

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**

**DETERMINACIÓN DE LOS NIVELES ERITROCITARIOS DE LA ENZIMA  
SUPERÓXIDO DISMUTASA (SOD) COMO ÍNDICE DE ESTRÉS OXIDATIVO  
EN PACIENTES COMPRENDIDOS ENTRE LOS 45 A 65 AÑOS DE EDAD  
QUE ASISTEN A LA LIGA GUATEMALTECA DEL CORAZÓN**

The seal of the University of San Carlos of Guatemala is a circular emblem. It features a central figure, likely a saint or historical figure, surrounded by architectural elements like columns and arches. The Latin motto "VERITAS LIBERABIT VOS" is inscribed around the perimeter of the seal.

**INFORME DE TESIS**

**Presento por:**

**Mercy Lucía Cabrera Morales**

**Opta al título de:**

**QUÍMICA BIÓLOGA**

**Guatemala, marzo 2,002**

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
Biblioteca Central

DL  
06  
T(608)

**JUNTA DIRECTIVA DE LA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**

<b>Decana</b>	Licda. Hada Marieta Alvarado Beteta
<b>Secretario</b>	Lic. Oscar Federico Nave Herrera
<b>Vocal I</b>	Dr. Oscar Manuel Cobar Pinto
<b>Vocal II</b>	Dr. Rubén Dariel Velásquez Miranda
<b>Vocal III</b>	Dr. Federico Adolfo Richter Martínez
<b>Vocal IV</b>	Br. César Alfredo Flores López
<b>Vocal V</b>	Br. Manuel Aníbal Leal Gómez

## **DEDICATORIA**

**A Dios por haberme permitido culminar mis estudios.**

**A Guatemala, por haber nacido en este hermoso país**

**A la USAC por ser mi alma mater**

**A la FACULTAD por haberme albergado el tiempo de estudiante**

**A mi familia y amigos cercanos por haberme apoyado y aconsejado para que culminaran mis estudios.**

# ÍNDICE

	<i>Contenido</i>	<i>Página</i>
<b>I.</b>	Resumen.....	01
<b>II.</b>	Introducción.....	03
<b>III.</b>	Antecedentes	
<b>A.</b>	Generalidades.....	05
1.	Mecanismos de formación de los Radicales Libres.....	06
2.	Tipos de Radicales Libres	
a.	Radical Anión Superóxido.....	10
b.	Radical Peróxido de Hidrógeno.....	11
c.	Radical Hidroxilo.....	12
d.	Oxígeno Solo.....	13
e.	Ozono.....	13
f.	Óxido de Nitrógeno.....	15
g.	Ácido Hipocloroso.....	15
<b>B.</b>	Estrés Oxidativo.....	15
<b>C.</b>	Sistemas Defensivos contra la Formación de Radicales Libres	
1.	Antioxidantes.....	18
a.	Antioxidantes Celulares.....	19
b.	Antioxidantes de Membrana.....	19
c.	Antioxidantes Extracelulares.....	20
d.	Enzima Superóxido Dismutasa.....	23
<b>D.</b>	Metabolismo de Superóxido y Radicales Libres.....	25
<b>E.</b>	Lipoperoxidación Biológica.....	27
1.	Tipos de Lipoperoxidación	
a.	Lipoperoxidación no Enzimática.....	27
b.	Lipoperoxidación Enzimática.....	29
2.	Consecuencias de la Lipoperoxidación en Material Biológico.....	30
3.	Lipoperoxidación y sus Implicaciones en Aterosclerosis.....	31
<b>F.</b>	Tratamiento.....	31
1.	Vitamina E.....	34
2.	Vitamina C.....	35
3.	Zinc.....	36
4.	Cobre.....	37
5.	Manganeso.....	38
6.	Importancia de la enzima superóxido dismutasa en aterosclerosis.....	38
7.	La enzima superóxido dismutasa en el Tratamiento.....	39
<b>IV.</b>	Justificación.....	40
<b>V.</b>	Objetivos.....	41
<b>VI.</b>	Hipótesis.....	42
<b>VII.</b>	Materiales y Métodos.....	43
<b>VIII.</b>	Resultados.....	50
<b>IX.</b>	Discusión de Resultados.....	62
<b>X.</b>	Conclusiones.....	65
<b>XI.</b>	Recomendaciones.....	67
<b>XII.</b>	Referencias.....	68

## I. RESUMEN

En el presente estudio se determinó la asociación existente entre varios factores de riesgo, el proceso de Lipoperoxidación y la predisposición a enfermedades cardiovasculares producidas o mediadas por el estrés oxidativo.

El objeto del estudio fue de establecer la asociación de la concentración eritrocitaria de la enzima Superóxido Dismutasa (mayor de 240 U/mL) y los factores de riesgo a padecer estrés oxidativo, en la población que asiste a la clínica de la Liga Guatemalteca del Corazón.

Se evaluaron 100 pacientes de ambos sexos comprendidos entre los 45 a 65 años, a los cuales se cuantificaron los niveles séricos de Colesterol Total, Colesterol LDL, Triglicéridos, Glucosa y utilizando una boleta de datos, se obtuvo la información acerca de sus hábitos alimenticios y costumbres, para establecer factores de riesgo presentes en el estrés oxidativo.

A los pacientes se les extrajo una muestra de 3 cc de sangre heparinizada, y 3 cc de sangre coagulada para efectuar los análisis correspondientes, así como la determinación de los niveles eritrocitarios de la enzima Superóxido Dismutasa.

Después de obtener la información requerida se procedió a la cuantificación de la enzima Superóxido Dismutasa por medio del método de RANSOD™ (Superóxido Dismutasa), cuyo método utiliza a la Xantina y Xantin Oxidasa para formar radicales Superóxido, los cuales reaccionan con el cloruro de 2-(-4yodofenil)-3-(-4-nitrofenol)-5-fenil tetrazolio (INT) para formar un colorante formazán rojo. Se mide la actividad de la enzima Superóxido Dismutasa por el grado de inhibición de la reacción.

El análisis estadístico comprobó que no existe asociación entre el sexo y la edad y la elevación de la enzima Superóxido Dismutasa. La muestra de pacientes que fumaban más de 5 cigarrillos al día, y que consumían bebidas alcohólicas en cantidades mayores de 8 onzas a la semana, no fue significativo, por lo que no se evidencia una asociación entre estos factores y los niveles eritrocitarios de la enzima Superóxido Dismutasa.

Se obtuvieron los resultados siguientes: el 84% de pacientes con sobrepeso presentan un índice de estrés oxidativo de 5.0%, el 82% de pacientes con intervenciones quirúrgicas recientes presentan un índice de estrés oxidativo de 1.03%, el 89% de pacientes con infecciones recientes presentan un índice de estrés oxidativo de 1.12%, el 84% de pacientes con hipertensión presentan un índice de estrés oxidativo de 3.62%, el 89% de pacientes con Diabetes Mellitus presentan un índice de estrés oxidativo de 1.94%, el 90% de pacientes con hipercolesterolemia presentan un índice de estrés oxidativo de 3.5%, el 100% de pacientes con niveles séricos de Colesterol LDL elevado presentan un índice de estrés oxidativo de 1.26%, el 86% de pacientes con hipertrigliceridemia presentan un índice de estrés oxidativo de 2.32%, y el 87% de pacientes con enfermedades cardiovasculares presentaron un índice de estrés oxidativo de 1.57%, con alto riesgo de sufrir un infarto al miocardio.

El análisis POR (Razón de desigualdades de probabilidad), indica el grado de estrés oxidativo presente con el riesgo a padecer una enfermedad cardiovascular. Así mismo se utilizó el método de Regresión Múltiple (SPSS 6.0) encontrándose que los factores unidos como el sobrepeso-Colesterol Total elevado- Diabetes Mellitus, muestran que el índice de estrés de 4.39%, esto indica alto riesgo de presentar enfermedades cardiovasculares.

## II. INTRODUCCIÓN

En la última década, el diagnóstico de las enfermedades cardiovasculares es de gran importancia. El estudio de las causas más probables que pueden producir un infarto al miocardio y de cómo prevenirlas, ha cobrado gran interés en los últimos trabajos de investigación de la salud (1).

Cada año se registran en el mundo unos 50 millones de muertes, de las cuales casi el 80% ocurre en países en desarrollo (1). Se estima que el 20% de todas las defunciones en países en desarrollo y el 50% en países desarrollados son atribuidas a las enfermedades cardiovasculares. En nuestro país según estadísticas realizadas por el Ministerio de Salud Pública de Guatemala, el infarto al miocardio es una de las diez causas de mortalidad. El porcentaje de incidencia de infartos al miocardio en 1,999 fue de 1.21% y en el 2,000 de 3.04% (2).

La mayoría de las enfermedades cardiovasculares están relacionadas con el régimen alimentario, los niveles de lípidos séricos y las fracciones de lipoproteínas.

La hipercolesterolemia es un factor de riesgo muy importante en las cardiopatías coronarias; sin embargo no sólo este factor es el único para evaluar el riesgo real de sufrir un infarto al miocardio. Entre otros factores que contribuyen a la producción de las enfermedades cardiovasculares, está el *estrés oxidativo* al que se encuentra sometido el organismo por los procesos metabólicos y bioquímicos, tal como el transporte de electrones dentro la mitocondria y retículo endoplásmico, procesos inmunológicos, la oxidación de las xantinas, purinas, por la fosforilación oxidativa, y principalmente la *lipoperoxidación* de las *lipoproteínas de baja densidad (LDL)* (3,4). Todos estos procesos metabólicos son responsables de la producción de *radicales libres (RL)*, los cuales también contribuyen a establecer riesgo de padecimiento de las enfermedades cardiovasculares.

Los tejidos dañados sufren más rápidamente de una lipoperoxidación en conjunto con la acumulación de los de los RL de oxígeno (3), los cuales influyen en la inactivación de elementos y sustancias antioxidantes que actúan como catalizadores de la formación de estos productos llamados también "scavenger" o "depuradoras", provocando una alteración estructural del tejido reduciendo así la funcionalidad del mismo. Entre los

antioxidantes más importantes en los procesos metabólicos se encuentran las enzimas *Superóxido Dismutasa (SOD)*, *Catalasa (CAT)* y *Glutación Peroxidasa (GPx)* (4).

En los organismos aeróbicos el oxígeno es esencial en el mantenimiento de la vida y su ausencia conduce rápidamente a la muerte. El oxígeno actúa como sustrato en diversas reacciones bioquímicas intracelulares y extracelulares, como resultado se desencadena una gran producción de RL como el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), y el anión superóxido ( $O_2^{-2}$ ). La generación de RL de oxígeno es un fenómeno fisiológico relacionado de forma esencial en la defensa de infecciones bacterianas, vírales y procesos inmunológicos. Sin embargo, el exceso de la producción de RL, y su acumulación puede producir daños irreversibles a tejidos, cuyo proceso es llamado estrés oxidativo (4,5).

El radical superóxido es una especie muy reactiva que se une con otra molécula de oxígeno para generar radicales hidroxilo. Este anión es catalizado por la enzima superóxido dismutasa (SOD), por medio de la reacción de dismutación, produciendo peróxido de hidrógeno y oxígeno, ambos radicales son convertidos en agua ( $H_2O$ ) y oxígeno molecular ( $O_2$ ) por medio la Catalasa y Glutación Peroxidasa.

La lipoperoxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL), es un proceso por el cual también se forman RL, se depositan en el endotelio arterial produciendo aterosclerosis, y que al oxidarse pueden producir daño a los miocitos y pueden causar un infarto al miocardio. Siendo este uno de los factores predisponentes al estrés oxidativo (4,5,6).

Los agentes antioxidantes son importantes para catalizar a los RL producidos durante su formación normal, los cuales no permiten su acumulación. Sin embargo, la disminución de su concentración plasmática, puede facilitar a los radicales libres dirigirse a los tejidos y acumularse dentro de ellos provocando daños irreversibles a los órganos.

Los objetivos en este estudio se alcanzaron, ya que se determinó el aumento de concentración de la enzima eritrocitaria Superóxido Dismutasa como índice de estrés oxidativo, así como los factores de riesgo presentes que lo incrementan y por consiguiente la probabilidad de presentarse alguna cardiopatía.



### III. ANTECEDENTES

#### A. Generalidades:

La liberación brusca de *radicales libres (RL)* de oxígeno inmediatamente después de reperfusión del miocardio isquémico, es capaz de producir lesiones histológicas y alteraciones fisiológicas graves (7).

El tejido cardiaco es afectado gravemente por la acción de los RL producidos por la oxidación de las *lipoproteínas de baja densidad (LDL)*, llamada *peroxidación lipídica* que es llamada también *lipoperoxidación*, cuyo proceso metabólico conduce a la producción del anión superóxido además del peróxido de hidrógeno (8).

La *lipoperoxidación* puede aumentar la rigidez de la membrana y de los receptores hormonales. Su mayor importancia es debido al daño producido en la fluidez, permeabilidad y transporte de la membrana. La lipoperoxidación es una reacción de auto-oxidación que puede ser iniciada por los radicales hidroxilo, quizás también por el oxígeno singulete, pero no por los radicales menos activos como el superóxido y peróxido de hidrógeno (9,10).

La generación de los RL por las células endoteliales y las del sistema retículo endotelial (SER) de la región afectada, dañando a las células vecinas; la membrana biológica por su carácter poliinsaturado (PUFA), es substrato idóneo para el ataque de los RL. Inicia la peroxidación, con el ataque de los RL a los átomos de hidrógeno de los grupos metilenos de los PUFA en las membranas generando radicales lipídicos tales como (8):

**R**, que reaccionan fácilmente con los  $O_2^{-2}$  formando los peroxi-radicales o endoperóxidos.

**ROO<sup>•</sup>**, los que continúan la reacción en cadena que caracteriza a la lipoperoxidación reaccionando con otros PUFA, para dar un nuevo endoperóxido y transformarse en hidroperóxidos.

La lipoperoxidación más importante es la producida a partir de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) (11). Estas lipoproteínas al oxidarse atraen a los macrófagos hacia la lesión e inhiben su migración posterior. A partir de este proceso las

células espumosas formadas por los macrófagos se adhieren a las células musculares lisas de la pared arterial provocando daño (11,12,13,14).

Las lipoproteínas oxidadas penetran en el interior de estos macrófagos, constituyendo acumulaciones de grasa intracelulares que se les confiere una apariencia espumosa. Una vez iniciado este proceso, se mantendría debido a la capacidad de los macrófagos de oxidar directamente a la lipoproteínas de baja densidad, produciendo la aparición de las células espumosas en las paredes vasculares dañadas, contribuyendo así al crecimiento de la placa ateromatosa la cual produce la aterosclerosis, y conduciendo posteriormente a una lesión al tejido cardiaco (9,13,14,15).

La naturaleza ha dotado a todos los organismos aeróbicos, un sistema de defensa que son los antioxidantes que ejercen acción contra la producción excesiva de RL, son conocidos como "scavenger" o depuradoras. Estos antioxidantes pueden ser enzimas, o elementos metálicos que son utilizados como sustancias endógenas y exógenas que protegen de la acción de los RL (7).

### ***1. Mecanismos de formación de Radicales libres:***

Los mecanismos que producen los RL, particularmente las especies de oxígeno activado, causan lesiones que son producidas por los diferentes procesos metabólicos, como: *lesiones inflamatorias, sustancias químicas y radiactivas, del oxígeno y otros gases tóxicos, envejecimiento celular, destrucción de las bacterias por la fagocitosis celular, destrucción de tumores por macrófagos* (6,16,17).

La interacción de los RL y las moléculas producidas en la lipoperoxidación causan una alteración estructural en los tejidos reduciendo así su funcionalidad.

En la lesión causada por la isquemia aparece un daño miocárdico provocado por la reperfusión, ésta lesión acelera la destrucción de los miocitos (3,11). El daño producido en el tejido cardiaco puede ser el *edema miocárdico, microhemorragias, daño microvascular, lesión del endotelio, constricción arterial, disminución del transporte del calcio por el retículo sarcoplásmico, disminución del rendimiento contráctil, disfunción miocárdica, arritmia, etc.*, (7).

La afinidad de los radicales libres por los electrones puede desestabilizar las moléculas circundantes de las que toman los electrones que necesitan, provocando reacciones en cadena, donde cada una de ellas se transforman en sustancias reactivas obteniendo su estabilidad. Entre las fuentes intracelulares y endógenas más importantes de los RL, se encuentran los linfocitos, polimorfo nucleares (neutrófilos), así como el sistema de transporte de electrones en las mitocondrias y el retículo endoplásmico (18), como se observa en las Figuras No. 1 y 2.

Los radicales libres son vertidos en el medio extracelular, produciendo lesiones en las células próximas actuando sobre todo tipo de moléculas (*hidratos de carbono, lípidos, proteínas y ácidos nucleicos*) (18).

La entrada del calcio ( $\text{Ca}^{+2}$ ) en el interior de la célula, activa a las fosfolipasas durante la fosforilación oxidativa, aumentando así el metabolismo del ácido araquidónico, el cual generan RL (8). Durante la isquemia la deshidrogenasa normal de la Xantina se convierte en una Oxidasa que en presencia de la Xantina, genera RL (18). En las mitocondrias se produce una disociación de electrones, y la activación de complemento "c" en el tejido generando así la acumulación de neutrófilos liberadores de RL (19).

Los RL están presentes en niveles bajos durante la isquemia, pero al restablecer el flujo sanguíneo la producción de estos originan la lesión llamada *reperusión-isquémica* la cual puede reducirse mediante los agentes como la *superóxido dismutasa (SOD)*, en el Cuadro No. 1 se puede observar el origen de los radicales libres y en la Figura No. 3 fuentes intracelulares de los radicales libres.

**Cuadro No.1 Origen de los radicales libres (21).**

<b>Origen endógeno</b> <i>(predomina la génesis de superóxido)</i>	<b>Origen exógeno</b> <i>(por contacto directo cutaneomucoso)</i>
<p> <b>Autooxidación</b>            Escape mitocondrial            “Explosión” oxidativo de la fagocitosis            Respuesta reactiva celular            Reacción inflamatoria            Oxidación de cierto xenobióticos            Mediada por agentes exógenos:                *Radiaciones                *Fármacos y xenobióticos                *Respiración hiperbárica            Mediados por afecciones anteriores:                *Inflamación            *Siderosis focales y hemocromatosis         </p>	<p> <b>Inhalación de humos de combustión (tabaco)</b>            Contacto con resinas de humos (tabaco)            Ingesta de radicales por la dieta            Alta concentración luminal digestiva:                *Hierro iónico catalítico                *Ácidos grasos poliinsaturados                *Fármacos pro-oxidantes         </p>

Figura No. 1. Transporte de Electrones en el Retículo endoplásmico (18).

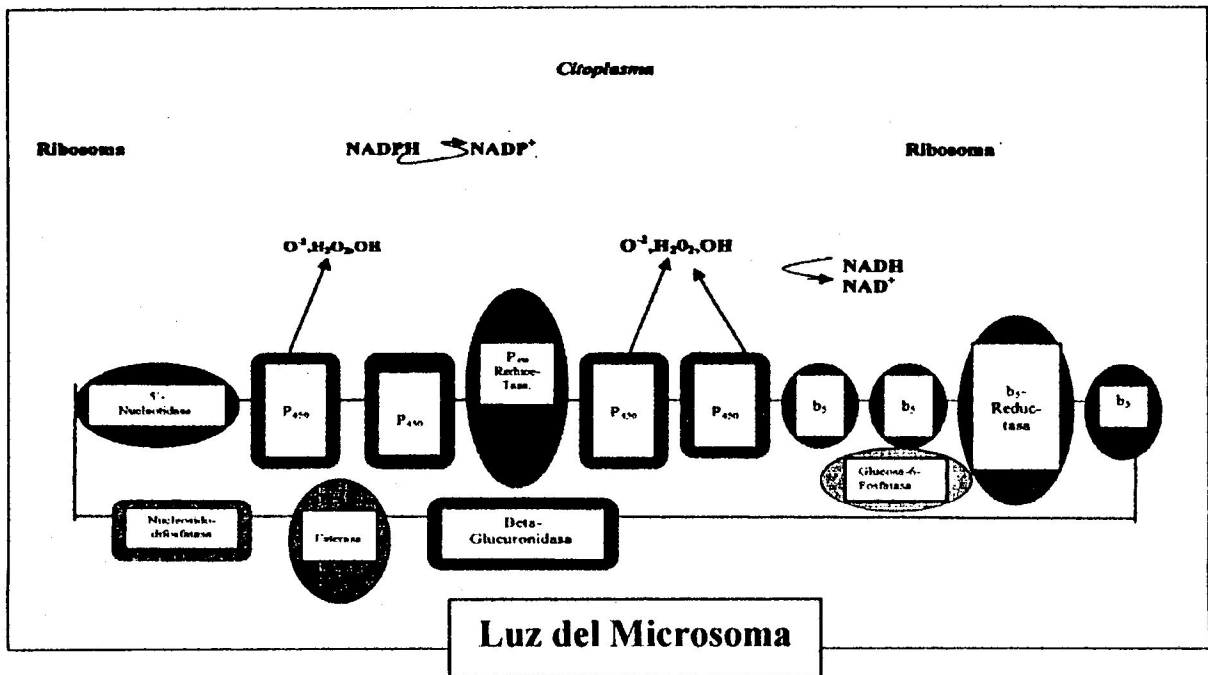


Figura No. 2. Transporte de electrones en la mitocondria (18).

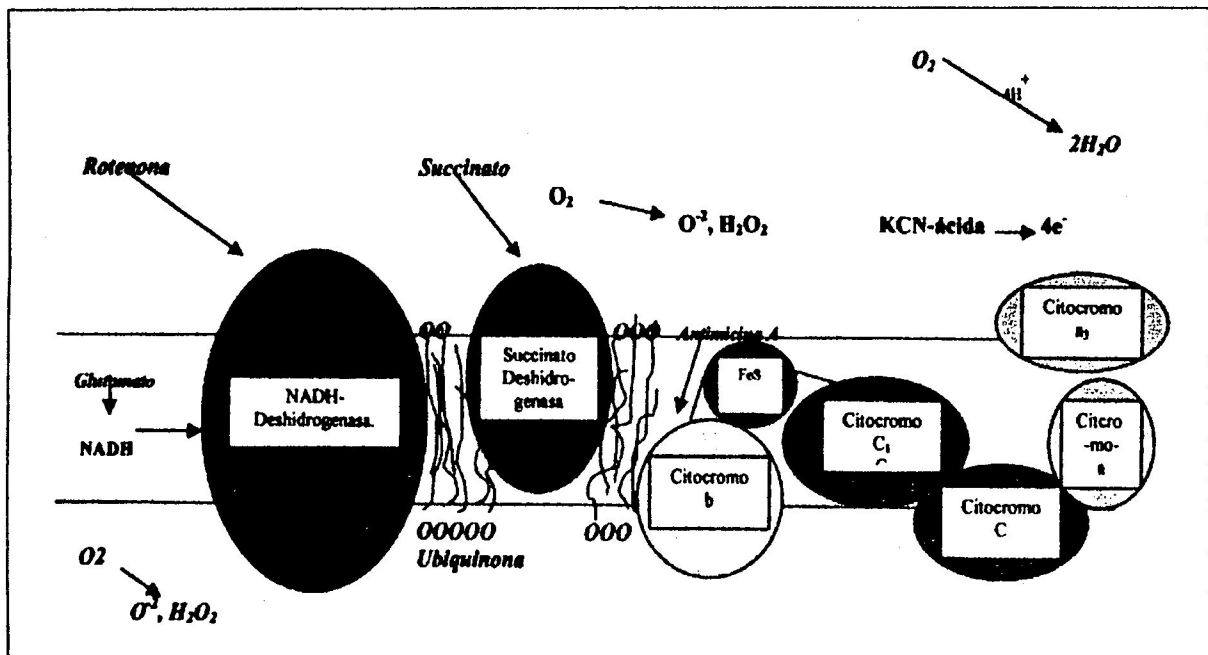
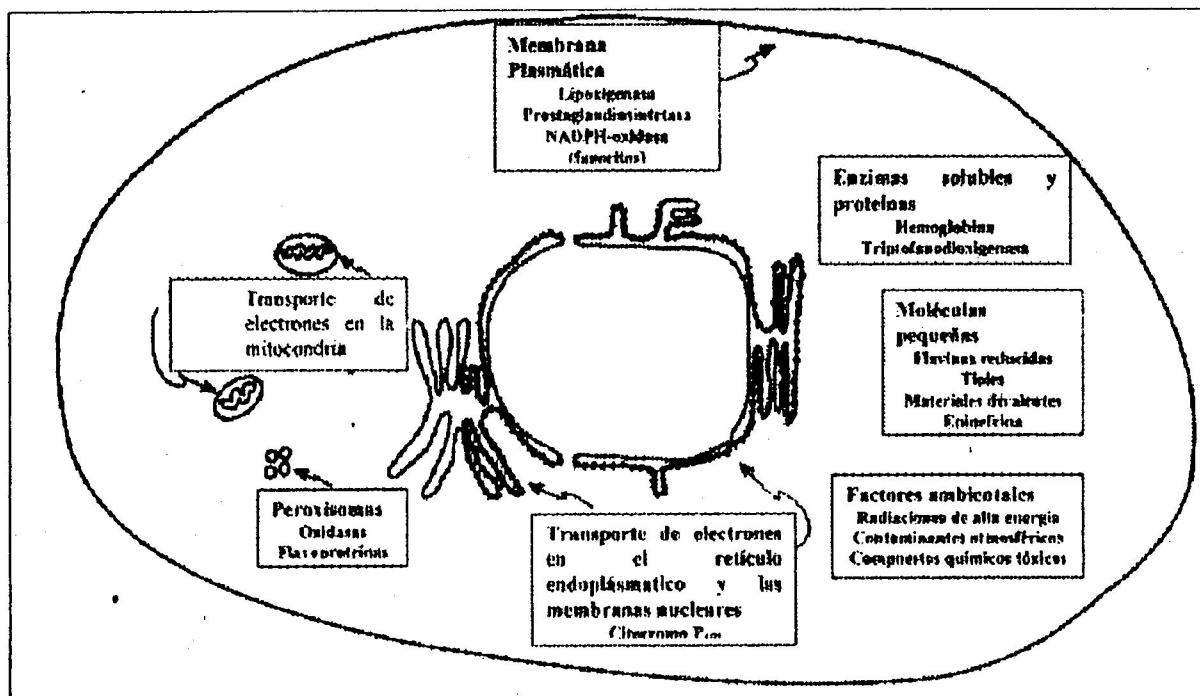


Figura. No.1 y Figura No. 2. La formación de radicales libres en el retículo endoplasmático y en las mitocondrias (18).

Figura No. 3. Fuentes intracelulares de formación de Radicales libres (18).



## 2. Tipos de Radicales Libres

### a. Radical Anión Superóxido:

Este anión es formado cuando un electrón entra en uno de los orbitales 2p de oxígeno. La química del superóxido depende de la solución en la que se encuentre. En una solución acuosa el superóxido depende de la solución, es un agente antioxidante débil, capaz de oxidar moléculas tales como el ácido ascórbico y tioles.

El anión superóxido es un agente oxidante más poderoso (puede reducir varios complejos de hierro como el citocromo C y el EDTA-férrico), este radical libre desaparece rápidamente en soluciones acuosas debido a una reacción de dismutación en donde el peróxido de hidrógeno y el oxígeno son formados (4).



Por su toxicidad puede difundirse a distancia relativamente grandes, encontrando así las condiciones propicias para su acción. Donde puede dar origen a otros agentes más reactivos como el radical hidroxilo, que es altamente electrofílico capaz de reaccionar con casi todos los substratos orgánicos (9,20,21).

Las principales fuentes de formación del anión superóxido, lo constituyen las reacciones catalizadas por *Xantina oxidasa* durante la vía degradativa de las bases purínicas. También pueden generarse por la acción de *NADPH-oxidasa* de las células endoteliales de los capilares. Se ha estimado además que el dos por ciento del oxígeno consumido por las mitocondrias cardíacas, es convertido en superóxido (8,20).

El producto de la incorporación de un electrón a una molécula de oxígeno producida normalmente durante la fosforilación oxidativa por acción de la enzima *superóxido dismutasa (SOD)*, con la participación de un electrón y dos protones, da lugar al peróxido de hidrógeno liberando una molécula de oxígeno molecular por una reacción de dismutación o dismutación ya mencionada anteriormente (8,9,20).

### ***b. Radical Peróxido de Hidrógeno:***

Todos los sistemas que producen el anión superóxido, producen peróxido de hidrógeno como resultado de la reacción de dismutación (enzimas como: urato oxidasa, glucosa, ácido D-amino oxidasa). El peróxido es un agente oxidante y reductor débil, que relativamente estable en la ausencia de metales de transición.

Esta molécula tiene una estructura covalente no cargada. Se mezcla con el agua y es tratada como tal por el cuerpo, difundándose rápidamente a través de la membrana celular. Las propiedades redox del peróxido de hidrógeno y su habilidad para formar radicales libres altamente reactivos en la presencia de metales de transición ha provocado la evolución de defensa del organismo.

El peróxido de hidrógeno es removido de las células por la acción de la *Catalasa (CAT)*, *Glutación Peroxidasa (GPx)* y otras peroxidases (8,9,20,22,23,24).

### c. Radical Hidroxilo:

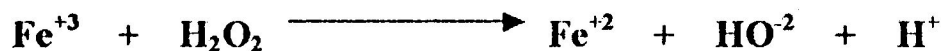
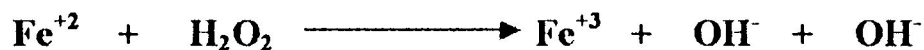
El radical hidroxilo ( $\text{HO}^\cdot$ ), es el mayor producto de la ionización de alta energía del agua (radiólisis), se forma de la siguiente manera:



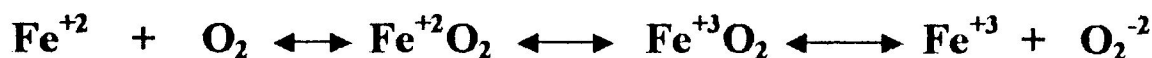
El electrón impar está en el átomo de oxígeno. El radical hidroxilo es un oxidante muy agresivo que puede atacar la mayoría de las moléculas biológicas en el rango controlado de difusión. Este radical puede atacar rápidamente cualquier molécula biológica, así como ácidos grasos poliinsaturados para iniciar la peroxidación lipídica.

El radical superóxido y el peróxido de hidrógeno reaccionan para generar radical hidroxilo. Estas reacciones son posibles en sistemas vivos por la catálisis mediante trazas de iones de hierro o cobre, en un sistema biológico se une a las moléculas, donde causan la formación de radicales libres de hidroxilo y por consiguiente daño a lípidos, proteínas y ADN.

Los iones hierro son por si mismos radicales libres, así como también los iones ferrosos pueden tomar la transferencia de un electrón con la molécula de oxígeno. La generación del anión superóxido en presencia de iones de hierro puede llevar a la formación de radicales libres hidroxilo por la química de Fenton (4). Reacción de Fenton:



Estas reacciones son una simplificación de la química implícita en las reacciones, particularmente de las de un sistema biológico, donde las especies de óxido-hierro son intermediarias junto con el hidroxilo. A un pH fisiológico, los iones ferrosos ( $\text{Fe}^{+2}$ ) en presencia de oxígeno e iones fosfato ( $\text{PO}_4^{-2}$ ), existen sólo transitoriamente antes de autooxidarse al estado férrico ( $\text{Fe}^{+3}$ ). En este cambio de oxido reducción, un electrón es transferido al oxígeno para formar el anión superóxido (8,9,20,22,23,24).





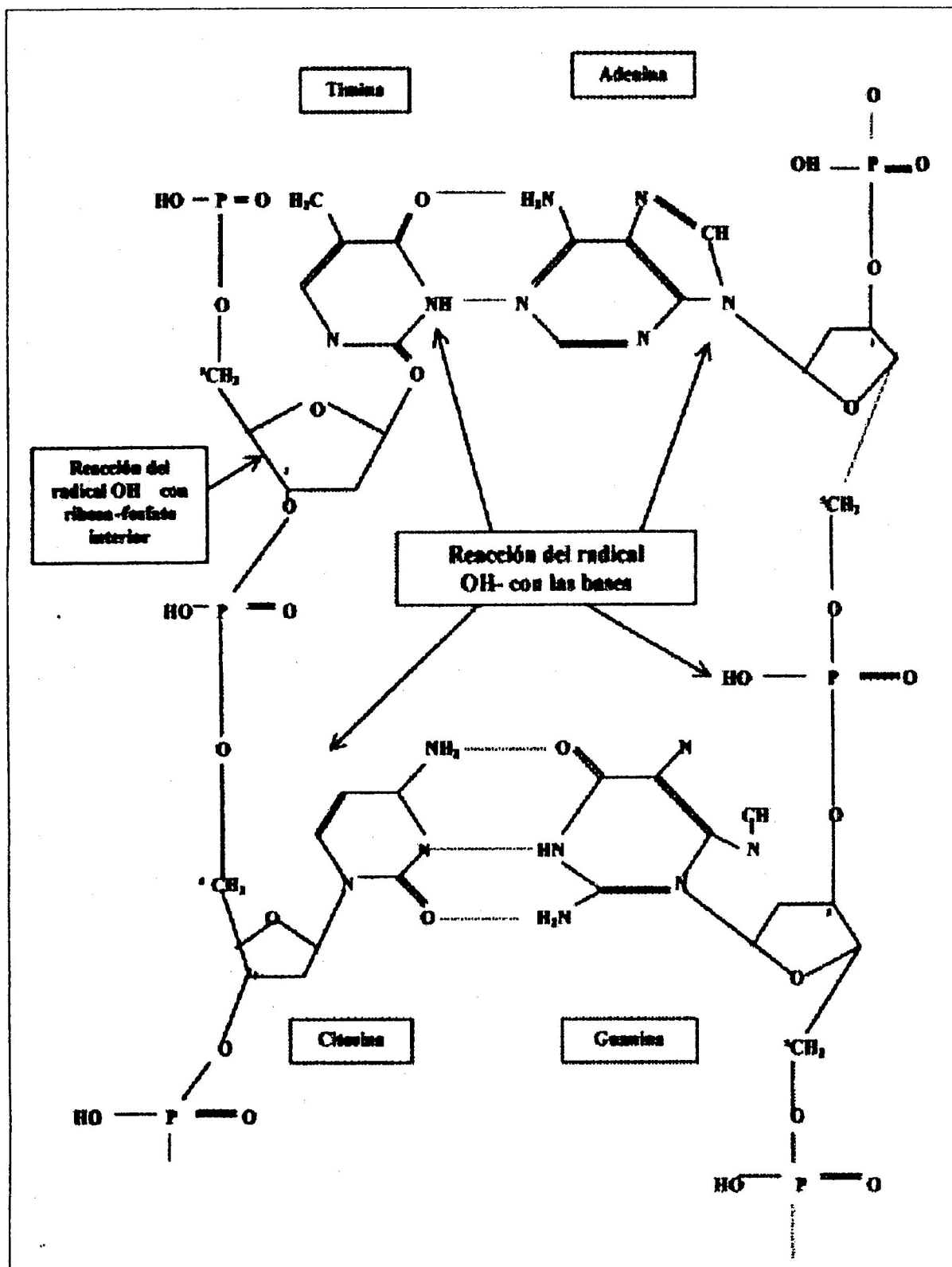
***d. Oxígeno Solo:***

El oxígeno sólo es un radical libre, porque no contiene un electrón no apareado. Sin embargo es la forma de oxígeno muy reactivo, donde la restricción del Spin es quitado, por lo que aumenta la habilidad oxidativa (8,9,20,22,23,24).

***e. Ozono:***

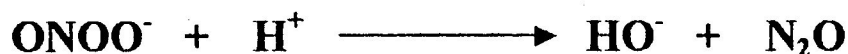
El ozono, es un gas azul pálido, forma una importante capa protectora contra la radiación solar. A nivel de la tierra, el ozono es tóxico y un contaminante oxidativo no deseado. El gas es producido en el aire urbano contaminado y por las fuentes de luz usadas en equipos científicos y en algunas máquinas fotocopiadoras. El ozono es muy dañino para los pulmones, oxidando rápidamente proteínas, ADN y lípidos (4,9,22,23,24), como se puede observar en la Figura No. 4, donde se resume la agresión de los radicales libres al ADN.

Figura No. 4 *Agresión de los Radicales Libres al ADN (18).*



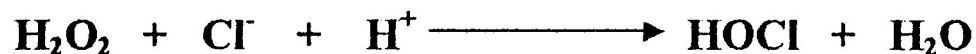
### *f. Oxido de Nitrógeno:*

El óxido nítrico y dióxido de nitrógeno ( $\text{NO}^2$ ), son radicales libres mientras que el óxido nitroso ( $\text{N}_2\text{O}$ ) no lo es. El dióxido de nitrógeno es un gas denso, café, venenoso con un gran poder oxidativo, mientras que el óxido nítrico, es un gas incoloro con débil poder reductor. Su interés biológico es por que se ha observado que el endotelio vascular y otras células del cuerpo producen pequeñas cantidades de este gas a partir del aminoácido L-arginina. El óxido nitroso puede reaccionar con otros radicales libres endógenos, como el anión superóxido, para producir un intermediario reactivo, peroxidonítrico ( $\text{ONOO}^-$ ), el cual es un poderoso antioxidante, capaz de dañar muchas moléculas, y se descomponen a un pH ácido para liberar mínimas cantidades de radicales hidroxilos independientes de catálisis metálica. El óxido nitroso es un gas incoloro, con olor y sabor dulce, que es usado como anestésico (gas de la risa) (8,9,22,23,24), el cual se forma por la siguiente reacción:



### *g. Ácido Hipocloroso:*

El ácido hipocloroso ( $\text{HOCl}$ ) o cloro, es una fuente oxidante, formado en cuerpo por neutralización activada. Las enzimas mieloperoxidasas contienen un grupo heme que se encuentran en los granulos del citoplasma en el fagocito, las cuales pueden catalizar la formación del  $\text{HOCl}$  a partir del peróxido de hidrógeno y iones cloruro (9,20,22).



## *B. Estrés Oxidativo:*

El desequilibrio en el balance de la "producción de RL y su destrucción por los sistemas antioxidantes", favorece la formación de los pro-oxidantes, lo cual genera el proceso llamado estrés oxidativo, donde la acumulación de los RL conduce a diversos procesos y estados fisiopatológicos (6).

El estrés oxidativo se altera o incrementa con el ejercicio, inflamación, exposición a los rayos X, intervenciones quirúrgicas, contaminación, reperfusión, y dietas con ácidos grasos poliinsaturados, así como el metabolismo el ácido araquidónico. Se producen RL, por medio de la ciclooxigenasa que produce prostanglandinas, lipo-oxigenasas, leucotrienos que dan lugar a la formación de los peróxidos intermediarios, así como a los radicales hidroxilo (18).

El radical hidroxilo, es uno de los radicales más reactivos y por lo tanto más tóxico de los metabolitos activos de oxígeno, también pueden ser generados por dos reacciones que requieren de trece metales (6).

El sistema citocromo-oxidasa mitocondrial consume la mayor parte del oxígeno disponible, proveyendo a las células de 95 a 99% del oxígeno molecular para la formación de metabolitos tóxicos (8,20,25)

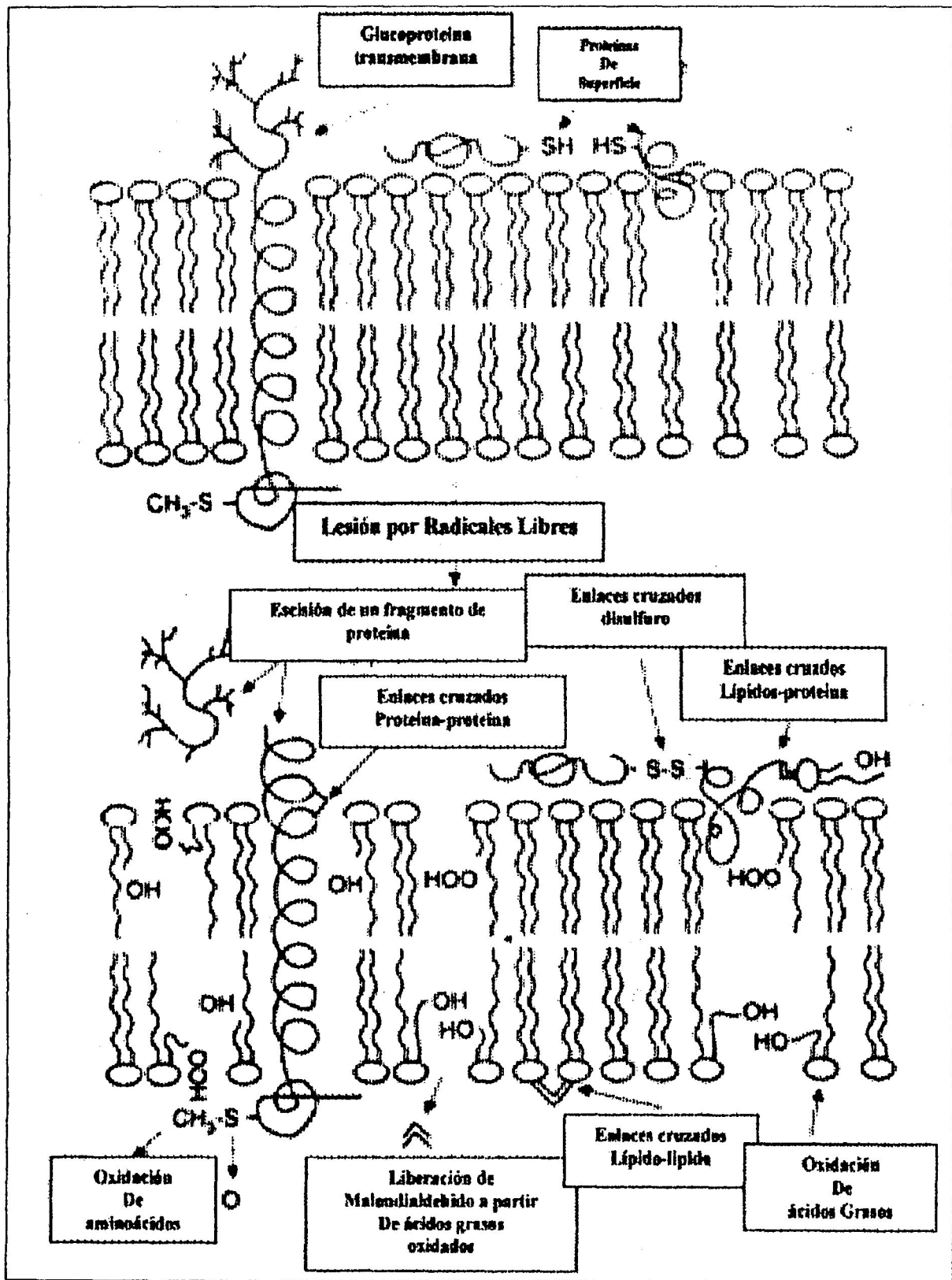
En las fuentes endógenas se pueden producir RL, los cuales pueden provocar el estrés oxidativo, donde la respiración normal, los fagocitos, las enzimas del sistema citocromo P<sub>450</sub>, y los peroxisomas. Otros mecanismos por los cuales la oxidación de los ácidos grasos poliinsaturados pueden generar de manera directa una lesión oxidativa es por medio de lipoperoxidación la cual genera radicales como epóxidos, y alcoxil de lípidos, ver **Figura No.5 y Cuadro No.2.**

La lipoperoxidación causa daños a los ácidos grasos constituyentes de los fosfolípidos de la membrana, que puede iniciarse por los radicales hidroxilo u otros radicales, cuyo proceso puede dañar a los lípidos, proteínas de la membrana celular, cuya principal amenaza es el acondicionamiento para el incremento del estrés oxidativo (9,10).

**Cuadro No. 2 Radicales libres de interés clínico (21).**

<b>Derivados de oxígeno</b>		<b>Derivados de lípidos</b>
<b>Radicales</b>	<b>Moléculas difundibles</b>	
Superóxido hidroxilo Perhidroxilo Anión oxilo	Oxígeno singulete Peróxido de hidrógeno	Radical lípido Lípido peroxirradical Radical alcoxilo

Figura No. 5. Agresiones de las membranas por los Radicales Libres (18).



### ***C. Sistema Defensivo contra la Formación de Radicales libres***

#### ***1. Antioxidantes:***

Un antioxidante, se entiende como una sustancia que retrasa o inhibe la oxidación de un sustrato determinado. Los organismos vivos disponen de un mecanismo antioxidante para contrarrestar los efectos nocivos de los RL, los cuales pueden ser clasificados por su (s) características bioquímicas y su origen. Estos pueden actuar en distintos estados de secuencias oxidativas (6,35). Ver el Cuadro No. 3 Clasificación de antioxidantes.

**Cuadro No. 3 Clasificación de los Antioxidantes en base a sus Características (6).**

<b><i>Bioquímicas</i></b>	<b><i>Origen</i></b>	<b><i>Fisicoquímicas</i></b>
<b>Enzimas</b>	<b>Antioxidantes Endógenos (Sintetizados por las Células)</b>	<b>Liposolubles</b>
<b>Sustancias antioxidantes</b>	<b>Antioxidantes Exógenos (adquiridos por el medio ambiente)</b>	<b>Hidrosolubles</b>

La estructura celular constituye a una importante protección antioxidante, debido a la eficiencia de las enzimas citocromo oxidasa en donar simultáneamente cuatro electrones al oxígeno, para transformarlo en agua (H<sub>2</sub>O) metabólica, en confinamiento de las enzimas generalizadas, el peróxido de hidrógeno en los peroxisomas. La existencia de proteínas citosólicas y extracelulares con alta capacidad de formar complejos con Fe, Cu y otros metales catalizadores de la formación de los RL (6).

Los antioxidantes pueden actuar en diferentes estados oxidativos. A continuación se detalla diferentes mecanismos de acción de los agentes antioxidantes (4):

- Removiendo el oxígeno o disminuyendo las concentraciones locales del mismo.
- Removiendo los metales iónicos catalíticos.
- Removiendo las especies de oxígeno reactivas como el superóxido y peróxido de hidrógeno.
- Interviniendo en la iniciación de los radicales libres con el hidroxilo, álcali y peróxido.
- Rompiendo la cadena de la secuencia iniciadora.
- Interviniendo en la extinción del oxígeno sólo.

#### *a. Antioxidantes Celulares:*

El oxígeno es metabolizado dentro de la célula donde los antioxidantes evolucionan con rapidez y especificidad, con reducidos intermediarios de oxígeno. Enzimas tales como la superóxido dismutasa (SOD) promueve la disminución del anión superóxido en peróxido de hidrógeno y el oxígeno. Durante el metabolismo normal del oxígeno, estas enzimas eliminan intermediarios tóxicos reducidos del oxígeno en la célula, permitiendo que esté el hierro, en mínimas cantidades para la síntesis del DNA (4).

La protección antioxidante puede actuar a diferentes niveles:

- i. Previniendo la formación de radicales libres.
- ii. Interceptando radicales frontales.
- iii. Recuperando el daño oxidativo ocasionado por los radicales libres
- iv. Aumentando la eliminación de moléculas dañadas
- v. No reparando moléculas muy dañadas para minimizar la introducción de una mutación.

#### *b. Antioxidantes de Membrana:*

El interior de las membranas es hidrofóbico, y se producen los radicales lipofílicos los cuales son diferentes de los que están en el interior acuoso de la célula. Los radicales lipofílicos requieren de diferentes tipos de antioxidantes para ser removidos. Por ejemplo: la vitamina E incorporada a la membrana es muy efectiva cumpliendo esta función (4).

### ***c. Antioxidantes Extracelulares:***

Los fluidos extracelulares contienen enzimas extracelulares, como es el caso de la *Glutación Peroxidasa* y la *Superóxido Dismutasa*. El organismo permite la presencia de especies reactivas tales como, el anión superóxido, y el peróxido de hidrógeno en los fluidos corporales y utilizados como moléculas mensajeras de señal o estimulación (trigger).

La transferrina, que transporta el hierro plasmático, mantiene las concentraciones de hierro bajas. El hierro unido a la transferrina no participa en reacciones con los radicales, por lo que esta unión brinda gran actividad antioxidante, el cual retiene su propio hierro hasta un pH de 4.0 (4).

El plasma contiene una variedad de moléculas y compuestos de bajo peso molecular, tiene actividad redox de las cuales a muchas se les han atribuido cualidades antioxidantes por ejemplo: *vitamina E*, *ácido úrico*, *bilirrubina*, *ácido ascórbico*, *grupo tiol*.

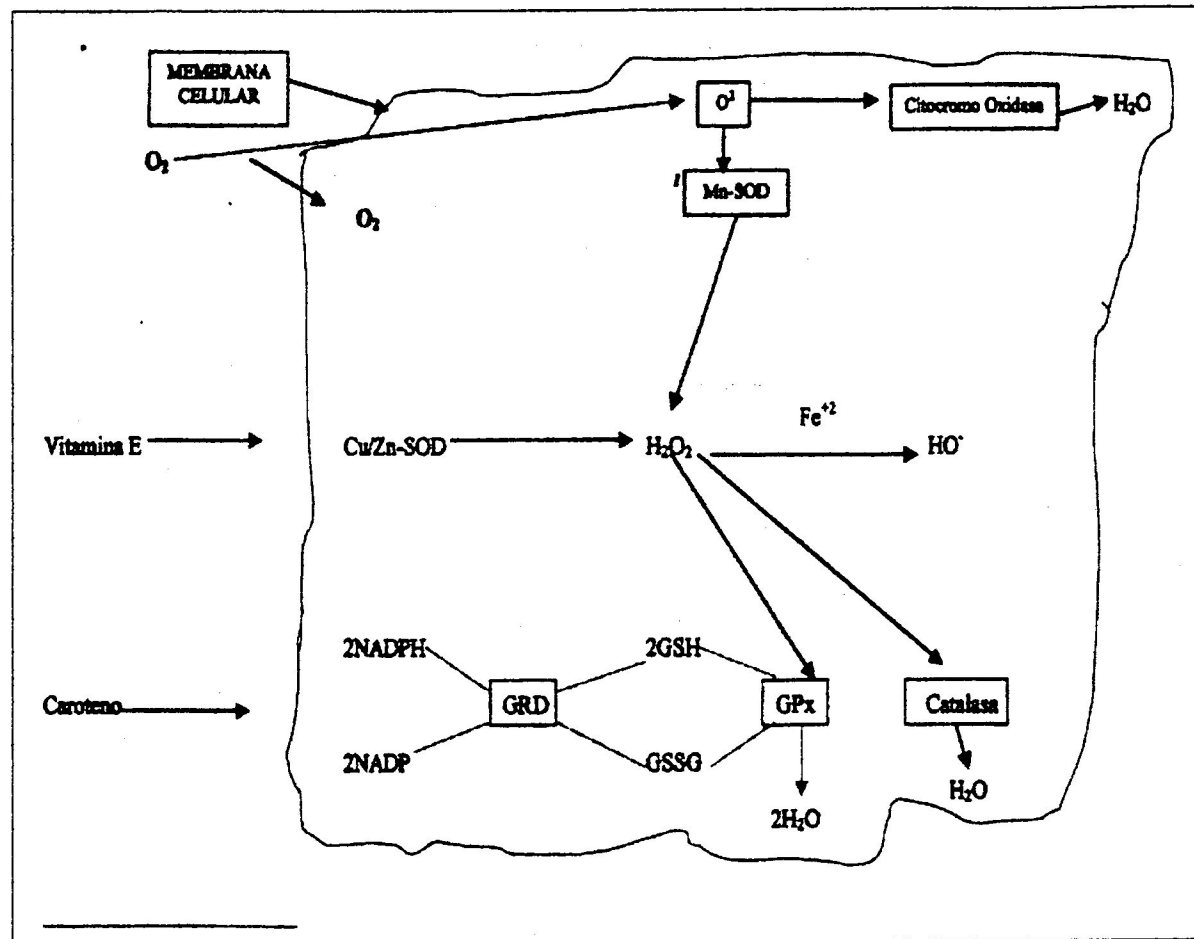
Las especies de oxígeno reactivo siempre van a existir en organismo aeróbicos, y son removidos por los antioxidantes, es importante para la sobrevivencia. Pero a pesar, estas acciones no son el 100%. Es decir que cuando la peroxidación aumenta a los antioxidantes falla, induciendo a un daño molecular a nivel del genoma y así también al tejido provocando dicho daño (4,18). En la **Figura No. 6.** se observa la función normal de los agentes antioxidantes y en el **Cuadro No. 4** los sistemas defensivos contra la formación de radicales libres.



**Figura No. 6. Acción de las enzimas antioxidantes en el metabolismo normal.**

MnSOD = superóxido dismutasa; Cu/Zn-SOD = Cobre, Cinc-superóxido dismutasa;

GPx = Glutación peroxidasa; GRD = Glutación reductasa; GSSG = Glutación reducida (18).



**Cuadro No. 4. Sistema defensivo contra la formación de Radicales Libres (21).**

<i>Moléculas (escudo)</i>	<i>Enzimas y Sistemas enzimáticos</i>	<i>Proteínicas controladoras de Catalizadores metálicos</i>	<i>Controladores de hemos y hemoproteínas</i>	<i>Controladoras de otros metales</i>	<i>Preparados farmacológicos</i>
Vitamina E (alfa-tocoferol)	Superóxido Dismutasa	Ferropoteínas enclaustradoras	Haptoglobina	Metalotineínas	Vit. Antioxidantes
	Catalasa	• Transferrinas	Hemopexina	Ceruloplasmina	Fármacos con grupos tioles
Vitamina A (caroteno y Retinoles)	Peroxidasas	• Lactoferrina	Metahemalbúmina		Albúmina
Glutación reducido	Sistema enzimático del Glutación	• Ferritina	SOD recombinante (Humano)		Quelantes de metales
Albúmina	Ferroxidasas:	• Hemoproteína en general			En fase experimental de posible futuro interés Clínico:
Glucosa	• Ferritina				• Trasnferrina Recombinante
Ácido úrico	• Ceruloplasmina				• Neutralizadores Atóxicos
					• Quelantes de Hierro oral

***e. Enzima Superóxido Dismutasa:***

La enzima superóxido dismutasa se le ha considerado uno de los agentes protectores más importantes a nivel intracelular, la cual está presente en todas las células aeróbicas, cuyo efecto antioxidante importante es contra la acción del anión superóxido, así como agente protector en algunos estados patológicos (27).

Desde 1968, se inició el estudio de la función de SOD sobre el anión superóxido, cuyo papel es removerlo por medio de la reacción llamada dismutación, donde la enzima utiliza al anión superóxido como sustrato (28).

Esta enzima se le ha considerado, como micronutriente, ya que posee en su estructura enzimática un halo y apo-metal que le confiere propiedades específicas o bien funciones dentro de las células de los tejidos (29).

Se encuentran sus cuerpos enzimáticos dentro del eritrocito y células endoteliales, la cual presentan tres isótipos (7,19,22,26), como se puede observar en el **Cuadro No. 5**. Esta enzima junto con la Catalasa se hallan presentes en concentración elevada y son extraordinariamente activas, indicando que los radicales superóxido que se están formando o produciendo continuamente durante la reducción enzimática del oxígeno, por parte de diversas enzimas y sistemas enzimáticos y son rápidamente eliminados (30).

**Cuadro No. 5. Isótopos de la Enzima Superóxido Dismutasa (SOD) (22,18)**

Isótipos	Propiedades		
	Forma en que se encuentra la	Localización en la célula	Nombre común
<b>SOD1</b>	Cu, Zn-SOD	Eritrocito y citosol en las células.	Citosólica (por estar dentro de la célula)
<b>SOD2</b>	MnSOD	Matriz mitocondrial (citoplasma y en el plasma)	Mitocondrial
<b>SOD3</b>	EC-SOD	Extracelular en el plasma.	Extracelular

La SOD extracelular o ceruloplasmina es menos abundante y se encuentra en una posición tal que le permite combatir a los radicales de oxígeno fuera de las células; debido a un grupo trinuclear de átomos de cobre, ya que acepta y disipa el exceso de electrones. Por ello la ceruloplasmina no es una SOD simple, sino más bien, un eliminador de varios tipos de radicales libres de oxígeno (26).

La actividad enzimática con más probabilidades de sufrir detrimento en casos de deficiencia de cobre es la Cu, Zn-SOD, lo que produciría el aumento de la fragilidad de las membranas celulares, donde los lípidos poliinsaturados de la periferia celular son especialmente vulnerables a la lesión oxidativa. De hecho, la diferencia se traduce en un acortamiento de la esperanza de vida de los eritrocitos y un aumento de la acumulación de los productos de oxidación lipídica en estas células (26).

Las posibles razones de la anemia son la disminución de la disponibilidad del cobre para la formación de Cu, Zn-SOD eritrocitaria, una enzima que acumula la mayor cantidad de cobre existente en los hematíes.

El descenso de la actividad de la MnSOD o SOD1 que aparece tras la inducción de una deficiencia de manganeso se debe a un bloqueo de la transcripción. Diversos factores de estrés oxidativo como el *alcohol*, *el ozono*, *la interleucina-1* y *el factor de necrosis tumoral alfa (alfa-TNF)*, pueden incrementar la actividad de la MnSOD, probablemente como consecuencia al aumento de las concentraciones de radicales libres celulares asociados a los factores de estrés.

La determinación de las concentraciones de la enzima superóxido dismutasa es importante como un indicador de estrés oxidativo, ya que puede encontrarse relacionada con una variedad de patologías, para la utilización de nuevas terapias a los pacientes que padecen o bien puedan estar propensos a un infarto al miocardio (26).

La actividad de la enzima puede decrecer por la isquemia o por hipoxia en los tejidos. Se puede encontrar elevada en casos de *inflamación* o *por daño post-isquémico* (19,31). En el **Cuadro No. 6** se enumeran las diferentes patologías asociadas a cambios en la concentración de SOD.

**Cuadro No. 6. Patologías donde se observa la actividad de la enzima superóxido dismutasa (39).**

Conc. Baja de SOD	Conc. Elevada de SOD	Cambios de Conc. de SOD
Artritis Anemia de Fanconi's Infecciones respiratorias Pacientes Inmunocomprometidos Catarata Infertilidad Hipocuprosis	Formación de cánceres Enfermedades cardiovasculares Hepatitis Diabetes Distrofia Muscular Algunas anomalías de la Hemoglobina	Pacientes de riesgo de sepsis Adultos que padecen del síndrome de estrés respiratorio Marcador de daño al tejido seguido de un infarto al miocardio

#### ***D. Metabolismo del Superóxido y Radicales Libres por la SOD:***

El oxígeno es una sustancia potencialmente tóxica donde la misma ha sido atribuida hasta ahora a la formación de peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ).

La facilidad con la que el oxígeno puede ser reducido en los tejidos al radical superóxido ( $O_2^{-2}$ ), y la existencia de una enzima superóxido dismutasa (SOD) en organismo aeróbico ha sugerido que la toxicidad del oxígeno es debida a su conversión a superóxido (26).

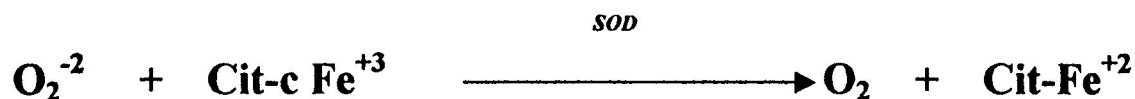
El metabolismo se producen oxidantes potentes en los eritrocitos y en gran parte de las células corporales restantes, entre los que se encuentran al superóxido, peróxido de hidrógeno, y el hidroxilo.

El superóxido se forma en el eritrocito por la auto-oxidación de la hemoglobina (Hb) a metahemoglobina (Met-Hb), se calcula que alrededor de 3% se auto-oxida al día en los eritrocitos humanos (32).

En otros tejidos se forma superóxido cuando las flavinas son reducidas, ya en las oxidaciones univalentes con oxígeno molecular en la cadena respiratoria, se presenta la reacción siguiente (4,32).



El superóxido puede reducir el citocromo C oxidado o ser eliminado por la presencia de la enzima específica SOD.



El ión superóxido actúa como oxidante y como reductor, los efectos químicos son amplificados por las reacciones de las cadenas con los RL. Se ha propuesto que al superóxido unido al citocromo P<sub>450</sub> es un intermediario en la activación del oxígeno en las reacciones de hidroxilación (32,33).

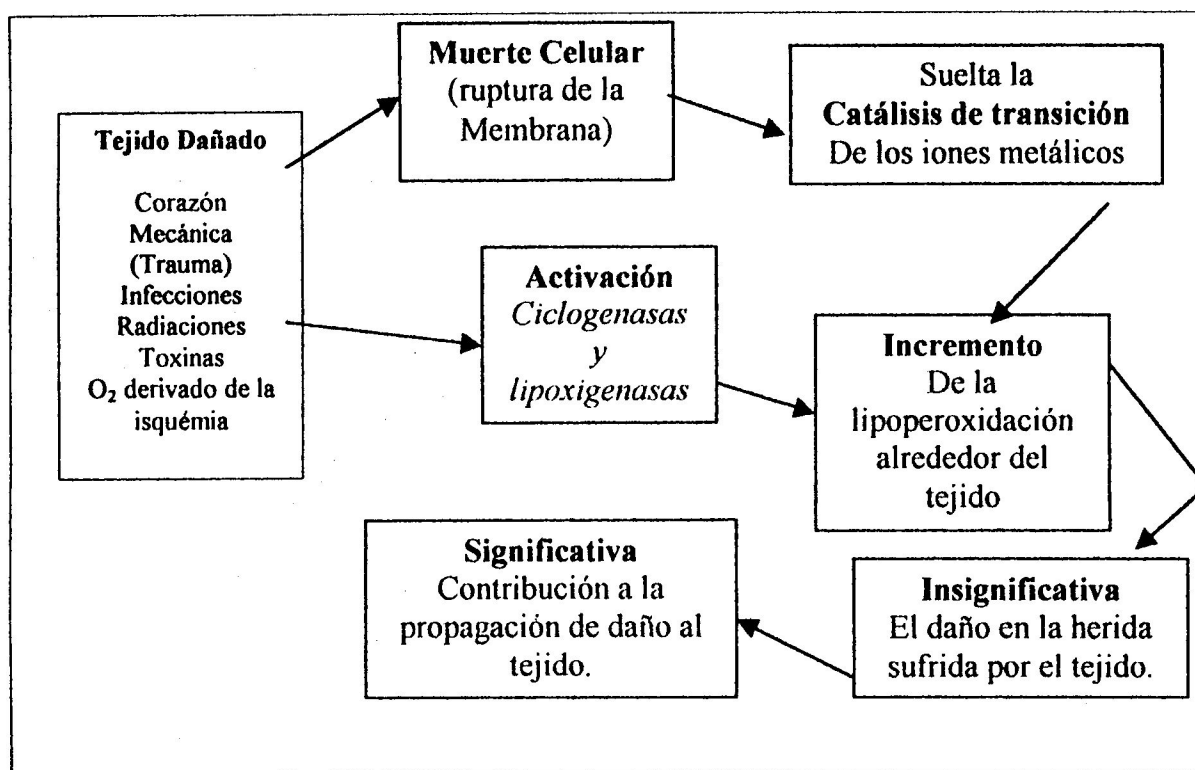
La función de las SOD parece más bien de ser la de proteger a organismos aeróbicos contra los efectos deletéreos potenciales del superóxido (32,33). Esta enzima citosólica esta compuesta por dos subunidades similares que contienen cada una el equivalente de Cu<sup>+2</sup> y Zn<sup>+2</sup>, en tanto que la enzima mitocondrial contiene Mn<sup>+2</sup>, siendo similar a la enzima que se encuentra en la bacteria.

Cuando existe una estimulación por el contacto con bacterias, los neutrófilos muestran el estallido respiratorio y generan superóxido en una reacción catalizada por **NADPH-oxidasa**. El superóxido se transforma espontáneamente en peróxido de hidrógeno y oxígeno. La velocidad de esta reacción acelera la acción enzimática de la SOD (34).

El superóxido se puede generar directamente en las mitocondrias, enzimáticamente por medio de la xantina oxidasa, el citocromo P<sub>450</sub> y por otros procesos enzimáticos o pueden ser llevadas a cabo por otras oxidasas.

Una vez producido, el peróxido puede ser inactivado espontáneamente, o más rápidamente, por la enzima SOD, formándose peróxido de hidrógeno y oxígeno. El peróxido de hidrógeno es producido por una dismutación del superóxido como se mencionan anteriormente (34). Se presenta en el **Diagrama No. 1** el resumen del daño producido en la célula por las diferentes causadas que incrementan la formación de radicales libres y lipoperoxidación.

**Diagrama No. 1 Formación de Radicales libres por daño celular, el cual incrementa la formación de radicales libres y lipoperoxidación rodeando el área afectada (18).**



## ***E. Lipoperoxidación Biológica.***

La lipoperoxidación, es el mecanismo de degradación de los ácidos grasos poliinsaturados para obtener de forma directa o indirecta del malondialdehído (MDA) como producto final, el cual es extremadamente reactivo con grupos amino (9,35).

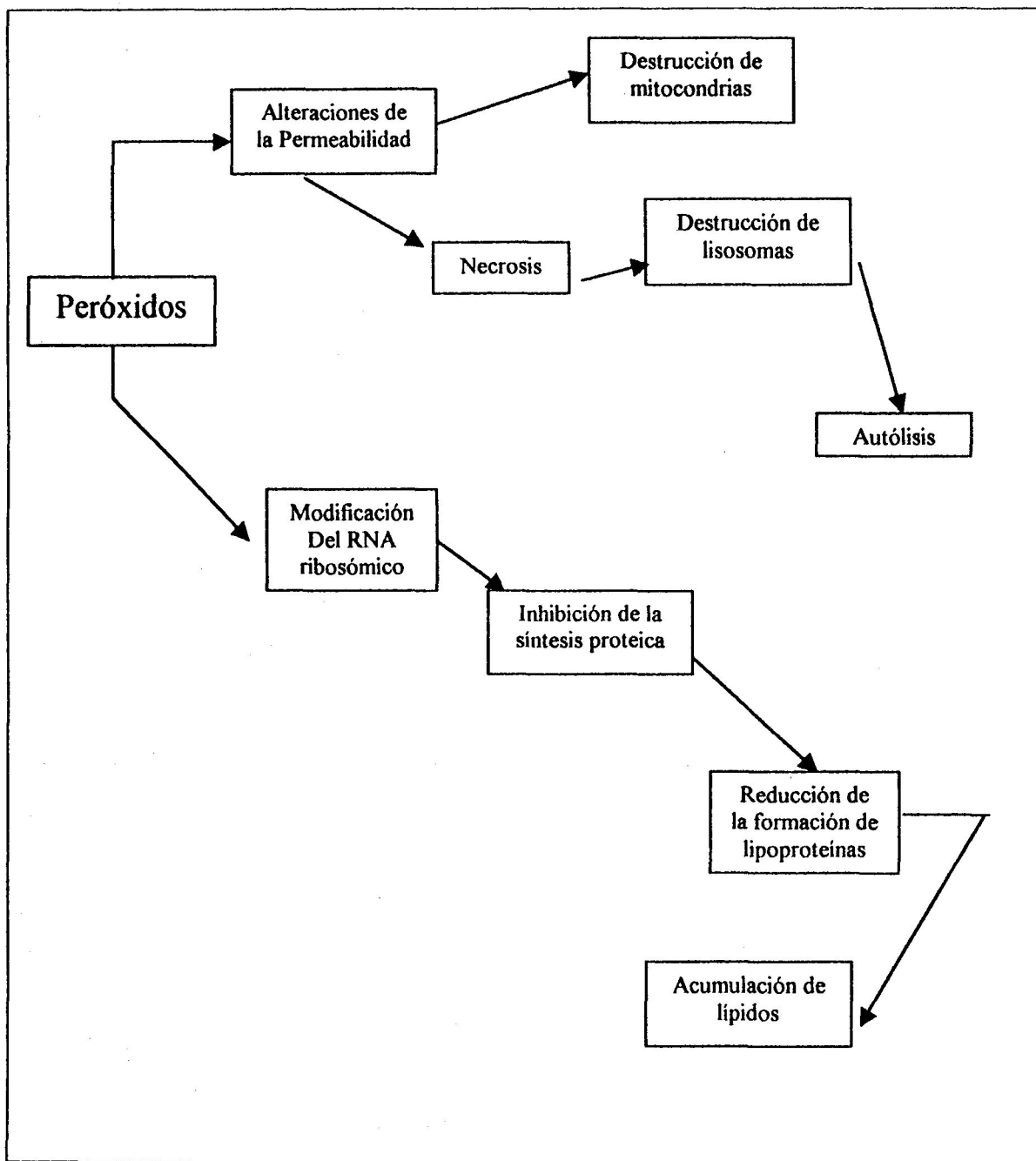
### ***1. Tipos de Lipoperoxidación***

#### ***a. Lipoperoxidación no Enzimática:***

Cualquier radical libre con energía suficiente para abstraer un átomo de hidrógeno de un carbón metileno en ácido graso poliinsaturado (LH) puede iniciar cualquier reacción en los lípidos. La reacción en cadena de los radicales libres en la lipoperoxidación se prolonga hasta que estos se destruyen entre sí para determinar la misma.

En la lipoperoxidación no enzimática los radicales peróxilos sobreviven los suficiente para atraer a otras moléculas de ácidos grasos poliinsaturados. Los peróxidos producidos por los lípidos formados durante la reacción en cadena no son un complejo de isómeros (4). En el **Diagrama No. 2** se observa la acción de los peróxidos.

**Diagrama No. 2. Acción de los peróxidos sobre el retículo endoplásmico (18).**

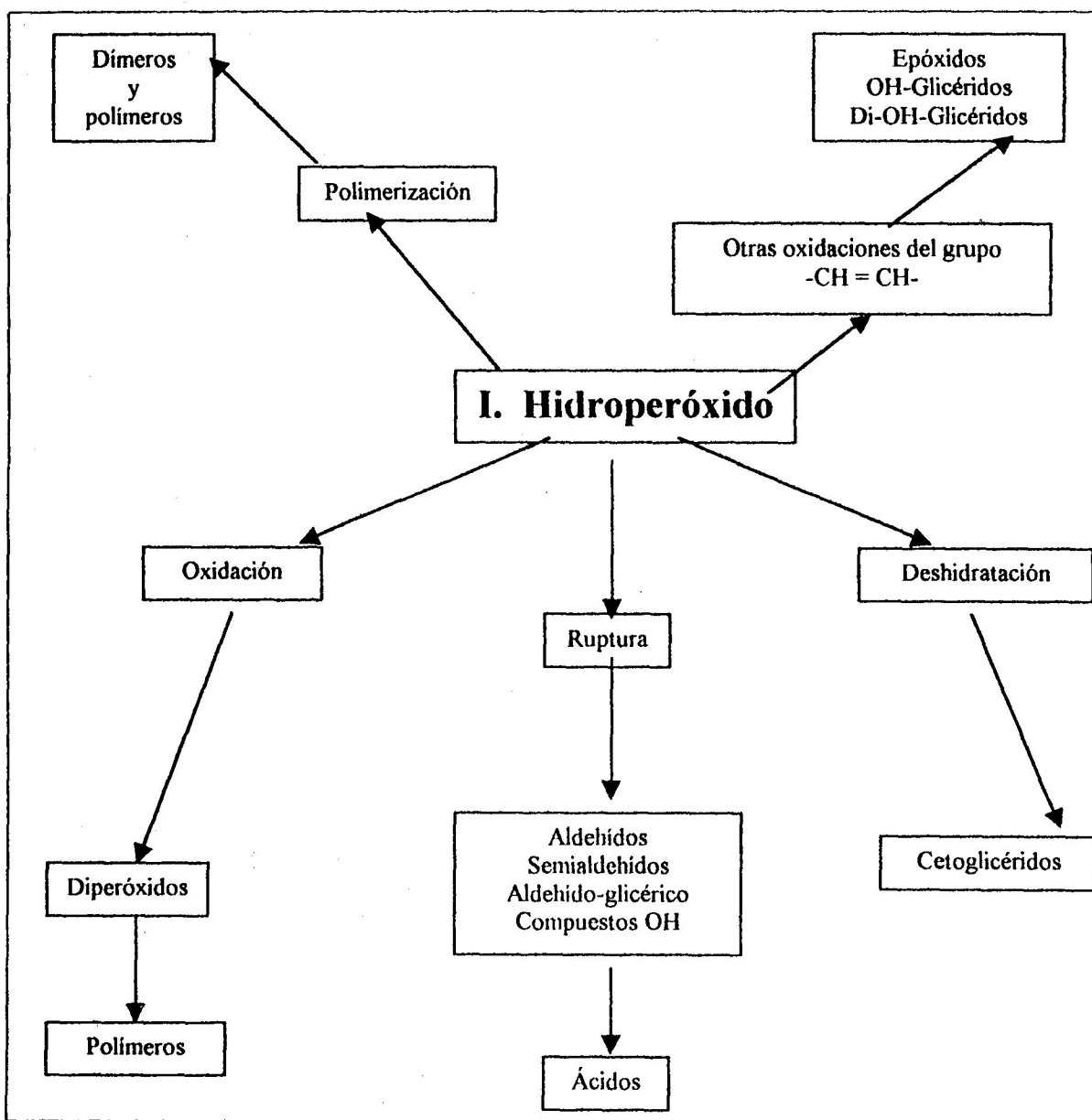




**b. Lipoperoxidación Enzimática:**

La lipoperoxidación enzimática se refiere a la generación de peróxidos de lípidos en el centro de una enzima. Los hidroperóxidos y los endoperóxidos producidos son esteroespecíficos, los cuales tienen funciones fisiológicas importantes. Los radicales libres son intermediarios importantes en la reacción y están localizados en el sitio activo de la proteína (4). En el Diagrama No. 3 se observa los mecanismos general de hidroperóxidos.

**Diagrama No. 3 Mecanismo general de la degradación de hidroperóxidos (18).**

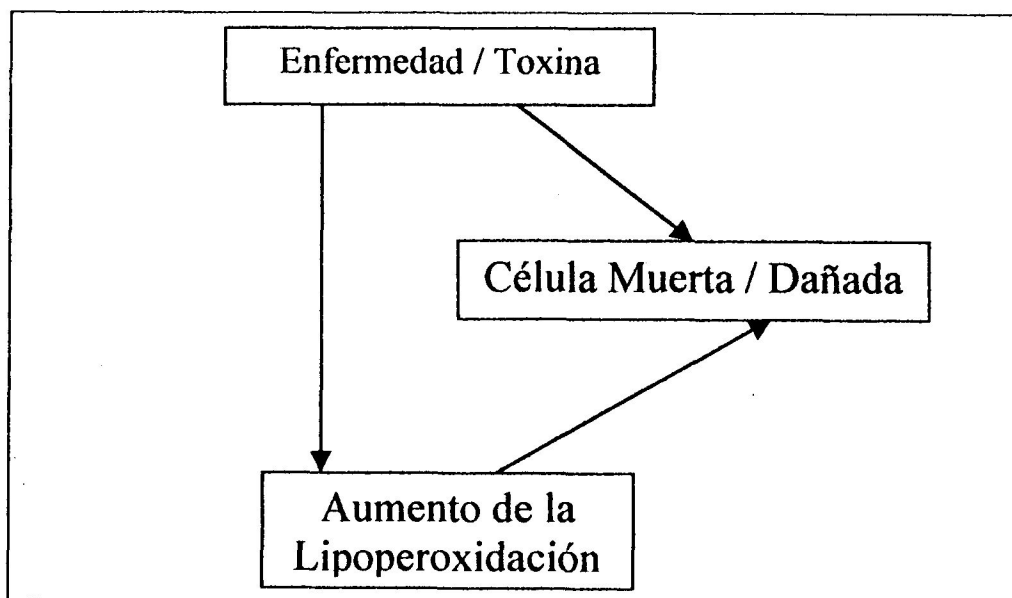


## **2. Consecuencias de Lipoperoxidación en Material Biológico:**

La lipoperoxidación se extiende por las membranas biológicas, lo cual causa pérdida de fluidos y caídas del potencial de membranas, incrementando la permeabilidad de los iones de hidrógeno y otros iones, así como la ruptura eventual que conlleva a la liberación de la célula y sus componentes. Algunos de los componentes de los peróxidos son también citotóxicos.

Algunos de los productos de la lipoperoxidación pueden jugar roles útiles como la cascada del ácido araquidónico y la respuesta de heridas del tejido de plantas. La producción de la lipoperoxidación y su fragmentación a componentes carbonilo, en tejidos de plantas heridas, pueden ayudar a la planta a evitar la entrada de esporas de hongos y/o matar bacterias que quieran entrar al sitio dañado. Se cree que las enfermedades o toxinas causan un incremento de la lipoperoxidación, lo cual es responsable de la toxicidad. Se ha establecido que un tejido dañado sufre más rápido la lipoperoxidación que un tejido sano. La razón por que se aumenta este proceso, es que un tejido dañado existe inactivación de algunos antioxidantes. Las uniones de los antioxidantes en la célula permiten la liberación de iones de metal tales como el hierro y el cobre, de sitios de almacenamiento de la metaloproteínas hidrolizadas por enzimas liberadas de lisoenzimas dañadas (4). En el **Diagrama No. 4** se presenta el ciclo de daño causado por la lipoperoxidación a las células.

**Diagrama No. 4. Ciclo de consecuencias de la lipoperoxidación (4).**



### ***3. Lipoperoxidación y sus Implicaciones en Aterosclerosis:***

Los macrófagos tienen un receptor especial llamado "scavenger" o receptor acetil-LDL que capta al LDL introduciéndolo a la célula. Debido a que la actividad de este receptor no está regulada por la concentración del colesterol, sucede una acumulación masiva de estos lípidos en la aterosclerosis y las células espumosas.

Cuando se aísla el LDL del plasma humano y somete a oxidación agregando pequeñas cantidades de sal de cobre, ocurre un período de lag, antes que se establezca y se pueda detectar la lipoperoxidación. Este período lag se toma como el índice del potencial antioxidante de la molécula del LDL.

Cuando los antioxidantes del LDL, la vitamina E, beta-caroteno, licopene, y fitofluene, son consumidas, la fase lag termina y la lipoperoxidación se acelera por la propagación y continua varias horas hasta que la reacción de descomposición produce aldehídos, que son los responsables de la citotoxicidad y la detección de LDL por el macrófago (4,11,12).

### ***F. Tratamiento:***

La influencia del régimen alimentario en la aparición de las enfermedades cardiovasculares en personas entre los 45 a 65 años, es importante ya que está relacionado con el efecto causado por la dieta rica en grasas poliinsaturadas y las concentraciones bajas en vitaminas que pueden conllevar al detrimento de las funciones celulares (1).

La enfermedad cardiovascular es de origen multifactorial, donde no sólo la hipercolesterolemia es un factor de riesgo, sino que también el estrés oxidativo a que está sometido el organismo. Este normalmente se ve alterado por los diversos factores de riesgo, entre ellos podemos mencionar, la hipertensión, el alcoholismo, el tabaquismo, la diabetes, la vida sedentaria, la obesidad, tipo de trabajo (12), infecciones constantes, intervenciones quirúrgicas, el constante uso de antibióticos y otros fármacos, etc.

Una dieta adecuada y un estilo de vida saludable, mantener un nivel de actividad física acorde con la edad y la condición física de la persona pueden reducir los

riesgos de enfermedades cardiovasculares (12). Ver **Cuadro No. 7** Recomendaciones dietéticas.

El uso de suplementos como las vitaminas ayudan a mejorar la oxidación y degradación de productos metabólicos que pueden afectar en un momento dado para prevenir el estrés oxidativo que puede perjudicar y dañar al tejido cardiovascular.

Cuadro No. 7. Recomendaciones dietéticas para la prevención de hipercolesterolemia (12).

Alimentos	Consumo diario	Consumo Moderado 2-3 veces semanales o diario con moderación	Consumo muy esporádico
Cereales	Pan*, arroz*, Pastas*, maíz, harinas, cereales y galletas (de preferencia integrales)	Pastas italianas con huevo* bollería* y galletas preparadas con aceite de oliva o de semilla	Bollería, cruasán, ensaimadas, magdalena, ganchitos, galletas y bollería industrial preparada con grasa no recomendadas.
Frutas, hortalizas y legumbres	Todas	Aguacates*, aceitunas*, patatas* fritas en aceite de oliva o de semilla	Patatas Chips o patatas o verduras frutas en aceites inadecuados. Coco.
Huevos, leches y derivados	Leche desnatada yogur y productos elaborados con leche desnatada, clara de huevo	Queso fresco o con bajo contenido graso, leche y yogur semidesnatados. Huevos enteros (un máximo de tres semanales).	Leche entera. Nata, quesos duros y muy grasos, flanes y cremas.
Pescado y mariscos	Pescado blanco, pescado azul*, atún en conserva*, almejas, chiflas y ostras	Bacalao salado, sardinas* y caballa en conserva (en aceite de oliva), calamares, mejillones, gambas, langostinos y cangrejos.	Huevas, mojama, pescados fritos en aceites, grasas no recomendables
Carnes	Carne de conejo, pollo y pavo sin piel	Ternera, vaca, buey, cordero, cerdo, jamón (partes magras), salchichas de pollo y ternera.	Embutidos, beicon, hamburguesas, salchichas, vísceras, pato, ganso, patés.
Grasas y aceites	Aceite de oliva	Aceites de semilla y margarinas sin ácidos grasos trans.	Mantequilla, margarinas sólidas, manteca de cerdo, tocino, sebo, aceites de palma y coco.
Postres	Mermelada*, miel*, azúcar*, sorbetes y repostería casera preparada con leche descremada.	Flan sin huevo, caramelos, mazapán, turrón, bizcochos caseros y dulces hechos con aceite de oliva o semilla.	Chocolate y pastelería, postres que contienen leche entera, huevo, nata y mantequilla. Tartas comerciales.
Bebidas	Agua minera, refrescos sin azúcar, zumos naturales e infusiones. Café y té (tres veces al día).	Refrescos azucarados*	
Frutos secos *	Almendras, avellanas, castañas, nueces pipas de girasol sin sal, dátiles y ciruelas pasas	Cacahuetes	Cacahuetes salados, coco y pipas de girasol saladas.
Especias y salsas	Pimientas, mostaza, hiervas, sofritos, vinagre y alioli	Mayonesa y besamel	Salsas hechas con mantequilla, margarina, leche entera y grasa animales.

\* Estos alimentos deberán limitarse en personas obesas e hipertriglicéridémicos.

## ***1. Vitamina E:***

El término vitamina E se aplica a una familia de ocho sustancias relacionadas, los tocoferoles y los tocotrienoles, que son sistemas en anillo (anillo cromanol) hidroxilados y unidos a una cadena lateral fitil. Las cuatro formas principales de vitamina E son designadas como alfa, beta, delta y gamma, según el número y posición de los grupos metilo en el anillo cromanol.

La vitamina E alimentaria está formada fundamentalmente por los tocoferoles alfa y gama, de los cuales se absorbe de 20 a 50%. Debido a su naturaleza hidrofóbica, esta vitamina se absorbe de manera similar a las grasas. La vitamina E es transportada en quilomicrones, pero como estos son hidrolizados por la lipoproteína lipasa en la circulación, esta puede liberarse hacia los tejidos o ser transferida a lipoproteínas de alta densidad (HDL).

La función fisiológica de la vitamina E, es de limpiador de radicales libres, evitando así que estos productos tóxicos (radicales libres y oxidantes) lesionen a los ácidos grasos poliinsaturados de las membranas celulares, a las proteínas ricas en grupos tiol de las membranas y del citoesqueleto, así también actúa como protector de los ácidos nucleicos.

La vitamina E es uno de los factores primordiales del sistema de defensa, ya que es soluble en los lípidos, y puede proteger directamente las membranas celulares.

Esta vitamina al reaccionar con un radical libre, la molécula de tocoferol se convierte en radical tocoferosil, que puede ser reducido de nuevo a tocoferol por la vitamina C o por la Glutatión y posiblemente por la Ubiquinona.

Los efectos fisiológicos potenciales de la vitamina E están relacionados con su actividad antioxidante. En modelos animales, la vitamina protege frente a los metales pesados, la hepatotoxinas que generan los radicales libres y a diversos fármacos que provocan lesiones por oxidación. A esta vitamina se le adjudican muchas funciones entre ellas están de proteger frente a los contaminantes ambientales como el ozono, así como favorecer en la función inmunitaria normal, en especial la función de los linfocitos T. Los estudios epidemiológicos han demostrado que las concentraciones plasmáticas de tocoferol son inversamente proporcional a la incidencia de cardiopatías isquémica en varones y mujeres. Esto influye en la acción antioxidante de la vitamina E sobre la protección del

colesterol LDL de la oxidación, evitando la propagación iniciada por el ataque de los radicales libres. Los actuales aportes diarios establecidos en las recomendaciones del Consejo Nacional de Investigación de los Estados Unidos, revisada en 1989, son de 10mg de alfa-tocoferol o equivalentes en los varones adultos y de 8 mg de alfa-tocoferol en las mujeres adultas.

Las fuentes más ricas en vitamina E son los aceites vegetales (soja, maíz, semilla de algodón y cártamo), los productos derivados de estos aceites (margarina, grasa para cocinar y mayonesa), el germen de trigo, las nueces y otros cereales. Las carnes, el pescado, la grasa animal y la mayoría de las frutas y vegetales contienen poca cantidad de vitamina E; las verduras aportan cantidades apreciables. Uno de los factores a considerar al recomendar la ingesta diaria de vitamina E es la cantidad de ácidos grasos poliinsaturados de la dieta (6,20,28).

## **2. Vitamina C:**

La vitamina C se conoce también como ácido ascórbico, ascorbato o ascorbato monoaniónico. Algunos estudios señalan que la vitamina C participa en la respuesta de estrés y las infecciones.

El ascorbato es un donante de electrones (o agente reductor) en las reacciones químicas intra y extracelulares. El ascorbato reduce al anión superóxido, los radicales hidroxilo, el ácido hipocloroso y otros reactivos oxidantes. En el interior de las células el ascorbato actúa como donante de electrones, formando parte de la interacción entre el hierro y la ferritina. Fuera de las células, puede evitar la oxidación de la lipoproteína de baja densidad (LDL). El ascorbato extracelular puede también transferir electrones a los radicales de tocoferol en las partículas de lípido o en las membranas. El ascorbato es hidrosoluble no se une a las proteínas, se encuentra en los neutrófilos y otras células de defensa del hospedero, en muchos tejidos endocrinos, en el hígado, en los fibroblastos, en el cristalino y la retina, en el encéfalo y el tejido nervioso, en las células formadoras de hueso y en las glándulas parótidas (6,24). Fuentes ricas del ascorbato se encuentran el melón, la uva, el kiwi, el mango, la naranja, la papaya, la fresa, la mandarina y la sandía. Los jugos de frutas comerciales son reforzados con vitamina C, como sucede con los de manzana, arándano y uva. Las fuentes vegetales ricas en vitamina C son los

espárragos, el brócoli, el repollito de Bruselas, el repollo, la coliflor, el brécol, los pimientos (rojos y verdes), el llantén, las papas, los guisantes, las patatas y tomates, así como el jugo de este último. En la tercera encuesta Nacional sobre Salud y Nutrición (NHANES III, parte 1, 1988-1991) sugiere que la mediana del consumo de vitamina C procede de los alimentos es de 200 mg/día en los adultos (6,20,28,36,37,38).

### **3. Zinc:**

El zinc es un ion pequeño (0,065 nm) con una carga 2+ concentrada ( $Zn^{+2}$ ). Es un fuerte ácido de Lewis (aceptor de electrones). El  $Cu^{+2}$  y el  $Fe^{+3}$  son respectivamente ácidos de Lewis más fuerte y más débil que el zinc respectivamente. Gracias a su química peculiar, desempeña importantes papeles estructurales. Más del 95% de este metal en el organismo es intracelular. El elevado contenido de zinc de determinados órganos o compartimentos se debe a las localizaciones intracelulares de alta afinidad de captación y a sistemas regulados de transporte de entrada-salida.

La química intracelular del zinc implica sobre todo a ligandos de tiolatos e imidazol. La unión del  $Zn^{+2}$  a ligandos de tiolato parece constituir un mecanismo importante de regulación de los niveles intracelulares de este micronutriente.

El contenido de zinc del cuerpo humano (de 1.5 a 2.5 g) es parecido al de hierro y se mantiene gracias a la absorción de unos 5 mg/día.

Más del 80% del zinc sanguíneo se encuentra en las células, sobre todo en los eritrocitos; las anhidrasas carbónicas acumulan la mayor cantidad de zinc, del que alrededor de 5% corresponde a la superóxido dismutasa Cu/Zn. Los reticulocitos contienen metalotioneína en cantidades proporcionales de la ingesta zinc. En la sangre humana, los eritrocitos contienen alrededor de 1 mg de zinc/ $10^6$  células mientras que las células mono y polinucleares contienen 6 mg de zinc/ $10^6$  células o menos. Los niveles plasmáticos del zinc responden en gran medida a estímulos externos como son las fluctuaciones en la ingesta de zinc, el ayuno y diversos tipos de estrés agudo, por ejemplo las infecciones. Tras la comida, se produce una reducción reproducible del nivel quizás relacionada con los cambios que los alimentos producen en la insulina y en la glucosa. La baja concentración del zinc esta asociada a las infecciones, podría ser un mecanismo de defensa del hospedero, por el cual la reducción del zinc plasmático determinaría una disminución de su



disponibilidad. El zinc tiene una función estructural a través de las metaloproteínas. La enzima citosólica superóxido dismutasa (Cu, Zn-SOD) es un ejemplo de ello, ya que el cobre asume las funciones catalíticas mientras que el zinc ejerce las estructurales.

La función del zinc en la prevención de la lipoperoxidación podría efectuarse a través de la actividad de la Cu, Zn-SOD.

Requerimientos del zinc son de 2.5 a 4 mg/día para los adultos.

El contenido de zinc de los alimentos es muy variable, y las mejores fuentes son la carne roja y los mariscos. Los alimentos de origen vegetal tienden a ser pobres en zinc, salvo la proporción embrionaria de los cereales, por ejemplo, el germen de trigo. La mayor parte del zinc de los alimentos está unido a proteínas y a ácidos nucleicos, generalmente en forma de complejos estables que requieren una sustancial actividad digestiva hasta conseguir zinc verdaderamente disponible (20).

#### **4. Cobre:**

La química de redox de este elemento lo hace especialmente adecuado para liberar y aceptar electrones, y sobre todo para la transferencia directa de electrones al oxígeno molecular. Las reacciones de transferencia de electrones y de oxidación-reducción son catalizadas en los sistemas orgánicos por enzimas que contienen cobre. El hombre adulto medio tiene un total de alrededor de 110 mg de cobre. Las mayores concentraciones se encuentran en los riñones a los que siguen el hígado, el encéfalo, el corazón y los huesos. Las concentraciones sanguíneas y musculares son alrededor de 1µg/g, mientras que las del aparato gastrointestinal son unas dos veces más altas.

Tres enzimas con cobre desempeñan un papel importante en la defensa antioxidante, entre ellas se encuentran la superóxido dismutasa intra y extracelulares. Todas las SOD catalizan la conversión de los aniones superóxido en peróxidos.

Una deficiencia del cobre se ha observado, la anemia, la leucopenia y especialmente la neutropenia, la disminución de ceruloplasmina y de Cu, Zn-SOD eritrocitaria, la hipercolesterolemia, el aumento del recambio de eritrocitos, y el desarrollo de patrones electrocardiográficos anormales.

Fuentes alimenticias del cobre, en verduras, en nueces y mariscos, las ostras y otros moluscos alcanzan mayores concentraciones, los cereales, otras semillas y las

legumbres, pescado, las aves, frutas y la carne, y la ingesta, diaria recomendada es de 2.0 a 3.0 mg por día para adultos (20).

### **5. *Manganeso:***

El  $Mn^{+3}$  es esencial para los sistemas biológicos. Este catión en estado oxidado es parte de la enzima superóxido dismutasa (MnSOD), el manganeso actúa como componentes de metaloenzimas y como activador enzimático. Las enzimas que lo contienen son la arginasa, la piruvato carboxilasa y la MnSOD.

El ser humano medio tiene alrededor de 200 a 400 nmol de manganeso, que se distribuyen de manera bastante uniforme por el organismo. Las concentraciones son mayores en el hueso, hígado, páncreas y riñón. El encéfalo, el corazón, el pulmón y los músculos tienen concentraciones inferiores a 20 nmol/g, mientras que las cifras comprobadas en la sangre y en el suero son de 200 y 20 nmol/g respectivamente. El manganeso tiende a mostrar niveles más altos en los tejidos ricos en mitocondrias, ya que su concentración en ellas es mayor que en el citoplasma o que en las demás organelas. En las estructuras pigmentadas como la retina, la piel oscura y los gránulos de melanina, hay también concentraciones elevadas de manganeso.

El aporte alimentario recomendado en 1989 en los Estados Unidos destaca que la ingesta calculada inocua y suficiente de manganeso de ser de 2.0 a 5.0 mg/día para adultos.

Fuentes alimenticias de manganeso se encuentran en la carne, productos lácteos, aves pescado, frutos secos, cereales frutas secas. Los vegetales suelen contener cantidades intermedias, el té y el café contienen altas concentraciones de manganeso y estas fuentes pueden aportar en algunas personas incluso el 10% de la ingesta diaria (20).

### **6. *Importancia de la enzima superóxido dismutasa en la aterosclerosis.***

Un factor importante para producir daño al tejido, es la generación excesiva de anión superóxido, ya que dicha acumulación puede activar una reacción entre las moléculas de superóxido y cationes de hidrógeno (provenientes de la unión catalítica de un metal de transición en proteínas y lípidos de la membrana celular), para dar paso a la formación de iones hidroxilo, el cual dará inicio a la lipoperoxidación de ácidos grasos

poliinsaturados, produciendo una acumulación de estos productos en la membrana vascular dando lugar a la aterosclerosis permitiendo observar elevación de la concentración del colesterol LDL en los pacientes.

La determinación de la enzima superóxido dismutasa en la aterosclerosis es importante, pues normalmente ésta se une a los receptores de la superficie celular de las membranas plasmáticas de la mayoría de las células, protegiendo de esta manera a los ácidos grasos poliinsaturados, que son especialmente vulnerables a la oxidación y a la destrucción por la acción tóxica de los radicales libres (20).

### ***7. La Enzima Superóxido Dismutasa en el tratamiento:***

- a. En la actualidad se está experimentando con un compuesto que se encuentra con coordinación con el cobre que es el ácido de cobre (II)-(3,5-diisopropilsalicílico)<sub>2</sub>, ó CuDIPS, con actividad similar a la enzima superóxido dismutasa (19).
- b. Para combatir la inflamación provocada por el exceso de superóxido, se ha sugerido el uso de la enzima superóxido dismutasa (inyectable) como antiinflamatorio (26).

## IV. JUSTIFICACIÓN

La incidencia de las enfermedades cardiovasculares, es una preocupación de la salud mundial, así como la identificación de los factores que causan la predisposición a estas enfermedades.

Entre los factores estudiados en los últimos años, están las lesiones al tejido causadas por el estrés oxidativo, donde la acumulación de los radicales libres es una de las causas de enfermedades cardiovasculares. El estrés oxidativo se produce por diversos procesos metabólicos (a nivel celular), así como los procesos inmunológicos (por infecciones bacterianas, vírales y otros).

El tejido dañado por los radicales libres (RL), causa lipoperoxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL), inactivación de los elementos y sustancias antioxidantes, lo cual aumenta el daño estructural de las células reduciendo su funcionalidad.

Frente a las acciones perjudiciales de los radicales libres, y los productos de la lipoperoxidación, el organismo reacciona produciendo los agentes antioxidantes "scavenger", entre las cuales está la enzima Superóxido Dismutasa (SOD).

Por ello es importante determinar los niveles eritrocitarios de la enzima superóxido dismutasa en pacientes con niveles aumentados del Colesterol LDL sérico entre los 45 a 65 años de edad, indicando una tasa lipoperoxidación elevada, lo que permitirá evaluar el riesgo a padecer enfermedades cardiovasculares, entre las que se incluyen aterosclerosis, procesos isquémicos, así como también correlacionar los valores de la enzima superóxido dismutasa eritrocitaria con otros factores asociados con el fin de prevenir infarto al miocardio.

## V. OBJETIVOS

### **A. *Objetivo General:***

Determinación de los niveles eritrocitarios de la enzima Superóxido Dismutasa (SOD), como una herramienta para establecer el estrés oxidativo en pacientes con perfil lipídico, que asisten a la clínica de la Liga Guatemalteca del Corazón.

### **B. *Objetivos Específicos:***

1. Determinar la concentración eritrocitaria de la enzima superóxido dismutasa en pacientes con perfil lipídico.
2. Relacionar el cambio de concentración eritrocitaria de la enzima superóxido dismutasa en pacientes con Colesterol LDL sérico elevado.
3. Establecer otros factores predisponentes a enfermedades cardiovasculares utilizando la boleta de datos.
4. Correlacionar los factores de riesgo y el cambio de los niveles eritrocitarios de la enzima superóxido dismutasa (SOD), en pacientes con niveles séricos elevados de Colesterol LDL.

## **VI. HIPÓTESIS**

**Los cambios en los niveles de la enzima  
Superóxido Dismutasa indican un aumento del estrés oxidativo  
y de la lipoperoxidación en pacientes con  
Colesterol LDL alterado.**

## VII. MATERIALES Y MÉTODOS

### A. *Universo de trabajo:*

Pacientes que asisten a la Liga Guatemalteca del Corazón y que cumplan con los criterios de inclusión y exclusión.

### B. *Muestra de trabajo:*

Hacer un muestreo de 100 pacientes que asisten a la Liga Guatemalteca del Corazón, cada muestra será identificado con el número correspondiente a la boleta de datos realizada previamente.

### C. *Recursos:*

#### 1. Recursos Humanos:

- a. **Tesista:** Mercy Lucia Cabrera Morales
- b. **Asesora:** Lic. Alba Marina Valdez de García.

#### 2. Institución:

- a. Liga Guatemalteca del Corazón
- b. Laboratorio de Bioquímica de la Facultad de Farmacia USAC.
- c. Biblioteca de la Facultad de Farmacia USAC.
- d. Biblioteca de la Universidad Francisco Marroquín.
- e. Biblioteca del INCAP.
- f. Biblioteca de la Universidad del Valle.

### D. *Materiales:*

#### 1. Cristalería:

- Tubos vacutainer de 5 mL con Heparina
- Tubos vacutainer de 5 mL sin anticoagulante.
- Cubetas para espectrofotómetro
- Beakers de 250 mL.

**2. Materiales:**

- Tips descartables
- Gradillas
- Hielera
- Pizetas
- Guantes

**3. Equipo:**

- Centrifuga
- Refrigerado
- Espectrofotómetro
- Micropipetas automáticas

**E. Reactivos:**

- Solución salina isotónica
- Agua destilada
- Reactivos de RANDOX<sup>TM</sup>, RANSOD (para la determinación de la enzima Superóxido Dismutasa).
  - a. Substrato Mixto (Xantina, Cloruro de 2-(4-yodofenol)-3-(4-nitrofenol)-5-fenil tetrazolio (INT).
  - b. Solución buffer (0.01 mol/L de tampón de Fosfato, pH 7.0).
  - c. Xantina oxidasa (enzima).
  - d. Estándar del reactivo RANSOD (RANDOX<sup>TM</sup>).



## **F. Diseño de Investigación:**

### **1. Tipo de Muestreo:**

Descriptiva, y no probabilística (por cuota).

### **2. Tamaño de muestra:**

El tamaño de la muestra se determinó en base al número de pruebas, por el juego de reactivos incluyendo curva de calibración, controles y estándares a utilizar. El estudio incluirá, 100 pacientes con perfil lipídico.

### **3. Análisis Estadístico:**

#### **a. Análisis Univariado:** (Medidas, porcentajes, pacientes, etc.), variables indicadores:

Colesterol Total alto, Colesterol LDL alto, Triglicéridos alto, Glucosa alta, tabaquismo, alcoholismo, obesidad, hipertensión, intervenciones quirúrgicas recientes, ingesta de fármacos o medicamentos por tiempo prolongado, infecciones recientes.

#### **b. Análisis Bivariado:** Relacionados con los niveles eritrocitarios de la enzima superóxido dismutasa asociados a enfermedades cardiovasculares.

#### **c. Análisis Multivariado:** Se construirán módulos aditivos, de la relación de la elevación de la enzima superóxido dismutasa con los diversos factores de riesgo asociados a enfermedades cardíacas por medio de la regresión múltiple. Según anexo No. 3.

### **4. Factores de Riesgo:**

- a. Se incluirán a pacientes con perfil lipídico y se relacionaran los valores normales y los alterados de acuerdo con la **Tabla No.1.**

**Tabla No.1. Valores de Referencia para Perfil Lipídico**

<b>Prueba</b>	<b>Valores de Referencia</b>	<b>Valores de Riesgo</b>
Lípidos Totales	450-1,000 mg/dL	Mayores de 1,000 mg/dL
Colesterol Total	Menor de 200 mg/dL	Mayor de 200 mg/dL
Triglicéridos	Hasta 150 mg/dL	Mayor de 150 mg/dL
Colesterol HDL	Mayor de 70 mg/dL	Menor de 70 mg/dL
Colesterol LDL	Menor de 150 mg/dL	Mayor de 150 mg/dL

- b. De acuerdo a la boleta de datos elaborada (Anexo No.2), se tomarán en cuenta otros factores de riesgo predisponentes a las enfermedades cardiovasculares, como los siguientes:

- \* Tabaquismo.
- \* Hipertensión.
- \* Diabetes.
- \* Tipo de dieta.
- \* Padecimiento cardiaco.
- \* Infecciones recientes.
- \* Obesidad.
- \* Alcoholismo.
- \* Intervenciones quirúrgicas recientes.
- \* Ingesta de fármacos o medicamentos por tiempo prolongado.

**G. Recursos Económicos:**

Materiales	Costo
2 Kit de Reactivo RANSOD para 112 pruebas	Q. 2,211.20
1 Frasco de diluyente RANSOD (solución buffer)	" 388.99
100 Tubos vacutainer 21X1 1/2(con heparina)	" 100.00
100 Tubos vacutainer (sin Heparina)	" 100.00
1 caja de Guantes	" 40.00
100 Agujas vacutainer	" 100.00
<b>Total</b>	<b>Q. 2,940.19</b>

**H. Metodología:**

**1. Principio de la Prueba:**

La función de enzima Superóxido Dismutasa (SOD) es acelerar la reacción por dismutación del radical libre superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), producidos durante un proceso oxidativo energético con la formación de peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) y oxígeno ( $O_2$ ) molecular.

El método utiliza la xantina y xantina oxidasa (XOD) para generar radicales superóxido, los cuales reaccionan con el cloruro de 2-(4-yodofenol)-3-(4-nitrofenol)-5-fenil tetrazolio ó (INT) para formar un colorante formazán rojo. La actividad de la superóxido dismutasa es medida por el grado de inhibición de la reacción (RANDOX™) (40).

## 2. Reacciones del método:

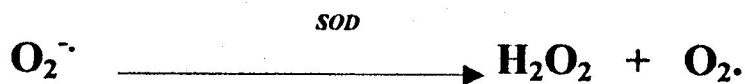
- a. La reacción por medio de la xantina y xantina oxidasa es utilizada para generar radicales superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), de la manera siguiente:



- c. El radical superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ) produce una reacción con las sales de INT, produciendo un tinte rojo formazán.



- d. La presencia de la enzima superóxido dismutasa (SOD), en la muestra con INT para radicales superóxido donde aparece el tinte rojo formazán es cuando se produce la inhibición.



ó



La enzima superóxido dismutasa es medida por el grado de la inhibición según la formación del tinte rojo formazán. El producto de la reacción es medido a 505 nm de longitud de onda para que la hemoglobina no interfiera en las muestras. Este procedimiento tarda cuatro minutos.

### 3. Preparación de la Muestra

#### a. Tipo de Muestra:

1. Usar sangre heparinizada o muestras con EDTA.

#### b. Preparación de la muestra (diagrama de flujo):

Centrifugar la muestra de sangre heparinizada por 10 min. a 3000 rpm

↓  
Separar el plasma de los eritrocitos

↓  
Lavar 500  $\mu$ L de los eritrocitos centrifugados en cuatro tiempos con 3 ml de solución salina al 0.9 % y centrifugar por 10 minutos a 3000 rpm.

↓  
Hacer una suspensión con 2.0 mL de agua tridestilada fría a +4° C por 15 minutos.

↓  
Tomar 100  $\mu$ L del hemolizado con 240  $\mu$ L de la solución tampón, para obtener un factor de dilución 1:100.

<i>Componentes</i>	<i>Blanco</i>	<i>Estándar</i>	<i>Muestra</i>
Muestra	0.0	0.0	50.0 $\mu$ L
Estadard	0.0	50.0 $\mu$ L	0.0
Diluyente de RANSOD	50.0 $\mu$ L	0.0	0.0
Substrato	1.7 mL	1.7 mL	1.7 mL
<b>M E Z C L A R</b>			
Xantina Oxidasa	250.0 $\mu$ L	250.0 $\mu$ L	250.0 $\mu$ L

↓  
Lectura a 505 nm de longitud de onda 37° C

↓  
Mezclar, leer  $A_1$  de 30 segundos y simultáneamente el  $A_2$  después de 3 minutos.

**4. Cálculo de la concentración de la enzima Superóxido Dismutasa.**

$$\frac{A2 - A1}{3} = \Delta A/\text{min. de Estándar o muestra}$$

Índice de muestra diluida = Índice de reacción sin inhibición = 100%

- a. Todos los índices tanto de los patrones como de las muestras diluidas deben ser convertidos en porcentajes de índice del blanco y sustraídos del 100% para obtener un porcentaje de inhibición:

$$100 - \left( \frac{\Delta A_{\text{Patrón/min.}} \times 100}{\Delta A_{\text{S1/min.}}} \right) = \% \text{ de inhibición}$$

$$100 - \left( \frac{\Delta A_{\text{muestra/min}} \times 100}{\Delta A_{\text{S1/min}}} \right) = \% \text{ de inhibición}$$

- b. Utilizar el porcentaje de inhibición de la muestra para obtener las unidades de sod de la curva patrón.

**5. Rangos Normales de la enzima SOD:**

**1102 a 1601 U/gr. de Hb**

**o**

**164 a 240 U/mL**

## VIII. RESULTADOS

El estrés oxidativo está presente en el 82% de los pacientes estudiados, se realizaron asociaciones con los siguientes factores de riesgo: *el sobrepeso, tabaquismo, alcoholismo, intervenciones quirúrgicas realizadas en el último, elevado consumo de grasas insaturadas, hipertensión, diabetes mellitus, infecciones recientes últimos 3 meses, niveles séricos elevados de Colesterol total, Colesterol LDL alterado, Triglicéridos, y Glucosa.* Se presenta en la Tabla No. 2.

Se definen conceptos usados en el estudio como: **Trazo Normal**<sup>21,25</sup>, se define como los estudios electrocardiográficos (ECG) no se observan anomalías cardíacas, es decir que se encuentran libres de lesiones del tejido cardíaco. **Enfermedad Cardiovascular**<sup>21,25</sup>, son todas aquellas lesiones del sistema circulatorio especialmente de los tejidos cardíacos. Se divide en tres grandes grupos tales como: **Cardiopatías con lesiones permanentes** (Aterosclerótica, isquémica, hipertrófica y hipertensiva), **cardiopatías con trastornos y alteraciones de la frecuencia y ritmo cardíaco** (bradicardias, arritmias, taquicardias, extrasístole ventricular, sobrecarga sistólica, trastornos de polarización) y **cardiopatías de trastorno de conducción** (Hemibloqueos)

Los valores de referencia utilizados en el estudio son: Colesterol total 200 mg/dL, Colesterol HDL 70 mg/dL, Colesterol LDL 150 mg/dL, Lípidos totales 1000 mg/dL, Triglicéridos 150 mg/dL, Glucosa 110 mg/dL, Superóxido Dismutasa (SOD) 240 U/mL.

El análisis estadístico se realizó por medio del método **Prevalence Odds Ratio (POR)** (*Razón de desigualdades de probabilidad*) así como el programa de **Regresión Múltiple (SPSS 6.0)** de la siguiente manera, se creo una base de datos utilizando EPI Info 6, enseguida se realizó el análisis de POR para obtener asociación entre los diferentes factores de riesgo, anteriormente descritos y los niveles de la enzima SOD, siendo **significativo un OR (Riesgo Relativo) > 0.50.**

	(+)	SOD	(-)	
FACTOR DE RIESGO	(+)	a.	b.	$\frac{a/b}{c/d} = \frac{\text{Riesgo}}{\text{Relativo}}$
	(-)	c.	d.	

También se utilizó el método de Regresión Múltiple (SSPS 6.0) por medio del programa **FORWORD** (*estadística significativa*), para correlacionar las variables independientes para establecer cuales son múltiples factores de riesgo presentes en el incremento del estrés oxidativo, siendo es **significativo un OR (Riesgo Relativo) > de 0.50**

Tabla No. 2. Resultados de las pruebas efectuadas y Factores de Riesgo.

No.	Col. Total mg/dL	Col. HDL mg/dL	Col. LDL mg/dL	Col. VLDL mg/dL	Lípidos Totales mg/dL	Trigl. mg/dL	Gluc. mg/dL	SOD U/mL	FACTORES DE RIESGO									
									S/P	Tab	BA	IQ	Hipr	DM	Inf	Col.Tot. Alto	LDL alto	Trigl. alto
1	194	42.10	98.30	53.60	921.80	268	82	612.41	X			X	X		X		X	X
2	199	50.40	121.20	27.40	807.60	137	194	256.13	X			X	X					X
3	274	41.10	171.10	59.20	1,212.60	296	84	496.70	X			X			X	X	X	
4	227	41.50	150.00	117.90	1,103.00	338	221	496.70				X	X				X	X
5	170	43.10	82.50	44.40	794.90	222	103	272.87	X			X					X	
6	287	49.40	155.40	85.40	1,378.20	411	98	496.70	X			X					X	
7	177	31.40	80.80	64.80	920.50	324	98	108.00	X			X					X	
8	214	70.20	64.60	79.20	1,117.20	396	98	525.92	X			X			X		X	X
9	208	39.60	144.00	24.40	823.00	122	98	350.76	X		X	X	X		X			
10	279	56.80	174.60	47.60	1,117.20	238	99	477.25	X	X		X			X	X	X	
11	125	40.10	64.10	20.80	525.30	104	88	263.20				X						X
12	192	49.90	105.10	37.10	832.20	185	98	282.64	X								X	X
13	205	88.90	95.70	20.40	792.90	102	100	270.00	X			X		X	X			
14	177	55.70	100.10	21.20	702.50	106	98	204.83	X			X						
15	163	76.60	71.20	15.20	625.30	70	98	195.15	X			X						
16	291	42.70	127.70	48.60	910.00	243	86	535.60				X			X		X	X
17	210	40.40	82.20	81.40	1,114.70	407	79	341.08	X						X		X	X
18	201	54.20	118.80	28.00	817.40	140	88	399.44	X			X			X			X
19	204	56.60	134.60	13.40	754.70	67	84	243.73	X			X						
20	216	49.40	132.20	34.40	889.90	172	84	282.64	X			X		X	X		X	
21	179	43.60	103.40	32.00	763.20	160	94	180.00	X								X	
22	223	60.70	113.30	49.00	996.50	245	88	331.50	X			X		X	X		X	
23	197	48.70	102.30	46.00	893.90	203	79	856.60	X								X	X
24	301	70.90	111.09	119.20	1,610.40	596	98	409.12	X			X	X		X		X	X
25	192	60.00	109.20	22.80	761.10	114	98	243.73				X						X
26	151	49.90	74.70	35.40	685.00	177	122	358.51	X				X				X	
27	171	46.40	97.20	27.40	713.30	137	78	282.64	X	X		X	X					
28	211	54.90	58.10	98.00	1,201.10	490	98	399.35		X		X	X		X		X	
29	180	67.30	85.30	27.40	743.60	137	76	457.80		X		X	X					X
30	250	47.10	159.90	43.00	1057.00	215	97	448.02	X			X	X		X	X	X	X
31	148	36.30	74.70	37.00	638.80	185	72	311.86	X			X	X					
32	194	39.70	99.30	60.00	956.80	303	85	613.41	X			X					X	X
33	188	57.90	87.50	42.60	846.60	213	87	302.18				X					X	
34	180	33.10	103.70	33.20	772.60	166	84	214.60	X								X	
35	179	38.60	93.40	47.10	837.20	335	112	312.63	X	X		X	X	X			X	X



## Continuación de la Tabla No. 2

No.	Col. Total mg/dL	Col. HDL mg/dL	Col. LDL mg/dL	Col. VLDL mg/dL	Lípidos Totales mg/dL	Trig. mg/dL	Gluc. mg/dL	SOD U/mL	FACTORES DE RIESGO									
									S/P	Tab.	BA	IQ	Hipr.	DM	Inf.	Col. alto	LDL alto	Tri alto
36	152	49.30	75.50	27.20	648.20	136	82	263.19					X					
37	204	50.20	135.20	18.60	480.5	93	99	272.96	X				X		X			X
38	188	42.93	135.90	21.20	712.60	106	98	135.00	X				X					
39	245	66.53	116.50	63.20	1,114.60	316	98	272.41	X				X				X	
40	187	43.80	94.80	48.40	872.20	242	120	270.00	X				X				X	
41	163	51.30	75.50	35.80	728.50	179	98	263.20	X				X				X	X
42	249	27.90	154.00	83.40	1,256.10	417	98	350.76	X				X		X		X	X
43	214	35.70	122.90	55.40	998.20	277	98	214.60					X				X	
44	214	35.50	137.30	41.20	927.20	206	104	272.96	X				X				X	
45	206	48.60	100.00	154.40	965.10	272	289	525.92	X				X		X		X	
46	197	63.30	99.70	34.00	833.90	170	76	360.44	X				X		X		X	
47	214	35.50	137.30	41.20	927.20	206	104	272.96	X	X			X		X		X	
48	190	45.70	54.30	90.00	1,090.30	450	120	613.41	X	X			X		X		X	X
49	202	41.30	103.70	62.00	1,107.60	310	80	331.31	X				X				X	X
50	275	50.00	185.20	38.90	10,125.00	199	96	691.30	X				X		X		X	X
51	202	53.00	94.60	57.40	977.90	287	92	321.63	X				X				X	X
52	265	48.00	158.20	58.80	1,187.00	294	98	457.70	X				X		X		X	
53	161	34.00	79.60	47.40	779.60	335	155	613.41	X				X		X		X	
54	272	44.70	188.10	39.20	1,112.10	196	84	681.53	X				X		X		X	
55	246	60.30	133.30	62.40	1,141.00	312	109	331.31	X				X		X		X	X
56	211	51.10	59.50	100.00	1,212.10	500	98	574.50	X		X		X		X		X	
57	269	58.41	157.60	53.00	1,197.00	265	73	632.86	X		X		X		X		X	
58	177	35.40	119.80	12.18	705.00	109	198	506.47	X				X					
59	154	65.70	53.30	35.00	694.00	175	98	457.70	X				X				X	X
60	299	51.00	159.20	88.80	1,451.60	444	138	418.90	X				X		X		X	X
61	186	39.40	118.80	27.80	765.80	139	88	195.15					X					
62	186	45.10	109.30	31.60	784.80	158	109	204.83	X				X		X		X	
63	171	70.50	77.10	23.24	693.30	117	93	350.76	X			X						
64	225	57.30	135.30	32.40	920.30	162	86	311.86	X				X		X		X	
65	194	60.90	114.70	18.40	745.80	91	111	390.00	X				X		X			X
66	186	67.10	89.90	29.00	771.80	145	198	243.73	X				X		X			
67	277	51.00	160.60	65.40	1,260.0	327	192	428.57	X				X		X		X	
68	158	40.60	99.00	18.40	624.50	92	103	185.38	X				X					
69	122	33.9	44.10	44.00	631.10	220	162	399.44	X				X		X		X	X
70	386	60.60	257.00	68.40	1,642.80	342	98	603.73	X				X		X		X	

Continuación de la Tabla No. 2

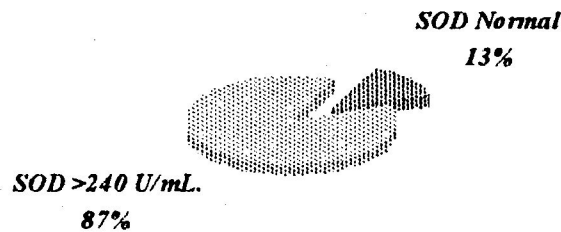
No.	Col. Total mg/dL	Col. HDL mg/dL	Col. LDL mg/dL	Col. VLDL mg/dL	Lípidos Totales mg/dL	Trigl. mg/dL	Gluc. mg/dL	SOD U/mL	FACTORES DE RIESGO										
									S/P	Tab.	B.A.	I.Q	Hipr.	DM	Inf.	Col. Alto	LDL alto	Trigl. alto	Enf. Card.
71	179	48.90	102.90	27.20	739.20	136	92	175.70					X						
72	240	42.30	129.30	68.40	1,150.80	342	98	180.00	X				X		X			X	
73	220	55.20	145.60	19.20	837.40	96	94	282.64					X		X				X
74	244	61.10	146.50	35.80	1,001.30	179	89	302.18	X				X		X			X	X
75	224	59.30	137.50	27.20	890.90	136	88	282.64	X				X		X			X	X
76	164	33.40	93.60	37.00	737.70	185	110	180.00	X				X					X	X
77	179	35.50	104.10	39.20	799.20	196	89	25351	X				X					X	X
78	208	47.50	130.50	41.20	853.50	180	92	195.15	X				X		X			X	
79	268	54.30	141.50	72.20	1,126.40	361	90	321.63	X			X	X		X			X	
80	247	45.20	115.80	56.00	1,113.00	280	105	341.00	X				X		X			X	X
81	169	46.10	93.90	29.00	714.50	145	107	234.05							X				
82	210	53.00	115.20	41.80	916.70	209	85	341.00	X				X	X		X		X	
83	221	59.00	129.40	32.60	907.80	163	109	311.86	X				X	X		X		X	X
84	168	32.40	99.00	36.60	749.20	183	98	282.64	X	X			X					X	
85	252	64.00	161.00	27.00	984.20	135	76	380.00	X						X	X		X	X
86	172	44.00	86.40	41.60	787.60	208	98	243.73	X				X					X	
87	158	48.90	86.90	22.20	643.50	111	98	302.89	X				X						X
88	143	39.90	42.70	60.80	785.90	314	98	204.83	X									X	X
89	265	41.50	132.30	91.20	1,394.90	456	220	477.25	X				X		X			X	
90	184	39.50	122.50	22.00	730.10	110	96	302.08	X				X						X
91	236	28.30	146.70	61.00	11,000.30	305	126	306.54	X				X	X		X		X	X
92	207	51.20	121.20	34.60	870.60	173	83	282.64	X	X	X				X	X		X	
93	147	33.30	50.30	63.40	812.40	317	83	334.50	X				X	X				X	
94	135	29.90	78.80	26.60	588.00	133	88	204.83					X						
95	281	57.40	172.60	51.00	12,102.00	225	86	380.00	X				X		X	X		X	X
96	232	59.20	136.60	36.20	962.80	181	84	282.64	X						X			X	X
97	131	36.70	52.50	44.80	650.50	209	91	380.00	X				X		X				
98	218	62.20	120.00	35.80	913.70	179	98	243.73	X				X		X			X	
99	190	38.50	112.70	38.80	834.30	194	66	253.51	X				X					X	
100	207	41.30	140.20	25.80	826.60	129	98	253.70	X				X		X				X

**Observaciones:** S/P = Sobrepeso; Tab. = Tabaquismo; BA = Bebidas alcohólicas; IQ = intervenciones quirúrgicas realizadas en el último año; Hipr. = Hipertensión; DM; Diabetes Mellitus; Inf. = Infecciones recientes; Enf. Card. = Enfermedades Cardiovasculares, Col. = Colesterol; Trig. = Triglicéridos; Gluc. = Glucosa.

En la gráfica No 1. se muestran 8 de los pacientes que fuman más de 5 cigarrillos diarios, los cuales tienen más de 10 años de consumirlos, de los cuales 7 pacientes presentaron niveles eritrocitarios de la enzima *Superóxido Dismutasa* mayores de 240 U/ml.

**Gráfica No. 1.**

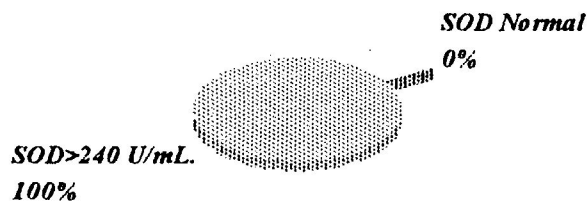
***Determinación de Superóxido Dismutasa en pacientes que fuman 5 cigarrillos diarios***



En la gráfica No. 2 se muestran 4 pacientes que consumen más de 8 onzas de bebidas alcohólicas a la semana (3 veces a la semana), presentaron niveles eritrocitarios de la enzima *Superóxido Dismutasa* mayores de 240 U/mL.

**Gráfica No. 2**

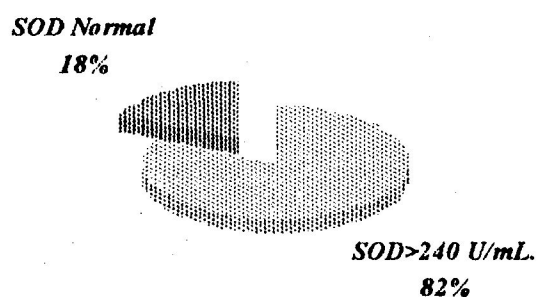
***Determinación de Superóxido Dismutasa en pacientes que consumen bebidas alcohólica >8 onzas a la Semana***



En este estudio se observó que los 100 pacientes tenían sobrepeso, se calculo el Índice de Masa corporal (IMC)  $> 25.5$ , 82 presentaron niveles eritrocitarios de la enzima *Superóxido Dismutasa* mayores de 240 U/mL, se presenta en la gráfica No. 3.

Gráfica No. 3

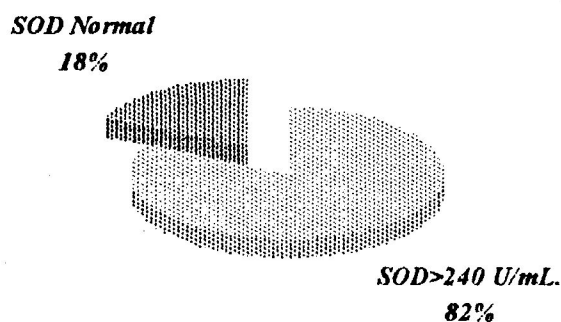
***Determinación de Superóxido Dismutasa en Pacientes con Sobrepeso***



En este estudio se observó que 17 pacientes que tuvieron intervenciones quirúrgicas en el último año, 14 presentaron niveles eritrocitarios de la enzima *Superóxido Dismutasa* mayores de 240 U/mL, se presenta en la gráfica No. 4.

Gráfica No. 4

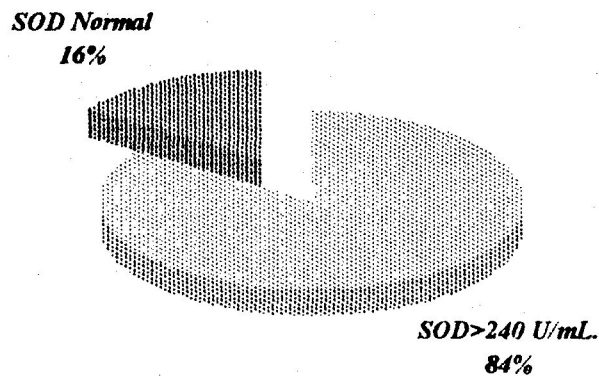
***Determinación de Superóxido Dismutasa en pacientes a los que se les realizaron Intervenciones Quirúrgicas en el último año***



En la gráfica No. 5 se muestran 90 pacientes con hipertensión, 76 presentaron niveles eritrocitarios de la enzima *Superóxido Dismutasa* mayores de 240 U/mL.

**Gráfica No. 5**

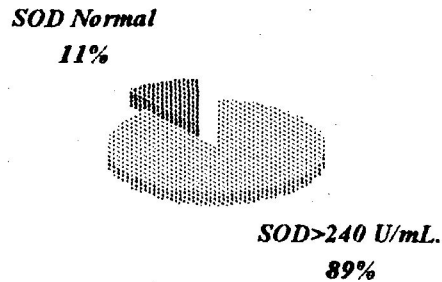
*Determinación de Superóxido Dismutasa en pacientes con Hipertensión*



En la gráfica No. 6 se muestran 18 pacientes con *diabetes mellitus*, los cuales 16 pacientes presentaron niveles eritrocitarios de la enzima *Superóxido Dismutasa* mayor de 240 U/mL.

**Gráfica No. 6**

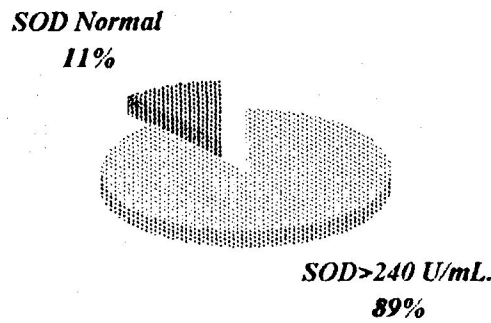
*Determinación de Superóxido Dismutasa en pacientes con diabetes mellitus*



En la gráfica No. 7 se muestran 18 pacientes que habían tenido infecciones recientes, es decir diversas infecciones en los últimos 3 meses a la fecha del muestreo, 16 presentaron niveles eritrocitarios de la enzima *Superóxido Dismutasa* mayores de 240 U/mL.

**Gráfica No. 7**

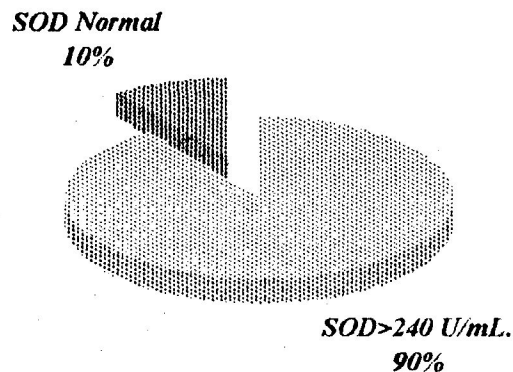
*Determinación de Superóxido Dismutasa en pacientes con Infecciones Recientes*



En este estudio se observó que 52 pacientes con hipercolesterolemia, 47 presentaron niveles eritrocitarios de la enzima *Superóxido Dismutasa* mayores de 240 U/mL, se presenta en la gráfica No. 8.

**Gráfica No. 8**

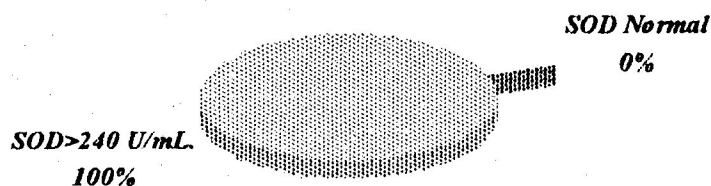
*Determinación de Superóxido Dismutasa en pacientes con Hipercolesterolemia*



En la gráfica No. 9 se muestran 14 pacientes con niveles séricos de Colesterol LDL elevado que presentaron niveles eritrocitarios de la enzima *Superóxido Dismutasa* mayores de 240 U/mL.

Gráfica No. 9

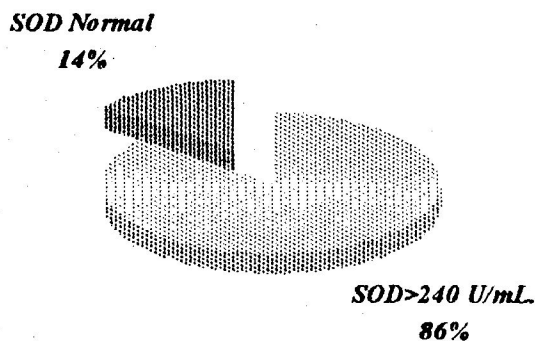
*Determinación de Superóxido Dismutasa en pacientes con niveles séricos de Colesterol LDL elevado*



En este estudio se observó que 71 pacientes con hipertrigliceridemia, 61 presentaron niveles eritrocitarios de la enzima *Superóxido Dismutasa* mayores de 240 U/mL, como se presenta en la gráfica No. 10.

Gráfica No. 10

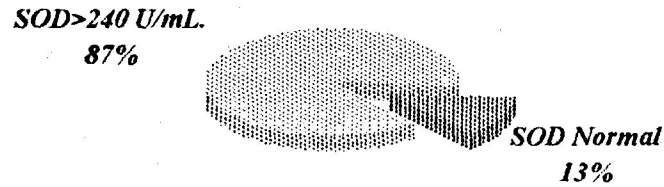
*Determinación de Superóxido Dismutasa en pacientes con Hipertrigliceridemia*



En este estudio se observó que 47 pacientes con diversas enfermedades cardiovasculares, 41 presentaron niveles eritrocitaria de la enzima *Superóxido Dismutasa* mayores de 240 U/mL se observa en la gráfica No. 11.

**Gráfica No. 11**

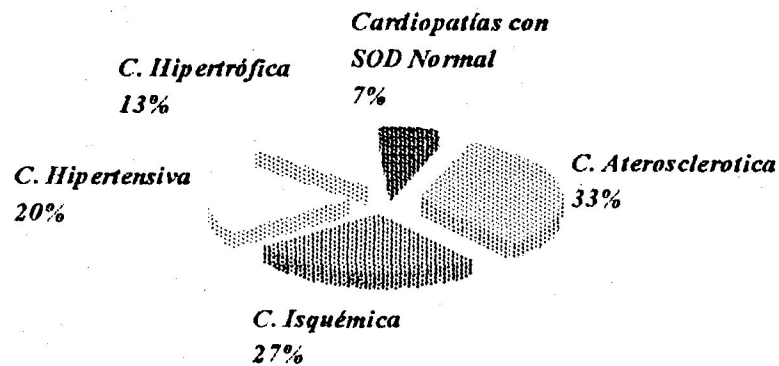
***Determinación de Superóxido Dismutasa en pacientes con diversas Enfermedades Cardiovasculares***



En la gráfica No. 12 se muestra 15 pacientes que presentaron Cardiopatías con Lesiones Permanentes, de ellos 14 presentaron niveles eritrocitarios de la enzima *Superóxido Dismutasa* mayores de 240 U/mL.

**Gráfica No. 12**

***Determinación de Superóxido Dismutasa en pacientes con Cardiopatías con Lesiones Permanentes***

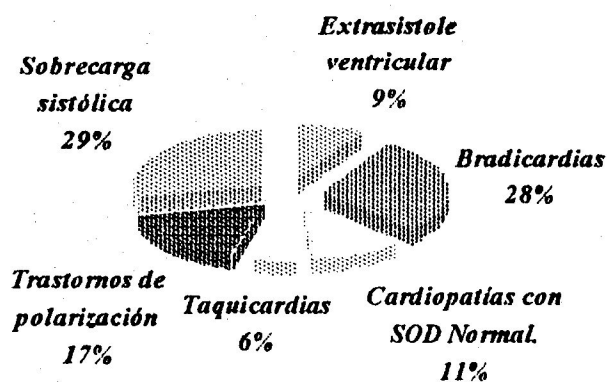




En la gráfica No. 13 se muestran 28 pacientes con Cardiopatías de Trastornos de Frecuencia y Ritmo cardiaco, de ellos 24 presentaron niveles eritrocitarios de la enzima *Superóxido Dismutasa* mayores de 240 U/mL.

**Gráfica No. 13**

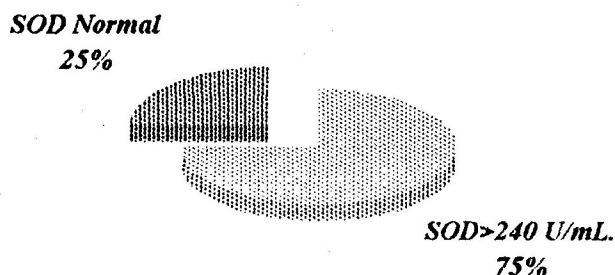
*Determinación de Superóxido Dismutasa en pacientes con Cardiopatías de Trastornos de Frecuencia y Ritmo Cardiaco*



En la gráfica No. 14 se muestran 4 pacientes con Cardiopatías de Trastornos de Conducción Cardíaca, de ellos 3 presentaron niveles eritrocitarios de la enzima *Superóxido Dismutasa* mayores de 240 U/mL.

**Gráfica No. 14**

*Determinación de Superóxido Dismutasa en pacientes con Cardiopatías de Trastornos de Conducción Cardíaca*



## VIII. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En algunos textos de medicina<sup>21</sup> se han establecido que el fumar, las infecciones o inflamaciones, intervenciones quirúrgicas, el consumo grasas saturadas altera o incrementa el estrés oxidativo.

El análisis POR (EPI Info 6.0) indica que cada uno de los factores riesgo presentan asociaciones directas con el aumento de la concentración eritrocitaria de la enzima *Superóxido Dismutasa*, el cual indica el grado de estrés oxidativo presente y por consiguiente la predisposición a enfermedades cardiovasculares.

Los factores de riesgo evaluados en este estudio que se encuentran relacionados con el aumento del estrés oxidativo (Tabla No. 2), son: *el tabaquismo, alcoholismo, intervenciones quirúrgicas recientes, infecciones recientes, hipertensión, diabetes mellitus, hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia, Colesterol LDL elevado.*

El fumar<sup>18,21</sup> se considera como factor de riesgo ya que la combustión y la inhalación del humo produce la formación de radicales libres, se observó que el 87% de los pacientes que consumían más de 5 cigarrillos diarios y con un tiempo del consumo mayor de 5 años. Estos pacientes presentaron aumento de la concentración eritrocitaria de la enzima *Superóxido Dismutasa*, y mostraron un índice de estrés oxidativo de 1.59%.

En el alcoholismo es un factor de riesgo para el estrés oxidativo, en estudio se observó que 4 pacientes que lo consumen con más de 8 onzas a la semana (3 veces a la semana), presentan un índice de estrés oxidativo de 1.13%.

En las intervenciones quirúrgicas<sup>18</sup> recientes se observó que el 82% de los pacientes presentaron aumento de la concentración eritrocitaria de la enzima *Superóxido Dismutasa*, estableciéndose un índice de estrés oxidativo de 1.03%.

Se observó que 84% de los pacientes con hipertensión presentaron aumento de la concentración eritrocitaria de la enzima *Superóxido Dismutasa*, mostrando un índice de estrés oxidativo de 3.62%.

La *diabetes mellitus* es una condición metabólica que permite al organismo del paciente formar radicales peróxido de hidrógeno, provenientes de la reacción de dismutación del radical superóxido<sup>8,9,20,22,23,24</sup>, junto a los radicales libres producidos en la

Lipoperoxidación<sup>9,10</sup> que causa daños a los ácidos grasos constituyentes de los fosfolípidos de la membrana, que puede iniciarse por los radicales hidroxilo u otros radicales, cuyo proceso puede dañar a los lípidos, proteínas de la membrana celular. El 89% de los pacientes con diabetes presentaron aumento de la concentración eritrocitaria de la enzima *Superóxido Dismutasa*, mostrando un estrés oxidativo de 1.94%, incrementando así el riesgo a padecer enfermedades cardiovasculares.

La infección bacteriana<sup>6,16,17,34</sup> según algunos autores, es el proceso por medio del cual agentes causales (bacterias patógenas), atrapadas dentro de los neutrófilos producen el estallido respiratorio generando el anión Superóxido y peróxido de hidrógeno, conduciendo momentáneamente al estrés oxidativo. En el estudio se observó que el 89% de los pacientes que presentaron infecciones en los últimos 3 meses mostrando alteración en la concentración eritrocitaria de la *Superóxido Dismutasa*, presentando un índice de estrés oxidativo de 1.12%.

Las hipercolesterolemias (arriba de 200 mg/dL), Colesterol LDL elevado (arriba de 150 mg/dL), las hipertrigliceridemias (arriba de 150 mg/dL) y el sobrepeso están relacionadas con el consumo de grasas saturadas y harinas, que son almacenadas como ácidos grasos poliinsaturados, los cuales son oxidados o bien sufren degradación lipídica, cuyo proceso es llamado Lipoperoxidación<sup>3,4</sup>. Durante el proceso de la Lipoperoxidación<sup>4,9,11,12,35</sup> según algunos autores, los radicales libres producto de dicho proceso de lesión oxidativa a los tejidos, son sustancias sumamente reactivas y tóxicas, donde éstos al acumularse en los tejidos provocan daños severos, produciendo cambios fisiológicos, morfológicos y funcionales de los órganos. Para determinar el grado de estrés oxidativo se midieron los niveles de la concentración eritrocitaria de la enzima *Superóxido Dismutasa*, y por consiguiente el riesgo de la predisposición a padecer enfermedades cardiovasculares.

En este estudio se observó que el 90% de los pacientes con niveles séricos de Colesterol Total elevado (hipercolesterolemia), presentaron aumento de la concentración eritrocitaria de la enzima *Superóxido Dismutasa*, mostrando un índice de estrés oxidativo presente de 3.50%.

El 100% de los pacientes que presentaron niveles séricos del Colesterol LDL elevado, mostraron estar directamente relacionados con el aumento de la concentración eritrocitaria de la enzima *Superóxido Dismutasa*, mostrando un índice de estrés oxidativo de 1.26%, incrementando la posibilidad de producir enfermedades cardiovasculares.

El 86% de los pacientes que presentaron Triglicéridos elevados (hipertrigliceridemia), mostraron aumento de la concentración eritrocitaria de la enzima *Superóxido Dismutasa*, mostrando un índice de estrés oxidativo de 2.32%.

Las enfermedades cardiovasculares<sup>3,11</sup> están íntimamente relacionadas al estrés oxidativo ya que el 87% de los pacientes, presentaban varios de los factores de riesgo especialmente el sobrepeso, hipertensión, Diabetes Mellitus, hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia y el Colesterol LDL elevado. En las enfermedades cardiovasculares se observó un aumento de concentración de la enzima *Superóxido Dismutasa*, mostrando un índice de estrés oxidativo de 1.57%, incrementándose el riesgo sufrir un infarto al miocardio.

El estrés oxidativo está presente cuando se observan 2 o más factores de riesgo, entre los más importantes y frecuentes, están sobrepeso-Diabetes Mellitus (Glucosa elevada)-Colesterol Total elevado, mostrando un índice de estrés oxidativo de 4.39%, incrementándose así el riesgo de presentar enfermedades cardiovasculares.

La prueba de Colesterol LDL alterado, no es un indicador guía para determinar estrés oxidativo, por lo tanto la determinación de concentración eritrocitaria de la enzima *Superóxido Dismutasa*, es una herramienta clave para determinar el grado de estrés oxidativo presente y el riesgo de incrementar el padecimiento de diversas enfermedades cardiovasculares.

## X. CONCLUSIONES

1. La determinación de los niveles eritrocitarios de la enzima Superóxido dismutasa, es una herramienta valiosa para establecer el estrés oxidativo, en pacientes con perfil lipídico alterado y otros factores de riesgo al padecimiento de enfermedades cardiovasculares que asisten a la clínica de la Liga Guatemalteca del Corazón.
2. El estrés oxidativo se incrementa cuando 3 factores de riesgo están presentes, tales como el sobrepeso-diabetes mellitus (Glucosa elevada)-Colesterol Total elevado, incrementando el riesgo de presentar alguna Cardiopatía.
3. Se estableció que no existe asociación en cuanto al sexo, edad de los pacientes con niveles eritrocitarios de la enzima Superóxido Dismutasa mayores de 204 U/mL.
4. Se establecieron factores de riesgo que incrementa el estrés oxidativo individualmente, por medio de una boleta de datos se demostró la asociación entre los factores de riesgo estudiados con respecto a la concentración eritrocitaria de la enzima Superóxido Dismutasa mayores de 240 U/mL.
5. Los factores de riesgo asociados al incremento en la concentración de la enzima eritrocitaria Superóxido Dismutasa, son: las intervenciones quirúrgicas recientes, diversas infecciones bacterianas recientes, el sobrepeso, hipertensión, *diabetes mellitus*, hipercolesterolemia, Colesterol LDL elevado y hipertrigliceridemia, los cuales presentaron un índice de estrés oxidativo de 1.03%, 1.12%, 5.0%, 3.62%, 1.94%, 3.50%, 1.26% y 2.32% respectivamente.
6. Los niveles séricos de Colesterol LDL elevado, son un indicador cardiaco importante, no se considera un indicador guía para la determinación de estrés oxidativo, ya que la mayoría de los pacientes que presentaban niveles de la enzima Superóxido Dismutasa mayores de 240 U/mL, no mostraban niveles séricos de Colesterol LDL.
7. El estrés oxidativo está presente en el 87% de diversas enfermedades cardiovasculares, observándose un índice de estrés oxidativo de 1.54%, incrementando el riesgo de sufrir un infarto al miocardio.
8. El sobrepeso está presente en el 100% de los pacientes estudiados, esto es debe a la inactividad física y hábitos alimenticios.

## XI. RECOMENDACIONES

1. El número de muestra fue muy reducido para obtener resultados con mayor significancia, ya que para obtener un 100% de especificidad, se deberá obtener un mayor número de muestras que sea significativo para la población real que asiste a la Clínica de la Liga Guatemalteca del Corazón. El análisis estadístico realizado por el método POR, muestra asociaciones significativas. Sin embargo, la magnitud del número de muestra fue insuficiente, debido a esto es necesario ampliar en número de muestra, para un posterior estudio.
2. Es importante resaltar la divulgación del estudio, para que se tome en cuenta la importancia de la cuantificación de los niveles eritrocitarios de la enzima *Superóxido Dismutasa* como *índice de estrés oxidativo*, para la prevención de diversas condiciones patológicas, y de realizar más estudios acerca del tema.

## XII. REFERENCIAS

01. Informes de un grupo de Estudio de OMS. *Epidemiología y Prevención de las Enfermedades Cardiovasculares en los Ancianos*. Ginebra: Organización Mundial de la Salud, 1995. 66p. (p.1-31).
02. Indicadores Situación de la Salud Pública y Asistencia Social. de *Memoria Anual, Sistema de Información Gerencial de Salud (SIGSA)*. Guatemala: Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, Mayo 1999. 300p. (p.4) y Julio 2000. 335p. (p.3).
03. Yucel, D. *et. al. Increase Oxidative Stress in Dilated Cardiomyopathic Heart Failure*. Clin. Chem. 1998; 44(1): 148-154.
04. Gutteridge, J., M.C. *Lipid Peroxidation and Antioxidants as Biomarkers of Tissue Damage*. 1995; 41(12): 1819-1828.
05. McLauchaln, WR. *et. al. Measurement of the Total Antioxidant Activity of Human Aqueous Humor*. Clin Chem. 1998; 44(4): 888-889.
06. Ordoñez Fernández, A. *et. al. Neutralización Fisiológica y espontánea de la "Explosión" de Radicales libres de oxígeno tras la Reperusión miocárdica*. Clin. Chem. 1995; 4(10): 9-15.
07. Fraga, CB. *et. al. Vitaminas Antioxidantes: Bioquímica, Nutrición y Participación en la Prevención de ciertas Patologías*. BEB. 1996; 14(1): 12-17.
08. García Piñeiro, J.C. *et. al. Radicales Libres: Impacto Médico*. BEB. 1994; 13(3): 77-81.
09. Centella de Piña, M. *et. al. Toxicidad del Oxígeno: Papel de los Radicales Libres en la Peroxidación de los Lípidos*. BEB. 1994; 13(3): 87-93.
10. Rock, CL. *et. al. Racial Group Differences in Plasma Concentrations of Antioxidant Vitamins and Carotenoids in Hemodialysis Patients*. Am J. Nutr. 1997; 65: 844-850.
11. Vasankari, TJ. *et. al. Increased Serum and Low-Density-Lipoprotein Antioxidant Potential after Antioxidant Supplementation in endurance athletes*. Am J. Nutr. 1997; 65:1052-1056.
12. Pérez Plaza, I. *et. al. Control de la Colesterolemia en España, 2000: Un instrumento para Prevención Cardiovascular*. Rev. Esp. Cardiol. 2000; 53:815-837.

13. Vermejo, J. *et. al. Manejo de la Aterosclerosis en fase Crónica.* Arc. Inst. Card. Mex. 2000; 70:83-90.
14. Pérez-Mendez, O. *et. al. Concentraciones bajas de Lipoproteínas de alta densidad (HDL) en plasma y enfermedad arterial coronaria.* Arc. Inst. Card. Mex. 2000; 70:312-321.
15. Pont, IE. *Peroxidation of Lipid Emulsions: Effects of Changes in Fatty Acid Pattern and alfa-tocopherol Content on the Sensitivity to Peroxidative Damage.* Clin Nutr. 1999; 18(1): 113-116.
16. Halliwell, B. *et. al. Free Radicals, Antioxidants, and Human Disease: Where are we now?* 1992. 119(6); 598-620.
17. Miller, NJ. *et. al. Antioxidant Activity of Resveratrol In Red Wine.* Clin Chem. 1995;41(12):1789.
18. Majem, L. *et. al. Nutrición y Salud Pública.* Barcelona, España: Editorial Masson S.A., 1995. 401p. (p.203-207+353-358).
19. Galiñanes, M. *et. al. PEG,SOD and Myocardial Protection, Studies the blood-and crystalloid perfuse rabbit and rat hearts.* Circulation. 1992: 86(2); 672.
20. Ziegler, EE. *et. al. Conocimientos Actuales sobre Nutrición.* 7ª Ed. Washington, D.C. 2003 EUA: Publicación Científica No. 565., 1997. 731p. (p. 139-144+155-167+312-325+328-340+357-365+636-644).
21. Claude Bennett, J. *et. al. Tratado de Medicina Interna.* 20ª Ed. México D. F.: Editorial McGraw-Hill. Editorial Interamericana. S. A. de C. V., 1997. 2908p. (p. 16-18+31-32).
22. Warner, A. *et. al. Prognostic Role of Antioxidant Enzymes in Sepsis: Preliminary Assessment.* Clin Chem. 1995; 41(6): 867-871.
23. Davidson, VL. *et. al. Apparent Oxygen-Dependent Inhibition by Superoxide Dismatase of the Quinoprotein Methanol Deshidrogenase.* Biochemistry. 1992; 31:1504-1508.
24. Gordon, MH., Kurimská, L. *Effects of Antioxidats on losses of tocopherols during deep-fat frying.* Food Chemistry. 1995; 52:175-177.
25. Contran, R. *et. al. Patología Estructural y Funcional.* México D.F: Editorial Interamericana McGraw-Hill. 1990. 1598p. (p. 10-13).



26. Bohinski, R. *et. al.* ***Bioquímica***. 5ª. Ed. México D.F.: Editorial Addison-Wesly Iberoamericana S. A., 1991. 739p. (p.597-599).
27. Cao, G. *et. al.* ***Comparison of different Analytical Methods For Assessing Total Antioxidant Capacity of Human Serum***. *Clin Chem*. 1998;44(6): 1309-1315.
28. Halliwell, B. ***Reactive Oxygen Species in Living Systems: Source, Biochemistry, and Role in Human Disease***. *Am J. Med*. 1991; 91: 14-22.
29. Mei, G. *et. al.* ***Denaturation of Human Cu/Zn Superoxide Dismutase by Guanidine Hydrochloride: a Dynamic Fluorescence Study***. *Biochemistry*. 1992; 31:7224-7230.
30. Lehninger, AL. *et. al.* ***Bioquímica, Las Bases Moleculares de la Estructura y Función Celular***. 2da. Ed. Barcelona, España: Editorial Ediciones Omega S. A., 1984. 1117p. (p.514)
31. Pbcu Calderon, R. ***"Free Radicals and Oxidation Phenomena in Biological Systems"***. Marcel Dekker, Inc. New York. 1955.
32. Murray, RK. *et. al.* ***Bioquímica de Harper***. 13ª Ed. México D.F. : Editorial Manual Moderno S. A. de C. V. 1994. 798p. (p.130-131+827-828).
33. Ganong, WF. *et. al.* ***Fisiología Médica***. México D.F. : Editorial Manual Moderno S. A. de C. V., 1996.1598p. (p.574).
34. Guardias Masso'n, J., Rodes Teixidos, J. ***Medicina Interna***. Barcelona, España: Editorial Masson S. A., 1997. Tomo I y II. 3676p. (p.2913-2914).
35. Delmas Beauvieux, MC. *et. al.* ***The Enzymatic Antioxidant System in Blood and Glutathione Status in Human Immunodeficiency virus (HIV)-infected patients: effects of Supplementation with Selenium or beta-carotene***. *Am j. Nutr*. 1997; 65:101-107.
36. Khaw, KT. *et. al.* ***Interrelation of Vitamin C, Infection, Haemostatic Factors, and Cardiovascular Disease***. *BMJ*. 1995; 14(1): 12-17.
37. Gale, CR. *et. al.* ***Vitamin C and Risk of Stroke and Coronary Heart Disease en Cohort of Elderly People***. *BJMA*. 1995; 310: 1563-1566.
38. Bulpitt, C. ***Vitamin C and Vascular Disease: Be Cautious About the Association Until Large Randomized Trials Have been Done***. *BMJ*. 1995; 310: 1548-1549.

39. Ms C. McCusker, Randox Laboratories Ltd. U.K. *Antioxidants: Radical Approaches to Disease Prevention*. Free Radical Seminars, International Congress of Clinical Chemistry, 1993.
40. Randox Laboratories Ltd. *RANSOD - A fast, easy to use method for superoxide dismutase (SOD) analysis*. Revised 20/09/00.