

Centro de Investigaciones Biomédicas "Victoria de Girón"
Facultad de Ciencias Médicas de Las Tunas

ESTADO ANTIOXIDANTE E INDICADORES DE DAÑO OXIDATIVO DE UNA POBLACIÓN DE ANCIANOS DE LAS TUNAS

*Dr. Elio Cruz Manzano, Dra. Ela Céspedes Miranda, Dr. José Carlos García Piñeiro, Lic. Esley Sánchez Domínguez,
Lic. María del Carmen Paredes Pérez y Dra. Dayne Álvarez Ramírez*

RESUMEN

Se estudiaron 24 hombres y 28 mujeres con edades comprendidas entre 60 y 91 años, con el objetivo de evaluar el estado antioxidante y los indicadores de daño oxidativo de una población de ancianos de Las Tunas. En el suero sanguíneo se determinó la concentración de los antioxidantes no enzimáticos: vitamina A, b caroteno, vitamina E y vitamina C, así como del zinc, la actividad de las enzimas antioxidantes superóxido dismutasa y catalasa y la concentración de los indicadores de daño oxidativo, malondialdehído y proteínas oxidadas. Con excepción de la vitamina C y del zinc para la población total y las mujeres, los demás indicadores antioxidantes se encuentran en el rango reportado como normal. El estado de la vitamina C y del zinc es deficiente en un elevado porcentaje de los individuos; en tanto que la actividad de las enzimas antioxidantes resulta ser superior en relación con adultos mayores, sin embargo la concentración de los indicadores de daño oxidativo se encuentra dentro de los límites normales, lo que pudiera ser indicativo de un estrés oxidativo compensado.

Palabras clave: Estrés oxidativo; ancianos; vitamina A, caroteno, vitamina E, vitamina C, superóxido dismutasa, catalasa, malondialdehído, proteínas oxidadas.

La vejez y la senectud constituyen los períodos de la vida en que ocurren los procesos de la involución y se manifiestan por una disminución genérica del metabolismo. Aunque la biología del envejecimiento no está completamente explicada, la característica esencial es un descenso en la reserva homeostática.¹

Una de las teorías que trata de explicar el proceso del envejecimiento propone que los cambios que se suceden con el tiempo

ocurren por el daño oxidativo que se produce en el ADN, lípidos y proteínas que originan un desbalance a favor de un estrés metabólico capaz de influir en la expresión génica.²

El envejecimiento y particularmente las enfermedades degenerativas relacionadas con la edad están asociados con un incremento significativo del estrés oxidativo sistémico, en particular en el anciano, en los que se ha observado un bajo consumo de

antioxidantes.³ Los estudios epidemiológicos resultan necesarios para cuantificar el efecto de los antioxidantes en la senectud.

En algunos estudios se han encontrado niveles de peróxidos lipídicos más altos en ancianos supuestamente sanos en comparación con jóvenes,⁴ aunque *Ghisolfi* y otros no encontraron diferencias en ancianos mayores de 65 años en relación con adultos jóvenes.⁵

No existen estudios en poblaciones de ancianos en Cuba, en particular en la provincia de Las Tunas, por lo que en este trabajo se evalúa la concentración sérica de indicadores de defensa antioxidante y de daño oxidativo.

MÉTODOS

El estudio fue realizado en 52 individuos (24 hombres y 28 mujeres), con edades comprendidas entre 60 y 91 años, pertenecientes a un consultorio médico de familia sin complicaciones psicológicas ni enfermedades agudas y que aceptaron participar voluntariamente en el ensayo. De los hombres, 37,5 % y de las mujeres 14,2 % eran fumadores. El diseño fue aprobado por el Comité de ética del Grupo de Geriátrica y realizado según las normas establecidas en la Convención de Helsinki.

PROCEDIMIENTOS

Se tomaron 20 mL de sangre por punción venosa después de un ayuno de 12 h. El suero fue separado por centrifugación, congelado a -20 °C y transportado en cámara refrigerada vía aérea hasta Ciudad de La Habana.

Se determinó la concentración de antioxidantes no enzimáticos: vitaminas A y E, mediante cromatografía líquida de alta presión,⁶ el β -caroteno, mediante la saponificación de los ésteres de retinol y la

separación del retinol y los carotenoides con n- heptano,⁷ la vitamina C, mediante el método colorimétrico de la dinitrofenilhidracina,⁸ el zinc, mediante espectrofotometría de absorción atómica (PU9100X).

Se determinó la actividad de las enzimas antioxidantes superóxido dismutasa, mediante el método cinético basado en la inhibición del pirogalol,⁷ y la catalasa, mediante el método cinético basado en la transformación del peróxido de hidrógeno a 240 nm.⁷

De los indicadores de daño oxidativo se determinó la concentración de productos reactivos al ácido tiobarbitúrico (TBARs), método basado en la reacción del ácido tiobarbitúrico con peróxidos lipídicos que genera un pigmento rojo,⁷ y proteínas oxidadas, mediante la detección de grupos carbonilos como resultado de la oxidación de las cadenas laterales de algunos aminoácidos.⁷

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó mediante el paquete estadístico ESTADÍSTICA for Windows, versión 4.2. Se realizó análisis de varianza teniendo en cuenta los efectos del sexo. Las medias fueron comparadas utilizando la prueba de Fisher. El nivel de significación se fijó en 5 %.

La normalidad en la distribución de los datos fue comprobada mediante la prueba de Kolmogorov/Smirnov y la prueba de Bartlett para probar la homogeneidad de varianzas.

RESULTADOS

En la tabla 1 se presentan las medias y desviaciones estándar de las concentraciones séricas de antioxidantes no enzimáticos. Los valores de los indicadores se encuentran dentro de los considerados como normales, con excepción de los encontrados

para el caso de la vitamina C y de zinc para la población total y para las mujeres. Se observan diferencias estadísticamente significativas para los niveles séricos de vitaminas A y E por sexo ($p < 0,05$), con predominio de mayor concentración de vitamina A en los ancianos del sexo masculino ($2,47 \pm 0,64$ vs. $1,97 \pm 0,45$ mM) y de mayor concentración de vitamina E en los del sexo femenino ($26,68 \pm 12,18$ vs. $21,83 \pm 6,75$ mM).

En la tabla 2 se presentan los resultados de la evaluación por criterios de riesgo de la concentración sérica de antioxidantes. Como se puede observar 5,7 % de la población estudiada presentó concentraciones de vitamina A que representan riesgo moderado y 94,2 % concentraciones de bajo riesgo. Con respecto a b-carotenos, solo 1,9 % de la población presentó concentraciones consideradas como de riesgo moderado y 90,1 % de bajo riesgo.

En relación con la vitamina C solo 28,5 % de los sujetos tenían valores aceptables, mientras que 32,6 % era de alto riesgo y en el caso de la vitamina E, solo 2 % fue considerado de alto riesgo.

Los ancianos constituyen uno de los grupos más susceptibles a los estados de deficiencia de zinc, lo que se observa en 46 % de los sujetos estudiados.

La media de la concentración sérica de productos reactivos al ácido tiobarbitúrico (TBARs) en los ancianos estudiados se encuentra dentro de límites normales, no existiendo diferencias por sexo. Resultados similares se encuentran cuando se analizan las proteínas oxidadas (fig. 1). La actividad de las enzimas superóxido dismutasa y catalasa resulta ser superior en relación con adultos mayores, en particular esta última que se observa más elevada en las mujeres (fig. 2).

Tabla 1. Concentración sérica de antioxidantes en adultos mayores de 60 años atendidos en un consultorio médico de familia. Provincia Las Tunas

	Total		Hombres		Mujeres	
	n	Media \pm DE	n	Media \pm DE	n	Media \pm DE
Vitamina A	52	2,20 \pm 0,60	24	2,47 \pm 0,64 ^a	28	1,97 \pm 0,45
b-caroteno	51	1,24 \pm 0,48	23	1,33 \pm 0,50	28	1,16 \pm 0,45
Vitamina E	50	24,35 \pm 10,15	24	21,83 \pm 6,75 ^b	26	26,68 \pm 12,18
Vitamina C	49	14,46 \pm 5,77	21	14,59 \pm 5,94	28	14,37 \pm 5,76
Zinc	50	9,91 \pm 1,91	23	10,12 \pm 1,79	27	9,73 \pm 2,02

a,b representan diferencias significativas ($p < 0,05$) según prueba de Fisher.

Tabla 2. Evaluación de la concentración de antioxidantes por criterios de riesgo en adultos mayores de 60 años atendidos en un consultorio médico de familia

Indicador (mM)	Alto riesgo		Moderado riesgo		Bajo riesgo	
	Criterio	n (%)	Criterio	n (%)	Criterio	n (%)
Vitamina A	< 1,05	0 (0)	1,05 - 1,39	3 (5,7)	> 1,39	49 (94,2)
b-caroteno	< 0,37	1 (1,9)	0,37 - 0,75	4 (7,6)	> 0,75	46 (90,1)
Vitamina E	< 11,6	1 (2)	11,6 - 16,24	9 (18)	> 16,24	40 (80)
Vitamina C	< 11,35	16 (32,6)	11,35 - 17,03	19 (38,7)	> 17,03	14 (28,5)
Zinc	< 10,0	23 (46)			> 1,0	27 (54)

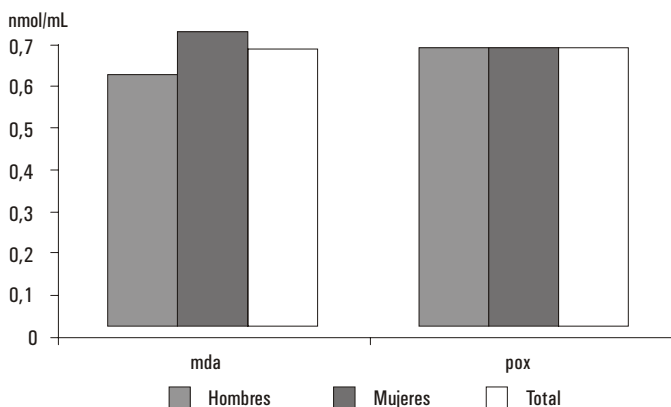


Fig.1. Proteínas oxidadas.

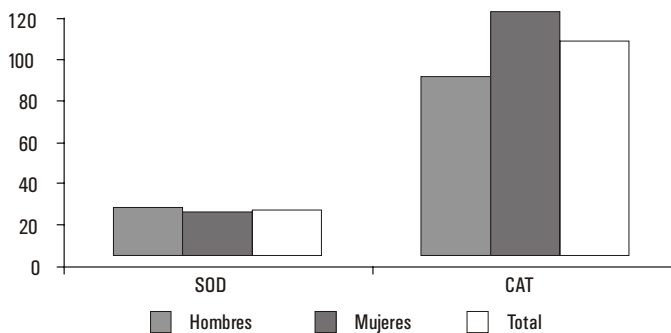


Fig.2. Actividad de las enzimas superóxido dismutasa y catalasa.

DISCUSIÓN

La mayoría de los indicadores antioxidantes estudiados se encuentra en el rango reportado como normal. En particular diferencias genéricas en los niveles séricos de vitamina E a favor del sexo femenino han sido encontrados por otros autores.^{9,10} Los resultados del presente trabajo pudieran estar relacionados con un mejor consumo de vitamina E por las mujeres y de vitamina A por los hombres. Se ha planteado que la disminución en el consumo de la vitamina E y algunas enfermedades son los factores más importantes en la reducción de esta vitamina en los ancianos.¹¹

La mayoría de los ancianos estudiados (71,3 %) presentó concentraciones séricas de vitamina C consideradas de riesgo alto o moderado. La acción de esta vitamina hidrosoluble puede disminuir por oxidación, producto de la cocción de los alimentos que la contienen o por su acción como antioxidante, participando en la regeneración de la vitamina E,¹² como es de suponer si se tiene en cuenta que 80 % de los ancianos están en bajo riesgo, como puede observarse en la tabla 2.

El sexo no tuvo un efecto significativo en la concentración sérica de los indicadores de estrés oxidativo. Las concentraciones de TBARs encontradas en este estudio son in-

feriores a las reportadas en otros trabajos realizados con adultos mayores aparentemente sanos,^{5,13} y algo superiores a las informadas por *Pauliso*, en personas con edades entre 70-99 años y en centenarios saludables.¹⁴ Se observa una tendencia al aumento en las mujeres de esta edad, tal y como ha sido referido por algunos autores.^{13,15} Los niveles de proteínas oxidadas medidos por el contenido de grupos carbonilos se encontraron en el rango de valores reportados para sueros normales.¹⁶ Un incremento en la formación de grupos carbonilo ha sido detectado en el envejecimiento, e incluso su acumulación relacio-

nada con la disminución de la actividad de las enzimas antioxidantes.^{16,17} La actividad de la SOD no difiere por sexo, mientras que la de la catalasa tiende a incrementarse en las mujeres, probablemente en correspondencia con la tendencia al aumento de TBARs.

Los resultados encontrados en este estudio acerca de los indicadores de daño oxidativo se corresponden con los de los indicadores de las defensas antioxidantes, lo que pudiera ser indicativo de un estrés oxidativo compensado en la población estudiada.

SUMMARY

Twenty four men and twenty eight females aged 60 to 91 years were studied to evaluate the antioxidant status and the oxidative damage indicators of an elderly population in Las Tunas province. Concentration in blood serum of non enzymatic antioxidants such as vitamin A, β carotene, vitamin E, vitamin C, and zinc; the activity of antioxidant enzymes superoxide dismutase and catalase as well as concentration of indicators of oxidative damage, malondialdehyde and oxidized proteins were determined. Except for vitamin C and zinc for the whole population and the females respectively, the rest of antioxidant indicators are within the reported normal ranges. The states of Vitamin C and zinc are deficient in a high percentage of individuals whereas the activity of antioxidant enzymes is higher in older adults. However, the concentration of oxidative damage indicators are within the normal limits, which may indicate compensated oxidative stress.

Key words: Oxidative stress, elderly; vitamin A, carotene, vitamin E, vitamin C, superoxide dismutase, catalase, malondialdehyde, oxidized proteins.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Holgado M, González JM, De Luis, Macías NJF. Teorías sobre el envejecimiento: revisión. Rev. Esp. De Geriátria y Gerontología. 1994; 29(2): 84-92.
2. Sohal RS. The free radical hypothesis of aging: an appraisal of the current status. Aging Clin Exp Res 1993;5:3-17.
3. Diplock AT, Charleux JL, Grozier-Willi GFJ, Rice-Evans C, Roberfroid M, Stahl W, et al. Functional food science and defence against reactive oxidative species. Br J Nutr 1998;80(Suppl 1):77-82.
4. Ley PJ, Vega GME, Simón CR, Rodríguez FMM, García MJR, Valverde GS. Flujo arterial cerebral y peróxidos lipídicos en el envejecimiento. Rev Esp Geriatr Gerontol 1994;29(2):67-72.
5. Ghisolfi-Marque A, Boyer MJ, Vellas B, Thouvenot J, Albareda JL & Ghisolfi J. Free radical production, lipoperoxidation and aging in humans. Nutr Clin Metabol 1996;10:151-60.
6. Thurnham DI, Smith E, Flora SP. Current liquid chromatographic assay of retinol, α tocopherol, α carotene, β carotene and β cryptoxanthin in plasma with tocopherol acetate as internal standard. Clin Chem 1988;34(2):377-81.
7. Procedimientos Normativos Operacionales (PNO). División Estrés Oxidativo. Centro de Investigaciones Biomédicas. 1996.

8. Interdepartmental Committee on Nutrition for National Defense (ICNND Serum vitamin C (ascorbic acid) – Dinitrophenylhydrazine method. Manual for nutrition surveys.). Washington DC: Gort Print Office; 1963. p.117.
9. Bates CJ, Prentice A, Finch S. Gender differences in food and nutrient intakes indices from the National Diet and Nutrition Survey of People aged 65 years and over. *Eur J Clin Nutr* 1999;53:694-699.
10. Pita G, Macías C, Pérez A, Serrano G, Rebozo J. Evaluación nutricional de un grupo de adultos mayores en un consultorio médico de familia. *Rev Cubana Aliment Nutr* 1999;13(2):91-7.
11. Campbell D, Bunker VW, Thomas AJ, Clayton BE. Selenium and vitamin E status of healthy and institutionalized elderly subjects: analysis of plasma, erythrocytes and platelets. *Br J Nutr* 1989;62:221-7.
12. Jacques PF, Halpner AD, Blumberg JB. Influence of combined antioxidant nutrient intakes on their plasma concentration in an elderly population. *Am J Clin Nutr* 1995;62:1228-33.
13. Coudray C, Roussel A. M, Arnaud J, Favier A. Selenium and antioxidant vitamin and lipoperoxidation levels in preaging French population. *Biol Trace Elem Res* 1997;57(2):183-90.
14. Paulisso G, Tugliamonte MR, Rizzo MR, Manzella D, Gambardella A, Vatricchio M. Oxidative stress and advancing age: results in healthy centenarians. *J Am Geriatr Soc* 1998;(7):833-838.
15. Miguel J, Ramírez-Bosca A, Soler A, Diez A, Carrion-Gutiérrez MA, Diaz Alperi J, et al. Increase with age of serum lipid peroxides: implications for prevention of atherosclerosis. *Mech Ageing Dev* 1995;100(1):17-24.
16. Reznick AZ, Packer L. Oxidative damage to proteins : Spectrophotometric Method for carbonyl assay. *Methods in Enzymology*, Vol. 23. Copuright by Academic Press Inc. 1994.
17. Tian L, Cai Q, Wei H. Alterations of antioxidant enzymes and oxidative damage to macromolecules in different organs of rats during aging. *Free Rad Biol Med* 1998;24(9):1477-84.

Recibido: 26 de marzo de 2003. Aprobado: 11 de noviembre de 2003.

Dr. *Elio Cruz Manzano*. Facultad de Ciencias Médicas Las Tunas. Ave Carlos J. Finlay s/n.CP 75100. Teléf. 48015.