



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA
BIOLOGÍA EXPERIMENTAL

**EFFECTO DEL TAI CHI SOBRE MARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO,
PROCESO INFLAMATORIO CRÓNICO Y DAÑO OXIDATIVO AL ADN EN
ADULTOS MAYORES CON SÍNDROME METABÓLICO**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

TAIDE LAURITA ARISTA UGALDE

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. VÍCTOR MANUEL MENDOZA NÚÑEZ
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA, UNAM.

COMITÉ TUTOR: DRA. SILVIA PATRICIA PÉREZ VERA
INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA
DR. MARIO AGUSTÍN ALTAMIRANO LOZANO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA, UNAM

MÉXICO, D.F. FEBRERO, 2016



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA
BIOLOGÍA EXPERIMENTAL

**EFFECTO DEL TAI CHI SOBRE MARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO,
PROCESO INFLAMATORIO CRÓNICO Y DAÑO OXIDATIVO AL ADN EN
ADULTOS MAYORES CON SÍNDROME METABÓLICO**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

TAIDE LAURITA ARISTA UGALDE

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. VÍCTOR MANUEL MENDOZA NÚÑEZ
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA, UNAM.

COMITÉ TUTOR: DRA. SILVIA PATRICIA PÉREZ VERA
INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA
DR. MARIO AGUSTÍN ALTAMIRANO LOZANO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA, UNAM

MÉXICO, D.F. FEBRERO, 2016

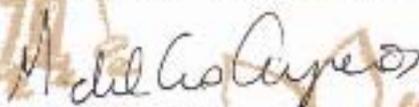
Dr. Isidro Ávila Martínez
Director General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted que el subcomité de Biología Evolutiva y Sistemática, del Posgrado en Ciencias Biológicas, en su sesión ordinaria del día 30 de noviembre de 2015, aprobó el jurado para la presentación del examen para obtener el grado de **MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** de la alumna, **ARISTA UGALDE TAIDE LAURITA** con número de cuenta 404001692 con la tesis titulada "Efecto del Tai chi sobre marcadores de estrés oxidativo, proceso inflamatorio crónico y daño oxidativo al ADN en adultos mayores con Síndrome Metabólico", realizada bajo la dirección del DR. VICTOR MANUEL MENDOZA NÚÑEZ:

Presidente: DR. EDELMIRO SANTIAGO OSORIO
Vocal: DR. MARIO AGUSTÍN ALTAMIRANO LOZANO
Secretario: DR. JOSÉ PEDRAZA CHAVERRI
Suplente: DRA. RAQUEL RETANA UGALDE
Suplente: DR. JOSÉ MIGUEL BETANCOURT RULE

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, D.F. a 25 de enero de 2016.



DRA. MARÍA DEL CORO ARIZMENDI ARRIAGA
COORDINADORA DEL PROGRAMA



c.c.p. Expediente del (la) interesado (a)

Agradecimientos

Al Posgrado en Ciencias Biológicas de la UNAM por la oportunidad que me ha brindado al ser parte de este programa y contribuir a mi crecimiento profesional.

Al Programa de becas para estudios de posgrado del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) número de CVU/becario: 440861/270116 por el apoyo económico otorgado para la realización de ésta investigación.

Al Comité de Becas del Consejo Mexiquense de Ciencia y Tecnología (COMECYT) por la Beca de Tesis de Posgrado, promoción 2014 con registro 14BTM0277 por el apoyo otorgado para la terminación de ésta tesis.

A la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA), UNAM, Proyecto PAPIIT IN306213

Al Laboratorio de la Unidad de Investigación en Gerontología de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, por las facilidades otorgadas para el desarrollo de ésta investigación que se llevó acabo bajo la dirección del Dr. Víctor Manuel Mendoza Núñez.

Agradezco la supervisión atinada y oportuna de los miembros del comité tutorial integrado por la Dra. Silvia Patricia Pérez Vera y el Dr. Mario Agustín Altamirano Lozano.

Agradecimientos

Gracias a todos los miembros que conforman la Unidad de Investigación en Gerontología que hicieron posible el desarrollo de este trabajo. Al Dr. Víctor Manuel Mendoza Núñez por su confianza depositada, por el apoyo y dirección para el desarrollo de ésta investigación.

Gracias al Dr. José Pedraza Chaverri, al Dr. Edelmiro Santiago Osorio, a la Dra. Raquel Retana Ugalde y al Dr. José Miguel Betancourt Rule por contribuir oportunamente con éste trabajo y ser parte del jurado.

Agradezco al M. en C. Armando Cervantes Sandoval por su apoyo en el desarrollo estadístico de éste trabajo, a la Lic. Gabriela Nohemí Paredes Mejía y Otoniel Escalante Morales por su contribución en éste escrito.

Agradezco a María Francisca Juárez Hernández y Anita Montero por el gran apoyo recibido en la coordinación de los grupos de Tai Chi. Al Lic. Gustavo Carrasco, a la Lic. María Luisa López, así como al gobierno municipal de Progreso de Obregón y Omitlán Hidalgo, por todas las facilidades otorgadas para la formación y permanencia de los grupos de Tai Chi. Gracias al grupo de la tercera edad de El Sitio, Querétaro, por participar en ésta investigación así como al alcalde de ésta comunidad por la confianza otorgada.

Gracias a todos los compañeros de trabajo, Químicos, Enfermeras, Médicos y Gerontólogos que participaron en éste proyecto. Gracias a la M en C. Beatriz Hernández Monjaraz por su apoyo y compañía en éste trabajo.

A mis amigos que estuvieron presentes en parte de éste trabajo, a los que conocí, a los que se fueron y a los que permanecieron, los tengo en mis pensamientos.

Dedicatoria

Gracias a Dios por sus abundantes bendiciones, por su respaldo continuo y sus cuidados, por todo lo que soy y ha hecho por mí. ¡Sólo a Él sea la gloria!

A mis padres Emir Arista Cid y Araceli Ugalde Ugalde por el apoyo incondicional y cuidados que desde siempre me han brindado, los amo. A mi adorado Isaac Arista por ser mi hermanito pequeño que siempre me daba aliento y legraba con su presencia.

A mis amados abuelos Daría Ugalde, Daniel Ugalde y a la memoria de Misael Arista † y Taide Cid † que han sido y serán un impulso para trabajar con adultos mayores en comunidades rurales.

A mi amado esposo Otoniel Escalante por su constante apoyo, cariño y comprensión en mi vida y en parte de éste trabajo. A mi preciosa princesa que me acompañó en la parte final de éste escrito. Gracias por soportar desvelos, ausencias y otras tantas vivencias, ustedes son mi impulso diario.

A todos los adultos mayores que fueron parte de éste proyecto, que día a día se esforzaron por cumplir y que gustosamente participaron, además de que siempre mostraron cariño y respeto por éste trabajo, a todos muchísimas gracias.

ÍNDICE

I. Resumen.	
II. Abreviaturas y acrónimos.	
III. Introducción.	1
IV. Marco teórico.	2
IV.1. Síndrome metabólico.	2
IV.1.1. Síndrome metabólico y envejecimiento.	3
IV.2 Radicales libres.	7
IV.2.1. Formación de especies reactivas de oxígeno (EROs).	7
IV.2.2. Especies reactivas de nitrógeno y radicales libres orgánicos.	9
IV.2.3. Daño oxidativo a biomoléculas.	10
IV.3. Sistema antioxidante.	12
IV.4. Estrés oxidante.	16
IV.4.1 Marcadores biológicos del estrés oxidante.	17
IV.5. Síndrome metabólico, estrés oxidante y daño al ADN.	19
IV.6. Inflamación y envejecimiento.	22
IV.6.1. Inflammaging.	23
IV.6.2. Marcadores biológicos del proceso inflamatorio crónico.	25
IV.7. Ejercicio físico.	28
IV.7.1. Efectos del ejercicio físico en el envejecimiento.	29
IV.7.2. Ejercicio físico moderado, estrés oxidante e inflamación.	30
IV.7.3. Tai Chi.	31
V. Planteamiento del problema.	40
VI. Hipótesis.	41
VII. Objetivos.	41
VII.1. Objetivo general.	41
VII.2. Objetivos específicos.	41
VIII. Material y métodos.	42
VIII.1. Tipo de estudio.	42
VIII.1.1. Población de estudio.	42
VIII.1.2. Criterios de inclusión y exclusión.	42
VIII.1.3. Criterios de eliminación.	43
VIII.2. Variables.	45

VIII.2.1. Clasificación de variables.	45
VIII.2.2. Operacionalización de variables.	46
VIII.3. Técnicas.	47
VIII.3.1. Intervención.	47
VIII.3.2. Mediciones antropométricas y clínicas.	48
VIII.3.3. Recolección de las muestras.	49
VIII.3.4. Parámetros bioquímicos.	50
VIII.3.5. Determinación de marcadores biológicos de estrés oxidante.	52
VIII.3.5.1. Lipoperoxidación plasmática.	52
VIII.3.5.2. Superóxido dismutasa (SOD).	53
VIII.3.5.3. Glutación peroxidada (GPx).	54
VIII.3.5.4. Cálculo de la razón SOD/GPx.	55
VIII.3.5.5. Capacidad antioxidante plasmática total (CAT).	55
VIII.3.5.6. Cálculo de la capacidad antioxidante residual (GAP).	56
VIII.3.5.7. Cálculo del nivel de estrés oxidante.	57
VIII.3.6. Daño oxidativo al ADN por electroforesis unicelular alcalina.	58
VIII.3.7. Determinación de marcadores biológicos de inflamación.	60
VIII.3.7.1. Proteína C reactiva (PCR).	60
VIII.3.7.2. Cuantificación de citocinas.	60
VIII.4. Análisis estadístico.	63
IX. Resultados.	64
X. Discusión.	73
XI. Conclusiones.	79
XII. Perspectivas.	79
XIII. Referencias.	80
XIV. Anexos.	97

LISTA DE FIGURAS

Figura IV.1 Relación entre la producción de EROs, envejecimiento y síndrome metabólico.

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

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

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

Figura IV.2.2.1 Reacción de lipoperoxidación.

Figura IV.3.1 Clasificación de los sistemas antioxidantes.

Figura IV.3.2 Actividad de las enzimas antioxidantes.

Figura IV.4.1 Estrés oxidante, homeostasis y enfermedad

Figura IV.5.1 Círculos de retroalimentación positiva entre los factores de daño al ADN, función mitocondrial y la generación de EROs en la senescencia inducida por estrés.

Figura IV.6.1. Representación esquemática de la hipótesis del llenado del espacio inmunológico.

Figura IV.7.3.1. Práctica de Tai Chi.

Figura IV.7.3.2. Práctica de la forma ocho de Tai Chi, acariciando la crin del caballo.

Figura IV.7.3.3 Práctica de la forma ocho de Tai Chi, el gallo dorado se para sobre una pata.

Figura VIII.1: Esquema general de la investigación

Figura VIII.3.6.1. Clasificación para grado de daño al ADN a través de la técnica de ensayo cometa.

Figura VIII.3.7.2: Preparación de diluciones para citocinas a partir del estándar

LISTA DE CUADROS

Cuadro IV.1.1 Criterios del 3er Panel para el Tratamiento de Adultos (ATP III)

Cuadro IV.7.1 Fuentes de energía.

Cuadro IV.7.3.1 Estudios referentes al efecto de la práctica de Tai Chi sobre EROs, inflamación y daño al ADN.

I. RESUMEN.

Antecedentes: El síndrome metabólico (SM) es una de las alteraciones que se presenta con mayor prevalencia en la vejez en nuestra población, ya que uno de cada dos ancianos lo presenta. Asimismo, el estrés oxidante (EOx) es una de las consecuencias del SM, incrementando el riesgo para presentar enfermedades crónicas no transmisibles, tales como la diabetes mellitus tipo 2, enfermedades cardiovasculares e incluso enfermedad de Alzheimer. En éste sentido, el envejecimiento *per se* cursa con mayor EOx y daño oxidativo al ADN aunados a un proceso inflamatorio crónico (PIC) denominado “inflamm-aging”, lo cual incrementa la vulnerabilidad para la presencia de enfermedades crónicas. Asimismo, una de las modalidades de ejercicio físico moderado que se ha promovido para las personas adultas mayores es el Tai Chi, del cual se ha observado que la práctica periódica de dicha actividad tiene un efecto benéfico sobre el EOx, PIC y daño oxidativo al ADN, no obstante se desconoce si dicho efecto también se presenta en adultos mayores con SM.

Objetivo: Determinar el efecto de la práctica del Tai Chi sobre marcadores biológicos de EOx, PIC y daño oxidativo al ADN en adultos mayores con SM.

Método: Se llevó a cabo un estudio experimental, en una población de 118 ancianos con SM (según los criterios del ATP III), conformado por los siguientes grupos: (i) n= 37, grupo control; (ii) n= 48, grupo Tai Chi; (iii) n= 33 ejercicio moderado. Se realizaron mediciones antropométricas y bioquímicas a todos los participantes. Se determinaron la concentración de lipoperóxidos (LPO), actividad de las enzimas superóxido dismutasa (SOD) y glutatión peroxidasa (GPx), capacidad antioxidante plasmática total (CAT) y se calculó la brecha antioxidante (GAP), la razón SOD/GPx y el índice de estrés oxidativo (I-EOx). También se midieron como marcadores de inflamación las interleucinas (IL) 6, IL-8, IL-10 y factor de necrosis tumoral- α (FNT- α), por el método de citometría de flujo y proteína C reactiva (PCR) de alto rango cuya determinación es turbidimétrica, se estimó el daño al ADN por medio del ensayo cometa (electroforesis unicelular alcalina). Todas las mediciones se realizaron pre y post intervención. Los grupos de Tai Chi y ejercicio moderado, llevaron a cabo el entrenamiento durante 5 días a la semana, en sesiones de 50 minutos, durante 6 meses, bajo la supervisión de un instructor capacitado. El grupo control no realizó ejercicio físico constante durante el mismo periodo. Los datos se sometieron a un análisis de varianza de medidas repetidas y χ^2 , con el paquete estadístico SPSS V.15.0.

Resultados: Se observó un incremento significativo en la actividad de la CAT en el grupo que practicó Tai Chi (pre-intervención, 1.03 ± 0.04 vs. post-intervención, 1.28 ± 0.02 mmol/L, $p < 0.001$). También, en este mismo grupo se presentó una disminución significativa en el I-EOx (pre-intervención, 2.28 ± 0.2 vs. post-intervención, 1.11 ± 0.1 , $p < 0.001$). Respecto a los marcadores de PIC, también se observó una disminución de la concentración de IL-8 (pre-intervención, 3.6 ± 0.3 vs. post-intervención, 1.6 ± 0.2 pg/mL, $p < 0.001$) en el grupo de personas que practicaron Tai Chi aunada, a una disminución significativa en el número de células con daño oxidativo al ADN.

Conclusiones: Nuestros hallazgos sugieren que la práctica de Tai Chi tiene un efecto antioxidante y antiinflamatorio en ancianos con SM, caracterizado por un incremento de la CAT y por una disminución en la concentración sanguínea de IL-8.

ABSTRACT

Background: Metabolic syndrome (MS) is one of the changes that occur with a greater prevalence, for instance one in every two old Mexican adults suffer from MS. Oxidative stress (OxS) is one of the consequences of MS, increasing the risk for other chronic diseases such as type 2 diabetes, cardiovascular disease and even Alzheimer's disease. In this sense, *per se* aging has a higher OxS and oxidative DNA damage combined with a chronic inflammatory process (CIP) called "inflamm-aging", which increases the vulnerability to the presence of chronic diseases. Likewise, one of the methods of moderate physical exercise that has been promoted for the elderly is Tai Chi, which has been observed that the regular practice of physical activity has a beneficial effect on chronic oxidative stress, inflammatory process and oxidative damage to DNA, however it is unknown whether this effect also occurs in elderly adults with MS.

Objective: To determine the effect of the practice of Tai Chi on biological markers OxS, CIP and oxidative DNA damage in elderly adults with MS.

Methods: A experimental study was carried out in a group of 118 elderly subjects with MS (according to criteria ATP III) the participants were divided into three groups: (i) n= 37 control group, (ii) n= 48 Tai Chi group, (iii) n= 33 moderate exercise group. All participants underwent anthropometric and biochemical measurements. Additionally were measured the plasma lipid peroxides (LPO), superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx), total antioxidants status (TAS), antioxidant gap (GAP), the ratio SOD/GPx, and OxS score. Along with the markers of inflammation the interleukin, IL6, IL-8, IL-10 and tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) by cytometric flow, and C-reactive protein (CRP) by turbidimetry. The oxidative DNA damage was determined by the comet assay. All measurements were performed pre and post-intervention in all subjects. The last two groups carried out the assigned physical activity during six months in sessions of 50 minutes on weekdays under the supervision of a qualified instructor. The control group did not performed constant physical activity during the same period of time. The data were analyzed using a Repeated Measures (ANOVA) and χ^2 , using SPSS V.15.0.

Results: Statistically it was found in the experimental group a significant increase in TAS (pre-intervention 1.03 ± 0.04 vs post-intervention, 1.28 ± 0.02 mmol/L, $p < 0.001$) whereas a significant decrease in OxS score (pre-intervention, 2.28 ± 0.2 vs. post-intervention, 1.11 ± 0.1 , $p < 0.001$). In regarding inflammatory markers, levels of IL-8 were meaningfully lower in the group that practiced Tai Chi compared with the control group (pre-intervention 3.6 ± 0.3 vs. post-intervention, 1.6 ± 0.2 pg/mL, $p < 0.001$).

In particular it was found a significant decrease in the number of cells with oxidative DNA damage in the group that practiced Tai Chi.

Conclusion: Our findings suggest that practicing Tai Chi has an antioxidant and anti-inflammatory effect in elderly patients with MS, characterized by an increase in the TAS and a significant decrease in the blood concentration of IL- 8.

II. ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

AACE	Asociación Americana de Endocrinólogos Clínicos.
ABTS	2,2'- azido-di- etilbenzotiazolin sulfonato.
ADN	Acido desoxirribonucleico.
ADNm	Acido desoxirribonucleico mitocondrial.
ADNn	Acido desoxirribonucleico nuclear.
AF	Actividad física.
AGEs	Productos finales de glicosilación avanzada.
Alb	Albúmina.
AM	Adulto mayor.
ANOVA	Análisis de varianza.
AOx	Antioxidantes.
ATP	Adenosintrifosfato.
ATP III	Tercer Panel para el Tratamiento de Adultos
BHT	Butil hidroxitolueno.
Bilir	Bilirrubina
°C	Grado Celsius de temperatura.
CAT	Capacidad antioxidante plasmática total.
Cat	Catalasa.
Cu/Zn SOD	Cobre/Zinc-Superóxido dismutasa.
dL	Decilitro.
DM	Diabetes mellitus.
DMSO	Dimetil sulfóxido.
ECNT	Enfermedades crónicas no transmisibles.
EC-SOD	Superóxido Dismutasa extracelular.
ECV	Enfermedades cerebro vasculares.
EDTA	Etilendiamintetraacetato.
EGIR	Grupo Europeo de estudio de la resistencia a la insulina.
EHNA	Esteatosis hepática no alcohólica.
ELISA	Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas.
EOx	Estrés oxidante.
ER	Especies reactivas.
ERNs	Especies reactivas de nitrógeno.
EROs	Especies reactivas de oxígeno.
g	Gramo.
GAP	Capacidad antioxidante residual o brecha antioxidante.
GHS	Glutación reducido.
GPx	Glutación peroxidada.
GSSG	Glutación disulfuro (forma oxidada).
GT	Glutación transferasa.
HbA1c	Hemoglobina glucosilada o hemoglobina glicosilada.
HDL	Lipoproteínas de alta densidad
HNE	4-hidroxi-2-nonenal.
HPLC	Cromatografía de líquidos de alto rendimiento.
IC _{95%}	Intervalo de confianza al 95%.
I-EOx	Índice de estrés oxidante.
IL	Interleucina
IMC	Índice de Masa Corporal.
HOMA	Evaluación del modelo homeostático
INT	p-iodonitrotetrazolio ó 2-(4-yodofenil)-3-(4-nitrofenil)-5-fenil tetrazolio.

kDa	Kilodaltons.
L	Litro.
LDL	Lipoproteínas de baja densidad
LPO	Lipoperoxidación plasmática, peroxidación lipídica.
M	Molar.
MAmp	Miliamperes.
MDA	Malondialdehído.
mg	Miligramo.
min.	Minutos.
mL	Mililitro.
mm de Hg	Milímetros de mercurio.
mmol	Milimol.
Mn-SOD	SOD mitocondrial, Manganeseo-superóxido dismutasa.
mM	Milimolar.
NaCl	Cloruro de sodio.
NADPH	Nicotín adenín dinucleótido fosfato reducido.
Na ₂ EDTA	Etilendiamintetraacetato de sodio.
NaOH	Hidróxido de sodio.
NASH	Esteato-hepatitis no alcohólica.
NCEP	Programa Nacional de Educación en Colesterol.
nm	Nanómetro.
O ₂	Oxígeno moléculas.
OGG1	8-Oxoguanina DNA glicosilasa.
OMS	Organización Mundial de la Salud.
O-Tyr	Orto-Tirosina.
PBS	Amortiguador salino de fosfatos.
PC	Fosfocreatina.
PIC	Proceso inflamatorio crónico.
pH	Potencial de hidrógeno.
RL	Radical libre o radicales libres.
rpm	Revoluciones por minuto.
Se	Selenio.
seg.	Segundos.
SM	Síndrome metabólico.
SOD	Superóxido dismutasa.
SOD/GPx	Razón SOD/GPx.
TAD	Tensión arterial diastólica.
TAS	Tensión arterial sistólica.
TBA	Ácido tiobarbitúrico.
TBARS	Sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico.
TEAC	Actividad antioxidante en equivalentes Trolox.
TMP	Terametoxipropano.
UI	Unidades internacionales.
UNAM	Universidad Nacional Autónoma de México.
V	Voltios.
µg	Microgramo.
µL	Microlitro.
µm	Micrómetro o micras.
µmol	Micromol.
8-OHdG	8-hidroxi-2' desoxiguanosina.

III. INTRODUCCIÓN.

Nuestro país está cursando por una transición demográfica, propiciando un incremento en la proporción de la población de adultos mayores. Así mismo, este cambio demográfico se asocia con una transición epidemiológica caracterizada por un incremento proporcional de las enfermedades crónicas no trasmisibles (ECNT), ya que en este grupo de población presenta una alta prevalencia e incidencia de ECNT, tales como la diabetes mellitus tipo 2, la hipertensión arterial, las dislipidemias y el síndrome metabólico (SM).

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

Por otro lado el envejecimiento cursa con un incremento del EOx y un proceso de inflamación crónica denominado "inflammaging", cuyas alteraciones constituyen un factor de riesgo para la presencia y complicaciones de ECNT de alta prevalencia durante el envejecimiento y la vejez, incluyendo las alteraciones del SM y sus componentes.

Entre las alternativas propuestas para lograr un envejecimiento saludable y un control del SM, destacan la adopción de estilos de vida saludables tales como una alimentación baja en grasas y rica en frutas y verduras con alto contenido de agentes antioxidantes, así como la práctica periódica de ejercicio moderado. En este sentido, se ha demostrado que el ejercicio físico moderado como la caminata y el Tai Chi son modalidades de ejercicio seguro para los adultos mayores. Al respecto, se han realizado estudios que demuestran que la práctica periódica de Tai Chi tiene un efecto antiinflamatorio y antioxidante, además de ser seguro por caracterizarse por extrema lentitud y suavidad en los movimientos. Sin embargo no existen evidencias consistentes de éstos efectos benéficos en viejos que cursan con SM, por tal motivo el propósito del presente estudio fue determinar el efecto de la práctica del Tai Chi por adultos mayores con síndrome metabólico, sobre algunos marcadores biológicos del estrés oxidante, proceso inflamatorio crónico y daño oxidativo al ADN.

IV. MARCO TEÓRICO.

IV.1. Síndrome metabólico.

El síndrome metabólico, o de resistencia a la insulina, fue descrito en 1988 por Reaven¹ como el síndrome X, que se define como un conjunto de alteraciones bioquímicas y clínicas caracterizados por la resistencia a la insulina, hiperinsulinemia, dislipidemia, hipertensión arterial y obesidad. Afecta a la cuarta parte de la población mayor de 40 años.²

Se manifiesta principalmente por alteraciones en el metabolismo de los lípidos (particularmente concentraciones bajas de HDL colesterol, altas de triglicéridos y apoproteína B), hipertensión arterial, intolerancia a carbohidratos, hiperglucemia en ayuno y obesidad visceral. Actualmente se han agregado otros componentes que incluyen hiperuricemia, microalbuminuria, hiperferritinemia, elevación de fibrinógeno, esteatosis hepática no alcohólica, esteato-hepatitis no alcohólica e hiperhomocisteinemia.

Aunque los componentes del SM se consideran en conjunto, es muy probable que exista una interacción causal entre ellos, es decir que mientras algunos de los componentes pueden ser la causa del síndrome, otros probablemente sean la consecuencia de los primeros. Por lo anterior, es posible que exista una secuencia temporal en la aparición de los distintos componentes, según sea la relación causa-efecto entre ellos.³⁻⁵

Diversos grupos han propuesto diferentes definiciones del síndrome metabólico, como son la de la Organización Mundial de la Salud (OMS), la del 3er Panel para el Tratamiento de Adultos (ATP III), la del Programa Nacional de Educación en Colesterol (NCEP), la del Grupo Europeo de Estudio de la Resistencia a la Insulina (EGIR), la de la Asociación Americana de Endocrinólogos Clínicos (AAEC) y la de la Asociación Americana del Corazón (AHA).^{4,6-9}

Para el diagnóstico del SM en un paciente, las definiciones de los grupos mencionados requieren de la presencia de varios criterios clínicos y bioquímicos. Los criterios de la OMS identifican los casos más avanzados, por lo que en México se considera que resulta más práctico utilizar los criterios del ATP III

(Cuadro IV.1.1) y se sugiere que en estudios epidemiológicos y de investigación clínica se utilicen dichos criterios para definir éste síndrome³. Dado que, según los criterios del ATP III para diagnosticar que un paciente presenta el síndrome metabólico requiere valores de corte menores en casi todos los criterios diagnósticos¹⁰, en nuestro estudio se utilizaron los criterios del ATP III.

Cuadro IV.1.1 Criterios del 3er Panel para el Tratamiento de Adultos (ATP III)

Criterios de diagnóstico para síndrome metabólico

Obesidad abdominal:

Circunferencia de cintura

- Hombres > 102 cm
- Mujeres > 88 cm

Triglicéridos \geq 150 mg/dL

HDL-Colesterol

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

Presión sanguínea \geq 130/85 mmHg

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

Criterio clínico: Debe tener tres de los cinco criterios señalados

Las causas del SM no se conocen, pero se postulan tres posibles etiologías: la obesidad, alteraciones en el metabolismo del tejido adiposo con resistencia a la insulina y una constelación de factores independientes (moléculas de origen hepático, vascular, inmunológico, etc.) que intervienen en la aparición de componentes específicos del SM. Otros factores como el envejecimiento, un estado proinflamatorio y cambios hormonales también pueden contribuir a su desarrollo.³

IV.1.1 Síndrome metabólico y envejecimiento.

En México hay una mayor prevalencia de SM en personas de 50 y 60 años de edad. Al respecto, Aguilar-Salinas informó una prevalencia ajustada por edad de 26.6% utilizando los criterios del NCEP-ATP III, en personas de 20 a 69 años de

edad, provenientes de la encuesta nacional de salud (ENSA) 2000.¹¹ Así mismo, Rojas et al. (2010), informó que según la ENSA de 2006 utilizando los mismos criterios, existe una prevalencia del 56.3% en mexicanos de 60 años y más, además de que la prevalencia es mayor en mujeres (42.2%) que en hombres (30.3 %).¹² Mientras que en un estudio de Diabetes de la ciudad de México se informó una prevalencia del SM con base en los criterios del NCEP-ATPIII de 39.9 y 59.9 % para hombres y mujeres, respectivamente.¹³

Aunque no existe una definición universal sobre en que momento una persona empieza a envejecer, en general, se acepta que la vejez inicia al final de la adultez (alrededor de los 45 años). Por consenso internacional se acepta catalogar como ancianos a aquellos individuos mayores de 65 años en países desarrollados y a individuos mayores de 60 años en países en desarrollo, como es el caso de nuestro país, en donde por disposición oficial se les ha catalogado como adultos mayores (AM).¹⁴

En la Unidad de Investigación en Gerontología de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM, se define al envejecimiento “como un proceso gradual y adaptativo, que se caracteriza por la disminución de la respuesta homeostática, debida a las modificaciones morfológicas, fisiológicas, bioquímicas y psicológicas, propiciadas por los cambios inherentes a la edad y al desgaste acumulado ante los retos que enfrenta el organismo a lo largo de la historia del individuo en un ambiente determinado”.¹⁵

Esta definición se apoya en el enfoque teórico de la alostasis (*Allostasis*) o proceso de adaptación ante retos o desafíos estresantes. Esta teoría establece que el organismo responde de manera activa ante amenazas o retos estresantes con el fin de mantener la homeostasis, sin embargo, el mecanismo de respuesta adaptativa denominada alostasis, representa un costo biológico, por lo que, cuando ocurre en forma repetida, propicia una carga alostática (*Allostatic load*), haciendo menos eficiente el proceso y favoreciendo la aparición de padecimientos infecciosos y crónico-degenerativos¹⁶⁻²⁰ incluyendo los relacionados con el SM.

Respecto al envejecimiento, es necesario mencionar que la teoría de los Radicales Libres (RL), una de las más conocidas y aceptadas para explicar este proceso, fue propuesta por Denhan Harman en 1956²¹⁻²⁸. Dicha teoría propone que la acumulación de daño oxidante en las macromoléculas, favorecido por una inadecuada protección contra los RL que se derivan del metabolismo aeróbico normal, ocasiona un deterioro funcional progresivo de células, tejidos y órganos siendo éste el principal mecanismo endógeno que da origen al envejecimiento^{29,30}, en otras palabras, el envejecimiento es producido por el incremento de radicales de oxígeno endógeno generados en las células y cuya acumulación produce un daño irreversible a las biomoléculas.³¹ Esta teoría puede explicar también, la forma en que los organismos pierden la habilidad para mantener la homeostasis en la última etapa de la vida, incrementando así, la vulnerabilidad a enfermedades crónico-degenerativas como: DM, aterosclerosis, Alzheimer, artritis reumatoide y cáncer, entre otras.^{28,32-34} Además existe otra teoría que asume que no es una causa única la que da origen al envejecimiento y puede modificarse por factores genéticos y ambientales.³³

El proceso de envejecimiento se altera cuando están presentes enfermedades metabólicas y cardiovasculares, además de que se incrementa el riesgo de enfermedad con la edad. Muchas condiciones predisponentes se incrementan durante el envejecimiento como son la obesidad, resistencia a la insulina, inflamación, cambios en el eje hipotálamo-hipófisis, estrés e hipertensión, lo cual contribuye al incremento de la prevalencia de SM. Además de que en el envejecimiento, el desarrollo de la resistencia a la insulina y enfermedades cardiovasculares parecen estar exacerbados.³⁵⁻³⁷

En un estudio realizado por Passos et al. en el 2007,³⁸ se demostró que las células senescentes presentan mayor nivel de EROs y daño oxidativo al ADN, lo que refuerza la teoría de que en las enfermedades metabólicas existe una incesante producción de radicales libres y por consiguiente un ambiente oxidativo que a su vez conduce a la disfunción mitocondrial y pérdida de la homeostasis celular. Este argumento ha sido fuertemente usado como una base para entender el deterioro psicológico relacionado con la edad y ha dado lugar a la propuesta que sugiere que la mitocondria es el reloj biológico del envejecimiento celular.³⁹

Es por ello que se ha sugerido un papel importante al EOX mitocondrial en el desarrollo y mantenimiento del SM. También se ha propuesto que una elevada producción de EROs de la cadena respiratoria en la mitocondria actúa como una señal de senescencia acelerada. Bajo estas condiciones y aunado a una sobrealimentación e inactividad física típica en quienes cursan con SM, una crónica sobreactivación de las vías de señalización redox, pueden contribuir a la senescencia (Figura IV.1).⁴⁰

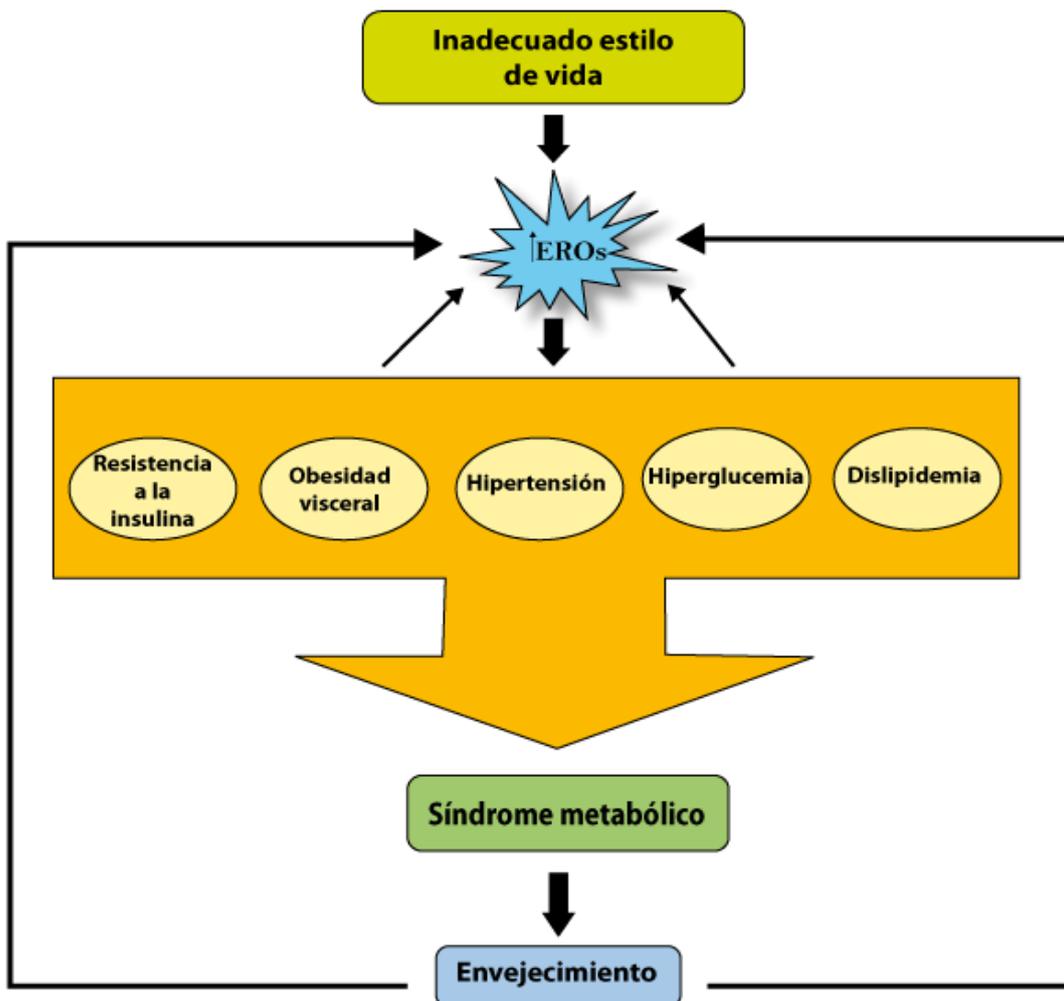


Figura IV.1 Relación entre la producción de EROs, envejecimiento y síndrome metabólico. (Tomado de Bonomini, 2015)⁴⁰

IV.2. Radicales libres.

Un radical libre es un átomo o molécula que tiene un electrón no apareado en su último orbital, por lo que su configuración espacial es inestable, altamente reactivo y su capacidad para combinarse inespecíficamente es alta. Debido a que para estabilizarse necesita obtener un electrón, actúa sobre otras moléculas de las cuales obtiene el electrón. Este hecho resulta en un daño de esa molécula. Cuando se trata de biomoléculas celulares se puede afectar la fisiología de la célula al oxidar los lípidos de membrana, los carbohidratos, las proteínas y el ADN, lo que representa uno de los mecanismos de daño del EOx.^{28, 31,32}

Sin embargo, es importante aclarar que los RL son componentes de la fisiología celular e incluso tienen un papel fundamental en la homeostasis del organismo, por ejemplo, en los mecanismos inmunológicos, en la regulación del tono vascular y agregación plaquetaria, en la tensión de oxígeno en la ventilación pulmonar, en la producción de eritropoyetina, así como en la transducción de señales mediado por receptores de membrana en varios procesos fisiológicos.⁴¹

IV.2.1 Formación de especies reactivas de oxígeno (EROs).

Las especies reactivas de oxígeno endógeno son generadas en la célula durante el catabolismo de lípidos, proteínas, carbohidratos y ácidos nucleicos.⁴²

El oxígeno (O₂) es un compuesto esencial en el metabolismo de todos los organismos aeróbicos, ya que participa en diversas reacciones de oxidoreducción como aceptor de electrones. Durante la síntesis de ATP por la cadena respiratoria mitocondrial, el O₂ sufre oxidaciones/reducciones sucesivas lo que da origen a RL intermedios y finales definidos como EROs.

Los RL se generan de manera continua durante el catabolismo, la respiración celular, en las reacciones donde intervienen enzimas de la familia de las NADPH oxidasas asociadas al metabolismo del ácido araquidónico como la ciclooxigenasa, la lipooxigenasa, el citocromo P450 y como respuesta a la exposición a agentes exógenos como los rayos UV, radiaciones ionizantes, el ejercicio excesivo, entre otros.^{32, 41-43}

La producción excesiva de radicales libres contribuye al desarrollo de desórdenes que se presentan durante el envejecimiento. El exceso de radicales libres

también está implicado en el desarrollo de enfermedades degenerativas y autoinmunes.³³

Una de las moléculas más susceptibles de ser transformadas, es el O₂ y aunque es fundamental para la vida, muchas reacciones en las que participa generan RL, de ahí, que también se considera como una molécula potencialmente tóxica. La reducción del O₂ involucra cuatro electrones y genera tres EROs: anión superóxido (O₂^{-•}), peróxido de hidrógeno (H₂O₂) y radical hidroxilo (OH[•]) que es el que tiene mayor poder oxidante.^{32, 42,43} (Figura IV.2.1).

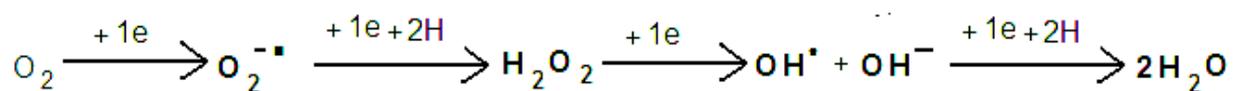


Figura IV.2.1.1 Pasos de la reducción de oxígeno molecular a agua y la generación de tres especies reactivas de oxígeno

El H₂O₂ no es un radical libre, pero cae en la categoría de EROs por ser un compuesto intermediario en la formación de los RL. En presencia de metales de transición, principalmente el hierro (Fe²⁺), se descompone y produce el radical hidroxilo (OH[•]), por medio de la reacción de Fenton (Figura IV.2.1.2).^{32, 42, 43}

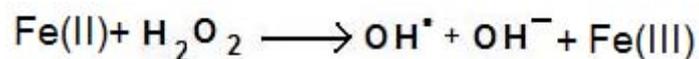


Figura IV.2.1.2 Reacción de Fenton que involucra la presencia de sales ferrosas

El O₂^{-•} reduce algunos quelatos férricos, lo que da origen a la formación de OH[•]. A la reacción condensada entre O₂^{-•} y H₂O₂, sin los intermediarios del hierro, se denomina reacción de Haber-Weiss (Figura IV.2.3).^{32, 43}

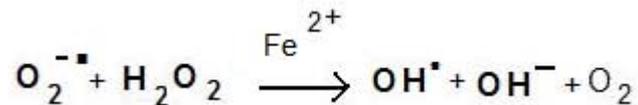


Figura IV.2.1.3 Reacción de Haber-Weiss catalizada por hierro.

IV.2.2. Especies reactivas de nitrógeno y radicales libres orgánicos.

El nitrógeno también forma RL como el óxido nítrico (NO[•]) y el dióxido nítrico (NO₂[•]), denominadas especies reactivas del nitrógeno (ERNs).^{41, 44}

Los radicales OH[•], O₂^{•-} y NO[•] reaccionan con las biomoléculas, lo que origina RL orgánicos menos reactivos que las EROs.

El OH[•] reacciona con los carbonos centrales de las moléculas en forma RH, convirtiéndolas en radicales (R[•]), éste RL carbono-central reacciona rápidamente con el oxígeno formando el radical peroxilo (ROO[•]) que es más estable y puede tomar parte en otras reacciones para producir radicales alcoxilos (RO[•]). De la misma manera, los átomos de azufre en forma de compuestos sulfhidrilo (RSH) también pueden ser convertidos en RL formando radicales tiol (RS[•]). Así, el O₂^{•-} reacciona con el NO[•] para formar el peroxinitrito (ONOO⁻).^{32,44}

Algunos autores sugieren que las EROs participan en la señalización y regulación celular, normal y patológica. Por su alto carácter oxidante se les considera como productos tóxicos del metabolismo que pueden potencialmente ocasionar daño en lípidos, proteínas, carbohidratos y ADN.^{41,45}

IV.2.3. Daño oxidativo a biomoléculas.

Aunque las proteínas son menos susceptibles al ataque de los RL, al ser oxidadas por éstos se fragmentan y se unen entre sí dando lugar a entrecruzamientos que dan como resultado la pérdida de la funcionalidad de la proteína. También se han observado enrollamientos erróneos de estructuras secundarias o pérdida de la conformación de estructuras terciarias y cuaternarias, reacciones espontáneas de glucosilación, etc.⁴⁶⁻⁴⁹

Los efectos de los RL sobre los carbohidratos se concentran en las reacciones de glucosilación con proteínas.⁴⁹ La glucosilación involucra la interacción no enzimática entre los azúcares reductores, principalmente glucosa, con los grupos amino de las proteínas lo que da lugar a las bases de Schiff, las que a su vez presentan un rearrreglo molecular y forman cetoaminas o compuestos de Amadori. Este proceso ocurre en varias semanas, por lo que afecta a proteínas de larga vida como colágeno, queratina, elastina, entre otras. Estos productos glicosilados en presencia de $O_2^{\bullet-}$ y Fe(II) forman productos de fragmentación que posteriormente se condensan formando los llamados productos finales de glucosilación avanzada (AGEs, Advanced Glycosylation end-products).^{47,50}

También el ADN puede ser dañado por EROs, a nivel tanto nuclear como mitocondrial. Se ha estimado que el ADN mitocondrial (ADNm) puede ser dañado oxidativamente unas 10 veces más que el ADN nuclear (ADNn), debido a que en la mitocondria se lleva a cabo el metabolismo aeróbico y el material genético de que se encuentra en la mitocondria está en constante contacto con las EROs, además de que el ADNm no tiene histonas protectoras y sus mecanismos de reparación son incompletos.⁵¹⁻⁵³

Las EROs también pueden causar entrecruzamiento de proteínas y ADN, intercambio de cromátides hermanas, daño a la estructura de desoxirribosa-fosfato y oxidación de las cuatro bases nitrogenadas,⁵⁴⁻⁵⁷ lo que produce mutaciones. La oxidación de la desoxirribosa puede inducir liberación de bases y rompimiento de cadena sencilla de las hebras de ADN.^{49, 57}

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

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

La peroxidación continúa hasta que el sustrato se termina o se presenta un antioxidante para romper la secuencia de la propagación^{44,46} (Figura IV.2.2.1).

La extensa lipoperoxidación en las membranas celulares causa pérdida de la fluidez, caída del potencial de membrana, incremento de la permeabilidad a H^+ y otros iones y eventualmente, liberación del contenido celular y de los organelos causando la muerte celular. De la misma forma, fragmentos de ácidos grasos que contienen tres o más ligaduras dobles, pueden producir malondialdehído (MDA) y la presencia de éste producto puede ser cuantificado por reacción con al ácido tiobarbitúrico para producir color. ⁴⁶

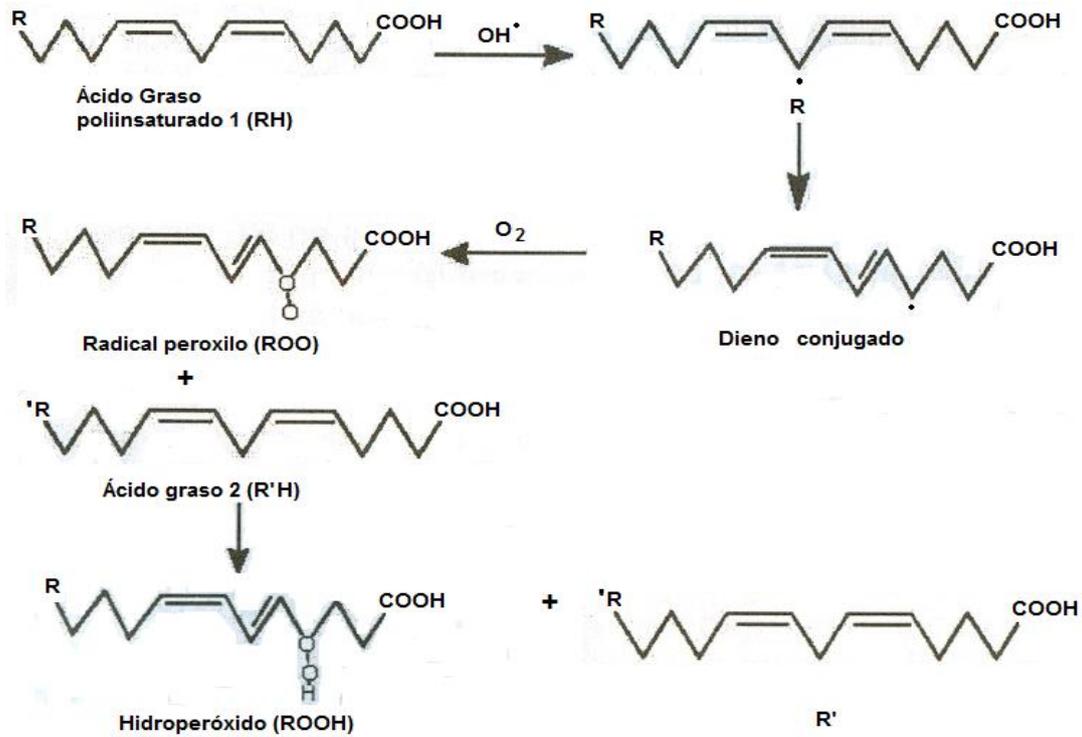


Figura IV.2.2.1 Reacción de lipoperoxidación.

IV.3. Sistema antioxidante.

Todos los organismos aeróbicos poseen sistemas de defensas antioxidantes, que les permiten prevenir la formación de moléculas oxidantes y reparar el daño oxidativo a los tejidos y biomoléculas. Un antioxidante es un conjunto de moléculas que en concentraciones menores que los sustratos oxidables retardan o inhiben la oxidación de los lípidos, las proteínas, los carbohidratos y el ADN.^{46,58}

Existen diversas clasificaciones para los antioxidantes pero una de las más utilizadas con fines de investigación en humanos, agrupa a los antioxidantes en función de: la prevención del EOX, limitación o neutralización del EOX y reparación del daño molecular por EOX (Figura IV.3.1).^{59,60}

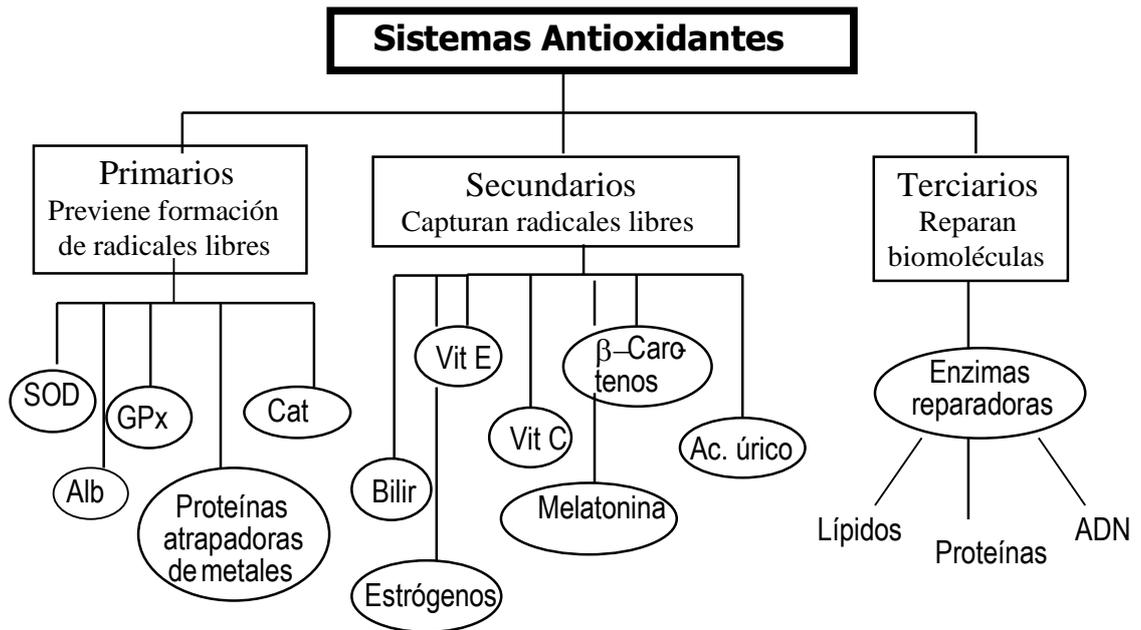


Figura IV.3.1 Clasificación de los sistemas antioxidantes. Superóxido dismutasa (SOD), Glutathion peroxidasa (GPx), Catalasa (Cat), Albúmina (Alb), Bilirrubina (Bilir), Vitamina E (Vit E), Vitamina C (Vit C).

Antioxidantes primarios

El mecanismo inicial de protección, está formado por el grupo de los antioxidantes primarios. Éste grupo está formado por la superóxido dismutasa (SOD), la glutathion peroxidasa (GPx), catalasa (Cat), la albúmina y las proteínas atrapadoras de metales.⁶⁰

Las enzimas antioxidantes contrarrestan el efecto de las EROs. La SOD acelera la dismutación del ión $O_2^{\cdot-}$ a H_2O_2 y oxígeno (Figura IV.3.2). Al producirse H_2O_2 , aumenta la lipoperoxidación y el daño celular.⁵⁰ En el humano existen tres formas de SOD: la citosólica (CuZnSOD), la mitocondrial (MnSOD), y la extracelular (EC-SOD).⁶¹⁻⁶³

Otro mecanismo, es la descomposición enzimática del H_2O_2 e hidroperóxidos. La Cat y la GPx actúan en cooperación en la conversión del H_2O_2 en agua (Figura IV.3.2). El H_2O_2 sobre el que actúan la GPx y la Cat, no sólo proviene de la actividad de la SOD, sino también de otras reacciones metabólicas.^{62, 64, 66,67}

La GPx es una proteína que contiene selenio en su sitio activo. Se localiza en el citoplasma y la mitocondria, cataliza la oxidación del glutati3n reducido (GSH) a glutati3n disulfuro (GSSG) (Figura IV.3.2).⁶⁴

La Cat se encuentra en el citosol y los peroxisomas y contiene un grupo hemo responsable de su actividad catal3tica. Cataliza la reacci3n de descomposici3n del H₂O₂ (Figura IV.3.2).^{66, 67}

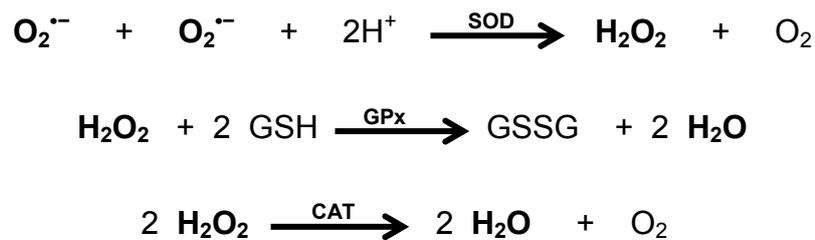


Figura IV.3.2 Actividad de las enzimas antioxidantes.

El balance entre la actividad de estas enzimas es determinante para la resistencia de las c3lulas contra el da3o oxidativo. Si la actividad de SOD est3 disminuida con respecto a la actividad de GPx y Cat, se favorece la acumulaci3n de ion O₂^{·-} que es t3xico para las macromol3culas. Una actividad incrementada de SOD con respecto a la actividad de GPx y Cat puede favorecer la sobreproducci3n de H₂O₂, el cual es responsable de la generaci3n de otras EROs.⁶⁶⁻⁶⁸

La alb3mina es la m3s abundante de las prote3nas s3ricas y tiene funciones de antioxidante primario pero tambi3n de antioxidante secundario. M3s del 35% de la actividad antioxidante del plasma se debe a la alb3mina,⁶⁹ la cual liga iones cobre y de 3ste manera inhibe la lipoperoxidaci3n y la formaci3n de OH[•], ambos dependientes del cobre. Aunque estas reacciones ocurren en la superficie de la prote3na, debido a su alta concentraci3n plasm3tica y su r3pido recambio, el da3o que le ocasiona es muy bajo. Por ello, se previenen reacciones de oxidaci3n en otras biomol3culas.⁶²

La lactoferrina, transferrina, ferritina y ceruloplasmina son proteínas atrapadoras de metales cuya función es secuestrar iones metálicos como hierro y cobre, y así evitar que se encuentren disponibles para la formación de radicales hidroxilo.⁷⁰

Antioxidantes secundarios

Este grupo incluye a las vitaminas A, C, E y componentes plasmáticos como la bilirrubina, el ácido úrico, la melatonina y los estrógenos. Los antioxidantes secundarios limitan o neutralizan el EOX ya que actúan en compartimientos hidrofóbicos o hidrofílicos eliminando, atrapando y estabilizando a las EROs ya formadas que han escapado de la primer línea de defensa antioxidante. De ésta manera inhiben la iniciación o propagación de las reacciones en cadena en las que están involucradas, limitando su efecto nocivo sobre moléculas blanco.⁷¹

Antioxidantes terciarios

Si los primeros dos sistemas antioxidantes no han sido eficientes y las biomoléculas son oxidadas, la tercera línea de defensa la componen los sistemas de reparación.

Dentro de este grupo están las enzimas reparadoras de lípidos como las fosfolipasas, glutatión transferasas y acetiltransferasas, que comienzan a reparar en la membrana celular y actúan en forma de cascada, una tras la otra.⁶² También las proteinasas, proteasas y peptidasas, que actúan sobre las proteínas y las exo y endo-nucleasas, glicosilasas, polimerasas y ligasas, que intervienen en la reparación del ADN.^{60,65} Éste tipo de antioxidantes se encargan de reparar las lesiones producidas en las biomoléculas oxidadas, restaurándolas a su conformación nativa.

Aunque algunos autores no consideran a las enzimas de reparación como parte del sistema antioxidante debido a la función que desempeñan, si forman parte de los mecanismos de defensa y protección contra el EOX, ya que se ha sugerido que el organismo podría sucumbir rápidamente al dañarse cualquiera de los componentes celulares vitales por daño oxidativo si solo tuviéramos a las enzimas y compuestos antioxidantes como medios de protección.⁷²

IV.4. Estrés oxidante.

El estrés oxidante se define como el desequilibrio bioquímico propiciado por la producción excesiva de especies reactivas (ER) y RL que provocan daño oxidativo a las biomoléculas y que no puede ser contrarrestado por los sistemas antioxidantes.²⁹

La producción de especies oxidantes es equilibrada por los sistemas antioxidantes, lo que contribuye al mantenimiento de la homeostasis. Los problemas se generan al perderse el equilibrio.

Si hay una marcada disminución de la producción de EROs se afecta la defensa inmunológica celular y las reacciones involucradas en la generación de energía en la mitocondria, así como los procesos fisiológicos donde es indispensable la acción de los RL.

Si el incremento de las EROs no puede ser contrarrestado por los sistemas antioxidantes, se desarrollará el EOx. Esto propicia el desarrollo de algunas enfermedades y sus complicaciones, además de ser una característica del envejecimiento (Figura IV.4.1).²⁶⁻²⁸

Según Finkel y Holbrook ⁷³ mientras exista equilibrio entre los antioxidantes y las ER generadas, éstas ejercerán sus funciones normales en el mantenimiento de la homeostasis y el crecimiento. Sin embargo, un desequilibrio en cualquiera de los dos sentidos favorece el desarrollo de enfermedades y alteraciones, si se incrementan las especies oxidantes se favorecen enfermedades crónicas y el proceso de envejecimiento.⁷³

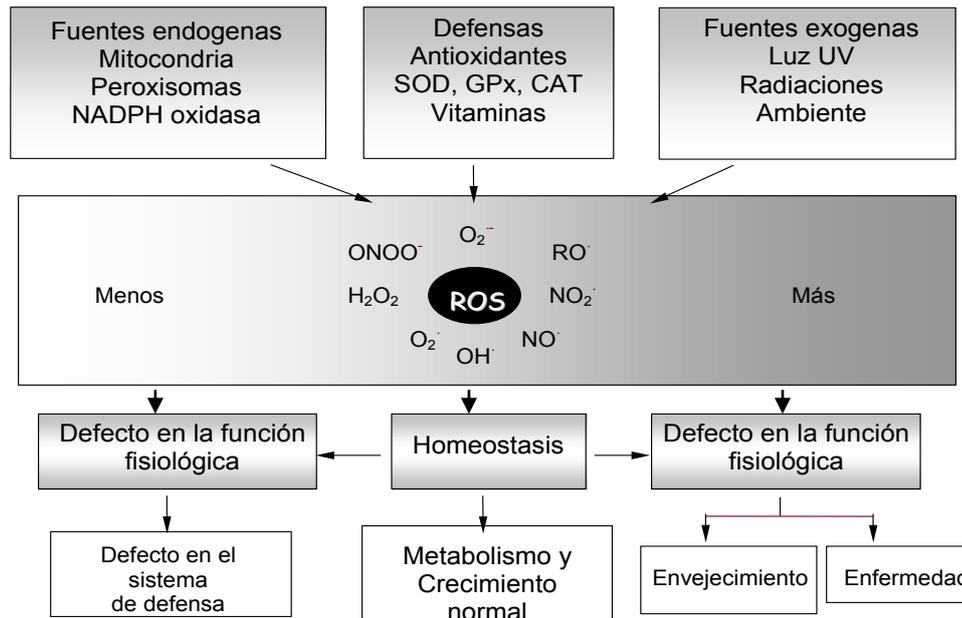


Figura IV.4.1 Estrés oxidante, homeostasis y enfermedad (Tomado de Finkel y Holbrook, 2000)⁷³.

IV.4.1. Marcadores biológicos del estrés oxidante.

Los daños causados por el estrés oxidante pueden ser evaluados por el estudio de biomarcadores sanguíneos.

Lipoperoxidación

El aumento de la concentración de lipoperóxidos, es un buen marcador de daño oxidativo a lípidos. En el proceso de lipoperoxidación se genera una variedad de productos relativamente estables, principalmente aldehídos reactivos α,β -insaturados, tal como MDA, 4-hidroxi-2-nonenal (HNE), 2-propenal e isoprostanos, los cuales pueden ser cuantificados en suero y en orina como una medida indirecta del Eox.⁵⁷ El MDA, es considerado el mejor marcador de peroxidación lipídica y se determina por medio del método del ácido tiobarbitúrico (TBA) en el que se forman complejos MDA-TBA, llamados TBARS (del inglés thiobarbituric acid reactive substances), los cuales son cuantificados espectrofotométricamente⁷⁰.

Actividad del sistema antioxidante

Se mide con la actividad de la SOD, la GPx y la relación SOD/GPx, los cuales estiman la actividad antioxidante intracelular.⁷⁴

La eficiencia del sistema antioxidante extracelular se evalúa por la capacidad antioxidante plasmática total (AT) y la capacidad antioxidante residual o brecha antioxidante (GAP).⁷⁴ La AT evalúa la actividad acumulada de todos los antioxidantes plasmáticos. La GAP se calcula restando a la AT, la concentración de albúmina y ácido úrico, lo cual refleja la actividad de antioxidantes plasmáticos como la vitamina A, el ácido ascórbico, α -tocoferol, la bilirrubina, haptoglobulina y transferrina.^{69,70}

Oxidación de proteínas

Los marcadores de la oxidación de proteínas son derivados de proteínas carboniladas, cadenas laterales de aminoácidos oxidados, fragmentos de proteínas y formación de AGEs. Los derivados carbonilados son muy lábiles y los AGEs son difíciles de detectar analíticamente, es por eso que se emplean la formación de orto-tirosina (o-Tyr) y ditirosina en RNAsa purificada expuesta a oxidación catalizada por metales para determinar el daño oxidativo *in vitro*, como medida del EOx.⁷⁰

Daño al ADN

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

Este método presenta ciertas ventajas: posee una alta sensibilidad en la detección de bajos niveles de daño al ADN, requiere de pequeñas cantidades de células, es de bajo costo y fácil de llevar a cabo^{75, 76}

En dicho método, las células son embebidas con agarosa en una placa que es lisada en altas concentraciones de sales y detergentes para después

aplicar un campo eléctrico en condiciones alcalinas, que permitirá al ADN dañado desenrollarse desde el núcleo hacia el ánodo para formar la cola de un cometa que indicará la cantidad de daño producido en esa célula.⁷⁷

También, se ha empleado la cuantificación de la 8-hidroxi-2`desoxiguanosina (8-OHdG u 8-oxodG) como marcador de EOX. Cuando el ADN oxidado es reparado, se forman productos de reparación solubles en agua que son excretados por la orina. Estos productos urinarios oxidados incluyen bases libres y desoxinucleósidos (como la 8-OHdG) que pueden reflejar la extensión del daño en el organismo. Para la determinación de dichos compuestos se requieren muestras obtenidas por métodos no invasivos, además de que existen métodos para su determinación como el HPLC (del inglés, high-performance liquid chromatography), GC-MS (del inglés, gas chromatography-mass spectrometry) y ELISA.^{78, 79}

Otras mediciones para determinar el daño en el ADN incluyen el acortamiento de telómeros y la presencia de satélites en los cromosomas, entre otras.^{57,80}

IV.5. Síndrome metabólico, estrés oxidante y daño al ADN.

En los últimos años se ha relacionado al EOX con muchos padecimientos, ya que las ER y los RL favorecen la presencia o complicaciones de enfermedades como la aterosclerosis, varios tipos de cáncer, procesos inflamatorios, diabetes mellitus (DM), resistencia a la insulina, síndrome metabólico, etc. El mecanismo fisiopatológico de estos padecimientos, se relaciona con el aumento en las alteraciones de la biomoléculas, producidas por las ER y los RL.^{29, 41,81}

En el 2004, Furukawa et al.⁸² realizaron un estudio en donde observaron que en el tejido adiposo de ratones y humanos obesos aumenta la concentración de EROs y disminuye la expresión de enzimas antioxidantes lo que nos sugiere que el aumento de EOX en la grasa acumulada es un indicador precoz del síndrome metabólico.⁸²

Otro estudio realizado en 2005 en personas con SM y sin SM, se encontró que hay una menor concentración de antioxidantes plasmáticos y un aumento de EOx en las personas que cursan con SM, que en personas sin SM.⁸³

En éste sentido, Abdilla et al.⁷⁴ publicaron un estudio realizado con 187 hipertensos, de los cuales 127 padecían SM. Determinaron el nivel de EOx midiendo enzimas antioxidantes (GPx, SOD y CAT), las especies reactivas se determinaron por medio de subproductos de la lipoperoxidación y daño al ADN. Concluyeron que la presencia de indicadores del SM contribuyen al aumento de EOx y pueden generar un aumento en la presión sanguínea.⁷⁴

También se sabe que la concentración de lipoproteínas es mayor en pacientes obesos; y en personas obesas con SM aumenta el estrés oxidante y los marcadores de la carga inflamatoria, lo que aumenta el riesgo de enfermedad cardiaca coronaria y cerebro-vascular en adultos con SM.⁸⁴

En nuestro país, Beristain-Pérez et al.⁸⁵ realizaron un estudio con AM de la ciudad de México donde sus resultados sugieren que el EOx constituye un factor de riesgo para enfermedades crónico-degenerativas especialmente para DM e hipertensión arterial.⁸⁵

Por otro lado, se sabe que las macromoléculas están expuestas constantemente tanto a daños extrínsecos como intrínsecos. Por ejemplo, las EROs que se producen durante el metabolismo normal celular son las principales especies que causan daño intrínseco, particularmente por la respiración mitocondrial. Cuando la producción de EROs excede la capacidad antioxidante, puede causar daño oxidante a las macromoléculas incluyendo el ADN.⁸⁶ El ADN es la molécula que contiene la información privilegiada de la célula y el ADN mitocondrial, en particular, debe durar toda la vida, es por ello que el daño al ADN representa una amenaza para el funcionamiento celular.⁸⁷ Está demostrado que el daño al ADN está asociado con la DM y que en estos pacientes existe un mayor daño que en aquellos que no son diabéticos, además se ha observado

una correlación positiva entre el daño al ADN y varios parámetros que integran al SM.^{88, 89}

Las células responden al estrés genotóxico por la activación de una cascada conocida como “respuesta de daño en el ADN” (RDA), ésta es una parte fundamental del envejecimiento celular y de una compleja red comprometida con los factores de reparación de daño al ADN y reguladores del ciclo celular.⁹⁰ Muchas proteínas están involucradas en la reparación del ADN entre las que destacan la poli (ADP-ribosa) polimerasa (PARP) y su sustrato esencial el dinucleotido de nicotinamida adenina (NAD⁺) son críticos en el proceso de reparación luego del daño oxidativo.⁹¹

Por otro lado, en los mamíferos la ingesta calórica y los cambios postprandiales regulan la esperanza de vida celular a través de una compleja combinación de procesos que incluye el metabolismo del oxígeno reducido y en consecuencia la producción mitocondrial de EROs. El estado proinflamatorio que existe en el SM originado por la ingesta excesiva de calorías, es probablemente el resultado de la sobre nutrición.⁹² La ingesta excesiva de macronutrientes conlleva a un estado de EOx en inflamación a nivel celular y molecular. Por lo tanto, la ingesta de calorías es una fuente importante de EOx e inflamación.^{92, 93}

Como sabemos, la mitocondria es la fuente principal de EROs, al mismo tiempo también es una diana celular de daño mediado por EROs, se sabe también que dichas EROs provenientes de la mitocondria actúan como segundos mensajeros y pueden conducir a la activación de sensores que regulan la señalización retrógrada al núcleo.⁹⁴ Dicha señalización retrógrada es la responsable de la alteración del estado funcional de la mitocondria.⁹⁵ La activación redox de JNK (proteína que responde a estímulos por estrés) y p53 (proteína supresora de tumores que se une al ADN, regula la expresión de diferentes genes) sirven como sensores para retransmitir el EOx dentro de la cascada de señalización. Es por ello que la producción de EROs puede inducir la biogénesis mitocondrial mediante el daño al ADN (Figura IV.5.1).⁹⁶

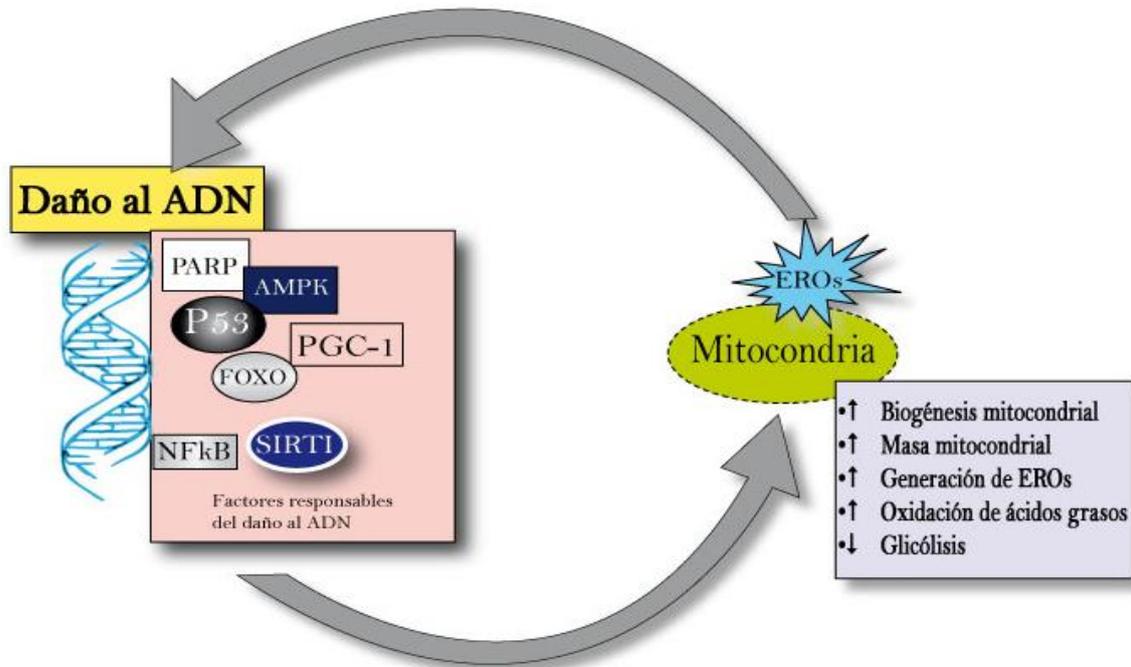


Figura IV.5.1 Círculos de retroalimentación positiva entre los factores de daño al ADN, función mitocondrial y la generación de EROs en la senescencia inducida por estrés. El incremento de EROs por la mitocondria, conduce al daño al ADN. La interacción entre los factores que operan en respuesta al daño al ADN mejora la biogénesis mitocondrial, promueve la oxidación de ácidos grasos y generación de EROs, por lo tanto mantienen la senescencia celular (Tomado de Erol 2010)⁹⁶

IV.6. Inflamación y envejecimiento.

La inflamación es una respuesta defensiva del organismo ante la agresión producida por agentes infecciosos, agentes químicos, estímulos antigénicos o lesiones físicas. En el proceso inflamatorio participan los sistemas nervioso, vascular, endocrino e inmunológico. Inicialmente la inflamación se caracteriza por: rubor, dolor, tumefacción, edema y disminución de las funciones del área afectada. Si el proceso de defensa no es eficiente, el proceso se convierte en una inflamación crónica, proceso fisiopatológico que favorece el incremento de RL y por consecuencia, un aumento de EOx.^{97,98}

Se sabe que el proceso de envejecimiento se acompaña de un proceso inflamatorio, incluso en ancianos sanos, ya que se ha demostrado que existe un incremento en la producción de citocinas proinflamatorias al aumentar la edad.⁹⁹⁻

107

A partir de esos estudios surgió el concepto de inmunosenescencia, el cual se refiere a los cambios del sistema inmune durante el envejecimiento. Estos

cambios incluyen la remodelación de la inmunidad innata y la alteración de la inmunidad adaptativa.^{108,109}

En condiciones normales el sistema inmune se adapta a los diferentes retos a los que es sometido, a fin de que su funcionamiento sea óptimo (inmunidad innata). A lo largo de la vida se acumulan los efectos del estrés y la funcionalidad de sistema inmune disminuye, lo que permite que el estado inflamatorio se convierta en crónico (remodelación de la inmunidad innata). En los ancianos hay un incremento en el estímulo de los sistemas inmunológicos innato y adaptativo, sin embargo la capacidad de respuesta del sistema es menor.^{108,109}

En la inmunidad adaptativa el sistema inmune usa células como los macrófagos y los linfocitos T que permiten que el individuo responda a los agentes estresores. En el envejecimiento existe una disminución de la capacidad de los linfocitos T del sistema para producir nuevas moléculas como mecanismo de defensa, (alteración de la inmunidad adaptativa).¹⁰⁹

IV.6.1. Inflammaging.

Deriva del concepto de inmunosenescencia, ya que es un estado inflamatorio en la vejez, dicho proceso es complejo. Se basa en la activación de macrófagos conforme aumenta la edad y un llenado del espacio inmunológico con clones de células T de memoria no eficiente dirigidos hacia antígenos de patógenos comunes. Esto ocurre mientras hay una reducción de células T que no han tenido contacto con algún antígeno (vírgenes), lo que limita la capacidad del organismo para responder a nuevos retos antigénicos (Figura IV.6.1).¹⁰⁸⁻¹¹⁰

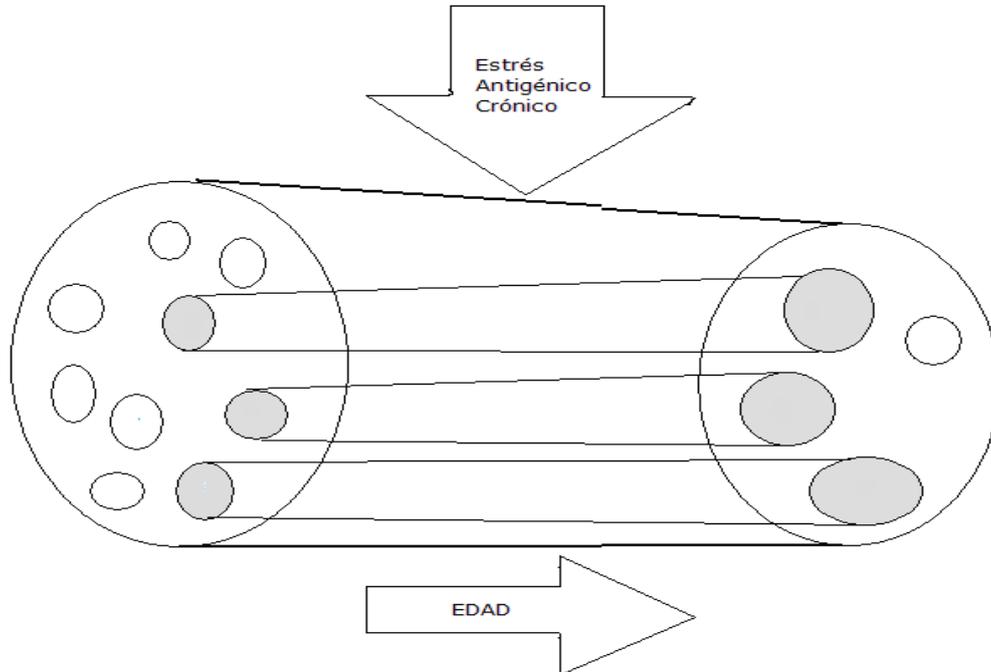


Figura IV.6.1. **Representación esquemática de la hipótesis del llenado del espacio inmunológico.** El número de células nativas CD95 decae con la edad (círculos pequeños) y el espacio restante es ocupado por la extensión de los clones de las células efectoras/de memoria CD28 (círculos grandes). La capacidad de responder a nuevos antígenos decae mientras abundan clones contra antígenos persistentes. (Modificado de Franceschi et al. 2007).¹⁰⁸

Esta inflamación se convierte en dañina al no desarrollar a la par un mecanismo fisiológico anti-inflamatorio que permita neutralizar este proceso que se presenta de manera constante y afecta al organismo. En el proceso de “inflammaging”, aumenta la síntesis y liberación de la lipoproteína A, el fibrinógeno, los factores de coagulación, las citocinas proinflamatorias como la IL6, IL1, el factor de necrosis tumoral alfa (FNT- α) y moléculas de adhesión.^{99, 100, 111}

Se ha observado en estudios con personas centenarias que tanto sanos como enfermos presentan “inflammaging”. Sin embargo, se ha reportado que las personas sanas tienen una mayor concentración de citocinas antiinflamatorias como IL-10 e IL-4, es por ello que se ha planteado la existencia de un proceso llamado “anti inflammaging”, vinculado con un polimorfismo genético, mismo que es un perfil constante en ancianos que cursan con envejecimiento exitoso.¹⁰⁸⁻¹¹³

Diversos autores plantean que el proceso de inflammaging es probablemente uno de los factores responsables del desarrollo de la mayor parte de las

enfermedades asociadas al envejecimiento como: los padecimientos cardiovasculares, el cáncer, la obesidad, diabetes, artritis, demencia, las enfermedades neurodegenerativas y también se le relaciona en procesos propios del envejecimiento como la sarcopenia.⁹⁹⁻¹⁰⁷

En los ancianos el proceso “inflammaging” no se presenta de manera aislada, además de la carga antigénica que activa la respuesta inmunológica remodelada, está vinculada con la producción de las EROs, que también actúan como agentes estresantes de este sistema. Por ello, en el organismo de un anciano se genera un proceso cíclico en donde el EOx estimula la respuesta del sistema inmune y viceversa. Las interleucinas implicadas en la inflamación son sensibles al EOx y modifican su actividad al cambiar el estado redox intracelular. Estas interleucinas a su vez estimulan la generación de más ER, lo que induce el envejecimiento y el proceso de “inflammaging”. Este desequilibrio entre la respuesta inmune y el EOx estimula la liberación constante de citocinas proinflamatorias.^{114, 115}

Por ello, el envejecimiento es un proceso complejo resultado de la interacción de diversos factores genéticos, ambientales y de estilo de vida. Estos dos últimos, son factores que pueden modificarse para lograr un envejecimiento saludable.

IV.6.2. Marcadores biológicos del proceso inflamatorio crónico.

La proteína C reactiva (PCR) es una proteína cíclica pentamérica. Se denomina así porque precipita el polisacárido somático C del *Streptococcus pneumoniae*. Es parte de la inmunidad innata y es producida principalmente por los hepatocitos como respuesta al daño tisular, las infecciones, los procesos inflamatorios y las neoplasias. Se le conoce como proteína de fase aguda porque participa en respuestas de emergencia, que se incrementa al desequilibrarse ciertos mecanismos homeostáticos que mantienen funcionando al organismo ante diversos retos.¹¹⁶

La PCR es considerada como un buen marcador de inflamación sistémica. En personas sanas la concentración de ésta proteína es menor a 1mg/L, mientras

que en sujetos que presentan concentraciones entre 1 y 10 mg/L, padecen desórdenes metabólicos como el síndrome metabólico, elevado índice de masa corporal, aterosclerosis, diabetes, de artritis reumatoide, fiebre reumática, tuberculosis, lupus eritematoso, enfermedades coronarias, entre otras.¹¹⁷⁻¹¹⁸ Las concentraciones séricas mayores a 10 mg/L indican la presencia de una respuesta inflamatoria aguda.¹¹⁶

La expresión de la PCR está regulada por citocinas proinflamatorias como IL1, IL6 y TNF- α . Las citocinas son proteínas producidas por distintos tipos celulares del sistema inmune en respuesta a una activación celular. Su función fundamental es la regulación de la respuesta inmune e inflamatoria.¹¹⁸

Las IL son glucoproteínas de bajo peso molecular (<80 kDA), permiten la comunicación entre las diferentes poblaciones de leucocitos. Estimulan la multiplicación, la diferenciación y la respuesta de los linfocitos T, B y otras células que participan en la respuesta del sistema inmune. Las interleucinas se clasifican en proinflamatorias (IL-1 α , IL-1 β , TNF- α , IL-6 IL-8) y anti-inflamatorias (IL-4 e IL-10).¹¹⁷

IL-6

Es producida por linfocitos T y B, macrófagos, fibroblastos y varias líneas de células tumorales. Las endotoxinas son buenas inductoras de su síntesis. La IL-6 participa en la inducción de las reacciones inflamatorias junto con el TNF- α , estimula la respuesta de fase aguda, inhibe la proliferación celular, tiene efecto pirogénico, entre otros. Por ejemplo, se ha reportado que el aumento de la concentración IL-6 y TNF- α en personas con SM, se asocia con un daño en el tejido periodontal.^{117, 119}

IL-8

Es un pequeño péptido de 8 a 10 kDa producido por neutrófilos, linfocitos T, macrófagos y células endoteliales, participa como mediador de las reacciones inflamatorias. Esta IL causa inflamación aguda mediante el reclutamiento y la activación de los neutrófilos.¹¹⁷ Contribuye en la patogénesis de la aterosclerosis ya que las lipoproteínas de baja densidad (LDL-Colesterol) oxidadas y los

macrófagos presentes en las placas ateroscleróticas, estimulan la secreción de IL-8.¹²⁰

En los humanos se han asociado altas concentraciones de IL-8 con el aumento en la incidencia de enfermedades coronarias, además existen evidencias experimentales de que ésta citocina es producida también por el tejido adiposo en humanos.^{121,122}

TNF- α

Es una citocina proinflamatoria que es secretada por monocitos, macrófagos, neutrófilos, células NK y linfocitos T. Está compuesta por 3 subunidades enlazadas entre sí, cada subunidad está formada por un péptido de 17 kDa. Tiene una potente actividad citotóxica capaz de asesinar células tumorales y de actuar como un mediador letal en la respuesta inmune de enfermedades inflamatorias crónicas e infecciosas. Las infecciones bacterianas pueden acelerar la síntesis del TNF- α por los macrófagos. Ésta citocina participa en la apoptosis de células que expresan su receptor de membrana, puede inducir necrosis de tumores, estimular la fagocitosis, provocar necrosis hemorrágica de ciertos tumores y vasos sanguíneos, favorecer la lipogénesis y aumentar la trigliceridemia.^{120,123}

IL-10

Es una IL con actividad inmunosupresora y antiinflamatoria, que actúa inhibiendo la actividad de los linfocitos T, monocitos y macrófagos. La función principal de ésta IL, es limitar y terminar las respuestas inflamatorias. Regula el crecimiento y diferenciación de las células NK y células T cooperadoras, mastocitos, granulocitos, células dendríticas, queratinocitos y células endoteliales.¹²⁴ Regula la sobreproducción de citocinas inflamatorias como el TNF- α , IL-6, IL-8 e interferón gamma.^{117, 123}

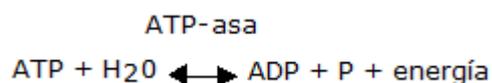
IV.7. Ejercicio físico.

La actividad física se define como cualquier movimiento corporal producido por los músculos esqueléticos que da como resultado el gasto de energía, en tanto que el ejercicio físico es una categoría de actividad física específica, libre y voluntaria con movimientos corporales planeados, estructurados y repetitivos, realizados para mantener una o varias de las cualidades biomotoras, con el objeto de mejorar el funcionamiento del organismo.¹²⁵

Abdel-Khaleket al.¹²⁶ observaron que el ejercicio minimiza los cambios fisiológicos asociados al envejecimiento, previene la disminución de la masa muscular; aumenta la fuerza muscular, la velocidad de contracción, la función mitocondrial, la capacidad enzimática oxidante, la capacidad aeróbica, la contractibilidad cardíaca, la velocidad de conducción nerviosa y disminuye la intolerancia a la glucosa, entre otros.¹²⁶

Bassey¹²⁷ afirmó que el ejercicio contribuye al bienestar psicológico ya que su práctica está asociada con una menor prevalencia e incidencia de síntomas depresivos; también incrementa la longevidad y disminuye el riesgo de desarrollar las enfermedades crónico degenerativas más comunes en el anciano; es útil como tratamiento primario o adjunto de diversos padecimientos y contribuye a la prevención y el tratamiento de la discapacidad.¹²⁷

Por otro lado, para la contracción muscular, el sustrato energético inicial es el adenosintrifosfato (ATP). La hidrólisis del ATP mediada por la ATP-asa proporciona energía directamente al músculo para su contracción.



Es una vía rápida de obtención de energía, pero sólo es posible mantenerla durante pocos segundos, debido a que los depósitos musculares de ATP son una reserva energética limitada.

En términos generales el músculo dispone de tres sistemas para la regeneración del ATP a partir de ADP: Fosfocreatina (PC), glucólisis anaeróbica y glucólisis aeróbica (ciclo de Krebs).

La utilización de cada uno de los sistemas depende de la intensidad y duración del esfuerzo, aunque se solapan entre sí (Cuadro IV.7.1).^{125, 128,129}

Cuadro IV.7.1 Fuentes de energía.

Sistema energético	Duración	Combustible
Anaeróbico	0 a 15 seg.	Fosfágeno (ATP +PC)
Anaeróbico láctico	1 a 2 min.	Glucosa
Aeróbico	Más de 2 min.	Glucógeno + ácidos grasos

Modificado de Silverthorn et al, 2008.¹²⁸

IV.7.1. Efectos del ejercicio físico en el envejecimiento.

Diversos autores proponen que existen efectos positivos de la actividad física sobre el proceso de envejecimiento.^{130,131}

Se ha demostrado que la práctica regular de ejercicio físico:¹³⁰⁻¹³⁵

- *Minimiza los cambios fisiológicos asociados con el envejecimiento.
- *Contribuye al bienestar psicológico.
- *Incrementa la longevidad y disminuye el riesgo de varias de las enfermedades crónicas más comunes.
- *Coadyuva como tratamiento primario o adjunto en ciertas enfermedades crónicas y contrarresta los efectos secundarios de algunos tratamientos médicos.
- *Ayuda en el tratamiento y la prevención de la incapacidad ya que disminuye la atrofia muscular.
- *Mantiene la capacidad física.
- * Estimula la adaptación del sistema cardiovascular y músculo esquelético.
- *Disminuye el riesgo de caídas.
- *Contrarresta la acumulación del tejido adiposo y su deposición visceral.
- *Disminuye los niveles de glucosa y lípidos circulantes.
- *Incrementa la densidad mineral ósea.

La realización de ejercicio físico se asocia también con beneficios a nivel bioquímico: Mejora el perfil de lípidos, disminuye la concentración de LDL y aumenta las lipoproteínas de alta densidad (HDL), reduce la presión arterial sistólica y regula la presión arterial diastólica, equilibra la síntesis de proteínas y la tasa de absorción de aminoácidos por el músculo esquelético, reduce la concentración de colesterol y triglicéridos. Aumenta la tolerancia a la glucosa y disminuye la concentración de glucosa en sangre debido al aumento en la sensibilidad a la insulina, por lo que se le asocia a la disminución de la incidencia de la DM.¹³⁶

IV.7.2. Ejercicio físico moderado, estrés oxidante e inflamación.

La sobreproducción de ER puede ser causado por la exposición a contaminantes ambientales, excesiva ingesta de nutrientes o actividad física. Un incremento en el consumo de oxígeno, como ocurre en el ejercicio, puede resultar en un estado agudo de EOX. La generación de ER en respuesta al ejercicio extenuante puede ocurrir por la respiración mitocondrial, en donde escapan electrones desde la cadena de transporte de electrones lo que da como resultado la formación del radical superóxido. También el metabolismo de los prostanoïdes, la autooxidación de catecolaminas y la actividad de enzimas oxidasas (NAD(P)H oxidasa, xantina oxidasa) generan ER.¹³⁷⁻¹³⁹

En la práctica del ejercicio se da un proceso inflamatorio tanto por reacción directa del tejido ejercitado como por la acción de las células del sistema inmunológico cuando se liberan citocinas proinflamatorias y antiinflamatorias.

Sin embargo, aunque las vías mencionadas representan fuentes de ER y marcadores de inflamación durante el ejercicio, el tipo de ER depende del modo, intensidad y duración del ejercicio.^{136, 139,140}

Fisher-Wellman y Bloomer¹⁴¹, reportaron que el ejercicio aeróbico intenso genera un fuerte estímulo que provoca un incremento en la producción de ER tanto en animales como en humanos y a pesar de que se cuenta con un sistema antioxidante las defensas no son suficientes para eliminar el daño oxidativo generado, ya que se incrementa la oxidación de lípidos, proteínas, ADN y glutatión.¹⁴¹

Algunos autores afirman que el ejercicio moderado mejora la salud física al aumentar la capacidad de respuesta ante los RL, por el mecanismo de hormesis. Sin embargo el ejercicio causa EOx cuando es intenso. De acuerdo con esta propuesta, una concentración óptima de ER conduce a un estado saludable, mientras una cantidad reducida o exagerada resultan en una defensa deficiente o un estado de daño oxidativo e inflamación y ambos casos promueven el desarrollo de enfermedades.¹⁴²⁻¹⁴⁴

El ejercicio físico moderado estimula la respuesta inmunológica innata y adquirida, mientras que el ejercicio de gran intensidad la disminuye.^{130, 131} La activación del sistema inmunológico innato se muestra por el incremento en el número y actividad de las células asesinas naturales, así mismo en el número y función de los neutrófilos, un ligero incremento de la concentración de las citocinas antiinflamatorias y ligera disminución de las proinflamatorias. Los patrones de respuesta de la inmunidad adaptativa no están del todo definidos. Se ha observado que después de seis meses de ejercicio moderado, aumenta el número de células vírgenes y disminuye el de las células T de memoria.¹⁴⁵⁻¹⁴⁹

IV.7.3 Tai Chi.

El Tai Chi es utilizado ampliamente en el ámbito gerontológico, ya que es de intensidad moderada y requiere movimientos lentos (Figura IV.7.3.1).

El Tai Chi es una forma de ejercicio tradicional chino basado en modificaciones a las artes marciales, cuyos orígenes se registran a finales de la dinastía Ming (1368-1644) e inicios de la dinastía Quing (1645-1911). Es clasificado como una actividad física moderada ya que su intensidad no excede el 55% del gasto de oxígeno máximo ni el 60% del ritmo cardiaco máximo individual.¹⁵⁰ Su popularidad ha aumentado por los efectos benéficos de esta disciplina en varios aspectos de la salud en los adultos mayores que la practican. No tiene riesgos porque es una serie de movimientos suaves y continuos, cuya ejecución precisa del control de la posición, la respiración profunda y la coordinación de los movimientos en piernas, brazos, torso y cabeza. Se pasa de una posición a otra desplazando el punto de equilibrio sin detenerse, es necesario un estado de relajación y concentración para lograr el equilibrio en los movimientos que caracteriza este ejercicio.¹⁵¹



Figura IV.7.3.1. Práctica de Tai Chi. La imagen muestra los movimientos lentos y coordinados que caracterizan al Tai Chi

Se ha descrito que existen cinco estilos principales de Tai Chi cuyo nombre deriva de la familia que lo desarrolló: Estilo Yang, Cheng, Sun, Wu Quian (Jian Quian) y Wu Quin (He Quin).^{150,151}

Cada estilo de Tai Chi tiene una técnica característica respecto a las posiciones o formas incluidas, en el orden y la velocidad a la cual son ejecutados los movimientos y la de dificultad de la técnica. Aunque difieren en el enfoque de la postura y en la posición del centro de gravedad, todos los estilos enfatizan la relajación, concentración mental y coordinación de los movimientos. La práctica del Tai Chi requiere memorizar los nombres asociados a cada postura y su secuencia.¹⁵¹

Los ejercicios promueven la postura, flexibilidad, relajación, el bienestar y la concentración mental. Se caracterizan por la lentitud extrema del movimiento, la continuidad absoluta sin interrupción y un enfoque total de la conciencia sobre la ejecución. A diferencia de la mayoría de los ejercicios que se caracterizan por la fuerza muscular y el esfuerzo, los movimientos del Tai Chi son lentos, suaves y ligeros. La concentración activa de la mente es un instrumento para orientar el flujo del movimiento del cuerpo. Así, el Tai Chi no es sólo un ejercicio físico, ya que también implica la formación de la mente, lo que ha llevado a algunos a considerarlo la práctica de "meditación en movimiento".¹⁵⁰

Aunque el Tai Chi sigue los principios de otros tipos de artes marciales que se centran en la auto-defensa, su principal objetivo es promover la salud y la paz de

la mente. El Tai Chi se lleva a cabo lentamente, con respiración profunda y consistente. Los movimientos deben ser realizados en un lugar tranquilo que favorezca lograr un estado relajado. Los músculos y las articulaciones deben relajarse de modo que el cuerpo sea capaz de pasar fácilmente de una posición a otra, la columna vertebral debe mantenerse en una posición natural erguida, mientras la cabeza, el torso, los brazos y las piernas deben ser capaces de moverse libre y suavemente. La parte superior del cuerpo se mantiene recta, no debe inclinarse hacia delante o hacia atrás, ni hacia la izquierda o derecha (Figura III.7.3.2).¹⁵⁰⁻¹⁵²



Fig.IV.7.3.2. Práctica de la forma ocho de Tai Chi, acariciando la crin del caballo. Un brazo queda pendiendo en el aire mientras el otro se desplaza diagonalmente, las piernas deben moverse de forma coordinada sin perder el equilibrio.

Durante la ejecución de los movimientos, se necesita la coordinación de éstos con la respiración. Las personas deben practicar la "respiración natural en donde la persona respira lenta y profundamente, inhalando y exhalando por la nariz, con la boca cerrada pero sin apretar los dientes. La punta de la lengua se mantiene ligeramente contra el paladar. Al inhalar la parte inferior del abdomen se expande y una vez que los pulmones están llenos de aire, se exhala y el abdomen se contrae. El patrón de la respiración sigue la sucesión de los movimientos de los brazos: la inhalación se produce cuando los brazos se extienden hacia afuera o hacia arriba y la exhalación cuando los brazos se contraen o se extienden hacia abajo. Con el tiempo respirar se convierte en una parte inconsciente del ejercicio (Figura IV.7.3.3).¹⁵¹



Figura IV.7.3.3 Práctica de la forma ocho de Tai Chi, el gallo dorado se para sobre una pata. El cuerpo se mantiene erguido mientras se flexiona un pie y una mano, al tiempo que se elevan a la altura de la cintura y de la cabeza respectivamente. El punto de equilibrio se mantiene sobre el pie que no se eleva, luego se realizan los mismos movimientos del lado contrario.

A lo largo de la práctica del Tai Chi, la mente se mantiene alerta pero tranquila, la dirección de los movimientos suaves se centra en la propia energía interna. Esta concentración es parte integral de la práctica ya que si los movimientos se realizan sin la concentración adecuada, el Tai Chi sería como cualquier otro tipo de actividad física moderada. La variedad y la naturaleza de los movimientos garantizan que se logre la concentración al ejecutar los movimientos.¹⁵¹

La orientación filosófica del Tai Chi se toma de los elementos del yang (actividad) y el yin (inactividad) y del gi (la energía vital de la respiración). De conformidad con los símbolos del yin y el yang, en el Tai Chi los movimientos son circulares, están diseñados para equilibrar el gi o energía vital, en los meridianos del cuerpo y fortalecerlo para evitar las enfermedades. La práctica del Tai Chi no propone la adopción de una espiritualidad específica o sistema de creencias sino que se ha utilizado clínicamente como una intervención terapéutica.¹⁵²

El estilo clásico Yang incluye 108 posturas con algunas secuencias repetidas. Cada sesión de entrenamiento incluye unos 20 minutos de calentamiento, 25 minutos de la práctica del Tai Chi, y 10 minutos de enfriamiento. La intensidad del ejercicio depende del estilo de la forma, la postura y la duración.¹⁵¹⁻¹⁵³

Son numerosos los estudios que muestran los beneficios del Tai Chi en aspectos como balance, estabilidad, elasticidad y equilibrio que son indispensables en el mantenimiento de la marcha y la disminución de las caídas en los AM. También se ha vinculado con resultados positivos sobre el sistema cardiovascular, respiratorio, inmunológico, endocrino y en las respuestas psicológicas. Mejora el estado depresivo y el deterioro cognitivo pues la práctica exige profunda concentración, memorización de los movimientos, de sus nombres y su secuencia. ¹⁵⁴⁻¹⁵⁷

En el cuadro IV.1 se presenta una síntesis de estudios que muestran los efectos de la práctica del Tai Chi en diversos aspectos, en donde se pueden apreciar que quienes lo practican obtienen múltiples beneficios, lo que nos permite concluir que los AM que practica Tai Chi, pueden mejorar en su estado de salud.

Cuadro IV.7.3.1 Estudios referentes al efecto de la práctica de Tai Chi sobre EOX, inflamación y daño al ADN.

Autor, año	Universo de estudio	Objetivos	Intervención	Parámetros determinados	Hallazgos en los participantes
Liu et al. (2008) ¹⁵⁸	11 participantes (3 hombres y 8 mujeres) de 42 a 65 años con niveles elevados de glucosa en sangre.	Evaluar el efecto de un programa de Tai Chi y Qigong sobre calidad de vida, indicadores de SM, índice glucémico, y factores psicológicos.	Los participantes practicaron Tai Chi y Qigong de 1 a 1.5 horas 3 veces a la semana durante 12 semanas.	Indicadores de SM: IMC, circunferencia de cintura, tensión arterial, glucosa, triglicéridos, HbA1c, HDL-colesterol. índice HOMA, calidad de vida, depresión y memoria.	Disminución en algunos indicadores de SM como IMC, circunferencia de cintura, TAS, TAD. También disminuyeron los niveles de HbA1c, resistencia a la insulina y depresión. Aumentó la memoria así como la percepción de calidad de vida.
Lam et al. (2008) ¹⁵⁹	53 personas con DM2.	Evaluar el efecto de la práctica de Tai Chi sobre la tensión arterial, HbA1c y el estado de salud	Un grupo de personas que practicaron Tai Chi y otro grupo de sedentarios	HbA1c, glucosa en ayunas, índice HOMA, colesterol, triglicéridos, calidad de vida, tensión arterial, y funcionalidad física.	En el grupo que realizó Tai Chi hubo una disminución de HbA1c y colesterol, también aumentó la funcionalidad física respecto a la medición basal.
Goon et al. (2008) ¹⁶⁰	70 personas sanas de 45 años de edad en adelante.	Evaluar el efecto del Tai Chi sobre el daño al ADN	35 personas sedentarias como grupo control y otro grupo de 35 personas que practicaban Tai Chi por lo menos 3 veces a la semana desde al menos un año antes de iniciar el estudio.	Daño al ADN por ensayo cometa, viabilidad de linfocitos y entrecruzamiento de cromátides hermanas.	El grupo que hizo Tai Chi presentó una mayor proporción de daño leve al ADN y una menor proporción de daño medio y alto. También se observó una disminución de entrecruzamiento de cromátides hermanas y un incremento en la proliferación de linfocitos y apoptosis, lo que refleja una mejor reparación y proliferación celular.
Goon et al. (2009) ¹⁶¹	60 personas sanas de 45 años en adelante.	Evaluar el efecto del Tai Chi sobre el daño al ADN, enzimas antioxidantes y EOX	30 personas sedentarias y 30 personas que practicaban Tai Chi 2 veces a la semana durante 12 meses	GPx, SOD, Catalasa, Daño al ADN por ensayo cometa, MDA y AGEs	Se observó a los 6 meses ligera disminución del daño al ADN normal y aumento del daño leve con aumento de la actividad de GPx. A los 12 meses se observó disminución de MDA y AGEs acompañado de aumento de SOD.

Chen et al. (2010) ¹⁶²	Un grupo de personas de 40 a 70 años de edad obesos con DM2.	Evaluar el efecto del Tai Chi sobre el perfil lipídico y EOX.	Un grupo de personas que realizó 12 semanas se práctica de Tai Chi y otro grupo de personas que realizaban ejercicio físico convencional, 3 veces por semana durante 1 hora.	HbA1c, triglicéridos, HDL-colesterol, MDA, PCR e IMC	En el grupo de personas que practicaron Tai Chi, no se observó disminución de HbA1c, disminuyó el IMC, los triglicéridos, los niveles de MDA y PCR; aumentó el HDL colesterol. El grupo que realizó ejercicio físico convencional no presentó mejora en ninguno de los parámetros.
Palasuwan et al. (2011) ¹⁶³	15 mujeres, de las cuales 8 son premenopáusicas y 7 postmenopáusicas	Evaluar el efecto del Tai Chi sobre la actividad antioxidante y el riesgo cardiovascular en mujeres sedentarias	8 semanas de practicar Tai Chi, dos veces por semana en clase y dos veces en casa.	Tensión arterial, flexibilidad, balance, capacidad aeróbica, perfil lipídico, SOD y GPx, CAT, MDA y homocisteína.	Mejóro el balance y la flexibilidad, incremento de la GPx así como de la CAT. Disminución de las LDL así como de la homocisteína.
Rosado-Pérez, (2011) ¹⁶⁴	Estudio longitudinal en 137 AM sanos o con padecimientos Crónico degenerativos controlados.	Evaluar el efecto de la caminata, el Tai Chi y una combinación de ambos sobre marcadores de EOX y del PIC.	Se aplicaron 3 programas de Ejercicio 5 días a la semana por 50 minutos durante 6 meses. Un grupo de AM realizó Tai Chi, otro grupo hizo caminata y el tercer grupo Ejercicios combinados (Tai Chi y caminata) y un cuarto grupo control.(sedentarios)	Lipoperóxidos, SOD, GPx, CAT, IL-6, IL-10, TNF- α , PCR	En los grupos 3 tipos de actividades realizadas se tuvo un efecto antioxidante y antiinflamatorio. Sin embargo, El Tai Chi generó una mejor respuesta antioxidante y antiinflamatoria, un menor índice de EOX, se observó un incremento de la IL-10, disminución del TNF α , disminuyó la concentración de colesterol, LDL-colesterol y la TAS.
Jarelsins et al. (2011) ¹⁶⁵	19 sobrevivientes de cáncer de mama.	Evaluar el efecto del Tai Chi sobre los niveles de insulina y de citocinas inflamatorias	12 semanas de practica de Tai Chi comparado un grupo control con terapia de soporte psicosocial.	Insulina, IGF-1, IGFBP1, IGFBP3, IL-6, IL-2,IFN- γ	En el grupo que realizó Tai Chi se observó un incremento de IL-6 y disminución de IL-2, así como niveles de insulina estables. Por lo que se asocia un estado inflamatorio a la práctica de Tai Chi.
Rosado-Pérez et al. (2012) ¹⁶⁶	55 adultos mayores sanos.	Determinar el efecto de la práctica de Tai Chi sobre el EOX.	Un grupo de 23 personas como control (sedentarios), otro grupo de 32 personas que realizaron Tai Chi diariamente por 50 minutos durante 6 meses.	TBARS, CAT SOD, GPX, LDL-Colesterol y tensión arterial	En quienes realizaron Tai Chi se observó una disminución de niveles de glucosa, colesterol, LDL-colesterol y TAS. También se generó un incremento de la actividad de SOD y GPx así como de CAT.

Rosado-Pérez et al. (2013) ¹⁶⁷	Estudio longitudinal con 79 AM sanos.	Evaluar el efecto de la práctica de Tai Chi y caminata sobre marcadores de EOx	23 personas en un grupo control, 43 que realizaron caminata y 31 personas que realizaron Tai Chi, durante 6 meses por 1 hora 5 veces a la semana.	Lipoperóxidos, SOD, GPx, CAT, Índice de EOx	Se observó una disminución de Lipoperóxidos así como del índice de EOx en el grupo que realizó Tai Chi, acompañado de un aumento de la actividad de SOD.
Xing-Yu et al. (2014) ¹⁶⁸	10 mujeres jóvenes sedentarias.	Evaluar el efecto de la práctica de 12 semanas de Tai Chi sobre la capacidad antioxidante, daño y reparación de DNA.	Todas las mujeres practicaron la forma 24 de Tai Chi 1 hora, 5 veces a la semana por 12 semanas.	SOD, GPx, GSH, MDA, 8-OHdG, OGG1 (8-oxoguanina DNA glicosilasa), OH-IC (Capacidad inhibitoria del radical hidroxilo).	Aumento de la SOD y OH-IC así como de OGG1 a las 8 y 12 semanas. Disminución de MDA a las 8 semanas sin permanecer éste nivel hasta las 12 semanas. Sin cambio en los niveles de GPx, GSH ni 8-OHdG. La práctica de Tai Chi provoca una eficiente respuesta al EOx y aumento de la capacidad de reparación de DNA en mujeres jóvenes sedentarias.
Campo et al. (2015) ¹⁶⁹	63 mujeres sobrevivientes de cáncer.	Evaluar el efecto de la práctica de Tai Chi y clases de educación para la salud	Un grupo de 32 mujeres practicaron Tai Chi y otro grupo de 31 mujeres tomaron clases de educación para la salud, en 3 sesiones de 60 minutos a la semana durante 12 semanas.	Presión arterial, Cortisol, IL-4, IL-6, IL-10, IL-12, TNF- α	El grupo que practicó Tai Chi presentó una disminución en la TAS y cortisol, sin embargo no hubo diferencias significativas en las interleucinas medidas respecto a la medición basal. El grupo que no realizó Tai Chi no presentó diferencias en ninguno de los parámetros medidos.
Zhou et al. (2015) ¹⁷⁰	43 mujeres de entre 55 a 68 años.	Determinar el efecto de la práctica de Tai Chi sobre la postura y equilibrio al caminar en mujeres.	Dos grupos de estudio, uno con 22 mujeres que durante 24 semanas practicaron Tai Chi y otro con 21 mujeres sin practicar ningún ejercicio.	Examen de equilibrio y postura.	Mejóro la postura y equilibrio de las mujeres que practicaron Tai Chi. Los resultados sugieren que la práctica del Tai Chi mejora la postura y equilibrio de quienes lo realizan.
Robins et al. (2015) ¹⁷¹	Estudio longitudinal con mujeres con riesgo cardiovascular de 35 a 50 años.	Evaluar los efectos del Tai Chi sobre factores conductuales asociados con enfermedades cardiovasculares.	Un grupo control y un grupo de 63 mujeres que practicaron Tai Chi durante 2 meses.	Concentración de glucosa, insulina y lípidos, PCR, Interferón gamma, TNF, IL-8, IL-4. Fatiga, percepción de estrés, depresión, redes de apoyo, memoria, autoestima y creencias.	El grupo que realizó Tai Chi presentó una disminución en los niveles de IL proinflamatorias como el interferón gamma, IL-8, IL-4, TNF. También disminuyó la fatiga, aumentó la memoria, mejoró el nivel de autoestima y creencias.

Karaman et al. (2015) ¹⁷²	104 personas, 52 con SM de entre 35 años y 80 años; 35 sanos de 27 a 71 años.	Evaluar el daño al ADN en pacientes con SM	No se realizó intervención alguna, sólo se compararon los marcadores en los que cursaban con SM y los sanos.	IMC, presión sanguínea, Triglicéridos,, HbA1c, Colesterol-HDL, glucosa, MDA, SOD, GPx. Daño al ADN por ensayo cometa y micro núcleos	En el grupo de personas con SM se observaron niveles más altos de Triglicéridos, HbA1c, TAS y TAD e IMC. Se observó una mayor longitud de los cometas y mayor frecuencia de micro núcleos en quienes tenían SM en comparación con el grupo control.
Alsubiheen et al. (2015) ¹⁷³	17 sujetos sanos y 12 diabéticos sedentarios de 40 a 80 años	Determinar el efecto de 8 semanas de practicar Tai Chi combinado con imágenes mentales.	Ambos grupos realizaron Tai Chi de la escuela yang usando estrategias de imágenes mentales 1 hora, 2 veces a la semana por 8 semanas.	HbA1c, equilibrio, marcha y funcionalidad.	No hubo cambios significativos en la HbA1c del grupo de diabéticos. Sin embargo hubo mejoras en los marcadores de equilibrio, marcha y funcionalidad en ambos grupos.

V. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

El síndrome metabólico (SM) es una de las alteraciones que se presenta con mayor prevalencia en la vejez en nuestra población, ya que uno de cada dos ancianos lo presenta. Así mismo, el EOx definido como un desequilibrio bioquímico entre la producción de RL y AOx, es una de las consecuencias del SM, lo que incrementa el riesgo para presentar enfermedades crónicas no trasmisibles, tales como la diabetes mellitus tipo 2, enfermedades cardiovasculares e incluso enfermedad de Alzheimer. En éste sentido, el envejecimiento *per se* cursa con mayor EOx y daño oxidativo al ADN aunados a un proceso inflamatorio crónico (PIC) denominado “inflamm-aging”, lo cual incrementa la vulnerabilidad para la presencia de enfermedades crónicas.¹⁷⁴

Al respecto, se han publicado algunos estudios en los que se ha demostrado que los estilos de vida saludables tienen un impacto positivo sobre la salud y la calidad de vida de los adultos mayores. En este sentido, la actividad física moderada y la dieta rica en frutas y verduras con alto contenido en antioxidante, son las opciones que más se han investigado. Asimismo, una de las modalidades de ejercicio físico moderado que se ha promovido para las personas adultas mayores es el Tai Chi, de lo cual se ha observado que la práctica periódica de dicha actividad física por más de tres meses tiene un efecto benéfico sobre el estrés oxidante, proceso inflamatorio crónico y daño oxidativo al ADN en adultos jóvenes sanos y enfermos,¹⁷⁵ no obstante se desconoce si dicho efecto se presenta también en adultos mayores con síndrome metabólico.

Con base en lo anterior, se planteó la siguiente pregunta de investigación:

¿Cuál es el efecto de la práctica de tai Chi sobre los marcadores de estrés oxidante, proceso inflamatorio crónico y daño oxidativo al ADN en adultos mayores con síndrome metabólico?

VI. HIPÓTESIS.

Considerando los estudios sobre el efecto antioxidante y antiinflamatorio de la práctica de Tai Chi en la vejez y en adultos con síndrome metabólico, anticipamos que los adultos mayores con síndrome metabólico que practiquen Tai Chi presentarán un aumento en la concentración plasmática de moléculas antioxidantes, disminución de citocinas inflamatorias y menor daño oxidativo al ADN que aquellos que no lo practiquen.

VII. OBJETIVOS.

VII.1. Objetivo general:

Evaluar el efecto de la práctica del Tai Chi sobre algunos marcadores biológicos del estrés oxidante, proceso inflamatorio crónico y daño oxidativo al ADN en adultos mayores con síndrome metabólico.

VII.2. Objetivos específicos:

Evaluar en AM con SM el efecto de la práctica de Tai Chi sobre:

- La actividad de las enzimas antioxidantes SOD y GPx, capacidad antioxidante total y brecha antioxidante (GAP) en adultos mayores con SM.
- La concentración plasmática de lipoperóxidos en adultos mayores con SM.
- La concentración sérica de IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α y PCR en adultos mayores con SM.
- El efecto sobre el daño oxidativo al ADN medido por medio del ensayo cometa en adultos mayores con SM.

VIII. MATERIAL Y MÉTODOS.

VIII.1. Tipo de estudio.

Previo consentimiento informado (anexo 1) acorde con la declaración de Helsinki, ¹⁷⁶ se llevó a cabo un estudio de tipo experimental aprobado por el subcomité de admisión del Posgrado en Ciencias Biológicas y aprobado por el Comité de Ética de la FES Zaragoza.

VIII.1.1. Población de estudio.

Se llevó a cabo en una población de 253 adultos mayores, de los cuales 158 cumplieron con los criterios de inclusión de síndrome metabólico (según los criterios del ATP III). En este sentido se conformaron tres grupos de estudio a conveniencia, considerando la aceptación de los adultos mayores a participar en los programas de ejercicio físico: (i) Grupo Tai Chi, n= 58, (ii) Grupo ejercicio físico moderado, n=46, y (iii) Grupo sin ejercicio físico, n=54 (Figura VIII.1.).

Los programas de ejercicio físico en los participaron los grupos fueron los siguientes:

Grupos	Programa de ejercicio físico
n = 54	Ninguno (grupo control).
n = 58	50 minutos de Tai Chi, 5 veces a la semana durante 6 meses, supervisados por un instructor entrenado.
n= 46	50 minutos de ejercicio físico moderado (caminata y danzón) 5 veces a la semana durante 6 meses, supervisados por un instructor entregado.

VIII.1.2. Criterios de inclusión y exclusión.

Adultos mayores de 60 años sin distinción de sexo, que presentaron SM, con base en los criterios del ATP III. Sedentarios en los últimos 12 meses, sin ingesta de suplementos antioxidantes y tratamiento crónico con antiinflamatorios en los últimos

6 meses y que firmaran el consentimiento informado (Anexo 1), sin otras enfermedades crónico-degenerativas.

VIII.1.3. Criterios de eliminación.

Fueron eliminadas del estudio las personas que no cumplieron con los programas de ejercicio físico: a) dejaron de asistir más de tres veces a la semana por más de tres semanas, b) decidieron voluntariamente no continuar en el programa y c) por cuestiones de salud suspendieron el programa por más de dos semanas. Respecto al grupo control, no se consideraron los datos de las personas que no se presentaron a la toma de muestras sanguíneas después de los seis meses del estudio y los que decidieron practicar ejercicio físico por más de tres semanas (tres o más días por semana).

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

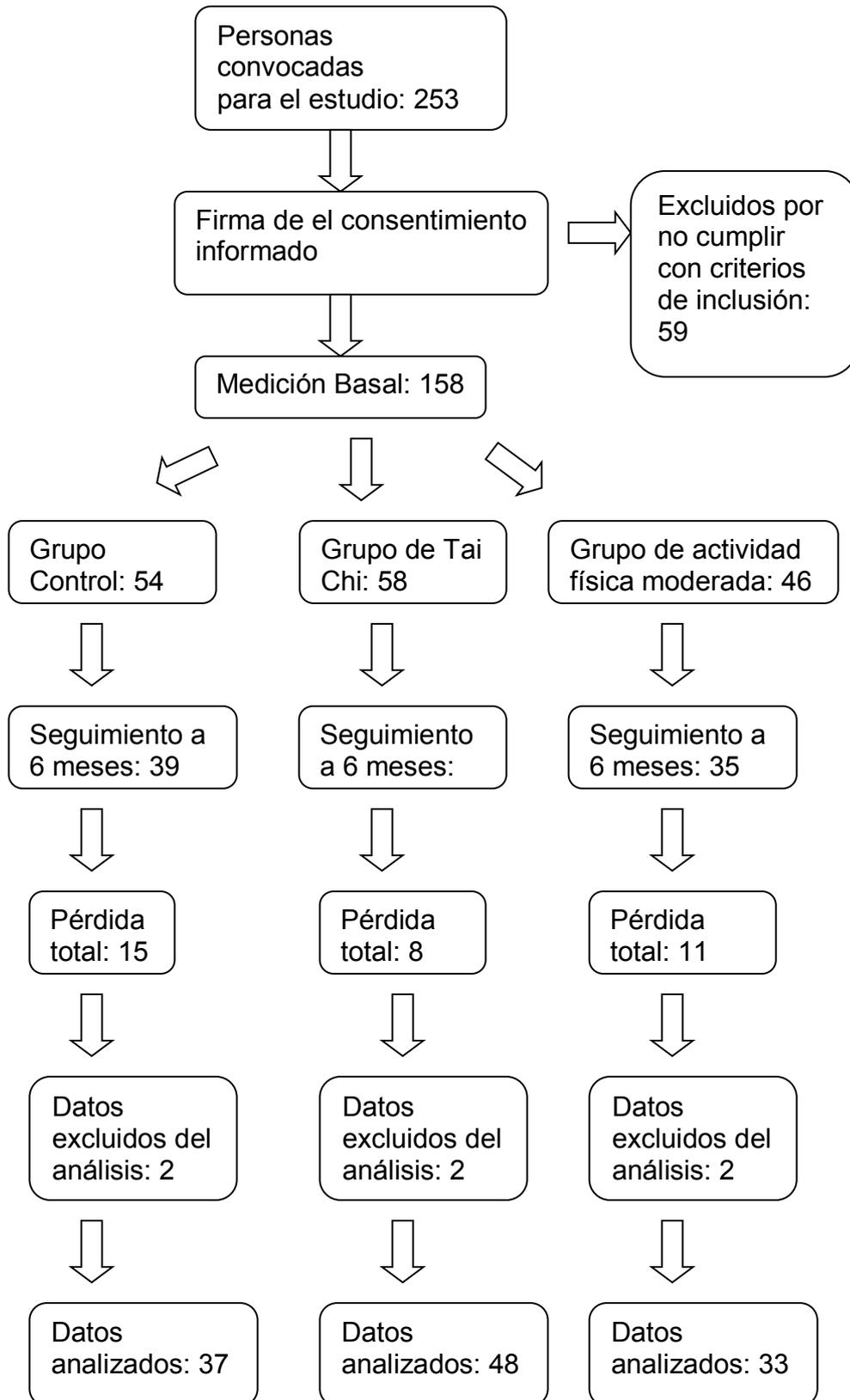


Figura VIII.1: Esquema general de la investigación

VIII.2. Variables.

VIII.2.1. Clasificación de variables.

- **Independiente:**

Ejercicio físico:

- Tai Chi durante 50 minutos, 5 veces a la semana por 6 meses.
- Ejercicio físico moderado (caminata y danzón) durante 50 minutos, 5 veces a la semana por 6 meses.
- Sin ejercicio físico.

- **Dependientes:**

Estrés Oxidante evaluado a través de los siguientes marcadores:

- Lipoperóxidos
- Superóxido dismutasa
- Glutación peroxidasa
- Capacidad antioxidante total
- Relación SOD/GPx
- Brecha antioxidante (GAP)

Proceso inflamatorio crónico: IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α y PCR

Daño oxidativo al ADN

- **Variables Intervinientes:**

- Sexo
- Edad

VIII.2.2. Operacionalización de variables.

Variable	Definición	Nivel de Medición	Categoría
Estrés oxidante.	Desequilibrio en el balance de óxido reducción caracterizado por un aumento en los RL y ER, no compensado por los sistemas AOX. Medido a través de la lipoperoxidación, los sistemas AOX (SOD, GPx, CAT, SOD/GPx y GAP).	Cualitativa ordinal	Sin EOx EOx leve EOx moderado EOx grave
Lipoperoxidación.	Concentración de lipoperóxidos plasmáticos medidos a través de TBARS.	Cuantitativa continua	μmol/L
Capacidad antioxidante total (CAT).	Actividad total de los antioxidantes plasmáticos.	Cuantitativa continua	mmol/L
Actividad de superóxido dismutasa (SOD).	Actividad que posee la enzima en la conversión de superóxidos a moléculas menos dañinas.	Cuantitativa continua	U/L
Actividad de glutatión peroxidasa (GPx).	Actividad que posee la enzima para convertir oxidantes en moléculas menos dañinas.	Cuantitativa continua	U/L
Relación SOD/GPx.	Indicador del funcionamiento del sistema enzimático, ofrece una estimación del desequilibrio entre las enzimas.	Cuantitativa continua	
Capacidad antioxidante residual (GAP).	Actividad antioxidante de componentes plasmáticos como ácido ascórbico, α-tocoferol, bilirrubina, transferrina y otros antioxidantes no medidos.	Cuantitativa continua	μmol/L
Daño oxidativo al ADN.	Ruptura de cadena de ADN sencilla o doble en linfocitos de sangre periférica medido a través de ensayo cometa.	Cuantitativa continua	Micrómetros (μm)
		Cualitativa nominal	Sin daño: (migración ≤ diámetro del núcleo sin daño x 1) Con daño: (migración ≥ 2 veces el diámetro del núcleo)
		Cualitativa ordinal	Sin daño (Células sin cometa) Baja magnitud de daño (1-5 células con cometa) Alta magnitud de daño (6 o más células con cometa)

Proceso inflamatorio crónico.	Medición de marcadores de inflamación como IL-6, IL-8, TNF- α y PCR.	Cuantitativa continua	Pg/mL mg/dL
Proceso Antiinflamatorio.	Concentración de IL-10.	Cuantitativa continua	Pg/mL
Edad.	Edad que refiere el sujeto en el momento del estudio.	Cuantitativa discreta	Años cumplidos
Sexo.	Características fenotípicas que distinguen al individuo.	Cualitativa nominal	Hombre Mujer
Ejercicio físico Moderado.	Movimientos corporales planeados, estructurados y repetitivos para mejorar o mantener las cualidades biomotoras.	Cualitativa ordinal	Sedentario Tai Chi Otra Actividad

VIII.3. Técnicas.

VIII.3.1. Intervención.

Se convocó a grupos de personas adultas mayores para que de manera voluntaria participaran en el proyecto.

A todos los participantes se les practicó un electrocardiograma en reposo para descartar alteraciones que implicaran un riesgo para realizar Tai Chi, los electrocardiogramas fueron evaluados por un médico cardiólogo.

A los sujetos que no presentaron alteraciones electrocardiográficas, se les invitó a participar en la investigación y aquellos que aceptaron y firmaron el consentimiento informado (Anexo 1), luego fueron programados para la evaluación basal.

Práctica de Tai Chi.

Las sesiones de Tai Chi (de la forma ocho de la escuela Yang), se realizaron de lunes a viernes en horas matutinas (9:00 a 9:50), bajo la dirección de entrenadoras certificadas y con experiencia en la enseñanza de la disciplina en adultos mayores, bajo supervisión de entrenadores con mayor experiencia.

Práctica de actividad física moderada.

El grupo que realizó actividad física moderada, realizaba 3 veces a la semana caminata, y dos días practicaban danzón. Se realizaban dichas actividades de lunes a viernes por la mañana en sesiones de 50 minutos bajo la supervisión de los encargados de algunos centros gerontológicos.

Personas que no realizaron Ejercicio físico moderado (Grupo control)

El grupo que no realizó ejercicio físico, continuó realizando sus actividades cotidianas sin tener intervención alguna.

En la medición basal y después de la intervención, se llevaron acabo mediciones antropométricas, clínicas y bioquímicas.

VIII.3.2. Mediciones antropométricas y clínicas.

Las medidas antropométricas se obtuvieron siguiendo el protocolo del grupo de trabajo:

- ✓ Registro del peso: Las personas se pesaron con la menor cantidad posible de ropa en una báscula calibrada marca Torino
- ✓ Registro de la estatura: Los pacientes se colocaron con los talones juntos, glúteos, hombros y cabeza en contacto con el estadiómetro, los ojos mirando al frente y el plano de Frankfurt paralelo al suelo.
- ✓ Circunferencia de la cintura: se midió el perímetro de la cintura a nivel de la cicatriz umbilical, utilizando una cinta métrica, sin hacer ninguna presión sobre el cuerpo.
- ✓ Circunferencia de la cadera: Se determinó midiendo la parte más prominente de los glúteos, utilizando una cinta métrica.
- ✓ Índice cintura-cadera: Se obtuvo al dividir el valor obtenido de la circunferencia de la cintura entre la circunferencia de la cadera.

✓ Cálculo del índice de masa corporal: Se dividió el peso del paciente entre su estatura al cuadrado (kg/m^2).

✓ Presión arterial: se tomó siguiendo la técnica que se establece en el apéndice B de la NOM- 030-SSA2-1999 para la prevención, tratamiento y control de la hipertensión arterial.¹⁷⁷ Dicha medición se determinó con el paciente sentado con un soporte para la espalda, con el brazo descubierto y flexionado a la altura del corazón. Se utilizó un esfigmomanómetro mercurial, el observador se situó de manera que podía ver el menisco de la columna de mercurio, se colocó el brazalete situando el mango sobre la arteria humeral y mientras se palpa la arteria humeral se infla rápidamente el mango hasta que el pulso desaparece a fin de determinar por palpación la tensión arterial sistólica (TAS), se desinfla nuevamente el mango y se coloca la cápsula del estetoscopio sobre la arteria humeral, se infla rápidamente el mango 30 ó 40 mm Hg por arriba del nivel palpatorio de la presión sistólica, se desinfla a una velocidad de 2 mm Hg/seg. La aparición del primer ruido de Korotkoff marca el nivel de la tensión arterial sistólica (TAS) y el quinto la tensión arterial diastólica (TAD).

VIII.3.3. Recolección de las muestras.

Se recolectaron en tubos al vacío (Beckton-Dickinson), de uno de los brazos, tres muestras de sangre por punción venosa entre las 8:00 y 9:00 horas, con ayuno previo de 7 a 8 horas. Una de las muestras se obtuvo con heparina (7 mL), otra con EDTA (5 mL) y la tercera sin anticoagulante (9 mL). Las muestras se centrifugaron a 3500 rpm durante 10 minutos para obtener el plasma y el suero.

La muestra de suero se utilizó para las determinaciones bioquímicas (Glucosa, perfil lipídico, ácido úrico, albúmina, creatinina y PCR) y para la cuantificación de interleucinas se separó una alícuota de 100 μL (IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α).

En la sangre anticoagulada con EDTA se cuantificó la hemoglobina glicosilada.

De la muestra obtenida con heparina, se tomó una alícuota de 600 μL de sangre total para medir la concentración de SOD, otra de 100 μL para medir la

concentración de GPx, 100 μ L para montar el ensayo cometa, 100 μ L de plasma heparinizado para medir antioxidantes totales (TAS) y 1000 μ L para medir la concentración de lipoperóxidos por el método de TBARS.

VIII.3.4. Parámetros bioquímicos.

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

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

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

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

HDL-Colesterol: Se empleó el Estuche comercial para la determinación de HDL-directo, método de aclaramiento (Randox Laboratories Ltd, UK, CH3811A). La determinación se da tras la eliminación de quilomicrones, VLDL y LDL colesterol por medio de colesterol esterasa, colesterol oxidasa y subsecuentemente catalasa; la

determinación posterior es específica para HDL con la formación de un pigmento de quinona que se lee a 578 nm.

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

$$\text{LDL} = \text{Colesterol total} - (\text{Triglicéridos} / 5 + \text{HDL-Col}).^{178}$$

Acido úrico: Estuche comercial para la determinación de ácido úrico. Método enzimático colorimétrico (Randox Laboratories Ltd, UK). El ácido úrico se convierte, catalizado por uricasa en alantoína y peróxido de hidrógeno, el cual a su vez reacciona con el reactivo de color para producir un compuesto de quinoneimina rojo violeta que se lee a 520 nm. Las muestras y patrón se mezclan e incuban con el reactivo de color durante 15 min a 25 °C y se mide la absorbancia frente a reactivo blanco.

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

Hemoglobina A_{1c} (Hemoglobina A_{1c}): La medición de HbA_{1c} se utiliza en la observación a largo plazo de la DM. Se midió la concentración de HbA_{1c} y la concentración de hemoglobina total. El resultado de HbA_{1c} dado se calcula como un % de la concentración total de hemoglobina.

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

Determinación de HbA_{1c}: Se basa en el análisis de inhibición del aglutinador de látex. El aglutinador es un polímero sintético que contiene copias múltiples de la parte inmunoreactiva de HbA_{1c}. Este causa la aglutinación del látex cubierto con anticuerpos de HbA_{1c} específicos monoclonales. Se siguió el procedimiento sugerido por la casa comercial de acuerdo al estuche Hemoglobina A_{1c} (HbA_{1c}) HA3830.

VIII.3.5. Determinación de marcadores biológicos de estrés oxidante.

VIII.3.5.1. Lipoperoxidación plasmática.

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

Procedimiento: Se utilizó el método de Jentzsch (1996)¹⁷⁹. Se recolectó sangre total en tubos con anticoagulante, heparina o EDTA, se centrifuga inmediatamente la sangre 10 min. A 3000 rpm para obtener el plasma al cual se le adicionaron 10 µL de butil-hidroxitolueno (BHT) 2 mM por mL de sangre, para evitar la auto-oxidación de las muestras. Se colocaron 400 µL de plasma con 50 µL de BHT (12.6 mmol/L) y 400 µL de ácido ortofosfórico (0.2M) se agitó en vortex 10 seg. y posteriormente se adicionaron 50 µL de TBA (0.11 mol/L), se agitó en vortex por 10 segundos. Esta mezcla se incubó por 45 min. a 90°C en un baño de agua, pasado este tiempo se colocaron los tubos en hielo por 5 minutos para detener la reacción.

Posteriormente se adicionaron 1000 µL de butanol en cada tubo y 100 µL de solución salina saturada, se agitó vigorosamente por 30 seg, se centrifugó a 5000 rpm 1 minuto, se pasó la fase de butanol a una celda y se midió la absorbancia a 535 nm y 572 nm usando un espectrofotómetro marca Shimadzu UV-1600 Series (Knauer, Japón)

La concentración de TBA que reacciona se calculó por medio de una curva estándar de MDA, obtenida a partir del estándar de 1,1,3,3-tetrametoxipropano (TMP)

Preparación de la curva estándar:

Se prepararon las siguientes soluciones:

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

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

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

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

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

VIII.3.5.2. Superóxido dismutasa (SOD).

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

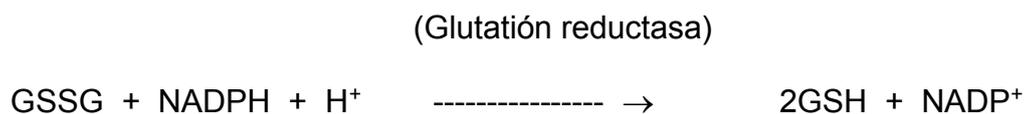
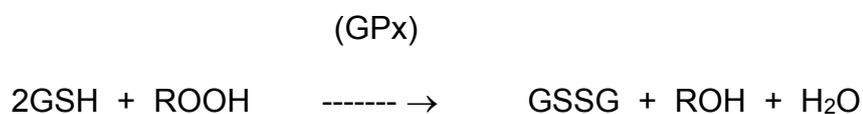
SOD se mide por el grado de inhibición de la formación del colorante formazán, a 505 nm.

Procedimiento: Se tomaron 0.5 μ L de sangre total y se lavaron los eritrocitos 3 veces con 3 mL de solución de NaCl al 0.9 %, centrifugando durante 10 min a 3000 rpm en cada lavado. Al botón de eritrocitos lavados se adicionaron 2 mL de agua bidestilada fría, se mezclaron y se dejaron reposar durante 15 min a 4°C. Del lisado se tomaron 0.100 mL y se diluyeron con 1.9 mL de tampón de fosfato 0.01 mmol/L pH 7.0. Para el ensayo se pipetearon 0.050 mL de muestra diluida y se adicionaron 1.7 mL de sustrato mixto (xantina 0.05 mmol/L, I:N:T: 0.025 mmol/L), después de mezclar se agregaron 0.25 mL de xantin oxidasa (0.94 mmol/L). Se mezcló y se registró la absorbancia A1 al cabo de 30 seg. y se empezó a cronometrar el tiempo simultáneamente para leer la absorbancia final A2 al cabo de 3 min frente al blanco de agua a una longitud de onda de 505 nm. Para la lectura se usó un espectrofotómetro marca Shimadzu UV-1600 Series (Knauer, Japon).

VIII.3.5.3. Glutación peroxidasa (GPx).

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

Fundamento: La cuantificación de esta enzima se basa en el método desarrollado por Paglia y Valentine ¹⁸⁰ con base en la siguiente reacción:



GSH = Glutación reducido ROOH = hidroperóxido

GPx = Glutación peroxidasa GSSG = glutación oxidado

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

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

Para el ensayo, se colocaron 0.02 mL de muestra diluida, 1 mL de reactivo de trabajo (glutatión 4 mmol/L, glutatión reductasa ≥ 0.5 U/L y NADPH 0.34 mmol/L) y 0.04 mL de cumeno (hidroperóxido de cumeno 0.18 mmol/L). Se mezcló y se leyó la absorbancia inicial al cabo de 1 min. y se empezó a cronometrar simultáneamente para leer de nuevo al después de 1 y 2 min. La cinética de esta reacción se leyó a 340 nm en un espectrofotómetro marca Shimadzu UV-1600 Series (Knauer, Japon).

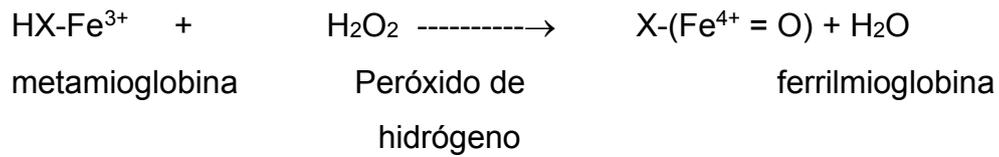
VIII.3.5.4. Cálculo de la razón SOD/GPx.

Relación SOD/GPx: La relación SOD/GPx es un indicador del funcionamiento del sistema enzimático, ofrece una estimación del desequilibrio entre las enzimas, el cual tiende a generar un aumento de radicales libres que no puede ser cubierto por el segundo.¹⁸¹

VIII.3.5.5. Capacidad antioxidante plasmática total (CAT).

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

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



Procedimiento: Se tomaron con una pipeta 0.02 mL de plasma y se adicionó 1 mL de cromógeno, después de mezclar se prosiguió a la lectura de la absorbancia inicial A1, después de esto se adicionaron 0.200 mL de sustrato, se empezó a cronometrar para leer la absorbancia A2 al cabo de exactamente 3 min las lecturas se realizaron a 600 nm. El espectrofotómetro usado es marca Shimadzu UV-1600 Series (Knauer, Japón).

VIII.3.5.6. Cálculo de la capacidad antioxidante residual (GAP).

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

$$\text{GAP antioxidante} = \text{CAT} - [(\text{albúmina} \times \text{TEAC}) + (\text{ácido Úrico} \times \text{TEAC})]^{182}$$

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

VIII.3.5.7 Cálculo del nivel de estrés oxidante.

Para determinar la existencia de alteraciones en los parámetros y determinar la existencia de EOx se manejan como valores de corte los siguientes, obtenidos de una población de adultos jóvenes de Actopan, Hidalgo.¹⁸¹

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

Para determinar si los sujetos presentan EOx, se ha obtenido un índice, el cual se calculó al dicotomizar cada uno de los parámetros determinados, dando el valor de 1 cuando las concentraciones estaban por arriba (en el caso de lipoperóxidos y la razón SOD/GPx) o por debajo (todos los demás parámetros) del valor de corte. Así el sujeto con todos los parámetros alterados tiene un índice igual a 6 y EOx grave. Para evaluar grados de EOx se ha generado una escala:

Índice: 0 Sin EOx

Índice: 1-2 EOx leve

Índice: 3-4 EOx moderado

Índice: 5-6 EOx grave

Finalmente se dicotomizó el índice para clasificar a los sujetos sin estrés o con estrés, sin estrés cuando el índice está entre cero y dos y con estrés con valores de tres en adelante.¹⁸¹

VIII.3.6. Daño oxidativo al ADN por electroforesis unicelular alcalina.

Para analizar el daño oxidativo al ADN se utilizó la técnica de Singh y cols.⁷⁵ Las células se embebieron en microplacas con gel de agarosa. Para liberar el ADN de los leucocitos, las microplacas se colocaron en la caja de electroforesis en una solución de NaOH (pH > 13) durante 30 minutos. La electroforesis se llevó a cabo en condiciones alcalinas a 25 volts y 300 mAmp. El ADN se teñó con bromuro de etidio y su migración se midió en un microscopio de fluorescencia Nikon (Japón).

- ✓ Preparación de las microplacas: Una alícuota de 10 μL de sangre heparinizada se mezcló con 75 μL de agarosa de bajo punto de fusión (al 0.5% en PBS libre de Ca^{+2} y Mg^{+2}); 75 μL de esta mezcla se colocaron en un portaobjetos esmerilado que contenía una capa de 120 μL de agarosa regular (al 75% en PBS libre de Ca^{+2} y Mg^{+2}) solidificada previamente a 4°C e inmediatamente se cubrió con un cubreobjetos. La preparación se dejó solidificar a 4°C y se retiró el cubreobjetos de cada microplaca. Posteriormente se adicionaron 75 μL de agarosa de bajo punto de fusión y se dejó solidificar a 4°C cubriendo nuevamente con un cubreobjetos.
- ✓ Lisis: Se retiró el cubreobjetos de cada microplaca y se sumergieron en una solución de lisis preparada al momento de usarse (1 % de laurilsarcosinato de sodio, 2.5 M NaCl, 10 mmol/L Na_2EDTA , 10 mmol/L Tris-HCl pH 10, 1% tritón y 10% DMSO). Dicha solución tenía una temperatura de 4°C y las placas se colocaron en ella por lo menos 1 hora protegidas de la luz, para evitar daño al ADN.
- ✓ Desenrollamiento y electroforesis: Después de la lisis las microplacas se colocaron en una cámara de electroforesis que contenía una solución amortiguadora pH 13 (1 mmol/L Na_2EDTA , 300 mmol/L NaOH) permitiendo que se desenrollara el ADN dañado por 20 minutos, posteriormente se efectuó la electroforesis por 20 minutos mas a 25 V y 300 mAmp. Las placas se mantuvieron protegidas de la luz en todo momento.

- ✓ Neutralización y fijación: Concluido el tiempo, las microplacas se lavaron en una solución amortiguadora de neutralización (0.4 mol/L Tris-HCl, pH 7.5) 3 veces por 5 minutos. Se eliminó el exceso de neutralizador y las microplacas se sumergieron en metanol al 70% por 5 minutos.
- ✓ Tinción y observación al microscopio: Una vez desecadas, las microplacas se tiñeron con 75 μ L de bromuro de etidio (20 μ g/mL) se cubrieron con un cubreobjetos y se observaron al microscopio de fluorescencia con un filtro de excitación de 515-560 nm utilizando el aumento 400 X. Finalmente, con un ocular graduado se determinó la migración del ADN en μ m en 100 células por microplaca, para ello se consideró el largo total (largo de la cabeza del núcleo + largo de la estela del cometa). Se registró si las células presentaron daño o no. A las células que no presentaron cometa (no migraron), sólo se les tomó la medida de sus diámetros, en cambio a las células que presentaron cometa se les midió la longitud de la cola y el diámetro de su cabeza, así como su longitud total.
- ✓ Grados de daño: Se dividió el daño en categorías dependiendo de la longitud de la cola formada luego de la electroforesis (migración de ADN). Ésta categorización se realizó de acuerdo a los criterios propuestos por la Unidad de Investigación en Genética y toxicología ambiental de la Unidad de Investigación Experimental Zaragoza, UNAM. ¹⁸² (Figura VIII.4.6.1).

- Sin daño (grado 0): Célula que no presentan cola.
- Daño bajo (grado 1): Célula cuya cola tiene la longitud de hasta 1 cabeza
- Daño medio (grado 2): Célula cuya cola mida la longitud de hasta 2 cabezas.
- Daño alto (grado 3): Célula cuya cola mida la longitud de 3 cabezas o más.



Figura VIII.3.6.1 Clasificación para grado de daño al ADN a través de la técnica de ensayo cometa (Modificado de Rodríguez-Mercado JJ).¹⁸³

VIII.3.7. Determinación de marcadores biológicos de inflamación.

VIII.3.7.1. Proteína C Reactiva (PCR).

Se usó el estuche comercial de (Randox Laboratories Ltd, UK) para PCR de alto rango, cuya determinación es turbidimétrica. La muestra reacciona con un anticuerpo contra PCR unido a partículas de látex. La determinación se basa en la formación del complejo antígeno-anticuerpo la cual resulta en un incremento de la turbidez el cual es medido como la cantidad de luz absorbida a 570 nm. Por construcción de una recta con la absorbencia de las soluciones estándar, la concentración de la PCR en las muestras puede ser calculada. La determinación se llevó a cabo en el equipo automatizado Selectra Junior utilizando suero como muestra.

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

VIII.3.7.2. Cuantificación de citocinas.

La concentración de citocinas proinflamatorias (IL-6, IL-8 y $\text{TNF}\alpha$) y antiinflamatoria (IL-10) se midió utilizando el estuche y la técnica de Cytometric Bead Array (CBA) Human Inflammatory Cytokines kit de BD. Las cuantificaciones se realizaron por el método de citometría de flujo usando el citómetro FACSAriaII -P17700041 para la medición y el programa FCAP Array v3 (FACP Array, Becton, Dickinson and

Company) para la conversión a pg/mL. Se realizaron los siguientes pasos para su evaluación:

1. Preparación de los estándares. Se realizaron diluciones seriadas en el siguiente orden 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, 1:128 y 1:256. En el tubo inicial se colocaron 2 mL de solución madre, luego se transfirieron 300 μ L de dicha solución a los siguientes tubos, como se muestra en la figura VII.3.7.1

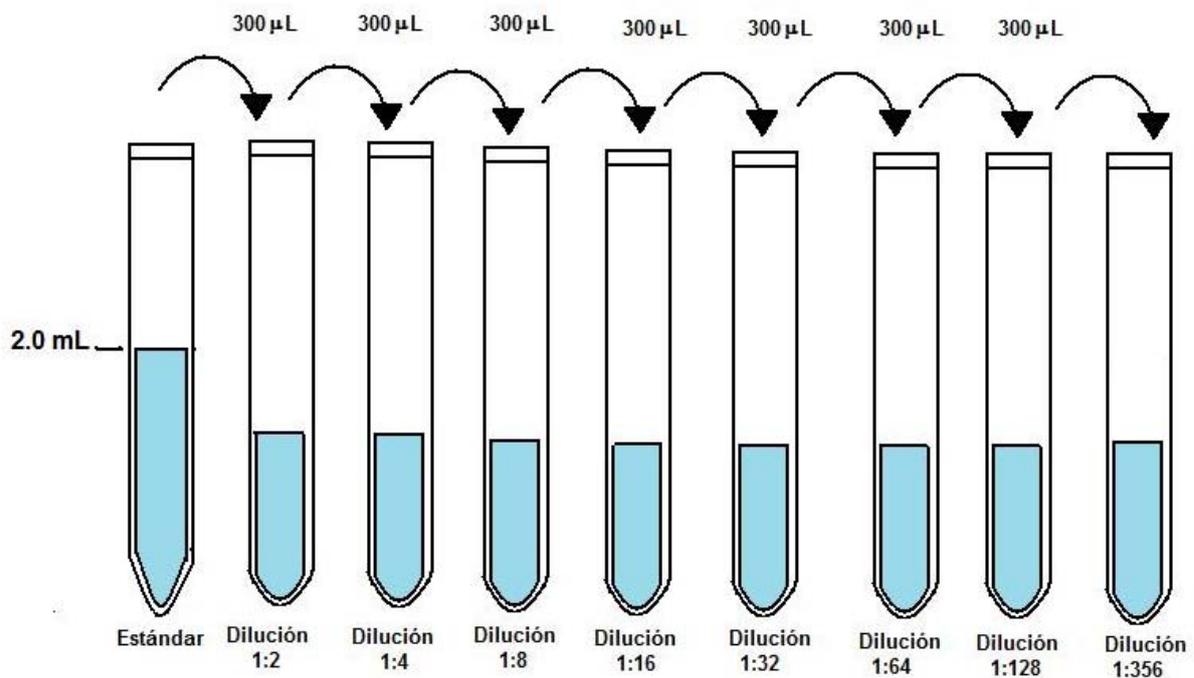


Figura VIII.3.7.2: Preparación de diluciones para citocinas a partir del estándar

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

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

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

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

VIII.4. Análisis estadístico.

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

Para comparación entre grupos se realizó el análisis de varianza de medidas repetidas (ANOVA de Medidas Repetidas) con un 95% de confianza y como pruebas post- hoc Tukey.

Se obtuvieron las proporciones de la presencia de EOX, del daño oxidativo al ADN y de la magnitud del daño celular en los grupos de estudio pre y post intervención, las cuales se compararon usando la prueba χ^2 .

Por último, se construyeron gráficas de frecuencia acumulada en las cuales se presenta el número de células dañadas por grupo de estudio.

Para todas las pruebas se consideró un valor de $p \leq 0.05$ como significancia estadística.

IX. RESULTADOS.

En el cuadro IX.1 se presentan los datos clínicos y antropométricos por grupos en el cual se observa que los adultos mayores que realizaron Tai Chi y ejercicio moderado no presentan diferencias significativas en comparación con el grupo control (sedentarios) en ningún parámetro medido.

Cuadro IX.1 Parámetros clínicos y antropométricos por grupos de estudio.

Variable	Control n= 37	Tai Chi n= 48	Ejercicio moderado n= 33
Edad (años)	68.2 ± 6.6	67.4 ± 4.7	67.0 ± 4.3
Peso (Kg.)			
Pre-intervención	68.0 ± 1.5	69.7 ± 1.7	66.7 ± 1.9
Post-intervención	68.9 ± 1.6	69.3 ± 1.8	66.6 ± 1.8
IMC			
Pre-intervención	28.3 ± 0.5	30.2 ± 0.7	29.5 ± 0.7
Post-intervención	28.7 ± 0.6	30.0 ± 0.7	29.3 ± 0.6
ICC			
Pre-intervención	0.97 ± 0.01	0.94 ± 0.1	0.93 ± 0.1
Post-intervención	0.95 ± 0.01	0.94 ± 0.1	0.97 ± 0.1
TAS (mm Hg)			
Pre-intervención	131.8 ± 2.6	127.6 ± 3.0	131.2 ± 2.5
Post-intervención	132.8 ± 2.1	129.4 ± 2.4	129.0 ± 2.0
TAD (mm Hg)			
Pre-intervención	76.3 ± 1.0	78.6 ± 1.9	77.1 ± 1.6
Post-intervención	80.8 ± 1.3	79.5 ± 1.4	74.0 ± 1.3

ANOVA de medidas repetidas. Promedio y error estándar. Prueba Tukey como post-hoc.

IMC: Índice de Masa Corporal, ICC: Índice de circunferencia de cintura-cadera, TAS: Tensión arterial sistólica, TAD: Tensión arterial diastólica.

Respecto a los parámetros bioquímicos se observó una tendencia a la disminución en la concentración de hemoglobina glicosilada en el grupo de Tai Chi respecto al grupo control, en los demás parámetros no se presentaron diferencias significativas (Cuadro IX.2).

Cuadro IX.2 Parámetros bioquímicos por grupos de estudio.

Variable	Control n= 37	Tai Chi n= 48	Ejercicio moderado n= 33
Glucosa (mg/dL)			
Pre-intervención	113.3 ± 4.2	121.8 ± 3.4	111.4 ± 1.7
Post-intervención	109.4 ± 4.3	120.0 ± 3.5	115.9 ± 5.4
Triglicéridos (mg/dL)			
Pre-intervención	184.2 ± 12.7	191.7 ± 9.5	175.0 ± 8.1
Post-intervención	214.1 ± 17.7	185.8 ± 9.9	164.5 ± 8.7
Colesterol (mg/dL)			
Pre-intervención	202.2 ± 6.7	209.4 ± 4.9	220.7 ± 6.2
Post-intervención	192.2 ± 7.3	210.1 ± 4.6	219.4 ± 5.2
HDL-Col (mg/dL)			
Pre-intervención	45.5 ± 1.4	42.6 ± 0.9	48.1 ± 1.4
Post-intervención	53.9 ± 1.7	50.8 ± 1.4	54.0 ± 1.8
LDL-Col (mg/dL)			
Pre-intervención	120.0 ± 5.4	132.6 ± 3.2	130.5 ± 5.2
Post-intervención	100.2 ± 5.7	120.1 ± 3.6	124.8 ± 3.5
HbA1c (%)			
Pre-intervención	7.0 ± 0.3	8.2 ± 0.3	6.4 ± 0.2
Post-intervención	6.9 ± 0.4	7.3 ± 0.3	8.2 ± 0.3

Los datos presentados son promedios ± error estándar. ANOVA de medidas repetidas. Prueba Tukey como post-hoc.

HDL-Col: Lipoproteínas de alta densidad, LDL-Col: Lipoproteínas de baja densidad, HbA1c: Hemoglobina glicosilada.

Con relación a los marcadores de estrés oxidante pre y post intervención así como el índice de estrés, se encontró una disminución significativa en la actividad de GPx junto a un aumento en la relación SOD/GPx en el grupo que realizó actividad física moderada. Asimismo, el grupo que practicó Tai Chi presentó un incremento significativo en la actividad antioxidante total en comparación con el grupo control. Igualmente el grupo de Tai Chi presentó una disminución significativa en el índice de EOx en comparación con los dos grupos (Cuadro IX.3).

Cuadro IX.3 Marcadores de estrés oxidativo por grupos de estudio.

Variable	Control	Tai Chi	Ejercicio moderado
Lipoperóxidos ($\mu\text{mol/L}$)			
Pre-intervención	0.29 \pm 0.02	0.30 \pm 0.01	0.32 \pm 0.01
Post-intervención	0.34 \pm 0.01	0.33 \pm 0.01	0.31 \pm 0.01
SOD (UI/L)			
Pre-intervención	179.0 \pm 1.4	178.7 \pm 1.8	172.2 \pm 1.9
Post-intervención	173.7 \pm 2.1	173.9 \pm 1.2	167.9 \pm 2.4
GPx (UI/L)			
Pre-intervención	7670 \pm 856	7427 \pm 509	13403 \pm 847
Post-intervención	9564 \pm 794	9616 \pm 501	10340 \pm 618
SOD/GPX			
Pre-intervención	0.030 \pm 0.005	0.028 \pm 0.002	0.014 \pm 0.001
Post-intervención	0.025 \pm 0.004	0.021 \pm 0.001	0.017 \pm 0.001*
CAT (mmol/L)			
Pre-intervención	0.85 \pm 0.02	1.03 \pm 0.04	1.00 \pm 0.03
Post-intervención	0.98 \pm 0.04	1.28 \pm 0.02**	1.03 \pm 0.04
GAP ($\mu\text{mol/L}$)			
Pre-intervención	171.7 \pm 23.6	228.3 \pm 38.0	276.8 \pm 24.5
Post-intervención	356.1 \pm 60.0	427.5 \pm 32.3	377.7 \pm 32.0
Índice EOx			
Pre-intervención	2.69 \pm 0.2	2.28 \pm 0.2	1.39 \pm 0.1
Post-intervención	2.23 \pm 0.2	1.11 \pm 0.1**	1.64 \pm 0.2

Los datos presentados son promedios \pm error estándar. ANOVA de medidas repetidas. Prueba post-hoc Tukey * $p < 0.01$., ** $p < 0.001$

SOD: Superóxido dismutasa, GPx: Glutación peroxidasa, CAT: Capacidad antioxidante total, GAP: Brecha antioxidante, Índice EOx: Índice de estrés oxidativo

Al analizar los datos y clasificarlos con EOx o sin EOx, después de la intervención se observó una disminución significativa en la frecuencia de EOx en el grupo que realizó Tai Chi (Pre-intervención, 55.3% vs. Post-intervención, 22.9, $p < 0.01$), en contraste el grupo de ejercicio moderado no presentó cambios significativos. (Figura IX.1).

Frecuencia de estrés oxidativo pre y post intervención

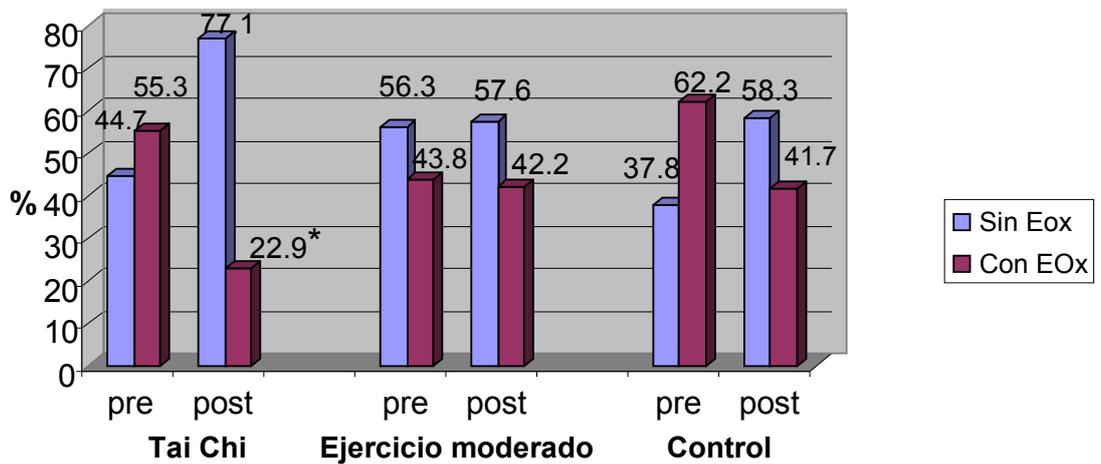


Figura IX.1 Estrés oxidativo por grupo de estudio, pre y post intervención. El porcentaje de personas que presentaban estrés oxidativo y practicaron Tai Chi durante 6 meses disminuyó significativamente (Pre-intervención, 55.3% vs. Post-intervención 22.9%, $p < 0.01$) Prueba χ^2 .

Respecto a los marcadores de inflamación crónica se encontró una disminución significativa en la IL-8 en el grupo que practicó Tai Chi (Pre-intervención, 3.6 ± 0.3 vs. Post-intervención, 1.6 ± 0.2 pg/mL, $p < 0.001$), a diferencia de los grupos de ejercicio moderado y control (Cuadro IX.4).

Cuadro IX.4. Marcadores bioquímicos de inflamación por grupos de estudio.

Variable	Control	Tai Chi	Ejercicio moderado
IL-6 (pg/mL)			
Pre-intervención	1.24 ± 0.10	0.97 ± 0.10	0.94 ± 0.10
Post-intervención	1.39 ± 0.20	1.28 ± 0.20	1.95 ± 0.20
IL-8 (pg/mL)			
Pre-intervención	4.60 ± 0.50	3.60 ± 0.30	2.30 ± 0.40
Post-intervención	5.90 ± 0.70	$1.60 \pm 0.2^{**}$	7.10 ± 0.90
IL-10 (pg/mL)			
Pre-intervención	1.50 ± 0.05	1.60 ± 0.02	1.10 ± 0.15
Post-intervención	1.40 ± 0.08	1.00 ± 0.10	1.50 ± 0.10
TNF-α (pg/mL)			
Pre-intervención	1.90 ± 0.02	2.10 ± 0.20	1.74 ± 0.08
Post-intervención	1.80 ± 0.05	2.00 ± 0.20	1.62 ± 0.04
PCR (mg/dL)			
Pre-intervención	0.21 ± 0.05	0.36 ± 0.04	0.39 ± 0.05
Post-intervención	0.23 ± 0.03	0.39 ± 0.04	0.40 ± 0.06

Los datos presentados son promedios \pm error estándar. ANOVA de medidas repetidas. Prueba post-hoc HSD Tukey $^{**}p < 0.001$.

IL-6: Interleucina 6, IL-8: Interleucina 8, IL-10: Interleucina 10, TNF- α : Factor de necrosis tumoral alfa, PCR: Proteína C reactiva

Para comparar entre los grupos de estudio la migración del daño al ADN en micrómetros, se estimaron las medias tanto de los núcleos como de los cometas, sin embargo, no se encontraron diferencias significativas en ninguno de los grupos después del ejercicio físico (Cuadro IX.5).

Cuadro IX.5. Daño al ADN por grupos de estudio.

Medida en μm	Control n= 36	Tai Chi n= 47	Ejercicio moderado n= 33
Núcleo			
Pre-intervención	21.6 \pm 0.48	21.3 \pm 0.29	22.1 \pm 0.37
Post-intervención	21.7 \pm 0.42	20.6 \pm 0.33	21.9 \pm 0.25
Cola			
Pre-intervención	10.8 \pm 0.97	9.3 \pm 0.49	9.0 \pm 0.76
Post-intervención	8.9 \pm 0.78	8.6 \pm 0.32	9.2 \pm 1.68

Los datos presentados son promedios \pm error estándar de las medidas de núcleos y colas a través del ensayo cometa. ANOVA de medidas repetidas, Tukey como post hoc. $p > 0.05$

Respecto al tipo de daño en el ADN, se observó un aumento significativo en la proporción de personas que presentaban daño oxidativo grado 1 (daño bajo) respecto a su medición basal (23.1% vs. 75.8%) en el grupo de ejercicio físico moderado. El grupo control también mostró un incremento de la proporción de personas con daño bajo (72.2% vs. 97.3%) luego de 6 meses. Por el contrario, en el grupo que practicó Tai Chi, las proporciones de las personas con daño grado 1 se mantuvo sin cambios significativos (Cuadro IX.6).

Cuadro IX.6 Frecuencia de daño oxidativo al ADN por grupos de estudio.

Grupo	Sin Daño	Con daño (grado 1)	n
Control			
Pre-intervención	10 (27.8 %)	26 (72.2%)	36
Post-intervención	1 (2.7%)*	35 (97.3%)*	36
Tai Chi			
Pre-intervención	1 (2.1%)	46 (97.9 %)	47
Post-intervención	2 (4.2%)	45 (95.8%)	47
Ejercicio moderado			
Pre-intervención	26 (85.8%)	7 (23.1%)	33
Post-intervención	8 (24.2%)	25 (75.8%) **	33

χ^2 intragrupo, significancia al 95%. * $p < 0.001$, ** $p < 0.001$ proporción pre-post

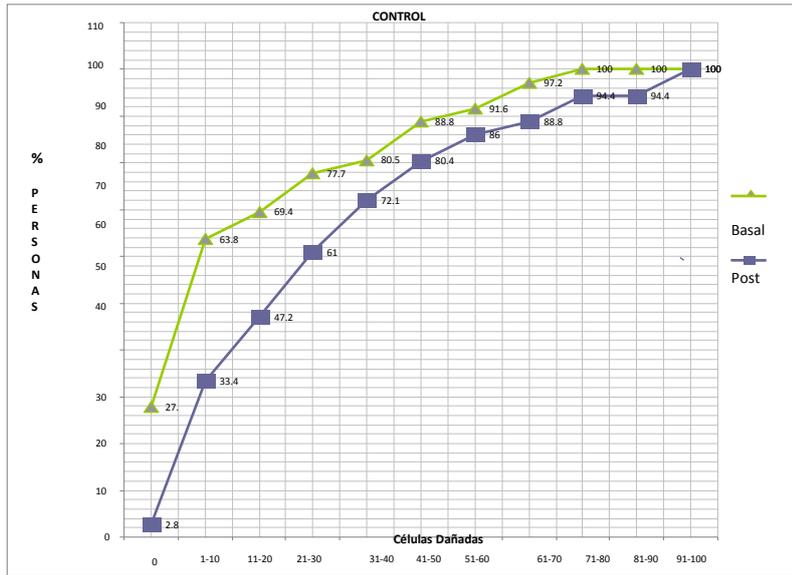
Con relación a la magnitud del daño celular (número de células dañadas) se observó un aumento de personas con alta magnitud de daño en el grupo control después de 6 meses de seguimiento (47.2% vs 80.6%). Igualmente el grupo de ejercicio físico moderado mostró un aumento significativo en la proporción de personas con alta magnitud de daño (3% vs 48.5%). En contraste el grupo de Tai Chi no presentó cambios significativos (Cuadro IX.7).

Cuadro IX.7 Magnitud del daño oxidativo al ADN por grupo de estudio.

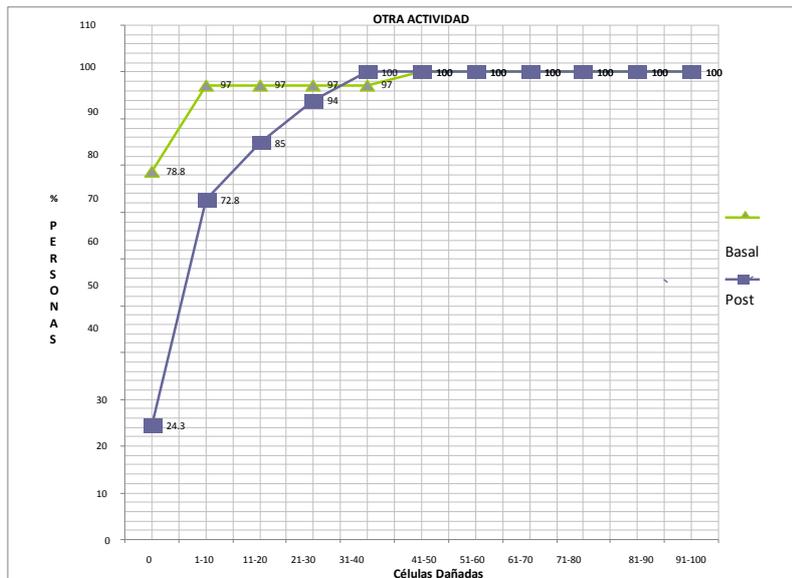
Grupo	Sin Daño	Células con daño al ADN		n
		Baja Magnitud (1-5 células)	Alta magnitud (6 o más células)	
Control				
Pre-intervención	10 (27.8 %)	9 (25.0%)	17 (47.2%)	36
Post-intervención	1 (2.7%)	6 (16.7%)	29 (80.6%)*	36
Tai Chi				
Pre-intervención	1 (2.1%)	3 (6.4%)	43 (91.5%)	47
Post-intervención	2 (4.2%)	2 (4.2%)	43 (91.6%)	47
Ejercicio moderado				
Pre-intervención	26 (78.8%)	6 (18.2%)	1 (3.0%)	33
Post-intervención	8 (24.2%)	9 (27.3%)	16 (48.5%)*	33

χ^2 intragrupo, significancia al 95%. * $p \leq 0.05$ proporción pre-pos

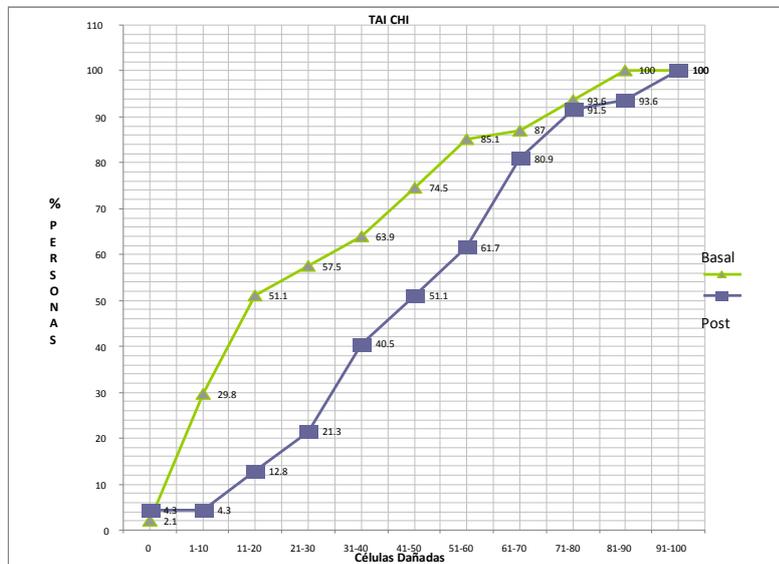
En el análisis de la frecuencia del número de células dañadas por grupo de estudio, se construyeron gráficas en donde se puede observar el aumento de daño en cada grupo luego de la intervención. En los 3 grupos se observa menor número de células dañadas antes de la intervención y un aumento luego del transcurso de 6 meses, sin embargo en el grupo que practicó Tai Chi el cambio es menos acentuado, al contrario de los otros grupos en donde el cambio en el número de células dañadas es más drástico (Figura IX.2).



A. Control



B. Otra actividad



C. Tai Chi

Figura IX.2 Frecuencia acumulada de células con daño al ADN por grupo de estudio. En la **gráfica C** del grupo que practicó Tai Chi se observa una disminución en el número de células con daño al ADN en contraste con los grupos control (**gráfica A**) y ejercicio moderado (**gráfica B**).

X. DISCUSIÓN.

En México la prevalencia de personas que tienen síndrome metabólico (SM) es superior al 40% como consecuencia de los malos hábitos alimenticios, factores genéticos y estilos de vida.¹¹

Se ha vinculado al SM con algunas enfermedades crónicas de alta prevalencia en la vejez como el cáncer, enfermedad de Alzheimer, artritis, diabetes mellitus tipo 2 (DM2) y enfermedades cardiovasculares, entre otras. Asimismo, el estrés oxidante (EOx) es una de las alteraciones bioquímicas relacionadas con la etiología y complicaciones tanto del SM como de las enfermedades ya mencionadas.^{15,29,32,184}

Existen varios estudios en los cuales se ha demostrado que el ejercicio físico moderado, definido como un tipo de actividad física que incluye movimientos corporales planeados y repetitivos, es un factor importante en la prevención y el tratamiento de diversos padecimientos entre los que destacan la obesidad, la hipertensión, el SM, las hiperlipidemias, las enfermedades cardiovasculares y la DM2.¹⁸⁵⁻¹⁸⁹ Además de que se ha observado que la práctica regular de ejercicio físico moderado y una alimentación saludable, tienen un efecto antiinflamatorio y antioxidante.^{134,150}

Se ha propuesto que el ejercicio físico moderado tiene un impacto positivo sobre la biología del envejecimiento. En este sentido, se ha comprobado que la práctica regular de ejercicio físico impacta sobre varios aspectos del envejecimiento y contribuye a minimizar los cambios asociados a éste proceso, disminuye el riesgo de enfermedades crónicas, propicia un bienestar psicosocial e incrementa la longevidad.^{127,132-134.}

Actualmente es común la práctica del Tai Chi en el ámbito gerontológico, el cual es reconocido como una modalidad de ejercicio físico moderado, ya que es seguro con características aerobias y anaerobias, del cual se han documentado beneficios físicos, psicológicos y sociales para quienes los practican entre los que se pueden destacar: disminución de las caídas, mejora en el equilibrio, bienestar psicológico,

así como cambios positivos en marcadores biológicos entre los que destaca un incremento en los niveles de antioxidantes.^{134,136-138}

Por tal motivo, el propósito del presente estudio fue determinar si la práctica del Tai Chi tiene un efecto positivo sobre los marcadores de EOX, inflamación crónica y daño al ADN en personas adultas mayores que cursan con SM, considerando que esta alteración metabólica podría ser un factor contribuyente para que aunada a los procesos del EOX e inflammaging inherentes al envejecimiento constituyan factores refractarios a los beneficios del ejercicio físico moderado.

Es importante aclarar que los resultados de éste estudio muestran que la población se ajusta a los criterios propuestos por el ATP III para el diagnóstico de SM.

En el presente estudio, luego de la intervención no se observó ninguna mejoría en los parámetros clínicos y antropométricos de los grupos de estudio, debido probablemente al tiempo del programa de ejercicio físico. En este sentido, se ha demostrado que el ejercicio físico moderado tiene un efecto positivo sobre el peso corporal, IMC, presión arterial y concentración de glucosa en sangre.^{158, 162, 166, 169}

Con relación a los resultados obtenidos sobre las características bioquímicas, se observó una tendencia a la disminución en la HbA1c en el grupo que practicó Tai Chi, lo cual concuerda con lo informado por Liu et al,¹⁵⁸ quienes observaron una reducción del nivel de HbA1c en adultos mayores que practicaban Tai Chi, y reportaron que la práctica de dicho ejercicio físico puede contribuir a la disminución de la sobreexposición a la glucosa.^{158,190} En este sentido, muchos de los pacientes que cursan con SM presentan picos de hiperglucemia, asimismo, se ha propuesto que los desórdenes observados en la hiperglucemia resultan de la sobreproducción del ión superóxido por el transporte de electrones en la cadena respiratoria, ésta sobreproducción genera desórdenes metabólicos que desencadenan en el incremento de la formación de productos finales de glucosilación avanzada (AGEs) y una acelerada glicación, es por ello que actualmente se reconoce a la HbA1c como un buen marcador de la sobreexposición a la glucosa y por lo tanto, de una tasa excesiva de glicación.^{191,192}

Por otro lado, se ha informado que la práctica del Tai Chi también puede influir en cambios sobre el perfil lipídico,^{159,162,163,166} sin embargo en nuestro estudio no se muestran cambios significativos en dichos parámetros, lo que probablemente se debe a la naturaleza fisiopatológica del síndrome con el que cursan los participantes y al tiempo en el que realizaron el ejercicio físico.

Como se ha señalado, el SM está asociado con niveles elevados de EOx, ya que en numerosos estudios se ha demostrado que la hipertrigliceridemia, la hiperglucemia y la resistencia a la insulina están estrechamente vinculadas con la elevación de los marcadores de EOx, así como con una actividad antioxidante deteriorada.¹⁹³

Es importante resaltar que la exposición de los organismos al EOx es una consecuencia inevitable de su capacidad para producir energía a partir de la actividad respiratoria y de varias de sus funciones fisiológicas, sin embargo, la elevada inestabilidad y reactividad de las EROs ha llevado a que su medición en los sistemas biológicos se realice por métodos indirectos que cuantifican los productos derivados de reacciones como biomoléculas orgánicas.¹⁹⁴ Tal es el caso de la medición de la actividad de enzimas antioxidantes intracelulares como la SOD, la GPx y antioxidantes extracelulares como CAT y la GAP. En este sentido, en nuestro estudio se encontró un incremento significativo en la CAT aunado a una disminución del índice de EOx en el grupo que practicó Tai Chi, a diferencia de lo observado en los grupos de comparación (ejercicio moderado y control) que no presentaron cambios significativos, lo cual es coincidente con lo observado por nuestro grupo de investigación en estudios realizados con adultos mayores sin SM que practicaron Tai Chi.^{166,167} La relevancia del presente hallazgo radica en que la práctica de Tai Chi durante la vejez tiene un efecto antioxidante más eficaz que otros tipos de ejercicio moderado.

En éste sentido, es importante señalar que la evaluación del EOx se debe realizar de manera integral, pues es un proceso dinámico en el que los cambios deben considerarse de forma conjunta ya que no existe un marcador definitivo que por sí solo permita evaluarlo.¹⁸¹ Al respecto, en lo referente al índice de EOx de los grupos de estudio, encontramos que éste índice fue significativamente menor en el

grupo que practicó Tai Chi, en comparación con los grupos de ejercicio moderado y el control.

En este sentido se ha demostrado que el ejercicio físico moderado disminuye los niveles de EOX al actuar como un antioxidante endógeno. Al respecto, se ha sugerido que a pesar de que existe un aumento en la producción de EROs durante la actividad física, el músculo senescente tiende a disminuir la expresión de los genes que codifican para enzimas antioxidantes, pues es probable que en éste estado exista una disminución de la capacidad para la señalización celular.¹⁹⁴

Por otro lado, se ha descrito que la actividad física moderada provoca un efecto antioxidante, lo cual se refleja en el índice de EOX. Otro mecanismo que se ha sugerido para explicar éste hecho se relaciona con la existencia de un proceso adaptativo llamado hormesis, proceso que está influenciado por el cambio en el balance redox a favor de condiciones más alcalinas en la célula. Las especies reactivas que se generan durante el ejercicio físico actúan como una señal necesaria para la activación de proteínas MAPK (como p38 y ERK1/ERK2) que a su vez activan la transcripción de factores sensibles al estado redox como NF- κ B, vía activación de la cinasa que fosforila al inhibidor de éste factor, el I κ B.¹⁹⁵ Los efectos positivos del Tai Chi posiblemente se deben al mecanismo ya mencionado, aunque se ha propuesto una hipótesis que se desarrolla a la par, en la que se sugiere que la profunda meditación incrementa los niveles de la hormona dehidroepiandrosterona, un marcador de envejecimiento que ha sido vinculado con un incremento en la actividad de enzimas antioxidantes. Éstas propuestas nos sugieren que la práctica del Tai Chi promueve una mejor respuesta antioxidante.¹⁹⁶⁻

198

Con relación al daño oxidativo al ADN como marcador de estrés oxidante, existen evidencias que muestran un incremento en el daño en los linfocitos de pacientes con SM en comparación con los de personas sanas.¹⁷² Este daño se puede explicar por la genotoxicidad a la gran cantidad de EROs que están presentes en los AM que padecen éste síndrome.¹⁹⁹ En nuestros resultados no se observan cambios significativos después de la práctica del ejercicio físico en los diámetros de los

núcleos de las células ni en las longitudes de las colas formadas en ninguno de los grupos de estudio.

Sin embargo al clasificar a los pacientes de manera cualitativa respecto al daño presente en las células estudiadas, observamos que un alto porcentaje de los participantes del grupo control que no presentaban ningún tipo de daño al ADN después de 6 meses de seguimiento, presentó daño bajo. En el grupo que realizó ejercicio físico moderado también hubo un aumento significativo en la proporción de personas que presentaron daño al ADN. Por el contrario, en el grupo que realizó Tai Chi no se mostraron cambios significativos. Lo anterior podría sugerirnos que el daño al ADN en AM sedentarios con SM aumenta conforme pasa el tiempo pues no hubo intervención en ellos, y que en las personas que realizan Tai Chi, el daño permanece constante, por el contrario en quienes realizaron otra actividad el sistema antioxidante no pudo contrarrestar el daño al ADN. Estos hallazgos sugieren que el Tai Chi protege en cierta medida al incremento en la frecuencia y magnitud de daño al ADN.

Uno de los mecanismos por los que se puede explicar el daño al ADN en AM que padecen SM implica una cascada de señalizaciones conocida como respuesta de daño al ADN en células senescentes.⁹⁶ Éste mecanismo propone que el estrés induce la respuesta al daño del DNA en células post mitóticas ligadas al SM; esto ocurre porque los cambios fenotípicos en las células senescentes no ocurren en las células quiescentes. Las células post mitóticas no pueden proliferar ni renovarse, sino que están obligadas a adaptarse al estrés, a fin de asegurar las funciones vitales para todo el organismo. Una vez que son funcionalmente maduras, dichas células generalmente son deficientes en la reparación del ADN, proceso que se va atenuando progresivamente durante la diferenciación celular, incrementando así la vulnerabilidad para el daño al ADN.¹⁹⁹⁻²⁰¹

Respecto a los marcadores de inflamación crónica, se ha asociado al SM con un estado proinflamatorio^{202,203} en éste estudio el perfil de marcadores de inflamación crónica encontrado en los AM que participaron es parecido al reportado en la literatura aunque no idéntico.

Respecto a la concentración de IL-8 en nuestro estudio, se observó una disminución significativa en el grupo que realizó Tai Chi, efecto que no se observó en los otros dos grupos. Esto concuerda con lo encontrado por Robins et al

(2015),¹⁷¹ en donde describió que disminuían los niveles de interleucinas proinflamatorias como interferón gamma, IL-8, IL-4 y TNF en mujeres con riesgo cardiovascular que realizaron Tai Chi. No obstante, en nuestro estudio no se observó disminución significativa de ninguna otra citocina medida. Se ha descrito que la práctica de Tai Chi en personas saludables o con enfermedades crónicas controladas promueve la disminución de IL-6 y aumento de IL-10,(Rosado, 2011)¹⁶⁴, aunque también existe evidencia de que la práctica de dicho ejercicio se asocia a un aumento de IL-6 y por ende a un estado proinflamatorio en sobrevivientes de cáncer.¹⁶⁵ En otro estudio realizado también en mujeres sobrevivientes de cáncer no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en marcadores como IL-4, IL-6, IL-10, IL-12 ni TNF- α respecto a la medición basal.¹⁶⁹

El envejecimiento se asocia a un estado proinflamatorio⁹⁹⁻¹⁰⁷ y que el SM también se acompaña por un estado leve de inflamación,²⁰²⁻²⁰⁵ por lo que creemos que la disminución de la quimocina IL-8 en nuestro estudio, muestra una disminución de la inflamación de los pacientes que realizaron el Tai Chi, es probable que una intervención de mayor tiempo pudiera mostrarnos cambios significativos en los demás marcadores.

Para finalizar, los resultados de nuestro estudio indican que se obtuvo un mayor efecto antioxidante relativo a la actividad antioxidante total, así como una disminución significativa de la IL-8 y disminución en el número de células con daño al ADN después de la práctica de Tai Chi durante 6 meses.

XI. CONCLUSIONES.

Hipótesis:

Considerando los estudios sobre el efecto antioxidante y antiinflamatorio de la práctica de Tai Chi en la vejez y en adultos con síndrome metabólico, suponemos que los adultos mayores con síndrome metabólico que practiquen Tai Chi, presentarán un aumento en la concentración plasmática de moléculas antioxidantes, disminución de citocinas inflamatorias y menor daño oxidativo al ADN que aquellos que no lo practiquen

Conclusiones:

- Nuestros hallazgos sugieren que la práctica de Tai Chi tiene un efecto antioxidante y antiinflamatorio en adultos mayores con síndrome metabólico, caracterizado por un incremento en la capacidad antioxidante plasmática total y por una disminución significativa en la concentración sanguínea de la interleucina 8.
- Por otro lado, la práctica de Tai Chi evita el incremento de daño al ADN en adultos mayores con síndrome metabólico.

XII. PERSPECTIVAS.

- Es conveniente incrementar el tamaño de la muestra y realizar un estudio de seguimiento a 6, 12 y 18 meses para confirmar nuestros hallazgos.
- Es necesario incluir otros marcadores de estrés oxidativo y daño al ADN para clarificar los posibles mecanismos involucrados.
- Nuestros resultados apoyan la propuesta de indicar la práctica del Tai Chi como tratamiento complementario para el síndrome metabólico en la vejez.

XIII. REFERENCIAS.

1. Reaven GM. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988;37: 1595-1607.
2. Ford ES, Giles WH, Diez WH. Prevalence of the metabolic syndrome among US adults. Findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey. *JAMA* 2002;287:356-359
3. Lerman GI, Aguilar-Salinas C, Gómez-Pérez F, Reza AA, Hernández JS, Vázquez CC, Rull JA. El síndrome metabólico. Posición de la sociedad Mexicana de nutrición y endocrinología, sobre la definición, fisiopatología y diagnóstico. Características del síndrome metabólico en México. *Rev Endocrinología y Nutrición* 2004;12(3):109-122.
4. Gómez-Pérez F, Ríos TJ, Aguilar-Salinas C, Lerman GI, Rull JA. Posición de la SMNE sobre el manejo del síndrome metabólico (2° parte). *Rev Endocrinología y Nutrición* 2005;13(1):9-23.
5. Oxford University Press on behalf of the British Geriatrics Society. The metabolic syndrome in older persons: a loosely defined constellation of symptoms or a distinct entity?. *Age and Ageing* 2009;38:494-497.
6. World Health Organization: Definition Diagnosis and Clasification of Diabetes Mellitus and its Complications: Report of a WHO Consultation. Geneva: WHO; 1999.
7. Executive summary of the third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert panel on detection, evaluation and treatment of high cholesterol. *JAMA* 2001;285:2486-2497.
8. Balkau B, Charles MA, Drivsholm T, Borch-Jhonsen K, Wareham N, Yudkin JS, Morris R, Zavaroni I, van Dame R, Feskings E, Gabriele R, Diet M, Nisson P, Headblad B. European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR): Frequency of the WHO metabolic syndrome in European cohorts, and the alternative definition of an insulin resistance syndrome. *Diabetes Metab* 2002; 28:364-376.
9. Bloomgarden ZT. American Association of clinical Endocrinologists (AACE). Consensus Conference on the Insulin Resistance Syndrome, 25-26 August 2002, Washington, DC. *Diabetes Care* 2003;26:1297-1303.

10. Aguilar-Salinas C, Rojas R, Gómez-Pérez F, Valles V, Ríos-Torres J, "et al" Analysis of agreement between the World Health Organization criteria and the National Cholesterol Education Program III definition of the metabolic syndrome. *Diabetes Care* 2003; 26:1635.
11. Aguilar-Salinas C, Rojas R, Gómez-Pérez F, Valles V, et al. High Prevalence of Metabolic Syndrome in Mexico. *Arch Med Res* 2004;35:76-81.
12. Rojas R, Aguilar-Salinas C, Jiménez-Corona A, Shamah Levy T, et al. Metabolic Syndrome in Mexican Adults. Results from the National Health and Nutrition Survey 2006. *Salud Publica Mex* 2010;52(1):S11-S18
13. Lorenzo C, Williams K, González-Villalpando C, Haffner S. The prevalence of metabolic syndrome did not increase in México city between 1990-1992 and 1997-1999. Despite more central obesity. *Diabetes Care* 2005;28:2480-2485.
14. Secretaría de Desarrollo Social. Ley de los derechos de las personas adultas mayores. México: Diario Oficial 2002 Jun 25; sección 1:43-59
15. Sánchez-Rodríguez M, Mendoza-Núñez V. Envejecimiento, enfermedades crónicas y antioxidantes. México: FES Zaragoza; 2003.p.5-82.
16. Seeman TE, Singer BH, Riff CD, Love GD, Levy-Stroms L. Social relationships, gender, and allostatic load across two age cohorts. *Psychosom Med* 2002;64:395-406.
17. McEwen BS. Allostasis, allostatic load, and the aging nervous system: role of excitotoxicity. *Neurochem Res* 2000;25:1219-1231.
18. McEwen BS. Sex, stress and hippocampus: allostasis, allostatic load and the aging process. *Neurobiol Aging* 2002;23:921-939
19. Seeman TE, McEwen BS, Rowe JW, Singer BH. Allostatic load as a marker of cumulative biological risk: MacArthur studies of successful aging. *PNAS* 2001;98:4770-4775.
20. Karlamangla AS, Singer BH, McEwen BS, Rowe JW, Seeman TE. Allostatic load as a predictor of functional decline MacArthur studies of successful aging. *J Clin Epidemiol* 2002;55:696-710.
21. Catalayud M. Envejecimiento celular y molecular. Teorías del envejecimiento. En: Salgado A, Guillen F. Manual de Geriatria. Barcelona: Salvat, 1986:1-17.
22. San Martín H, Pastor A. Epidemiología de la vejez ¿Qué edad tendrá usted cuando cumpla 70 años? Madrid, España: Interamericana; 1990:169-429.

23. Knight AJ. Free radicals, antioxidants, aging and disease. Washington: AACCC Press. 1999:45-57.
24. Cochill GR, Anderson JM, Hubbard BM, Slidders W. The effect of advance old age on the neuron content of cerebral cort. *J Neurol Sci* 1983;58:233-244.
25. Hayflick L. Biología del envejecimiento humano. *Investigación y Ciencia* 1980; 42:24-32.
26. Miquel J, Binard R, Fleming JE. Role of metabolic rate and DNA repair in Drosophila aging: implications for the mitochondrial theory of aging. *Exp Gerontol* 1983;18:167-171.
27. Hayflick L. Theories of biological aging. *Exp Gerontol* 1985;20:145-159.
28. Gutteridge JMC. Free radicals and aging. *Rev Clin Gerontol*. 1994;4:279-288.
29. Harman D. Free radical theory of aging. *Mutat Res* 1992;275:257-266.
30. Martin I, Grotewiel MS. Oxidative Damage and age-related functional declines. *Mech Ageing Dev* 2006;127:411-423.
31. Harman D. Aging: A theory based on free radical and radiation chemistry. *J Gerontol* 1956;11:298-300.
32. Halliwell B, Gutteridge JMC, Cross CE. Free radicals, antioxidants, and human disease: Where are we now? *J Lab Clin Med* 1992;119:598-620.
33. Harman D. The aging process. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981;78(11):7124-7128.
34. Mattson M. Roles of the lipid peroxidation product 4-hydroxynonenal in obesity, the metabolic syndrome, and associated vascular and neurodegenerative disorders. *Exp Gerontol* 2009;44(10):625-633.
35. Guarner V, Carbó R, Rubio ME, Baños de MacCarthy G. Aging of the cardiovascular system. In: Benhagen EF, editor. Hypertension: New Research. USA: Nova Biomedical Books Publishers.(2005)47-68
36. Baños G, El Hafidi M, Pérez-Torres I, Guarner V. Insulin resistance and the metabolic syndrome. In: Yao EB, editor. Insulin Resistance: New Research. USA: Nova Biomedical Books Publishers.(2009).49–97.
37. Guarner V, Rubio-Ruiz ME, Perez-Torres I, Baños de McCarthy G. Relation of aging and sex hormones to metabolic syndrome and cardiovascular disease. *Exp Gerontol* 2011;46:517–523.

38. Passos JF, Saretzki G, Ahmed S, Nelson G, Richter T, Peters H et al. Mitochondrial dysfunction accounts for the stochastic heterogeneity in telomere dependent senescence. *PLoS Biol* 2007;5:110-120
39. Harman D. The biologic clock: the mitochondria? *J Am Geriatr Soc*. 1972;20:145-147
40. Bonomini F, Rodella L, Rezzani R. Metabolic Syndrome, Aging and Involvement of Oxidative Stress. *Aging and disease*. 2015;6(2):109-120.
41. Drögue W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev* 2002;82:48-80.
42. Halliwell B. Reactive oxygen species in living systems: source biochemistry, and role in human. *Am J Med* 1991;91 Suppl 3C:14S-22S.
43. Chesseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull* 1993;49:481-493
44. Knight JA. Free radicals: their presence in biological systems. In: Free radicals, antioxidants, aging and disease. *Washington: AACCC Press* 1999. p. 21-43.
45. Thannickal VJ, Fanburg BL. Reactive oxygen species in cell signaling. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2000;279:L1005-L1028.
46. Gutteridge JMC. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem* 1995;41:1819-1828.
47. Stadman ER. Protein oxidation and aging. *Science* 1992;257:1220-1224.
48. Vilar-Rojas C, Guzmán-Grenfell AM, Hicks JJ. Participation of oxygen-free radicals in the oxido-reduction of proteins. *Arch Med Res* 1996;27:1-6.
49. González-Torres MC, Betancourt-Rule M, Ortiz-Muñiz R. Daño oxidativo y antioxidantes. *Bioquímica* 2000;25:3-9.
50. Singh R, Barden A, Mori T, Beilin L. Advanced glycation end-products: a review. *Diabetología* 2001;44:129-146.
51. Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. Oxidants, antioxidants, and degenerative diseases of aging. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90:7915-7922.
52. Kowaltowski A, Vercesi AE. Mitochondrial damage induced by conditions of oxidative stress. *Free Radic Biol Med* 1999;26:463-471.
53. Van Houten B, Woshner V, Santos JH. Role of mitochondrial DNA in toxic responses to oxidative stress. *DNA Rep* 2006;5:145-152.

54. Cabelof DC, Raffoul JJ, Ge Y, Van Remmen H, Matherly LH, Heydari AR. Age-related loss of the DNA repair response following exposure to oxidative stress. *J Gerontol* 2006;61A:427-434.
55. Aust AE, Eveleigh JF. Mechanisms of DNA oxidation. *Proc Soc Exp Biol Med* 1999;222:246-252.
56. Sohal RS, Weindruch R. Oxidative stress, caloric restriction, and aging. *Science* 1996;273:59-63.
57. Dalle-Donne I, Rossi R, Colombo R, Giustarini D, Milzani A. Biomarkers of oxidative damage in human disease. *Clin Chem* 2006;52:601-623.
58. Halliwell B. The definition and measurement of antioxidants in biological systems. *Free Radic Biol Med* 1995;18:125-126.
59. Noguchi N, Niki E. Chemistry of active oxygen species and antioxidants. In: Papas AM. Antioxidant status, diet, nutrition and health. New York: *CRC Press* 1999.p. 3-20.
60. Niki E. Action of antioxidants against oxidative stress. In: Dizdaroglu M, Karataya AE. Advances in DNA damage and repair. New York: Kluwer Academic/Plenium Publishers 1999.p. 313-318.
61. Koningsberg JC, van Asbeck BS, van Faassen E, Wiegman LJJM, van Hattum J, van Berge Henegouwen GP, Marx JJM. Copper, zinc-superoxide dismutase and hydrogen peroxide: a hydroxyl radical generating system. *Clin Chem Acta* 1994;230:51-61.
62. Halliwell B, Gutteridge JMC. Free radicals in Biology and medicine. 2° Ed. London: Oxford University Press 1995:86-276.
63. Adachi T, Wang J, Wang XL. Age-related change of plasma extracellular-superoxide dismutase. *Clin Chim Acta* 2000;290:169-178.
64. Pippenger CE, Browne RW, Armstrong D. Regulatory antioxidant enzymes. In: Armstrong D. Free radical and antioxidant protocols. New Jersey: *Humana Press* 1998:299-313.
65. Laval J, Bauche C, Jurado J, Paillard F, Sapaarbaev M, Sidorkina O. Repair of DNA damaged by free radicals. In: Dizdaroglu M, Krataya AE. Advances in DNA damage and repair. New York: Kluwer Academic/ Plenum Publishers 1999.p.237-250.
66. Matés JM, Pérez-Gómez C, De Castro IN. Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin Biochem* 1999;32(8):595-603.

67. Amstad P, Peskin A, Shah G, Mirault ME, Moret R, Zbinden I, Cerutti P. The balance between Cu,Zn-Superoxide dismutase and catalase affects the sensitivity of mouse epidermal cells to oxidative stress. *Biochem* 1991;30: 9305-9313.
68. Amstad P, Moret R, Cerutti P. Glutathione peroxidase compensates for the hypersensitivity of Cu, Zn-superoxide dismutase overproducers to oxidant stress. *J Biol Chem* 1994;269:1606-1609.
69. Miller NJ. Non vitamin plasma antioxidants. En: Armstrong D. *Methods in Molecular Biology*. New Jersey: *Humana Press* 1998.p.285-297.
70. De Zwart LL, Meerman JHN, Commandeur JNM, Vermeulen NPE. Biomarkers of free radical damage applications in experimental animals and in humans. *Free Radic Biol Med* 1999;26:202-226.
71. Young IS, Woodside JV. Antioxidants in health and disease. *J Clin Pathol* 2001;54:176-186.
72. Davies KJA. Oxidative stress, antioxidant defenses, and damage removal, repair, and replacements systems. *IUBMB Life* 2000;50:279-289
73. Finkel T, Holbrook N J. Oxidants , oxidative stress and the biology of ageing. *Nature* 2000;408:239-247.
74. Abdilla N, Tormo MC, Fabian MJ, Chaves FJ, Saez G, Redon J. Impact of the components of metabolic syndrome on oxidative stress and enzymatic antioxidant activity in essential hypertension. *J Hum Hypertens* 2007;21:68-75.
75. Singh NS. Microgels for estimation of DNA strand breaks, DNA protein crosslinks and apoptosis. *Mutat Res* 2000;455:111-127.
76. Tice RR, Agurell E, Anderson D, Burlinson B, Hartmann A, Kobayashi H. Single cell gel/comet assay: Guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing. *Environ Mol Mutagen* 2000;35:206-221.
77. Collins A, Horvathová E. Oxidative DNA damage, antioxidants and DNA repair: applications of the comet assay. *Biochem Soc Transac* 2001;29(2): 337-341.
78. Wu LL, Chiou C-C, Chang P-Y, wu JT. Urinary 8-OhdG: a marker of oxidative stress to DNA and a risk factor for cancer, atherosclerosis and diabetics. *Clin Chim Acta* 2004;339:1-9.

79. Cooke MS, Evans MD, Dove R, Rozalski R, Gackowski D, Siomek A. DNA repair is responsible for the presence of oxidatively damaged DNA lesions in urine. *Mutat Res* 2005;574:58-66.
80. Fraga CG, Shigenaga MK, Park JW, Degan P, Ames BN. Oxidative damage to DNA during aging: 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in rat organ DNA and urine. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87:4533-4537.
81. Matés JM, Pérez-Gómez C, de Castro IN. Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin Biochem* 1999;32:595-603.cdn
82. Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M, Iwaki M, Yamada Y, Nakajima Y, "et al". Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J Clin Invest* 2004;114(12):1752-1756.
83. Praven S, Mishra S, Peeyush A, Mathur S. Oxidative stress in Metabolic Syndrome. *Indian J Clin Biochem* 2005;20(1):145-149.
84. Van Guilder G, Hoetzer G, Greiner J, Stauffer B, DeSouza C. Influence of metabolic syndrome on biomarkers of oxidative stress and inflammation in obese Adults. *Obesity* 2006;14(12):2127-2131.
85. Beristain-Pérez A, Sánchez-Rodríguez M, Ruiz-Ramos M, Mendoza-Núñez V. Estrés oxidativo como factor de riesgo para el desarrollo de diabetes mellitus, osteoartritis o hipertensión arterial en adultos mayores. *Bioquímica* 2006; 31(1):13-22.
86. Lieber MR, Karanjawala ZE. Ageing, repetitive genomes and DNA damage. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2004;5(1):69-75.
87. Chen JH, Hales CN, Ozanne SE. DNA damage, cellular senescence and organismal ageing: causal or correlative?. *Nucleic Acids Res* 2007;35(22):7417-7428.
88. Dandona P, Thusu K, Cook S, Snyder B, Makowski J, Armstrong D, Nicotera T. Oxidative damage to DNA in diabetes mellitus. *Lancet* 1996;17;347(8999):444-445.
89. Jain N, Naseem I, Ahmad J. Evaluation of DNA damage and metabolic syndrome parameters in diabetic rabbits supplemented with antioxidants. *Fundam Clin Pharmacol* 2009;23(2):197-205. doi: 10.1111/j.1472-8206.2009.00666.x.

90. Caino MC, Meshki J, Kazanietz MG. Hallmarks for senescence in carcinogenesis: novel signaling players. *Apoptosis* 2009;14(4):392-408. doi: 10.1007/s10495-009-0316-z.
91. Braidy N, Guillemin G, Grant R. Promotion of cellular NAD(+) anabolism: therapeutic potential for oxidative stress in ageing and Alzheimer's disease. *Neurotox Res* 2008;13(3-4):173-84.
92. Dandona P, Aljada A, Chaudhuri A, Mohanty P, Garg R. Metabolic syndrome: a comprehensive perspective based on interactions between obesity, diabetes, and inflammation. *Circulation* 2005;111(11):1448-54.
93. Dandona P¹, Aljada A, Bandyopadhyay A. Inflammation: the link between insulin resistance, obesity and diabetes. *Trends Immunol* 2004;25(1):4-7.
94. Storz P. Reactive oxygen species-mediated mitochondria-to-nucleus signaling: a key to aging and radical-caused diseases. *Sci STKE* 2006;2006(332):re3.
95. Erol A. Retrograde regulation due to mitochondrial dysfunction may be an important mechanism for carcinogenesis. *Med Hypotheses* 2005;65(3):525-529.
96. Erol A. Systemic ADN damage response and metabolic syndrome as a premalignant state. *Curr Mol Med* 2010;10(3):321-334.
97. Punchard NA, Whelan CJ, Adcock I. The journal of inflammation. *J Inflamm (Lond)* 2004 Sep 27;1(1):1.
98. Spector WG, Willoughby DA. The inflammatory response. *Bacteriol Rev* 1963;27:117-149.
99. Forsey RJ, Thompson JM, Ernerudh J, Hurst TL, Strindhall J, Johansson B, Nilsson B, Wikby A. Plasma cytokine profiles in elderly humans. *Mech Ageing Dev* 2003;124:487-493.
100. Ershler W, Keller ET. Age-associated increased interleukin 6 gene expression, late-life diseases and frailty. *Annu Rev Med* 2000;51:245-70.
101. Giunta S. Is inflammaging an auto(innate) immunity subclinical syndrome? *Immunity & Ageing* 2006; 3:12-13.
102. Mishto M, Santoro A, Bellavista E, Bonafé M, Monti D, Franceschi C. Immunoproteasomes and immunosenescence. *Ageing Res Rev* 2003;2:419-432
103. McGeer PL, McGeer EG. Inflammation and the degenerative diseases of aging. *Ann N Y Acad Sci* 2004;1035:104-116.

104. Vasto S, Carruba G, Lio D, Colonna-Romano G, Di Bona D, Candore G, Caruso C. Inflammation, ageing and cancer. *Mech Ageing Dev* 2009;130:40-45.
105. Pickup JC. Inflammation and activate innate immunity in the pathogenesis of type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2004;27:813-823.
106. Florez H, Troen RB. Fat and inflammaging: a dual path to unfitness in elderly people. *J Am Geriatr Soc* 2008;56:558-560.
107. Giunta B, Fernandez F, Nikolic W, Obregon D, Rrapo E, Town T, Tan J. Inflammaging as prodrome to Alzheimer's disease. *J Neuroinflammation* 2008;5:1-15.
108. Franceschi C, Capri M, Monti D, Giunta S, Olivieri F, Sevini M, Cevenini E, Castellani GC, Salvioli S. Inflammaging and anti-inflammaging: A systemic prespective on aging and longevity emerged from studies in humans. *Mech Ageing Dev* 2007;128:92-105.
109. Franceschi C, Bonafé M, Valensin S. Human immunosenescence: the prevailing of innate immunity, the failing of clonotypic immunity, and the filling of immunological space. *Vaccine* 2000;18:1717-1720.
110. Franceschi C, Bonafé M, Valensin S, Olivieri F, De Luca M, Ottaviani E, De Benedictis G. Inflamm-aging An evolutionary perspective on immunosenescence. *Ann N Y Acad Sci* 2000;908:244-254.
111. Spranger J, Kroke A, Möling M, Hoffman K, Bergmann M, Ristow M, Inflammatory cytokines and the risk to develop type 2 diabetes. *Diabetes* 2003; 52:812-17.
112. Franceschi C, Bonafé M. Centenarians as a model for healthy aging. *Biochem Soc Trans* 2003;31:457-461.
113. Candore G, Balistreri RC, Listi F, Grimaldi PM, Vasto S, Colonna-Romano G, Franceschi C, Lio D, Caselli G, Caruso C. Immunogenetics, gender and longevity. *Ann N Y Sci Acad* 2006;1089:516-537.
114. Wellen KE, Hotamisligil GS. Inflammation, stress and diabetes. *J Clin Invest* 2005;115:1111-19.
115. Abdel-Khalek M, Bierhaus A, Schiekofler S, Tritschler H, Ziegler R, Nawroth P. The role of oxidative stress and NF-kB activation in the late diabetic complications. *Bio Factors* 1999;10:156-67.

116. Rashidi-Springall M, Bojalil Parra R. Proteína C Reactiva: más que un marcador sistémico de inflamación. *ContactoS* 2001;60:37-41.
117. Mendoza-Núñez V, Retana-Ugalde R. Estrés Oxidativo e inflamación. Medición e interpretación diagnóstica. México: UNAM; 2009.
118. Ridker PM, Haughe P. Prospective studies of C-reactive protein as a risk factor for cardiovascular disease. *J Investig Med* 1998;46(8):391-5
119. Ershler W, Keller ET. Age-associated increased interleukin 6 gene expression, late-life diseases and frailty. *Annu Rev Med* 2000;51:245-70.
120. Panchard NA, Whelan C, Adcock J. The journal of inflammation (Editorial). *J Inflamm* 2004;1:1
121. Ishikawa S, Kayaba K, Gotoh T, Nakamura Y, Kajii E. Metabolic Syndrome and C-Reactive protein in the general population: JMS cohort study. *Circ J* 2007; 71:26-31.
122. Goldsby R, Kindt T, Osborne B, Kuby J. Inmunología. México: Mc Graw-Hill Interamericana 2004.p. 357-380.
123. Forsey RJ, Thompson JM, Ernerudh J, Hurst TL, Strindhall J, Johansson B, Nilsson B, Wikby A. Plasma cytokine profiles in elderly humans. *Mech Ageing Dev* 2003;124:487-93.
124. Ershler W, Keller ET. Age-associated increased interleukin 6 gene expression, late-life diseases and frailty. *Annu Rev Med* 2000;51:245-70.
125. Gonzalez-Chávez A, Becerra-Pérez A, Carmona-Solís FK, Cerezo-Goiz IA, Hernández-y Hernández H, Lara-Esqueda A. Ejercicio físico para la salud. *Rev Mex Cardiol* 2001;12:168-180.
126. Abdel-Khalek M, Bierhaus A, Schiekofer S, Tritschler H, Ziegler R, Nawroth P. The role of oxidative stress and NF- κ B activation in the late diabetic complications. *Bio Factors* 1999;10:156-67.
127. Bassey EJ. The benefits of exercise for the health of older people. *Rev Clin Gerontol* 2000;10:17-31.
128. Silverthorn DU, Ober WC, Garrison CW, Silverthorn AC, Johnson BR. Fisiología humana, en enfoque integrado. 4ª ed. Buenos Aires: Ed. Médica Panamericana;2008.p.807-820.
129. Bowers RW, Fox EL. Fisiología del deporte. 3ª ed. Buenos Aires: Ed. Médica Panamericana 1995. p.14-135.

130. Foster VL, Hume JG, Byrnes W. Endurance training for elderly women. Moderate vs low intensity. *J Gerontol* 1989;44M:184-188.
131. Ávila-Funes JA, García-Mayo EJ. Beneficios de la práctica del ejercicio en los ancianos. *Gac Med Mex* 2004;140:431-440.
132. Singh MAF. Exercise and aging. *Clin Geriatr Med* 2004;20:201-221.
133. Warburton DE, Nicol CW, Bredin SS. Prescribing exercise as preventive therapy. *CMAJ* 2006;74:961-974.
134. Johnsen DL, DeLany JP, Frisard MI, Welsh MA, Ravussin E. Physical activity in aging. *J Appl Physiol* 2008;105:495-501.
135. Blain H, Vuillemin A, Blain A, Jeandel C. The preventive effects of physical activity in the elderly. *Press Med* 2000;29:1240-1248.
136. Harper ME, Bevilacqua L, Hagopian K, Weindruch R, Ramsey JJ. Ageing, oxidative stress and mitochondrial uncoupling. *Acta Physiol Scand* 2004;182:321-331.
137. McCardle A, M. Exercise, oxidative stress and ageing. *J Anat* 2000;197:539-541.
138. Banerjee AK, Mandal A, Chanda D, Chakraborti. Oxidant, antioxidant and physical exercise. *Moll Cell Biochem* 2003;253:307-312.
139. Yu PB, Chung HY. Adaptive mechanism to oxidative stress during aging. *Mech Ageing Dev* 2006;127:436-443.
140. Jackson M. Reactive oxygen species and redox regulation of skeletal muscle adaptations to exercise. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2005;360:2285-2291.
141. Fisher-Wellman K, Bloomer RJ. Acute exercise and oxidative stress: a 30 year history. *Dynamic Medicine* 2009;8:1-25.
142. Netz Y. Type of activity and fitness benefits as moderators of the effect of physical activity on affect in advanced age. *Eur Rev Aging Phys Act* 2009;6, 19–2710.1007/s11556-009-0043-z.
143. Gomez-Cabrera MC, Domenech E. Moderate exercise is an antioxidant: upregulation of antioxidant genes by training. *Free Radic Biol Med* 2008;44:126-131.
144. Radak Z, Chung HY, Goto S. Exercise and hormesis: oxidative stress-related adaptation for successful aging. *Biogerontology* 2005;6:71-75.

145. Hirokawa K. Reversing and restoring immune functions. *Mech Aging Dev* 1997;93:119-124.
146. Pedersen BK, Hoffman-Goetz L. Exercise and the immune system: regulation, integration and adaptation. *Physiol Rev* 2000;80:1055-1089.
147. Drela N, Kozdron E, Szczypiorski P. Moderate exercise may attenuate some aspects of immunosenescence. *BMC Geriatrics* 2004;4:1-7.
148. Malaguarnera L, Cristakdi E, Vinci M, Malaguarnera M. The role of exercise on the innate immunity of the elderly. *Eur Rev Aging Phys Act* 2008;5:43-49.
149. Malaguarnera L, Cristakdi E, Lipari H, Malaguarnera M. Acquired immunity: immunosenescence and physical activity. *Eur Rev Aging Phys Act* 2008;5:61-68.
150. Li JX, Hong Y, Chan KM. Tai Chi: physiological characteristics and beneficial effects on health. *Br J Sports Med* 2001;35:148–156.
151. Ospina MB, Bond TK, Karkhaneh M, Tjosvold L, Vandermeer B, Liang Y, Bialy L, Hooton N, Buscemi N, Dryden DM, Klassen TP. Meditation Practices for Health: State of the Research. Evidence Report/Technology Assessment No. 155. Rockville, MD: *Agency for Healthcare Research and Quality* 2007;43-44.
152. Verhagen AP, Immink M, van der Meulen A, Bierma-Zeinstra SMA. The efficacy of Tai Chi Chuan in older adults: a systematic review. *Fam Pract* 2004;21:107-113.
153. Yan JH, Downing JH. Tai Chi: an alternative exercise form for seniors. *J Aging Phys Act* 1998;6:350-362.
154. Wang C, Collet P, Lau J. The effect of Tai Chi on health outcomes in patients with chronic conditions. *Arch Med Inter Med* 2004;164:493-501.
155. Tsai JC, Wang WH. The beneficial effects of Tai Chi chuan on blood pressure and lipid profile and anxiety. *J Alt Compl Med* 2003;9:747-54.
156. Lee EN. The effects of Tai Chi chuan program on blood pressure, total cholesterol and cortisol levels in patients with hypertension. *Taehan Kanho Chin* 2004;34:829-37.
157. Ko GTC, Tsang PCC, Chan HCK. A 10-week Tai-Chi program improved the blood pressure, lipid profile and SF-36 scores in Hong Kong Chinese women. *Med Sci Monit* 2006;12:CR196-199.

158. Liu X, Y D Miller, N W Burton, W J Brown. A preliminary study of the effects of Tai Chi and Qigong medical exercise on indicators of metabolic syndrome, glycemic control, health-related quality of life, and psychological health in adults with elevated blood glucose. *Br J Sports Med* 2010;44:704–709.doi:10.1136/704 bjsm.2008.051144
159. Lam P, Dennis SM, Diamond TH, Improving glycaemic and BP control in type 2 diabetes The effectiveness of tai chi. *Aust Fam Physician* 2008;37:884-887.
160. Goon JA, Noor A, Musulmah M, Anum Y, Ngah W. Long term Tai Chi exercise reduced DNA damage and increased lymphocyte apoptosis and proliferation in older adults. *Med J Malasya* 2008;63:319-324.
161. Goon JA, Noor Am Musalmah M, Anum Y, Nazaimoon WM, Hgah W. Effect of Tai Chi exercise on DNA damage, antioxidant enzymes, and oxidative stress in middle-age adults. *J Phys Act Health* 2009;6:43-54.
162. Chen SC, Ueng KC, Lee SH, Sun KT, Lee MC. Effecto of Tau Chi exercise on biochemical profiles and oxidative stress indicators in obese patients with type 2 diabetes, *J Altern Complement Med* 2010 Nov;16(11):1153-9. doi: 10.1089/acm.2009.0560.
163. Palasuwan A, Suksom D, Margaritis I, Soogarun S, Rousseau AS. Effects os Tai Chi training on antioxidant capacity in pre- and postmenopausal women. *J Aging Res* 2011;28:1-8.
164. Rosado Pérez Juana. Efecto de la caminata y el Tai Chi sobre los marcadores Biológicos de Estrés Oxidativo e Inflamación crónica en ancianos. Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM, 2011.
165. Janelins MC, Davis PG, Wideman L, Katula JA, Sprod LK, Peppone LJ, Palesh OG, Heckler CE, Williams JP, Morrow GR, Mustian KM. Effects of Tai Chi Chuan on insulin and cytokine levels in a randomized controlled pilot study on breast cáncer survivors. *Clin Breast Cancer* 2011;11(3):161-70. doi: 10.1016/j.clbc.2011.03.013. Epub 2011 Apr 20.
166. Rosado-Pérez J, Santiago-Osorio E, Ortiz R, Mendoza-Núñez VM. Tai Chi diminishes oxidative stress in Mexican olders adults. *J Nutr Health Aging* 2012;16(7):642-646.
167. Rosado-Pérez J, Ortiz R, Santiago-Osorio E, Mendoza-Núñez VM. Effect of Tai Chi versus walking on oxidative stress in Mexican older adults. *Oxid Med Cell Longev* 2013;2013:298590. doi: 10.1155/2013/298590.
-

168. Huang XY, Eungpinichpong W, Silsirivanit A, Nakmareong S, Wu XH. Tai chi improves oxidative stress response and DNA damage/repair in young sedentary females. *J Phys Ther Sci* 2014;26(6):825-9. doi: 10.1589/jpts.26.825. Epub 2014 Jun 30.
169. Campo RA, Light KC, O'Connor K, Nakamura Y, Lipschitz D. Blood pressure, salivary cortisol, and inflammatory cytokine outcomes in senior female cancer survivors enrolled in a tai chi chih randomized controlled trial. *J Cancer Surviv* 2015; 9(1):115-25. doi: 10.1007/s11764-014-0395-x. Epub 2014 Aug 28.
170. Zhou J, Chang S, Cong Y, Qin M, Sun W, Lian J, Yao J, Li W, Hong Y. Effects of 24 weeks of Tai Chi exercise on postural control among elderly women. *Res Sports Med* 2015;23(3):302-14. doi: 10.1080/15438627.2015.1040918.
171. Robins JL, Elswick RK Jr, Sturgill J, McCain N. The Effects of Tai Chi on Cardiovascular Risk in Women. *Am J Health Promot* 2015 doi: <http://dx.doi.org/10.4278/ajhp.140618-QUAN-287>.
172. Karaman A, Aydin H, Geckinli B, Cetinkaya A, Karaman S. DNA damage is increased in lymphocytes of patients with metabolic syndrome. *Mutat Res* 2015;782: 30-35.
173. Alsubiheen A, Petrofsky J, Daher N, Lohman E, Balbas E. Effect of Tai Chi Exercise Combined with Mental Imagery Theory in Improving Balance in a Diabetic and Elderly Population. *Med Sci Monit* 2015;21:3054-61. doi: 10.12659/MSM.894243.
174. Chung HY, Cesari M, Anton S, Marzetti E, Giovannini S, Seo AY, Carter C, Yu BP, Leeuwenburgh C. Molecular Inflammation: underpinnings of aging and age-related diseases. *Ageing Res Rev* 2009;8(1):18-30.
175. Rosado-Perez J, Santiago-Osorio E, Ortiz R, Mendoza Núñez VM. Tai Chi Improves oxidative stress in Mexican older adults. *Free Radic Biol Med* 2010; 49:S225.
176. Asociación Médica Mundial (AMM). Declaración de Helsinki. Principios éticos para las investigaciones con seres humanos. 64ª Asamblea General, Fortaleza, Brasil, Octubre 2013.[En línea]. Disponible en: <http://www.wma.net/es/30publications/10policies/b3/index.html>

177. Secretaría de Salud, Norma Oficial Mexicana NOM-030-SSA2-1999, para la prevención, tratamiento y control de la hipertensión arterial. México D.F.: Diario Oficial de la Federación, 5 de abril de 2000.
178. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972;18:499–502.
179. Jentzsch A, Bachmann H, Fürst P, Bielsaski HK. Improved analysis of malondialdehyde in human body fluids. *Free Radic Biol Med* 1996;20:251-256.
180. Paglia DE and Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J. Lab. Clin. Med* 1967;70:158-169.
181. Sánchez-Rodríguez M, Santiago-Osorio E, Vargas A, Mendoza-Núñez VM. Propuesta de un constructo para evaluar integralmente el estrés oxidativo. *Bioquimia* 2004; 29 (3): 81-90
182. Miller NJ. Nonvitamin plasma antioxidants. In: Armstrong D. Free radical and antioxidant protocols. New Jersey: Humana Press 1998.p.285-297.
183. Rodríguez-Mercado JJ, Mateos-Nava R, Altamirano-Lozano M. DNA damage induction in human cells exposed to vanadium oxides in vitro. *Toxicology in Vitro* 2011;25(8):1996-2002.
184. Forsberg L, de Faire U, Morgenstern R. Oxidative stress, human genetic variation, and disease. *Arch Biochem Biophys* 2001;389:84-93.
185. Russell RP et al. A recommendation from the Centers for Disease Control and Prevention and the American College of Sports Medicine. *JAMA* 1995;273:402-407.
186. Feigenbaum MS, Pollock ML. Strength training: rationale for current guidelines for adult fitness programs, options. *Phys Sportsmed* 1997;25(2):44-64
187. Ortega SR. Medicina del ejercicio físico y del deporte para la atención a la salud. Madrid: Díaz de Santos;1992.
188. ACSM position stand on the recommended quantity and quality of exercise for developing and maintaining cardiorespiratory and muscular fitness, and flexibility in adults. *Med Sci Sports Exerc* 1998;30(6):975-991.

189. González-Chávez A, Becerra-Pérez A, Carmona-Solís F, Cerezo-Goiz I, Hernández-Hernández H, Lara-Esqueda A. Ejercicio Físico para la salud. *Rev Mex Cardiol* 2001;12(4):168-180.
190. Cress ME, Buchner DM, Prohaska T, Rimmer J, Brown M, DePietro L, Chodzko-Zajkow. Best practice for physical activity programs and behavior counseling in older adult populations. *Eur Rev Aging Phys Act* 2006;3:34-42.
191. Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature* 2001;414:813-820.
192. Avignon A, Radauceanu A, Monnier L. Nonfasting plasma glucose is a better marker of diabetic control than fasting plasma glucose in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 1997;20:1822-1826.
193. Hansel B, Giral P, Nobecourt E, et al. Metabolic Syndrome is associated with elevated oxidative stress and dysfunctional dense high density lipoprotein particles displaying impaired antioxidative activity. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89(10):4963-4971.
194. Gil L, Siems W, Mazurek B, Gross J, Schroeder P, Voss P, Grune T. Age associated análisis of oxidative stress parameters in human plasma and erythrocytes. *Free Radic Res* 2006;40(5):495-505.
195. Gomez-Cabrera MC, Domenech E, Viña J. Moderate exercise is an antioxidant: upregulation of antioxidant genes by training. *Free Radic Biol Med* 2008;44(2):126–131.
196. Epel E, Daubenmier J, Moskowitz JT, Folkman S, Blackburn E. Can meditation slow rate of cellular aging? Cognitive stress, mindfulness, and telomeres. *Ann N Y Acad Sci* 2009; 1172:34–53.
197. Yan JH, Downing JH. Tai Chi: an alternative exercise form for seniors. *J Aging Phys Act* 1998;6(4):350–362.
198. Mahagita C. Roles of meditation on alleviation of oxidative tress and improvement of antioxidant system. *J Med Assoc Thai* 2010;93 Suppl 6:S242-54
199. Lee HG, Casadesus G, Zhu X, Castellani RJ, McShea A, Perry G, Petersen RB, Bajic V, Smith MA. Cell cycle re-entry mediated neurodegeneration and its treatment role in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Neurochem Int* 2009;54(2):84-8. doi: 10.1016/j.neuint.2008.10.013.

200. Grune T, Merker K, Jung T, Sitte N, Davies KJ. Protein oxidation and degradation during postmitotic senescence. *Free Radic Biol Med* 2005;39(9):1208-15.
201. Maejima Y, Adachi S, Ito H, Hirao K, Isobe M. Induction of premature senescence in cardiomyocytes by doxorubicin as a novel mechanism of myocardial damage. *Aging Cell* 2008;7(2):125-36.
202. Ingelsson E, Hulthe J, Lind L. Inflammatory markers in relation to insulin resistance and the metabolic syndrome. *Eur J Clin Invest* 2008;38(7):502-509
203. Ferreira-Hermosillo A, Molina-Ayala M, Ramírez-Rentería C, et al. Inflammatory Cytokine Profile Associated with Metabolic Syndrome in Adult Patients with Type 1 Diabetes. *J Diabetes Res* 2015;2015:972073.doi: 10.1155/2015/972073. Epub 2015 Jul 27
204. Chávez-Tapia N, Almeda P, Motola D, Sánchez K, Méndez-Sánchez N. Síndrome metabólico. Aspectos fisiopatológicos e importancia epidemiológica. *Médica Sur* 2004;11(3):160-169.
205. Rosado-Pérez J, Mendoza-Núñez V. Mini-revisión: Inflamación crónica y estrés oxidativo en la diabetes mellitus. *Bioquímica* 2007; 32(2):58-69.

XIV. ANEXOS.

ANEXO 1



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



EFFECTO DEL TAI CHI EN LA SALUD DE ADULTOS MAYORES CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Antecedente

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

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

Objetivo

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

Condiciones para ingresar al estudio

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

Riesgos

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

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

Beneficios

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

Confidencialidad

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

Preguntas

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

Derecho a rehusar

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

CONSENTIMIENTO

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

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

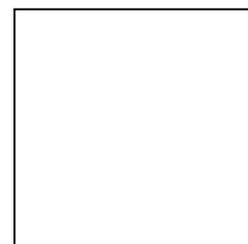
Nombre y firma del participante _____

Nombre y firma de un familiar (testigo): _____

Nombre y firma del investigador: QFB. Taide Laurita Arista Ugalde

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

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



En caso de cualquier duda o sugerencia en relación al proyecto comunicarse con:
Dr. Víctor Manuel Mendoza Núñez o
QFB. Taide Arista Ugalde
Unidad de Investigación en Gerontología, FES Zaragoza UNAM, México D.F.,
Tel. 015556230700, # 39182, o a los correos:
mendovic@servidor.unam.mx, tdlarista@gmail.com

ANEXO 2.

BITÁCORA PARA REALIZAR LA FORMA 8 DE TAI CHI

CALENTAMIENTO

El calentamiento incluyen los movimientos a realizar antes de cualquier rutina de ejercicio. Es indispensable que siempre se lleve a cabo ya que prepara al cuerpo para esfuerzos mayores porque:

- ✓ Eleva la temperatura corporal.
- ✓ Eleva la frecuencia cardíaca.
- ✓ Mejora la distribución de oxígeno y nutrimentos necesarios para llevar a cabo la actividad Física.
- ✓ Mejora la contractilidad del músculo.
- ✓ Mejora la elasticidad de todos los tejidos blandos con lo que se previenen lesiones.

Para calentar adecuadamente se necesita por lo menos de 10 minutos, a fin de tomar en consideración todas las partes del cuerpo, y movilizar la mayor cantidad de articulaciones.

Es importante llevar a cabo una sistematización por lo que a continuación sugerimos la siguiente rutina que debe empezar con la cabeza y terminar con los pies. Algunos entrenadores sugieren realizarla en sentido contrario.

Todos los movimientos implican la realización de varias repeticiones y su número depende del tiempo que se disponga para el calentamiento; de esta manera se pueden hacer 8, 10, o más repeticiones. La actividad que se realiza para el calentamiento debe empezar suavemente y poco a poco incrementar la intensidad sin llegar a ser brusca.

La posición inicial debe ser parada con los pies ligeramente separados a una distancia paralela a los hombros. En algunos movimientos las manos se pueden poner en la cintura ya que proporciona seguridad, o dejar los brazos a lo largo del cuerpo realizando un balance natural.

Cabeza

1. Decir que sí: Flexión y extensión de la cabeza hacia delante y hacia atrás (en el caso de los adultos mayores no es conveniente llevar la cabeza exageradamente hacia atrás, ya que se puede perder el equilibrio y caer).
2. Decir que no: movimientos laterales de la cabeza hacia la izquierda y hacia la derecha. Pedir a los adultos mayores que no arrastren la mirada porque también puede provocar mareo, por lo tanto deben de mirar hacia un punto fijo cada vez que volteen la cabeza.
3. Rodar la cabeza sobre los hombros, primero hacia la derecha y luego hacia la izquierda.

Brazos

1. Encoger los hombros: colocar las manos en la cintura, levantar los hombros, subir y bajarlos suavemente, haciendo las repeticiones establecidas.
2. Rodar los hombros: en la misma posición llevar los hombros hacia adelante rodándolos y posteriormente rodarlos hacia atrás haciendo el mismo número de repeticiones.
3. Estirar los brazos alternadamente (primero uno y luego el otro) hacia arriba de la cabeza, hacer las repeticiones y luego llevarlos hacia adelante, tratando de alcanzar la mayor distancia posible.
4. Flexión de codos: con los brazos a lo largo del cuerpo, flexionar y estirar los codos. Este movimiento se puede realizar simultáneamente ambos brazos o primero uno y después el otro.

Manos

1. Con los brazos extendidos, flexionar y extender las muñecas con los puños cerrados y después con las manos abiertas.
2. En la misma posición mover las muñecas como si se estuvieran agitando los dados para tirarlos.
3. Abrir y cerrar las manos (haciendo un puño), contrayendo vigorosamente los músculos de las manos.
4. Separar y juntar los dedos de las manos.
5. Mover las muñecas en forma rotatoria, hacia afuera y luego hacia adentro.

Columna torácica, dorsal y lumbar

1. De pie, se flexiona la columna hacia adelante hasta alcanzar aproximadamente 90°. Hacer los movimientos de flexión y extensión suavemente. Aquí es necesario mantener siempre la vista hacia adelante y no bajar la cabeza ni mirar hacia el suelo; esta instrucción es especialmente importante para los diabéticos u otros pacientes con diagnóstico de retinopatía, ya que la atracción de la gravedad puede ayudar al desprendimiento de la retina.
2. Con las manos en la cintura flexionar el cuerpo lateralmente hacia la derecha y luego hacia la izquierda.
3. Poner las manos a los lados de la cabeza por atrás de las orejas y repetir la flexión lateral hacia la derecha y luego hacia la izquierda
4. Subir las manos colocando los brazos a los lados de la cabeza y tomar el pulgar de una mano con la otra; hacer las flexiones laterales jalando con una mano la otra, a fin de que se hagan más pronunciadas las flexiones. Aquí se puede utilizar un bastón (palo de escoba de 60-70 cm de largo aproximadamente en lugar de agarrarse el dedo de la otra mano.
5. Con los brazos estirados en igual posición a la anterior, girar el cuerpo hacia la derecha y luego hacia la izquierda.

Cadera, rodillas y tobillos

1. Con las manos en la cintura y los pies ligeramente abiertos, flexionar y estirar ligeramente la cadera y las rodillas.
2. Con las manos en la cintura levantar y bajar hacia delante la pierna derecha doblando la cadera y la rodilla, hacer las repeticiones establecidas y luego realizar el movimiento con la otra pierna. Al inicio del programa de entrenamiento se puede hacer este movimiento alternadamente: una flexión con la derecha y otro con la izquierda hasta completar el número de repeticiones.
3. Levantar hacia delante la pierna derecha doblando la cadera y la rodilla, abrir la pierna flexionada llevándola lateralmente y luego bajarla a la posición inicial. Realizar los movimientos siguiendo las instrucciones del ejercicio anterior.
4. Con los brazos a lo largo del cuerpo realizar el movimiento anterior y en el momento de la flexión, llevar los brazos hacia delante para volverlos a la posición inicial cuando se estiren las piernas.

5. Con las manos en la cintura flexionar y estirar ligeramente la cadera y las rodillas estirando los brazos lateralmente.
6. Con las manos en la cintura flexionar y estirar ligeramente la cadera y las rodillas estirando los brazos lateralmente y luego llevarlos arriba de la cabeza golpeando las palmas.
7. Desplantes hacia delante. Marchar en su sitio al compás de la música y después de cada tres pasos llevar hacia delante una pierna y después de otros tres pasos la otra pierna.
8. Desplantes hacia los lados. Igual que el anterior, pero en lugar de llevar la pierna hacia delante, llevarla hacia los lados.

El calentamiento finaliza con marcha sobre su lugar sin desplazarse durante un minuto para continuar con la ejecución de la forma 8 de Tai Chi Chuan.

Forma número 8 de Tai Chi (Sin contar el inicio y el cierre):

1. Inicio
2. Retroceso del mono (Girar los brazos al revés)
3. El anciano cierra la puerta (Cepillar la rodilla y empujar hacia adelante)
4. Acariciar la crin del caballo salvaje
5. Mover las manos como nubes
6. El gallo dorado se levanta sobre una pata
7. Patada de talón
8. Coger la cola del gorrión
9. Manos en cruz
10. Cierre

ENFRIAMIENTO

El enfriamiento es necesario para evitar bajas súbitas de la presión sanguínea y mareos, por lo que se realizará con los mismos movimientos que se llevan a cabo para el calentamiento, pero a la inversa con el fin de ir bajando poco a poco la frecuencia cardiaca y la frecuencia respiratoria.

En esta etapa se pueden realizar estiramientos un poco más intensos y prolongados (10 segundos para cada estiramiento) por lo que no es necesario realizar todos los movimientos que se hicieron en el calentamiento. Se recomienda que los estiramientos se realicen en esta etapa de la sesión de entrenamiento porque los tejidos se encuentran trabajados y existe menos peligro de lesión (distensión, desgarro).

EJERCICIOS DE ENFRIAMIENTO

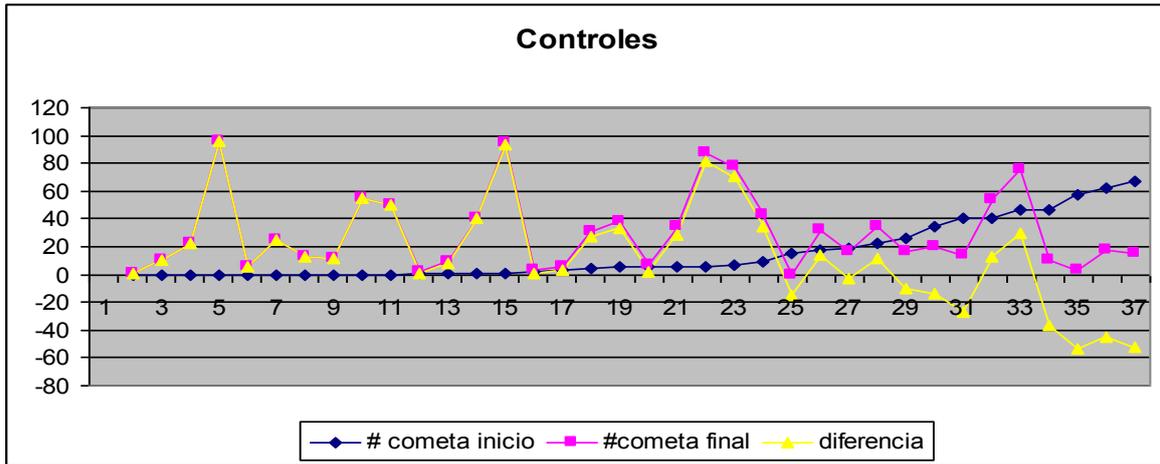
1. Flexionar el tronco hacia adelante, bajar los brazos, inspirar e ir subiendo sosteniendo el aire, subir los brazos por encima de la cabeza y bajarlos lentamente y exhalar. Repetir cuatro veces.
2. Flexionar el tronco hacia adelante, sin mirar el piso y estirar alternadamente brazo derecho e izquierdo como empujando con las manos, 8 veces.
3. Con las manos en la cintura hacer media sentadilla, repetir ocho veces.
4. Mover la cintura, balanceando la cadera, con las manos en la cintura hacia la izquierda y la derecha, 8 veces.
5. Patear suavemente hacia el frente, de manera alternada pierna derecha e izquierda, 16 tiempos.
6. Flexionar el tronco hacia adelante, bajar los brazos y abrir y cerrar las manos, 4 tiempos y repetir 4 veces.
7. Hacer desplantes hacia adelante, flexionando la pierna derecha y regresar al centro, 8 veces y repetir el mismo movimiento con la pierna izquierda.
8. Hacer desplante hacia el lado derecho, flexionando la pierna derecha y estirando ambas manos hacia el frente, ocho tiempos, regresar al centro y repetir toda la serie hacia el lado izquierdo.
9. Con las manos en la cintura, respirar profundamente, con los ojos cerrados, 8 tiempos.

Para el grupo que realiza otra actividad se practicarán 3 días caminata con intensidad moderada (6 km/hora aproximadamente) y 2 días la práctica de danzón.

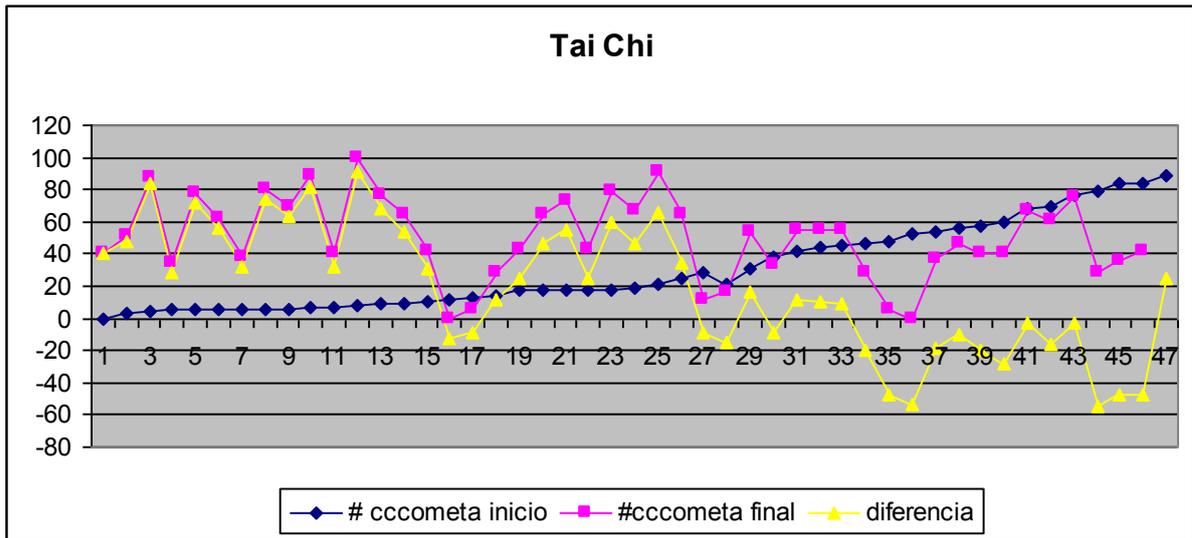
Anexo 3

Datos desglosados de las células contadas por grupo de estudio mediante el ensayo cometa

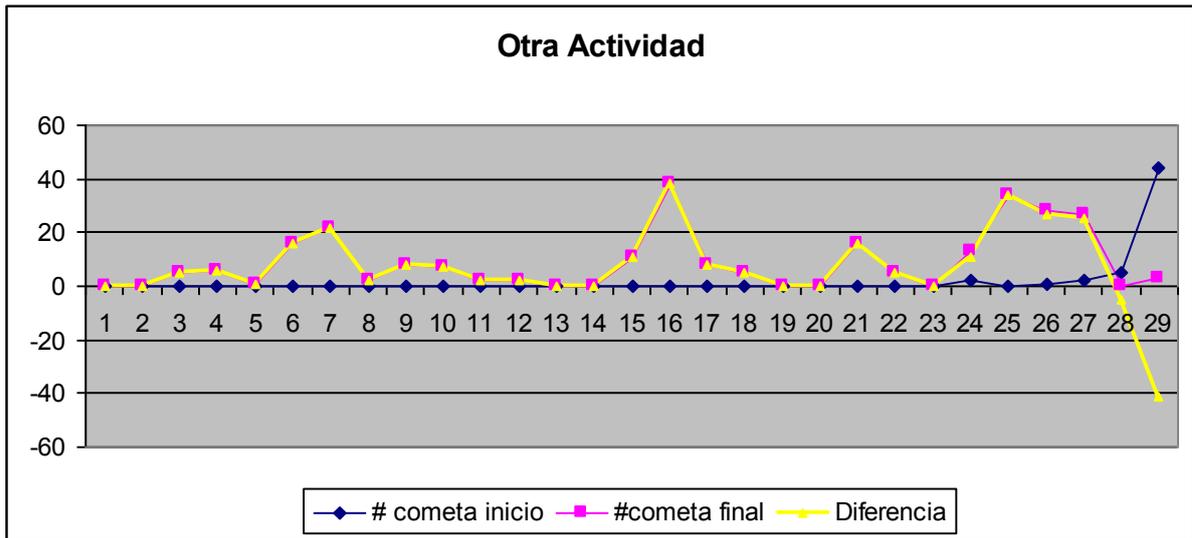
Folio	PRE		CONTROLES			POST		CONTROLES		
	Sin cometa	Con Cometa	Promedio Cometa	Sin cometa	Con Cometa	Promedio Cometa	#cometa inicio	#cometa final	diferencia	
1	98	2	8.8	97	3	5.8	0	1	1	
2	85	15	7.0	100	0	6.5	0	10	10	
3	53	47	7.7	90	10	7.8	0	23	23	
4	59	41	7.5	86	14	7.9	0	96	96	
5	39	0	0.0	90	10	8.3	0	5	5	
6	99	1	12.5	91	9	6.1	0	25	25	
7	54	1	7.5	98	2	7.5	0	13	13	
8	81	19	8.3	74	16	7.0	0	12	12	
9	31	0	0.0	52	1	7.5	0	55	55	
10	21	0	0.0	77	23	8.2	0	50	50	
11	66	34	8.5	80	20	8.0	1	2	1	
12	33	67	10.4	49	15	7.0	1	9	8	
13	38	62	17.3	59	17	9.4	1	41	40	
14	14	46	12.9	24	76	21.2	1	95	94	
15	100	0	0.0	4	96	18.3	2	3	1	
16	99	1	10.0	59	41	9.2	3	6	3	
17	48	1	5.0	5	95	18.6	4	31	27	
18	48	0	0.0	54	5	8.0	5	38	33	
19	95	5	10.0	62	38	17.6	5	7	2	
20	91	9	8.9	57	43	12.0	6	34	28	
21	95	5	8.0	97	3	7.5	6	94	88	
22	93	7	13.6	22	78	8.8	7	78	71	
23	97	3	21.7	94	6	7.1	9	43	34	
24	77	23	14.0	65	35	7.2	15	0	-15	
25	94	6	10.4	66	34	7.6	18	32	14	
26	55	18	7.5	68	32	7.7	19	16	-3	
27	59	41	8.2	46	54	8.4	23	35	12	
28	74	26	12.4	84	16	7.2	26	16	-10	
29	96	4	27.5	69	31	6.7	34	20	-14	
30	100	0	0.0	75	25	8.2	41	14	-26	
31	100	0	0.0	87	13	6.9	41	54	13	
32	100	0	0.0	88	12	6.7	46	76	30	
33	92	0	0.0	45	55	9.0	47	10	-37	
34	100	0	0.0	50	50	7.9	57	3	-54	
35	42	57	9.3	97	3	5.0	62	17	47	
36	94	6	5.8	94	6	6.7	67	17	-50	
Prom.	72.8	21	10.79	68.9	26.7	8.9				



Folio	PRE		TAI CHI	POST		Promedio de cometas	TAI CHI		
	Sin Cometas	Con Cometas	Promedio de cometas	Sin Cometas	Con Cometas		#cometa inicio	#cometa final	diferencia
							0	40	40
1	69	31	12.1	84	16	6.1	3	51	48
2	70	29	14.1	88	12	6.0	4	88	84
3	75	25	6.7	36	64	7.8	5	34	29
4	47	53	12.1	100	0	0.0	6	78	72
5	93	7	10.0	8	89	13.3	6	62	56
6	44	8	4.7	0	100	18.1	6	38	32
7	97	3	9.2	51	49	7.7	6	80	74
8	90	10	12.8	58	42	6.5	6	69	60
9	94	6	11.5	22	78	9.5	7	89	82
10	94	6	12.9	38	62	9.4	7	40	33
11	93	7	11.8	60	40	8.1	8	100	92
12	52	48	9.4	24	5	8.5	9	77	68
13	82	18	6.8	21	79	8.6	9	64	55
14	81	19	9.3	31	69	7.9	10	42	32
15	96	4	6.3	12	88	7.6	11	0	-11
16	94	6	7.9	62	38	7.4	13	5	-8
17	82	18	7.2	57	43	7.4	14	28	14
18	55	45	6.7	45	55	10.3	17	43	26
19	19	68	6.5	33	67	9.5	18	64	46
20	79	21	7.6	9	91	11.1	18	73	55
21	94	6	5.8	20	80	11.1	18	43	25
22	16	84	11.2	58	42	7.6	18	79	61
23	23	77	10.1	24	76	9.2	19	67	48
24	30	70	11.8	39	61	8.2	21	91	70
25	58	42	9.5	45	55	7.2	25	64	39
26	44	56	9.9	53	47	7.1	29	12	-17
27	62	38	9.0	67	33	7.4	31	16	-15
28	40	60	10.1	60	40	7.3	31	54	23
29	43	57	9.7	60	40	7.2	38	33	-5
30	46	54	9.4	63	37	7.2	42	55	13
31	54	46	8.3	72	28	7.3	44	55	11
32	11	89	18.4	75	25	6.7	45	55	10
33	16	84	17.7	64	36	6.5	46	28	-18
34	21	79	15.8	71	29	7.2	48	5	-43
35	83	17	5.0	56	43	8.5	53	0	-53
36	91	9	5.3	36	64	7.8	54	37	-17
37	82	18	5.1	36	64	8.8	56	47	-9
38	82	18	6.9	27	73	8.5	57	40	-17
39	91	9	7.5	23	77	8.9	60	40	-20
40	69	31	5.0	46	54	8.2	68	67	-1
41	94	6	8.3	31	69	9.3	70	61	-9
42	100	0	0.0	60	40	8.9	77	76	-1
43	95	5	7.5	62	34	11.8	79	29	-50
44	56	44	11.4	48	52	8.0	84	36	-48
45	89	11	7.7	100	0	0.0	84	42	-42
46	86	14	11.4	72	28	12.1	89	25	-64
47	87	13	6.0	29	5	8.5			
Prom.	68.3	31.1	9.1	46.6	51.6	8.6			



Folio	PRE		OTRA ACTIVIDAD		POST			OTRA ACTIVIDAD		
	Sin Cometas	Con Cometas	Promedio de cometas	Promedio de cometas	Sin Cometas	Con Cometas	Promedio de cometas	#cometa inicio	#cometa final	Diferencia
1	100	0	0	0	45	0	0.0	0	0	0
2	100	0	0	0	48	0	0.0	0	0	0
3	99	1	8.0	0	95	5	7.1	0	0	0
4	100	0	0	0	94	6	7.9	0	0	0
5	100	0	0	0	99	1	7.5	0	0	0
6	100	0	0	0	84	16	7.0	0	0	0
7	99	1	9.0	0	78	22	8.1	0	0	0
8	100	0	0	0	96	4	8.8	0	0	0
9	100	0	0	0	90	10	6.3	0	0	0
10	100	0	0	0	94	6	8.3	0	0	0
11	100	0	0	0	98	2	10.0	0	0	0
12	91	0	0	0	92	8	8.4	0	0	0
13	100	0	0	0	93	7	8.9	0	0	0
14	100	0	0	0	98	2	8.8	0	0	0
15	100	0	0	0	98	2	6.3	0	0	0
16	100	0	0	0	100	0	0.0	0	0	0
17	100	0	0	0	100	0	0.0	0	0	0
18	100	0	0	0	89	11	7.7	0	0	0
19	87	0	0	0	62	38	11.2	0	0	0
20	100	0	0	0	92	8	7.8	0	0	0
21	97	0	0.0	0	95	5	9.0	0	0	0
22	100	0	0.0	0	100	0	0.0	0	0	0
23	100	0	0.0	0	71	0	0.0	0	0	0
24	100	0	0.0	0	84	16	7.7	0	0	0
25	100	0	0.0	0	95	5	6.5	0	0	0
26	100	0	0.0	0	100	0	0.0	1	5	4
27	98	2	8.8	0	87	13	6.9	1	22	21
28	100	0	0.0	0	66	34	9.9	1	28	27
29	99	1	7.5	0	72	28	8.4	2	13	11
30	47	2	9.8	0	73	27	12.4	2	27	25
31	100	0	0.0	0	94	6	7.9	5	0	-5
32	95	5	10.0	0	100	0	0.0	44	3	-41
33	56	44	9.8	0	97	3	6.7			
	98.2	8.3	9.0	0	90.5	10.6	9.			



	PRE			CONTROLES			POST			POST			POST			POST		
	Micras			%células		n	% cel			Micras			%células		n	% cel		
	Núcleo	Cola	Total	sin daño	con daño		daño bajo	daño medio	Total	Núcleo	Cola	Total	sin daño	con daño		daño bajo	daño medio	Total
1	19.3	8.8	19.3	98	2	100	100	0	0	21.7	5.8	21.7	97	3	100	100	0	0
2	20.8	7.0	21.0	85	15	100	100	0	0	18.9	6.5	19.3	100	0	100	100	0	0
3	20.8	7.7	21.5	53	47	100	100	0	0	23.0	7.8	23.1	90	10	100	100	0	0
4	20.8	7.5	21.5	59	41	100	100	0	0	25.5	7.9	25.6	86	14	100	100	0	0
5	18.1	0.0	18.1	100	0	39	0	0	0	24.9	8.3	24.9	90	10	100	100	0	0
6	18.3	12.5	18.5	99	1	100	100	0	0	20.5	6.1	20.6	91	9	100	100	0	0
7	20.9	7.5	21.0	92	2	55	100	0	0	21.9	7.5	22.0	98	2	100	100	0	0
8	22.3	8.3	23.1	81	19	100	95	5	0	18.3	7.0	18.6	83	18	90	100	0	0
9	25.6	0.0	25.6	100	0	31	0	0	0	17.4	7.5	17.5	98	2	53	100	0	0
10	25.2	0.0	25.2	100	0	21	0	0	0	24.1	8.2	24.0	77	23	100	100	0	0
11	22.1	8.5	23.2	66	34	100	100	0	0	20.5	8.0	22.2	80	20	100	100	0	0
12	22.4	10.4	25.7	33	67	100	100	0	0	19.8	7.0	19.9	77	23	64	100	0	0
13	22.1	17.3	31.8	32	68	91	82	18	0	19.2	9.4	20.4	78	22	76	100	0	0
14	19.1	12.9	28.5	23	77	60	98	2	0	25.8	21.2	35.9	24	76	100	86	14	0
15	17.3	0.0	17.3	100	0	100	0	0	0	23.8	18.3	34.0	4	96	100	99	1	0
16	25.7	10.0	25.7	99	1	100	100	0	0	20.7	9.2	22.8	59	41	100	100	0	0
17	17.9	5.0	18.0	98	2	49	100	0	0	26.5	18.6	33.4	5	95	100	100	0	0
18	18.4	0.0	18.4	100	0	48	0	0	0	18.1	8.0	18.5	91.5	8.5	59	100	0	0
19	23.6	10.0	23.7	95	5	100	100	0	0	22.8	17.6	29.8	38	62	100	94	6	0
20	21.3	8.9	21.5	91	9	100	100	0	0	28.5	12.0	28.8	57	43	100	100	0	0
21	19.5	8.0	19.7	95	5	100	100	0	0	20.3	7.5	20.4	97	3	100	100	0	0
22	19.7	13.6	20.3	93	7	100	86	14	0	21.6	8.8	23.3	22	78	100	100	0	0
23	19.4	21.7	20.0	97	3	100	67	33	0	18.8	7.1	18.9	94	6	100	100	0	0
24	21.8	14.0	23.5	76	24	100	100	0	0	21.8	7.2	22.0	65	35	100	100	0	0
25	21.8	10.4	21.9	94	6	100	100	0	0	21.5	7.6	22.0	66	34	100	100	0	0
26	18.8	7.5	19.1	75	25	73	100	0	0	18.2	7.7	19.6	68	32	100	100	0	0
27	21.7	8.2	23.0	59	41	100	100	0	0	21.9	8.4	23.3	46	54	100	100	0	0
28	25.4	12.4	26.3	74	26	100	100	0	0	20.7	7.2	20.9	84	16	100	100	0	0
29	23.1	27.5	23.7	96	4	100	100	0	0	18.7	6.7	19.3	69	31	100	100	0	0
30	20.6	0.0	20.6	100	0	100	0	0	0	23.1	8.2	23.9	75	25	100	100	0	0
31	23.5	0.0	23.5	100	0	100	0	0	0	22.3	6.9	22.5	87	13	100	100	0	0

32	26.5	0.0	26.5	100	0	100	0	0	0	22.4	6.7	22.8	88	12	100	100	0	0
33	31.6	0.0	31.6	100	0	92	0	0	0	21.4	9.0	24.5	45	55	100	100	0	0
34	20.6	0.0	20.6	100	0	100	0	0	0	22.1	7.9	24.1	50	50	100	100	0	0
35	22.7	9.3	25.6	42	57	100	98	0	2	22.0	5.0	22.0	97	3	100	100	0	0
36	21.8	5.8	22.0	94	6	100	100	0	0	22.4	6.7	22.6	94	6	100	100	0	0
Promedio	21.6	10.8	22.7	83.3	16.5		97.5	14.4	2	21.7	8.9	23.2	71.4	28.6		99.4	7	0

	PRE						TAI CHI				POST							
	Micras			%células		n	daño bajo	% cel daño medio	Total	Micras			%células con daño	n	daño bajo	% cel daño medio	Total	
	Núcleo	Cola	Total	sin daño	con daño					Núcleo	Cola	Total						sin daño
1	23.3	12.1	24.3	69	31	100	100%	0	0	19.1	6.1	19.3	84	16	100	100%	0	0
2	26.2	14.1	27.0	70	29	100	100%	0	0	17.3	6.0	17.9	88	12	100	100%	0	0
3	20.0	6.7	20.7	75	25	100	100%	0	0	21.6	7.8	22.6	36	64	100	100%	0	0
4	24.0	12.1	25.6	47	53	100	100%	0	0	18.1	0.0	18.1	100	0	10	0%	0	0
5	20.2	10.0	20.5	93	7	100	100%	0	0	15.3	13.3	28.2	6	94	100	95%	2	3
6	16.2	4.7	16.9	85	15	52	100%	0	0	18.1	18.1	36.2	0	100	100	93%	7	0
7	19.2	9.2	19.3	97	3	100	100%	0	0	21.6	7.7	22.0	51	49	100	100%	0	0
8	21.0	12.8	21.7	90	10	100	90%	10%	0	19.4	6.5	20.0	58	42	100	100%	0	0
9	22.9	11.5	23.0	94	6	100	100%	0	0	20.8	9.5	24.4	22	78	100	100%	0	0
10	22.4	12.9	22.7	94	6	100	100%	0	0	21.5	9.4	24.0	38	62	100	98%	2	0
11	21.5	11.8	21.8	93	7	100	100%	0	0	20.6	8.1	21.9	60	40	100	100%	0	0
12	23.4	9.4	24.8	52	48	100	100%	0	0	16.5	8.5	17.6	83	17	29	100%	0	0
13	20.8	6.8	21.1	82	18	100	100%	0	0	19.8	8.6	22.2	21	79	100	100%	0	0
14	21.2	9.3	21.9	81	19	100	100%	0	0	21.7	7.9	22.7	31	69	100	100%	0	0
15	19.2	6.3	19.3	96	4	100	100%	0	0	21.7	7.6	23.1	12	88	100	100%	0	0
16	20.9	7.9	21.1	94	6	100	100%	0	0	18.9	7.4	20.0	62	38	100	100%	0	0
17	20.8	7.2	21.2	82	18	100	100%	0	0	19.7	7.4	20.9	57	43	100	100%	0	0
18	21.6	6.7	22.6	55	45	100	100%	0	0	23.3	10.3	24.8	45	55	100	100%	0	0
19	21.0	6.5	21.8	22	78	87	100%	0	0	22.6	9.5	24.0	33	67	100	100%	0	0
20	21.4	7.6	22.2	79	21	100	100%	0	0	22.5	11.1	26.4	9	91	100	99%	1	0
21	20.3	5.8	20.5	94	6	100	100%	0	0	25.1	11.1	26.9	20	80	100	100%	0	0
22	20.9	11.2	26.0	16	84	100	94%	6%	0	21.1	7.6	22.1	58	42	100	100%	0	0
23	22.0	10.1	25.0	23	77	100	97%	3%	0	21.4	9.2	23.6	24	76	100	100%	0	0

24	21.5	11.8	25.6	30	70	100	100%	0	0	19.2	8.2	21.2	39	61	100	100%	0	0
25	22.6	9.5	24.0	58	42	100	100%	0	0	20.6	7.2	21.3	45	55	100	100%	0	0
26	21.8	9.9	24.0	44	56	100	100%	0	0	21.2	7.1	21.5	53	47	100	100%	0	0
27	21.4	9.0	22.7	62	38	100	100%	0	0	20.4	7.4	21.0	67	33	100	100%	0	0
28	21.6	10.1	24.1	40	60	100	100%	0	0	20.9	7.3	21.5	60	40	100	100%	0	0
29	22.3	9.7	25.3	43	57	100	100%	0	0	20.1	7.2	21.1	60	40	100	100%	0	0
30	22.0	9.4	24.5	46	54	100	100%	0	0	20.7	7.2	21.4	63	37	100	100%	0	0
31	21.9	8.3	23.9	54	46	100	100%	0	0	17.5	7.3	18.7	72	28	100	100%	0	0
32	23.6	18.4	34.7	11	89	100	72%	28%	0	21.0	6.7	21.4	75	25	100	100%	0	0
33	26.4	17.7	33.8	16	84	100	80%	20%	0	19.3	6.5	20.0	64	36	100	100%	0	0
34	26.7	15.8	31.4	21	79	100	92%	8%	0	22.0	7.2	22.3	71	29	100	100%	0	0
35	19.5	5.0	20.0	83	17	100	100%	0	0	21.0	8.5	22.9	44	56	100	98%	0	2
36	19.3	5.3	19.5	91	9	100	100%	0	0	21.0	7.8	22.1	36	64	100	100%	0	0
37	18.6	5.1	19.2	82	18	100	100%	0	0	21.9	8.8	23.8	36	64	100	98%	2	0
38	20.2	6.9	20.3	82	18	100	100%	0	0	19.6	8.5	22.6	27	73	100	100%	0	0
39	18.8	7.5	19.2	91	9	100	100%	0	0	21.5	8.9	23.3	23	77	100	100%	0	0
40	20.7	5.0	21.2	69	31	100	100%	0	0	21.7	8.2	22.6	46	54	100	100%	0	0
41	19.0	8.3	19.2	94	6	100	100%	0	0	20.3	9.3	22.9	31	69	100	97%	0	3
42	20.4	0.0	20.4	100	0.0	100	0%	0	0	21.4	8.9	22.4	60	40	100	100%	0	0
43	18.9	7.5	19.0	95	5	100	100%	0	0	25.5	11.8	29.3	62	34	100	59%	29	12
44	22.7	11.4	24.7	56	44	100	100%	0	0	21.4	8.0	22.4	48	52	100	100%	0	0
45	21.3	7.7	21.3	89	11	100	100%	0	0	16.9	0.0	16.9	100	0	100	0%	0	0
46	19.4	11.4	20.5	86	14	100	100%	0	0	27.9	12.1	28.3	72	28	100	100%	0	0
47	19.0	6.0	19.6	87	13	100	100%	0	0	17.0	8.5	17.7	85	15	34	100%	0	0
Promedio	21.3	9.3	22.7	68.4	32.3		98.4	12.5	0	20.6	8.6	22.5	50.6	52.5		99%	7.2	5

	PRE			OTRA ACTIVIDAD						POST								
	Micras			%células			% cel			Micras			%células			% cel		
	Núcleo	Cola	Total	sin daño	con daño	n	daño bajo	daño medio	Total	Núcleo	Cola	Total	sin daño	con daño	n	daño bajo	daño medio	Total
1	22.4	0	22.4	100	0	100	0	0	0	19.2	0.0	19.2	100	0	45	0	0	0
2	21.6	0	21.6	100	0	100	0	0	0	18.8	0.0	18.8	100	0	48	0	0	0
3	20.4	8.0	20.4	99	1	100	100	0	0	23.3	7.1	23.5	95	5	100	100	0	0
4	22.1	0	22.1	100	0	100	0	0	0	22.2	7.9	22.5	94	6	100	100	0	0

5	19.2	0	19.2	100	0	100	0	0	0	19.9	7.5	20.0	99	1	100	100	0	0
6	19.6	0	19.6	100	0	100	0	0	0	21.9	7.0	23.1	84	16	100	100	0	0
7	23.7	9.0	23.7	99	1	100	0	100	0	23.0	8.1	23.4	78	22	100	100	0	0
8	22.1	0	22.1	100	0	100	0	0	0	22.7	8.8	22.8	96	4	100	100	0	0
9	21.0	0	26.0	100	0	100	0	0	0	21.8	6.3	22.4	90	10	100	100	0	0
10	21.9	0	21.9	100	0	100	0	0	0	23.1	8.3	23.3	94	6	100	100	0	0
11	24.0	0	24.0	100	0	100	0	0	0	23.0	10.0	23.1	98	2	100	100	0	0
12	24.6	0	24.6	100	0	91	0	0	0	22.7	8.4	22.9	92	8	100	100	0	0
13	23.2	0	23.2	100	0	100	0	0	0	21.9	8.9	22.6	93	7	100	100	0	0
14	22.0	0	22.0	100	0	100	0	0	0	23.0	8.8	23.0	98	2	100	100	0	0
15	25.5	0	25.5	100	0	100	0	0	0	21.9	6.3	22.0	98	2	100	100	0	0
16	22.0	0	22.0	100	0	100	0	0	0	21.3	0.0	21.3	100	0	100	0	0	0
17	24.8	0	24.8	100	0	100	0	0	0	21.4	0.0	21.4	100	0	100	0	0	0
18	24.4	0	24.4	100	0	100	0	0	0	21.9	7.7	22.2	89	11	100	100	0	0
19	22.4	0	22.4	100	0	87	0	0	0	23.4	11.2	25.1	62	38	100	100	0	0
20	23.2	0	23.2	100	0	100	0	0	0	22.6	7.8	22.9	92	8	100	100	0	0
21	22.8	0	22.8	100	0	97	0	0	0	23.1	9.0	23.3	95	5	100	100	0	0
22	22.7	0	22.7	100	0	100	0	0	0	23.0	0.0	23.0	100	0	100	0	0	0
23	23.9	0	23.9	100	0	100	0	0	0	18.7	0.0	18.7	71	0	71	0	0	0
24	22.3	0	22.3	100	0	100	0	0	0	23.3	7.7	23.5	84	16	100	100	0	0
25	21.9	0	21.9	100	0	100	0	0	0	23.0	6.5	23.0	95	5	100	100	0	0
26	22.1	0	22.1	100	0	100	0	0	0	20.2	0.0	20.2	100	0	100	0	0	0
27	23.7	8.8	23.7	98	2	100	100	0	0	23.0	6.9	23.3	87	13	100	100	0	0
28	21.0	0	26.0	100	0	100	0	0	0	22.8	9.9	24.2	66	34	100	100	0	0
29	24.1	7.5	24.1	99	1	100	100	0	0	23.4	8.4	23.8	72	28	100	100	0	0
30	22.3	9.8	22.6	96	4	49	100	0	0	23.2	12.4	24.9	73	27	100	100	0	0
31	14.5	0	14.5	100	0	100	0	0	0	19.9	7.9	20.1	94	6	100	100	0	0
32	17.1	10.0	17.4	95	5	100	100	0	0	19.2	0.0	19.2	100	0	100	0	0	0
33	22.2	9.8	24.2	56	44	100	100	0	0	22.1	6.7	22.1	97	3	100	100	0	0
	22.1	9.0	22.5	98.2	8.3		100	100	0	21.9	9.2	22.2	90.5	10.6		100	0	0