



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
"ZARAGOZA"

"Efecto del ejercicio físico exhaustivo y moderado sobre el daño oxidativo y capacidad de reparación del ADN en jóvenes vs. adultos mayores sanos."

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A

GIE BELE GARCÍA DISCUA

DIRECTOR DE TESIS: DRA. RAQUEL RETANA UGALDE
ASESOR DE TESIS: DR. VÍCTOR MANUEL MENDOZA NÚÑEZ



MÉXICO, D.F.

Septiembre, 2012

“Estar preparado es importante, saber esperar lo es aún más, pero aprovechar el momento adecuado es la clave de la vida”.

Arthur Schnitzler

“Casi todos los aspectos de la vida se organizan en el nivel molecular, y si no entendemos las moléculas nuestra comprensión de la vida misma será muy incompleta”.

Francis Crick

AGRADECIMIENTOS

Los recursos para la elaboración de este proyecto fueron otorgados por la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA) y el Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) con clave IN308411.

Agradezco a los miembros de la Unidad de Investigación en Gerontología de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM por el apoyo brindando para la realización de este trabajo.

Al Dr. Víctor Manuel Mendoza Núñez como responsable de la unidad me permitió realizar éste proyecto, así como las asesorías proporcionadas.

A la Dra. Raquel Retana Ugalde por la confianza que tuvo en mí para dejarme ser partícipe del equipo, por el apoyo brindado y la dirección del trabajo.

A la Dra. Mirna Ruiz Ramos por los consejos, el apoyo y la paciencia que me tuvo durante todo éste tiempo.

A mis sinodales la Dra. Juana Pérez Rosado, QFB Taide Laurita Arista Ugalde y a la QFB Ma. Lourdes Vega Navarrete por el tiempo que dedicaron para la revisión, los comentarios y las atinadas correcciones realizadas para la conclusión de la tesis.

A mis compañeros y amigos que me ayudaron a realizar la parte experimental de este proyecto: QFB Jeniffer Montalvo Olvera, QFB Victoria Altamirano Barragán, QFB Jonathan Pérez López y Héctor Magallanes Pérez. Y al Mtro. Armando Cervantes Sandoval por su asesoría en la parte estadística.

Muchas gracias a todos ustedes.

DEDICATORIAS

A Dios, por haberme permitido llegar a este punto de mi vida y dejarme lograr mis metas, por estar conmigo iluminando mi camino, dándome salud y fortaleza en todo momento.

A mis padres, que son el pilar más importante en mi vida y que siempre han creído en mí, por los sacrificios que hacen día a día, su paciencia, sus enseñanzas, el apoyo incondicional, la entrega, la motivación constante y por estar en los momentos difíciles, gracias a todo esto hoy puedo ver alcanzada mi meta y que espero nunca defraudarlos. Los amo !!!.

A mi hermanito, por estar conmigo, confiar en mí y apoyarme siempre, por inspirarme a ser cada día mejor para poder darte un buen ejemplo.
Te amo mucho !!!.

A mis amig@s, que siempre han estado conmigo, Mayra, Cynthia, Xarini, Samara, Samuel, Bernardo, Ángel y Gustavo, gracias por demostrarme que existe la verdadera amistad a pesar de lo diferentes que podamos ser, porque cada uno de ustedes ha enriquecido mi vida y sobre todo por el apoyo mutuo que nos hemos ofrecido en lo personal así como en nuestra formación profesional. Les agradezco de todo corazón el que estén en mi vida y la paciencia que me han tenido.

Aquellas amistades que hice a lo largo de esta etapa de mi vida y con quien he compartido grandes momentos: Marian, Maryfer, Marisol, Lucy y Karen; a quienes conocí en el proceso de la elaboración de este proyecto: Jenny y Vicky, que son unas chicas inteligentes, con un gran corazón y con quienes me divertí muchísimo, gracias por la amistad y el apoyo brindado. Jonathan que es una persona con un carácter raro, pero a quien le agradezco muchísimo sus palabras de aliento, su amistad y el que me haya acompañado largas jornadas, siempre sacándome una sonrisa y haciendo que el día fuese más ameno. A Héctor por el apoyo proporcionado, la amistad, las largas pláticas y por hacerme ver el grado de paciencia que puedo tener y a Carlos con quien en poco tiempo de conocernos logramos tener una linda amistad que espero continúe.

Contenido

I. Resumen	1
II. Introducción	2
III. Marco teórico	4
III.1 Estrés, homeostasis y alostasis	4
III.2 Envejecimiento	8
III.2.1 Teorías del envejecimiento	9
III.3 Radicales libres	12
III.3.1 Fuentes de los radicales libres.....	15
III.4 Estrés oxidativo	18
III.4.1 Biomarcadores del daño oxidativo	19
III.5 Antioxidantes	26
III.6 Ejercicio físico	28
III.6.1 Ejercicio, hormesis y EOx	31
IV. Planteamiento del problema	38
V. Hipótesis.....	39
VI. Objetivo	39
VII. Material y método	40
VII.1 Tipo de estudio y universo de estudio.....	40
VII.1.1 Criterios de inclusión	40
VII.1.2 Criterios de exclusión	40
VII.2 Variables	41
VII.2.1 Clasificación	41
VII.2.2 Operacionalización	41
VII.3 Metodología	43
VII.3.1 Realización de ejercicio.....	43
VII.3.2 Toma de muestras sanguíneas	43
VII.3.3 Pruebas Bioquímicas de Rutina	43
VII.3.4 Electroforesis unicelular alcalina o ensayo cometa	46
VII.4 Análisis estadístico.....	48
VIII. Resultados.....	49
VIII.1 Parámetros bioquímicos y hematológicos.....	49

VIII.2 Daño oxidativo al ADN en grupos con ejercicio exhaustivo	49
VIII.3 Cinética de reparación en grupos con ejercicio exhaustivo	49
VIII.4 Daño oxidativo al ADN en grupos con ejercicio moderado	50
VIII.3 Cinética de reparación en grupos con ejercicio moderado	50
IX. Discusión	61
IX.1 Daño oxidativo al ADN en grupos con ejercicio exhaustivo	63
IX.2 Cinética de reparación en grupos con ejercicio exhaustivo	64
IX.3 Daño oxidativo al ADN en grupos con ejercicio moderado	65
IX.4 Cinética de reparación en grupos con ejercicio moderado	66
X. Conclusiones	67
XI. Perspectivas	68
XII. Referencias	69
XIII. Anexo	79

I. Resumen

Introducción: El estrés oxidativo (EOx) es un estado donde la célula se encuentra alterada por el desequilibrio entre prooxidantes y antioxidantes, a favor de los primeros causando daño en las biomoléculas. Actualmente se ha observado que el ejercicio puede causar tanto efectos benéficos como dañinos, dependiendo de la intensidad; si es agotador aumenta la producción de radicales libres (RL), mientras que si es moderado hay una reducción de los mismos y una mejor capacidad de reparación de las células debido al mecanismo de hormesis. En este sentido, existen pocos estudios sobre el tema, de ahí que se evaluó la capacidad de adaptación de los jóvenes vs. adultos mayores expuestos a un ejercicio moderado y exhaustivo.

Objetivo: Determinar el efecto del ejercicio físico exhaustivo (EFE) y moderado (EFM) sobre el daño oxidativo y capacidad de reparación del ADN en jóvenes vs. adultos mayores sanos.

Material y método: Se llevó a cabo un estudio cuasi-experimental, con una población de 23 jóvenes entre 18 a 25 años y 26 adultos mayores entre 60 a 69 años todos clínicamente sanos. Los seleccionados se expusieron a una caminata (EFE) de 5 Km o 90 min, de estos sujetos algunos fueron sometidos a un programa de caminata (EFM) de 1h diaria durante 5 días a la semana por 6 meses. A todos se les realizaron pruebas bioquímicas de rutina y se utilizó la técnica de electroforesis unicelular alcalina para cuantificar el daño al ADN. Los resultados obtenidos fueron analizados con el programa estadístico SPSS versión 15.0, se calcularon medidas descriptivas (media e intervalo de confianza), como pruebas de comparación t pareada, U-Mann Whitney y Wilcoxon con una $p < 0.05$ como significancia estadística.

Resultados: Los resultados obtenidos mostraron que tanto en los jóvenes como en los adultos mayores el daño al ADN es semejante antes de la exposición al EFE; dos horas después del EFE hay una disminución significativa de daño al ADN en los adultos mayores con respecto a los jóvenes. Mientras que a las 24 horas en ambos grupos hay un aumento en el daño al ADN, siendo mayor en los jóvenes mostrando una diferencia estadísticamente significativa en comparación con los adultos mayores. En la cinética de reparación hay una mayor reparación del ADN en los jóvenes comparado con los adultos mayores. Con respecto al grupo con intervención de 6 meses de EFM se observa una disminución en el daño al ADN, en comparación con la basal principalmente en el grupo de los adultos mayores y es estadísticamente significativo. En la cinética de reparación se observó una mejoría en ambos grupos después del entrenamiento de 6 meses siendo más eficiente en los adultos mayores. En nuestros resultados se observa que cuando se entrenan a los organismos antes de ser sometidos a un efecto estresor, su sistema ya se encuentra adaptado por lo que puede enfrentarse a la situación estresante y presentan un menor daño oxidativo al ADN así como una mejor capacidad de reparación del mismo.

Conclusiones: Nuestros hallazgos sugieren que la exposición a EFE aumenta el daño oxidativo al ADN tanto en jóvenes como en ancianos, mostrando una capacidad de reparación del ADN significativamente mayor en los jóvenes con respecto a los adultos mayores. Nuestros hallazgos sugieren que la capacidad de reparación del daño al ADN de los adultos mayores es significativamente más eficiente que la de los jóvenes ante la práctica de EFM por seis meses, debido al mecanismo adaptativo de hormesis vinculado con el envejecimiento exitoso.

II. Introducción

En la actualidad la importancia de lograr un envejecimiento activo para gozar de bienestar, salud y buena calidad de vida de los adultos mayores ha tenido gran auge, tomando en cuenta que éste es un proceso multifactorial, caracterizado por el desequilibrio homeostático debido a los cambios morfológicos, fisiológico, bioquímicos y psicológicos, que se ve compensado por el síndrome de adaptación general o síndrome de estrés, al que se enfrenta el organismo a lo largo de la historia del individuo en un ambiente determinado.

En este sentido, el estrés oxidativo (EOx), es el desequilibrio bioquímico entre las especies oxidantes o radicales libres (RL) y los antioxidantes, provocando daño a biomoléculas (lípidos, proteínas, carbohidratos y ácidos nucleicos). Dado que el ácido desoxirribonucleico (ADN) juega un papel central e importante en la herencia genética, ha tomado relevancia el daño oxidativo que presenta, principalmente en relación con el envejecimiento y el cáncer, así como en problemas neurológicos.

Por otro lado, la actividad física repercute tanto en la esfera biomédica, psicológica, social como funcional, no existiendo una edad en que las personas dejen de responder al estímulo del entrenamiento, pues los adultos mayores demuestran aumentos porcentuales en sus niveles de forma física similares a los jóvenes. De ahí que se ha propuesto que la práctica del ejercicio físico moderado reduce el daño oxidativo a las biomoléculas.

Numerosos artículos científicos reconocen a la hormesis como el mecanismo responsable de los efectos beneficiosos de una variedad de estilos de vida y factores ambientales. Se sabe que el ejercicio físico incrementa la resistencia del músculo esquelético y el sistema cardiovascular al daño y las

enfermedades. Sin embargo, el ejercicio moderado practicado de manera regular beneficia otros tejidos, incluido el sistema nervioso y el digestivo.

Al respecto y debido a los escasos estudios sobre el tema, se presenta el siguiente trabajo para evaluar el efecto de la exposición al ejercicio físico exhaustivo (EFE) y moderado (EFM) sobre el daño al ADN y su capacidad de reparación en jóvenes comparado con adultos mayores sanos.

III. Marco teórico

III.1 Estrés, homeostasis y alostasis

Los sistemas neuroendocrino, nervioso autónomo e inmunológico son mediadores de la adaptación de los factores que nos rodean en la vida cotidiana, lo que Hans Selye en 1936 describe como el síndrome de adaptación general o síndrome de estrés. Al respecto, el término estrés lo definió como la respuesta no específica del organismo a cualquier demanda del exterior, el cual es una amenaza para la homeostasis.¹⁻³

La homeostasis por otra parte, es la estabilidad de los sistemas fisiológicos para mantener la vida, que se utiliza para un número limitado de sistemas tales como el regulador de pH, la temperatura corporal, los niveles de glucosa y la tensión de oxígeno.⁴⁻⁵

El estrés continuo es causante de una desestabilización de la homeostasis lo que trae como consecuencia que se genere alostasis y carga alostática. Sterling y Eyer 1988 desarrollaron el concepto de alostasis que se refiere a los procesos integrativos y adaptativos necesarios para mantener la estabilidad total del organismo y éste es un proceso que apoya la homeostasis promoviendo la adaptación del organismo a corto plazo.³⁻⁶

Los sistemas alostáticos permiten responder al estrés psíquico o físico, interno o externo, activando el sistema nervioso autónomo, el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (HHA), el sistema cardiovascular, el metabolismo y el sistema inmunitario. Durante una situación se genera un aprendizaje cognitivo, que se condiciona en cada individuo por sus experiencias, lo que provoca que el cerebro haga una evaluación con activación de los sistemas alostáticos y de diferentes mediadores biológicos, que proporcionarán una respuesta neuroinmunoendocrina.⁴⁻⁵

Los mediadores biológicos de estas respuestas son los glucocorticoides, las catecolaminas, los aminoácidos excitatorios, las citocinas, el ácido gamma-aminobutírico (GABA), el sulfato de dehidroepiandrosterona (DHEA-S), etc. Estas respuestas preparan al organismo para permitir la homeostasis a efectos de llevarnos a la adaptación ante situaciones de estrés.^{3-4,7-8}

Cada uno de los procesos de adaptación, ya sea psicosocial o físico, tienen un efecto en el organismo, que se conoce como carga alostática y se refiere al precio que el tejido u órgano paga por una respuesta alostática hiperactiva o ineficiente, debe de estar encendido y apagado después de la situación de estrés que se haya presentado; por lo cual lleva a un desgaste de los sistemas alostáticos y a largo plazo es causante de patologías tanto orgánicas como psíquicas.^{1, 4,9}

Al respecto, Bruce McEwen propone cuatro tipos de carga alostática (Fig. III.1):

Respuesta prolongada: donde el individuo permanece en una situación de estrés, en la que no alcanza a recuperarse y tiene que afrontar una nueva situación.

Situaciones repetidas: el individuo no logra adaptarse a factores estresores del mismo tipo que se repiten en el tiempo.

Falta de adaptación: el individuo es incapaz de reprimir las respuestas alostáticas una vez finalizado el estrés.

Respuesta inadecuada: cuando el sistema no responde adecuadamente al estímulo estresante y la actividad de otros sistemas aumenta.⁹⁻¹¹

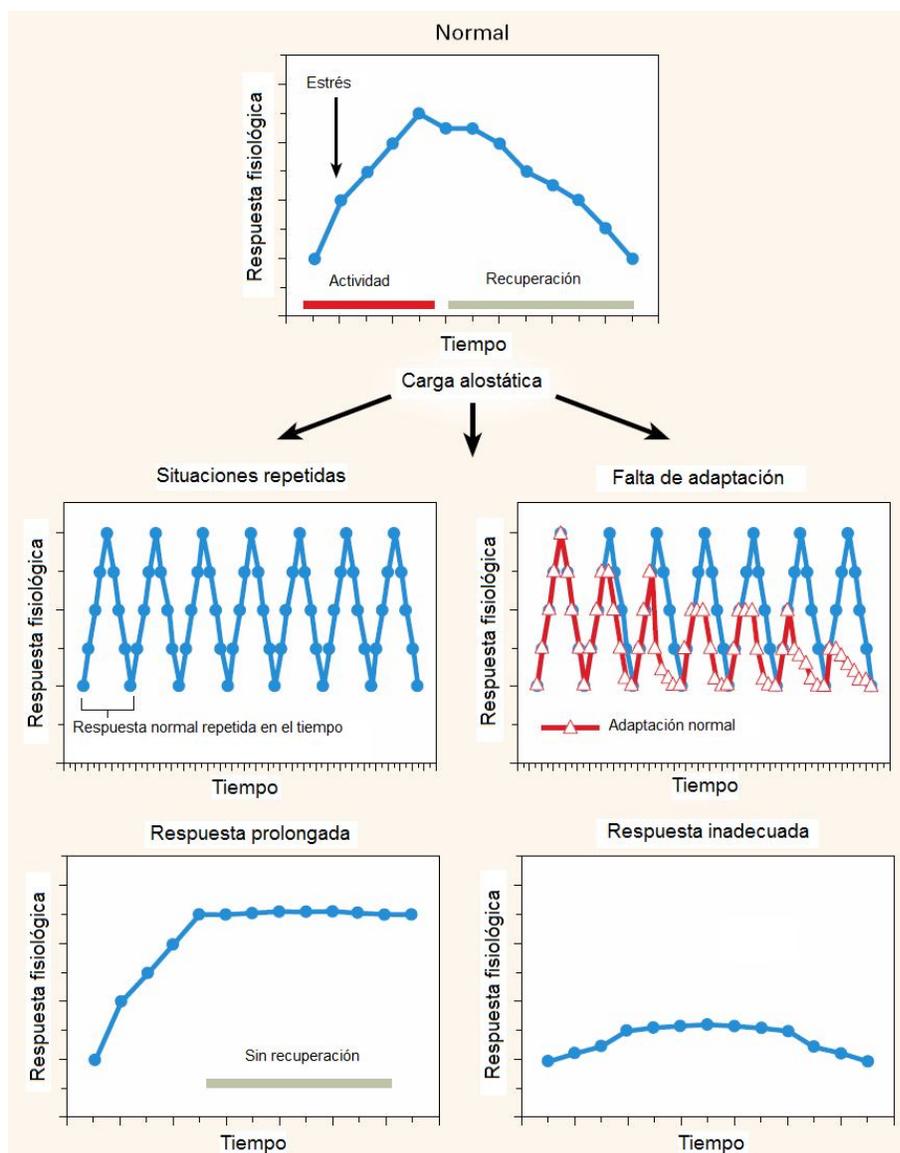


Fig. III.1 Gráficas de los cuatro tipos de carga alostática. Tomado de McEwen (2002)⁹

Para realizar la evaluación de la carga alostática es necesario distinguir entre los mediadores primarios que permiten observar los estados alostáticos y los resultados secundarios o consecuencia de las acciones de los mediadores. De la combinación de estos mediadores se determinó que algunos marcadores útiles para evaluar la carga alostática son: la presión arterial sistólica y diastólica (actividad cardiovascular), medida de la cintura-cadera (índice de los niveles crónicos del metabolismo y la deposición del tejido adiposo), HDL sérico (del inglés High Density Lipoprotein) y el colesterol total

(en relación con el desarrollo de la arterosclerosis), niveles plasmáticos de hemoglobina glicosilada, DHEA-S sérica (función de eje HHA) , glucosa en ayunas, insulina, creatinina y proteína C reactiva, durante la noche excreción de cortisol urinario y norepinefrina urinaria, así como la excreción de los niveles de epinefrina.^{4,9-11}

La carga alostática se ha relacionado con enfermedades agudas y crónicas; en los últimos años se ha incrementado el interés en este tema, ya que se asocia con la edad en la disminución del estado de salud y el nivel de funcionamiento del organismo. Diversos estudios han demostrado que el aumento de la carga alostática en jóvenes es proporcional a la acumulación de factores de riesgos, Gary Evans clasificó por edades estos factores. A los 9 años se relaciona con aglomeración, problemas en casa, ruido, la separación de padres, violencia, el abandono materno; a los 13 años se le suma la interacción entre las adversidades y la respuesta baja maternal; a los 17 años una larga pobreza que se relaciona con problemas de memoria así como la baja educación de los padres. Por lo que los adolescentes con antecedentes de diferentes trastornos representan un elevación en su carga alostática comparándolo con adolescentes no expuestos y esto se pueden llegar a observar en el proceso de envejecimiento.^{1, 10,12-13}

Las nuevas situaciones a las que el individuo se enfrenta, generan una evaluación cognitiva que estará condicionada a los factores genéticos así como a sus experiencias durante el desarrollo; esto nos da la diferencia interindividual de respuesta que el cerebro traduce a una evaluación con la activación de los sistemas alostáticos y de diferentes mediadores, que producirán una respuesta. Los mediadores de alostasis como son los glucocorticodes, DHEA, las catecolaminas, citocinas; tienen muchos efectos en varios sistemas del cuerpo, por lo que su producción y acción se encuentran interconectadas. Además junto con otras hormonas y mediadores de los tejidos, confieren al cuerpo una considerable capacidad de resistencia

frente al estrés crónico; por lo que al estar en una situación de estrés el organismo busca la manera de adaptarse, en este sentido se ha observado que el gasto de éste es menor en adolescentes que en los adultos.^{1,4,14}

III.2 Envejecimiento

El envejecimiento se define como un proceso gradual y adaptativo, caracterizado por una disminución relativa de la respuesta homeostática, debida a las modificaciones morfológicas, fisiológicas, bioquímicas y psicológicas, propiciadas por los cambios inherentes a la edad y al desgaste acumulado antes los reto que enfrenta el organismo a lo largo de la historia del individuo en un ambiente determinado.¹⁵

La tendencia y niveles de la mortalidad son diferentes para cada grupo de edad, el Consejo Nacional de Población (CONAPO) realizó un estudio para detectar las principales causas de mortalidad en México; se conformaron siete intervalos de edades que están relacionados con las etapas del ciclo vital humano: 1) población infantil (menores de un año), 2) preescolares (1 a 4 años), 3) escolares (5 a 14 años), 4) adolescente y jóvenes (15 a 24 años), 5) adultos jóvenes (25 a 44 años), 6) adultos maduros (45 a 64 años) y 7) adultos mayores (65 o más).¹⁶

En este estudio se observó que las principales causas de muerte en 2007 para los adultos mayores fueron las cardiovasculares, los tumores malignos, diabetes mellitus, enfermedades respiratorias crónicas y las digestivas.¹⁶

Así mismo, la esperanza de vida en México se duplicó durante la segunda mitad del siglo XX, al pasar de 36 años en 1950 a 74 años en 2000, por lo cual se espera que en las próximas décadas continúe su incremento. CONAPO realizó estudios y proyecciones de la población en México del 2005-2050 señala que la población de los adultos mayores (65 años o más) abarcarán cada vez mayores proporciones de la población total: la concentración aumentó de 5.2% en 2005 a 5.9% en 2010 y se cree que

aumentará 21.2% en 2050. Tomando en cuenta que por consenso internacional, se ha catalogado como ancianos a los mayores de 60 años en los países en subdesarrollo y a los mayores de 65 años en los desarrollados. Por lo anterior, es cierto que los cambios en la mortalidad han repercutido en el aumento de la esperanza de vida, por lo que es importante que este tiempo se viva con una adecuada calidad de vida, se debe minimizar los efectos de las enfermedades para mantener una funcionalidad tanto física como mental; a través de la implementación de programas de salud, modificar los patrones alimenticios y la actividad física.¹⁶⁻¹⁸

III.2.1 Teorías del envejecimiento

Se han propuesto varias teorías sobre el envejecimiento a lo largo de la historia, observando que este proceso es multifactorial, por lo que las diferentes teorías no son mutuamente excluyentes.¹⁹⁻²⁰

Estas teorías se clasifican en dos grupos:

- Teorías estocásticas o ambientales: conjunta los fenómenos que comportan una serie de variables que hacen que sea producto del azar, debido a la exposición de factores exógenos adversos.

- Teoría genética. Propone que el envejecimiento es debido a factores relacionados con el genoma de la célula y esta se puede agrupar en tres tendencias: 1) teoría de la regulación génica, la cual nos explica que el envejecimiento celular tendrá una relación directa con el desequilibrio de los factores que permiten el mantenimiento de la fase de reproducción; 2) teoría de la diferenciación terminal, postula que el envejecimiento celular también se debe a una serie de modificaciones en la expresión genética, pero que comportan un diferenciación terminal de las células y la 3) teoría de la inestabilidad del genoma, donde la

inestabilidad se da tanto a nivel de ADN y afecta la expresión de los genes sobre el ARN (ácido ribonucleico) y las proteínas.²¹⁻²³

- Teoría de la mutación somática. Establece que el envejecimiento ocurre como un resultado de la acumulación de mutaciones en el ADN nuclear de las células somáticas, estas lesiones en el ADN sería fundamental al nivel mitocondrial.²²⁻²³
- Teoría del error-catástrofe. Postula que existen errores en los mecanismos de síntesis de proteínas, consecuentemente la transferencia de información del ADN al ARN no ocurre de manera adecuada.²⁴
- Teoría de las uniones cruzadas de estructuras celulares. Sugiere que la formación de enlaces moleculares entre proteínas o cadenas de ácidos nucleicos, aumenta con la edad como efecto de la acción de RL formados en los procesos metabólicos normales.²³
- Teoría inmunológica. Propone que el genoma nuclear actúa como un reloj molecular o reloj celular, el cual es responsable de programar los cambios que se van presentando en el desarrollo de un organismo a lo largo de su vida.²²
- Teoría de la acumulación de productos de desecho. Sheldrak propuso que el envejecimiento celular se puede explicar en términos de la acumulación de la ruptura de productos citoplasmáticos, algunos de los cuales puede ser perjudiciales para la célula.²²⁻²³
- Teoría de los RL. En 1956 Harman propuso la teoría de los RL, que es la más aceptada sobre el envejecimiento; la cual postula

que este fenómeno es producto de los efectos nocivos causados a los tejidos por reacción de los RL, que son asociados con el medio ambiente y con un proceso intrínseco; producidos estos radicales durante la respiración aerobia causando que haya una acumulación del daño oxidativo que resulta en una pérdida gradual de los mecanismos homeostáticos, en la pérdida funcional de la célula, interferencia de patrones de expresión genética. Estas alteraciones se encuentran implicadas en el envejecimiento, en enfermedades degenerativas como son la arteriosclerosis, Alzheimer, enfermedades autoinmunes, amiloidosis, etc. y a la muerte.²⁵⁻²⁶

- Teorías no estocásticas o deterministas: son las basadas en mecanismos genéticos.
 - Teoría de la capacidad replicativa finita de las células. Hayflick y Moorhead describieron que los fibroblastos humanos normales tienen una capacidad limitada de replicación cuando se cultivan in vitro. La base teórica reside en que el envejecimiento de un organismo puede ser considerado como la suma del envejecimiento de sus células individuales.^{22,24}
 - Teoría neuroendocrina. Se dan cambios morfológicos, los cuales provocan cambios de nivel endocrino, causando el envejecimiento.²¹
 - Teorías evolutivas. Al ser el envejecimiento común en las especies animales, se ha intentado explicar la causa y su proceso con tres teorías: 1) Teoría del envejecimiento como un proceso de adaptación, 2) Teoría de las mutaciones tardías y 3) Teoría del soma desechable.²¹⁻²³

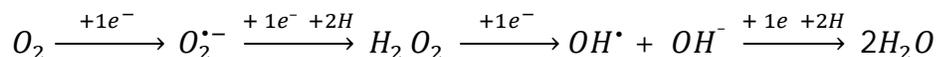
III.3 Radicales libres

Tomando en cuenta la teoría de Harman, RL son aquellas especies químicas que en su estructura química presentan un electrón desapareado o impar en el orbital exterior, dándole una configuración que genera una gran inestabilidad. Se producen por diferentes mecanismos como son la cadena respiratoria mitocondrial, la cadena de transportes de electrones a nivel microsomal y en los cloroplastos, así como las reacciones de oxidación, por lo que producen daño celular (oxidativo) al reaccionar de forma rápida con algunas biomoléculas.²⁷

Estos cumplen una importante función en varios procesos homeostáticos como intermediarios en reacciones de oxidación-reducción (Redox) esenciales en la vida con el propósito de lograr una configuración electroquímica estable; así como en la destrucción de microorganismos por fagocitosis; la síntesis de colágeno, prostaglandinas; activa enzimas de la membrana celular, disminuye la síntesis de catecolaminas, modifica la biomembrana y favorece la quimiotaxis.²⁷⁻²⁸

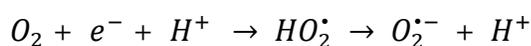
Existen dos tipos principales de RL: especies reactivas del oxígeno (ERO's) y especies reactivas de nitrógeno (ERN's).

Los radicales derivados del oxígeno son la clase más importante de radicales generados en los sistemas vivos, se producen principalmente con el 1 al 5% del oxígeno que consumimos como un subproducto del metabolismo aeróbico en la mitocondria, causando daño oxidativo a las células y tejidos²⁹⁻³¹; pero dentro de ciertos límites, son esenciales para mantener la homeostasis.



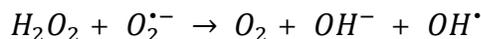
Radical anión superóxido ($O_2^{\bullet-}$)

Se forma a partir de una molécula de oxígeno en presencia de suficiente energía que le haga adquirir un electrón; esta especie es producida por un gran número de enzimas, por reacción de auto-oxidación y por transferencia no enzimática de electrones provenientes de la reducción molecular del oxígeno. El $O_2^{\bullet-}$ formado in vivo, tiene un tiempo de vida media del orden de milisegundos, su reactividad es débil, pero puede penetrar las membranas biológicas y causar daños a blancos específicos.³²

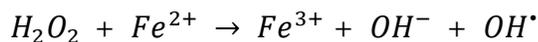


Radical hidroxilo (OH^{\bullet})

Es el radical más reactivo encontrado en los sistemas biológicos con una vida media alrededor de 10^{-9} s; se forma principalmente a partir de $O_2^{\bullet-}$ y H_2O_2 . In vivo puede generarse como consecuencia de radiaciones (rayos X, rayos γ), así como a través de la reacción de Haber-Weiss a partir de agua oxigenada y del radical superóxido.

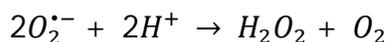


Del mismo modo mediante la reacción de Fenton, con complejos de bajo peso molecular de Fe (II) genera estos radicales, al igual los iones de cobre también pueden participar en esta reacción.³³



Peróxido de hidrógeno (H_2O_2)

Es el estado de reducción de dos electrones del oxígeno, formado a partir del radical $O_2^{\bullet-}$ por dismutación rápidamente a valores de pH ácido, o directamente del O_2 .





Por la toxicidad que genera es importante, ya que atraviesa fácilmente las membranas, pero no se le considera como un RL. Se genera in vivo por varias enzimas oxidasa, tales como glicolato oxidasa, la xantina oxidasa y oxidasa D-aminoácido.³⁴⁻³⁵

Oxígeno singulete (1O_2)

Existen dos estados singulete de O_2 . El singulete $O_2^1 \Delta_g$, es el más importante en el sistema biológico, no tiene electrones apareados, su vida media es alrededor de 10^{-6} s y no es un radical; se forma in vivo por la acción de la luz sobre las moléculas de oxígeno o a partir de varios pigmentos biológicos, tales como clorofila, flavinas o porfirias. Otros sistemas biológicos en el que se cree que hay la participación del oxígeno singulete incluye la xantina oxidasa, linoleato-lipoxidasa y la peroxidación lipídica microsomal dependiente del la nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH).

El singulete $O_2^1 \Sigma_g^+$ generalmente se transforma al estado $^1 \Delta_g$ antes de que haya tiempo para que pueda reaccionar con alguna molécula.³⁵⁻³⁶

Radicales peroxilo (ROO•)

Aparte de los radicales reactivos derivados del oxígeno que se pueden formar en los sistemas vivos son los radicales peroxilo (ROO•); la forma más sencilla es el radical peroxil (HOO•), que es la forma protonada del superóxido ($O_2^{\bullet-}$).³⁷

Se forman típicamente como intermediarios durante la ruptura de lípidos peroxidados en las reacciones de la peroxidación lipídica (LPO); es el paso más importantes de las reacciones de propagación en la cadena durante la LPO.³³

Óxido nítrico (NO[•])

Es una pequeña molécula que tiene un electrón desapareado en el orbital antienlazante del nitrógeno y el O₂, por lo que es un radical libre altamente reactivo, tiene un tiempo de vida media aproximadamente de 3 a 5s. Se genera en los tejidos biológicos específicos de óxido nítrico sintetasa (NOS), que metaboliza la L-arginina a L-citrulina. Puede producir daño en las proteínas, hidratos de carbono, nucleótidos y lípidos. Es un reactivo abundante por lo que tiene importancia como señalizador de la oxidación biológica en una gran variedad de procesos, como son en la neurotransmisión, regulación de la presión arterial, los mecanismos de defensa, la relajación del músculo liso y la respuesta inmune. La sobreproducción de estas especies se le llama estrés nitrosativo y esto puede ocurrir cuando la generación de NOS en un sistema excede la capacidad de éste para neutralizar y eliminarlos; este estrés puede dar lugar a reacciones de nitrosilación alterando la estructura de las proteínas y así inhibir su función normal.^{29, 33,37}



III.3.1 Fuentes de los radicales libres

Los RL son producto de los procesos fisiológicos propios del organismo también llamadas fuentes endógenas, como el metabolismo de los alimentos, la respiración y el ejercicio o se pueden generar a partir de fuentes exógenas como son las radiaciones ionizantes, ultravioleta (UV), la térmica, algunos productos químicos carcinogénicos, agentes contaminantes y el cigarro; así como de diversos medicamentos.³⁸⁻³⁹

Como fuente endógena la respiración aeróbica, que se da en las mitocondrias constituyen la fuente principal de RL, esto se efectúa a nivel de la cadena de transportes de electrones. El 95% del oxígeno consumido es reducido a H₂O por la acción de la citocromo a3, que es el citocromo

terminal, el cual cede 4 electrones al oxígeno para producir H_2O . Al pasar por la membrana interna mitocondrial genera un gradiente eléctrico que aporta la energía necesaria para formar la adenosina trifosfato (ATP). Una consecuencia de este proceso es la formación de moléculas que pueden entregar 1 o 2 electrones al oxígeno, produciendo los RL (Fig. III.3.1.1).³⁹⁻⁴⁰

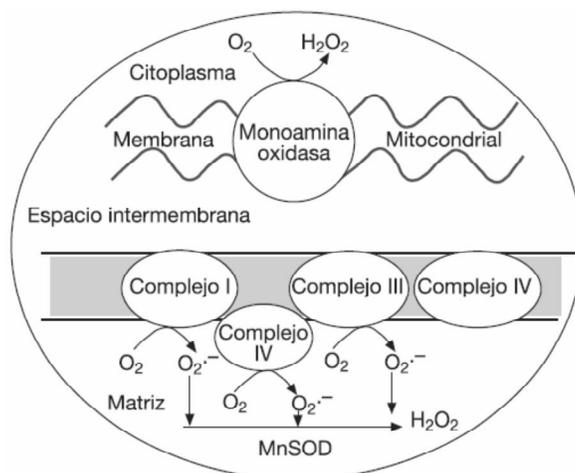


Fig. III.3.1.1 Sitios de formación de $\text{O}_2^{\bullet-}$ en la cadena de transporte de electrones. Tomado de Fernández (2009)⁴¹

Las células fagocíticas (polimorfonucleares) se activan por mediadores proinflamatorios o de productos bacterianos, víricos o de parásitos; los fagocitos contienen enzimas líticas (proteasas, lipasas, nucleasas) las cuales ayudan a la destrucción de las células infectadas produciendo los RL, principalmente el $\text{O}_2^{\bullet-}$.⁴²⁻⁴³ Los peroxisomas, organelos del citosol encargados de la degradación de ácidos grasos produciendo H_2O_2 como subproducto, el cual es degradado por la enzima catalasa y formando H_2O ; ocasionalmente algunos H_2O_2 escapan de la degradación, donde se liberan a otros compartimientos celulares provocando un incremento del daño por oxidación en el ADN.^{42,44}

Así también la activación catalítica de diversas enzimas del metabolismo intermediario como la ciclooxigenasa, lipoxigenasa, aldehído oxidasa, monoamino oxidasa, hipoxantina y xantina oxidasa, la cual predomina en los endotelios depurando las xantinas y generando $\text{O}_2^{\bullet-}$.^{38,44} Mientras que las

enzimas del complejo citocromo P450 son las responsables del metabolismo oxidativo de los xenobióticos, el estímulo de estas enzimas previene los efectos de toxicidad aguda de agentes extraños al organismo, pero también produce subproductos oxidantes que pueden dañar el ADN.²⁸

Asimismo los radicales pueden provenir del medio exterior. El humo del tabaco al contener hidrocarburos insaturados reacciona con el dióxido de nitrógeno, producido por la reacción del óxido nítrico con el oxígeno, originando RL como el radical hidroxilo que es uno de los causantes del enfisema pulmonar.⁴⁵

Los óxidos de nitrógeno pueden proceder de la contaminación atmosférica por la combustión de los motores, así como los hidrocarburos que gracias a su solubilidad en lípidos, pueden traspasar las membranas, donde su principal efecto tóxico es el hígado. El ozono (O^3) procede de la acción fotoquímica de las radiaciones electromagnéticas sobre el oxígeno, también de los campos eléctricos o de la combustión de los carburantes; este puede oxidar grupos (-SH, $-NH_2$, -OH y $-COH$) y en los fosfolípidos de las membranas celulares induce la peroxidación lipídica.⁴³

Con el consumo de alcohol se ha demostrado que existe un incremento en la peroxidación lipídica donde está involucrado el radical hidroxilo, así como una disminución en los niveles de glutatión reducido (GSH) en el hígado, el cual ayuda a proteger a la célula contra la acción de los RL y mantener la estabilidad de la membrana, lo que podría favorecer la LPO. Asimismo el ejercicio exhaustivo, genera ERO's ya que hay consumo mayor de O_2 por lo que si sobrepasa de un 30-40%, las defensas antioxidantes comienzan decaer; una concentración del 100% es altamente tóxica.^{43,45}

Los xenobióticos antitumorales como son la adriamicina y la daunomicina, producen ERO's originado en el ciclo redox en el que están implicados los grupos quinona, produciendo el radical $O_2^{\bullet-}$ o el radical H_2O_2 , los cuales son causantes de cardiotoxicidad⁴⁵. Cabe destacar que no son las únicas fuentes

exógenas de la producción de RL, igualmente pueden ser los productos de la oxidación de lípidos en alimentos, microtoxinas, hiperoxia, metales de transición así como otros medicamentos.

III.4 Estrés oxidativo

El estrés oxidativo (EOx) se define como un desequilibrio bioquímico derivado de la producción excesiva entre las moléculas oxidantes o RL, que tienden a dañar las macromoléculas (lípidos, proteínas, hidratos de carbono y ácidos nucleicos) alterando los procesos celulares, y los sistemas antioxidantes. La etiología de un aumento del EOx relacionado con la edad se asocia con tres factores: I) un aumento en la generación de ERO's, II) una disminución en la defensa antioxidantes, y III) una disminución de la eficiencia de reparación o eliminación de las moléculas dañadas (Fig. III.4.1)

28, 45-47

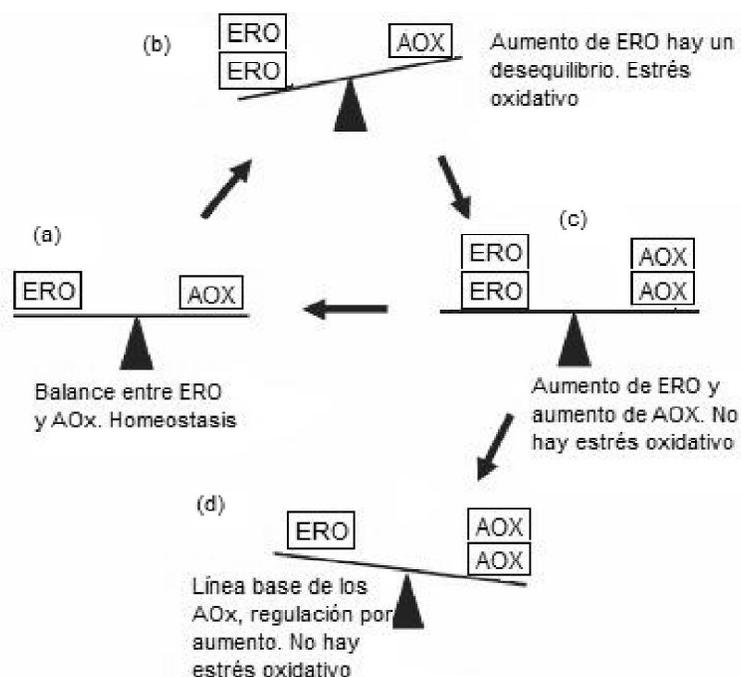


Fig. III.4.1 Esquema donde se observa que: (a) en el estado homeostático tanto ERO's y AOX son niveles bajos pero se encuentran equilibrio por lo que no hay EOx; (b) hay un aumento en los ERO's lo que excede la capacidad del sistema AOX lo que lleva a un EOx; (c) si el aumento de ERO's es pequeña el sistema AOX puede igualarla y prevenir el EOx. Si

el aumento de los ERO's es transitoria entonces retornará a un equilibrio homeostático (a); (d) a la exposición prolongada de la elevación de los ERO's, el organismo aumenta permanentemente los AOX, por lo que es capaz de hacer frente a futuros eventos oxidativos. Tomado de Monaghan (2009)⁴⁷

III.4.1 Biomarcadores del daño oxidativo

Las características que pueden ser medidas y evaluadas como indicadores de los procesos biológicos se les llaman biomarcadores, pueden ser *in vitro* o *in vivo* pero estos son limitados ya que se carece de sensibilidad y especificidad o requieren de métodos invasivos. Para que sean funcionales estos marcadores es importante que los productos de oxidación sean estables y se pueda obtener una concentración detectable.⁴⁶

➔ Daño a lípidos

Los lípidos tienen un papel importante y funcional en la estructura de la membrana, la LPO puede provocar alteraciones en la permeabilidad hasta la muerte celular. Los dobles enlaces que se encuentran en los ácidos grasos poliinsaturados son blancos fáciles para el ataque de los RL; la abstracción de un átomo de hidrógeno de los dobles enlaces, se obtiene una especie que interactúa con el O₂ resultando el radical peroxilo, el cual puede reaccionar con otros ácidos grasos de la membrana formando más RL y formar una reacción en cadena.⁴⁶⁻⁴⁷

El hidroperóxido lipídico es inestable formando varias especies como hidrocarburos de cadena corta (etano y pentano), el 4-hidroxinonal (4-HNE) y el malondialdehído (MDA); éstos pueden alterar la actividad de las fosfolipasas e inducir la liberación de ácido araquidónico, originando prostaglandinas (ejemplo F2-isoprostano). A su vez, se ven afectados los canales iónicos, que en ausencia de éstos los hidroperóxidos pueden acumularse en la membrana y alterar su función provocando el daño al ADN. Sucesivamente el radical ROO• se descompone para formar radicales

lipídicos, llamando a este fenómeno LPO, durante este proceso se forman otros compuestos como los alquenes que reaccionan con el ADN, inhibe la síntesis de proteínas y ARN, así como la reparación del ADN.⁴⁷⁻⁴⁸

En la lipoperoxidación, los radicales que se forman pueden causar también daño a las proteínas membranales, inactivando receptores o enzimas que se encuentran unidas a las membranas, así como la producción del pigmento de envejecimiento llamado lipofuscina. Del mismo modo hay un efecto sobre las lipoproteínas plasmáticas; cuando hay un aumento en la lipoperoxidación se le asocia al proceso del envejecimiento.⁴⁹

➔ Daño a proteínas

La acción de los RL sobre las proteínas se da en los enlaces insaturados, los anillos aromáticos y los grupos tiol (-SH)³⁹; por lo que los aminoácidos son fragmentados alterando su estructura y su función. Dentro de los aminoácidos la tirosina, fenilalanina, triptófano, metionina, histidina y la cisteína son los que sufren una oxidación por el radical hidroxilo, el cual forma un entrecruzamiento covalente induciendo a la fragmentación de la cadena polipeptídica por lo que pueden ser susceptibles a las enzimas proteolíticas debido a la formación del grupo carbonilo, la creación de grupos N-terminales o cambios conformacionales.^{47, 49-50}

Otro mecanismo de oxidación es el llamado sistema de oxidación catalizada por metal que puede convertir algunos residuos de aminoácidos, como la prolina, arginina y lisina a grupos carbonilo; este se emplea como un indicador de daño oxidativo el cual suele ser irreversible llevando a la desnaturalización de la proteína.⁴⁹

➔ Daño al ADN

El ADN, es el material hereditario de los seres humanos y otros organismos, se encuentra en el núcleo de la célula de ahí que se denomine ADN nuclear (ADNn) pero también se puede hallar una pequeña cantidad en las mitocondrias llamado ADN mitocondrial (ADNmt); está conformado por purinas: adenina (A) y guanina (G) y por pirimidinas: citosina (C) y timina (T), que al unirse A con T y C con G forman bases, donde a su vez se encuentra ensambladas a una molécula de azúcar (desoxirribosa) y un fosfato llamado nucleótido; formado una doble hélice por uniones no covalentes (Fig. III.4.1.1).⁵¹

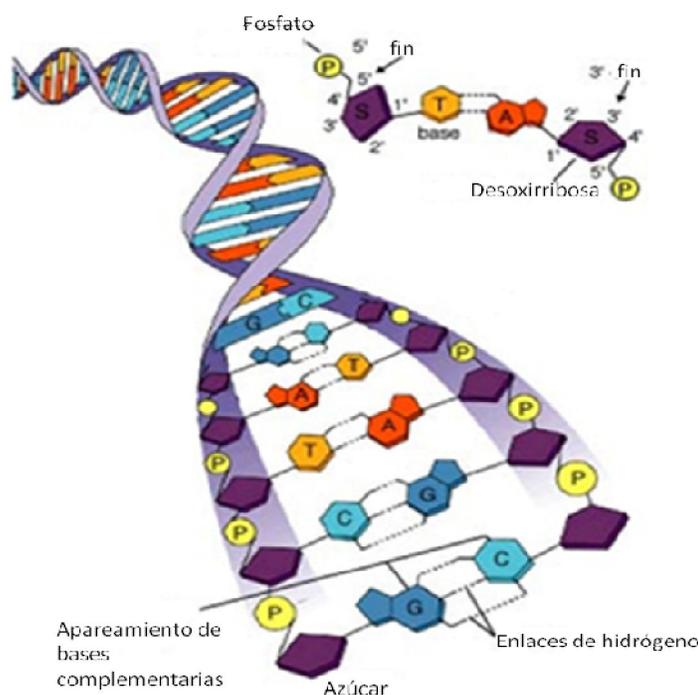


Fig. III.4.1.1 Estructura del ADN. <http://cyberbrethren.com/2011/02/19/how-much-data-can-your-dna-hold-hint-a-lot/>⁵²

Dado que el ADN juega un papel central e importante en la transferencia de información entre generaciones, ha tomado relevancia el daño oxidativo que presenta, principalmente en relación con el envejecimiento y el cáncer, así como en problemas neurológicos. El índice de daño oxidativo del ADN se

encuentra relacionado directamente con la tasa metabólica e inversamente proporcional a la duración de la vida del organismo.⁵³

Al encontrarse expuesto tanto a los factores ambientales como a las actividades metabólicas, el ADN puede sufrir daños que si no son reparados dará lugar a mutaciones y posiblemente a enfermedades. Estos daños se pueden dividir en:

1. Daños endógenos: provocados por los RL
2. Daños exógenos:
 - a. Radiaciones UV-A, radiaciones UV-B, rayos X y rayos γ
 - b. Agentes alquilantes
 - c. Error en la replicación
 - d. Hidrocarburos policíclicos⁵⁴

Se estima que los RL son responsables de aproximadamente 10 000 modificaciones de bases por célula al día⁴⁷; lo cual puede generar mutaciones somáticas lo que conllevará a la síntesis de proteínas defectuosas, modificaciones oxidativas de las bases, deleciones, fragmentaciones, reordenamiento cromosómico y desmetilación de citosina que activa genes. Se debe de resaltar que el ADNmt es un mayor blanco al daño oxidativo que el ADNn^{27, 48,55}; esto es debido a que el ADNmt se encuentra cerca de los ERO's generados durante el transporte de electrones, y por la falta de proteínas histonas para proteger el ADN de los ataques o la reparación ineficaz, por lo que ocurre una acumulación de daño a niveles superiores.⁵⁶

Cuando es atacada una desoxirribosa por los RL, se oxida produciendo la ruptura de los enlaces entre el azúcar, siendo los carbonos 4 y 5 los sitios susceptibles del ataque, y el grupo fosfato del siguiente nucleótido en la cadena sencilla, que son reparados por medio de las enzimas adecuadas; si hay una gran cantidad de rompimientos de cadena sencilla se conduce a la

formación de rompimientos de cadena doble, lo cual provocaría un daño permanente o mutagénesis.⁴⁹

Se ha visto que el daño oxidativo en el ADN mediado por $^1\text{O}_2$ es común, entre los componente de los ácidos nucleicos los derivados de la guanina son los más susceptibles a la oxidación pero los productos de degradación generados aún se desconoce su naturaleza; sus efectos se dan sobre la información genética, en la replicación del ADN y sobre la reparación de los productos de oxidación.⁵⁷

Las mutaciones tienen lugar cuando la cadena de ADN dañada es copiada durante la duplicación; en el ADNmt se sugiere que se da tras la exposición de mutágenos ambientales, de los errores de la polimerasa, en la falla al momento de la reparación y de defectos en los mecanismos de degradación. El principal RL es el $\text{O}_2^{\bullet-}$ donde al encontrarse en la matriz mitocondrial se convierte de forma espontánea o enzimática con la ayuda del superóxido dismutasa en H_2O_2 ; por la permeabilidad de la membrana permite la difusión fácil del H_2O_2 y dándose la reacción de Fenton, donde se produce el radical hidroxilo dañando al ADNmt y obteniendo como resultado aductos como la 8-hidroxiguanosina (8-OHdG) y 8-hidroxiguanina (8-OHG).^{47, 49,58}

Estos dos biomarcadores muestran una alta especificidad, aunque el utilizado con mayor frecuencia es la 8-OHdG, dándose la oxidación del C-8 de la guanina resultando un daño por una mutación génica transversional G→T; este biomarcador se puede medir en los linfocitos, saliva, orina, plasma entre otros. Se pueden cuantificar por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC, del inglés High-performance liquid chromatography), cromatografía de gas acoplado a espectrometría de masa (GC-MS, del inglés gas chromatography-mass spectrometry), cromatografía líquida acoplado a espectrofotometría de masa (LC-MS, del inglés liquid chromatography-mass spectrometry), HPLC con detección electroquímica (HPLC-ECD), anticuerpos utilizando el ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA, del inglés

Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay) y la electroforesis unicelular alcalina (ensayo cometa).^{46-47, 59}

Aunque es conveniente la 8-OHdG como un marcador biológico para evaluar todo el cuerpo, también tiene sus limitaciones ya que en la orina puede dar valores que se ven modificados por la tasa metabólica (consumo de oxígeno) y además de ser un producto de la oxidación es también de reparación por escisión.^{46,59}

Como ya se mencionó, hay distintas causas de daños al ADN pero estos daños se pueden dar principalmente por tres vías: ruptura de una sola cadena (del inglés single-strand break, SSB), ruptura de la cadena doble (del inglés double-strand break, DSB) y lesiones múltiples. Al contrario de los lípidos y proteínas, el ADN no puede ser reemplazado por lo que éste debe de ser reparado, si no se logra esto la célula muere por apoptosis; esta reparación es regularizada en la división celular, donde se ve detenida la proliferación para que se repare correctamente el daño. Estos mecanismos de reparación se han estudiado mejor en *Escherichia coli* (*E. coli*) aunque se sabe que en las células eucarióticas hay más proteínas implicadas.^{56, 60-61}

Los principales tipos de reparación que puede darse son: reparación por escisión de base (BER, del inglés base excision repair) y por la reparación de escisión de nucleótidos (NER, del inglés nucleotide excision repair); aunque existen otros mecanismos como son reparación de errores de apareamiento (MMR, del inglés mismatch repair), reparación por daño inverso y reparación por rompimiento de la doble cadena de ADN (DBS, del inglés ADN double strand break repair)^{54,60-61} (Fig. III.4.1.1).



Fig. III.4.1.1 Posibles mecanismos de reparación del ADN cuando se expone a diferentes agentes. Tomado de Lizcano (2005)⁵⁴

NER es la vía más importante de reparación para la eliminación de aductos de ADN voluminoso, que deforman la estructura normal de la hélice, lo que alteran la transcripción y replicación⁶⁰. Mientras que la principal vía para la reparación de las ERO's es BER; esta se inicia por una enzima llamada glicosilasa que reconoce las bases que han sido modificadas y generando un sitio AP (apurínico o apirimidínico) por la ruptura del enlace entre la base y el nucleótido, e interviene una endonucleasa que ayuda a retirar los residuos de ribosa-fosfato, posteriormente actúan ADN polimerasa y ADN ligasa.^{56,60,62} (Fig. III.4.1.2)

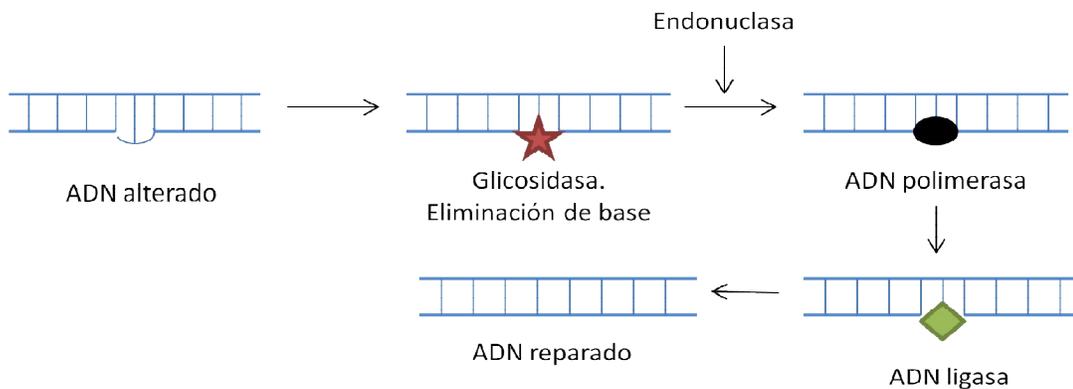


Fig. III.4.1.2 Reparación de la cadena sencilla del ADN por escisión de bases. Tomado de Maynard (2008)⁶⁰

III.5 Antioxidantes

Ya que los RL se producen constantemente, los organismos han desarrollado una serie de mecanismos de defensa como son: 1) mecanismos de prevención, 2) mecanismos de reparación, 3) las defensas físicas y 4) las defensas antioxidantes. Los antioxidantes (AOx) son moléculas que previenen la formación descontrolada de RL o inhibe sus reacciones con estructuras biológicas (lípidos, proteínas, ADN, etc) para evitar alteraciones en su funcionamiento. Su acción la realiza tanto en medios hidrofóbicos como hidrofílicos.^{28-29,37} (Fig. III.5.1)



Fig. III.5.1 Funcionamiento de los antioxidantes. Tomado de: nanobiotecnologianutraceutica.blogspot.com

Existen diferentes criterios para la clasificación de los AOx, al ser enzimas o nutrimentos esenciales algunos de ellos se deben de obtener del exterior, por esta situación algunos autores los clasifican en enzimáticos o no enzimáticos. Otro criterio que se puede considerar es por el mecanismo ya sea en función preventiva de la formación de los RL y en aquellos que atrapan a los RL ya formados; asimismo se puede tomar en cuenta su localización, ya sea intra o extracelulares.²⁷⁻²⁸

Los AOx enzimáticos, también son conocidos como AOx naturales, su actividad es regulada dependiendo de los requerimientos celulares; estos son principalmente tres: catalasa (CAT), glutatión peroxidasa (GPx) y superóxido dismutasa (SOD)^{15, 29}. La CAT es una enzima que consiste en cuatro subunidades proteicas, cada una con un grupo hemo unido a su sitio activo. Se encuentra en altas concentraciones en riñón e hígado, en bajas

concentraciones en epitelios y tejido conectivo; a nivel celular se sitúa en las mitocondrias, peroxisomas, citosol (eritrocitos). Su función se da en los peroxisomas, donde se cataliza la descomposición del H_2O_2 , proveniente de la SOD, en agua y oxígeno^{15, 27-28}. Mientras que la GPx utiliza como cofactor al selenio y se localiza en el citosplasma, las mitocondrias, citosol y lisosomas. En presencia del glutatión reducido (GSH), cataliza la reducción del peróxido de hidrógenos en agua y alcohol. En el ser humano se han observado cuatro isoenzimas: GPx1, GPx2, GPx3 y GPx4. Así mismo la superóxido dismutasa tiene como función catalizar la dismutación de los RL superóxido a H_2O_2 ; se encuentra en tres formas diferentes en el organismos CuZn-SOD (citosol), Mn-SOD (matriz mitocondrial) y CuZn-SOD de alto peso molecular (fluidos extracelulares).^{15,43}

Los AOx no enzimáticos, son llamados AOx sintéticos o suplementos dietéticos, es necesario consumirlos de la dieta y al existir una variedad de ellos se clasifican en vitaminas AOx, AOx endógenos, minerales, fitoquímicos y suplementos^{15,29}. Estos AOx se unen a los RL donándole un electrón para estabilizarlo y los transfieren de sitio donde pueden provocar daños graves a lugares celulares donde su efecto no sea tan agresivo, o bien, los transforman a radicales menos agresivos. Estos se ubican principalmente en el citosol, matriz mitocondria y nuclear, así como en fluidos extracelulares; ejemplo de ellos^{28, 43} (Fig. III.5.2).

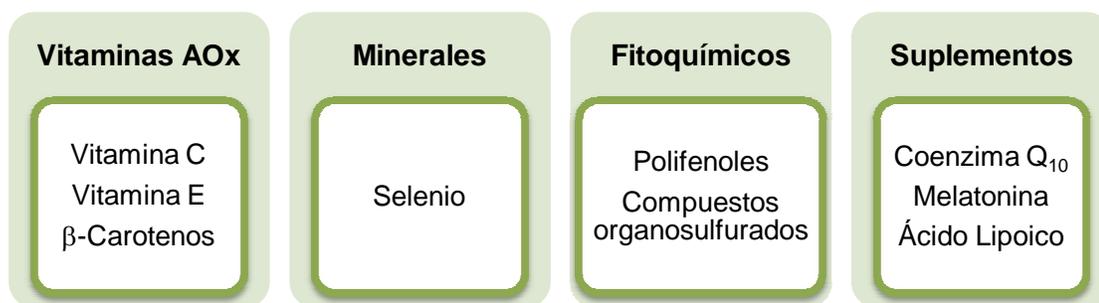


Fig. III.5.2 Clasificación de Antioxidantes no enzimáticos. Tomado de Mendoza (2009)¹⁵

Existen proteínas que se ligan a metales actuando en el transporte y almacenamiento de iones metálicos, entre los más importantes se encuentra la ferritina, transferrina, ceruloplasmina, albúmina y lactoferrina. La ferritina inhibe la peroxidación, mientras que la transferrina y la lactoferrina transportan al hierro para que éste no participe en las reacciones redox, la ceruloplasmina actúa removiendo los iones ferrosos en solución lo que reduce la cantidad de oxígeno del agua y por último la albúmina que tiene la capacidad de enlazar diferentes iones metálicos, absorbe el ácido hipocloroso y atrapa los radicales peroxilo.^{15,43}

III.6 Ejercicio físico

El ejercicio físico (EF) es una fuente endógena para la producción de RL. Éste es una categoría de la actividad física que implica la realización de movimientos corporales planificados, repetitivos y diseñados específicamente para estar en forma física y gozar de buena salud, se puede clasificar ya sea por su intensidad en leve, moderada y severo o exhaustivo.⁶³⁻⁶⁴ La Organización Mundial de la Salud (OMS) define a la salud como un estado de completo bienestar físico, mental y social; y no solamente como la ausencia de enfermedad.⁶⁵

El ejercicio puede ser aeróbico o anaeróbico de acuerdo al tipo de metabolismo muscular requerido para su práctica. Para realizar el ejercicio se requiere de energía llamada trifosfato de adenosina (ATP) que es continuamente resintetizada y obtenida por diferentes sistemas energéticos. La célula muscular puede recurrir a tres mecanismos para esta resintetizar del ATP: 1) del sistema de fosfatos, el cual utiliza la fosfocreatina que proporciona la energía necesaria para la contracción muscular inicial de la actividad y durante ejercicios explosivos breves y de elevada intensidad, su duración es de 6 a 10 s; 2) el sistema de ácido láctico-glicólisis, el cual ocupa el proceso de glucólisis anaeróbica proporcionando la energía suficiente para mantener una elevada intensidad de ejercicio desde pocos segundos hasta 1

min de duración y 3) el sistema de respiración aeróbica que utiliza la fosforilación oxidativa para producir una cantidad casi ilimitada de energía .

^{64,66} (Fig. III.6.1)

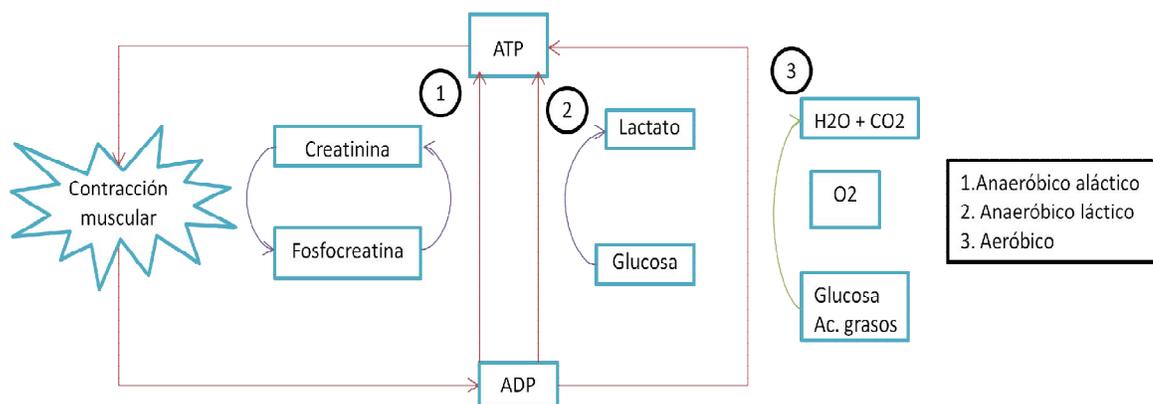


Fig.III.6.1 Sistema de producción de ATP en el músculo esquelético. Tomado de McArdle (2004)⁶⁶

Ante esto el EF es considerado como un factor preventivo para una serie de enfermedades coronarias, de la diabetes mellitus, obesidad, hipertensión, disminuye los síntomas de la depresión y ansiedad, además de que contribuye a mantener la funcionalidad de las articulaciones y evitar la osteoporosis; estos beneficios se observan cuando la intensidad es moderada creando así un mejoramiento en la calidad de vida. Aunque la mayor parte de los estudios realizados se han aplicado a los hombres de mediana edad, se ha confirmado que el papel del ejercicio como elemento de prevención también se da para las mujeres y personas mayores; estas enfermedades se creían parte del proceso de envejecimiento, pero esto no es así ya que los mecanismos de prevención no difieren con la edad ⁶⁷⁻⁶⁹.

Al considerarse que el EF es un estrés forzado al organismo, éste responde al proceso del síndrome de adaptación. La adaptación al EF crónico se da a largo plazo y de una forma habitual siendo más permanentes, dando como resultado un incremento en la capacidad funcional y el nivel de acondicionamiento, mejorando la habilidad del organismo para tener una

respuesta eficiente al siguiente periodo de ejercicio agudo. Al tener una adecuada carga de entrenamiento balanceada con el tiempo de realización, pueden surgir diferentes grados de adaptación que se pueden manifestar tanto a nivel central (corazón) como periférico (músculo).^{64,70}

La adaptación biológica es un proceso muy general por lo que una célula, un órgano, un organismo o un grupo de individuos se adaptan a un cambio en las condiciones ambientales y éstas se pueden dividir en:

- Adaptación circulatoria. Anteriormente se señaló que al realizar el ejercicio se necesita un mayor requerimiento de O₂ para suministrarle a los músculos y esto es posible gracias a que el corazón bombea más sangre por minuto, que desvía gran parte del torrente sanguíneo desde los tejidos menos activos hacia los músculos que se ejerciten.
- Adaptación metabólica. Además de necesitar el músculo O₂ también requiere de ATP, el consumo de éste es de 100 a 1000 veces superior al consumo de ATP del músculo en reposo y como se mencionó existen diferentes vías para la obtención de energía.
- Adaptación respiratoria. En un estado de reposo al ejercicio de intensidad máxima, el consumo de O₂ y ventilación pulmonar total aumenta unas 20 veces. La capacidad máxima es cerca del 50% mayor que la ventilación pulmonar real durante el ejercicio máximo, lo cual le brinda al deportista seguridad dándole ventilación adicional.
- Adaptación en la sangre. Durante los primeros momentos del ejercicio con frecuencia se presenta un aumento en el recuento de los glóbulos rojos (GR), cuando el ejercicio es agotador existe el incremento de la destrucción de los GR como consecuencia de compresiones capilares por la contracción muscular y el aumento de la velocidad del flujo sanguíneo, sobre todo en personas sedentarias. Asimismo, también

existe un aumento en los leucocitos, sobre todo hay mayor número de linfocitos, pero si el ejercicio se prolonga la elevación solo en neutrófilos.

- Adaptación del medio interno. El agua corporal total está determinada por el equilibrio entre el ingreso y pérdida de agua, los dos factores de regulación más importante para mantener este equilibrio es: la ingesta voluntaria de agua, controlada por la sensación de sed y la excreción de orina, regulada por la hormona antidiurética (ADH).⁶⁹⁻⁷⁰

De lo anterior se puede destacar que el efecto más importante del ejercicio sobre el cuerpo es el proceso de adaptación y una sola sesión de ejercicio tiene la capacidad de inducir la adaptación. Recordando la teoría del estrés original desarrollada por Selye, por un factor de estrés crónico el cuerpo responde con una disminución y luego con un aumento de la resistencia, que es seguido por el agotamiento del cuerpo. Por lo tanto los factores de estrés crónico pueden ser muy peligrosos, ya que el periodo de descanso, que es una condición para la recuperación y la respuesta de estrés eficiente no se encuentran. En un ejercicio de larga duración, como 18 a 24 horas consecutivas de correr o nadar, incluso en individuos completamente entrenados, el organismo puede sufrir un grave agotamiento que podría poner en peligro la salud de los individuos.⁷¹

III.6.1 Ejercicio, hormesis y EOX

La mitocondria es la principal fuente de ERO's durante el ejercicio, en función de la intensidad, duración y el tipo de contracción muscular que se presenta; así como las condiciones ambientales (dieta, temperatura, presión de oxígeno, etc.) se lleva a potenciar la generación de ERO's y determinar un fallo en los mecanismos que ayudan a contrarrestar su formación, trayendo como consecuencia el EOX.^{41,71} Existe controversia entre la intensidad y cantidad de ejercicio que pueda resultar benéfico ya que se ha señalado que al ser extenuante promueve el incremento de la generación de RL, debido al

gran consumo de oxígeno que se necesita y favorece el EOx; mientras que respecto al EF regular se propone que tiene efectos benéficos ya que aumenta la actividad de los AOx, así como de los sistemas de reparación.^{41,55,72}

Actualmente se ha relacionado la formación de RL con la teoría de la hormesis, en este sentido Calabrese y Baldwin (2002) definieron la hormesis como fenómeno biológico a una respuesta adaptativa caracterizada por una curva dosis-respuesta bifásica resultante de efectos estimulantes, ya sea por estímulo directo o como resultado de procesos biológicos compensatorios, seguido de una ruptura en la homeostasis del organismo; por lo que la exposición a dosis bajas de un agente químico o factor ambiental que esté dañando a dosis más altas provoca un efecto beneficioso sobre la adaptación de la célula u organismo.⁷³⁻⁷⁴ Cuando la producción de ERO's supera la capacidad de la célula para adaptarse a través de la hormesis, existe una crisis en la cual la célula se dirige ya sea hacia la apoptosis o a una muerte celular.⁷⁵⁻⁷⁷ (Fig. III.6.1.1)

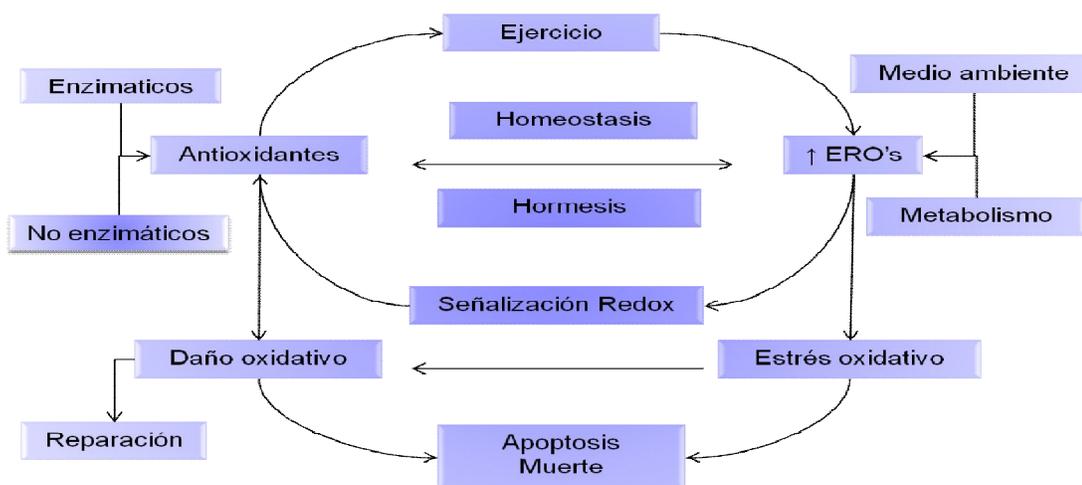


Fig. III.6.1.1 Efecto de la hormesis inducida por el ejercicio en la adaptación y supervivencia celular. Tomado de Ji (2008)⁷⁵

Por lo anterior podemos resaltar que el ejercicio físico de resistencia y de intensidad moderada provoca adaptaciones, ayudando a disminuir el riesgo

de desarrollar enfermedades, por lo que podemos decir que se tiene un efecto protector, incluso en personas de edades avanzadas.^{55,71} Por otro lado, el sobre-entrenamiento aumenta el riesgo de enfermedades ya que el proceso de adaptación en este periodo falla y es debido a la recuperación incompleta de las series de ejercicios, teniendo como resultado la falta de adaptación. Recordemos que la morfología y la función muscular se va deteriorando a medida que avanza la edad, por lo que el músculo esquelético en viejos se vuelve un blanco fácil al daño producido por el EF, recuperándose más lentamente.^{71, 78-79}

Algunos estudios han observado que las mitocondrias de músculos viejos producen más RL debido a los cambios estructurales que hay en la cadena de transporte electrónico, esto se explica que en los animales viejos no pueden alcanzar una intensidad suficiente de ejercicio que pueda provocar la misma producción de RL que los animales jóvenes.⁸⁰⁻⁸²

A continuación se presenta una revisión sistemática de algunos estudios realizados sobre el ejercicio físico y su relación con el daño al ADN.

Cuadro III.1. Estudios referentes al ejercicio físico y daño al ADN

Autor - año	Universo de estudio	Objetivos	Frecuencia y tiempo de intervención	Marcadores medidos	Hallazgos
Nakamoto et al., 2007 ⁸³	Ratas macho con edad de 11 meses (adultos jóvenes) y 21 meses (viejos)	Explorar los efectos del ejercicio regular sobre el estado oxidativo del ADN en animales de edad avanzada.	Se sometieron a todas las ratas a una caminata 1 vez al día por 10-20 min a 5-7m/min por 5 días. Los grupos control siguieron la rutina y el grupo de ejercicio corrió 10.8 m/min por 30-40 min por día y aumentaron gradualmente hasta llegar a los 90 min por día a 14-15m/min. Esto se realizó 5 veces a la semana por 8 semanas.	ADN mitocondrial, ADN nuclear y OGG1	Se demuestra que a los 2 meses de trotar las ratas viejas redujeron significativamente el contenido de 8-oxodG comparado con los adultos jóvenes tanto en el ADN nuclear como en el mitocondrial. El ADN mitocondrial mostró 10 veces mayor contenido de lesiones que el ADN nuclear. La actividad de la enzima de reparación OGG1 se reguló de manera significativa en el núcleo, pero no en las mitocondrias por el ejercicio.
Sardas et al., 2012 ⁸⁴	Varones remeros competitivos (n=12) y estudiantes de educación física (n=11)	Investigar si el ejercicio induce al daño oxidativo del ADN y el posible efecto protector de los suplementos de vitamina E.	Los remeros tienen actividades deportivas recreativas de más de 3 a 3.5 horas/día, 10 veces a la semana. Los de educación física eran moderadamente activos físicamente 1 hora/día, 2 veces por semana. Todos recibieron una dosis diaria de 400 UI de Vitamina E por 60 días	ADN	El porcentaje de daño al ADN en los remeros es superior a los estudiantes de educación física. Se observó una disminución significativa en el daño del ADN al utilizar los suplementos en comparación con sus evaluaciones iniciales.
Tanimura et al., 2010 ⁸⁵	Jóvenes varones, 8 no entrenados y 8 entrenados	Examinar los efectos de 3 días consecutivos de 1 hora de ejercicio de alta intensidad	Los sujetos se ejercitaron en una bicicleta ergométrica al 75% de su VO ₂ máximo, durante 1 hora por tres días consecutivos.	Recuento de linfocitos, daño del ADN y marcadores de apoptosis	Tres días consecutivos de ejercicio de 1 h hay disminución de linfocitos con un aumento de daño al ADN en jóvenes no entrenados. En los jóvenes entrenados se mantuvo sin cambios los linfocitos independientemente del aumento al daño oxidativo del ADN.
Ogonovszky et al., 2005 ⁸⁶	24 ratas Wistar de 20 meses	Probar si el entrenamiento moderado, intenso o el sobreentrenamiento causan estrés oxidativo	Control: moderadamente entrenados (1h de natación/día, 5 días a la semana durante 8 semanas), enérgicamente entrenados (nadar con aumento de 30 min cada semana hasta llegar a 4.5 horas la última semana) y sobre entrenamiento (1h de natación/día, 5 días a la semana durante 6 semanas donde se aumenta abruptamente a 4.5h para el resto de las 2 semanas)	AOx, LIPO, oxidación de proteínas, daño en el ADN o actividad de la 8-oxo-DNA glicosilasa (OGG1) en hígado de rata.	Los cambios en los niveles de peroxidación lipídica no fueron significativos, pero fueron menores en los grupos de ejercicio. El nivel de 8-OHdG aumentó en el grupo de sobreentrenamiento y la actividad de OGG1 tendió aumentar los de ejercicio moderados e intenso

Continuación

Tsai et al., 2001 ⁸⁷	14 corredores varones (20 a 24 años) y 20 hombres sedentarios sanos (20 a 22 años) fueron control	Evaluar el daño oxidativo del ADN en las células mononucleares de sangre periférica (CMSP)	Carrera maratón de 42 Km (tiempo de ejecución 03h:01min)	Daño al ADN, 8-OHdG	Se observó que con el ejercicio aeróbico existe un alto grado de oxidación de bases de ADN no reparados y un aumento en la excreción urinaria de 8-OHdG. Esto se correlaciono significativamente con los niveles plasmáticos de creatinina quinasa.
Radák et al., 2002 ⁸⁸	Ratas adultas de 18 y de 28 meses	Investigar si el ejercicio físico regular retarda un número de trastornos asociados con la edad, a pesar de la paradoja de que la generación de RL disminuye de forma significativa con el ejercicio	Caminata en cinta ergométrica (6.8m/min, 10 min/día) durante 5 días. Para los grupos de ejercicio tanto de viejos como de adultos entrenaron 8 semanas, mientras que los grupos control en jóvenes fue de 1 vez por semana durante 10 min en adultos 8 m/ min y en viejos 6m/min	ADN nucleas, 8-OHdG, actividad de proteosoma	El contenido de 8-OHdG de ADN nuclear aumentó como una función de la edad en el músculo esquelético de los animales control, los animales con entrenamiento se observó significativamente atenuado este aumento asociado con la edad. La cantidad de proteosoma no cambio significativamente.
Mastaloudis et al., 2004 ⁸⁹	21 corredores	Determinar si 6 semanas de suplementación con antioxidantes puede reducir el daño inducido por el ejercicio de ADN.	Ultramaratón de 50 kilómetros	Daño al ADN	El porcentaje del daño al ADN aumentó significativamente en seguida de la carrera, pero volvió a la línea base por 2 horas después de la carrera.
Radák et al., 1999 ⁹⁰	12 ratas macho, jóvenes (4 a 12 semanas) y de mediana edad (14 meses)	Se investigó los efectos del entrenamiento de la natación a largo plazo en el estado de oxidación	Fueron expuestas a nadar 5 veces a la semana durante 9 semanas. Durante 6 semanas nadaron 60 min y luego se aumentó a 90 min las 3 semanas restantes	Fosfolípidos, proteínas y ADN	Los datos de la peroxidación de lípidos no fueron significativamente diferentes entre grupos. El contenido de 8-OHdG de ratas ejercitadas fueron significativamente menor que en los grupos de control de edades similares.

Continuación

Moller et al., 2001 ⁹¹	12 sujetos sanos (5 mujeres y 7 hombres) con edades promedio de 26 años	Se investigó el efecto de una sola sesión de ejercicio exhaustivo sobre la generación de rupturas de cadenas de ADN y daño oxidativo del ADN en condiciones normales y en la hipoxia de altura (4559m para 3 días)	Se inició con 5 min a un 50% de VO ₂ máx. a nivel del mar en un cicloergómetro y se incrementó 40 vatios cada 90 s hasta el agotamiento. Se realizó el estudio tanto a nivel del mar como a gran altitud.	Daño al ADN, 8-oxodG, ENDO III y Formamidipiridina glicosilasa (FPG)	El nivel de fragmentación de ADN aumento después del ejercicio en la hipoxia de altitud, a nivel de mar no se observó estas roturas del ADN. En ambos ambientes, el nivel de FPG y sitios de ENDO III se mantuvieron sin cambios inmediatamente después del ejercicio.
Hartmann et al., 1994 ⁹²	3 voluntarios	Utilizar el ensayo cometa para estudiar las células de sangre periférica de tres voluntarios después de la actividad física.	En una primera prueba corrieron el mayor tiempo posible con velocidad creciente; en la segunda etapa corrieron por 45 min con velocidad fija.	Creatinina cinasa, lactato y daño al ADN	Después de la primera prueba se observó un incremento de la migración del daño al ADN que después de 72 horas ésta migración se redujo. En la segunda etapa no se observó la migración del daño del ADN.
Reichhlod et al., 2008 ⁹³	20 triatletas masculinos.	Investigar el efecto de un triatlón, como prototipo de ultra-resistencia al ejercicio, en la estabilidad del ADN.	3.8 km de natación, 180 km en bicicleta y 42 km de carrera	Micronúcleos, puentes nucleoplasmicos y brotes nucleares	En general los micronúcleos disminuyeron significativamente después del triatlón; la frecuencia de los puentes y brotes no cambiaron. La frecuencia de los brotes nucleares aumentó después del triatlón, después del 6 día disminuyeron los niveles siendo estos cambios significativos
Gröger et al., 2008 ⁹⁴	37 sujetos, comprendidos en nadadores de combate (n=6), buceadores (n=13), atletas navales pentatlón (n=6) y controles (n=12)	Comprobar que a largo plazo de la exposición repetida a oxígeno hiperbárico (OHB) modifica el grado de daño al ADN.	Los controles y los atletas navales de pentatlón no tiene experiencia de buceo; los nadadores tiene 101 h con O ₂ puro durante 11 meses y los buceadores 12.5 h con O ₂ enriquecido con mezcla de gas, 7.5 h de O ₂ de más 8 años de experiencia.	SOD, GPX, CAT, GSH, GSSG y ADN	Tras la exposición de OHB hay un incremento tanto en el nivel de daño en el ADN así como la producción de O ₂ ^{•-} en linfocitos siendo significativa en los nadadores de combate. Sin embargo en todos los grupos el daño fue eliminado por completo a la hora. No hay modificación en la CAT.

Continuación

Siu et al., 2011 ⁹⁵	40 ratas adultas jóvenes	Examinar los efectos de las 8 y 20 semanas de ejercicio habitual voluntaria en la susceptibilidad de los linfocitos al daño del ADN inducido por oxidantes, las actividades de enzimas antioxidantes en el músculo esquelético y cardíaco, y el perfil antioxidante circulatorio.	El grupo de ejercicio fueron sometidas a 24 horas todos los días de libre acceso a una rueda para correr en la jaula. Grupo control	SOD, GPX y ADN	No se observaron diferencia significativa en CAT entre los animales ejercitados y los controles; la SOD fue significativamente elevado en los animales ejercitados, la GPx se reguló de manera significativa en relación con los controles. El daño al ADN se redujo en los animales ejercitados en comparación con el grupo control.
Niess et al., 1996 ⁹⁶	11 sujetos (6 entrenados y 5 no entrenados)	Comparar la frecuencia de daños en el ADN de sangre periférica de células blancas en hombres entrenados y no entrenados después de un ejercicio exhaustivo.	Prueba de esfuerzo incremental hasta el agotamiento	ADN, MDA	Un aumento significativo de la migración de ADN 24 horas después del ejercicio en ambos grupos pero es mayor en los no entrenados. Los niveles de MDA no fueron significativamente superiores después del ejercicio.
Hartmann et al., 1998 ⁹⁷	3 hombres y 3 mujeres de 21-33 años	Examinar los efectos de un triatlón de corta distancia.	15 km de natación, 40 km de ciclismo y 10 km de carrera	ADN de leucocitos, ADN oxidasa y micronúcleos	La migración del ADN se encontró elevada 24 horas después del ejercicio, mientras que los valores más bajos se detectaron a las 48 horas después. No se encontraron diferencias en la frecuencia de micronúcleos en los linfocitos antes o 48 y 96 horas después del ejercicio.
Niess et al., 1998 ⁹⁸	12 hombres	Investigar si el ejercicio de resistencia intensa es capaz de inducir daño en el ADN.	Entrenamiento regular, medio maratón de 21.1 km en 93 min	Creatinina cinasa y leucocitos.	Los linfocitos aumentaron 1 hora después del medio maratón y se recuperaron a las 24 horas. El daño al ADN se elevo significativamente 1 día después de medio maratón.

IV. Planteamiento del problema

El estrés oxidativo (EOx) ha sido vinculado con la fisiopatología de diversas enfermedades crónico degenerativas, tales como aterosclerosis, diabetes mellitus, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, artritis reumatoide y algunos tipos de cáncer, así como en el proceso de envejecimiento. Por tal motivo, se ha propuesto que el adoptar un estilo de vida saludable incluyendo una dieta rica en frutas y verduras con alto contenido en antioxidantes y ejercicio físico moderado podría prevenir o controlar el EOx durante la vejez.

En este sentido, cuando se realiza ejercicio con intensidad moderada y de forma regular se promueve un cambio positivo en el metabolismo que induce un efecto antioxidante provocado por un mecanismo adaptativo denominado hormesis. Al respecto la caminata puede ser una modalidad de ejercicio moderado con un posible efecto antioxidante, que puede observarse en la reducción de daño al ADN. Sin embargo, este aspecto no ha sido demostrado en adultos mayores ni se ha comparado con adultos jóvenes de ahí la importancia del presente estudio y, por lo cual se plantea la siguiente pregunta de investigación:

¿Cuál será el efecto del ejercicio físico exhaustivo y moderado sobre el daño oxidativo y capacidad de reparación del ADN en jóvenes vs. adultos mayores sanos?

V. Hipótesis

Considerando que el consumo excesivo de oxígeno propiciado por el ejercicio físico exhaustivo aumenta el estrés oxidativo, el cual se incrementa con el envejecimiento, suponemos que la práctica aislada del mismo, propiciará un incremento significativo mayor de daño oxidativo al ADN en los ancianos aunado a una menor capacidad de reparación del ADN en comparación con los jóvenes.

Tomando en cuenta que el daño oxidativo al ADN secundario a la exposición de ejercicio físico moderado disminuye gradualmente con la práctica periódica por más de tres meses independientemente de la edad, suponemos que la capacidad de reparación del daño al ADN será similar entre los adultos mayores y jóvenes después de la práctica de ejercicio físico moderado por seis meses.

VI. Objetivo

Determinar el efecto de la exposición al ejercicio físico exhaustivo sobre el daño del ADN y su capacidad de reparación en jóvenes vs. adultos mayores sanos.

Evaluar la eficiencia de la realización al ejercicio físico moderado sobre el daño del ADN y su capacidad de reparación en jóvenes vs. adultos mayores sanos.

VII. Material y método

VII.1 Tipo de estudio y universo de estudio

Se llevó a cabo un estudio cuasi-experimental, con una población de 30 jóvenes sanos con residencia en la Ciudad de México y 30 adultos mayores sanos con residencia en Texcoco, Estado de México, divididos en los siguientes grupos:

- I) Jóvenes: Practica de ejercicio exhaustivo (n=28)
Practica de ejercicio moderado (n=12).
- II) Adultos mayores: Practica de ejercicio exhaustivo (n=29)
Practica de ejercicio moderado (n=13).

VII.1.1 Criterios de inclusión

- Personas que deseen participar en el estudio
- Jóvenes de ambos sexos clínicamente sanos entre 18 a 25 años
- Adultos mayores de ambos sexos clínicamente sanos entre 60 a 69 años
- Sin el hábito de fumar o que consuman menos de 2 cigarrillos a la semana

VII.1.2 Criterios de exclusión

- Personas que presente cualquier tipo de enfermedad crónico degenerativa.

VII.2 Variables

VII.2.1 Clasificación

Dependiente

- Daño al ADN y capacidad de reparación

Independientes

- Ejercicio físico: exhaustivo y moderado
- Edad

Intervinientes

- Sexo

VII.2.2 Operacionalización

VARIABLE	DEFINICIÓN	NIVEL DE MEDICIÓN	CATEGORÍA
Daño al ADN	Ruptura de la cadena doble o sencilla del ADN, en los linfocitos de sangre periférica.	Cuantitativa continua	Micrómetros
Capacidad de reparación	Proceso biológico para corregir daños hechos al ADN que codifican el genoma.	Cuantitativa discreta	Tiempo (0, 15, 45 y 90min)
Ejercicio físico	Movimientos corporales planeados, estructurados y repetitivos para mejorar o mantener las cualidades biomotoras, para un mejoramiento del organismo.	Cualitativa nominal	Exhaustivo Moderado
Edad	Tiempo transcurrido a partir del nacimiento hasta el momento del estudio.	Cuantitativa discreta	Años cumplidos
Sexo	Características fenotípicas que distinguen a la persona.	Cualitativa nominal	Hombre Mujer

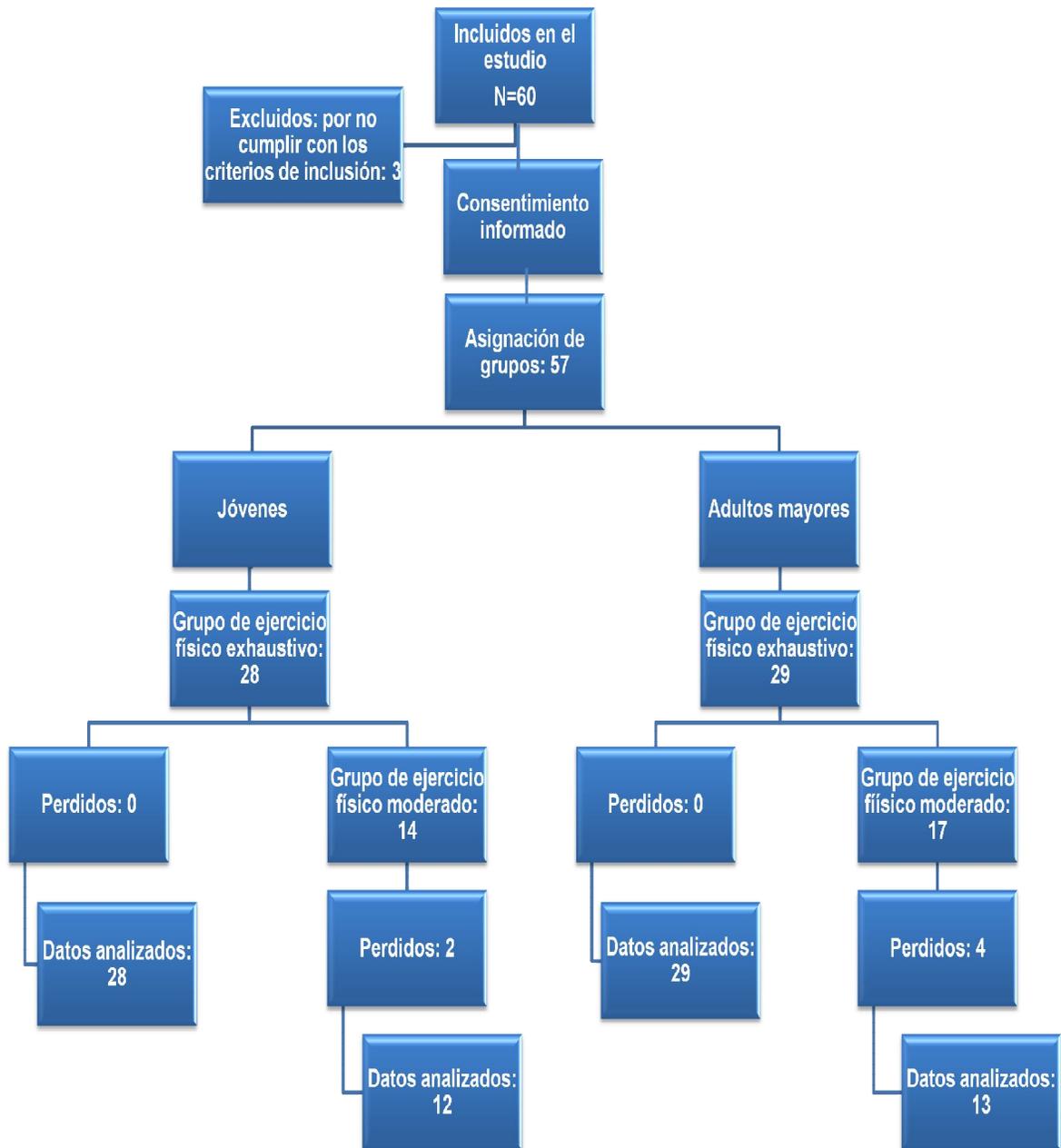


Figura VII.2.1. Diagrama de seguimiento de pacientes durante el estudio

VII.3 Metodología

VII.3.1 Realización de ejercicio

Una vez seleccionados a los participantes tanto jóvenes como adultos mayores se expusieron a una caminata de 5 Km o 90min (ejercicio exhaustivo). De estos sujetos algunos fueron sometidos a un programa de caminata (ejercicio moderado) de 1 horas diaria durante 5 días a la semana por 6 meses.

VII.3.2 Toma de muestras sanguíneas

Previo consentimiento informado, se tomaron tres muestras sanguíneas a diferentes tiempos a todos los pacientes (basal, a las dos horas y a las 24 horas) antes y después de la intervención, tanto del ejercicio exhaustivo como de ejercicio físico moderado a largo plazo. Las muestras fueron obtenidas por venopunción, utilizando tubos Vacutainer sin anticoagulante (rojo) para la química sanguínea, con EDTA (lila) para la biometría hemática y con heparina (verde) para el daño al ADN.

Una primera muestra sanguínea se tomó antes de realizar el ejercicio entre 7-9 am con un ayuno de 8 horas. Dos horas después del ejercicio exhaustivo, se tomó una segunda muestra. Veinticuatro horas después de realizar el ejercicio se les tomó una tercera muestra, en las mismas condiciones que se requieren para la primera muestra. A quienes participaron en el programa de ejercicio moderado a los 6 meses nuevamente se tomaron muestras sanguíneas siguiendo el mismo procedimiento.

VII.3.3 Pruebas Bioquímicas de Rutina

La biometría hemática se realizó en un equipo automatizado Celly 70. Los parámetros bioquímicos de rutina se determinaron en suero por métodos colorimétricos con reactivos comerciales en un equipo automatizado Selectra Jr.

Glucosa

Se empleó el estuche comercial para la determinación de glucosa (método de la glucosa-oxidasa, Randox GL 2614). La glucosa se determinó colorimétricamente después de una oxidación enzimática en presencia de glucosa oxidasa. Tanto la muestra como el patrón se mezclan e incuban durante 10 min. A 15-25°C y se leyó la absorbancia a 500nm frente al 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, CH 201). El colesterol se determinó colorimétricamente después de hidrólisis enzimática y oxidación. El blanco, patrón y muestra se agitó e incubó con el reactivo de color 10 min. de 20 a 25°C o 5 min a 37°C, y se midió la absorbancia a 546 nm antes de 60min.

Triglicéridos

Se empleó el estuche comercial para la determinación de triglicéridos Randox GPO-PAP (Randox Laboratories Ltd, UK, TR212): Los triglicéridos se determinaron tras la hidrólisis enzimática con lipasas. El blanco, patrón y muestra se agitaron e incubaron con el reactivo de color de 10 a 15 min. a 20-25°C o 5 min. a 37°C, y se midió la absorbancia a 500 nm antes de 60min.

HDL-Colesterol

Se empleó el reactivo precipitante-colesterol catálogo Ch204 (paquete suplementario para colesterol CHOD-PAP) (Randox Laboratories Ltd, UK). La determinación se fundamenta en que las lipoproteínas de baja densidad (LDL), muy baja densidad (VLDL) y las fracciones de quilomicrones se precipitan cuantitativamente al añadir ácido fosfotúngstico en presencia de Mg^{2+} , se tomó el sobrenadante y de éste se determinó la fracción de HDL posteriormente por el método enzimático de punto final para colesterol total.

Urea

Se empleó el estuche comercial para la determinación de urea (Randox Laboratories Ltd, UK UR107). El método utilizado es ureasa-Berthelot modificado. Los iones amonio producidos por acción enzimática reaccionan con salicilato e hipoclorito sódico para formar un complejo verde que se leyó a 600nm. Las muestras y el patrón se mezclaron con ureasa por 5 min. A 25°C y posteriormente con hipoclorito sódico, se leyó contra el blanco de reactivo tras incubar 10 min.

Ácido úrico

Se empleó el estuche comercial para la determinación de ácido úrico. El método enzimático colorimétrico (Randox Laboratories Ltd, UK, UA 230). 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 leyó a 520 nm. La muestra y el patrón se mezclaron e incubaron con el reactivo de color durante 15 min. A 25°C y se midió la absorbancia frente al blanco de reactivo.

Creatinina

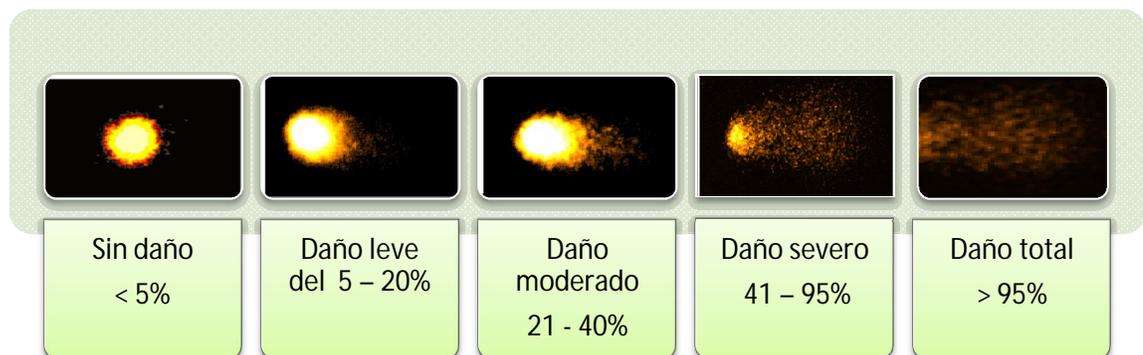
Se empleó el estuche comercial para la determinación de creatinina método colorimétrico (Randox Laboratories Ltd, UK, CR510). La creatinina en solución alcalina reacciona con ácido pícrico para formar un complejo coloreado, en cantidad proporcional a la concentración de creatinina. Las muestras y el patrón se mezclaron con el reactivo de color y se leyó la absorbancia A_1 al cabo de 30 segundos y exactamente después de 2 min. Se leyó la absorbancia A_2 , se obtuvo la diferencia y se calculó comparándolo con el estándar.

VII.3.4 Electroforesis unicelular alcalina o ensayo cometa

- ❖ Preparación de microplacas: se prepararon laminillas en portaobjetos esmerilados a los cuales se les colocó una capa de 120µl de agarosa regular (0.75% disuelta en PBS libre de Ca^{+2} y Mg^{+2}), se dejó hasta que solidifiquen.
- ❖ Preparación de muestras control: Se tomaron 20µl de cada muestra de sangre y se mezclaron con 150µl de agarosa de bajo punto de fusión (0.5% disuelta en PBS libre de Ca^{+2} y Mg^{+2}) en un tubo eppendorf, tomar 75µl y colocarlos sobre los portaobjetos preparados con la capa anterior, una vez solidificada la mezcla se agregó otra capa de 75µl de agarosa de bajo punto de fusión.
- ❖ Preparación de muestras para evaluar el daño del ADN: Se tomaron 20µl de muestra sanguínea, 930µl de medio RPMI-1640 y 50µl de H_2O_2 en un tubo eppendorf, colocar por 20 min en un baño frío posteriormente centrifugar 2500 rpm por 3 min, decantar el H_2O_2 y agregar 200µl de medio RPMI-1640.
- ❖ Cinética de reparación: De la mezcla anterior se tomaron 4 tubos eppendorf por paciente, el primero tubo sólo se le produjo el daño por lo que al quitarle el H_2O_2 se montaron en las placas, a los demás tubos se introdujeron a un baño metabólico a 37°C por 15, 45 y 90 min al término de cada tiempo se centrifugaron a 2500 rpm por 3 min. Se repitió el procedimiento como en la preparación de las muestras control.
- ❖ Lisis de células: Finalmente las laminillas se sumergieron en solución fresca de lisis fría (1% lauril sarcosianato de sodio, 2.5M NaCl, 100mM Na_2 EDTA, 10mM Tris-HCl pH 10, 1% tritón X-100 y 10% DMSO se añadirán a la solución recién preparada) y se colocó a 4°C por lo menos una hora, protegidas de la luz.

- ❖ **Electroforesis:** Posteriormente las laminillas se colocaron en una cámara de electroforesis, la cual contiene un amortiguador pH 13 (1mM Na₂ EDTA, 300mM NaOH) que cubría totalmente las laminillas permitiendo que el ADN se desenrollara por 20 minutos, después se ajusta la fuente de poder a 25 volts y 300 miliampers para efectuar la electroforesis por 20 minutos (es importante señalar que los pasos anteriores se realizaron protegidos de la luz). Una vez apagada la fuente de poder se retiraron cuidadosamente las laminillas de la cámara de electroforesis y se lavaron tres veces con amortiguador de neutralización (0.4 M Tris-HCl, pH 7.5) durante 5 minutos. Se escurrieron las laminillas del exceso de amortiguador, se colocaron por 5 minutos en metanol absoluto y se dejaron secar al aire.
- ❖ **Evaluación de daño del ADN:** Posteriormente se tiñeron con 50µl de bromuro de etidio 1x (1mL de “stock” 10x [1mg/10mL] con 9mL de H₂O) cubriendo cuidadosamente con un cubreobjetos, para su observación al microscopio de fluorescencia. Las laminillas se observaron al microscopio de fluorescencia Nikon Optiphot-2 microscope (Nikon, Japan) con un filtro de excitación de 515-560nm utilizando un aumento de 40X. Finalmente con un ocular graduado y calibrado, se midió el diámetro del núcleo y la longitud de la estela del cometa de 100 células.

La migración se calculó como la diferencia entre la longitud de las estelas de los cometas y el diámetro del núcleo. Criterios de evaluación



Así mismo, para el análisis del daño se calcularon deltas (Δ 's) de los promedios de los núcleos de las células, obteniéndose entre la medición basal menos la medición final (2 y 24 horas) y para la cinética de reparación el tiempo cero menos el tiempo 45 y 90 para cada toma (basal, 2 y 24 horas).

VII.4 Análisis estadístico

Los datos fueron analizados utilizando medidas descriptivas de los datos cuantitativos el media (MD), intervalo de confianza (IC) y deltas (Δ 's), para las comparaciones se realizaron las siguientes pruebas: t pareada, U de Mann-Whitney y Wilcoxon con una $p < 0.05$ (95% de confianza). Para realizar los cálculos se empleó el programa estadístico SPSS versión 15.0.

VIII. Resultados

VIII.1 Parámetros bioquímicos y hematológicos

En el cuadro VIII.1 se muestran la media y desviación estándar (DE) de los parámetros bioquímicos y hematológicos, clasificada en jóvenes y adultos mayores a su vez dividida en la toma basal y a los 6 meses de haber realizado un ejercicio físico moderado. En los adultos mayores después de la intervención los niveles de colesterol y triglicéridos existe una disminución estadísticamente significativa ($p < 0.05$).

VIII.2 Daño oxidativo al ADN en grupos con ejercicio exhaustivo

Los resultados obtenidos mostraron que tanto en los jóvenes como en los adultos mayores (Cuadro VIII.2), el daño al ADN en estado basal es semejante antes de la exposición al EFE, a las 2 horas de realizar el EFE se observó un incremento en el daño al ADN en los jóvenes, mientras que en los adultos mayores el daño se mantiene. Asimismo, a las 24h de realizado el EFE se observa un aumento significativo en el daño en ambos grupos, siendo éste daño mayor en los jóvenes en comparación con los adultos mayores. (Fig. VIII.1)

VIII.3 Cinética de reparación en grupos con ejercicio exhaustivo

En la cinética de reparación en los jóvenes en el estado de reposos se observó una disminución del daño al ADN a los 90 min de reparación con respecto a los 0 min. A las 2 horas después de realizar el EFE se presenta una mayor disminución del daño al ADN a los 90 min con respecto a los 0 min y al estado en reposo, mientras que a las 24 hora después de la práctica del EFE se sigue observando la disminución del daño al ADN, aunque estos cambios no son significativos.

En los adultos mayores se presenta una disminución no significativa en el diámetro de las células a los 90 min con respecto a los 0 min en el estado de reposo, a las 2 y 24 horas, siendo menor la reparación comparado con los jóvenes. (Cuadro VIII.3 y Fig. VIII.2)

VIII.4 Daño oxidativo al ADN en grupos con ejercicio moderado

Se puede observar que en la cinética basal de los jóvenes a las 2 horas de la práctica del EFE, hay un aumento en el daño al ADN con respecto al reposo, mientras que a las 24 horas de practicar el EFE tenemos incremento mayor de este daño con respecto al reposo. Después de una intervención de 6 meses de EF moderado, a las 2 horas de exponerse al EFE existe un aumento en el daño al ADN con respecto al reposo, mientras que a las 24 horas de practicar el EFE tenemos una disminución con respecto al reposo y siendo significativa comparado con la basal.

Con respecto a los adultos mayores en su cinética basal se observa las 2 horas una disminución en el diámetro de la célula después de la práctica del EFE, siendo aun menor este diámetro a las 24 horas tras la práctica del EFE con respecto al reposo. Seis meses después de la intervención del EF moderado, la disminución del diámetro de la célula fue progresiva a las 2 y 24 horas después de la realización del EFE con respecto al reposo, pero siendo significativo a las 24 horas comparado con la basal. (Cuadro VIII.4 y Fig. VIII.3)

VIII.3 Cinética de reparación en grupos con ejercicio moderado

En la cinética de reparación, observamos que los jóvenes en el reposo a los 90 min de reparación hay un aumento en el daño al ADN con respecto a los 0 min, mientras que a las 2 horas tras la EFE disminuye el diámetro de la célula a los 90 min de reparación con respecto a los 0 min y a las 24 horas de la práctica del EFE también hay una disminución del diámetro sin ser significativos. Después de 6 meses de realizar EF modera, en reposo se presenta de igual manera un incremento en el daño al ADN a los 90 min de reparación con respecto a los 0 min, a las 2 horas en seguida de la práctica de EFE tenemos una disminución del diámetro de la célula a los 90 min de reparación con respecto a los 0 min y a las 24 horas se presenta un pequeño

aumento del daño al ADN a los 90 min con respecto a los 0 min, sin ser estos cambios significativos.

Los adultos mayores en su promedio de migración basal cuando están en reposo hay un aumento en el daño al ADN a los 90 min reparación con respecto a los 0 min, dos horas después de la exposición del EFE se presenta una disminución el diámetro de la célula a los 90 min de reparación respecto a los 0 min, asimismo a las 24 horas tras la práctica del EFE tenemos un pequeño aumento a los 90 min de reparación con respecto a los 0 min en el daño al ADN sin ser estos cambios significativos. Posteriormente de la realización de EF moderado por 6 meses observamos un aumento en el daño al ADN a los 90 min reparación con respecto a los 0 min, a las 2 horas de realizar EFE se presenta una disminución a los 90 min de reparación con respecto a los 0 min, al igual que las 24 horas se presenta esta disminución, sin ser estos cambios significativos. (Cuadro VIII.5 y Fig. VIII.4)

Cuadro VIII.1: Parámetros bioquímicos y hematológicos

Parámetros	Jóvenes n=11		Adultos mayores n=12	
	Basal	6 meses	Basal	6 meses
Hemoglobina (g/dL)	16.04 ± 1.32	15.40 ± 1.31	15.40 ± 1.40	14.70 ± 2.14
Hematocrito (%)	49.151 ± 5.11	52.51 ± 4.32	46.49 ± 4.71	46.45 ± 6.45
Leucocitos (x10 ³ /mm ³)	5.53 ± 1.17	6.11 ± 1.93	6.70 ± 1.22	6.26 ± 1.41
Eritrocitos (x10 ⁶ /mm ³)	5.79 ± 0.86	5.97 ± 0.52	5.32 ± 0.54	4.87 ± 0.83
Glucosa (mg/mL)	92.45 ± 7.94	92.64 ± 9.47	126 ± 36	120 ± 16
Creatinina (mg/mL)	0.84 ± 0.12	0.73 ± 0.18	1.19 ± 1.21	0.88 ± 0.21
Ácido úrico (mg/dL)	4.24 ± 1.38	4.68 ± 1.76	4.92 ± 0.71	5.18 ± 1.07
Colesterol (mg/mL)	196 ± 51	188 ± 31	211 ± 38	180 ± 36*
Triglicéridos (mg/mL)	100 ± 45	139 ± 87	193 ± 82	133 ± 56*
HDL (mg/dL)	59 ± 20	65 ± 20	49 ± 13	52 ± 13
Albúmina (mg/mL)	4.77 ± 0.40	4.78 ± 0.29	4.42 ± 0.26	4.49 ± 0.32
PCR (mg/L)	0.04 ± 0.11	0.17 ± 0.27	0.34 ± 0.28	0.30 ± 0.30

Se presentan los datos en medias ± DE. Prueba t pareada, con p<0.05. *Adultos mayores basal vs 6 meses en el colesterol y triglicéridos. HDL: lipoproteína de alta densidad, PCR: proteína C reactiva.

Cuadro VIII.2: Migración de daño al ADN en jóvenes vs adultos mayores basal, 2 horas y 24 horas tras la exposición de un ejercicio físico exhaustivo (EFE)

	Jóvenes n=23		Adultos mayores n=26	
	MD	IC	MD	IC
Basal	17.72	16.3 – 19.0	16.55	15.9 – 18.5
2 horas	19.93 (+2.21)	17.0 – 21.2	16.50* (-0.05)	15.7 – 18.4
24 horas	22.03 (+4.31)	18.1 – 25.3	18.26* (+1.71)	16.3 – 20.4

Se presentan los datos en mediana (MD) e Intervalo de Confianza (IC al 95%) y entre paréntesis se presenta la diferencia observada entre la medición basal menos la medición final (2 y 24 horas). *Prueba U de Mann-Whitney $p < 0.05$. Jóvenes vs. adultos mayores a las 2 horas y 24 horas después del EFE.

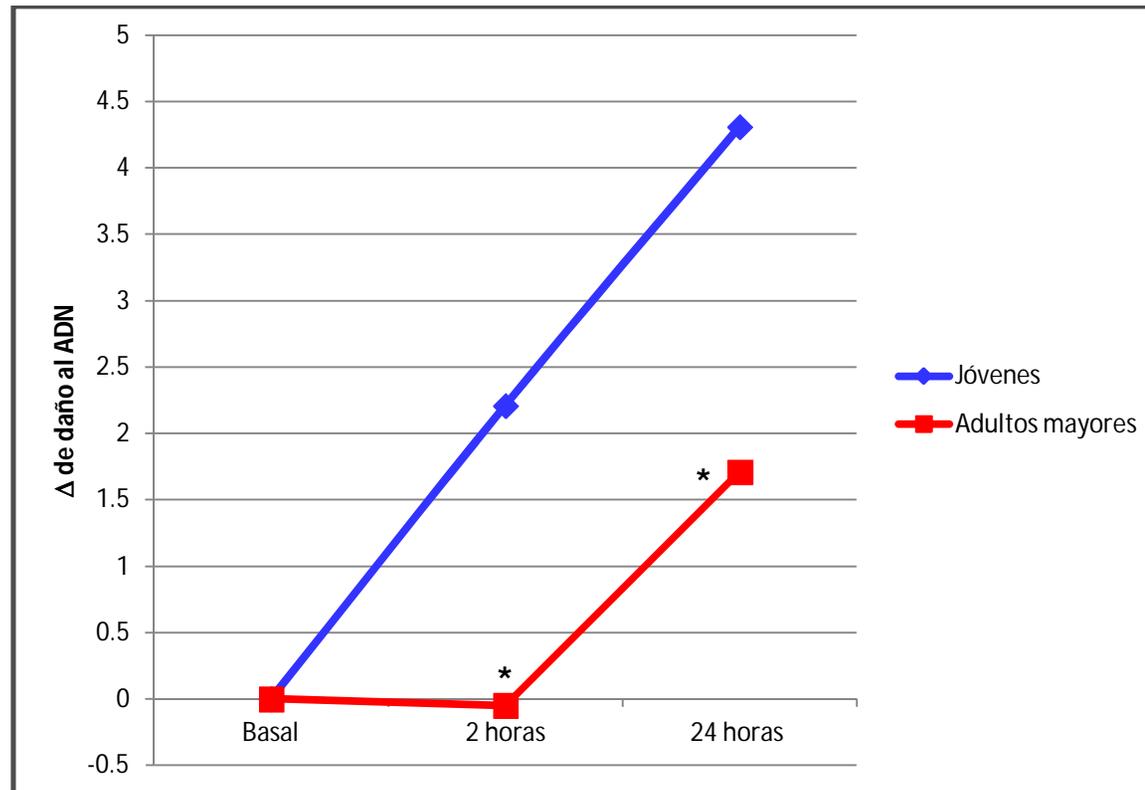


Fig. VIII.1 Se presentan los Δ s del diámetro de las células con daño en función del tiempo por grupo. *Prueba U de Mann-Whitney $p < 0.05$. Jóvenes vs. adultos mayores a las 2 horas y 24 horas después del EFE. Se observa que a las 2 horas los jóvenes aumentan el daño en sus células mientras que en los adultos mayores hay una pequeña disminución de éste con respecto a su estado basal. A las 24 horas de la exposición al EFE los jóvenes siguen aumentando su daño al igual que en los adultos mayores pero en menor proporción siendo la diferencia entre los deltas estadísticamente significativa.

Cuadro VIII.3: Cinética de reparación en jóvenes y adultos mayores en reposo, 2 horas y 24 horas después de la exposición al EFE.

	Jóvenes n=23		Adultos mayores n=26	
	MD	IC	MD	IC
Reposo				
0 min	25.29	20.2 – 35.8	19.52	15.8 – 24.4
45 min	25.76 (+0.47)	19.2 – 29.9	17.93* (-1.59)	15.7 – 24.7
90 min	23.20 (-2.09)	16.0 – 31.2	18.29 (-1.23)	16.3 – 28.3
2 horas				
0 min	20.47	16.4 – 29.0	29.85*	21.8 – 39.7
45 min	17.54 (-2.93)	15.1 – 20.3	16.00 (-13.85)	13.9 – 34.9
90 min	17.50 (-2.97)	15.8 – 22.6	21.07 (-8.78)	18.9 – 28.5
24 horas				
0 min	26.07	17.7 – 30.7	30.01	21.9 – 35.7
45 min	19.94 (-6.13)	17.0 – 23.2	20.23 (-9.78)	17.4 – 24.4
90 min	20.39 (-5.68)	15.8 – 23.3	26.56 (-3.45)	17.3 – 31.1

Se presentan los datos en mediana (MD) e Intervalo de Confianza (IC al 95%) y deltas tomando el minuto 0 como control.

*Prueba U de Mann-Whitney $p < 0.05$. Jóvenes vs. adultos mayores en reposo a los 45 min, 2 horas a los 0 min de reparación.

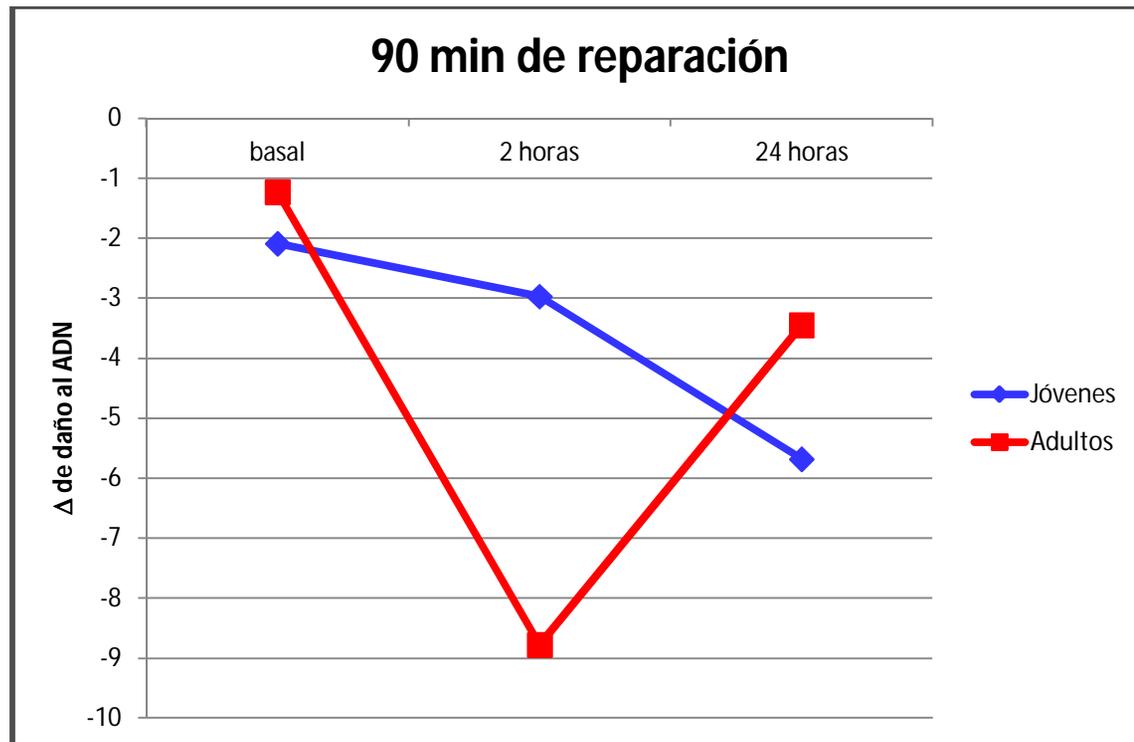


Fig. VIII.2 Se presentan los Δ s del diámetro de las células con daño en función del tiempo por grupo a los 90 min de reparación. Se observa en lo jóvenes que hay una disminución progresiva en el daño al ADN con forme pasa el tiempo, mientras que el los adultos mayores a las 2 horas en mayor la disminución del daños con respecto a las 24 horas después de la EFE.

Cuadro VIII.4: Migración de daño al ADN en jóvenes vs adultos mayores basal, 2 horas y 24 horas tras la exposición de un ejercicio físico exhaustivo (EFE) y con 6 meses de intervención de un ejercicio moderado.

	Jóvenes n=12		Adultos mayores n=12	
	Basal MD (IC 95%)	6 meses MD (IC 95%)	Basal MD (IC 95%)	6 meses MD (IC 95%)
Reposo	17.50 (14.3 – 18.7)	16.83 (14.3 – 20.9)	18.10 (15.6 – 21.3)	16.92 (14.6 – 25.1)
2 horas	18.12 (15.12 – 24.6) (+0.62)	17.82 (16.5 – 21.3) (+0.99)	16.90 (15.4 – 20.5) (-1.20)	16.77 (14.9 – 25.3) (-0.15)
24 horas	22.69 (15.7 – 36.8) (+5.19)	17.20 (14.5 – 20.3)* (+0.37)	17.22 (14.7 – 23.2) (-0.88)	15.07 (14.1 – 16.8)* (-1.85)

Se presentan los datos en mediana (MD) e Intervalo de Confianza (IC al 95%) y deltas tomando la basal como control. *Prueba Wilcoxon, $p < 0.05$. Jóvenes basal vs. 6 meses y adultos mayores basal vs. 6 meses a las 24 horas de la exposición al EFE.

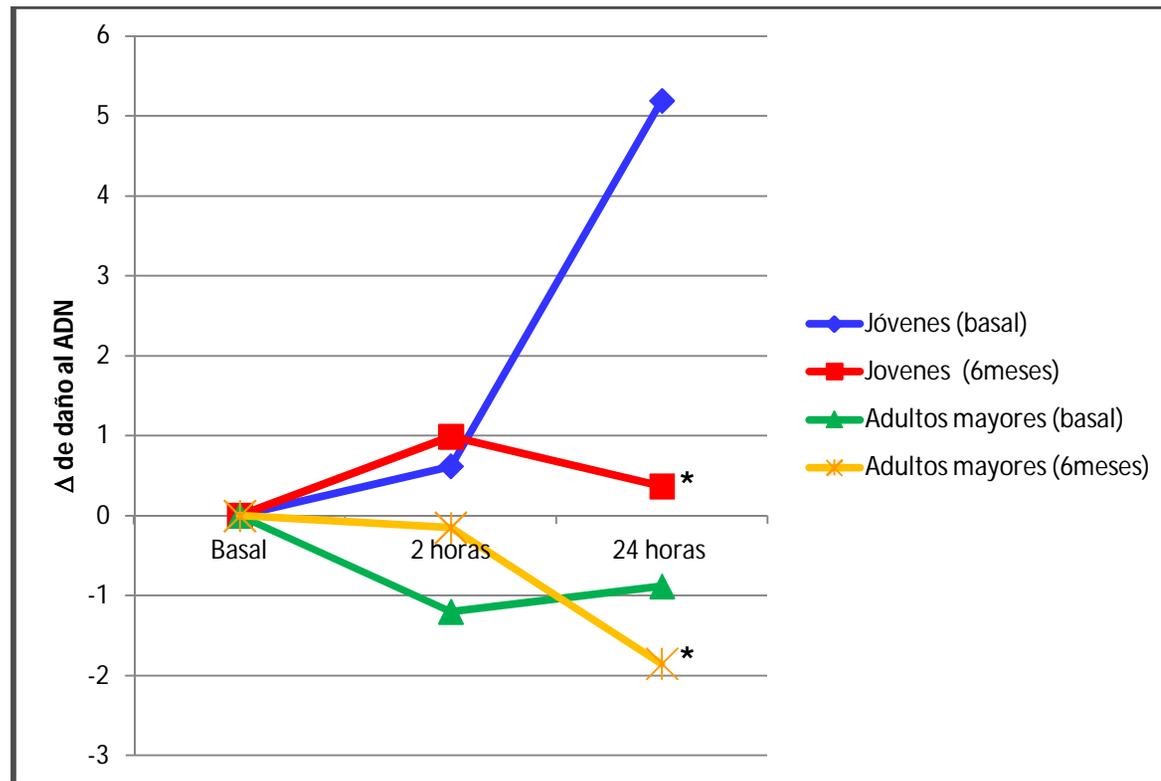


Fig. VIII.3 Se presentan los Δ s del diámetro de las células con daño en función del tiempo por grupo. Donde los jóvenes después de seis meses de ejercicio moderado se observa una disminución en el daño al ADN a las 24 horas después de practicar el EFE comparado con su basal, en los adultos mayores después de seis meses de EF moderado hay una disminución en el daño al ADN a las 24 horas tras la práctica de EFE.

Cuadro VIII.5: Cinética de reparación en jóvenes y adultos mayores en reposo, 2 horas y 24 horas después de la exposición al EFE y con 6 meses de intervención de un ejercicio moderado

	Jóvenes n=12		Adultos mayores n=12	
	Basal MD (IC 95%)	6 meses MD (IC 95%)	Basal MD (IC 95%)	6 meses MD (IC 95%)
Reposo				
0 min	21.48 (13.5 – 26.1)	18.66 (17.2 – 24.7)	16.92 (15.1 – 25.2)	19.31 (14.4 – 60.1)
45 min	21.37 (16.4 – 33.5) (-0.11)	17.82 (16.5 – 21.2)* (-0.84)	16.12 (14.7 – 19.4) (-0.80)	17.98 (13.7 – 23.8)* (-1.33)
90 min	23.20 (14.5 – 33.5) (+1.72)	19.65 (15.7 – 45.8) (+0.99)	18.61 (14.9 – 27.2) (+1.69)	22.53 (15.1 – 28.1) (+3.22)
2 horas				
0 min	23.95 (15.4 – 30.9)	26.61 (16.6 – 46.7)	25.54 (15.2 – 41.5)	22.58 (16.7 – 31.2)
45 min	18.77 (13.8 – 47.2) (-5.18)	23.01 (17.7 – 38.4) (-3.6)	14.69 (13.4 – 16.3) (-10.85)	16.18 (14.7 – 20.5) (-6.4)
90 min	17.04 (14.3 – 22.4) (-6.91)	19.07 (15.3 – 33.2) (-7.54)	19.68 (15.7 – 28.2) (-5.86)	19.35 (16.4 – 32.5) (-3.23)
24 horas				
0 min	28.62 (21.3 – 34.0)	16.92 (14.9 – 38.5)	28.88 (19.0 – 35.2)	18.05 (15.5 – 49.3)
45 min	20.33 (17.0 – 33.1) (-8.29)	18.14 (15.3 – 21.1)* (+1.22)	19.46 (16.5 – 28.6) (-9.42)	17.30 (15.2 – 22.1)* (-0.75)
90 min	20.94 (14.1 – 28.1) (-7.68)	19.55 (16.9 – 23.99) (+2.63)	30.04 (17.0 – 36.9) (+1.16)	17.56 (14.7 – 29.2) (-0.49)

Se presentan los datos en mediana (MD) e Intervalo de Confianza (IC al 95%) y deltas tomando el minuto 0 como control. *Prueba Wilcoxon, $p < 0.05$. Jóvenes basal vs. 6 meses y Adultos mayores basal vs. 6 meses en reposo con 45 min de reparación; Jóvenes basal vs. 6 meses y adultos mayores basal vs. 6 meses a las 24 horas después de la realización de EFE con 45 min de reparación.

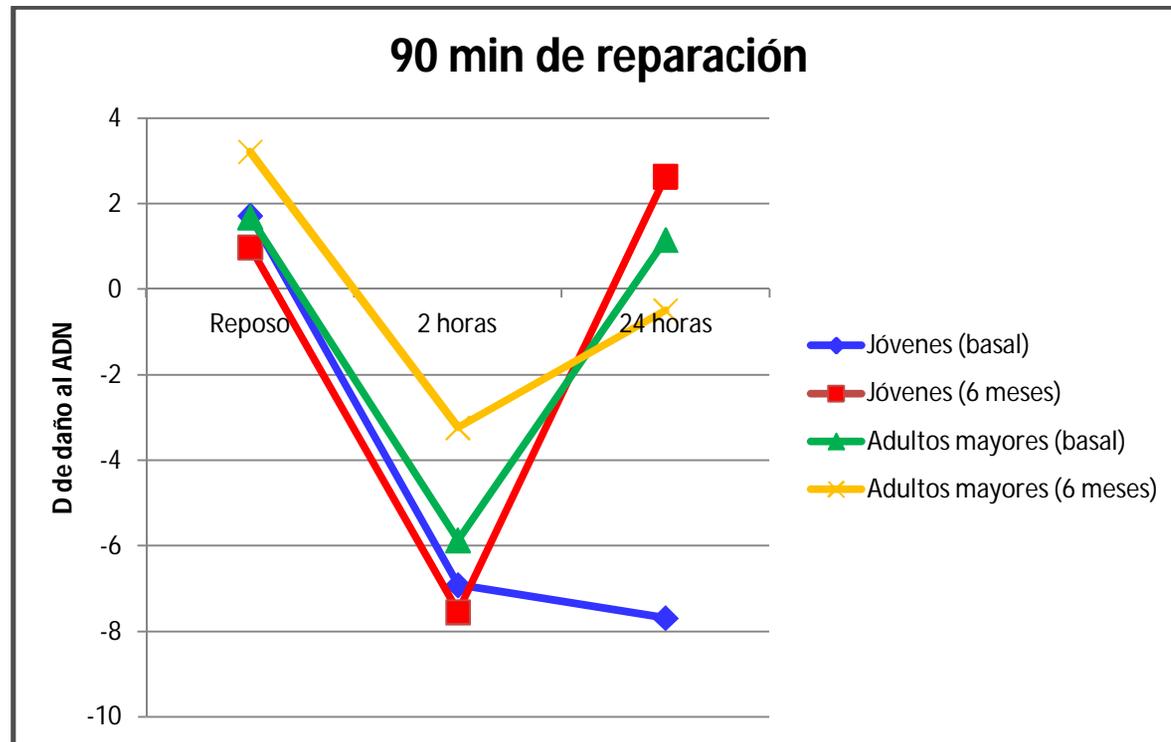


Fig. VIII.4 Se presentan los Δ s del diámetro de las células con daño en función del tiempo por grupo a los 90 minutos de reparación. Donde se puede observar que hay que en lo jóvenes en un estado basal a las 24 horas en su estado basal tiene un mejor reparación con respecto a los adultos mayores, mientras que a los 6 meses de realizar el EF moderado se muestra que a las 2 horas de la práctica de EFE hay mayor reparación en los jóvenes que en los adultos mayores pero a las 24 horas este daño es menor a en los adultos mayores que en los jóvenes.

IX. Discusión

Recientemente el estudio sobre el envejecimiento se ha expandido rápidamente, estimulado por el aumento de ancianos en la población, el alargamiento de la vida humana, la calidad de vida, entre otros aspectos. Actualmente en México la CONAPO ha realizado estudios de proyección, donde reporta que la población de adultos mayores en el 2005 correspondía a un 5.2% y se está esperando que en el 2050 llegue a un 21.2%; ante esto se han generado una serie de teorías que intentan explicar el fenómeno del envejecimiento, sin embargo, se ha observado que no existe solo una causa sino que esta es multifactorial, lo cual lo hace un proceso complejo.^{15-16,19}

Harman en 1956 propuso una de las teorías más aceptada sobre el fenómeno del envejecimiento, en la cual se habla de un incremento de RL durante este proceso, teniendo un desequilibrio con respecto al sistema antioxidante llevándonos a un EOx y lo cual causa daño a las biomoléculas y promueve la presencia de enfermedades crónico degenerativas como son el Alzheimer, diabetes mellitus, osteoporosis, aterosclerosis, cáncer, procesos inflamatorios, entre otros.^{44,77} Los factores prooxidantes que favorecen a la generación de RL, pueden ser resultado de procesos fisiológicos como es el metabolismo de los alimentos, el tabaco, medicamentos, la respiración, radiaciones UV, ejercicio exhaustivo, hiperoxia y alcoholismo.^{12,15,38-39}

La presencia de enfermedades crónico degenerativas son frecuentes en la vejez y se consideran como parte del proceso de envejecimiento, sin embargo no hay una razón para suponer que los mecanismos de prevención en las personas adultas difieran en principio de los más jóvenes. El organismo posee un sistema antioxidante que ayuda a contrarrestar el daño oxidativo, entre los cuales se encuentran las enzimas SOD, GPx, las vitaminas A, C y E, así como la recomendación de un estilo de vida saludable, ejercicio regular, evitar el estrés y una dieta balanceada.^{24,27,39,41}

En estos términos se ha estudiado el beneficio y el daño que puede conllevar con el ejercicio, en 1978 Dillard *et al* presentó la primera evidencia de que el ejercicio muscular promueve daño oxidativo en los tejidos, ya que el ejercicio físico exhaustivo, está asociado con la generación de RL. Por otra parte las investigaciones actuales siguieron que los ERO's son esenciales para la producción óptima de la fuerza en el músculo esquelético, sin embargo en alto niveles promueve la disfunción contráctil del músculo resultando la fatiga muscular.^{72,99-100}

Asimismo, se ha reportado que las personas sedentarias al realizar un entrenamiento aeróbico, hay un incremento en el HDL y una disminución en los triglicéridos (TG); resultados acordes con los parámetros bioquímicos que se obtuvieron ya que se observó una disminución en los TG y colesterol en el grupo de los adultos mayores después de realizar el programa de ejercicio de moderado durante 6 meses. En este sentido, los lípidos almacenados representan la principal reserva energética y constituyen una fuente casi inagotable de energía durante el ejercicio físico, llevando como consecuencia metabólica el ahorro de glucógeno muscular y hepático, que incide en la capacidad de resistencia del organismo; los ácidos grasos que utilizan la célula muscular como combustible pueden obtenerse de los triglicéridos almacenados en el tejido adiposo o en el propio músculo, de ahí su disminución de estos niveles. Además de esto, se ha demostrado que la práctica constante de ejercicio estimula un aumento en la producción de lipoproteínas HDL, que se traduce también en una disminución en el colesterol..^{66,101-102}

IX.1 Daño oxidativo al ADN en grupos con ejercicio exhaustivo

Se ha estimado que en promedio una persona normal tiene alrededor de 10 000 - 20 000 RL que atacan diariamente a cada célula del cuerpo y para un atleta más capacitado, esta cifra puede aumentar aproximadamente un 50%. Las principales moléculas biológicas que se ven afectadas por los RL son las proteínas, lípidos y el ADN.^{47,103}

El daño del ADN inducido por el ejercicio en las células sanguíneas parece ser la principal consecuencia del aumento de los RL durante y después del ejercicio aeróbico vigoroso, provocando a su vez una respuesta inflamatoria sistémica; el daño al ADN se considera como uno de los marcadores del daño oxidativo, ya que se encuentra expuesto a los ataques de las ERO's, principalmente por el radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$) y el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), produciendo rompimientos tanto en las cadenas sencillas como en las cadenas dobles, oxidación de las bases, así como la fragmentación de los azúcares. La reparación del daño en el ADN se cree que ocurre principalmente por la escisión de base y se sabe que los mecanismos de reparación van descendiendo con la edad y por lo tanto estas lesiones se van acumulando.^{47, 49,103-105}

En este sentido, los resultados obtenidos mostraron en los jóvenes un aumento estadísticamente significativo en el daño sobre el ADN, en comparación con los adultos mayores quienes al parecer por un mecanismo de hormesis pueden mejorar la capacidad de adaptación así como la respuesta antioxidante, lo cual se manifiesta como un menor daño sobre el mismo. Estos resultados se asemejan a lo reportado Hartmann et al⁹², donde observa que el ejercicio exhaustivo aumenta la migración del daño al ADN alcanzando su nivel máximo a las 24 h de haber realizado el ejercicio, al igual que el estudio realizado Mastaloudis et al⁸⁹ donde el pico del daño se da también a las 24 h. Asimismo Tsai et al⁸⁷, realizó un estudio con ejercicio

de resistencia donde el aumento en el daño al ADN se dio después de 24 h y persistió 7 días después.

Por otro lado, la importancia de la práctica y adaptación del ejercicio físico se ha enfocado principalmente en los jóvenes y poco en los adultos mayores, en este sentido, el ejercicio físico favorece la disminución de los efectos del envejecimiento y beneficia la funcionalidad; por lo que realizar un entrenamiento donde el ejercicio aeróbico permite realizar actividades físicas con cargas submáximas mayores, con menor esfuerzo del sistema cardiorrespiratorio y menor fatiga músculo-esquelética, permite al adulto mayor realizar de una manera fácil sus actividades cotidianas, lo cual es acorde con nuestros resultados al mostrar una mejor adaptación con un menor daño al ADN.¹⁰⁶⁻¹⁰⁸

IX.2 Cinética de reparación en grupos con ejercicio exhaustivo

De acuerdo con la teoría propuesta por Harman, las células que provienen de animales viejos se encuentran más dispuestas a tener y acumular daño al ADN si son sometidas a EOx, que las células provenientes de animales jóvenes expuestos al mismo estrés.

En este sentido, para evaluar la capacidad de reparación del ADN en los individuos, se expusieron a las células a H₂O₂ provocando un aumento en el EOx para posteriormente re-establecer su condición quitando el agente estresor en medio de cultivo e incubación. Al observar los resultados obtenidos, en la cinética se aprecia que los jóvenes hay mayor reparación de sus células en comparación con los adultos mayores, probablemente a que sus células requieren más tiempo que las de los jóvenes, pero aun así se observó que los adultos mayores lograron la reparación, lo cual puede deberse a los cambios que implica el proceso de envejecimiento, que se acompaña de una disminución de la capacidad de respuesta.

A las dos horas de haber sido expuestos al EFE, podemos observar que tanto en los jóvenes como en los adultos mayores hay una reparación de sus células, siendo más eficaz que la de los adultos mayores, mientras que a las 24 horas ambos grupos muestran una buena reparación que conlleva a una buena adaptación fisiológica. En este sentido, algunos estudios que apoyan nuestros resultados reportan que aproximadamente el 50% del daño al ADN se repara en los primeros 15 minutos y la reparación total se efectúa en una o dos horas, no obstante otros investigadores reportan que cuando el daño es producido por partículas suspendidas el tiempo en que tarda la célula en regresar a su estado basal es de alrededor de 24 horas.^{105,109-111}

IX.3 Daño oxidativo al ADN en grupos con ejercicio moderado

Existe evidencia acerca de que el ejercicio físico regular y no agotador tiene efectos benéficos generando un estado de bienestar por lo que disminuye la incidencia de enfermedades como consecuencia de la adaptación inducida por éste. El proceso de adaptación implica la activación del sistema antioxidante, la reparación del daño oxidativo e influye en la transcripción de genes para formar proteínas, creando un sistema de hormesis.^{72,76,88,90}

Por lo anterior, Niess et al (1996)⁹⁶ examinó la incidencia del daño al ADN en leucocitos de sangre periférica tanto en sujetos entrenados y no entrenados al ser expuestos del EFE, demostrando que hay un aumento de la migración del ADN en personas no entrenadas. Estos datos sugirieron que la adaptación al ejercicio podría disminuir el estrés oxidativo asociado al daño al ADN con ejercicio exhaustivo. Siu et al (2011)⁹⁵, por su parte investigó cual era el efecto de un ejercicio habitual voluntario en el daño al ADN sobre ratas adultas jóvenes, encontró una disminución significativa en los linfocitos de animales ejercitados durante 8 y 20 semanas, en comparación con los controles, lo que indica un aumento de la resistencia al desafío oxidante con el ejercicio regular en la función inmunológica mediante la exhibición de la

adaptación de protección de las células inmunes en respuesta a un desafío que daña el ADN. Al analizar el daño al ADN que se presenta en los grupos que participaron en el programa de intervención de un ejercicio moderado, se observa una disminución a los 6 meses tanto en jóvenes que como en adultos mayores. Observando que ambos grupos presentan una misma tendencia donde a las 24 horas de haber realizado un ejercicio exhaustivo la disminución es estadísticamente significativa con respecto a su estado basal, donde el efecto de la hormesis se puede observar al haber sido ambos grupos entrenados durante 6 meses exponiéndose al efecto estresor (ejercicio físico), no obstante este resultado es mejor en los adultos mayores ya que les ayuda a tener una mejor adaptación fisiológica y por lo tanto reducir su daño al ADN.

IX.4 Cinética de reparación en grupos con ejercicio moderado

En nuestros resultados se puede observar que tanto en los jóvenes como en los adultos el organismo llega a desarrollar un proceso adaptativo, conocido como hormesis y que en los jóvenes es menos eficiente que en los adultos mayores, no obstante las células de los adultos mayores tardan más tiempo en repararse con respecto que a los jóvenes tanto en un estado basal como a las 24 horas de haber sido expuestos a un EFE, mientras que a las 2 horas las células de los adultos mayores su sistema fisiológico responde mejor. Así mismo, Siu et al (2011)⁹⁵ observó que el efecto protector del ejercicio moderado mejora una respuesta adaptativa de los linfocitos a los estímulos que dañan el ADN, es decir al daño inducido por el peróxido de hidrógeno.

Finalmente, en nuestros resultados se observa que cuando se entrenan a los organismos antes de ser sometidos a un efecto estresor, su sistema ya se encuentra adaptado por lo que puede enfrentarse a los agentes estresantes y presentar un menor daño oxidativo al ADN así como una mejor capacidad de reparación del mismo.

X. Conclusiones

Hipótesis

Considerando que el consumo excesivo de oxígeno propiciado por el ejercicio físico exhaustivo aumenta el estrés oxidativo, el cual se incrementa con el envejecimiento, suponemos que la práctica aislada del mismo, propiciará un incremento significativo mayor de daño oxidativo al ADN en los ancianos aunado a una menor capacidad de reparación del ADN en comparación con los jóvenes.

Conclusión

Nuestros hallazgos sugieren que la exposición a ejercicio físico exhaustivo aumenta el daño oxidativo al ADN tanto en jóvenes como en ancianos, mostrando una capacidad de reparación del ADN significativamente mayor en los jóvenes con respecto a los adultos mayores.

Hipótesis

Tomando en cuenta que el daño oxidativo al ADN secundario a la exposición de ejercicio físico moderado disminuye gradualmente con la práctica periódica por más de tres meses independientemente de la edad, suponemos que la capacidad de reparación del daño al ADN será similar entre los adultos mayores y jóvenes después de la práctica de ejercicio físico moderado por seis meses.

Conclusión

Nuestros hallazgos sugieren que la capacidad de reparación del daño al ADN de los adultos mayores es significativamente más eficiente que la de los jóvenes ante la práctica de ejercicio físico moderado por seis meses, debido al mecanismo adaptativo de hormesis vinculado con el envejecimiento exitoso.

XI. Perspectivas

- ✓ Es necesario incrementar el tamaño de la muestra para confirmar nuestros hallazgos.

- ✓ Es indispensable llevar a cabo estudios longitudinales de largo plazo, para observar si con el ejercicio físico moderado se tiene una mejor adaptación y resultados concluyentes.

- ✓ Es conveniente difundir nuestros hallazgos, para que se promueva la práctica del ejercicio físico de la forma correcta y así poder tener una mejor calidad de vida.

XII. Referencias

1. McEwen BS. Interacting mediators of allostasis and allostatic load: towards an understanding of resilience in aging. *Metabolism* 2003 Oct; 52 Supl 2: 10-16.
2. McEwen BS, Wingfield JC. Response to commentaries on the concept of allostasis. *Horm Behav* 2003; 43: 28-30.
3. McEwen BS, Wingfield JC. The concept of allostasis in biology and biomedicine. *Horm Behav* 2003; 43: 2-15.
4. Pilnik SD. El concepto de alostasis: un paso más allá del estrés y la homeostasis. *Rev Hosp Ital B Aires* 2010; 3: 7-12.
5. Mucio-Ramírez JS. LA neuroquímica del estrés y el papel de los péptidos opioides. *REB* 2007; 26 (4): 121-128.
6. Schulkin J. Allostasis: a neural behavioral perspective. *Horm Behav* 2003; 43: 21-27.
7. 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 (8): 4770-4775.
8. McEwen BS. Stress, adaptation and disease: Allostasis and allostatic load. *Ann N Y Acad Sci* 1998; 840: 33-44.
9. McEwen BS. Sex, stress and the hippocampus: allostasis, allostatic load and the aging process. *Neurobiol Aging* 2002; 23: 921-939.
10. McEwen BS, Ph D. Allostasis and allostatic load: Implications for neuropsychopharmacology. *Neuropsychopharmacology* 2000; 22 (2): 108-124.
11. McEwen BS, Seeman T. Protective and damaging effects of mediators of stress: Elaborating and testing the concepts of allostasis and allostatic load. *Ann N Y Acad Sci* 1999; 896: 30-47.
12. 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.

13. Juster RP, McEwen BS, Lupien SJ. Allostatic load biomarkers of chronic stress and impact on health and cognition. *Neurosci Biobehav Rev* 2010; 35: 2-16.
14. McEwen BS, PH D. Protective and damaging effects of stress mediators. *New Engl J Med* 1998; 338 (3): 171-179.
15. Mendoza VMn, Retana RU. Estrés oxidativo. Medición e interpretación diagnóstica. DGAPA. México; 2009. p.31-32.
16. CONAPO. Principales causas de mortalidad en México 1980-2007: URL: http://www.conapo.gob.mx/publicaciones/mortalidad/Mortalidadxcausas_8_0_07.pdf.
17. CONAPO. El envejecimiento de la población en México: URL: <http://www.conapo.gob.mx/publicaciones/enveje2005/enveje02.pdf>.
18. Sánchez MAR, Mendoza VMN. Envejecimiento, enfermedades crónicas y antioxidante. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM; 2003. p.5-7, 59-62.
19. Weinert BT, Timiras PS. Physiology of aging. Invited Review: Theories of aging. *J Appl Physiol* 2003; 95: 1706-1716.
20. Semsei I. On the nature of aging. *Mech Ageing Dev* 2000; 117: 93-108.
21. Hernando MI. El fenómeno del envejecimiento. URL: <http://www.slideshare.net/canocappellacci/cfakepathteorias-del-envejecimiento>.
22. Pardo GA. Consideraciones generales sobre algunas de las teorías del envejecimiento. *Rev Cubana Invest Bioméd* 2003; 22 (1): 58-67.
23. Gavia DA. Envejecimiento: teorías y aspectos moleculares. *Rev Med Risaralda* 2007; 13(2): 1-6.
24. Novoa JL, Rodríguez-Puyol D. Mecanismos de envejecimiento celular. *Nefrología* 1997; 27(3): 15-22.
25. Harman D, MD, PhD. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J Gerontol* 1956; 2: 298-300.
26. Harman D. Free radical theory of aging. *Mutat Res* 1992; 275: 257-266.

27. Venereo GJ. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Rev Cubana Med Milit* 2002; 31(2): 126-133.
28. Chihuailaf RH, Contreras PA, Wittwer FG. Patogenénesis del estrés oxidativo: consecuencias y evaluación en salud animal. *Vet Méx* 2002; 33(3): 265-283.
29. Agarwal A, Gupta S, Sharma RK. Role of oxidative stress in female reproduction. *RBEJ* 2005; 28(3): 1-21.
30. Torno GS. Biopatología de los radicales libres 201-224. URL: <http://www.analesranf.com/index.php/mono/issue/view/113>.
31. Nussey DH, Pemberton JM, Pilkington JG, Blount JD. Life history correlates of oxidative damage in a free-living mammal population. *Funct Ecol* 2009; 23: 809-817.
32. McCord JM, PhD. The evolution of free radicals and oxidative stress. *Am J Med* 2000; 108: 652-659.
33. Martínez GM. Especies reactivas del oxígeno y balance redox, parte I: aspectos básicos y principales especies reactivas del oxígeno. *Rev Cubana Farm* 2005; 39(3): 1-11.
34. Halliwell B, Cross CE. Oxygen-derived species: their relation to human disease and environmental stress. *Environ Health Persp* 1994; 102(10):5-12.
35. Halliwell B, Gutteridge JM. Oxygen toxicity, oxygen radicalism transition metal and diseases. *Biochem J* 1984; 219: 1-14. Review
36. Weishaupt KR, Gomer CJ, Dougherty TJ. Identification of singlet oxygen as the cytotoxic agent in photo-inactivation of a murin tumor. *Cancer Res* 1976; 36: 2326-2329.
37. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell B* 2007; 39: 44-84.
38. Zorrilla AG. El envejecimiento y el estrés oxidativo. *Rev Cubana Invest Biomed* 2002; 21(3): 178-185.

39. Elejalde GJ. Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos antioxidantes. *An Med Interna* 2001; 18(6): 326-335.
40. Sohal SR, Weindruch R. Oxidative stress, caloric restriction and aging. *Science* 1996; 273 (5271): 59-63.
41. Fernández JM, Da Silva-Grigoletto ME, Túnez-Fiñana I. Estrés oxidativo inducido por el ejercicio. *Rev Andal Med Deporte* 2009, 2(1):19-34.
42. Ugartondo Casadevall V. Caracterización de derivados polifenólicos obtenidos de fuentes naturales: citotoxicidad y capacidad antioxidante frente a estrés oxidativo en modelos celulares [tesis de doctorado]. Universidad de Barcelona, Departamento de Fisiología (Farmacia); 2009.
43. Paredes FS, Roca FJJ. Influencia de los radicales libres en el envejecimiento celular. *OFFARM* 2002; 21(7):96-100.
44. Rodríguez-Perón JM, Menéndez-López RR, Trujillo-López Y. Radicales libres en la biomedicina y estrés oxidativo. *Rev Cuabana Med Milit* 2001; 30(1)36-44.
45. Martínez-Cayuela, M. Toxicidad de xenobióticos mediada por radicales libres de oxígeno. *Ars Pharmaceutica* 1998; 39(1):1-13.
46. Dalle-Donne I, Rossi R, Colombo R, Giustarini D, Mizani A. Biomarkers of oxidative damage in human disease. *Clin chem* 2006; 52(4): 601-623.
47. Monaghan P, Metcalfe BN, Torres R. Oxidative stress as a mediator of life history trade-offs: mechanisms, measurements and interpretation. *Ecology letters* 2009; 12: 75-92.
48. Kehrer PJ. The Haber-Weiss reaction and mechanisms of toxicity. *Toxicology* 2000; 149: 43-50.
49. González-Torres MC, Betancourt-Rule M, Ortiz-Muñiz R. Daño oxidativo y antioxidantes. *Bioquímica* 2000; 258(1):3-9.
50. Stadtman ER. Metal ion-catalyzed oxidation of proteins: Biochemical mechanism and biological consequences. *Free Radical Bio Med* 1990; 9:315-325.
51. National Institutes of Health. Handbook: genetics home reference. US: National Library of Medicine; 2011.

52. <http://cyberbrethren.com/2011/02/19/how-much-data-can-your-dna-hold-hint-a-lot/>
53. Richter C, Park Jeen-Woo, Ames BN. Normal oxidative damage to mitochondrial and nuclear DNA extensive. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85: 6465-6467.
54. Lizcano FL. *Fundamentos moleculares en medicina. Manual Moderno.* Bogotá (Colombia): Universidad de la Sabana; 2005. p. 18-32.
55. Sen CK, Packer L, Hännien O. *Handbook of oxidants and antioxidants in exercise.* ELSEVIER. Amsterdam; 2000. p.195-217, 797-829.
56. Wiseman H, Halliwell B. Damage to DNA by reactive oxygen and nitrogen species: role in inflammatory disease and progression to cancer. *Biochem J* 1996; 313:17-29.
57. Decuyper-Debergh D, Piette J, Van de Vorst A. Single oxygen-induced mutations in M13 lacZ phage DNA. *The EMBO J* 1987; 6(10): 3155-3161.
58. Shokolenko I, Venediktova N, Bochkareva A, Wilson GL, Alexeyev MF. Oxidative stress induces degradation of mitochondrial DNA. *Nucleic Acids Res* 2009; 37(8): 2539-2548.
59. Mayne ST. Antioxidant nutrients and chronic disease: use of biomarkers of exposure and oxidative stress status in epidemiologic research. *J Nutr* 2003; 133(Suppl.3): 933S-940S.
60. Maynard S, Schurman SH, Harboe C, Souza-Pinto NC, Bohr VS. Base excision repair of oxidative DNA damage and association with cancer and aging. *Carcinogenesis* 2009; 30(1): 2-10.
61. Cooke MS, Evans MD, Dizdaroglu M, Lunec J. Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation and disease. *FASEB J* 2003; 17: 1195-1214.
62. Croteau DL, Bohr VA. Repair of oxidative damage to nuclear and mitochondrial DNA in mammalian cells. *J Biol Chem* 1997; 272 (41): 25409-25412.
63. Caspersen CJ, Powell KE, Christenson GM. Physical activity, exercise and physical fitness: definitions and distinctions for health-related research. *Public Health Rep* 1985; 100(2):126-131.

64. González-Chávez A, Becerra-Pérez AR, Carmona-Solís FK, Cerezo-Goiz MIA, Hernández-y-Hernández H, Lara-Esqueda A. Ejercicio físico para la salud. *Rev Mex Cardiol* 2001; 12(4): 168-180.
65. Organización Mundial de la Salud. Definición de salud. URL: <http://www.who.int/suggestions/faq/es/>.
66. McArdle WD, Katch FI, Katch VL. Fundamentos de fisiología del ejercicio. 2ª ed. McGraw-Hill: Interamericana de España S.A.; 2004. p. 3-33.
67. DiLorenzo TM, Bargman EP, Stucky-Ropp R, Brassington GS, Frensch PA, LaFontaine T. Long-term effects of aerobic exercise on psychological outcomes. *Prev Med* 1999, 28 (1): 75-85.
68. Ruivo JA, Alcântara P. Hypertension and exercise. *Rev Port Cardiol* 2012; 31(2):151-158.
69. Bassey EJ. The benefits of exercise for the health of older people. *Clin Gerontology* 2000, 10: 17-31.
70. Firman GO. Fisiología del ejercicio físico. URL: http://www.intermedicina.com/Avances/Interes_General/AIG05.pdf.
71. Radak Z, Chung HY, Koltai E, Taylor AW, Goto S. Exercise, oxidative stress and hormesis. *Ageing Res Rev* 2008; 7: 34-42.
72. Benavides ER, Cabrera CE, Ahumada OJ, Robles EE. Efecto del ejercicio moderado y continuo frente al estrés oxidativo inducido en *Rattus norvegicus* Wistar. *Ciencia e investigación* 2010; 13(1): 19-22.
73. Pérez GD, Restrepo RM, Martínez GS. Hormesis: antecedentes e implicaciones en los sistemas biológicos. *Lat Am J Pharm* 2009; 28(6):954-60.
74. Mattson MP. Hormesis Defined. *Ageing Res Rev* 2008; 7(1): 1-7.
75. Ji LL, Radak Z, Goto S. Hormesis and exercise: How the cell copes with oxidative stress. *Am J Pharm Toxicol* 2008; 3(1): 44-58.
76. Radak Z, Chung HY, Goto S. Systemic adaptation to oxidative challenge induced by regular exercise. *Free Radical Bio Med* 2008; 44: 153-159.
77. Radak Z, Chung HY, Goto S. Exercise and hormesis: oxidative stress-related adaptation for successful again. *Biogerontology* 2005; 6: 71-75.

78. Lexell J, Taylor CC, Sjöström M. What is the cause of the ageing atrophy? Total number, size and proportion of different fiber types studies in whole vastus lateralis muscle from 15 to 83 year old men. *J Neurol Sci* 1988; 84: 275-294.
79. Campell MJ, McComas AJ, Petito F. Physiological changes in ageing muscles. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1973; 36:174-182.
80. Nohl H, Jordan W. The mitochondrial site of superoxide formation. *Biochem Biophys Res Commun* 1986; 138 (2): 533-539.
81. Ji LL, Dillon D, Wu E. Alteration of antioxidant enzymes with aging in rat skeletal muscle and liver. *Am J Physiol* 1990; 258: R918-R923.
82. Cannon FG, Orencole SF, Fielding RA, Meydani M, Meydani SN, Fiatarone A, et al. Acute phate response in exercise: interaction of age and vitamin E on neutrophils and muscle enzyme release. *Am J Physiol* 1990; 259: R1214-R1219.
83. Nakamoto H, Kaneko T, Tahara S, Hayashi E, Naito H, Radák Z, Goto S. Regular exercise reduces 8-oxodG in the nuclear and mitochondrial DNA and modulates the DNA repair activity in the liver of old rats. *Exp Geront* 2007; 42: 287-295.
84. Sardas S, Omurtag GZ, Monteiro IFC, Beyoglu D, Tozan-Becerem A, Topsakal N, Cotuk HB. Assessment of DNA damage and protective role of vitamin E supplements after exhaustive exercise by comet assay in athletes. *J Clinic Toxicol* 2001: S5:001-4.
85. Tanimura Y, Schimizu K, Tanabe K, Kono I, Ajsaka R. Effects of three consecutive days exercise on lymphocyte DNA damage in young men. *Eur J Appl Physiol* 2010; 110: 307-3014.
86. Ogonovszky H, Sasvári M, Dosek A, Berkes I, Kaneko T, Tahara S, Nakamoto H, Goto S, Rádak Z. The effects of moderate, strenuous and overtraining on oxidative stress markers and DNA repair in rat liver. *Can J Appl Physiol* 2005; 30(2):xxx-xxx.

87. Tsai K, Hsu TG, Hsu KM, Cheng H, Liu TY, Hsu CF, Kong CW. Oxidative DNA damage in human peripheral leukocytes induced by massive aerobic exercise. *Free Radical Bio Med* 2001; 31(11): 1465-1472.
88. Radák Z, Naito H, Kaneko T, Tahara S, Nakamoto H, Takahashi R, Cardozo-Pelaez F, Goto S. Exercise training decreases DNA damage and increases DNA repair and resistance against oxidative stress of proteins in aged rat skeletal muscle. *Eur J Physiol* 2002; 445: 273-278.
89. Mastaloudis A, Yu TW, O'Donnel RP, Frei B, Dashwood RH, Traber MG. Endurance exercise results in DNA damage as detected by the comet assay. *Free Radical Bio Med* 2004; 36(8): 966-975.
90. Radák Z, Kaneki T, Tahara S, Nakamoto H, Ohno H, Sasvári M, Nyakas C, Goto S. The effect of exercise training on oxidative damage of lipids, proteins and DNA in rat skeletal muscle: evidence for beneficial outcomes. *Free Radical Bio Med* 1999; 27: 69-74.
91. Moller P, Loft S, Lundby C, Olsen NV. Acute hypoxia and hypoxic exercise induce DNA strand break and oxidative DNA damage in human. *FASEB J* 2001; 15: 1181-1186.
92. Hartmann A, Plappert U, Raddatz K, Grünert-Fuchs M, Speit Günter. Does physical activity induce DNA damage? *Mutagenesis* 1994; 9(3): 269-272.
93. Reichhold S, Neubauer O, Ehrlich V, Knasmüller S, Wagner KH. No acute and persistent DNA damage after an ironman triathlon. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prevent* 2008; 17: 1913-1919.
94. Gröger M, Öter S, Simkova V, Bolten M, Koch A, Warninghoff V, Georgieff M, Muth CM, Speit G, Radermacher P. DNA damage after long-term repetitive hyperbaric oxygen exposure. *J Appl Physiol* 2009; 106: 311-315.
95. Siu PM, Pei XM, Teng BT, Ying M, Wong SH. Habitual exercise increases resistance of lymphocytes to oxidant-induced DNA damage by upregulating expression of antioxidant and DNA repairing enzymes. *Exp Physiol* 2011; 96(9): 889-906.

96. Niess AM, Hartmann A, Grünert-Fuchs M, Poch B, Speit G. DNA damage after exhaustive treadmill running in trained and untrained men. *Int J Sports Med* 1996; 17(6): 397-403.
97. Hartmann A, Pfuhrer S, Dennog C, Germadnik D, Pilger A, Günter S. Exercise induced DNA effects in human leukocytes are not accompanied by increased formation of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine or induction of micronuclei. *Free Radical Bio Med* 1998; 24(2):245-254.
98. Niess AM, Baumann M, Roecker K, Horstmann T, mayer F, Dickhuth HH. Effects of intensive endurance exercise on DNA damage in leucocytes. *J Sports Med Phys Fitness* 1998; 38(2):111-5.
99. Vol्लाard NBJ, Shearman JP, Cooper CE. Exercise-induced oxidative stress. Myths, realities and physiological relevance. *Sports Med* 2005; 35(12):1045-1062.
100. Powers SK, Jackson MJ. Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiol Rev* 2008; 88:1243-1276.
101. Ramos-Jiménez A, Hernández-Torres RP, Torres-Durán PV, Mascher D, Posadas-Romero C, Juárez-Orozpeza MA. Ejercicio físico sistémico y sus efectos sobre la concentración de triacilgliceroles, c-HDL y parámetros respiratorios y metabólicos. *REB* 2006; 25(4):108-115.
102. Carbayo JA, González-Moncayo C, Gómez J, Fernández-Pardo J. Modificaciones inducidas por el ejercicio físico moderado sobre el colesterol de las subfracciones mayores de las HDL (HDL2 y HDL3). *Clin Invest Arterioscl* 2000; 12: 19-25.
103. Valko M, Izakovic M, Mazur M, Rhodes CJ, Telser J. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Mol Cell Biol* 2004; 266: 37-56.
104. Neubauer O, Reichhold S, Nersesyan A, König D, Wagner KH. Exercise induced DNA damage: is there a relationship with inflammatory responses?. *Exerc Immunol Rev* 2008; 14:51-72.

105. Mooren FC, Blöming D, Lechtermann A, Lerch MM, Völker K. Lymphocyte apoptosis after exhaustive and moderate exercise. *J Appl Physiol* 2002; 93: 147-153.
106. Ávila-Funes JA, García-Mayo EJ. Beneficios de la práctica del ejercicio en los ancianos. *Gac Méd Méx* 2004; 140(4): 431-436.
107. Barrios RD, Borges RM, Cardoso LP. Beneficios percibidos por adultos mayores incorporados al ejercicio. *Rev Cubana Med Gen Integr* 2003; 19 (2): 1-7.
108. Rosado Pérez J. Efecto de la caminata y el tai chi sobre los marcadores biológicos de estrés oxidativo e inflamación crónica en ancianos [tesis de doctorado]. FES Zaragoza, UNAM; 2011.
109. Gábelova A, Valovicová Z, Horváthová E, Slaménová D, Binková B, Srám RJ, Faramer PB. Genotoxicity of environmental air pollution in three European cities: Prague, Kosice and Sofia. *Mutat Res-Gen Tox En* 2004; 563: 49-59.
110. Collins AR, Ai-gui M, Duthie SJ. The kinetics of repair of oxidative DNA damage (strand breaks and oxidised pyrimidines) in human cell. *Mutat Res* 1995; 336: 69-77.
111. Collins AR. The comet assay for DNA damage and repair: principles, applications and limitations. *Mol Biotechnol* 2004; 26(3): 249-61.

XIII. Anexo



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

UNIDAD DE INVESTIGACIÓN EN GERONTOLOGÍA

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN LA INVESTIGACIÓN

Efecto del ejercicio físico moderado sobre el daño oxidativo y capacidad de reparación del ADN en jóvenes vs. adultos mayores sanos

Antecedentes y Objetivo

El estrés oxidativo (EOx) es un estado donde la célula se encuentra alterada por la homeostasis entre prooxidantes y antioxidantes, a favor de los primeros causando daño en las biomoléculas. Actualmente se ha observado que el ejercicio puede causar efectos benéficos como dañinos, dependiendo de la intensidad; si es agotador la producción de RL aumenta, mientras que si es moderado hay una reducción de los mismos y una mejor capacidad de reparación de las células apoyado en un mecanismo de hormesis. En este sentido, existen pocos estudios sobre el tema, de ahí que se evaluó la capacidad de adaptación de los jóvenes vs. adultos mayores expuestos a un ejercicio moderado.

Procedimiento

Se seleccionarán 30 jóvenes clínicamente sanos entre 18 a 25 años de la Ciudad de México y 30 adultos mayores clínicamente sanos entre 60 a 69 años de Texcoco, Estado de México. Una vez seleccionados a los participantes se expondrán a una caminata de 5 Km o 90min (ejercicio exhaustivo), posteriormente la población se dividirá en dos grupos: jóvenes y adultos mayores. Algunos pacientes serán sometidos a un programa de caminata (ejercicio moderado) de 1 horas diaria durante 5 días a la semana por 6 meses. Se les tomarán 3 tubos de sangre en un estado basal y 3 tubos de sangre posteriormente a los 6 meses.

Condiciones para ingresar al estudio

- Personas que deseen participar en el estudio
- Jóvenes de ambos sexos clínicamente sanos entre 18 a 25 años
- Adultos mayores de ambos sexos clínicamente sanos entre 60 a 69 años
- Sin el hábito de fumar o que consuman 2 o menos cigarrillos a la semana

Riesgos

No existe ningún riesgo agregado para su salud, las tomas de muestras sanguíneas serán llevadas a cabo por personal experimentado con agujas nuevas desechables en tubos al vacío. Si por alguna circunstancia se observa algún efecto por la práctica de la actividad física, notificar para suspensión.

Beneficios

Los resultados hematológicos y de química sanguínea pueden ser de utilidad para el conocimiento de su estado de salud. El tratamiento repercutirá en beneficio para su calidad de vida.

Confidencialidad

Toda la información obtenida es **ESTRICTAMENTE CONFIDENCIAL**, por lo que sólo se le proporcionará a la participante.

Preguntas

Toda duda que tenga durante el tiempo que dura la investigación la podrá consultar con los participantes de la Unidad de Investigación en Gerontología.

Derecho a rehusar

La aceptación a participar en este estudio es enteramente **VOLUNTARIA**. Por lo que si decide no hacerlo no le afectará en su atención en la Unidad de Investigación.

CONSENTIMIENTO

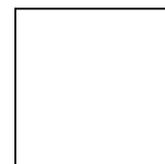
Consiento en participar en el estudio. He recibido una copia de este impreso y he tenido la oportunidad de leerlo o me lo han leído en presencia de un familiar responsable.

Nombre y firma del participante _____

Nombre y firma de un familiar (testigo) _____

Nombre y firma del investigador (testigo) _____

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



En caso de no saber leer y escribir, poner huella digital