



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA**

RELACIÓN ENTRE BIOMARCADORES DE ESTRÉS  
OXIDATIVO, PROTEÍNAS DE FASE AGUDA Y DISTINTAS  
ACTIVIDADES LABORALES DEL DISTRITO FEDERAL

## T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

P R E S E N T A N :

ALDO VÍCTOR HUGO MARTÍNEZ BARRERA  
Y ALMA ELENA ANAYA SÁNCHEZ

**BIOQUÍMICA CLÍNICA**

**DIRECTOR DE TESIS:** DR. RUBÉN MARROQUÍN SEGURA.

**ASESOR DE TESIS:** DR. HORACIO TOVALIN AHUMADA.

MÉXICO, D.F.

MAYO, 2013

Este trabajo se realizó en el Laboratorio 1 de Inmunología Clínica, de la Unidad Multidisciplinaria de Investigación Experimental Zaragoza (UMIEZ), **en la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM**. Este estudio se desarrolló con el apoyo del proyecto “Relación del síndrome de Quemarse por el trabajo y marcadores de salud cardiovascular en trabajadores de distintas ocupaciones”, con número de registro 83833 ante el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (**CONACYT**).

## **DEDICATORIAS**

A mis padres (Elena y Alfonso):

Por todo el amor que me han dado a lo largo de mi vida, por apoyarme constante e incondicionalmente durante todos mis años de estudiante, por darme un hogar y por todas las cosas que me han enseñado.

A mis hermanos y a mi tía Tere:

Porque los cuatro (Gabriel, Juan, Joel y Pepe) han confiado constantemente en cada uno de mis logros, por quererme tanto a pesar de nuestras diferencias y por cuidarme siempre. A ti tía y a Mayte porque nunca han dejado de creer en mí, por su cariño sincero y por quererme ver triunfar todos los días.

A Aldo:

Me motivas a sacar lo mejor de mí cada día, me ayudas a buscar el lado positivo de las cosas, me sostienes cuando siento que se me va la fuerza y me haces sonreír cada vez que me invade la angustia. Por todo eso que me das, por trabajar a mi lado, por compartir la vida conmigo y por ser como eres, te agradezco, te amo.

**Alma.**

A mis papás, porque nunca se han rendido conmigo, gracias por todo el cariño que me dan, por sus enseñanzas y por guiarme para ser una persona de bien, no hay palabras suficientes para agradecerles.

A mis hermanos y a Israel porque siempre me apoyan cuando tengo un problema, sé que puedo confiar en ustedes pase lo que pase, los quiero mucho.

A Alma por seguirme en todas mis locuras y por darle perspectiva a mi vida, muchas gracias por aceptarme como soy y por aprender a pastorearme por la vida, gracias por todo el amor que me das y por convertirte en mi compañera de vida, te amo.

**Aldo.**

## **AGRADECIMIENTOS**

A nuestro director de tesis (Dr. Marroquín):

Gracias por recibirnos en el laboratorio, gracias por todo su tiempo, su paciencia, su apoyo incondicional, por su confianza y todos sus consejos.

A nuestro asesor de tesis (Dr. Tovalín):

Por aceptar nuestra participación en el proyecto, por su colaboración constante en este trabajo, por su paciencia y por todas sus observaciones.

A los profesores del laboratorio 1 de Inmunología Clínica de la UMIEZ:

Por el trato amable, cálido y solidario que siempre nos brindaron, por toda la ayuda y los consejos que nos permitieron desarrollar el trabajo práctico y teórico en este proyecto, gracias a todos ustedes.

A nuestras sinodales:

La Dra. Raquel Retana y la Maestra Venecia, por su tiempo y su amable disposición, para contribuir a mejorar la forma y el contenido de este trabajo.

A la Maestra Isabel:

Gracias por apoyarnos siempre, de tantas formas y desde hace tantos años, gracias por todas sus enseñanzas (de vida y académicas), por compartir su tiempo para ayudarnos con nuestros proyectos y especialmente, gracias por su amistad.

A nuestros amigos:

A todos ustedes que estuvieron con nosotros en esta etapa, les damos las gracias por su cariño y por compartirnos sus experiencias y conocimientos para poder alcanzar esta meta.

**Alma y Aldo.**

# ÍNDICE:

1.	<b><u>ABREVIATURAS</u></b> .....	1
2.	<b><u>RESUMEN</u></b> .....	2
3.	<b><u>INTRODUCCIÓN</u></b> .....	4
4.	<b><u>MARCO TEÓRICO</u></b> .....	6
4.1	<i>PRODUCCIÓN DE RADICALES LIBRES EN LA CADENA RESPIRATORIA</i> .....	6
4.2	<i>ESTRÉS OXIDATIVO</i> .....	8
4.3	<i>ÓXIDO NÍTRICO</i> .....	11
4.4	<i>PEROXIDACIÓN LIPÍDICA</i> .....	12
4.5	<i>DEFENSAS ANTIOXIDANTES</i> .....	14
4.6	<i>PRINCIPALES ENZIMAS ANTIOXIDANTES</i> .....	16
4.7	<i>PRINCIPALES CARACTERÍSTICAS DEL PROCESO INFLAMATORIO</i> .....	18
4.8	<i>PROTEÍNA C REACTIVA (PCR)</i> .....	19
4.9	<i>CERULOPLASMINA (Cp)</i> .....	20
4.10	<i>FACTORES QUE CONTRIBUYEN AL DESARROLLO DE ESTRÉS OXIDATIVO</i> .....	22
4.11	<i>RELACIÓN DE LA ACTIVIDAD LABORAL CON EL PROCESO DE ESTRÉS OXIDATIVO</i> .	24
5.	<b><u>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</u></b> .....	27
6.	<b><u>HIPÓTESIS</u></b> .....	27
7.	<b><u>OBJETIVOS</u></b> .....	27
8.	<b><u>MATERIALES Y MÉTODOS</u></b> .....	28
8.1	<i>DISEÑO DEL ESTUDIO</i> .....	28
8.2	<i>POBLACIÓN</i> .....	28
8.3	<i>VARIABLES DE ESTUDIO</i> .....	29
8.4	<i>METODOLOGÍA</i> .....	30
	A) <i>DETERMINACIONES BIOQUÍMICAS</i> .....	30
	B) <i>DETERMINACIONES HEMATOLÓGICAS</i> .....	31
	C) <i>DETERMINACIÓN DE MARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO</i> .....	33
	D) <i>DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS DE FASE AGUDA</i> .....	37

<i>E) EVALUACIÓN DEL ESTRÉS LABORAL</i> .....	39
<b>8.5 DISEÑO ESTADÍSTICO</b> .....	<b>40</b>
<b>9. <u>RESULTADOS</u></b> .....	<b>40</b>
<b>9.1 DESCRIPCIÓN POBLACIONAL</b> .....	<b>40</b>
<b>9.2 MARCADORES HEMATOLÓGICOS</b> .....	<b>42</b>
<b>9.3 MARCADORES BIOQUÍMICOS</b> .....	<b>43</b>
<b>9.4 MARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO Y PROTEÍNAS DE FASE AGUDA</b> .....	<b>44</b>
<b>9.5 CORRELACIONES ENTRE MARCADORES DE EOX E INFLAMACIÓN</b> .....	<b>50</b>
<b>9.6 ANÁLISIS INTRAPOBLACIONAL</b> .....	<b>50</b>
<b>10. <u>DISCUSIÓN DE RESULTADOS</u></b> .....	<b>54</b>
<b>11. <u>CONCLUSIONES</u></b> .....	<b>58</b>
<b>12. <u>PROPUESTAS</u></b> .....	<b>59</b>
<b>13. <u>REFERENCIAS</u></b> .....	<b>60</b>
<b>14. <u>ANEXOS</u></b> .....	<b>63</b>

## 1. **ABREVIATURAS**

EOx	Estrés oxidativo
EROs	Especies reactivas de oxígeno
NO•	Radical óxido nítrico
ADN	Ácido desoxirribonucleico
TBARS	Especies reactivas al ácido tiobarbitúrico
SOD	Superóxido dismutasa
GPx	Glutación peroxidasa
Cp	Ceruloplasmina
PCR	Proteína C reactiva
Hb	Hemoglobina
PUFA	Ácido graso poliinsaturado
MDA	Malonildialdehído
TBA	Ácido tiobarbitúrico
BHT	Butil-hidroxi-tolueno
DE	Desviación estándar
ANOVA	Análisis de varianza

## 2. RESUMEN

**Antecedentes.** El estrés oxidativo (EOx) es un desequilibrio entre la producción de radicales libres en el organismo y la capacidad de respuesta del sistema antioxidante, este desequilibrio que desempeña un papel importante en gran número de patologías de tipo crónico e inflamatorio, puede ser causado por diversos factores como la edad, el estilo de vida y la presencia de estrés, entre otros. Actualmente en México existen pocos estudios que relacionen el estrés oxidativo con la actividad laboral desempeñada, resulta necesario el establecimiento de la correlación entre marcadores de EOx e inflamación y el tipo de ocupación.

**Objetivos.** Determinar la relación entre los biomarcadores de EOx e inflamación (nitritos, TBARS, SOD, GPx, Cp y PCR) y la actividad ocupacional de distintos grupos (abogados, bomberos y docentes). Determinar si existe influencia del sexo y del estrés laboral sobre los biomarcadores de EOx e inflamación.

**Método.** Se realizó un estudio observacional, prospectivo, transversal y comparativo. La población de estudio constó de 712 trabajadores de ambos sexos, pertenecientes a alguna delegación del Distrito Federal, 113 abogados, 125 bomberos y 474 docentes. Se realizó una toma de muestra para determinar marcadores hematológicos, bioquímicos, de estrés oxidativo (TBARS, nitritos, SOD y GPx) e inflamación (PCR y Cp), también se aplicó el cuestionario de Condiciones de Trabajo y Salud-CONACYT/UNAM1 para determinar la presencia de estrés laboral. Como variable independiente se consideró la actividad laboral, el sexo y la presencia de estrés laboral, y como variables dependientes los valores de los marcadores de EOx e inflamación. El análisis estadístico se realizó comparando los marcadores de interés entre los grupos de estudio, por medio de análisis de varianza de un factor; la comparación poblacional de la actividad enzimática se llevo a cabo con la prueba t de Student. La correlación lineal entre los marcadores de EOx y los de inflamación se determinó utilizando la prueba de Pearson. Para el análisis intrapoblacional se compararon los marcadores de interés en función del sexo, y de la presencia de estrés laboral, empleando la prueba U de Mann Whitney. Se consideraron significantes los resultados con una  $p < 0.05$ .

**Resultados.** Los niveles de nitritos mostraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre abogados ( $2.75 \pm 2.65 \mu\text{g/mL}$ ) y docentes ( $1.88 \pm 1.54 \mu\text{g/mL}$ ), y entre bomberos ( $2.50 \pm 1.75 \mu\text{g/mL}$ ) y docentes. Los lipoperóxidos (TBARS) no mostraron diferencias significativas entre poblaciones, la mayor media fue la de los docentes ( $2.02 \pm 2 \mu\text{M/L}$ ). La actividad enzimática de SOD fue significativamente mayor ( $p < 0.05$ ) en docentes ( $206.11 \pm 63.85 \text{ U/mL}$ ) que en abogados ( $180.69 \pm 40.55 \text{ U/mL}$ ), la actividad de GPx también fue significativamente mayor ( $p < 0.001$ ) en docentes ( $8680.10 \pm 4623.60 \text{ U/L}$ ) que en abogados ( $6245.07 \pm 2822.39 \text{ U/L}$ ). Los marcadores de inflamación no presentaron diferencias significativas entre poblaciones, el valor mayor de Cp fue el de los abogados ( $36.22 \pm 8.15 \text{ mg/dL}$ ) y el mayor valor de PCR lo presentaron los docentes ( $0.34 \pm 1.48 \text{ mg/dL}$ ). El análisis de correlación de Pearson mostró asociaciones positivas entre los siguientes parámetros: Nitritos

y SOD ( $p < 0.05$ ,  $r = 0.201$ ), TBARS y SOD ( $p < 0.001$ ,  $r = 0.319$ ), Cp y SOD ( $p < 0.05$ ,  $r = 0.139$ ); también se observaron relaciones negativas entre los siguientes marcadores: Nitritos y GPx ( $p < 0.001$ ,  $r = -0.228$ ), TBARS y GPx ( $p < 0.001$ ,  $r = -0.297$ ), SOD y GPx ( $p < 0.001$ ,  $r = -0.252$ ), Cp y GPx ( $p < 0.05$ ,  $r = -0.141$ ). El análisis en función del sexo, mostró diferencias significativas solamente en la población de bomberos, siendo mayor la media de nitritos del sexo masculino ( $2.71 \pm 1.90 \mu\text{g/mL}$ ) que del femenino ( $1.92 \pm 0.92 \mu\text{g/mL}$ ), a su vez la media de PCR fue mayor en el grupo de sexo femenino ( $0.48 \pm 0.97 \text{ mg/dL}$ ) que en el grupo masculino ( $0.12 \pm 0.48 \text{ mg/dL}$ ). El análisis de la relación de los parámetros en función del estrés laboral, mostró diferencias significativas en la población de bomberos, donde la media de nitritos en individuos estresados ( $2.61 \pm 1.80 \mu\text{g/mL}$ ) es significativamente mayor ( $p < 0.05$ ) que en los no estresados ( $1.67 \pm 0.76 \mu\text{g/mL}$ ), mientras que en la población de docentes el valor medio de la actividad de SOD es significativamente mayor ( $p < 0.05$ ) en el grupo no estresado ( $216.42 \pm 67.04 \text{ U/mL}$ ) que en el grupo estresado ( $198.78 \pm 61.72 \text{ U/mL}$ ).

**Conclusiones.** Existe relación entre la actividad laboral desempeñada y los niveles de algunos marcadores de EOx, en trabajadores del Distrito Federal, la población de abogados es la que refleja un mayor impacto en los marcadores de EOx. Se encontraron asociaciones positivas entre algunos marcadores prooxidantes y la actividad de SOD, así como algunas relaciones negativas entre marcadores prooxidantes y la actividad enzimática de la GPx. Se observa una tendencia general en la población masculina a presentar un aumento en los marcadores de EOx y disminución en la defensa antioxidante, respecto a la población femenina. Del mismo modo se observa una tendencia en la población no estresada a presentar bajos niveles en los marcadores de EOx y un aumento en la actividad enzimática antioxidante respecto a la población estresada.

### **3. INTRODUCCIÓN**

El estrés oxidativo (EOx) es un estado donde se pierde el equilibrio entre especies prooxidantes (generalmente radicales libres de oxígeno) y especies antioxidantes en el organismo, y ha pasado en los últimos años de ser un proceso ligado a los mecanismos de respiración celular y de defensa contra varios tipos de microorganismos patógenos, a ser visto como un componente clave en diversos tipos de patologías (tanto crónicas como agudas). Si bien no se puede decir que sea la causa de tales enfermedades, hay evidencias de que puede potenciar el daño y predisponer al organismo a otros tantos padecimientos.

Los principales daños que produce el EOx, están encaminados al daño molecular de lípidos, proteínas y ADN, biomoléculas indispensables para la vida, que al sufrir alteraciones estructurales, también experimentan una funcionalidad errática, capaz de comprometer la integridad celular. Existen varios factores que favorecen este desequilibrio, dentro de los más relevantes se encuentran la edad, el sexo, la exposición a agentes contaminantes o mutagénicos, el realizar actividades físicas extenuantes por largos periodos de tiempo o de manera irregular, el tabaquismo, el alcoholismo, el consumo de drogas y el estrés psicológico.

La cuantificación de los biomarcadores de estrés oxidativos e inflamación, ya sea por métodos inmunológicos, espectrofotométricos o enzimáticos, resulta una herramienta sumamente útil, en la evaluación del daño causado por el estrés oxidativo y proceso inflamatorio concomitante. Entre los biomarcadores de estrés oxidativo destacan: a) la concentración de nitritos, que refleja la síntesis de óxido nítrico en el organismo, b) la concentración de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS), que refleja el nivel de peroxidación de lípidos, c) concentración de las enzimas antioxidantes glutatión peroxidasa (GPx) y superóxido dismutasa (SOD), que representan dos de los principales mecanismos de defensa antioxidante.

Paralelamente a las manifestaciones de daño oxidativo, se ha podido observar una correlación entre los marcadores de este proceso y los marcadores biológicos de inflamación, particularmente de las proteínas de fase aguda: ceruloplasmina (Cp) y proteína C reactiva (PCR), en el caso de la ceruloplasmina, se le ha vinculado fuertemente al proceso de producción de radicales libres que estimula el EOx, mientras que la PCR se encuentra asociada a indicadores de daño cardiovascular, pero su producción también puede ser inducida por incrementos en los niveles de radicales libres de oxígeno.

También se ha logrado realizar la asociación entre los biomarcadores ya mencionados y algunas actividades laborales, como aquellas donde se permanece de pie durante periodos prolongados, se sufre de privación del sueño, así como de sometimiento a un fuerte estrés psicológico, típicamente inducido por las actividades laborales.

Hoy en día, en las grandes ciudades como el Distrito Federal, es prácticamente imposible evitar ponerse en contacto con factores que pueden causar estragos

oxidativos en el organismo, ya sean de tipo social, psicológico, alimenticio o ambiental; dado que actualmente existen pocos estudios enfocados en la evaluación de este tipo de daño en la población laboral mexicana, resulta necesario el establecimiento de la correlación entre marcadores de EOX, inflamación y el tipo de ocupación.

## 4. MARCO TEÓRICO

### 4.1 *PRODUCCIÓN DE RADICALES LIBRES EN LA CADENA RESPIRATORIA*

Un radical libre es definido como cualquier especie que contiene uno o más electrones no apareados, dichas moléculas son altamente reactivas, por lo que en las últimas décadas se ha investigado el daño causado a lípidos, proteínas y al material genético, por este tipo de especies químicas, las cuales son generadas en gran parte durante la cadena de transporte electrónico mitocondrial, a través de reacciones de oxido-reducción que involucran al oxígeno y otras biomoléculas, estas reacciones dan origen a un grupo de productos conocidos como especies reactivas de oxígeno (EROs). Las EROs pueden causar alteraciones oxidativas, que se han visto implicadas en la etiología o patología de más de cien enfermedades diferentes, entre las que se encuentran distintos tipos de cáncer, enfermedades cardíacas, vasculares, diabetes y desórdenes neurodegenerativos. <sup>1</sup>

Las EROs pueden agruparse de manera general en dos grandes grupos:

- a) Radicales libres de oxígeno, en los que se incluyen el superóxido, hidroxilo, peroxilo e hidroperoxilo.
- b) Agentes oxidantes no radicales, como el peróxido de hidrógeno, ozono e hipoclorito, los cuales pueden ser convertidos rápidamente en radicales libres de oxígeno. <sup>2</sup>

En el interior de la mitocondria, específicamente en las crestas mitocondriales, se genera la mayor parte de la energía celular a través de la oxidación aeróbica de sustratos, mediante la cadena de transporte de electrones. En este sitio se genera un potencial reductor debido a la capacidad del NADH (nicotinamida adenina dinucleótido) y del FADH<sub>2</sub> (fosfato de nicotinamida adenina dinucleótido) para ceder electrones a cuatro complejos proteínicos (I, II, III y IV), los cuales se unen entre sí por medio de dos moléculas móviles (el citocromo *c* y la ubiquinona). Los complejos I (NADH-Q reductasa), III (QH<sub>2</sub>-citocromo *c* reductasa) y IV (citocromo *c* oxidasa) participan en la oxidación del NADH, produciendo tres ATP por cada NADH, mientras que los complejos II (succinato-Q-reductasa), III y IV generan dos ATP por cada molécula oxidada de FADH<sub>2</sub>. El intercambio electrónico entre estas especies involucradas en la cadena de transporte, da como resultado el bombeo de protones desde la matriz mitocondrial hacia el exterior, generando así un gradiente de cargas.

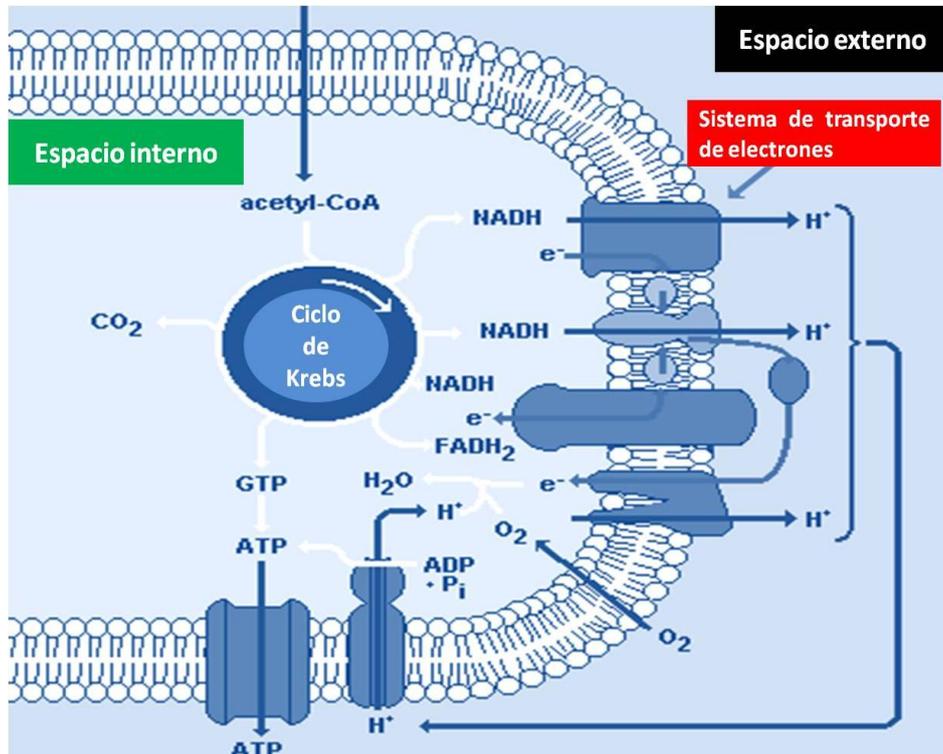
Dos electrones del NADH son transferidos al FMN (Flavín mononucleótido) del complejo I, que se reduce a FMNH<sub>2</sub> tomando un protón de la matriz, el FMNH<sub>2</sub> a su vez transfiere los electrones a una agrupación hierro azufre (Fe-S), reduciendo el Fe<sup>+3</sup> a Fe<sup>+2</sup>, del mismo modo el Fe<sup>+2</sup> cede los electrones a la ubiquinona (Q), que se reduce hasta ubiquinol (QH<sub>2</sub>) tomando dos protones del medio. El QH<sub>2</sub> transporta los electrones uno a uno hasta el complejo III, concretamente al citocromo *b*, que posee un grupo hemo con un átomo de Fe<sup>+3</sup> que se reduce a Fe<sup>+2</sup> por la transferencia electrónica, este átomo de Fe<sup>+2</sup> cede el electrón al citocromo *c*<sub>1</sub>, el cual a su vez transporta el electrón hasta el citocromo *c*, que se encuentra fuera del complejo III. El citocromo *c* moviliza los electrones hasta un átomo de

cobre de un grupo hemo, dentro del complejo IV; posteriormente los electrones son transferidos a otro átomo de cobre del citocromo  $a$ , de aquí los electrones se transfieren al citocromo  $a_3$ , que finalmente los cede al oxígeno.

El complejo IV funciona como una bomba que interviene en la formación de agua, para lo cual son necesarios los electrones y los protones bombeados, que se producen durante el proceso de transporte. Cada que el NADH se oxida, cede dos electrones capaces de reducir un átomo de oxígeno, por lo que se requiere de dos moléculas de NADH para que sean cedidos cuatro electrones y se generen dos moléculas de agua.

Los electrones que cede el  $FADH_2$  provienen del ciclo de Krebs, los electrones pasan a una agrupación Fe-S y posteriormente a la Q, que a su vez los transporta al complejo II, desde este paso el proceso de transporte de electrones es igual que el descrito para el NADH, con la diferencia de que el complejo II no transporta protones a través de la membrana mitocondrial.

El gradiente de cargas (generado por el bombeo de protones al exterior de la matriz y la acumulación de cargas negativas el interior), permite la producción de agua y genera un potencial motriz capaz de activar el complejo V (ATP sintasa), este complejo posee un poro permeable a los protones, permitiendo el paso de los mismos al interior de la matriz, por cada tres protones que pasan, se activa el complejo enzimático ATP sintasa, que permite la unión de una molécula de ADP y un átomo de fósforo, para generar una molécula de ATP. Este proceso de formación de ATP se conoce como fosforilación oxidativa. <sup>3,4</sup>

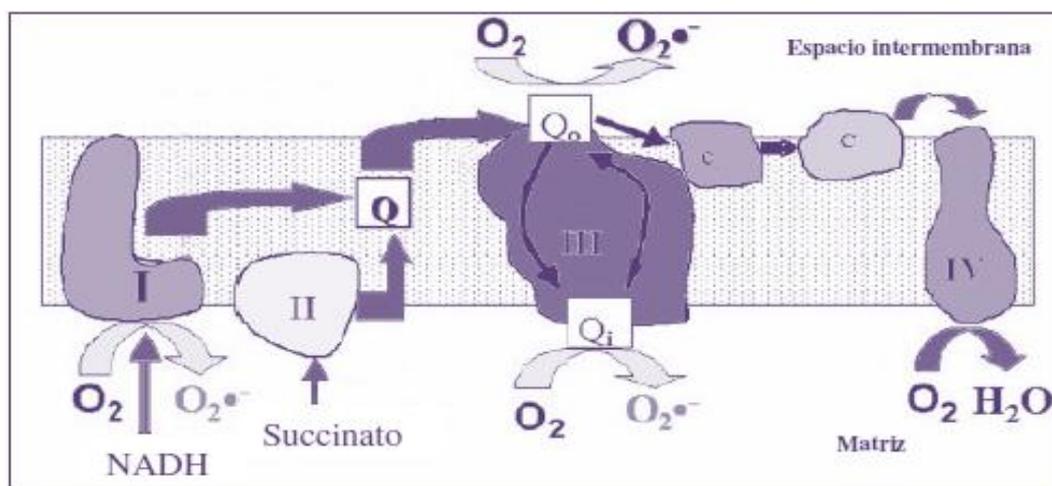


**Figura 1.** Esquemización del transporte de electrones y la fosforilación oxidativa en la mitocondria. (Modificado de Hipertextos del Área de la Biología) <sup>5</sup>

Se estima que del 2 al 4% del oxígeno consumido, en la cadena de transporte mitocondrial, no se reduce a agua por acción de la citocromo oxidasa, si no que se forma el anión semiquinona (SQ), que puede transferir uno o dos electrones al oxígeno molecular, para generar varias especies reactivas de oxígeno. El producto de la ganancia de un electrón por parte del oxígeno, es el radical superóxido ( $O_2^{\bullet}$ ), generado dentro de las mitocondrias o por enzimas citoplasmáticas como la xantina oxidasa, las NADPH/NADH oxidasas, la acil CoA oxidasa (enzimas que se activan en procesos fisiológicos que favorecen la producción de EROs), los citocromos p-450 y pequeñas moléculas autooxidables como las catecolaminas y las quinonas. <sup>6</sup>

Durante la dismutación del superóxido se transfieren dos electrones al oxígeno, el producto obtenido es el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), aunque esta molécula no es un radical es altamente reactiva, lo que la convierte en un oxidante citotóxico. Las células fagocíticas del sistema inmunológico, generan una importante cantidad de  $H_2O_2$ , mediante la NADPH oxidasa unida a membranas.

Algunos complejos de hierro y cobre son capaces de transferir un tercer electrón al  $H_2O_2$ , en la denominada reacción de Fenton, durante la cual se rompe el enlace O-O, reduciendo un fragmento hasta formar agua, mientras que el otro fragmento se transforma en el radical hidroxilo ( $HO^{\bullet}$ ), uno de los oxidantes más potentes. <sup>2,7</sup> La velocidad de formación de superóxido puede aumentar a la par de la concentración de oxígeno y puede darse en la membrana mitocondrial externa, en la matriz y a ambos lados de la membrana interna.



**Figura 2.** Representación de los principales sitios de generación de EROs, en la cadena de transporte de electrones. (Tomado de Gonzalo SR, 2005) <sup>3</sup>

## 4.2 ESTRÉS OXIDATIVO

El estrés oxidativo (EOx) es un estado en el cual existe un desbalance intracelular a favor de las especies prooxidantes, este estado generalmente se debe a que las defensas antioxidantes naturales se encuentran sobrepasadas por la cantidad de EROs producidas, esta pérdida del equilibrio oxido-reducción provoca daños estructurales a importantes biomoléculas (proteínas, lípidos y material genético), afectando su funcionalidad dentro de los procesos metabólicos normales.

El estrés oxidativo ha sido considerado un proceso de daño celular derivado del metabolismo aerobio, hoy en día su trascendencia clínica ha sido reconocida de forma progresiva hasta el punto de que es considerado uno de los componentes centrales de múltiples procesos patológicos. <sup>8</sup>

Ya sea de manera aguda o crónica, el estrés oxidativo afecta a una amplia variedad de funciones fisiológicas y está implicado en enfermedades humanas degenerativas como aterosclerosis, diabetes, enfermedades inflamatorias (artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria intestinal y pancreatitis), enfermedades neurológicas (Parkinson y Alzheimer), hipertensión arterial, enfermedades oculares y padecimientos pulmonares, entre otros. Esta implicación no significa que las especies reactivas de oxígeno desempeñen siempre un papel directo en el desarrollo de la enfermedad. De hecho, las especies reactivas predisponen al organismo a enfermedades causadas por otros agentes. En muchos casos, el daño oxidativo es más una consecuencia del daño tisular que produce la enfermedad que una causa del mismo y puede entonces contribuir a empeorar el daño generado. <sup>8-12</sup>

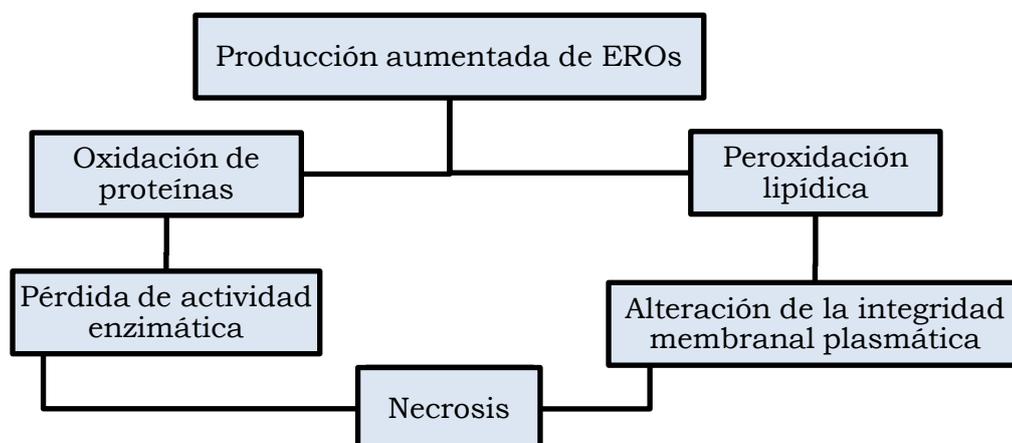
**Cuadro 1.** Indicadores de EOX alterados en patologías de tipo degenerativo. (Modificado de Pérez de la Cruz A, 2008) <sup>8</sup>

<b>Patología</b>	<b>Marcadores de EOX Alterados</b>	<b>Daño asociado a EOX</b>
Diabetes	Aumento en la peroxidación lipídica, disminución en la actividad de la enzima catalasa, aumento en la tasa de oxidación de proteínas	La sobreproducción de EROs promueve daños a nivel vascular, ocular y de sistema nervioso
Parkinson	Aumento en la oxidación de proteínas y lípidos	Alteración en la función neuronal
Alzheimer	Aumento en la oxidación proteínica	Destrucción neuronal asociada a alteraciones de lípidos y proteínas de la membrana
Ateroescclerosis	Aumento en la producción de NO, aumento en la peroxidación lipídica	Formación acelerada de la placa ateromatosa a causa de alteraciones en el tejido vascular
Infarto al miocardio	Aumento en la peroxidación lipídica y NO, después del episodio cardiaco	Daño a membranas celulares de miocitos

- ❖ **Daño oxidativo a proteínas.** Las EROs pueden llegar a oxidar las cadenas laterales de los residuos de aminoácidos de las proteínas y formar uniones proteína-proteína o fragmentar el esqueleto de la proteína. El principal marcador de oxidación en las proteínas es la formación de grupos carbonilo (CO), que son aldehídos y cetonas. Entre todos los residuos de aminoácidos de las proteínas susceptibles a oxidarse, los residuos de prolina arginina, lisina y treonina, son los que con más frecuencia dan lugar a la formación de grupos carbonilo.

Además de las reacciones directas entre los grupos carbonilo y los EROs, dichos grupos pueden ser introducidos en una proteína por reacciones con aldehídos producidos durante la peroxidación de lípidos, por tanto debe tenerse en cuenta que la presencia de grupos carbonilos en proteínas no es necesariamente indicativa de la oxidación de los residuos de aminoácidos.

- ❖ **Daño oxidativo al ADN.** El ADN mitocondrial (ADNmt) se encuentra en la matriz mitocondrial, muy cercano a la membrana mitocondrial interna. Debido a su proximidad a la cadena de transporte electrónico, donde se originan las EROs en la célula, es muy susceptible de padecer lesiones oxidativas. El daño oxidativo observado en el ADNmt puede ser en forma de modificaciones en las bases o ruptura de una o de las dos hebras de ADN. Uno de los primeros marcadores utilizados para saber si el ADN está oxidado, fue la medición de los niveles de 8-hidroxideoxiguanosina (8-OH-dG), que se forma cuando la deoxiguanosina (dG) es atacada por el radical hidroxilo.
- ❖ **Daño oxidativo a lípidos.** Los fosfolípidos de la membrana son muy vulnerables al ataque de EROs debido a la susceptibilidad de las cadenas poliinsaturadas. Esto puede provocar cambios en la fluidez y permeabilidad de la membrana, perjudicando su habilidad para mantener gradientes iónicos a través de ella. Este proceso será detallado más adelante. <sup>3</sup>

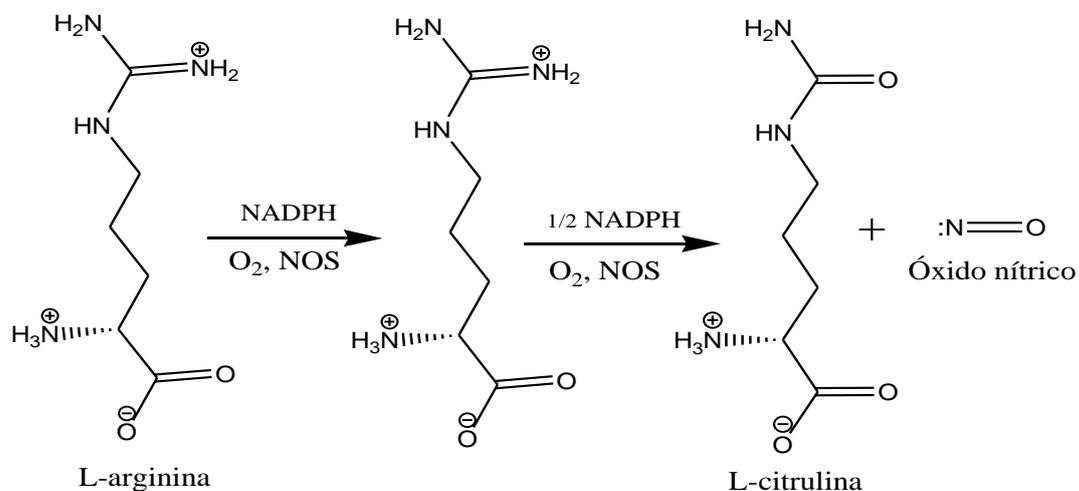


**Figura 3.** Representación esquemática del daño celular causado por las EROs. (Modificada de Gonzalo SR, 2005) <sup>3</sup>

### 4.3 ÓXIDO NÍTRICO

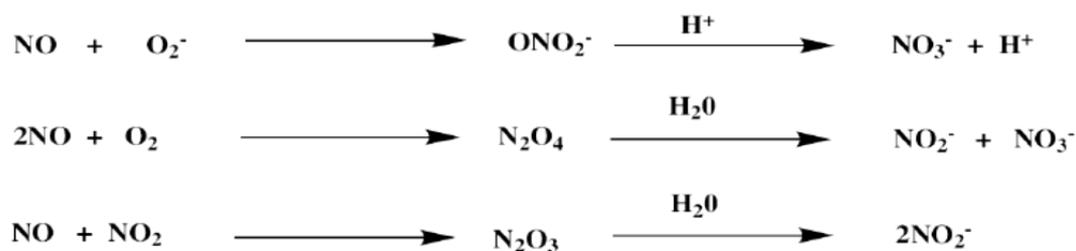
El óxido nítrico (NO) es una molécula pequeña compuesta por un átomo de nitrógeno y uno de oxígeno, dentro de su estructura contiene un electrón desapareado, lo que lo convierte en un radical; el NO es producido por gran variedad de células, incluyendo endotelio vascular, neuronas, células de músculo liso, macrófagos, neutrófilos, plaquetas y epitelio pulmonar. La generación de NO depende de la actividad enzimática de la óxido nítrico sintasa (NOS, E.C. 1.14.13.39), de la cual existen tres isoformas: la tipo I es de origen neuronal (nNOS), la tipo II es de naturaleza inducible (iNOS) y la tipo III es de origen endotelial (eNOS). Las isoformas tipo I y III se denominan constitutivas ya que se producen continuamente en forma inactiva, que es activada por el  $\text{Ca}^{+2}$ /calmodulina; la isoforma tipo II se produce en macrófagos alveolares, células epiteliales de la vía aérea y en neutrófilos, sólo cuando las células son inducidas por endotoxinas, citocinas y otros inmunoestimulantes, o bien en casos de hipoxia y estrés oxidativo.

Las tres isoformas de NOS, catalizan la reacción de oxidación de la L-arginina, hasta generar L-citrulina y NO, como productos finales, la reacción se desarrolla en proporción 1:1 y utiliza NADPH (adenina dinucleótido fosfato de nicotinamida) como fuente de electrones: <sup>14, 15</sup>



**Figura 4.** Reacción de síntesis del óxido nítrico, catalizada por la enzima NOS. (Modificada de Zhang, 2001) <sup>15</sup>

Al ser sintetizado, el NO tiene un corto periodo de vida (de 2 a 30 segundos), después del cual se descompone en nitrito (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>).



**Figura 5.** Reacciones de degradación del NO. (Modificada de Zhang, 2001) <sup>15</sup>

Dentro del organismo el NO ejerce varios efectos, algunos son benéficos como la regulación de la vasodilatación, la inhibición de la adhesión/agregación plaquetaria, destrucción de patógenos (llevada a cabo por macrófagos y neutrófilos). Otros son efectos perjudiciales, tal como la peroxidación de lípidos, la fragmentación de cadenas polipeptídicas por vías oxidativas y la alteración en el ADN al reaccionar con la tiamina, produciendo rupturas en las cadenas del material genético, estos efectos negativos se asocian principalmente a la presencia de grandes cantidades de NO y de radical superóxido, que al reaccionar producen el radical conocido como peroxinitrilo. <sup>2, 16, 17</sup> La formación espontánea de peroxinitrilo puede ser prevenida por la acción de la enzima superóxido dismutasa (SOD), que inhibe el daño potencial al regular la actividad del radical superóxido.

En analogía al término “estrés oxidativo”, se ha denominado “estrés nitrosativo”, a la producción descontrolada del radical óxido nítrico (NO•) y especies reactivas del nitrógeno (ERN) derivadas del mismo. <sup>1</sup>

Debido a los efectos fisiológicos del NO, especialmente aquellos que promueven el estrés oxidativo, resulta de sumo interés la cuantificación de sus niveles sanguíneos, sin embargo la determinación del NO *per se* resulta complicada y costosa por lo que comúnmente se prefiere el ensayo de sus metabolitos reducidos, los nitratos (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) y nitritos (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) como indicadores de la producción del NO en el organismo. <sup>18, 19</sup>

#### **4.4 PEROXIDACIÓN LIPÍDICA**

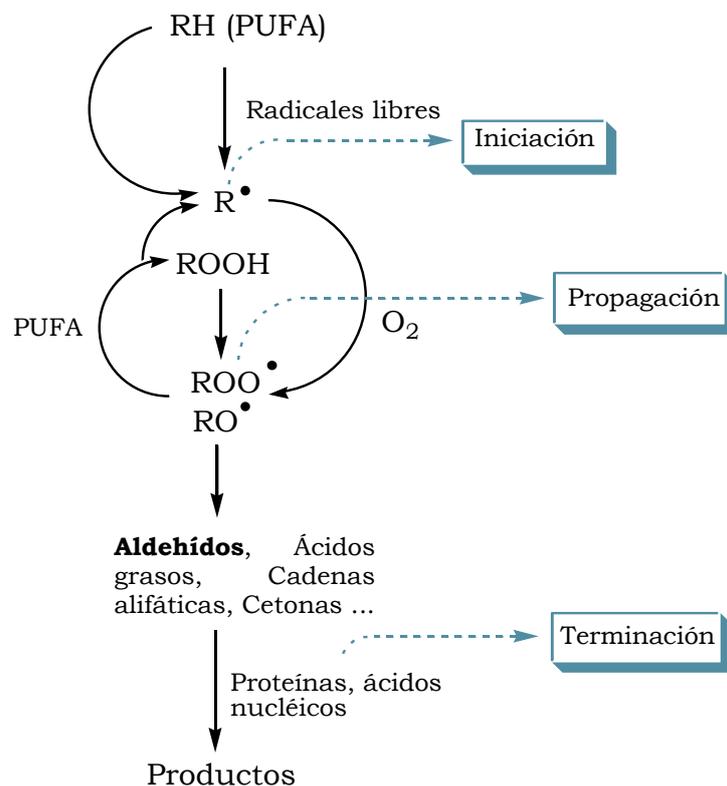
El daño oxidativo en lípidos mediado por EROs se denomina peroxidación lipídica. Este proceso de alteración estructural de los lípidos puede ser dividido para su comprensión en tres etapas:

**1. Iniciación.** Un radical libre ataca a un carbono de la cadena alifática de un ácido graso, ocurre la sustracción del hidrógeno del grupo metileno (-CH<sub>2</sub>-) unido a un carbono flanqueado por dobles enlaces de un ácido graso poliinsaturado (PUFA), con la formación de un radical alquílico (R•). Los radicales formados se estabilizan por resonancia con el doble enlace.

**2. Propagación.** El radical formado en la fase de inicio reacciona con oxígeno molecular (O<sub>2</sub>) para formar un radical peroxilo (ROO•) que puede sustraer un

hidrógeno de otro PUFA formando un lipoperóxido (ROOH) y un radical R<sup>•</sup>, iniciando de este modo una reacción en cadena.

**3. Terminación.** Los lipoperóxidos formados se descomponen en etano, pentano, aldehídos reactivos y cetonas. Los aldehídos formados, como el malonildialdehído y el 4-hidroxinonenal pueden reaccionar con proteínas y ácidos nucleicos, lo que determina efectos citotóxicos, genotóxicos y mutagénicos, así como un papel patogénico en varias enfermedades. **3, 20, 21**



**Figura 6.** Esquemización de las reacciones de peroxidación lipídica. (Modificada de Kikugawa K, 2004) <sup>21</sup>

El grado de peroxidación lipídica en el organismo puede ser evaluado midiendo los siguientes biomarcadores:

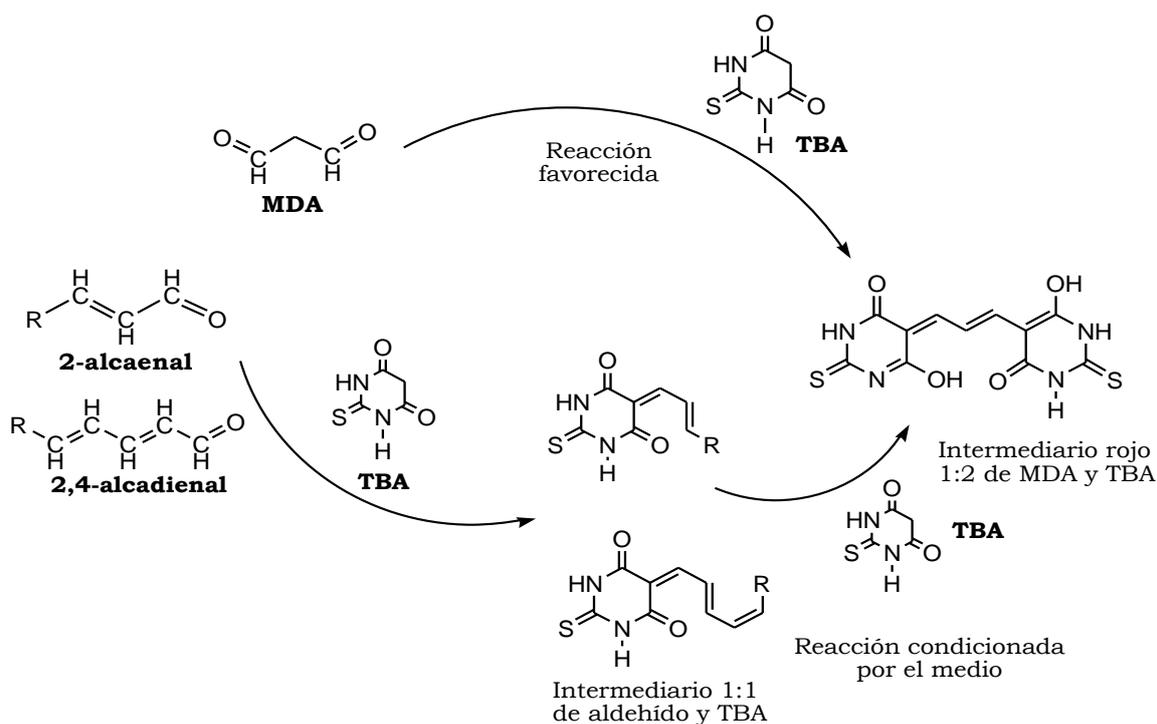
**a) Alcanos exhalados.** Se ha demostrado una correlación entre el tipo de PUFA y el tipo de alcano exhalado en mayor proporción, los ácidos grasos más frecuentes en la membrana son el ω-3 y el ω-6, por tanto el etano y el pentano son los alcanos que se miden con mayor frecuencia, la determinación se realiza por cromatografía de gases.

**b) Isoprostanos.** Son sustancias parecidas a las prostaglandinas que se producen *in vivo* independientemente de la actividad de las ciclooxigenasas, principalmente por la peroxidación inducida sobre el ácido araquidónico. Los F2 isoprostanos son un grupo de 64 compuestos, que se consideran el mejor biomarcador de peroxidación lipídica ya que: son químicamente estables, son productos específicos de la peroxidación, están presentes en cantidades detectables en todos los tejidos y fluidos biológicos, y no se ven afectados por el

aporte de lípidos en la dieta. A pesar de que existen inmunoensayos comerciales disponibles, estos tienen la desventaja de ser poco específicos, por lo que se han generado alternativas que se basan en la cromatografía de líquidos de alta resolución.

**c) Productos aldehídicos.** Las reacciones de propagación asociadas con la peroxidación lipídica son acompañadas usualmente por la formación de gran variedad de productos carbonílicos. Después de la peroxidación de los ácidos grasos  $\omega$ -6 y  $\omega$ -3, los hidroperóxidos de ácidos grasos inestables pueden ser convertidos por escisión consecutiva, rearrreglo y oxidación en compuestos de carbonilos más estables. Entre estos se encuentran: n-alquenos, 2,4-alcadienos, alcatrienos,  $\alpha$ -hidroxialquenos, hidroperoxialquenos, malonildialdehído (MDA),  $\alpha$ -dicarbonilos, cetonas insaturadas, alcanos y alquenos.

Dentro de los productos aldehídicos más empleados para estimar la peroxidación lipídica se encuentra el MDA, el cual se determina con el ensayo del ácido tiobarbitúrico (TBA), sin embargo dado que otros compuestos reaccionan con el TBA, se reportan los resultados como TBARS (sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico). <sup>22, 23</sup>



**Figura 7.** Reacciones entre los principales productos aldehídicos de la peroxidación lipídica y el TBA. (Modificado de Kikugawa K, 2004) <sup>21</sup>

#### 4.5 DEFENSAS ANTIOXIDANTES

Los sistemas de defensa antioxidante son esenciales para depurar el organismo de las EROs producidas, los antioxidantes pueden definirse como sustancias que directa o indirectamente, protegen a las células contra los efectos adversos de xenobióticos, drogas, carcinógenos y reacciones tóxicas mediadas por radicales

libres. Las sustancias antioxidantes pueden destruir directamente el anión superóxido u otros radicales libres, o pueden estimular los mecanismos de detoxificación dentro de las células, previniendo así el desarrollo de numerosos procesos patológicos. Los seres humanos han desarrollado un sistema de protección antioxidante complejo, que involucra una variedad de componentes tanto de origen endógeno como exógeno, que funcionan interactivamente y sinérgicamente para neutralizar radicales libres. <sup>3, 24</sup> Entre estos componentes se incluyen:

**\*Antioxidantes derivados de nutrientes** como la vitamina A, el ácido ascórbico (vitamina C), que reducen la peroxidación lipídica y los niveles de peróxido de hidrógeno. Los tocoferoles y tocotrienoles (vitamina E), son antioxidantes liposolubles que contribuyen a disminuir la peroxidación lipídica. También son importantes los carotenoides y otros compuestos de bajo peso molecular tales como el glutatión (con una gran distribución y alta concentración), así como el ácido lipoico.

**\*Proteínas** que se enlazan a metales, tales como ferritina, lactoferrina, albúmina y ceruloplasmina, estas proteínas secuestran iones libres de hierro y cobre que son capaces de catalizar reacciones oxidativas, como la Fenton.

**\*Otros compuestos**, como pueden ser la melatonina y los estrógenos, que aunque tienen una capacidad antioxidante limitada, se encuentran en concentraciones elevadas en el plasma.

**\*Enzimas antioxidantes** como la superóxido dismutasa, la glutatión peroxidasa y la glutatión reductasa, que actúan catalizando reacciones de inactivación de radicales libres. Por su velocidad de reacción y su especificidad, las enzimas antioxidantes, constituyen una línea de defensa indispensable contra los radicales libres, así mismo los cambios en la concentración o actividad enzimática, son marcadores útiles de EOx. <sup>22</sup>

**Cuadro 2.** Principales componentes del sistema de protección antioxidante. (Modificado de Percival M, 1998) <sup>24</sup>

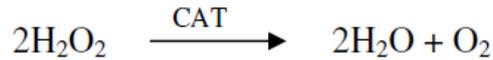
Antioxidantes endógenos	Antioxidantes en la dieta	Proteínas que se enlazan a metales
NADPH Y NADH*	Vitamina C	Albúmina (cobre)
Glutatión	Vitamina B12	Ceruloplasmina (cobre)
Superóxido dismutasa	Vitamina E	Ferritina (hierro)
Catalasa	β-Caroteno	Transferrina (hierro)
Glutatión peroxidasa	Polifenoles	Mioglobina (hierro)
	Ácido fólico	

\* NADH (nicotinamida adenina dinucleótido), NADPH (nicotinamida adenina fosfodinucléotido).

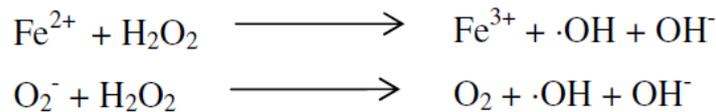
#### 4.6 PRINCIPALES ENZIMAS ANTIOXIDANTES

##### ❖ Catalasa (EC 1.11.1.6)

La catalasa es una enzima formada por cuatro subunidades proteínicas idénticas de 60 KDa, unidas a un grupo hemo en el sitio activo, cada subunidad generalmente contiene una molécula de NADPH la cual le da estabilidad y se sugiere, la protege de la oxidación. Esta enzima reacciona con el peróxido de hidrógeno para formar agua y oxígeno molecular:

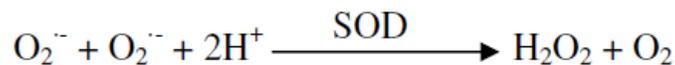


La catalasa se encuentra en los peroxisomas celulares y en el citoplasma, en hepatocitos y eritrocitos, aunque puede encontrarse en menor proporción en células cerebrales, cardíacas y en miocitos. Está presente en casi todos los organismos aeróbicos y tiene la función de proteger a la célula ante los efectos tóxicos del peróxido de hidrógeno, pues cuando se elevan los niveles de éste, puede incrementarse el nivel de radicales hidroxilo, mediante las reacciones de Fenton y Haber Weiss:



##### ❖ Superóxido dismutasa (EC 1.15.1.1)

La superóxido dismutasa (SOD) fue descubierta en 1968 por MacCord y Fridovich, esta enzima cataliza la conversión del radical libre superóxido a peróxido de hidrógeno, que a su vez puede ser eliminado por la catalasa o la glutatión peroxidasa. La reacción que cataliza esta enzima es la siguiente y se da con la participación del ión metálico que contiene:



Otra función de la superóxido dismutasa es proteger a ciertas enzimas de la inactivación por el radical superóxido, por ejemplo la 6-fosfogluconato deshidratasa.

En los seres humanos se han encontrado tres formas de la enzima: la citosólica (Cu/Zn-SOD), la mitocondrial (Mn-SOD) y la extracelular (EC-SOD)

##### a) Cu, Zn-SOD (SOD-1)

Está formada por dos subunidades idénticas de aproximadamente 32 KDa y cada una contiene en su centro activo un átomo de zinc (que da estabilidad a la enzima) y uno de cobre. La SOD-1 se suele encontrar en el citoplasma de la célula, es altamente estable y relativamente fácil de aislar, algunos estudios

recientes sugieren que también puede encontrarse en el espacio intermembranal de las mitocondrias.

b) Mn-SOD (SOD-2)

Se caracteriza por ser un homotetrámero de 96 KDa que contiene un átomo de manganeso por subunidad. El átomo de manganeso cambia su valencia durante la dismutación del anión superóxido de forma cíclica (de  $Mn^{3+}$  a  $Mn^{2+}$  y otra vez a  $Mn^{3+}$ ). Esta enzima tiene un pH óptimo de 7, no se inhibe por cianuro y es la forma más termolábil.

c) EC-SOD (SOD-3)

La SOD extracelular es una glicoproteína enzimática de estructura tetramérica, contiene al igual que la SOD-1 un átomo de cobre y otro de zinc, su peso molecular es de unos 135 KDa. Se encuentra en los espacios intersticiales de tejido y en los fluidos extracelulares, es la principal fuente de actividad SOD en plasma, linfa y fluido sinovial.

❖ **Glutación Peroxidasa (EC 1.11.1.19)**

Cataliza la reducción de una amplia variedad de hidroperóxidos (ROOH) y peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) utilizando glutación reducido (GSH), que se oxida a disulfuro de glutación (GSSG):



El glutación reducido consumido por la actividad de la glutación peroxidasa (GPx), es producido nuevamente por acción de otra enzima, la glutación reductasa que a su vez necesita del cofactor NADPH. La vía principal de producción de NADPH es la vía de las pentosas, por lo que también es necesaria su activación. En mamíferos existen por lo menos cinco isoenzimas de la GPx, aunque su expresión es generalizada, los niveles de cada isoforma varían de un tejido a otro:

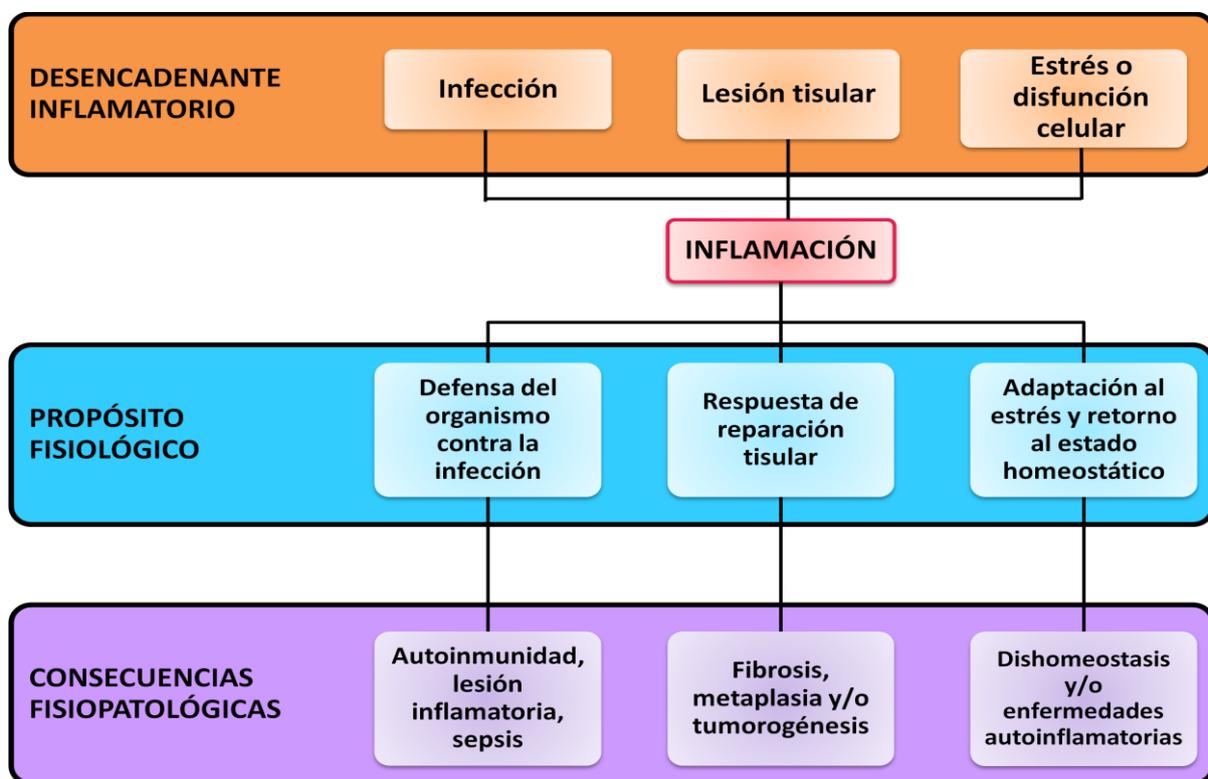
a) GPx no selenio dependiente, son isoenzimas de la glutación-S-transferasa, que no utilizan ni  $H_2O_2$ , ni terbutilhidroperóxido como sustratos.

b) GPx selenio dependientes, son enzimas tetraméricas que se encuentran tanto en citoplasma como en la mitocondria, de estas existen a su vez cuatro tipos.

Es importante la determinación del porcentaje de glutación no oxidado, ya que el estrés oxidativo está fuertemente impactado por la concentración de glutación reducido (GSH) y glutación oxidado (GSSG), la razón de GSH a GSSG es mayor, si por el contrario existe menor concentración de GSH, se acumula una cantidad tóxica de  $H_2O_2$ , así mismo se da un incremento en la concentración de  $Ca^{+2}$  celular, causando una activación de enzimas (como la NOS), proteasas y lipasas dependientes de calcio, que pueden provocar apoptosis o necrosis. **2, 3, 22, 25**

#### 4.7 PRINCIPALES CARACTERÍSTICAS DEL PROCESO INFLAMATORIO

La inflamación es la respuesta del organismo, al daño causado a sus células y tejidos vascularizados, la inflamación no puede ser considerada únicamente como una reacción inmune, ya que no se desencadena únicamente por la presencia de una infección, sino también por un traumatismo, quemaduras por agentes físicos y químicos, laceraciones, obstrucción vascular entre otras. Sin embargo las reacciones inmunes e inflamatorias se relacionan íntimamente, muy a menudo se promueven y favorecen entre sí. La inflamación se caracteriza por la manifestación de calor, rubor, tumefacción y dolor después de un traumatismo celular o tisular, dichos síntomas se presentan en el sitio afectado y los tejidos circundantes. Aunque es dolorosa, en condiciones normales la inflamación es una respuesta reparadora. <sup>26,27</sup>



**Figura 8.** Diferentes vías de activación del proceso inflamatorio, sus propósitos y consecuencias patológicas. (Modificada de García BP, 2008) <sup>27</sup>

La respuesta inflamatoria está controlada por moléculas conocidas como mediadores inflamatorios, dentro de estos se encuentran proteínas, péptidos, y compuestos orgánicos pequeños. Dichos mediadores provienen de tres fuentes principales:

- 1) Secretados por el individuo (histamina, prostaglandinas, leucotrienos, factor activador de plaquetas, NO, quimiocinas como la IL-8 y citocinas proinflamatorias como las IL-1, IL-6, TNF $\alpha$ , IFN $\alpha$ , IFN $\beta$ ).
- 2) Productos intermediarios de las vías activadas por trauma tisular, como la cascada de coagulación y del complemento.

- 3) Macromoléculas de origen microbiano como los lipopolisacáridos, residuos de manosa y oligopéptidos N-formilados.

El cuerpo cuenta con una serie de mecanismos capaces de neutralizar los efectos negativos de agentes estresantes en el proceso inflamatorio crónico, dentro de estos se encuentran:

- 1) A nivel **molecular**: mecanismos reparadores de ADN, proteínas reparadoras de golpe de calor (HSP, heat shock proteins), así como sistemas detoxificantes y antioxidantes.
- 2) A nivel **celular**: apoptosis y muerte autofágica, fagocitosis de células dañadas, marcadores de senectud celular y reemplazo de células muertas.
- 3) A nivel **sistémico**: respuestas inmunológicas e inflamatorias, respuesta al estrés y respuestas neuroendócrinas.<sup>26</sup>

Existe una relación del estrés oxidativo con varios procesos inflamatorios involucrados en el deterioro del sistema cardiovascular, como son la formación de la placa de ateroma y la disfunción endotelial, propiciando la aparición de enfermedades cardiovasculares. La disfunción endotelial y alteraciones en los niveles de NO favorecen el desequilibrio redox en el entorno vascular, así como los procesos de EOX, por lo que la sobreproducción de EROs puede contribuir al desarrollo de patologías como aterosclerosis, hipertensión arterial, infarto al miocardio, etc.<sup>28</sup>

#### **4.8 PROTEÍNA C REACTIVA (PCR)**

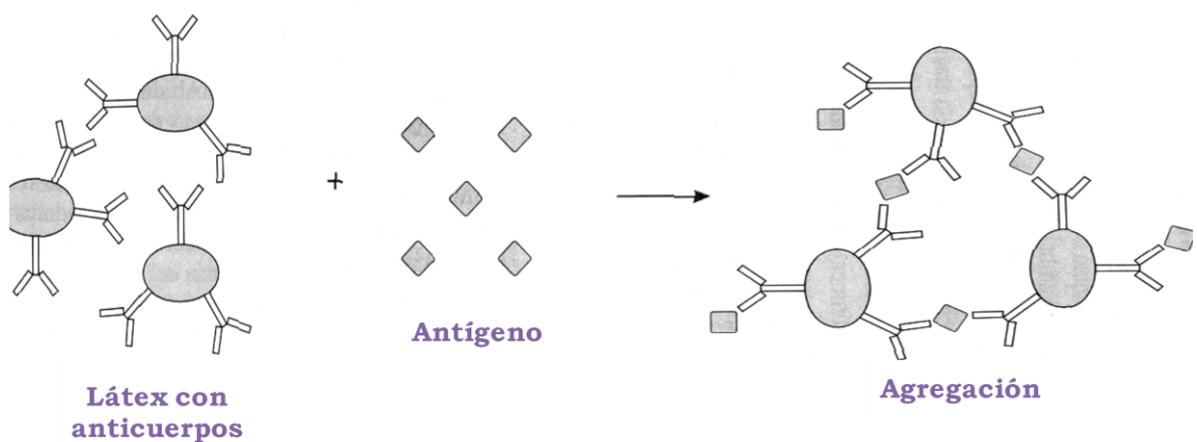
En la respuesta inmune de fase aguda, intervienen moléculas de naturaleza muy diversa, entre las que destacan los anticuerpos, las citocinas y algunas proteínas que aumentan su concentración sérica en el transcurso de una infección o inflamación, por lo que se denominan proteínas de fase aguda, éstas son producidas principalmente por el hígado durante la respuesta inmune, los hepatocitos son expuestos a varias citocinas, principalmente la interleucina 6 y 1 (IL6, IL1), y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF $\alpha$ ), vía circulación sanguínea, estimulando la producción de las proteínas.

Una de las proteínas de fase aguda es la PCR, cuyo nombre proviene de su capacidad para unirse al carbohidrato C de los neumococos, esta capacidad fue demostrada por Tillet y Francis en 1930, haciendo reaccionar el suero de pacientes que sufrían de enfermedades inflamatorias, con un extracto de polisacárido C de neumococo, observando una precipitación debida a esta interacción. Igualmente la PCR se une a la fosforilcolina de la superficie de muchas bacterias, fijando el complemento y promoviendo la fagocitosis.<sup>29, 30, 31</sup>

La PCR es una globulina pentamérica con un peso molecular de 130 KDa, es considerada como marcador de reacción inflamatoria sistémica (tanto en procesos infecciosos como en no infecciosos), la PCR es empleada como un pronóstico de futuros eventos cardiovasculares porque indica el grado de inflamación que

induce a la formación y ruptura de placa aterosclerótica. Este hecho es bastante importante debido a la relación entre el proceso inflamatorio y el EOX, cuando se presentan episodios cardiovasculares la integridad del tejido endotelial se ve afectada con una consecuente inflamación, lo que provoca liberación de citocinas y proteínas de fase aguda, causando alteraciones en las funciones endoteliales normales, como el control de la agregación plaquetaria, de la adhesión leucocitaria y la regulación del flujo sanguíneo, entre otras. Estas alteraciones también repercuten en el funcionamiento de los sistemas enzimáticos vasculares que inducen la producción de EROs tales como la xantina oxidasa, la NADH/NADPH oxidasa y las sintasas del óxido nítrico, lo que conlleva a incrementos en los niveles de los radicales superóxido y óxido nítrico, que en presencia altas concentraciones lipídicas, como en el caso de los pacientes con aterosclerosis, promueve la peroxidación lipídica y el daño oxidativo a otros sistemas celulares. <sup>30, 31</sup>

Bajo condiciones biológicas normales los niveles de PCR en el suero no son detectables, encontrándose por debajo de 6 mg/L; mientras que los niveles elevados pueden presentarse en un lapso de 4 a 8 horas después de un evento agudo, como ocurre en un gran número de patologías: diabetes, artritis reumatoide, fiebre reumática, cáncer, tuberculosis, infarto al miocardio, lupus eritematoso sistémico, así como en la segunda mitad del embarazo y en el uso de anticonceptivos orales, la PCR llega a alcanzar valores desde 20 hasta 500 mg/L. La cuantificación de PCR se realiza usualmente por la técnica de aglutinación directa. <sup>26</sup>



**Figura 9.** Reacción de aglutinación, una partícula (látex) se cubre con el anticuerpo de interés (anti-PCR) y se expone al antígeno (PCR), ocurriendo una agregación macroscópica visible. (Modificada de Parslow TG, 2002) <sup>31</sup>

#### 4.9 CERULOPLASMINA (CP)

La ceruloplasmina es una proteína de fase aguda que contiene siete átomos de cobre por molécula, se produce en el hígado y transporta hasta el 95% del total del cobre circulante, es un monómero de 132 KDa compuesto de tres dominios análogos. Esta proteína se libera en respuesta a procesos infecciosos e

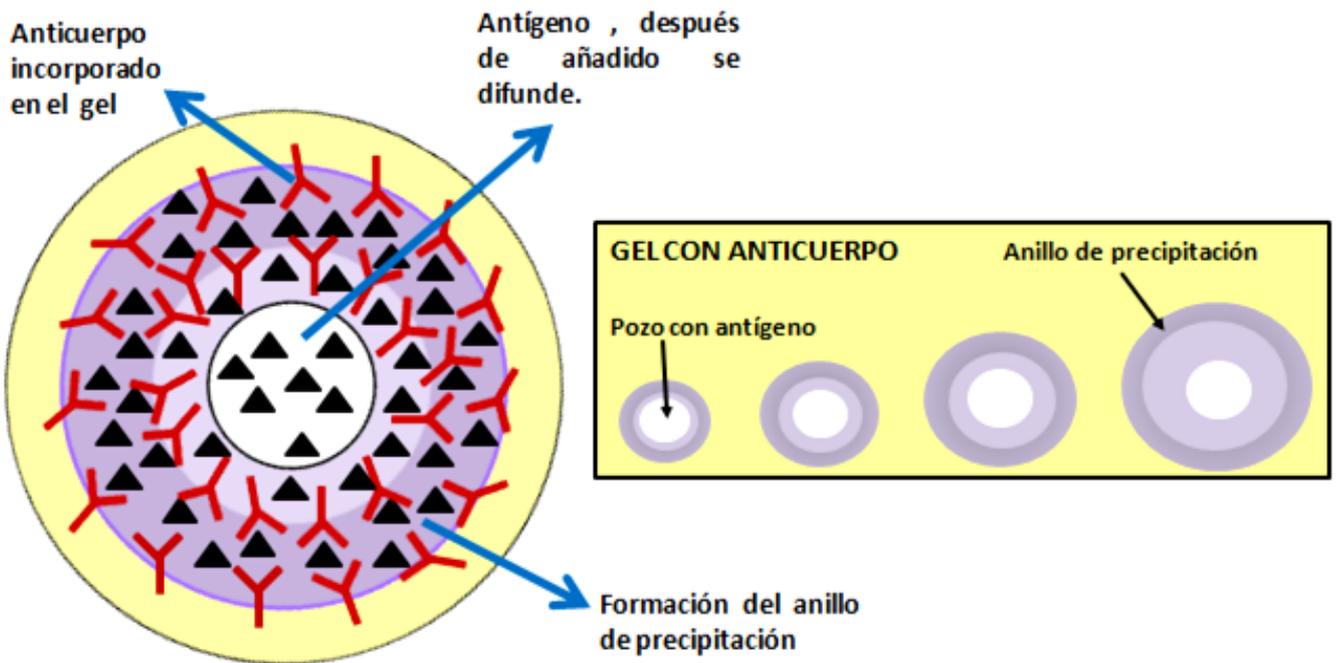
inflamatorios, los niveles de referencia en adultos sanos son de aproximadamente 30 mg/dL. La Cp participa en la coagulación, la angiogénesis, la oxidación de lipoproteínas de baja densidad (LDL), en el manejo de radicales superóxido y en el secuestro de iones libres de cobre, entre otros procesos.

Otra función importante de la Cp, se refiere a su actividad ferroxidasa que le permite regular la homeostasis del hierro (catalizando la conversión de  $Fe^{+2}$  a  $Fe^{+3}$ ), lo que facilita la transferencia de hierro a las proteínas de transporte y almacenamiento: transferrina y ferritina. Existe evidencia que señala que la capacidad ferroxidasa de la Cp, contribuye a evitar la formación de radicales libres mediante el bloqueo de la reacción de Fenton, (la cual requiere iones de Fe reducido), lo que hace suponer que la Cp posee cierta capacidad antioxidante.

Otro aspecto importante es la actividad prooxidante de la ceruloplasmina, que se manifiesta por su fuerte relación con la lipoperoxidación de las LDL, mediante un mecanismo dependiente de la formación del radical superóxido. En la circulación la Cp se encuentra como apoceruloplasmina y holoceruloplasmina, la primera corresponde a la forma inactiva, mientras que la segunda corresponde a la forma activa. La incorporación de cobre en su estructura proteínica promueve un cambio conformacional esencial desde la forma apo hacia la de holoenzima, la cual posee la capacidad oxidante. La correlación ya mencionada de los marcadores de peroxidación lipídica (como el MDA) con la Cp, confirman el efecto prooxidante de ésta, pero no se ha logrado dilucidar si este hecho es causante del daño oxidativo, o si la Cp como antioxidante se eleva en respuesta al EOx.

La Cp es una proteína multifuncional, la función que la misma cumpla dependerá de los cambios en las condiciones fisiológicas y patológicas presentes en el organismo frente a una situación determinada.

En trastornos hereditarios del metabolismo del cobre, como la enfermedad de Wilson y el síndrome de Menkes se observan niveles particularmente bajos de ceruloplasmina. También en casos de insuficiencia hepática y pérdida de proteínas disminuyen los niveles de Cp. Por otra parte niveles elevados de ceruloplasmina sérica son asociados con la presencia de enfermedades cardiovasculares e inflamatorias, colestasis y uso de anticonceptivos orales. Esta proteína es fácilmente determinada mediante las técnicas de inmunodifusión radial y nefelometría. **26, 32, 33**



**Figura 10.** Inmunodifusión radial simple, a la izquierda se observa una representación macroscópica de la interacción del antígeno (Cp) con su anticuerpo (anti-Cp), produciendo un anillo de precipitación. A la derecha se observa la difusión del antígeno sobre el gel y la ampliación del anillo de precipitación. (Modificada de Roitt IM, 2000) <sup>30</sup>

#### 4.10 FACTORES QUE CONTRIBUYEN AL DESARROLLO DE ESTRÉS OXIDATIVO

La producción de las principales EROs (radicales superóxido, hidroxilo, peroxinitrilo, peróxido de hidrógeno, etc.) constituye un daño potencial a las células, se estima que las células humanas sufren diariamente unas diez mil reacciones que implican a los radicales libres, éste número puede incrementarse si existen además factores prooxidantes que favorezcan el desequilibrio oxidoreducción a favor de las especies oxidantes, de tal modo que también se propicia un aumento en el riesgo de aparición de enfermedades agudas y crónicas. A continuación se describen brevemente algunos de los factores prooxidantes con mayor impacto en el proceso del estrés oxidativo:

- **Tabaquismo.** El humo de cigarro contiene más de 4000 sustancias químicas diferentes, de las cuales 400 han sido identificadas como cancerígenas. Se estima que cada fumada de cigarro contiene alrededor de cien billones de radicales libres de oxígeno así como aldehídos volátiles, por lo que fumar es un factor de riesgo de estrés oxidativo y enfermedades inflamatorias, ya que se ha demostrado que el tabaco promueve la peroxidación lipídica, la oxidación de proteínas (determinación de grupos carbonilo) y el daño al ADN (aumento en la 8-hidroxiguanina), así como el incremento de los niveles de adrenalina y el ritmo cardiaco, en individuos fumadores.

- **Alcoholismo.** La ingesta regular de bebidas alcohólicas incrementa la producción de EROs, propiciando la peroxidación lipídica, así como la oxidación de proteínas y de ADN, afectando la funcionalidad de los tejidos y órganos, lo que favorece la aparición de enfermedades crónicas y envejecimiento prematuro. Sin embargo ha sido demostrado que algunas bebidas alcohólicas como el vino tinto, poseen cierto efecto antioxidante debido a una alta concentración de polifenoles, principalmente los flavonoides contenidos en el vino.
- **Consumo de drogas.** Ciertas sustancias como la cocaína inducen un proceso inflamatorio crónico y consecuentemente favorecen un estado prooxidante en el organismo, acompañado de una disminución en los niveles de glutatión intracelular. Otra droga ampliamente usada es la marihuana, cuyo humo estimula la formación de EROs, además puede causar una disminución de glutatión intracelular de hasta el 80%.
- **Contaminación y Radiación Ultravioleta (UV).** El ozono (O<sub>3</sub>) en la estratosfera es un agente protector contra los rayos UV, sin embargo en la troposfera representa una fuente ambiental generadora de estrés oxidativo. La radiación UV es el más importante y abundante carcinógeno físico en el ambiente y se clasifica en tres tipos: *a) radiación UV de onda corta* (200-280 nm), un potente mutágeno que es absorbido por el ozono estratosférico; *b) radiación UV de onda media* (280-320 nm), que posee cierto efecto mutagénico, siendo capaz de inducir quemaduras, cáncer y envejecimiento en la piel debido al daño sobre el ADN; *c) radiación UV de onda larga* (230-400 nm). La piel se expone al estrés oxidativo generado por los rayos UV y los contaminantes ambientales, siendo de especial interés el papel de los radicales peróxido y superóxido en el daño causado.
- **Exposición a condiciones estresantes.** Ciertas evidencias permiten vincular el estrés psicológico con el estrés biológico, los estados de depresión, ansiedad y angustia se acompañan de un aumento en la liberación de catecolaminas y de hormonas adrenérgicas (adrenalina) cuyo impacto crónico favorece los procesos inflamatorios crónicos, induciendo el aumento de la presión sanguínea y el ritmo cardiaco, produciendo problemas cardiovasculares y EOx.
- **Alimentación inadecuada.** La desnutrición calórico-protéica favorece el estrés oxidativo, debido tanto a la disminución de la reserva protéica, como a la del consumo de antioxidantes vitamínicos (vitaminas A, C, E) y minerales (Se, Zn, Cu), por lo que una dieta rica en frutas y verduras, con alto contenido de flavonoides, que incluya fibra, ácidos grasos ω-3 y ω-6, puede ejercer un efecto benéfico sobre el flujo sanguíneo, la integridad arterial y limitar el riesgo prooxidante de la mala nutrición. La restricción en el consumo de ciertas grasas (como el colesterol) y de carbohidratos, contribuye a disminuir la generación de EROs, la peroxidación lipídica y el daño al ADN.
- **Sexo.** Se ha considerado un efecto cardio-protector y neuro-protector de los estrógenos, pues poseen la estructura química del 17-βestradiol, que

además de ser un esteroide tiene un componente monofenólico similar al de la vitamina E ( $\alpha$ -tocoferol), por lo que se considera que puede exhibir actividad antioxidante. También se ha señalado que los niveles de la enzima GPx son más altos en las mujeres a partir de los 20 años, lo que les confiere una protección frente al estrés oxidativo, que no poseen los hombres. <sup>28, 34, 35</sup>

#### **4.11 RELACIÓN DE LA ACTIVIDAD LABORAL CON EL PROCESO DE ESTRÉS OXIDATIVO**

Debido a la naturaleza de la producción de radicales libres, como pieza fundamental del proceso de estrés oxidativo, es prácticamente imposible que un ser humano viva sin sufrir en algún grado dicho proceso, pues dependiendo del estilo de vida que se tenga (hábitos alimenticios, estado de salud, exposición a agentes contaminantes, lugar en que se habita, etc.), será mayor o menor el número de factores prooxidantes a los que se exponga una persona.

Uno de los aspectos a los que se asigna mayor cantidad de tiempo por día en las grandes ciudades, es la actividad laboral, por ejemplo en México la jornada laboral máxima contemplada en el artículo 66 de la Ley Federal Del Trabajo es de ocho horas <sup>36</sup>, sin embargo dependiendo del área de trabajo y de las políticas que operen en los centros laborales, la jornada de trabajo puede extenderse más allá de doce horas por día. En consideración a estos puntos puede suponerse que el entorno laboral será un factor determinante en el grado de estrés oxidativo presente.

El factor actividad laboral engloba condiciones que *per se* promueven el EOx, dependiendo de la actividad desempeñada variará el número de condiciones a las que un individuo está expuesto; se ha demostrado que largas jornadas, cambios de turno y periodos de privación del sueño, inducen un aumento en la producción de radicales y del daño oxidativo, este hecho fue observado en un estudio clínico en el personal médico de un hospital, cuyos marcadores de EOx eran significativamente mayores que los del personal administrativo. <sup>37</sup> Del mismo modo, otro estudio conducido en enfermeras demostró que los marcadores de EOx aumentan de manera significativa tras permanecer de pie durante más de una hora. <sup>38</sup> Otro ensayo desarrollado en reclutas del ejército estadounidense, demostró que el tiempo durante el que se realiza un entrenamiento físico intenso, guarda una estrecha relación con el aumento en marcadores de EOx. <sup>39</sup>

Estas no son las únicas poblaciones de trabajadores expuestas a factores prooxidantes, sin embargo permiten reconocer ciertas condiciones comunes que son importantes en el favorecimiento del EOx. Por ejemplo, el periodo de sueño se encuentra alterado en parte del personal médico, cuerpos de bomberos, algunos sectores obreros, agrupaciones de seguridad, etc., esta alteración resulta de interés ya que el sueño es un estado fisiológico en el que se llevan a cabo funciones de recuperación y reparación celular, durante este estado se incrementan los niveles séricos de antioxidantes, para poder eliminar el exceso de radicales libres generados durante la vigilia. La deuda de sueño disminuye los niveles de antioxidantes, así como de glutatión en el tálamo e hipotálamo, por lo que puede inducir estrés oxidativo. <sup>34, 37</sup>

Otra condición prooxidante que se encuentra en varios grupos de trabajadores es el ejercicio físico extenuante, afectando a cuerpos de bomberos, personal de seguridad, algunos sectores obreros, etc., cuando se lleva a cabo el ejercicio en forma intensa, se incrementa el consumo de oxígeno entre 10 y 20 veces. En el caso del músculo activo el consumo puede aumentar hasta 200 veces, elevándose la cantidad de EROs producidas, así mismo durante la fase anaeróbica del ejercicio intenso, la xantina oxidasa induce la generación del radical superóxido, provocando estrés oxidativo. Durante un simulacro de incendio realizado por un grupo de bomberos de Cataluña, se encontró que la tasa de consumo de oxígeno aumentó un 80% en promedio, después de llevado a cabo el ejercicio, este hallazgo permite suponer una estimulación en la producción de radicales libres y por ende del estrés oxidativo. <sup>40, 34</sup>

Una cuestión física independiente del ejercicio extenuante pero que impacta el nivel de EROs producidas, es permanecer de pie durante periodos prolongados, como en el caso de enfermeras, médicos, docentes, obreros, abogados, etc., después de permanecer de pie, el flujo sanguíneo en las extremidades inferiores se vuelve lento y el aporte de oxígeno insuficiente, por lo que el endotelio libera NO con el fin de provocar vasodilatación, al aumentar la concentración de NO se favorece la formación de radicales libres y la peroxidación lipídica. <sup>38</sup>

Otro aspecto promotor del estrés oxidativo, es el sometimiento a varios factores psicosociales estresantes. La sobrecarga de trabajo, los conflictos interpersonales, la falta de organización en la división de tareas de cada puesto, etc., pueden conducir a un estado de estrés crónico que causa efectos negativos mentales y físicos en los trabajadores, así como también causa disminución en su desempeño. Para determinar la existencia de un estrés crónico laboral, se ha considerado la presencia de tres principales afectaciones en el trabajo: a) La baja realización personal, que relaciona la insatisfacción con las habilidades propias y con el trabajo resultante de éstas. b) El agotamiento emocional, que se manifiesta por un cansancio ante los requerimientos afectivos del trato diario con colegas y usuarios de los servicios prestados. c) La despersonalización, que implica deshumanizar a los usuarios de los servicios, conduciendo a proporcionarles un trato negativo. La manifestación de estas alteraciones también causa problemas fisiológicos, en este sentido hay que señalar que la respuesta fisiológica al estrés implica la activación de los sistemas nervioso, endócrino e inmunológico.

Ante estímulos estresantes se genera una respuesta neuronal que activa al hipotálamo, éste a su vez produce dos respuestas, una en el sistema nervioso autónomo, que estimula los nervios sensoriales (respuesta breve), y otra de tipo hormonal, que consiste en la producción de factor liberador de corticotropina, que actúa sobre la hipófisis, para liberar corticotropina a la sangre (respuesta larga). Ambas respuestas activan las glándulas suprarrenales, la respuesta breve desencadena secreción de catecolaminas (adrenalina y noradrenalina), y la respuesta larga induce secreción de corticosteroides (cortisol y aldosterona). La adrenalina promueve liberación de glucosa a la sangre, aceleración de la frecuencia cardíaca y respiratoria, así como aumento de la tensión arterial y el flujo sanguíneo. El cortisol posee efectos antiinflamatorios y también induce incrementos en la glucosa sanguínea, antagonizando la acción de la insulina, además promueve la degradación protéica y la movilización de ácidos grasos. La problemática radica en que si se mantienen los estímulos estresantes por un

periodo prolongado de tiempo, el efecto sostenido de las hormonas secretadas causa alteraciones, por ejemplo se incrementan los niveles de superóxido ya que se afecta la integridad y la vasorrelajación del endotelio vascular, que es uno de los principales productores de óxido nítrico. Así mismo el desequilibrio en el metabolismo de la glucosa y las grasas también induce aumentos en la producción de superóxido, favoreciendo el daño causado por el estrés oxidativo. Otra consecuencia de los episodios de estrés, es la estimulación de la respuesta de fase aguda, que se caracteriza por la activación de macrófagos y la producción de citocinas (IL-1, IL-6 y el TNF- $\alpha$ ), que promueven la liberación de proteínas de fase aguda como la PCR, que participan en la activación del proceso inflamatorio, en el que se generen otras sustancias prooxidantes. <sup>41, 42, 43</sup>



**Figura 11.** Condiciones presentes en distintas actividades laborales, que favorecen la producción de EROs.

## **5. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

En México son pocos los estudios que relacionan los niveles de biomarcadores de estrés oxidativo e inflamación con el tipo de actividad laboral realizada, por ello es importante explorar esta línea de investigación en distintas poblaciones trabajadoras del Distrito Federal. Esta asociación es de interés clínico porque el aumento en los biomarcadores de estrés oxidativo e inflamación, suele relacionarse con la predisposición o potenciación del daño observado en múltiples patologías de gran morbilidad y mortalidad.

¿El desempeñar determinada actividad laboral, causará diferencias en los marcadores de EOx e inflamación en los distintos grupos de estudio?

## **6. HIPÓTESIS**

- ❖ Los marcadores de EOx tendrán diferencias significativas, debido al tipo de actividad laboral desempeñada. Así mismo existirán asociaciones significativas entre los biomarcadores oxidativos y las proteínas de fase aguda, debido a la relación del proceso inflamatorio con el estrés oxidativo.
- ❖ Las poblaciones de bomberos y docentes presentarán niveles más elevados de los biomarcadores analizados, debido a que se encuentran expuestas a mayor número de factores que estimulan el estrés oxidativo.
- ❖ La población que sufra de estrés laboral presentara un aumento en los marcadores de EOx, debido a la íntima relación entre estrés psicológico y el estrés fisiológico.
- ❖ La población de sexo femenino presentará menores niveles en los marcadores de EOx debido al papel protector a la presencia intrínseca de factores antioxidantes.

## **7. OBJETIVOS**

### **GENERAL:**

Determinar si existe relación entre la actividad ocupacional de distintos grupos del Distrito Federal (Docentes, Abogados y Bomberos), y sus biomarcadores de estrés oxidativo e inflamación.

## **ESPECÍFICOS:**

- ❖ Determinar en los distintos grupos de trabajadores:
  - Las concentraciones de nitritos, lipoperóxidos (TBARS), glutatión peroxidasa (GPx) y superóxido dismutasa (SOD), como marcadores de EOx.
  - Las concentraciones de las proteínas de fase aguda, ceruloplasmina (Cp) y proteína C reactiva (PCR), como marcadores de inflamación.
  - Los parámetros hematológicos de hemoglobina, cuenta de leucocitos y cuenta diferencial leucocitaria. Además de los parámetros bioquímicos de glucosa, colesterol y triglicéridos.
- ❖ Establecer si existen diferencias estadísticas en los biomarcadores de EOx e inflamación, entre las distintas poblaciones de trabajadores.
- ❖ Verificar si los marcadores de EOx e inflamación presentan diferencias significativas, de acuerdo al sexo de los trabajadores.
- ❖ Determinar si los marcadores de EOx e inflamación presentan diferencias significativas debido a la presencia de estrés laboral.

## **8. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **8.1 *DISEÑO DEL ESTUDIO***

Se propone un estudio de las siguientes características:

- ❖ Observacional
- ❖ Prospectivo
- ❖ Transversal
- ❖ Comparativo

### **8.2 *POBLACIÓN***

La población de estudio constó de 712 trabajadores de alguna de tres actividades seleccionadas, que previa explicación del proyecto consintieron participar. Se incluyeron individuos que laboraban en alguna de las 16 delegaciones del Distrito Federal. Se les realizó una toma de signos vitales y medidas antropométricas (Frecuencia cardíaca, presión arterial, peso, talla, circunferencia de cintura y cadera). Así mismo se tomó una muestra de sangre para realizar las determinaciones de los biomarcadores de estrés oxidativo, proteínas de fase aguda, parámetros bioquímicos y hematológicos contemplados. Todos los trabajadores que participaron, se clasificaron en una de las siguientes categorías:

1. Docentes de educación secundaria.
2. Abogados de la Judicatura Federal.
3. Miembros del heroico cuerpo de bomberos (HCB).

❖ **Criterios de Inclusión:**

Individuos de ambos sexos que laboren en el D.F. en alguno de los grupos de estudio. Trabajadores que acepten firmar el consentimiento para participar en el estudio. Muestras sanguíneas pertenecientes a trabajadores que estén en ayuno.

❖ **Criterios de Exclusión:**

Muestras pertenecientes a trabajadores que no estén en ayuno. Muestras sanguíneas que tras su separación exhiban hemólisis. Muestras de trabajadores que se desempeñen en los centros laborales visitados, pero no realicen las actividades especificadas.

❖ **Criterios de Eliminación:**

Muestras de trabajadores cuyos datos no estén completos. Muestras de trabajadores, cuya cantidad sea insuficiente para realizar las determinaciones planteadas. Muestras de trabajadores, que sufran percances durante su almacenamiento o procesamiento.

### **8.3 VARIABLES DE ESTUDIO**

**INDEPENDIENTES:**

- ❖ Actividad laboral.
- ❖ Sexo.
- ❖ Presencia de estrés laboral.

**DEPENDIENTES:**

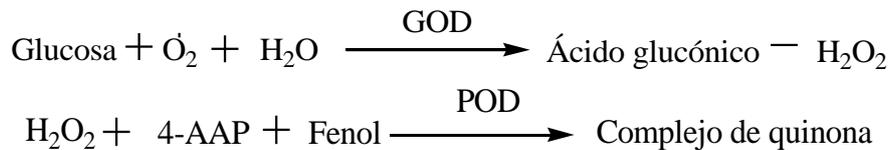
- ❖ Concentración de marcadores de EOX (TBARS, nitritos, SOD y GPx).
- ❖ Concentración de marcadores de inflamación (PCR y ceruloplasmina).
- ❖ Concentración de hemoglobina, recuento de leucocitos y conteo diferencial leucocitario.
- ❖ Concentración de glucosa, triglicéridos y colesterol.

## 8.4 METODOLOGÍA

### A) DETERMINACIONES BIOQUÍMICAS

#### ❖ Cuantificación de Glucosa.

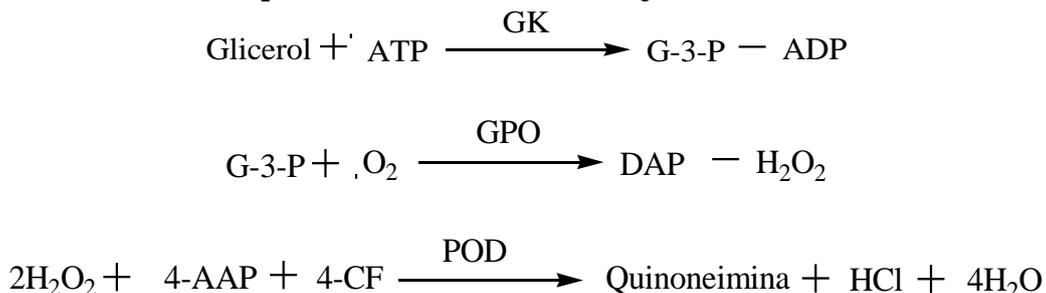
El método del reactivo de glucosa Stanbio está basado en la técnica descrita por Trinder et al. La glucosa es oxidada en presencia de glucosa oxidasa (GOD), el peróxido de hidrogeno formado reacciona bajo la influencia de peroxidasa (POD) con fenol y 4-aminoantipirina (4-AAP), para formar un complejo rojo-violeta de quinona. La intensidad del color es proporcional a la concentración de glucosa.



1. Procesar las muestras de acuerdo al instructivo del Kit Stanbio Glucosa Liquicolor. Pipetear 0.01 mL de muestra y mezclar con 1 mL de reactivo, incubar 10 minutos a temperatura ambiente.
2. Pipetear 0.01 mL de estándar y mezclar con 1 mL de reactivo, incubar 10 minutos a temperatura ambiente.
3. Medir la absorbancia del estándar y las muestras a 500 nm, antes de una hora, usar el reactivo como blanco para ajustar el espectrofotómetro.
4. Determinar la concentración de glucosa en las muestras, por comparación con la concentración del estándar.

#### ❖ Cuantificación de Triglicéridos.

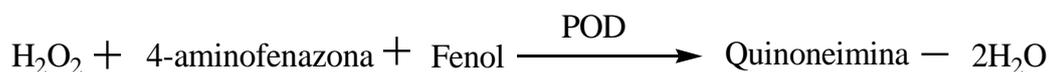
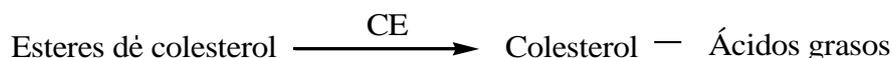
La determinación de los niveles de triglicéridos es útil en el diagnóstico de las dislipidemias. El glicerol y los ácidos grasos se forman en una primera etapa por la acción de la lipasa sobre los triglicéridos. Después el glicerol se fosforila por el adenosin-5'-trifosfato (ATP) para producir glicerol-3 fosfato (G-3-P) y adenosin-5'-difosfato (ADP), en una reacción catalizada por la glicerol-cinasa (GK). El 3-G-P es oxidado por la glicerol fosfato oxidasa (GPO), produciendo dihidroxiacetona fosfato (DAP) y peróxido de hidrógeno. Los peróxidos reaccionan con 4-aminoantipirina (4-AAP) y 4-clorofenol (4-CF), en presencia de la peroxidasa (POD) para formar una quinoneimina de color rojo.



1. Procesar las muestras de acuerdo al instructivo del Kit Stanbio Triglicéridos Liquicolor GPO-PAP. Activar el reactivo, adicionando 50 µL del activador a cada 5 mL de buffer y mezclar bien. Mantener a temperatura ambiente por lo menos durante 15 minutos antes de utilizarlo.
2. Pipetear 0.01 mL de muestra y mezclar con 1 mL de reactivo activado, incubar 10 minutos a temperatura ambiente.
3. Pipetear 0.01 mL de estándar y mezclar con 1 mL de reactivo activado, incubar 10 minutos a temperatura ambiente.
4. Medir la absorbancia del estándar y las muestras a 500 nm, antes de una hora, usar el reactivo como blanco para ajustar el espectrofotómetro.
5. Determinar la concentración de glucosa en las muestras, por comparación con la concentración del estándar.

#### ❖ **Cuantificación de Colesterol.**

La colesterol esterasa (CE) hidroliza los ésteres para originar colesterol libre y ácidos grasos. El colesterol libre producido más el colesterol preformado, se oxidan en presencia de colesterol oxidasa (COX) para formar Colest-4-en-3-ona y peróxido de hidrógeno. Posteriormente el fenol se acopla oxidativamente a la 4-aminofenazona con peróxido de hidrógeno, en presencia de peroxidasa (POD), generando un cromógeno de quinoneimina. La intensidad del color rojo final es proporcional a la concentración total de colesterol.



1. Procesar las muestras de acuerdo al instructivo del Kit Stanbio Colesterol Liquicolor. Pipetear 0.01 mL de muestra y mezclar con 1 mL de reactivo, incubar 10 minutos a temperatura ambiente.
2. Pipetear 0.01 mL de estándar y mezclar con 1 mL de reactivo, incubar 10 minutos a temperatura ambiente.
3. Medir la absorbancia del estándar y las muestras a 500 nm, antes de una hora, usar el reactivo como blanco para ajustar el espectrofotómetro.
4. Determinar la concentración de glucosa en las muestras, por comparación con la concentración del estándar.

### B) DETERMINACIONES HEMATOLÓGICAS

#### ❖ **Cuantificación de Hemoglobina.**

La hemoglobina es una proteína que contiene hierro y transporta el oxígeno en el organismo, su concentración está ligada a la cantidad y tamaño de los eritrocitos (así como de su contenido de enzimas antioxidantes), la cuantificación de la

hemoglobina se emplea junto con otros marcadores en el diagnóstico de distintos tipos de anemia. La determinación realiza mediante la reacción de la hemoglobina con el reactivo de Drabkin (que contiene ferrocianuro de potasio y cianuro de potasio) para generar cianometahemoglobina, cuya concentración es proporcional a la absorción a 540 nm. <sup>44</sup>

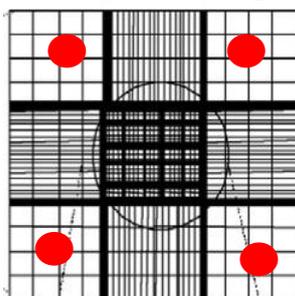


1. En un tubo de ensayo, colocar 5 mL de reactivo de Drabkin.
2. Homogeneizar bien la sangre anticoagulada, llenar la pipeta de Sahli hasta la marca.
3. Expulsar la sangre al tubo con el reactivo de Drabkin, mezclar bien.
4. Dejar reposar la mezcla por 15 minutos, para permitir la formación de cianometahemoglobina.
5. Calibrar el espectrofotómetro y después leer las muestras y un estándar de hemoglobina, a 540 nm contra un blanco de reactivo.
6. Determinar la concentración de hemoglobina de las muestras (mg/dL), por comparación con el estándar.

#### ❖ Cuenta Leucocitaria

El recuento leucocitario es un parámetro muy útil en la evaluación del sistema inmune. El recuento manual, se lleva a cabo en la cámara de Neubauer, empleando solución de Turk como diluyente (solución acuosa de ácido acético con violeta de genciana), esta solución hipotónica lisa los eritrocitos, de tal suerte que sólo se observan al microscopio los leucocitos, coloreados de azul violeta. <sup>44</sup>

1. Llenar la pipeta de Thoma, con sangre entera anticoagulada bien mezclada, hasta la marca de 0.5, limpiar cuidadosamente la pipeta por fuera.
2. Aforar la pipeta con solución de Turk hasta la marca de 11, agitar la pipeta durante dos minutos, mezclando bien su contenido.
3. Desechar las primeras 4 gotas de mezcla de la pipeta, con la siguiente gota cargar la cámara de Neubauer.
4. Con ayuda del microscopio, contar los leucocitos en los cuatro cuadrantes secundarios de la cámara. Determinar el promedio por cuadrante.



5. Obtener el número de leucocitos/mL, de acuerdo a la siguiente ecuación.

$$\text{Leucocitos/mL} = (N) \times (20) / (4 \times 1 \text{ mm}^2 \times 0.1 \text{ mm})$$

Donde N es el número de leucocitos promedio por cuadrante, 20 es el factor de dilución, 4 es el número de cuadrantes contados,  $1 \text{ mm}^2$  es el área del cuadrante y 0.1 mm es la profundidad de la cámara.

#### ❖ **Cuenta Diferencial.**

Esta prueba consiste en realizar un frote sanguíneo y teñirlo con colorante de Wright para observar la morfología celular y las distintas poblaciones leucocitarias. La tinción de Wright es de tipo Romanowsky, da una coloración púrpura a los núcleos de los leucocitos, a los gránulos de los neutrófilos y un color rosado a los eritrocitos. Los componentes del colorante que producen el efecto cromático, son el azur B y la eosina Y. Las propiedades de tinción dependen del enlace de los colorantes a las estructuras químicas, así como de las interacciones del azur B y la eosina Y. Los agrupamientos de ácidos nucleicos, las proteínas nucleares y el citoplasma inmaduro reactivo, fijan el azur B (colorante básico). Mientras que la eosina Y (colorante ácido) se fija a los agrupamientos básicos de las moléculas de hemoglobina y a las proteínas básicas. <sup>44</sup>

1. Mezclar las muestras de sangre entera anticoagulada. Con una gota de sangre, hacer un frote (extendido) sanguíneo.
2. Cubrir el frote completamente con colorante de Wright, preferentemente recién preparado, durante 5 minutos.
3. Sobre el colorante agregar la solución amortiguadora durante 1 minuto, cubriendo completamente hasta observar una capa metálica, evitar que se derrame de la preparación.
4. Enjuagar suavemente el frote con abundante agua, escurrir y dejar secar.
5. Observar el frote en microscopio a 100 X, contar el porcentaje de cada tipo celular observado (neutrófilos segmentados, bandas, linfocitos, eosinófilos, basófilos y monocitos), así como las características morfológicas relevantes.

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

#### ❖ **Cuantificación de Nitritos.**

La técnica empleada en diversos fluidos biológicos, usualmente inicia con una reducción hasta nitrato y nitrito, los agentes reductores más empleados son la enzima nitrato reductasa en el caso de estuches comerciales, o cadmio metálico activado, en este último caso la activación del cadmio se lleva a cabo con una solución acuosa de sulfato de cobre. Después de la reducción de la muestra, se hacen reaccionar los nitritos y el reactivo de Griess (sulfanilamida y N(1-naftil)-etilendiaminodihlorhidrato), el producto rosado obtenido presenta una absorción máxima a una longitud de onda de 540 nm, por lo que la concentración de la muestra se determina espectrofotométricamente, comparando con un estándar de nitrito de sodio. <sup>18, 19</sup>

### Activación del cadmio.

1. En tubos de 13 X 100 colocar 0.5 g de cadmio metálico (empleando guantes), agregar a cada tubo 2 mL de sulfato de cobre al 5% y agitar por 15 minutos en un agitador rocker.
2. Aspirar el contenido de cada tubo con ayuda de la trampa de vacío.
3. Lavar los tubos con agua destilada, 3 veces, para eliminar los restos de cobre. Aspirar los lavados con ayuda de la trampa de vacío.
4. Lavar dos veces los tubos con ácido clorhídrico 0.1 N, para remover el hidróxido de cadmio. Aspirar los lavados con ayuda de la trampa de vacío.
5. Finalmente, lavar el cadmio con cloruro de amonio al 5% (ajustado a pH 9, con borato de sodio). El cadmio se puede almacenar en esta solución hasta el ensayo.

### Procesamiento de la muestra

1. A 100  $\mu$ L de cada muestra de plasma, adicionar 300  $\mu$ L de agua destilada.
2. Agregar 20  $\mu$ L de sulfato de zinc al 33%, agitar perfectamente con ayuda de un vortex.
3. Centrifugar las muestras a 10000 rpm por 5 minutos, para separar las proteínas precipitadas.
4. Decantar los sobrenadantes sobre los tubos de cadmio plateado, (previamente se debe aspirar el cloruro de amonio de los tubos de cadmio).
5. Tapar los tubos con papel parafilm y agitar en un rocker por 15 minutos.
6. Centrifugar los tubos a 3500 rpm por 5 minutos.
7. Medir 200  $\mu$ L del sobrenadante de cada tubo y pasarlos a nuevos tubos de 13X100 mm, añadir 700  $\mu$ L de agua destilada.
8. Añadir 50  $\mu$ L de sulfanilamida (0.05 g en 15 mL de ácido acético al 15%), e incubar por 10 minutos.
9. Añadir 50  $\mu$ L de NED (0.02 g en 15 mL de ácido acético al 15%), e incubar por 30 minutos.
10. Leer la absorbancia de las muestras a 540 nm.

### Preparación de la curva estándar.

1. Preparar una disolución estándar de nitrito de sodio a una concentración de 2  $\mu$ g/mL, en agua destilada.
2. Medir volúmenes de 0,100, 200, 300, 400 y 500  $\mu$ L del estándar de nitrito de sodio, completar con agua destilada hasta 900  $\mu$ L.
3. Añadir 50  $\mu$ L de sulfanilamida (0.05 g en 15 mL de ácido acético al 15%), e incubar por 10 minutos.
4. Añadir 50  $\mu$ L de NED (0.2 g en 15 mL de ácido acético al 15%), e incubar por 30 minutos.
5. Leer las absorbancias de los puntos de la curva, a 540 nm.
6. Determinar la concentración de las muestras, por interpolación en la curva estándar.

## ❖ Peroxidación Lipídica.

El método más común para la determinación de lipoperóxidos se basa en la detección de productos aldehídicos de la peroxidación (MDA), una molécula de MDA (malonildialdehído) reacciona con dos moléculas de TBA (ácido tiobarbitúrico), para que se genere la reacción es importante mantener ciertas condiciones, como un pH bajo, lo que se logra con el uso de un ácido fuerte, así mismo la temperatura de reacción debe ser elevada. Por otra parte, para minimizar la peroxidación durante el calentamiento, se añade butil-hidroxi-tolueno (BHT) al medio; el producto de la reacción es un pigmento estable de color rosa, que tiene su pico máximo de absorción a los 532 nm. <sup>22, 23</sup>

### Procesamiento de la muestra

1. Si el procesamiento de las muestras no es inmediato, se deben conservar añadiendo a 100  $\mu\text{L}$  de plasma, 10  $\mu\text{L}$  de BHT (2 mM en etanol) y congelar.
2. Diluir la muestra de plasma con 400  $\mu\text{L}$  de PBS.
3. En tubos de vidrio de 13X100 mm, medir 400  $\mu\text{L}$  de la dilución anterior, añadir a cada muestra 50  $\mu\text{L}$  de BHT (12.6 mM en etanol) y 400  $\mu\text{L}$  de ácido ortofosfórico (0.2 M).
4. Mezclar en el vortex por 5 segundos y adicionar 50  $\mu\text{L}$  de TBA (0.11 M en butanol), mezclar de nuevo en el vortex.

### Producción del color

1. Tapar los tubos con papel aluminio y permitir que reaccionen en un baño a 90 °C, por 20 minutos, las muestras se tornan color rosado.
2. Enfriar los tubos sobre hielo para detener la reacción, añadir 1000  $\mu\text{L}$  de n-butanol y 100  $\mu\text{L}$  de disolución saturada de cloruro de sodio, agitar vigorosamente en el vortex.
3. Centrifugar a 3500 rpm por 5 minutos y transferir 500  $\mu\text{L}$  de la fase de butanol a una celda.
4. Leer la absorbancia de las muestras a 535 nm y a 572 nm corregir la interferencia de los reactivos.

### Preparación de la curva estándar.

1. Preparar una disolución estándar de TMP a una concentración de 0.04 mM en agua destilada.
2. Medir volúmenes de 0, 5, 10, 20, 30, 50, 70 y 100  $\mu\text{L}$  del estándar de TMP, completar con PBS hasta 200  $\mu\text{L}$ .
3. Añadir a cada tubo de la curva estándar 600  $\mu\text{L}$  de ácido ortofosfórico 0.2 M y 200  $\mu\text{L}$  de TBA 0.11 M.
4. Tapar los tubos con papel aluminio y permitir que reaccionen en un baño a 90 °C, por 15 minutos, las muestras se tornan color rosado. Enfriar los tubos sobre hielo.
5. Agregar 1000  $\mu\text{L}$  de n-butanol, centrifugar a 3500 rpm por 5 minutos y transferir 500  $\mu\text{L}$  de la fase de butanol a una celda
6. Leer las absorbancias de los puntos de la curva, a 535 nm y a 572 nm corregir la interferencia de los reactivos.

- Determinar la concentración de las muestras, por interpolación en la curva estándar.

### ❖ Cuantificación de Superóxido Dismutasa (SOD)

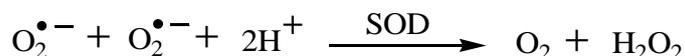
Existen varios kits comerciales para determinar la actividad enzimática de la SOD, el método comercial de Randox Laboratories se lleva a cabo en varios pasos. Primero se generan radicales superóxido a partir de xantina y xantina oxidasa (XO):



Posteriormente los radicales superóxido producidos, reaccionan con el cloruro de 2-(4-iodofenil)-3-(4-nitrofenol)-5-feniltetrazolio (INT), para formar el pigmento rojo formazán:



La SOD presente en las muestras compite con el INT por los radicales superóxido y por tanto inhibe la producción del colorante formazán:



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

#### Procesamiento de la muestra

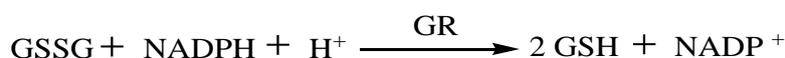
- Se lavan 500  $\mu\text{L}$  de paquete eritrocitario de cada muestra, 3 veces, con 500  $\mu\text{L}$  de solución salina fisiológica, finalmente añadir 500  $\mu\text{L}$  de agua destilada y agitar. Si el procesamiento de las muestras no es inmediato, deben congelarse.
- Procesar las muestras de acuerdo con las instrucciones del Kit RANSOD (Randox Laboratories), preparar una dilución 1:25 de la muestra, con buffer 0.01 M de fosfatos pH 7.
- A 30  $\mu\text{L}$  de la dilución anterior, añadir 1 mL de sustrato (xantina 0.05 mM e I.N.T. 0.025 mM), mezclar y agregar 150  $\mu\text{L}$  de xantina oxidasa (80 U/L). Trabajar las muestras a 37 °C.
- Monitorear la reacción de las muestras, leyendo la absorbancia inicial, a los 30 segundos y a los tres minutos a 505 nm.
- Preparar la curva estándar de SOD, como lo indica el instructivo.
- Calcular la concentración de SOD de las muestras, interpolando en la curva estándar.

### ❖ **Cuantificación de Glutati3n Peroxidasa (GPX)**

Existen varios kits comerciales para determinar la actividad enzimática de la SOD, el método comercial de RandoX Laboratories se basa en el trabajo de Paglia y Valentine. La GPx cataliza la oxidación del glutati3n (GSH) por el hidroperóxido de cumeno (ROOH):



El glutati3n oxidado (GSSG) en presencia de glutati3n reductasa (GR) y NADPH, es inmediatamente convertido a su forma reducida, con una oxidación concomitante de NADPH a NADP<sup>+</sup>:



La concentración de la GPx se evalúa por la disminuci3n de la absorbancia a 340 nm, debida a la oxidaci3n de NADPH a NADP<sup>+</sup>.

#### Procesamiento de la muestra

1. Se lavan 500 µL de paquete eritrocitario de cada muestra, 3 veces, con 500 µL de soluci3n salina fisiol3gica, finalmente a±adir 500 µL de agua destilada y agitar. Si el procesamiento de las muestras no es inmediato, deben congelarse.
2. Procesar las muestras de acuerdo con las instrucciones del Kit RANSEL (RandoX Laboratories), medir 25 µL de muestra, a±adir 500 µL de diluyente y 500 µL de Drabkin de doble fuerza.
3. A 20 µL de la diluci3n anterior a±adir 1 mL de reactivo (glutati3n 4 mM, glutati3n reductasa >0.5 U/L, NADPH 0.28 mM) y 40 µL de hidroperóxido de cumeno (0.18 mM). Trabajar las muestras a 37 °C. El blanco se procesa de la misma manera empleando 20 µL de agua destilada.
4. Monitorear la reacci3n de las muestras y del blanco, leyendo las absorbancias iniciales al minuto, y se cronometra para leer de nuevo al cabo de 1 y 2 minutos, las lecturas son a 340 nm.
5. Calcular la concentraci3n de GPX de las muestras, como lo indica el instructivo del kit.

#### D) DETERMINACI3N DE PROTEÍNAS DE FASE AGUDA

##### ❖ **Cuantificaci3n de Ceruloplasmina.**

Immunodifusi3n radial (IDR) o método de Mancini. Es una t3cnica de precipitaci3n en gel, en el gel se encuentra embebido un anticuerpo específico contra el antígeno a determinar, el gel se coloca en una caja de Petri y se le realizan perforaciones, dentro de los pozos resultantes se colocan los estándares de antígeno o las muestras, se dejan difundir y se miden los diámetros de precipitaci3n, que son proporcionales a la concentraci3n de antígeno. Las principales ventajas de esta t3cnica son: un costo relativamente bajo y que no

requiere de equipo especializado para realizar las lecturas, la sensibilidad de la técnica detecta concentraciones de mg/L y las lecturas deben realizarse después de 24 horas o más, cuando se determinan antígenos grandes con inmunodifusión en gel lenta. <sup>26</sup>

#### Preparación de las placas

1. Pesar 0.3 g de agarosa en balanza analítica.
2. Pasar la agarosa a un matraz Erlenmeyer de 125 mL y adicionar 30 mL de PBS.
3. Colocar 6 tubos de vidrio de 13X100 mm en un baño María a 45 °C.
4. Calentar el matraz en el horno de microondas, cada 10 segundos hasta la disolución completa de la agarosa, cuidando que no se derrame producto del calentamiento.
5. Adicionar 2 mL de agarosa al 1% a cada tubo en el baño María.
6. Verter a cada tubo, 150 µL de suero de conejo anti-ceruloplasmina y agitar con un vortex.
7. Vaciar el contenido de los tubos, en las placas Falcon de 35 mm, evitando la formación de burbujas.
8. Permitir la solidificación de las placas a temperatura ambiente.
9. Realizar 4 perforaciones de 3 mm en cada placa de agarosa.

#### Procesamiento de la muestra

1. Pipetear 5 µL de muestra plasmática, colocar en cada pozo e identificar de acuerdo a la numeración de las muestras.
2. Pipetear 5 µL de un estándar de ceruloplasmina humana (21.6 mg/dL) y colocarlo en el pozo marcado como estándar.
3. Incubar las placas en refrigeración, por 48 horas.
4. Medir con la regla milimétrica los halos de precipitación del estándar y de las muestras.
5. Con base en los halos leídos determinar la concentración de las muestras.

#### **❖ Determinación de Proteína C Reactiva (PCR).**

La técnica de aglutinación directa, emplea la reacción inmunológica de la PCR con un anticuerpo específico adsorbido sobre un soporte de látex (látex sensibilizado con anti-PCR), la PCR se une a los anticuerpos adsorbidos produciendo la aglutinación de partículas látex, la sensibilidad de esta técnica es de 6 mg/L. Se observa la aglutinación directa en placa, titulando los sueros. <sup>26</sup>

#### Prueba Cualitativa

1. Preparar el reactivo de eritrocitos de carnero-carbohidrato, midiendo 1 mL de eritrocitos de carnero (GRC) y lavando tres veces, con un volumen igual de solución salina fisiológica, centrifugar a 3500 rpm durante 5 minutos.
2. Incubar por una hora a 37 °C, 0.1 mL de GRC lavados con 1 mL de carbohidrato C de neumococo (50 µg/mL).
3. Lavar la mezcla incubada, con un volumen igual de solución salina fisiológica, centrifugando a 3500 rpm durante 5 minutos.

4. Descartar el sobrenadante y completar a un volumen de 10 mL con PBS.
5. En cada pozo de una placa para ELISA con fondo tipo "V", se colocan 50 µL de muestra, posteriormente añadir a cada pozo 50 µL de PBS y 50 µL del reactivo GRC-carbohidrato. Se repite el mismo procedimiento, con 50 µL de control positivo y 50 µL de solución salina, como control negativo.
6. Se tapa la placa y se incuba por una hora a 37 °C.
7. Registrar las muestras que presenten aglutinación/formación de conglomerados (positivas) y descartar las que precipiten un botón de eritrocitos (negativas), comparando con los controles positivo y negativo.

### Prueba Semicuantitativa

1. Seleccionar las muestras positivas de la prueba cualitativa.
2. Preparar diluciones 1:20 de cada una de las muestras, empleando 95 µL de PBS y 5 µL de muestra.
3. Mezclar en placas para aglutinación, 10 µL de la dilución inicial (1:20) y 10 µL de reactivo látex anti-PCR, provisto en el kit comercial. El resultado de la aglutinación, no debe interpretarse después de transcurridos dos minutos.
4. Repetir el procedimiento anterior, con el control positivo y el control negativo, provistos en el kit comercial.
5. Las muestras que presenten aglutinación, deben investigarse del mismo modo que en el paso 3, empleando diluciones sucesivas 1:40, 1:80, etc.
6. Determinar la cantidad de PCR en las muestras, multiplicando la inversa de la dilución más alta por la sensibilidad del reactivo látex anti-PCR.

### *E) EVALUACIÓN DEL ESTRÉS LABORAL*

#### **❖ Aplicación del Cuestionario de Condiciones de Trabajo y Salud-CONACYT/UNAM1**

Cuestionario de datos generales diseñado por Tovalín, Sandoval, Unda y Rodríguez (Anexo 3), que consta de 13 ítems con respuestas abiertas y/o de opción múltiple. Este apartado abarca: datos personales, datos familiares y condiciones laborales generales. Los puntajes obtenidos en estas áreas permiten estimar la presencia de tensión laboral.

1. Presentar el cuestionario a los trabajadores y recabar las firmas de consentimiento para participar en el estudio.
2. Solucionar cualquier duda acerca del llenado correcto del cuestionario.
3. Analizar los datos de los cuestionarios y determinar si existe tensión laboral o no para cada individuo.

## 8.5 DISEÑO ESTADÍSTICO

Los datos obtenidos fueron analizados utilizando el programa SPSS (Statistical Package for the Social Sciences Program) versión 15.0. Los valores de las variables consideradas se expresaron como la media  $\pm$  DE. La comparación de los marcadores de interés entre los tres grupos de estudio se realizó por medio de análisis de varianza (ANOVA) de un factor; la comparación poblacional de la actividad enzimática se llevo a cabo con la prueba t de Student. En el análisis intrapoblacional, para cada grupo laboral se compararon los marcadores de interés para determinar la existencia de diferencias en función del sexo, y en función de la presencia de estrés laboral, estos análisis se llevaron a cabo empleando la prueba U de Mann Whitney. La correlación lineal entre los marcadores de EOx y los de inflamación se determinó utilizando la prueba de Pearson. Se consideraron significantes los resultados con una  $p < 0.05$ .

## 9. RESULTADOS

### 9.1 DESCRIPCIÓN POBLACIONAL

**Cuadro 1. Frecuencias poblacionales para cada actividad laboral estudiada.**

ACTIVIDAD	n	PORCENTAJE
ABOGADOS	113	15.87%
BOMBEROS	125	17.56%
DOCENTES	474	66.57%
<b>TOTAL</b>	<b>712</b>	<b>100%</b>

Se observa que la mayor parte de la población de estudio se compone por docentes.

**Cuadro 2. Frecuencias de sexo en las poblaciones de estudio.**

ACTIVIDAD	MASCULINO n (%)	FEMENINO n (%)
ABOGADOS	36 (32.14%)	76 (67.86%)
BOMBEROS	97 (78.2%)	27 (21.8%)
DOCENCIA	118 (25.8%)	339 (74.2%)
<b>TOTAL</b>	<b>251 (36.22%)</b>	<b>442 (63.78%)</b>

El porcentaje de mujeres es mayor que el porcentaje de hombres en la población total de estudio.

**Cuadro 3. Frecuencias de edad en las poblaciones de estudio.**

<b>ACTIVIDAD</b>	<b>19-37 AÑOS n (%)</b>	<b>38-46 AÑOS n (%)</b>	<b>47-67 AÑOS n (%)</b>
<b>ABOGADOS</b>	56 (50.9%)	36 (30%)	21 (19.1%)
<b>BOMBEROS</b>	40 (32.5%)	56 (45.5%)	27 (22%)
<b>DOCENCIA</b>	100 (27%)	142 (34.9%)	155 (38.1%)
<b>TOTAL</b>	196 (30.96%)	234 (36.97%)	203 (32.07%)

La población de estudio se agrupó en tres rangos de edad que muestran un porcentaje similar entre sí.

## 9.2 MARCADORES HEMATOLÓGICOS

**Cuadro 4. Valores de los marcadores hematológicos, en los tres grupos de estudio.**

	<b>ABOGADOS</b>	<b>BOMBEROS</b>	<b>DOCENTES</b>
<b>Hemoglobina (g/dL)</b>	n=113 13.85 ± 1.53	n=125 14.29 ± 1.29	n=471 13.88 ± 2.25
<b>Leucocitos (células/mL)</b>	n=113 7730 ± 2433	n=125 6510 ± 1615	n=471 7283 ± 2452
<b>Neutrófilos (%)</b>	n=113 61.59 ± 7.76	n=125 54.42 ± 10.44	n=471 59.28 ± 10.28

**Los valores se expresan como la Media ± DE.**

### Pruebas ANOVA

**Hemoglobina:** ABOGADOS vs DOCENTES ( $p>0.05$ ), \*BOMBEROS vs DOCENTES ( $p<0.05$ ), BOMBEROS vs ABOGADOS ( $p>0.05$ ).

**Leucocitos:** ABOGADOS vs DOCENTES ( $p>0.05$ ), \*BOMBEROS vs DOCENTES ( $p<0.001$ ), \*BOMBEROS vs ABOGADOS ( $p<0.001$ ).

**Neutrófilos:** \*ABOGADOS vs DOCENTES ( $p<0.05$ ), \*BOMBEROS vs DOCENTES ( $p<0.001$ ), \*BOMBEROS vs ABOGADOS ( $p<0.001$ ).

El grupo de bomberos es el que presenta el valor medio más elevado de Hb, siendo significativamente mayor que el de los docentes. En contraste, el valor medio de leucocitos en el grupo de los bomberos es significativamente menor respecto al valor medio de los grupos de abogados y docentes. Respecto a los valores medios de neutrófilos, son significativamente diferentes entre los tres grupos, la media más alta es la de abogados.

### 9.3 MARCADORES BIOQUÍMICOS.

**Cuadro 5. Valores de los marcadores bioquímicos, en los tres grupos de estudio.**

	<b>ABOGADOS</b>	<b>BOMBEROS</b>	<b>DOCENTES</b>
	n=113	n=125	n=471
<b>Glucosa (mg/dL)</b>	122.23 ± 55.49	103.51 ± 58.75	123.2 ± 58.9
	n=113	n=125	n=471
<b>Colesterol (mg/dL)</b>	169.15 ± 58.12	149.19 ± 49.97	185.52 ± 65.82
	n=113	n=125	n=471
<b>Triglicéridos (mg/dL)</b>	139.42 ± 94.22	142.71 ± 57.64	159.48 ± 87

**Los valores se expresan como la Media ± DE.**

#### Pruebas ANOVA

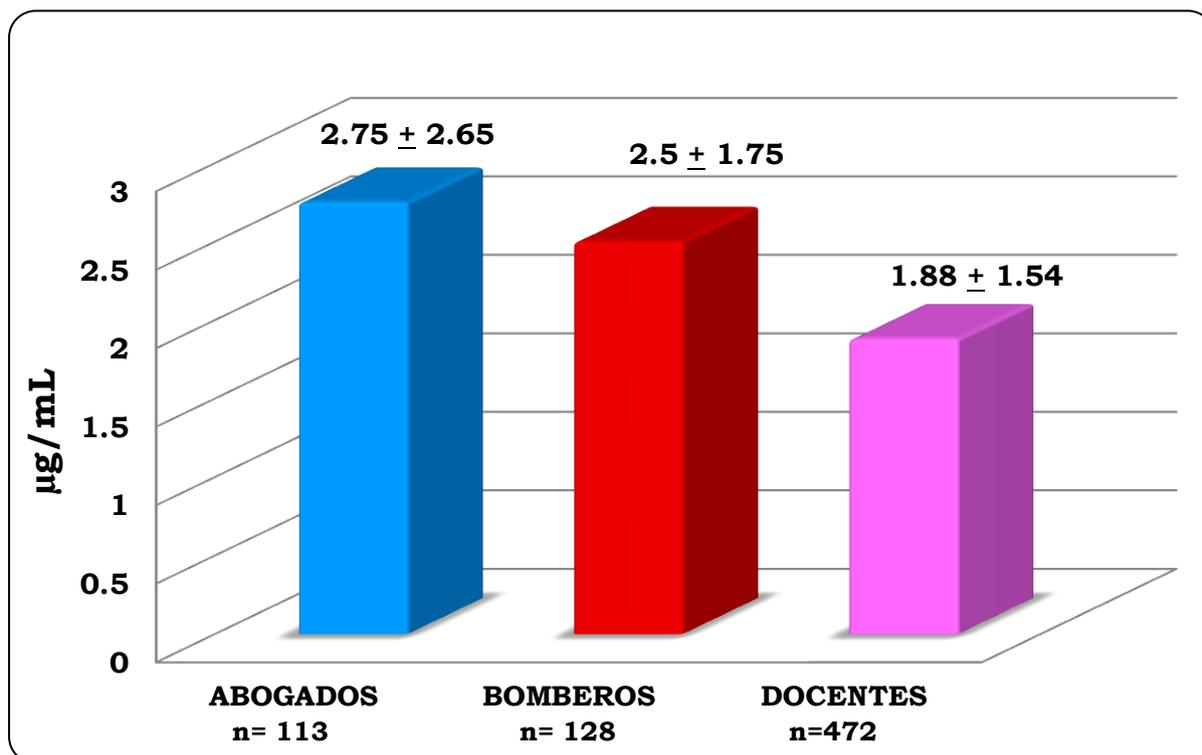
**Glucosa:** ABOGADOS vs DOCENTES ( $p > 0.05$ ), \*BOMBEROS vs DOCENTES ( $p < 0.05$ ), \*BOMBEROS vs ABOGADOS ( $p < 0.05$ ).

**Colesterol:** \*ABOGADOS vs DOCENTES ( $p < 0.05$ ), \*BOMBEROS vs DOCENTES ( $p < 0.001$ ), \*BOMBEROS vs ABOGADOS ( $p < 0.05$ ).

**Triglicéridos:** ABOGADOS vs DOCENTES ( $p > 0.05$ ), \*BOMBEROS vs DOCENTES ( $p < 0.05$ ), BOMBEROS vs ABOGADOS ( $p > 0.05$ ).

El valor medio de glucosa del grupo de bomberos es significativamente menor que el de las poblaciones de abogados y docentes. Por otra parte, las medias de colesterol en los tres grupos son significativamente diferentes entre sí, siendo la media de los docentes la más elevada. Para el parámetro de los triglicéridos, el valor medio del grupo de bomberos es significativamente menor que el del grupo de docentes, que posee el valor medio más alto.

#### 9.4 MARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO Y PROTEÍNAS DE FASE AGUDA

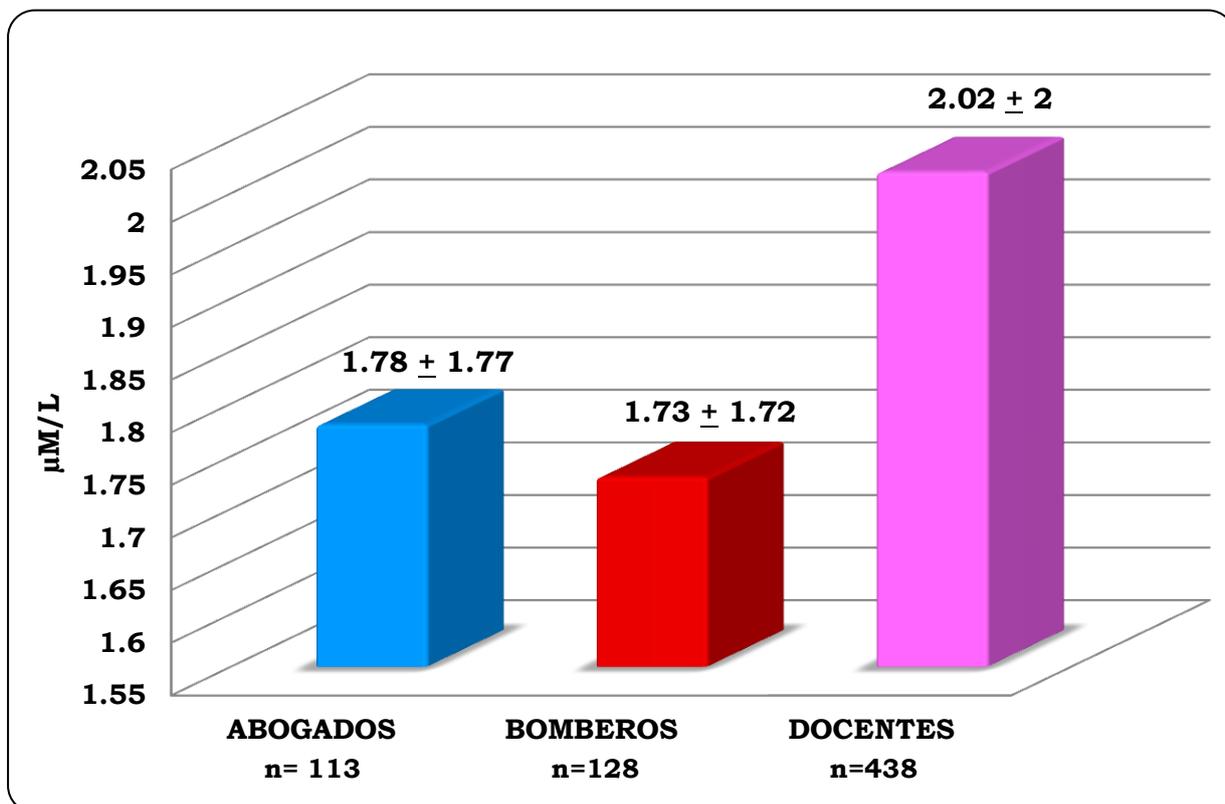


**Figura 1. Valores de Nitritos para las diferentes poblaciones de estudio.**

**Los valores se expresan como la Media ± DE.**

**Prueba ANOVA:** \*ABOGADOS vs DOCENTES ( $p < 0.05$ ), \*BOMBEROS vs DOCENTES ( $p < 0.05$ ), BOMBEROS vs ABOGADOS ( $p > 0.05$ ).

El valor medio de Nitritos para los docentes es significativamente menor respecto al de abogados y bomberos, mientras que la media más elevada es la de los abogados.

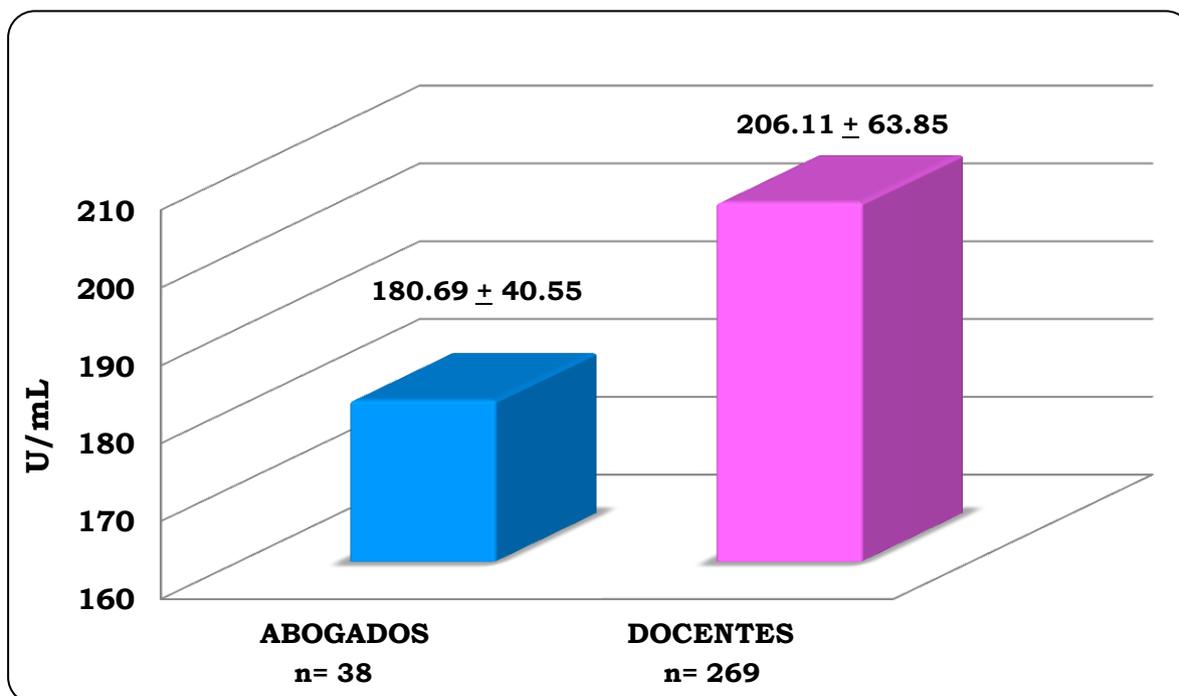


**Figura 2. Valores de TBARS para las diferentes poblaciones de estudio.**

**Los valores se expresan como la Media  $\pm$  DE.**

**Prueba ANOVA:** ABOGADOS vs DOCENTES ( $p > 0.05$ ), BOMBEROS vs DOCENTES ( $p > 0.05$ ), BOMBEROS vs ABOGADOS ( $p > 0.05$ ).

Los docentes presentan el valor medio más elevado de TBARS. Al comparar las medias de TBARS en los tres grupos de estudio, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ellos.

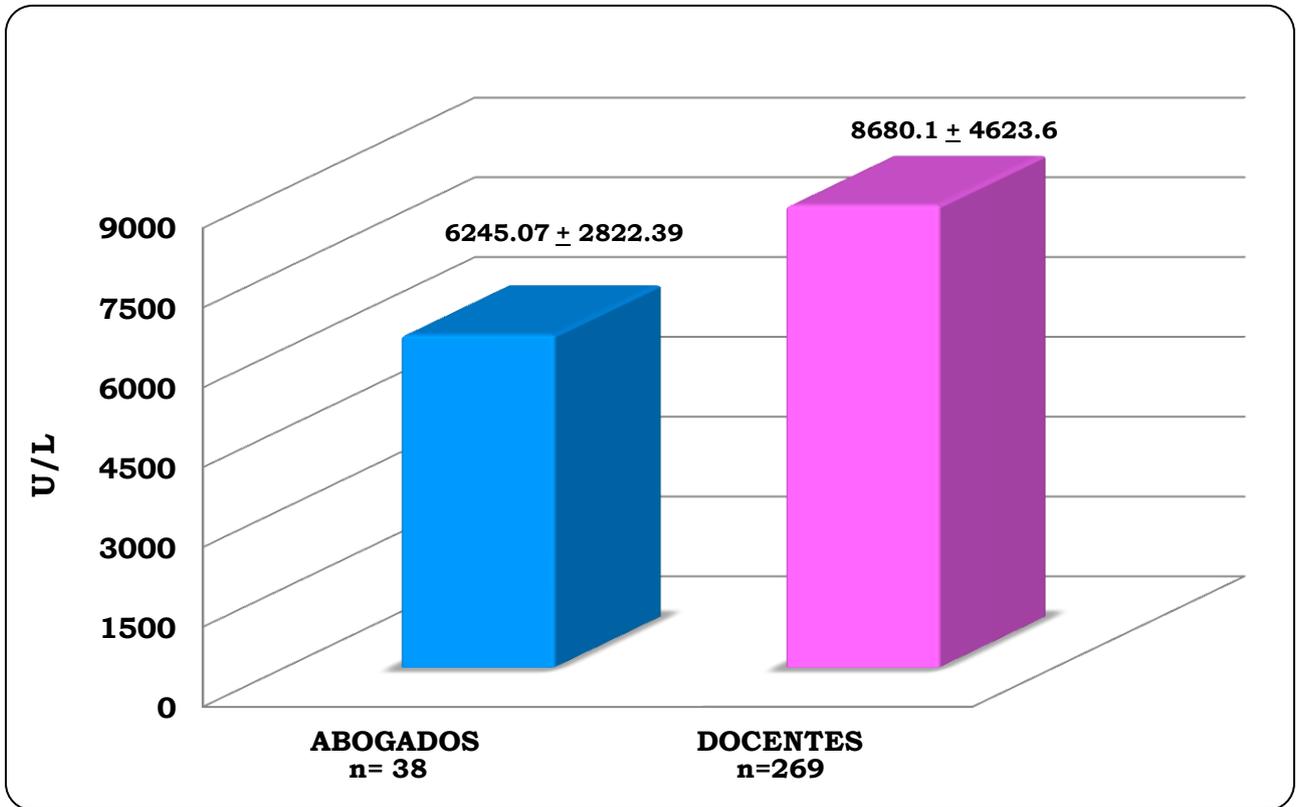


**Figura 3. Valores de la enzima SOD para las diferentes poblaciones de estudio.**

**Los valores se expresan como la Media ± DE.**

**Prueba t de Student:** \*ABOGADOS vs DOCENTES ( $p < 0.05$ ).

El valor medio de SOD en los docentes, es significativamente mayor que el de los abogados.

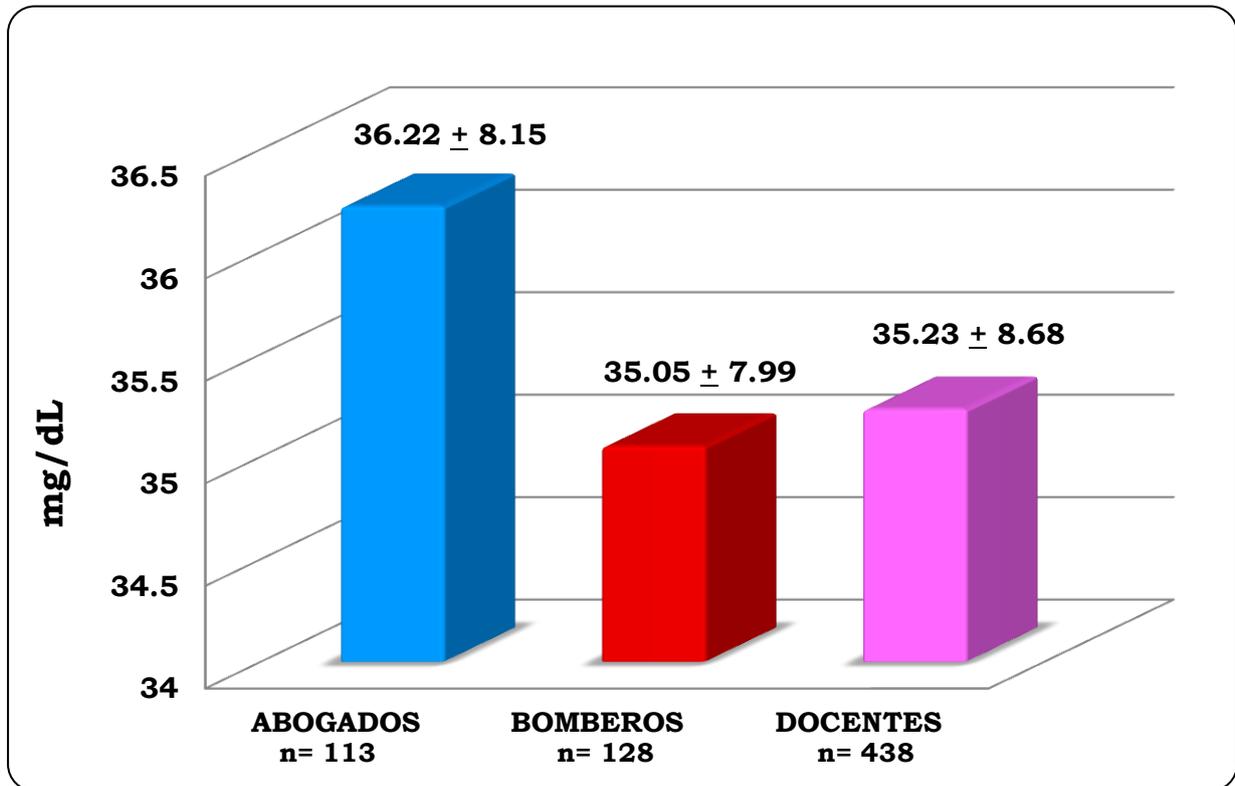


**Figura 4. Valores de la enzima GPx para las diferentes poblaciones de estudio.**

**Los valores se expresan como la Media  $\pm$  DE.**

**Prueba t de Student:** \**ABOGADOS vs DOCENTES* ( $p < 0.001$ ).

El valor medio de GPx para los docentes, es significativamente mayor que el de los abogados.

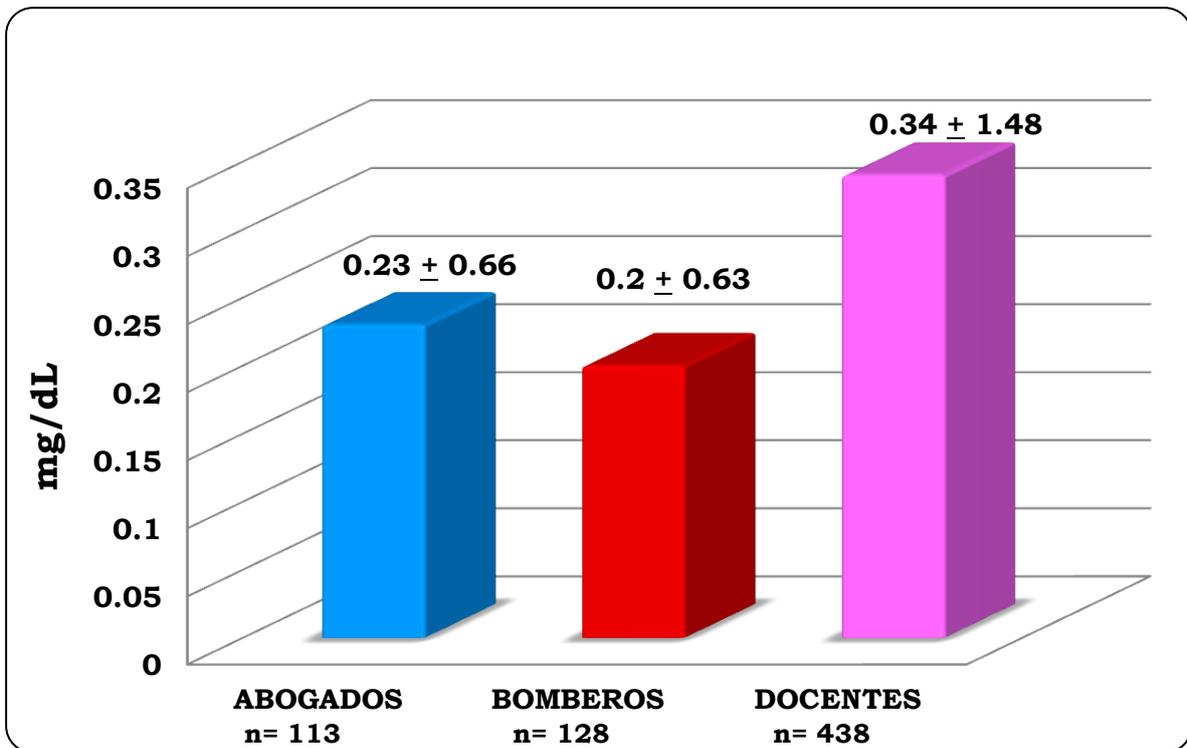


**Figura 5. Valores de Ceruloplasmina (Cp) para las diferentes poblaciones de estudio.**

**Los valores se expresan como la Media  $\pm$  DE.**

**Prueba ANOVA:** ABOGADOS vs DOCENTES ( $p > 0.05$ ), BOMBEROS vs DOCENTES ( $p > 0.05$ ), BOMBEROS vs ABOGADOS ( $p > 0.05$ ).

Los abogados poseen la media más elevada de Cp. Comparando las medias de Cp de las tres poblaciones, se observa que no existen diferencias estadísticamente significativas.



**Figura 6. Valores de Proteína C reactiva (PCR) para las diferentes poblaciones de estudio.**

**Los valores se expresan como la Media  $\pm$  DE.**

**Prueba ANOVA:** ABOGADOS vs DOCENTES ( $p > 0.05$ ), BOMBEROS vs DOCENTES ( $p > 0.05$ ), BOMBEROS vs ABOGADOS ( $p > 0.05$ ).

Los docentes presentan el valor medio más elevado de PCR. No existen diferencias significativas entre los valores medios de PCR de las poblaciones de estudio.

## 9.5 CORRELACIONES ENTRE MARCADORES DE EOx E INFLAMACIÓN

**Cuadro 6. Valores de la correlación de Pearson (r), entre los marcadores de EOx y los de inflamación.**

	<b>NITRITOS</b>	<b>TBARS</b>	<b>SOD</b>	<b>GPx</b>	<b>PCR</b>	<b>Cp</b>
<b>NITRITOS</b>	1	0.077*	0.201**	-0.228**	-0.029	-0.087*
<b>TBARS</b>	0.077*	1	0.319**	-0.297**	0.030	0.091*
<b>SOD</b>	0.201**	0.319**	1	-0.252**	0.098	0.139*
<b>GPx</b>	-0.228**	-0.297**	-0.252**	1	-0.051	-0.141*
<b>PCR</b>	-0.029	-0.030	0.098	-0.051	1	0.054
<b>Cp</b>	-0.087*	0.091*	0.139*	-0.141*	0.054	1

\*  $p < 0.05$ , hay significancia estadística

\*\*  $p < 0.001$ , hay significancia estadística

Existe una relación directamente proporcional entre los nitritos y los parámetros de TBARS y SOD, así mismo existe una relación inversa de los nitritos con GPx y Cp. El parámetro TBARS muestra una asociación directa con SOD y Cp, mientras que exhibe una relación inversa respecto a la GPx. La SOD posee una relación directa con la Cp, y guarda una relación inversa con la GPx. La GPx muestra una relación inversa con la Cp. La PCR no muestra relaciones significativas con los otros parámetros analizados.

## 9.6 ANÁLISIS INTRAPOBLACIONAL

Se realizó una comparación de las medias de los marcadores de EOx e inflamación en cada una de las poblaciones de estudio, en función del sexo de los participantes (masculino y femenino). Se observan en la tabla los marcadores que tuvieron diferencias significativas.

**Cuadro 7. Comparación de los marcadores de EOX e inflamación en cada uno de los grupos de estudio, en función del sexo.**

MARCADOR	GRUPO	FEMENINO	MASCULINO
<b>Nitritos (<math>\mu\text{g}/\text{mL}</math>)</b>	<b>Abogados</b>	2.91 $\pm$ 2.84 n=76	2.46 $\pm$ 2.27 n=36
	<b>Bomberos*</b>	1.92 $\pm$ 0.92 n=27	2.71 $\pm$ 1.90 n=97
	<b>Docentes</b>	1.90 $\pm$ 1.82 n=312	1.78 $\pm$ 0.97 n=109
<b>TBARS (<math>\mu\text{M}/\text{L}</math>)</b>	<b>Abogados</b>	1.63 $\pm$ 1.52 n=76	2.09 $\pm$ 2.23 n=36
	<b>Bomberos</b>	1.39 $\pm$ 1.32 n=27	1.87 $\pm$ 1.81 n=97
	<b>Docentes</b>	1.99 $\pm$ 1.97 n=312	2.14 $\pm$ 2.18 n=109
<b>SOD (U/mL)</b>	<b>Abogados</b>	166.17 $\pm$ 32.40 n=20	183.60 $\pm$ 39.70 n=18
	<b>Docentes</b>	206.74 $\pm$ 62.07 n=206	207.21 $\pm$ 70.90 n=59
<b>GPx (U/L)</b>	<b>Abogados</b>	6726.70 $\pm$ 2141.50 n=20	5435.42 $\pm$ 2763.10 n=18
	<b>Docentes</b>	8774.61 $\pm$ 4639.37 n=206	8303.64 $\pm$ 4664.54 n=59
<b>Cp (mg/dL)</b>	<b>Abogados</b>	36.31 $\pm$ 8.48 n=76	35.84 $\pm$ 7.55 n=36
	<b>Bomberos</b>	36.40 $\pm$ 8.42 n=27	34.56 $\pm$ 7.82 n=97
	<b>Docentes</b>	35.64 $\pm$ 8.95 n=312	34.83 $\pm$ 8.07 n=109
<b>PCR (mg/dL)</b>	<b>Abogados</b>	0.28 $\pm$ 0.72 n=76	0.14 $\pm$ 0.54 n=36
	<b>Bomberos*</b>	0.48 $\pm$ 0.97 n=27	0.12 $\pm$ 0.48 n=97
	<b>Docentes</b>	0.34 $\pm$ 1.60 n=312	0.34 $\pm$ 1.20 n=109

**Los valores se expresan como la Media  $\pm$  DE**

**Prueba U de Mann-Whitney** para comparar las medias de los individuos de sexo femenino vs masculino, en cada actividad laboral: \*NITRITOS ( $p < 0.05$  en bomberos), \*PCR ( $p < 0.05$  en bomberos).

Solo se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre hombres y mujeres en la población de bomberos, el valor medio de nitritos es significativamente mayor en hombres, y la media de PCR es significativamente mayor en mujeres.

Por medio del Cuestionario de Condiciones de Trabajo y Salud-CONACYT/UNAM1, se evaluó la presencia de estrés laboral en las distintas poblaciones de estudio. Los resultados clasifican a los participantes en dos grupos: 1) que sufre estrés laboral y 2) que no sufre estrés laboral. Se realizó un análisis estadístico para explorar la influencia del estrés laboral en los marcadores de estrés oxidativo e inflamación.

**Cuadro 8. Comparación de los marcadores de EOx e inflamación en cada uno de los grupos de estudio, en función del estrés laboral.**

MARCADOR	GRUPO	Estresados	No Estresados
Nitritos ( $\mu\text{g/mL}$ )	Abogados	2.73 $\pm$ 2.53 n=100	2.92 $\pm$ 3.60 n=13
	Bomberos*	2.61 $\pm$ 1.80 n=115	1.67 $\pm$ 0.76 n=10
	Docentes	1.92 $\pm$ 1.86 n=277	1.84 $\pm$ 1.32 n=89
TBARS ( $\mu\text{M/L}$ )	Abogados	1.81 $\pm$ 1.82 n=100	1.53 $\pm$ 1.37 n=13
	Bomberos	1.74 $\pm$ 1.72 n=115	1.87 $\pm$ 1.93 n=10
	Docentes*	1.84 $\pm$ 1.81 n=277	2.41 $\pm$ 2.26 n=89
SOD (U/mL)	Abogados	171.85 $\pm$ 36.62 n=37	206.44 $\pm$ 2.04 n=2
	Docentes*	198.78 $\pm$ 61.72 n=147	216.42 $\pm$ 67.04 n=60
GPx (U/L)	Abogados	6053.49 $\pm$ 2501.66 n=37	7448.82 $\pm$ 1968.84 n=2
	Docentes	9053.68 $\pm$ 4663.87 n=147	7802.60 $\pm$ 4261.79 n=60

<b>Cp (mg/dL)</b>	<b>Abogados</b>	36.33 ± 8.26 n=100	35.30 ± 7.51 n=13
	<b>Bomberos</b>	34.74 ± 7.90 n=115	36.72 ± 8.74 n=10
	<b>Docentes</b>	35.15 ± 9.01 n=261	35.42 ± 8.14 n=82
<b>PCR (mg/dL)</b>	<b>Abogados</b>	0.26 ± 0.70 n=100	0 ± 0 n=13
	<b>Bomberos</b>	0.23 ± 0.66 n=115	0 ± 0 n=10
	<b>Docentes</b>	0.37 ± 1.65 n=261	0.32 ± 1.27 n=82

**Los valores se expresan como la Media ± DE**

**Prueba U de Mann-Whitney** para comparar las medias de los individuos estresados vs no estresados, en cada actividad laboral: \*NITRITOS ( $p < 0.05$  en bomberos), \*TBARS ( $p < 0.05$  en docentes), \*SOD ( $p < 0.05$  en docentes).

El valor medio de nitritos en bomberos estresados es significativamente mayor que el de bomberos no estresados. La media de SOD en los docentes no estresados es significativamente mayor que la de docentes estresados, así mismo el valor medio de TBARS es significativamente mayor en los docentes no estresados.

## 10. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El estrés oxidativo es un estado fisiológico en el que se pierde el equilibrio entre las defensas antioxidantes y la cantidad de radicales libres producidos en el organismo, este desequilibrio conduce a la producción de daño a biomoléculas como el ADN, lípidos de membrana y proteínas celulares, causando severos problemas en el funcionamiento orgánico, dependiendo del grado de estrés oxidativo presente, el daño observado puede ser mayor o menor, este proceso se ha ligado íntimamente a una gran cantidad de patologías, tanto de tipo crónico degenerativo como agudas. <sup>1-3</sup> Se puede monitorear el estrés oxidativo por medio de varios marcadores bioquímicos, dentro de las principales determinaciones realizadas se encuentran: nitritos y nitratos plasmáticos, lipoperoxidación, actividad de enzimas antioxidantes, capacidad antioxidante total (CAT), cuantificación de 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina y carbonilación de proteínas, entre otras. <sup>3, 8-12</sup> Se ha explorado la asociación del proceso inflamatorio con el estrés oxidativo, algunos estudios demuestran la participación in vitro de la Ceruloplasmina en la peroxidación lipídica, confiriéndole un papel como catalizador en las reacciones de oxidación. <sup>32, 33</sup>

Existe una gran cantidad de factores que intervienen en el desarrollo de este estado, en varios estudios se ha explorado la influencia de la actividad laboral, se ha mostrado que dependiendo de la actividad desempeñada variará el número de condiciones prooxidantes a las que un individuo está expuesto, por ejemplo largas jornadas, cambios de turno y periodos de privación del sueño, entrenamiento físico extenuante, así como permanecer de pie durante largos periodos, inducen un aumento en la producción de radicales y del daño oxidativo, a esto debe sumarse el estrés emocional que produce la carga de trabajo en empleos que son altamente demandantes. <sup>38-42</sup>

En el presente trabajo, la población de estudio se conformó principalmente por docentes (66.57%), seguidos del grupo de bomberos (17.56%) y finalmente por el grupo de abogados (15.87%). Del total de la población un 36% estuvo constituido por individuos de sexo masculino y un 64% por individuos de sexo femenino. El rango de edades abarcó desde los 19 años hasta los 67 años.

En el cuadro 4 se presentan los marcadores hematológicos de los tres grupos de estudio, la población de bomberos posee el valor medio más elevado ( $14.29 \pm 1.29$  g/dL), que es significativamente mayor que el de docentes, los abogados presentaron la media más baja. En el conteo de células leucocitarias los abogados poseen la media más alta ( $7730 \pm 2433$  células/mm<sup>3</sup>), la media del grupo de bomberos es significativamente menor que la de abogados y docentes. Se encontró un comportamiento similar para el porcentaje medio de neutrófilos, las células que son la especie leucocitaria más abundante y que están estrechamente relacionadas con la producción de NO y otros radicales libres, en este caso existen diferencias significativas entre las medias de las tres poblaciones, siendo nuevamente la media de abogados, la mayor. Las medias de las tres poblaciones se encuentran dentro de los valores de referencia, solamente el grupo de abogados presenta valores de hemoglobina ligeramente por debajo del rango. <sup>44</sup>

En el cuadro 5 se presentan los marcadores bioquímicos de cada población. El grupo de docentes presentó los valores medios más elevados para todos los marcadores, en glucosa ( $123.20 \pm 58.90$  mg/dL), en colesterol ( $185.52 \pm 65.82$  mg/dL) y en triglicéridos ( $159.48 \pm 87.00$  mg/dL), existen diferencias significativas entre la población de docentes y la de bomberos en los tres parámetros, solo en colesterol existen diferencias significativas entre las tres poblaciones. Debido a la relación del proceso oxidativo con los marcadores lipídicos, es posible que esto favorezca el incremento en la peroxidación lipídica en los docentes. Por otro lado los bomberos presentan las menores medias para glucosa y colesterol, lo que puede explicar que presenten valores medios menores para los marcadores oxidativos e inflamatorios.<sup>10, 11, 42</sup>

La población de abogados presentó la media más elevada de nitritos ( $2.75 \pm 2.65$  µg/mL), que es significativamente mayor que la de docentes, así mismo los abogados poseen la media más elevada de ceruloplasmina ( $36.22 \pm 8.15$  mg/dL), mientras que las medias de sus enzimas antioxidantes fueron las más bajas, tanto para SOD ( $180.69 \pm 40.55$  U/mL), como para GPx ( $6245.07 \pm 2822.39$  U/L), los valores medios de TBARS y PCR no mostraron diferencias significativas. Estos hallazgos permiten suponer que los abogados tienen una mayor producción de NO, lo que provoca un incremento de otras especies de radicales libres, del mismo modo el aumento en la concentración de Cp puede asociarse a la producción de radicales libres, estos aumentos en las especies prooxidantes pueden explicar la disminución observada en la actividad enzimática antioxidante de SOD y GPx. El comportamiento de los biomarcadores en esta población pudiera explicarse como la consecuencia de un proceso oxidativo prolongado, que finalmente el organismo no es capaz de compensar, por lo que los abogados son el grupo que presenta mayores alteraciones oxidativas.<sup>37-41, 43</sup>

En contraste, en la población de docentes se observa la media menor para los nitritos ( $1.88 \pm 1.54$  µg/mL), mientras que para sus enzimas antioxidantes se tienen las medias más altas, para SOD ( $206.11 \pm 63.85$  U/mL) y para GPx ( $8680.10 \pm 4623.60$  U/L), ambas actividades enzimáticas son significativamente mayores que las de los de los abogados. A pesar de no existir diferencias significativas entre poblaciones, los docentes poseen los valores medios más elevados para TBARS ( $2.02 \pm 2$  µM/L) y para PCR ( $0.34 \pm 1.48$  mg/dL). Esto indica que son el grupo con mayor peroxidación lipídica e inflamación. Debe considerarse la relación existente entre el aumento de lípidos séricos y el aumento de la PCR, como se mencionó anteriormente, la población de docentes posee la mayor media de lípidos, así mismo, los docentes realizan sus actividades permaneciendo de pie durante prolongados periodos de tiempo, lo que favorece la liberación de sustancias proinflamatorias a nivel vascular. Los valores medios de los marcadores en la población de docentes, pueden indicar un proceso oxidativo donde el organismo intenta compensar la producción de radicales libres, el aumento de TBARS y de la actividad enzimática antioxidante permiten suponer que se están formando radicales superóxido que favorecen la peroxidación lipídica, en respuesta a este comportamiento se eleva la concentración de enzimas antioxidantes para frenar el daño; esta situación activa la liberación de citocinas proinflamatorias que pueden inducir la respuesta de fase aguda, lo que también contribuye al aumento en el nivel de PCR. El comportamiento observado en este grupo permite pensar que existe un proceso oxidativo que intenta ser regulado.<sup>37-41, 43</sup>

Para la población de bomberos se encontró una tendencia a presentar menores valores medios en la mayoría de los marcadores, los bomberos presentan las medias más bajas de TBARS ( $1.73 \pm 1.72 \mu\text{M/L}$ ), ceruloplasmina ( $35.05 \pm 7.99 \text{ mg/dL}$ ) y PCR ( $0.2 \pm 0.63 \text{ mg/dL}$ ), aunque no hay diferencias estadísticas significativas entre las poblaciones. El valor medio de nitritos para los bomberos ( $2.5 \pm 1.75 \mu\text{g/mL}$ ) es significativamente mayor que el de los docentes, pero menor que el de los abogados. Por tanto este grupo tiene las menores peroxidación lipídica e inflamación. Si se considera la participación de la Cp en el proceso de peroxidación lipídica, los valores observados en los bomberos concuerdan con la observación de una menor media de TBARS. Por otro lado, a pesar de que no se cuentan con datos sobre la actividad enzimática en bomberos, existe una íntima relación entre la concentración de Hb y los niveles de enzimas antioxidantes, debido a que las células rojas poseen la mayor parte de dichas enzimas (SOD, GPx) y dado que los bomberos tienen la mayor media de Hb de las tres poblaciones, se podría suponer que sus valores de actividad enzimática podrían ser elevados, brindando una mayor capacidad antioxidante. Por estas razones se puede decir que la población de bomberos es la que tiene un menor grado de oxidación. **37-41, 43**

Los valores medios de los biomarcadores de EOx encontrados en este trabajo, se encuentran elevados en las distintas poblaciones de estudio, principalmente los valores medios de nitritos y lipoperoxidación, estas observaciones concuerdan con resultados obtenidos en otras investigaciones que exploran relaciones entre la actividad laboral de distintos grupos y la presencia de estrés oxidativo. **17, 20, 35, 37-41, 45-52** En el presente estudio, se encontró que sí existen diferencias significativas interpoblacionales en el caso de algunos parámetros de estrés oxidativo, por lo que podemos atribuir estas diferencias a la actividad laboral desempeñada. **37-41** Estas diferencias pueden estar influenciadas por varios factores como diferencias en la dieta, la constante movilización en el ambiente urbano y otros aspectos del estilo de vida. **10, 37-41**

En el cuadro 6 se observan los valores de correlación lineal de Pearson entre los marcadores de EOx e inflamación en la población general. Los nitritos están relacionados directamente con la enzima SOD ( $p < 0.05$ ,  $r = 0.201$ ), al igual que la peroxidación lipídica (TBARS), se relaciona directamente con la actividad de la enzima SOD ( $p < 0.001$ ,  $r = 0.319$ ) estas relaciones se pueden explicar como una respuesta del organismo ante el aumento de radicales libres. Un aumento en la producción de lipoperóxidos implica un mayor gasto de GPx, para remover los peróxidos, así mismo se ha visto que en ciertas ocasiones la GPx se ve inactivada por una alta concentración de peróxidos, esto se enlaza con las siguientes relaciones encontradas: una asociación negativa entre nitritos y GPx ( $p < 0.001$ ,  $r = -0.228$ ), del mismo modo que sucede entre TBARS y GPx ( $p < 0.001$ ,  $r = -0.297$ ). La SOD puede aumentar en respuesta a la producción excesiva de radicales superóxido mismos que promueven la formación de peróxidos, como se dijo anteriormente, una alta cantidad de peróxidos pueden inhibir la acción de la enzima GPx, lo que se observa en la relación negativa ( $p < 0.001$ ,  $r = -0.252$ ) entre la SOD y la GPx. **14, 17, 41, 49**

Un aspecto interesante a considerar es el papel prooxidante de la Cp que interviene en la formación de lipoperóxidos lo que también estimula un

incremento en la respuesta antioxidante, esto brinda una posible explicación a la relación positiva ( $p < 0.05$ ,  $r = 0.139$ ) encontrada entre la Cp y la enzima SOD, y a la relación negativa ( $p < 0.05$ ,  $r = -0.141$ ) que guarda la Cp con la enzima GPx.<sup>17, 48, 49</sup>

En el análisis intrapoblacional se realizó la comparación de las medias de los marcadores de interés, en función del sexo y de la presencia de estrés laboral en cada población laboral. En el cuadro 7 se observa que solamente existen diferencias significativas en la población de bomberos, donde la media de nitritos para hombres fue significativamente mayor ( $2.71 \pm 1.90 \mu\text{g/mL}$ ), que la de las mujeres. La media de PCR fue significativamente mayor en mujeres ( $0.48 \pm 0.97 \text{ mg/dL}$ ) que en hombres. A pesar de no existir diferencias significativas en los marcadores de EOX e inflamación dependiendo del género, si se puede observar una tendencia en el grupo femenino a tener un menor impacto del daño oxidativo, esto reflejado en un nivel general menor de nitritos, TBARS así como una cantidad mayor de enzima GPx.

La relación entre el estrés laboral y los biomarcadores de EOX e inflamación se observa en el cuadro 8, se encontraron diferencias significativas sólo en el caso de bomberos y docentes. Los bomberos estresados poseen una media de nitritos significativamente superior ( $2.61 \pm 1.80 \mu\text{g/mL}$ ) que la media de los no estresados, lo cual permite suponer que el estrés laboral influye en aumento de la producción de radicales libres. Por otra parte en la población de docentes la media de SOD es significativamente mayor en la población no estresada ( $206.44 \pm 2.04 \text{ U/mL}$ ), esto también nos lleva a pensar que el impacto del estrés laboral disminuye la capacidad antioxidante de la población docente. La media de TBARS se encuentra significativamente más elevada en el grupo de los docentes no estresados ( $2.41 \pm 2.26 \mu\text{M/L}$ ) este valor es contrario a lo esperado. De manera general, los niveles de marcadores de EOX e inflamación son menores en la población no estresada y la actividad enzimática también es mayor en la población no estresada, lo que sugiere que el estrés laboral tiene un impacto en el estado oxidativo del individuo. Ya que la mayor parte de las tres poblaciones estudiadas está sometida a estrés laboral, sería conveniente trabajar con poblaciones cuyos tamaños sean más homogéneos, esto permitiría obtener resultados concluyentes acerca del papel que juega el estrés laboral en el desarrollo de estrés oxidativo.

## 11. CONCLUSIONES

- ❖ Los valores medios de nitritos, SOD y GPx mostraron diferencias significativas de acuerdo a la actividad laboral, este comportamiento indica que el proceso de EOx se presenta de manera distinta en los tres grupos laborales observados. Los marcadores de inflamación (PCR y Cp) no mostraron diferencias significativas asociadas al tipo de actividad laboral.
- ❖ Existen asociaciones positivas entre los valores de nitritos, TBARS y Cp con los valores de SOD, esta relación entre agentes prooxidantes e inflamatorios con una enzima antioxidante, muestra la acción del mecanismo de compensación del organismo frente al EOx sufrido.
- ❖ Existen asociaciones negativas entre los valores de nitritos, TBARS y Cp con los valores de GPx, esta disminución en los niveles de peroxidasa, puede indicar un mayor consumo de la enzima y un proceso de inactivación sufrido como consecuencia del aumento de radicales libres que estimulan la peroxidación y la inflamación.
- ❖ La población de abogados presenta un aumento de especies oxidantes y disminución en las especies antioxidantes. Por otra parte la población de docentes muestra un incremento enzimático antioxidante y un aumento en la lipoperoxidación. Finalmente, la población de bomberos posee bajos niveles de especies oxidantes y de marcadores inflamatorios. Las poblaciones estudiadas presentan distintos grados de EOx, siendo los abogados los más impactados, seguidos por los docentes y por los bomberos, este grado de oxidación no sólo está asociado al tipo de actividad desempeñada, sino también a las diferencias en los estilos de vida y la dieta.
- ❖ No existen diferencias significativas asociadas al sexo, entre las medias de los marcadores analizados, salvo en la población de bomberos. A pesar de este hecho, se observa una tendencia general en el grupo de sexo masculino a presentar niveles elevados de marcadores de EOx y a poseer una baja actividad enzimática antioxidante.
- ❖ En el análisis de la relación entre estrés laboral y los marcadores estudiados, se encontraron diferencias significativas en los parámetros de las poblaciones de bomberos y docentes. Fue posible observar una tendencia general en la población con estrés laboral a presentar un aumento en los niveles de EOx e inflamación y una disminución en su actividad enzimática antioxidante.

## **12. PROPUESTAS**

Esta línea de investigación se podría beneficiar incorporando las siguientes propuestas:

- ❖ Incrementar el número de poblaciones estudiadas, esto con el fin de obtener una perspectiva más amplia de la relación entre el EOx y la actividad laboral.
- ❖ Homogeneizar los tamaños poblacionales e incrementar el número de individuos estudiados por población, para explorar otras relaciones significativas entre los marcadores de EOx e inflamación.
- ❖ Implementar un esquema de tipo longitudinal, con la finalidad de observar la variación en el proceso oxidativo e inflamatorio dentro de las poblaciones de estudio.

### 13. **REFERENCIAS**

1. Ríos de Molina MC. El estrés oxidativo y el destino celular. *Química Viva* [seriada en línea]. 2003 [citado 2011 Jun 20]; 2(1). Disponible en: [www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar/Actualizaciones/estres%20oxidativo.html](http://www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar/Actualizaciones/estres%20oxidativo.html)
2. Aparicio PR. Medición de estrés oxidativo en pacientes no sépticos [Tesis de postgrado]. Distrito Federal, México: Universidad Nacional Autónoma de México; 2006.
3. Gonzalo SR. Papel de las mutaciones del ADNmt en la producción de daño oxidativo mediado por ROS en un modelo de cíbridos transmitocondriales. [Tesis Doctoral]. Barcelona: Universidad Autónoma de Barcelona; 2005.
4. Chen Q, Vazquez EJ, Moghaddas S, Hoppel CL, Lesnefsky EJ. Production of reactive oxygen species by mitochondria. *J. Biol. Chem.* 2003; 278(38):36027-36031.
5. Hipertextos del Área de la Biología [sitio en internet]. Sin fecha [citado 2011 Julio 26]. Disponible en: [www.biologia.edu.ar/metabolismo/met6.htm](http://www.biologia.edu.ar/metabolismo/met6.htm)
6. Avello M, Suwalsky M. Radicales libres, estrés oxidativo y defensa antioxidante celular [sitio en internet]. Sin fecha de publicación [citado 2011 Julio 13]. Disponible en: [www.ciencia-ahora.cl/Revista17/03RadicalesLibres.pdf](http://www.ciencia-ahora.cl/Revista17/03RadicalesLibres.pdf)
7. McCord JM. The evolution of free radicals and oxidative stress. *Am J Med.* 2000; 108:652-659.
8. Pérez de la Cruz A, Abilés J, Castaño PJ. Estrés oxidativo y su implicación en distintas patologías. *Nutr Clin Med.* 2008; 2(2):45-64. Disponible en [www.nutricionclinicaenmedicina.com/attachments/023\\_01\\_num02\\_08.pdf](http://www.nutricionclinicaenmedicina.com/attachments/023_01_num02_08.pdf)
9. Clapés S, Torres O, Companioni M, Villariño U, Broche F, Céspedes EM. Peroxidación lipídica y otros indicadores de estrés oxidativo en pacientes diabéticos. *Rev Cubana Invest Biomed.* 2001; 20(2):93-98. Disponible en [http://bvs.sld.cu/revistas/ibi/vol20\\_2\\_01/ibi022001.pdf](http://bvs.sld.cu/revistas/ibi/vol20_2_01/ibi022001.pdf)
10. Jiménez RA, Dominguez GV, Amaya CA. El papel del estrés oxidativo en la disfunción endotelial de la aterosclerosis. *Ciencia ergo sum* 2010; 17(2):258-268
11. Bermúdez PVJ, Bracho V, Bermúdez AFA, Medina RMT, Núñez PM, Amell de Díaz A, Cano PC. Comportamiento del malondialdehído y el óxido nítrico séricos en pacientes con infarto de miocardio. *Rev Esp Cardiol* 2000; 53: 502-506.
12. Al-Dallen SM, Chávez RT, Martínez SG, Ferreira BE, León FOS. El equilibrio redox en la diabetes y sus complicaciones. *Acta Farm. Bonaerense* 2004; 23(2): 231-42.
13. Jiménez JFJ, Alonso NH, Ayuso PL, Jabbour WT. Estrés oxidativo y enfermedad de Alzheimer. *Rev Neurol* 2006; 42 (7): 419-427.
14. Jordán GI. Óxido nítrico espirado y nitritos y nitratos en sangre en el recién nacido con alto riesgo de infección perinatal [Tesis doctoral]. Barcelona: Universidad de Barcelona; 2006.
15. Zhang J. Nitric Oxide Synthase Assays. *Current Protocols in Pharmacology.* 2001; 2.4.1-2.4.12 Nitric oxide synthase assays. En: *Current Protocols in Pharmacology.* Boston: John Wiley & Sons, Inc. 1998; p 2.4.1-2.4.12
16. Turrens JF. Superoxide production by the mitochondrial respiratory chain. *Biosci. Rep.* 1997; 17(1):3-8.
17. Buldanlioglu S, Turkmen S, Ayabakan HB, Yenice N, Vardar M, Dogan S, Mercan E, et al. Nitric oxide, lipid peroxidation and antioxidant defence

- system in patients with active or inactive Behçet's disease. *Br J Dermatol.* 2005; 153(3):526-530.
18. Green LC, Wagner DA, Glogowski J, Skipper L, Wishnok JS, Tannebaum SR. Analysis of nitrate, nitrite and [<sup>15</sup>N] nitrate in biological fluids. *Anal. Biochem.* 1982; 126:131-138.
  19. Cabrera ME, Hernández GL, Gómez RH, Cañizares MMP. Determinación de nitratos y nitritos en agua. Comparación de costos entre un método de flujo continuo y un método estándar. *Rev. Soc. Quím. Méx.* 2003; 47(1):88-92.
  20. Céspedes ME, Castillo HJ. La peroxidación lipídica en el diagnóstico del estrés oxidativo del paciente hipertenso ¿realidad o mito?. *Rev. Cuba. Invest. Biomed.* 2008; 27(2):1-13.
  21. Kikugawa K. Strategy in a living body to protect against oxidative stress-induced damage. *J. Health Sci.* 2004; 50(5): 443-455.
  22. Rosado PJ, Ruiz RM. Técnicas para medir estrés oxidativo. En: Mendoza NVM, Retana UR, editores. *Estrés oxidativo e inflamación: medición e interpretación diagnóstica.* México: Universidad Nacional Autónoma de México, 2009; p. 165-209.
  23. Estepa V, Ródenas S, Martín MC. Optimización de un método para la determinación de la peroxidación lipídica en suero humano. *Anal. Real Acad. Farm.* 2001; 67(3):1-17.
  24. Percival M. Antioxidants [sitio de internet]. 1998 [citado 2011 Junio 29]. Disponible en: <http://acudoc.com/Antioxidants.PDF>
  25. Beristain PAS, Sánchez RMA, Ruiz RM, Mendoza NVM. Estrés oxidativo como factor de riesgo para el desarrollo de diabetes mellitus, osteoartritis o hipertensión arterial en adultos mayores. *Bioquímica.* 2006; 31(1):13-22.
  26. Hernández AV, Marroquín SR. Técnicas para medir el proceso inflamatorio. En: Mendoza NVM, Retana UR, editores. *Estrés oxidativo e inflamación: medición e interpretación diagnóstica.* México: Universidad Nacional Autónoma de México, 2009; p. 81-109.
  27. García BP. Inflamación. *Rev. R. Acad. Cienc. Exact. Fís. Nat.* 2008; 102(1):91-159
  28. Cuevas GS. Análisis de los factores de riesgo cardiovascular en el proceso de envejecimiento y su relación con el estrés oxidativo. Estudio piloto observacional. [Tesis Doctoral]. Murcia: Facultad de medicina, Departamento de Fisiología, Universidad de Murcia; 2008.
  29. Tillet WS, Francis T. Serological reactions in pneumonia with a non-protein somatic fraction of pneumococcus. *J. Exp. Med.* 1930; 52:561-571.
  30. Roitt IM, Brostoff J, Male DK. *Inmunología.* 5a ed. Madrid: Harcourt Brace; 2000. p 5,383.
  31. Parslow TG, Stites DP, Terr AI, Imboden JB. *Inmunología básica y clínica.* 10a ed. México: El Manual Moderno; 2002. p. 253.
  32. Fox PL, Mazumder B, Ehrenwald E, Mukhopadhyay CK. Ceruloplasmin and cardiovascular disease. *Free. Radic. Biol. Med.* 2000; 28(12):1735-1744.
  33. Yapur VM, Bustos MF, González AS, Negri GA. Ceruloplasmina: determinación de su actividad ferroxidasa. *Acta Bioquím. Clín. Latinoam.* 2007; 41(3):347-351.
  34. Mendoza NVM. Envejecimiento y las enfermedades crónicas no transmisibles. En: Mendoza NVM, Retana UR, editores. *Estrés oxidativo e inflamación: medición e interpretación diagnóstica.* México: Universidad Nacional Autónoma de México, 2009, p. 54-62.

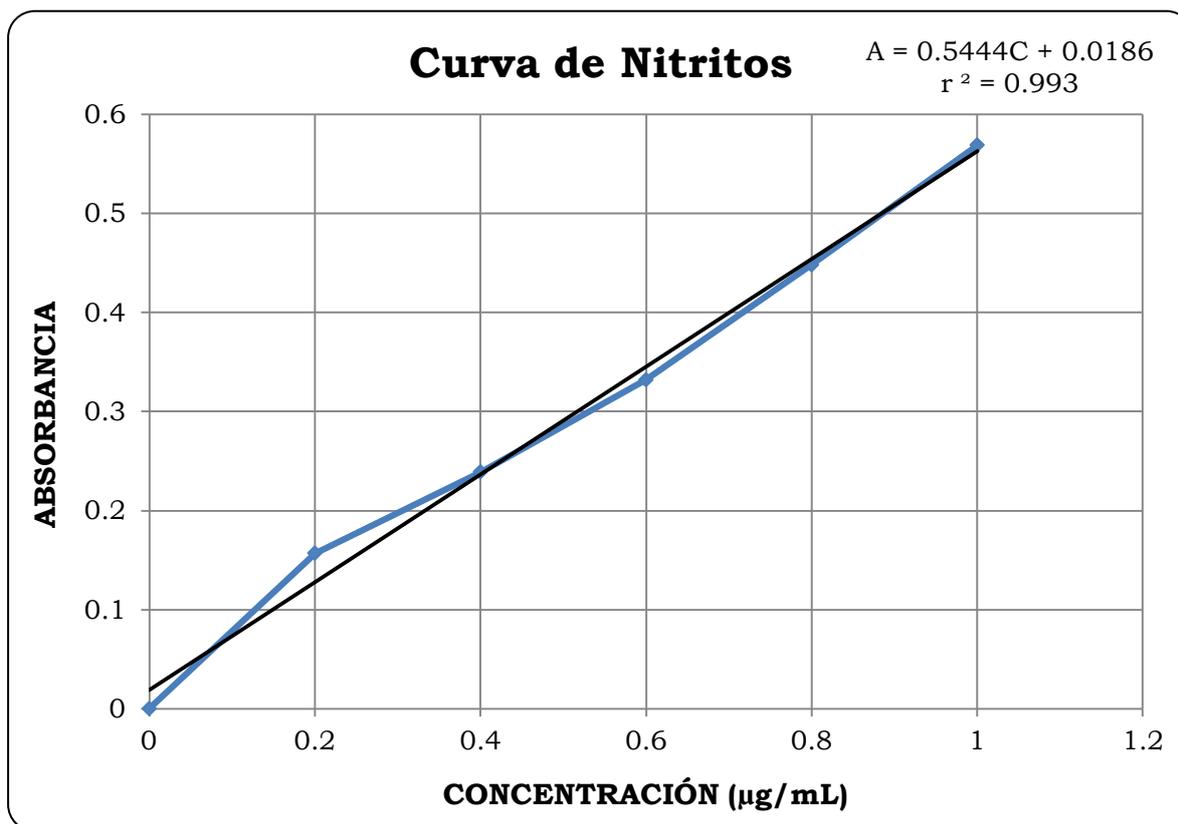
35. Yeh CC, Barr RG, Powell CA, Vela SM, Wang Y, Hamade NK, et al. No effect of cigarette smoking dose on oxidized plasma proteins. *Environ. Res.* 2008; 106: 219-225.
36. Ley Federal del Trabajo. Distrito Federal, México: Diario Oficial de la Federación; 2006. (Ene. 17, 2006).
37. Buyukhatipoglu H, Kirhan I, Vural M, Taskin A, Sezen Y, Dag OF, et. al. Oxidative Stress Increased in Healthcare Workers Working 24-Hour On-Call Shifts. *Am. J. Med. Sci.* 2010; 340(6):462-467
38. Flore R, Gerardino L, Santoliquido A, Pola R, Flex A, Pola P, et. al. Enhanced oxidative stress in workers with a standing occupation. *Occup Environ Med.* 2004; 61:548-550.
39. Tanskanen MM, Uusitalo AL, Kinnunen H, Häkkinen K, Kyröläinen H, Atalay M. Association of military training with oxidative stress and overreaching. *Med Sci Sports Exerc.* 2011; 43(8):1552-1560.
40. Perfil fisiológico en el trabajo del bombero [sitio en internet]. Sin fecha [citado 2011 Septiembre 14]. Disponible en: <http://reanimovil.com/docgenerales/Perfil%20fisiologico%20en%20el%20trabajo%20del%20Bombero.pdf>
41. Toker S, Shirom A, Shapira I, Berliner S, Melamed S. The association between burnout, depression, anxiety, and inflammation biomarkers: C-reactive protein and fibrinogen in men and women. *J. Occu. Hlth. Psy.* 2005; 10(4):19.
42. Gil-Monte PR, Nuñez-Román EM, Selva-Santoyo Y. Relación entre el síndrome de quemarse por el trabajo (burnout) y síntomas cardiovasculares: un estudio en Técnicos de Prevención de Riesgos Laborales. *Interamerican Journal of Psychology.* 2006; 40(2):227-232.
43. Aranda BC, Pando MM, Torres LT, Salazar EJ, Aldrete RMG. Síndrome de burnout y manifestaciones clínicas en los médicos familiares que laboran en una institución de salud para los trabajadores del estado. *Psicología y Salud.* 2006; 16(1):15-21.
44. Vives CJ, Aguilar BJ. Manual de Técnicas de Laboratorio en Hematología. 3ra ed. Barcelona: ELSEVIER MASSON; 2006. p 89-92, 127-130, 149-162.
45. Ishihara I, Nakano M, Ikushima M, Hara Y, Yoshimine T, Haraga M, et. al. Effect of work conditions and work environments on the formation of 8-OH-dG in nurses and non-nurse female workers. *J UOEH.* 2008; 30(3):293-308.
46. Alejo GA, Marroquín SR, Mora GJLA, Flores CY, Tovalín AH. Lípidos plasmáticos y riesgo cardiovascular en trabajadores de distintas actividades del Distrito Federal. *REMESAT.* 2010; 1(6): 7-10.
47. Bhatia S, Shukla R, Madhu SV, Gambhir JK, Prabhu KM. Antioxidant status, lipid peroxidation and nitric oxide end products in patients of type 2 diabetes mellitus with nephropathy. *Clin. Biochem.* 20038; 36(7):557-562.
48. Astaneie F, Afshari M, Mojtahedi A, Mostafalou S, Zamani MJ, Larijani B, et. al. Total antioxidant capacity and levels of epidermal growth factor and nitric oxide in blood and saliva of insulin-dependent diabetic patients. *Archives of Medical Research.* 2005; 36(4):376-381.
49. Aydin A, Orhan H, Sayal A, Özata M, Sahin G, Isimer A. Oxidative stress and nitric oxide related parameters in type II diabetes mellitus: effects of glycemic control. *Clin. Biochem.* 2001; 34(1):65-70.
50. Ishikawa S, Kayaba K, Gotoh T, Nakamura Y, Kajii E. Metabolic syndrome and c-reactive protein in the general population. *Circ. J.* 2007; 71:26-31.

## 14. ANEXOS

### Anexo 1

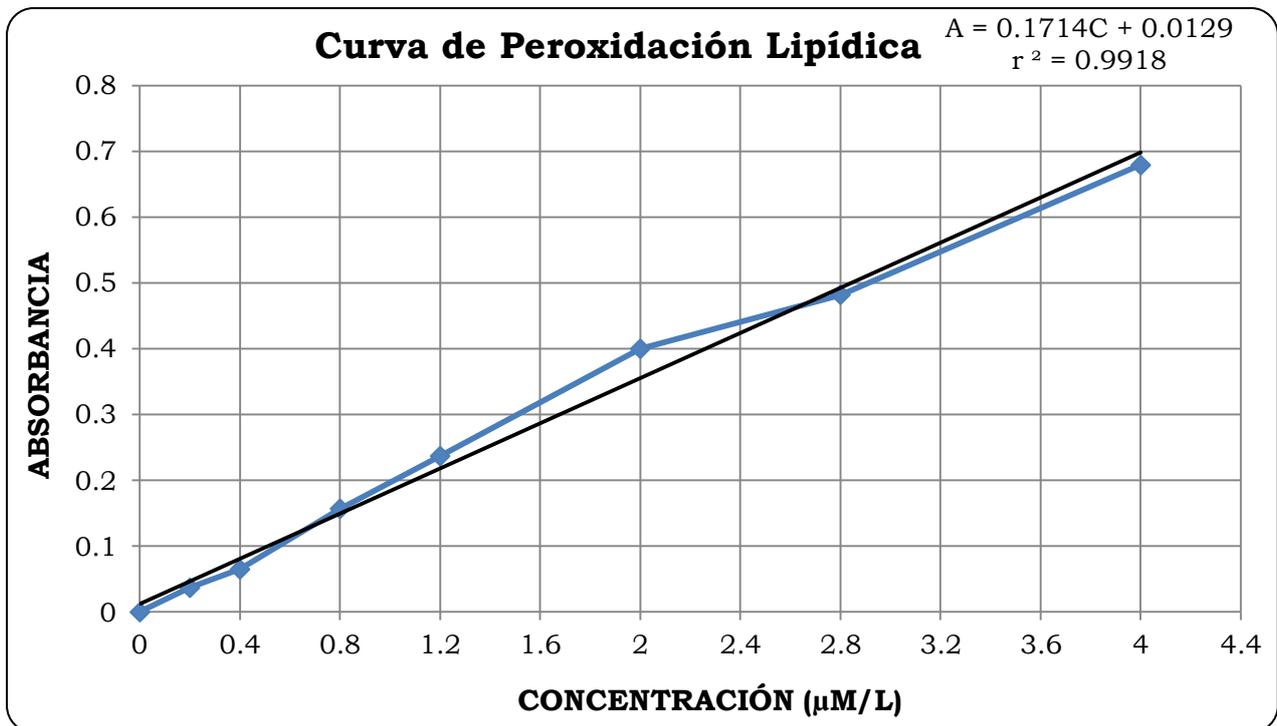
- Curva tipo empleada en la cuantificación de Nitritos, partiendo de una disolución patrón de 2 µg/mL de nitrito de sodio, en agua destilada.

Volumen Patrón (µL)	Concentración Final (µg/mL)	A
0	0	0
10	0.2	0.157
200	0.4	0.239
300	0.6	0.332
400	0.8	0.448
500	1	0.569



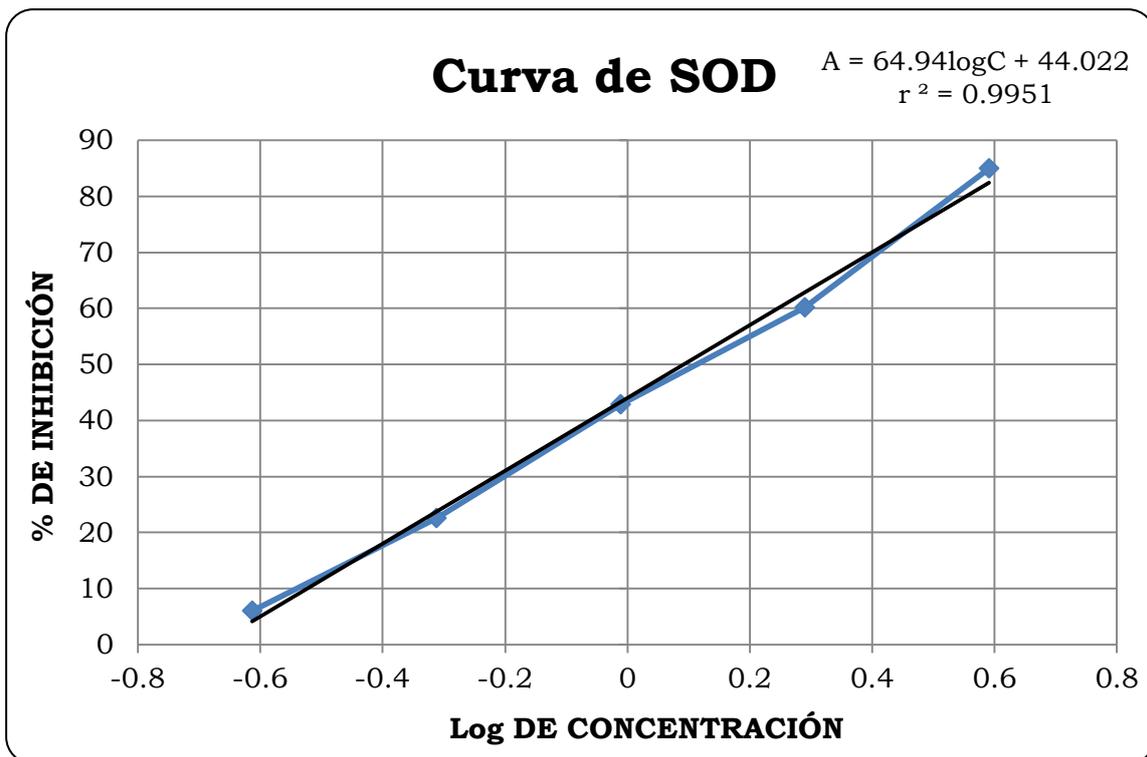
- **Curva tipo empleada en la cuantificación de TBARS (Peroxidación Lipídica), partiendo de una disolución patrón de TMP 0.04mM, en agua destilada.**

<b>Volumen Patrón (μL)</b>	<b>Concentración Final (μM/L)</b>	<b>A</b>
0	0	0
5	0.2	0.037
10	0.4	0.065
20	0.8	0.157
30	1.2	0.237
50	2	0.4
70	2.8	0.482
100	4	0.679



- **Ejemplo de curva empleada en la cuantificación de SOD partiendo de una disolución patrón de enzima. El porcentaje de inhibición de reacción para el estándar y las muestras, se calcula a partir de la Absorbancia como se indica en el inserto.**

Concentración SOD (U/mL)	Log de C	% de Inhibición
0	-	0
0.24	-0.61	6.01
0.48	-0.31	22.55
0.97	-0.01	42.85
1.95	0.29	60.15
3.90	0.59	84.96



## **Anexo 2**

### **MATERIAL BIOLÓGICO**

- ❖ Plasmas de las distintas poblaciones de trabajadores, obtenidos empleando heparina como anticoagulante.
- ❖ Paquetes celulares eritrocitarios, de las distintas poblaciones de trabajadores.
- ❖ Suero de conejo anti-ceruloplasmina.
- ❖ Eritrocitos de carnero (GRC)
- ❖ Carbohidrato C de neumococo (50 µg/mL).

### **MATERIAL**

<b>Nombre</b>	<b>Características</b>
Agujas estériles para Vacutainer	Becton, Dickinson & Company (0.8X38 mm)
Cámaras de Neubauer	American Optical Corporation
Camisas para aguja	Vacutainer Brand
Celdas de cuarzo	Para espectrofotómetro JENWAY 6305 UV/VIS
Cubreobjetos	Corning (18X18 mm)
Gradillas de metal	Para tubos de 13X100 mm
Jeringas	BD Plastipak (5 mL)
Ligaduras	
Matraz aforado	Pyrex (10 mL, 25 mL, 100 mL)
Matraz Erlenmeyer	Kimax (125 mL, 250 mL)
Papel aluminio	Aluplus
Papel Parafilm	Pechiney, Plastic Packaging
Pipetas de Sahli	
Pipetas de Thoma	Propper Trophy
Pipetas graduadas	5 mL, 1 mL, 10 mL
Pipetas Pasteur	
Placas Falcon	35 mm
Placas para ELISA	Fondo tipo "V"
Portaobjetos	Corning
Puntas para micropipetas	BIOHIT

Regla milimétrica	
Termómetro	-20 °C a 150 °C
Torundas con alcohol	
Tubos de 10mL con heparina	Vacutainer
Tubos de plástico	13X100 mm
Tubos de vidrio	13X100 mm Pyrex
Tubos Eppendorf	1 mL
Vasos de precipitados	Kimax (50 mL)
Vasos de precipitados	Kimax (250 mL)

### ***EQUIPO***

<b>Nombre</b>	<b>Características</b>
Agitador Rocker	Rocker Platform Bellco Glass
Agitador Vortex genie	Scientific Industries
Balanza Analítica	OHAUS
Baño María	Precision
Centrífuga	Hamilton BelVan Guard V 6500
Centrífuga para Eppendorf	HERMLE Z 233 M-2
Congelador	Reico
Cronómetro	
Espectrofotómetro	JENWAY 6305 UV/VIS
Horno de microondas	
Incubadora	
Micropipeta	Finnpipette – Labsystems (5-40 µL)
Micropipeta	BIOHIT Proline (10-100 µL)
Micropipeta	BIOHIT Proline (100-1000 µL)
Micropipeta	BIOHIT Proline (0.5-10 µL)
Microscopio	ZEISS Primo Start
Papel aluminio	Aluplus
Papel Parafilm	Pechiney, Plastic Packaging
Pipetor automático	Powerpette
Refrigerador	Twist aire- Mabe
Trampa de vacío	

**REACTIVOS**

<b>Nombre</b>	<b>Marca</b>
1,1,3,3 Tetrametoxipropano (TMP)	Aldrich
2,6-Diterbutil-4-metilfenol (BHT)	Sigma Aldrich
Aceite de inmersión	Hycel de México
Ácido acético	Merck
Ácido clorhídrico	EM Science
Ácido ortofosfórico	Sigma Aldrich
Ácido tiobarbitúrico (TBA)	Sintetizado en el laboratorio de química orgánica, FES Zaragoza por el M. en C. Rodolfo Carreón Sánchez
Agarosa	Bioxon
Agua destilada	
Borato de sodio	J.T. Baker
Cadmio metálico	Aldrich
Cianuro de potasio	J.T. Baker
Cianuro de potasio	J.T. Baker
Cloruro de amonio	J.T. Baker
Cloruro de potasio	J.T. Baker
Cloruro de sodio	Hycel de México
Colorante de Wright	Golden Bell
Etanol absoluto	J.T. Baker
Ferrocianuro de potasio	J.T. Baker
Fosfato de potasio monobásico	J.T. Baker
Fosfato de sodio dibásico	J.T. Baker
Fosfato de sodio monobásico	J.T. Baker
Kit para cuantificación de colesterol (Stanbio Liquicolor)	LICON Laboratorios
Kit para cuantificación de glucosa (Liquicolor)	LICON Laboratorios
Kit para cuantificación de GPX (Glutación peroxidasa)	RANSEL, Randox Laboratories
Kit para cuantificación de SOD (Superóxido dismutasa)	RANSOD, Randox Laboratories
Kit para cuantificación de triglicéridos (Stanbio Liquicolor GPO-PAP)	LICON Laboratorios
Kit para investigar PCR (Proteína C Reactiva) por aglutinación de partículas látex	LICON Laboratorios

N(1-naftil)- etilendiaminodichlorhidrato (NED)	Merck
n-Butanol	J.T. Baker
Nitrito de sodio	Mallinckrodt
Solución de Turk	
Solución salina fisiológica al 0.9%	PiSA
Sulfanilamida	Merck
Sulfato de cobre pentahidratado	J.T. Baker
Sulfato de zinc	Hycel de México

---



## “TRABAJO Y SALUD CARDIOVASCULAR”

**LEA LO SIGUIENTE Y SI ESTÁ DE ACUERDO PONGA SU NOMBRE Y FIRMA**

*Firma de consentimiento:*

El abajo firmante manifiesto libre y voluntariamente que estoy de acuerdo en proporcionar esta información para el estudio de la FES Zaragoza, UNAM “**Relación del Síndrome de Quemarse por el Trabajo y la Salud Cardiovascular de los Trabajadores**”, cuyo objetivo consiste en conocer la frecuencia de este problema laboral en diferentes grupos de trabajadores y examinar su relación con indicadores de salud cardiovascular de los trabajadores.

Estoy conciente que los procedimientos consisten en contestar un cuestionario, tomarme la presión arterial, mi peso, talla, cintura, cadera y proporcionar una muestra de saliva; estos procedimientos no implican ningún riesgo para mi persona.

A algunos trabajadores se les solicitará además de forma voluntaria una muestra de sangre de 10 ml., para conocer cuáles son mis niveles de lípidos y otros elementos en mi sangre. Si doy la muestra de sangre se me entregará un reporte individual de mis resultados y recomendaciones para mejorar mi salud. Este procedimiento sólo puede causar una ligera molestia o moretón en el sitio de toma de la muestra.

Los responsables del estudio se comprometen a respetar mi confidencialidad y utilizar esta información para promover condiciones saludables en mi sitio de trabajo.

Es de mi conocimiento que en cualquier momento puedo retirarme del estudio, sin que tenga una repercusión personal o laboral. También puedo solicitar información adicional a los responsables. Los responsables del estudio no proporcionarán sin mi consentimiento mi información personal a

ninguna otra persona u organismo.

Al final del estudio los responsables me entregarán un reporte de los resultados generales obtenidos.

Para cualquier aclaración podré ponerme en contacto en cualquier momento con el responsable del proyecto, Dr. Horacio Tovalín Ahumada en la FES Zaragoza de la UNAM, al 56 2307 08 ext. 106.

Nombre y Firma del trabajador:

Fecha:

Nombre y Firma del entrevistador1:

Nombre y Firma del entrevistador2:

## CUESTIONARIO DE CONDICIONES DE TRABAJO Y SALUD-CONACYT/UNAM1

1. Centro de Trabajo: \_\_\_\_\_
2. Tiene otro trabajo: (Si) (No)
3. Nombre: \_\_\_\_\_
4. Sexo: (Masc.) (Fem.) 5. Edad (años): \_\_\_\_\_
6. Edo. Civil: (Soltero) (Casado) (Unión Libre) (Divorciado) (Viudo) (Separado)
7. Escolaridad: (Prim) (Sec) (Pre) (Tec) (Profe)(Posg)
8. Número de hijos \_\_\_\_\_
9. Dirección personal (Indicar Delegación y CP): \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_
10. Antigüedad en el trabajo (años): \_\_\_\_\_
11. Antigüedad en el puesto (años): \_\_\_\_\_
12. Turno: Mañana ( ) Tarde ( ) Noche ( ) Mixto ( )
13. Contrato: Interinato ( ) Base ( ) Confianza ( )

- **TODA LA INFORMACIÓN QUE USTED PROPORCIONE ES CONFIDENCIAL.**
- **LA INFORMACIÓN PERSONAL NO SERÁ ENTREGADA A LA ADMINISTRACIÓN.**
- **ESTA INFORMACIÓN ES IMPORTANTE PARA MEJORAR SU TRABAJO.**

- **POR FAVOR TRATE DE CONTESTAR LO MÁS CERCANO A SU SITUACIÓN LABORAL Y DE SALUD.**

**ELIGE UNA SOLA RESPUESTA PARA CADA UNA DE LAS PREGUNTAS SOBRE SU TRABAJO:**

	No, Estoy Totalmente en Desacuerdo	Estoy en Desacuerdo	Estoy de Acuerdo	Si, Estoy Totalmente de Acuerdo
18. En mi trabajo necesito aprender cosas nuevas.	1	2	3	4
19. Mi trabajo implica muchas actividades repetitivas (que se repiten).	1	2	3	4
20. Para mi trabajo tengo que ser creativo/a (proponer cosas nuevas).	1	2	3	4
21. En mi trabajo puedo tomar muchas decisiones por mi mismo/a.	1	2	3	4
22. Mi trabajo requiere de mucha habilidad (conocimiento, experiencia).	1	2	3	4
23. Tengo mucha libertad para decidir cómo hacer mi trabajo.	1	2	3	4
24. Existe variedad (son distintas) en las actividades que realizo en mi trabajo.	1	2	3	4
25. Mis opiniones cuentan mucho en mi trabajo.	1	2	3	4
26. En mi trabajo tengo la oportunidad de desarrollar mis propias habilidades.	1	2	3	4
27. Tengo que trabajar muy rápido.	1	2	3	4
28. Tengo que trabajar muy duro.	1	2	3	4
29. Se me pide que realice una cantidad excesiva de trabajo.	1	2	3	4
30. Tengo suficiente tiempo para terminar mi trabajo.	1	2	3	4
31. La seguridad en mi empleo es buena (es estable).	1	2	3	4
32. En mi trabajo tengo que responder a órdenes contradictorias, no claras.	1	2	3	4
	No, Estoy Totalmente en Desacuerdo	Estoy en Desacuerdo	Estoy de Acuerdo	Si, Estoy Totalmente de Acuerdo
33. Mi jefe se preocupa del bienestar del personal a su cargo.	1	2	3	4
34. Mi jefe presta atención a lo yo que digo.	1	2	3	4
35. Mi jefe ayuda a que el trabajo se realice.	1	2	3	4
36. Mi jefe es bueno para lograr que se trabaje bien en equipo.	1	2	3	4
37. Mis compañeros de trabajo son competentes para hacer su labor.	1	2	3	4
38. Mis compañeros de trabajo se interesan en mí, como persona.	1	2	3	4

39. Mis compañeros de trabajo son amigables.	1	2	3	4
40. Mis compañeros de trabajo ayudan a que el trabajo se realice.	1	2	3	4
40b. <i>Hace cuanto se ha dado cuenta que siente o pasa esto sobre su trabajo, hace: Semanas ( 1 ) Meses ( 2 ) Años ( 3 )</i>				

**PIENSE CON QUÉ FRECUENCIA TIENE LAS SIGUIENTES IDEAS SOBRE SU TRABAJO:**

	Nunca	Raramente: algunas veces al año	A veces: algunas veces al mes	Frecuente: algunas veces por semana	Muy frecuente : todos los días
45. Mi trabajo me supone un reto estimulante.	0	1	2	3	4
46. No me apetece hacer ciertas cosas de mi trabajo.	0	1	2	3	4
47. Estoy harto/a de mi trabajo.	0	1	2	3	4
48. Me preocupa el trato que he dado a algunas personas en el trabajo.	0	1	2	3	4
49. Veo mi trabajo como una fuente de realización personal.	0	1	2	3	4
50. Me siento decepcionado/a por lo que es mi trabajo.	0	1	2	3	4
51. Creo que merezco algo mejor que este trabajo.	0	1	2	3	4
52. Pienso que estoy saturado/a por el trabajo.	0	1	2	3	4
53. Me siento culpable por alguna de mis actitudes en el trabajo.	0	1	2	3	4
54. Pienso que mi trabajo me aporta cosas positivas.	0	1	2	3	4
55. Hay momentos en los que me gustaría desaparecer de mi trabajo.	0	1	2	3	4
56. Me siento agobiado/a por el trabajo.	0	1	2	3	4
57. Tengo remordimientos por algunos de mis comportamientos en el trabajo.	0	1	2	3	4
58. Pienso que estoy estancado/a y no progreso en mi trabajo.	0	1	2	3	4
59. Mi trabajo me resulta gratificante.	0	1	2	3	4
60. Pienso que debería pedir disculpas a alguien por mi comportamiento.	0	1	2	3	4
61. Me siento cansado/a físicamente en el trabajo.	0	1	2	3	4
62. Me siento desgastado/a emocionalmente.	0	1	2	3	4
63. Me siento ilusionado/a por mi trabajo.	0	1	2	3	4
64. Me siento mal por algunas cosas que he dicho en el trabajo.	0	1	2	3	4
65. Creo que algunas cosas que hago en mi trabajo no sirven para nada.	0	1	2	3	4
66. Pienso que la institución/empresa me está utilizando.	0	1	2	3	4
66a. <i>Hace cuanto se ha dado cuenta que siente esto sobre su trabajo, hace: Semanas ( 1 ) Meses ( 2 ) Años ( 3 )</i>					

95. POR FAVOR INDIQUE CUAL CONSIDERA QUE ES SU ESTADO DE SALUD EN ESTE MOMENTO

Muy malo	Malo	Bueno	Excelente
1	2	3	4

**¡Muchas gracias por su participación!**

**Sus respuestas servirán para proponer mejoras a sus condiciones de trabajo.**

Por favor revise si contestó todas las preguntas

LA SIGUIENTE INFORMACIÓN SERÁ ANOTADA POR EL ENTREVISTADOR.			
217. Peso (kg):	218. Talla (m):	219. Cintura (cm):	220. Cadera (cm):
221. Frecuencia cardiaca:	222. Presión Diastólica Media:	223. Presión Sistólica Media:	