synthase Assays. *Current Protocols in Pharmacology*. 2001; 2.4.1–2.4.12 Nitric oxide synthase assays. En: *Current Protocols in Pharmacology*. Boston: John Wiley & Sons, Inc. 1998; p 2.4.1-2.4.12
9. Buldanlioglu S, Turkmen S, Ayabakan HB, Yenice N, Vardar M, Dogan S, Mercan E, et al. Nitric oxide, lipid peroxidation and antioxidant defense system in patients with active or inactive Behçet's disease. *Br J Dermatol*. 2005; 153(3):526-530.
10. Green LC, Wagner DA, Glogowski J, Skipper L, Wishnok JS, Tannebaum SR. Analysis of nitrate, nitrite and [¹⁵N] nitrate in biological fluids. *Anal. Biochem*. 1982; 126:131-138.
11. Estepa V, Ródenas S, Martín MC. Optimización de un método para la determinación de la peroxidación lipídica en suero humano. *Anal. Real Acad. Farm*. 2001; 67(3):1-17.
12. Hernández Abad V, Marroquín Segura R. Técnicas para medir el proceso inflamatorio. En: Mendoza Núñez VM, Retana Ugalde R, editores. *Estrés oxidativo e inflamación: medición e interpretación diagnóstica*. México: Universidad Nacional Autónoma de México, 2009; p. 81-109.
13. García Barreno P. Inflamación. *Rev. R. Acad. Cienc. Exact. Fís. Nat*. 2008; 102(1):91-159
14. Roitt IM, Brostoff J, Male DK. *Inmunología*. 5a ed. Madrid: Harcourt Brace; 2000. p 5,383.

15. Parslow TG, Stites DP, Terr AI, Imboden JB. *Inmunología básica y clínica*. 10a ed. México: El Manual Moderno; 2002. p. 253.
16. Fox PL, Mazumder B, Ehrenwald E, Mukhopadhyay CK. Ceruloplasmin and cardiovascular disease. *Free. Radic. Biol. Med.* 2000; 28(12):1735-1744.
17. Yapur VM, Bustos MF, González AS, Negri GA. Ceruloplasmina: determinación de su actividad ferroxidasa. *Acta Bioch. Clín.Latinoam.* 2007; 41(3):347-351.
18. Selye H. *The physiology and pathology of exposure to stress; A treatise based on the concepts of general adaptation syndrome and the diseases of adaptation*. Montreal: Acta Inc.; 1950.
19. Glaser R, Kiecolt JK. Stress-induced immune dysfunction: implications for health. *Nature Rev Immunol* 2005; 5: 243-51.
20. Ader R, Cohen N. Psychoneuroimmunology: conditioning and stress. *Ann Rev Psychol* 1993; 44: 53-85.
21. Miller AH, et al. Glucocorticoid receptors are differentially expressed in the cells and tissues of the immune system. *Cell Immunology* 1998; 186: 45-54.
22. Jaffe HL. The influence of the suprarenal gland on the thymus: Stimulation of the growth of the thymus gland following double suprarenalectomy in young rats. *J Exper Med*; 40: 753-60.
23. Munck A, Guyre PM. Glucocorticoids and immune function In: Ader R, Felten DL, Cohen N. *Psychoneuroimmunology*. 2nd ed. New York: Academic Press; 1991, pp. 447-74.
24. Felten DL. Neural influence on immune responses: underlying suppositions and basic principles of neural immune signaling. *Prog Brain Res* 2000; 122: 381-9.

25. Felten SY, Felten DL. The innervation of lymphoid tissue In: Ader R, Felten DL, Cohen N. Psychoneuroimmunology. 2nd ed. San Diego: Academic Press; 1991, pp. 27-69.
26. Ackerman KD, Felten SY, Bellinger DL, Livnat S, Felten DL. Noradrenergic sympathetic innervations. *Ann Rev Pharmacologic Toxicology* 1995; 36: 41-48.
27. Felten SY, Olschowka JA. Noradrenergic sympathetic innervation of the spleen: II. Tyrosine hydroxylase (TH) - positive nerve terminals form synaptic-like contacts on lymphocytes in the splenic white pulp. *J Neurosci Res* 1987; 18: 37-48.
28. Maden KS, Sanders VM, Felten DL. Catecholamine influences and sympathetic neural modulation of immune responsiveness. *Ann Rev Pharmacologic Toxicology* 1995; 35: 417-48.
29. Sternberg E. The balance within. The science connecting health and emotions. Nueva York: WH Freeman and Company; 2001; p. 250.
30. Glaser R. Stress-associated immune dysregulation and its importance for human health: a personal history of psychoneuroimmunology. *Brain Behav Immun* 2005; 19: 3-11.
31. Hartgers FC, Figdor CG. Towards a molecular understanding of dendritic cell immunobiology. *Immunology Today* 2000; 21:542-545.
32. Guevara I, Iwanejko J, Dembi A, Pankiewicz J, Wanat A, Anna P, Bek IG, Bartu's S, Malczewska-Malec M, Szczudlik A. Determination of nitrite/nitrate biological material by the simple Griess reaction. *Clinical Chemical Act* 1998; 274:177-188.

15. ANEXOS

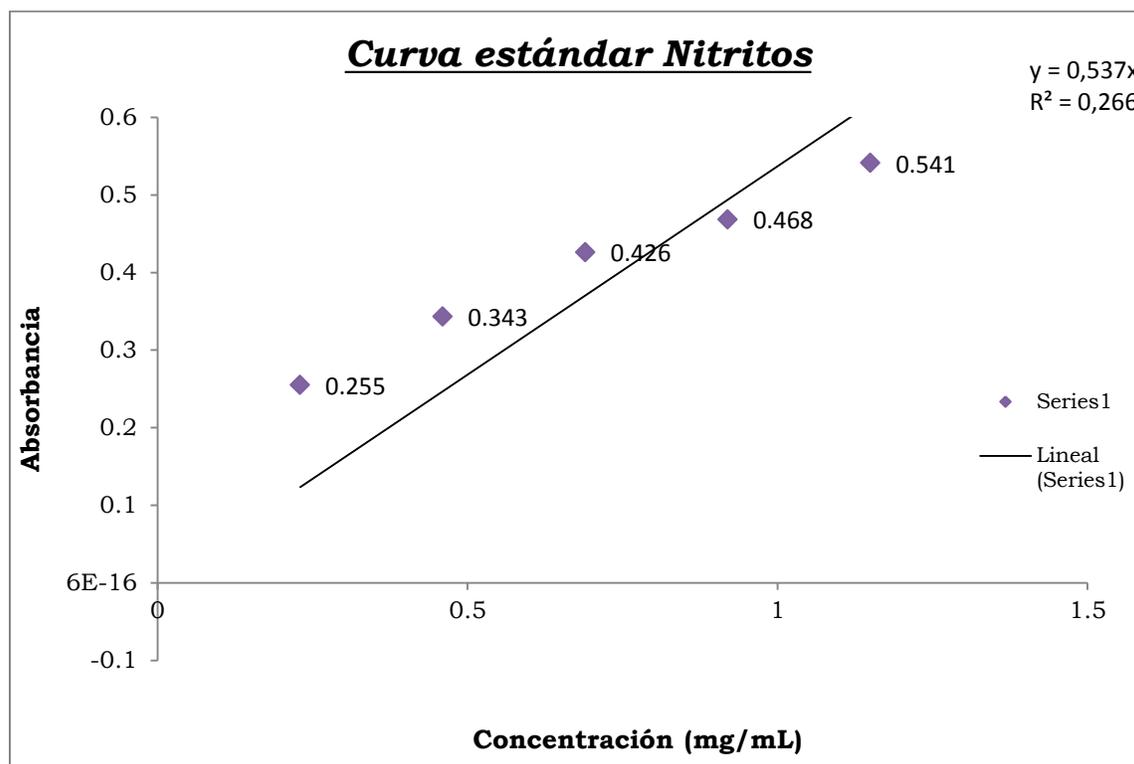
ANEXO I

GRÁFICAS DE CURVAS ESTÁNDAR Y CUESTIONARIO BURNOUT

Determinación de nitritos por el método de Griess

| Tubo | Estándar (µL) | Agua destilada (µL) | Absorbancia | Concentración (mg/mL) |
|------|---------------|---------------------|-------------|-----------------------|
| 1 | 0 | 900 | 0.23 | 0.255 |
| 2 | 100 | 800 | 0.46 | 0.343 |
| 3 | 200 | 700 | 0.69 | 0.426 |
| 4 | 300 | 600 | 0.92 | 0.468 |
| 5 | 400 | 500 | 1.15 | 0.541 |

Cuadro 2. Curva estándar para la determinación de nitritos. Concentración del estándar 23 mg/mL de Nitrito de sodio.

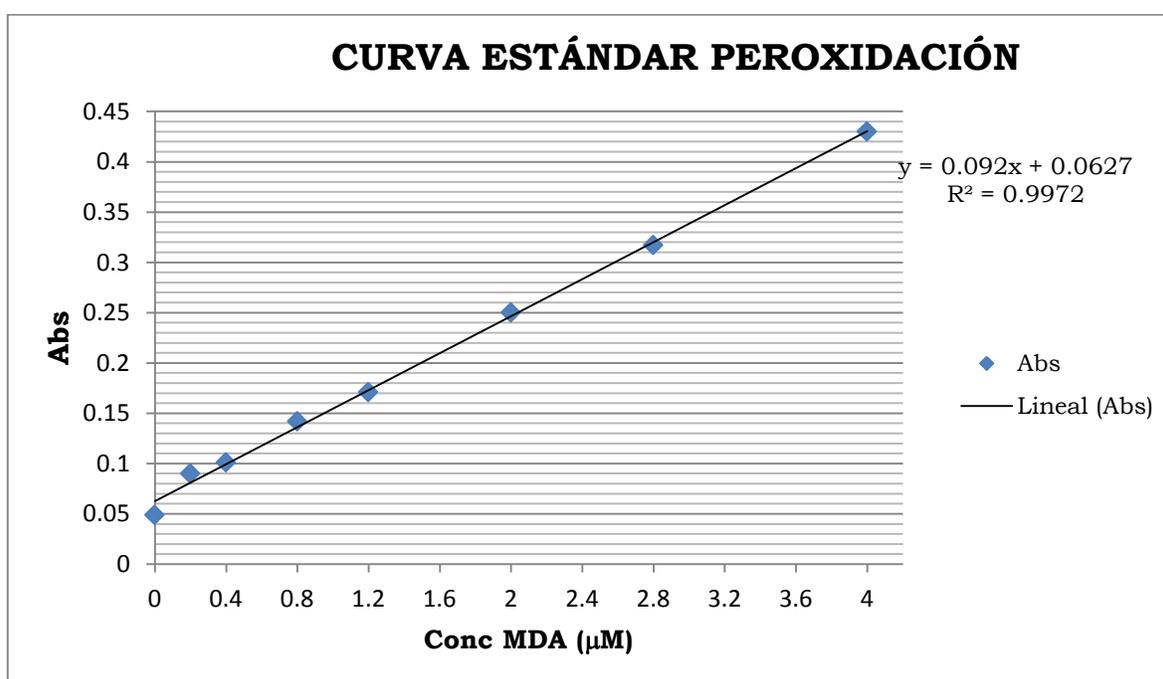


Gráfica 25. Curva estándar de nitritos.

Determinación de peroxidación Lipídica (MDA). Método de TBA (ácido tiobarbitúrico).

| tubo | TMP (μL) | H ₃ PO ₄ (μL) | TBA (μL) | Agua (μL) | MDA (μmol/L) | Abs. |
|------|----------|-------------------------------------|----------|-----------|--------------|-------|
| 1 | 0 | 600 | 200 | 195 | 0.2 | 0.09 |
| 2 | 5 | 600 | 200 | 190 | 0.4 | 0.101 |
| 3 | 10 | 600 | 200 | 180 | 0.8 | 0.142 |
| 4 | 20 | 600 | 200 | 170 | 1.2 | 0.171 |
| 5 | 30 | 600 | 200 | 150 | 2 | 0.25 |
| 6 | 70 | 600 | 200 | 130 | 2.8 | 0.317 |
| 7 | 100 | 600 | 200 | 100 | 4 | 0.43 |

Cuadro 3. Concentraciones para la curva estándar de MDA para peroxidación lipídica.

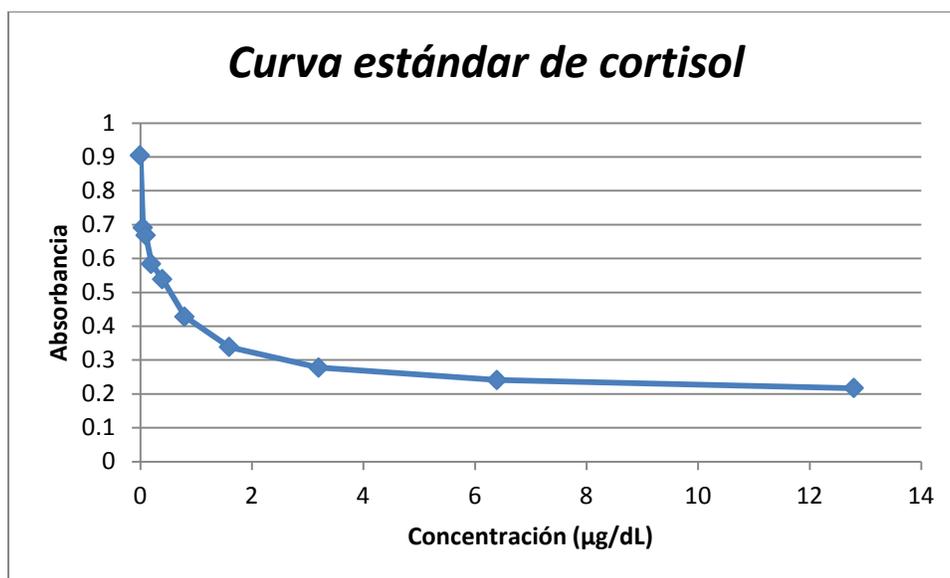


Gráfica 26. Curva estándar de peroxidación Lipídica (MDA).

Determinación de cortisol. Método de ELISA competitivo

| Cortisol ($\mu\text{g/dL}$) | Abs. |
|----------------------------------|-------|
| 0 | 0.904 |
| 0.05 | 0.691 |
| 0.1 | 0.668 |
| 0.2 | 0.583 |
| 0.4 | 0.538 |
| 0.8 | 0.428 |
| 1.6 | 0.338 |
| 3.2 | 0.277 |
| 6.4 | 0.240 |
| 12.8 | 0.217 |

Curva 5. Concentraciones para la curva estándar de cortisol



Gráfica 28. Curva estándar de cortisol.

Clave: _____

Cuestionario sobre estrés en alumnos de la Carrera de QFB de la FES Zaragoza UNAM

Carrera: _____ Semestre de estudio: _____. Estado civil: _____:
Número de hijos: _____. Edad: _____ años. Sexo: M () F (). Tiempo de traslado
entre la casa y la FES Zaragoza: _____ minutos. Qué tipo de transporte usa: público ()
propio (). Carga horaria semanal: _____ hs. Alumno regular Si () No (). Tiempo que
dedica a la realización de actividades recreativas: _____hs y deportivas: _____ hs a la
semana.

Objetivo: conocer qué vivencias producen estrés en los estudiantes de la carrera de QFB de la FES
Zaragoza.

Instrucciones: Las respuestas son confidenciales, no existen respuestas buenas o malas y sólo se
le pide marque la opción de su elección.

La escuela:

1. Tener que asistir diariamente me cansa.
A) Nunca B) Pocas veces C) Algunas veces D) Casi siempre E) Siempre
2. Me deprime fácilmente.
A) Nunca B) Pocas veces C) Algunas veces D) Casi siempre E) Siempre
3. Me desilusiona.
A) Nunca B) Pocas veces C) Algunas veces D) Casi siempre E) Siempre
4. Me frustra cada vez más.
A) Nunca B) Pocas veces C) Algunas veces D) Casi siempre E) Siempre
5. Me hace sentir irritable y cortante con los demás.
A) Nunca B) Pocas veces C) Algunas veces D) Casi siempre E) Siempre
6. Antes de terminar mi horario de clases ya me siento cansado(a).
A) Nunca B) Pocas veces C) Algunas veces D) Casi siempre E) Siempre

En clase:

7. Tener que asistir diariamente me cansa.
A) Nunca B) Pocas veces C) Algunas veces D) Casi siempre E) Siempre
8. Me siento somnoliento(a).
A) Nunca B) Pocas veces C) Algunas veces D) Casi siempre E) Siempre
9. Antes de terminar mi horario ya me siento cansado(a).
A) Nunca B) Pocas veces C) Algunas veces D) Casi siempre E) Siempre
10. Me aburro.
A) Nunca B) Pocas veces C) Algunas veces D) Casi siempre E) Siempre
11. Me siento enfermo(a).
A) Nunca B) Pocas veces C) Algunas veces D) Casi siempre E) Siempre
12. Cada vez me es más difícil concentrarme y ponerle atención al maestro(a).
A) Nunca B) Pocas veces C) Algunas veces D) Casi siempre E) Siempre
13. Me cuesta trabajo recordar lo que me han enseñado.
A) Nunca B) Pocas veces C) Algunas veces D) Casi siempre E) Siempre

Estudiar me:

14. Agota.
A) Nunca B) Pocas veces C) Algunas veces D) Casi siempre E) Siempre
15. Desgasta físicamente.
A) Nunca B) Pocas veces C) Algunas veces D) Casi siempre E) Siempre
16. Desgasta emocionalmente.
A) Nunca B) Pocas veces C) Algunas veces D) Casi siempre E) Siempre
17. Causa indiferencia.
A) Nunca B) Pocas veces C) Algunas veces D) Casi siempre E) Siempre
18. Angustia.
A) Nunca B) Pocas veces C) Algunas veces D) Casi siempre E) Siempre
19. Provoca ansiedad e hiperactividad.
A) Nunca B) Pocas veces C) Algunas veces D) Casi siempre E) Siempre
20. Hace sentir impotente (que no puedo más).
A) Nunca B) Pocas veces C) Algunas veces D) Casi siempre E) Siempre
21. Disminuye mi autoestima.
A) Nunca B) Pocas veces C) Algunas veces D) Casi siempre E) Siempre

Mis estudios:

22. Me interesan.
A) Nunca B) Pocas veces C) Algunas veces D) Casi siempre E) Siempre
23. Creo terminarlos con éxito.
A) Nunca B) Pocas veces C) Algunas veces D) Casi siempre E) Siempre
24. Al terminarlos tengo la confianza de conseguir trabajo como QFB.
A) Nunca B) Pocas veces C) Algunas veces D) Casi siempre E) Siempre

Por favor conteste las siguientes preguntas.

25. Mencione cinco vivencias que te hayan causado estrés durante tu estadía y estudios de QFB dentro de la FES Zaragoza, (ej. Exámenes, trabajos, etc.) escríbelas de mayor a menor importancia:
- a. _____
- b. _____
- c. _____
- d. _____
- e. _____
26. Menciona cinco vivencias externas a la carrera de QFB de la FES Zaragoza, (ej. Familiares, económicas, sociales, personales, etc.) que te hayan causado estrés. Escríbelas de mayor a menor importancia:
- a. _____
- b. _____
- c. _____
- d. _____
- e. _____

¡Gracias!

Proyecto PAPIME PE200310