



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

ESCUELA SUPERIOR DE MEDICINA
SECCIÓN DE INVESTIGACIÓN EN ESTUDIOS DE
POSGRADO



**Estado oxidante-antioxidante en eritrocitos de pacientes con
Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica. “Efecto de
contaminantes de la Atmósfera Material Particulado 2.5”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTOR EN INVESTIGACIÓN EN MEDICINA.

P R E S E N T A :

M en C. YESSICA DORIN TORRES RAMOS

Directores de Tesis: Ivonne María Olivares Corichi

Juan José Hicks Gómez



MÉXICO, D. F, 2011



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

CARTA CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de México el día 8 del mes octubre del año 2010, la que suscribe Torres Ramos Yessica Dorin del Programa de Doctorado en Ciencias en Investigación en Medicina con número de registro B061714, adscrita a Escuela Superior de Medicina, manifiesta que es autora intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección de la Dra. Ivonne María Olivares Corichi y el Dr. Juan José Hicks Gómez y cede los derechos del trabajo intitulado "Estado oxidante-antioxidante en eritrocitos de pacientes con Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica. Efecto de contaminantes de la Atmósfera Material Particulado 2.5", al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección toye_dorin@yahoo.com.mx Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

M. en C. Yessica Dorin Torres Ramos
Nombre y firma

Esta tesis se realizó en:

En el laboratorio de Bioquímica Inorgánica, del Departamento de Bioquímica y Medicina Ambiental. Unidad de Investigación del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias."ISMAEL COSIO VILLEGAS". México. D.F

Con el apoyo del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT).

1.- Beca Doctorado: Registro 165040

**Con el apoyo de la Beca Institucional de la Escuela Superior de Medicina
del Instituto Politécnico Nacional**

ÍNDICE

Título	Pág
I. Glosario	2
II. Relación de figuras	3
III. Relación de tablas	4
IV. Relación de gráficas	5
V. Resumen	6
VI. Abstract	7
1. INTRODUCCIÓN	8
1.1 RADICALES LIBRES (RL)	8
1.1.1 <i>Mecanismos de formación de RL</i>	8
1.2 ESPECIES REACTIVAS DERIVADAS DEL OXÍGENO (ERO) Y/O ESPECIES REACTIVAS DE OXIDOS DE NITROGENO (ERON)	9
1.2.1 <i>Oxígeno molecular (O₂)</i>	9
1.2.2 <i>Singulete de oxígeno (¹O₂[•])</i>	10
1.2.3 <i>Anión superóxido (O₂^{•-})</i>	10
1.2.4 <i>Peróxido de hidrógeno (H₂O₂)</i>	10
1.2.5 <i>Radical hidroxilo (HO[•]) y óxido nítrico (NO[•])</i>	12
1.2.6 <i>Ozono (O₃)</i>	13
1.3 ANTIOXIDANTES	13
1.3.1 <i>Antioxidantes enzimáticos</i>	14
1.3.1.1 <u>Superóxido dismutasa (SOD)</u>	14
1.3.1.2 <u>Catalasa (CAT)</u>	15

1.3.1.3 <u>Glutati3n peroxidasa (GSH-Px)</u>	15
1.3.1.4 <u>Paraoxonasa (esterasa-A)</u>	16
1.3.2 <i>Antioxidantes no enzimáticos</i>	17
1.4 ESTRÉS OXIDANTE	17
1.4.1 <i>Adaptaci3n al estr3s oxidante</i>	18
1.4.2 <i>Estr3s oxidante agudo</i>	18
1.4.3 <i>Estr3s oxidante cr3nico</i>	18
1.5 DAÑO A BIOMOL3CULAS	18
1.5.1 <i>Peroxidaci3n de l3pidos</i>	18
1.5.2 <i>Oxidaci3n de prote3nas</i>	21
1.5.3 <i>Oxidaci3n de ácidos nucleicos y nucle3tidos</i>	22
1.6 ENFERMEDAD PULMONAR OBSTRUCTIVA CR3NICA	22
1.6.1 <i>Epidemiolog3a de la EPOC en M3xico.</i>	22
1.6.2 <i>Definici3n de la EPOC</i>	23
1.6.3 <i>Clasificaci3n de la EPOC</i>	23
1.6.4 <i>Factores de riesgo para padecer EPOC</i>	24
1.6.4.1 <u>Tabaquismo</u>	24
1.6.4.2 <u>Humo de leña</u>	24
1.6.4.3 <u>Exposici3n laboral</u>	24
1.6.4.4 <u>Contaminaci3n ambiental</u>	24
1.7 EFECTOS DE LA CONTAMINACI3N ATMOSFERICA	24
1.7.1 <i>Contaminantes de la atmosfera</i>	25
1.7.1.1 <u>Material Particulado</u>	25
1.8 EFECTO DE LAS PARTÍCULAS EN EL PULM3N	27

1.8.1	<i>Células inflamatorias circulantes</i>	28
1.9	HIPOXIA TISULAR	30
1.9.1	<i>Disfunción del músculo esquelético.</i>	31
1.9.2	<i>Mecanismos de compensación de la EPOC a la hipoxemia</i>	32
1.10	ERITROCITO	32
1.10.1	<i>Vías metabólicas utilizadas por el eritrocito.</i>	33
1.10.1.1	<u>Glucólisis</u>	33
1.10.1.2	<u>Ciclo de las pentosas</u>	34
1.10.1.3	<u>Vía de la hemoglobina reductasa</u>	34
1.10.1.4	<u>Ciclo de Rapoport-Luebering</u>	35
1.10.2	<i>Estructura de la membrana del eritrocito</i>	37
1.10.3	<i>Proteínas Banda 3</i>	38
1.10.4	Actividad de Fosfotirosina Fosfatasa	41
1.10.5	Alteraciones biológicas en los eritrocitos	44
2.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	45
3.	HIPOTESIS	46
4.	OBJETIVOS	47
4.1	OBJETIVO GENERALES	47
4.2	OBJETIVOS PARTICULARES	47
5.	MATERIAL Y MÉTODOS	48
5.1	CONSIDERACIONES ÉTICAS	48
5.2	TIPO DE ESTUDIO	48

5.3 TAMAÑO DE LA MUESTRA	49
5.4 CRITERIOS DE SELECCIÓN	50
5.4.1 <i>Criterios de inclusión</i> para pacientes con EPOC	50
5.4.2 <i>Criterios de eliminación</i> para pacientes con EPOC.	50
5.4.3 <i>Criterios de inclusión para el grupo control</i>	50
5.4.4 <i>Criterios de eliminación para el grupo control</i>	50
5.5 SEPARACIÓN DEL PAQUETE DE ERITROCITOS	51
5.6 LAVADO DE ERITROCITOS	51
5.7 OBTENCIÓN DE MEMBRANAS DE ERITROCITO	52
5.8 BIOMARCADORES DE DAÑO A LIPIDOS	53
5.8.1 Determinación de Dienos conjugados	53
5.8.2 Determinación de Hidroperóxidos	54
5.8.3 Determinación del Malondialdehído	55
5.9 BIOMARCADOR DE DAÑO A PROTEÍNAS	55
5.9.1 Carbonilación de proteínas	55
5.10 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE LA FOSFOTIROSINA FOSFATASA.	56
5.11 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE LA GLUCOSA-6-FOSFATO DESHIDROGENASA	57
5.12 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMATICA DE PARAOXONASA	57
5.13 VALORACIÓN ESTADÍSTICA	58
6. RESULTADOS	59
6.1 DATOS DEMOGRÁFICAS	59
6.2 BIOMETRIA HEMÁTICA	59

6.3 PERFIL DE LÍPIDOS	60
6.4. PARAMETROS BIOQUIMICOS DETERMINADOS EN PLASMA	62
6.5 PARAMETROS BIOQUIMICOS DETERMINADOS EN MEMBRANAS DE ERITROCITO.	65
6.6 CARACTERÍSTICAS DE LAS PM	67
6.7 CUANTIFICACIÓN DE MARCADORES DE EO EN ERITROCITOS EXPUESTOS A PM	70
7. DISCUSIÓN	78
8. CONCLUSIONES	87

I. Glosario

NO^\bullet	Óxido nítrico
HO^\bullet	Radical Hidroxilo
$^1\text{O}_2$	Singulete de oxígeno
CAT	Catalasa
DNPH	2,4-Dinitrofenilhidrazina
ERO	Especies reactivas de oxígeno
GOLD	Iniciativa global para la enfermedad pulmonar obstructiva crónica
GSH	Glutation reducido
GSH-Px	Glutation Peroxidasa
H_2O_2	Peróxido de Hidrógeno
$\text{O}_2^{\bullet-}$	Anión superóxido
ONOO^-	Peroxinitrito
MDA	Malondialdehído
PON-1	Paraoxonasa.
RL	Radicales Libres
SOD	Superóxido Dismutasa
TCA	Ácido tricloroacético
LPx	Lipoperoxidación
PCR	Proteína C reactiva
FEV_1	Volumen espiratorio forzado en el primer segundo
FVC	Capacidad vital forzada
PM	Material Particulado
PTPasa	Fosfotirosina Fosfatasa
AE-1	Intercambiador Aniónico
LPH	Lipohidroperoxidos
G6PD	Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa
S5P8	Solución 5mM pH 8.0

II. Relación de Figuras

Figura 1. Molécula de HDL

Figura 2. Fase de Iniciación en el proceso de lipoperoxidación

Figura 3. Fase de Propagación en el proceso de lipoperoxidación

Figura 4. Fase de Terminación en el proceso de lipoperoxidación.

Figura 5. Microscopia electrónica de reflexión de superficie de Material Particulado (PM)

Figura 6. Vías metabólicas del eritrocito involucradas para mantener su capacidad antioxidante.

Figura 7. Vía de síntesis y degradación de 2,3-bisfosfoglicerato en eritrocitos

Figura 8. Estructura de la membrana del eritrocito

Figura 9. Intercambio aniónico por la banda 3

Figura 10. Extrusión del CO₂

Figura 11. Fotomicrografía de partículas contaminantes

Figura 12. Fotomicrografía de partículas contaminantes

III. Relación de Tablas

Tabla 1. Clasificación clínica funcional de la EPOC

Tabla 2. Alteraciones biológicas en los eritrocitos de pacientes con EPOC debido al estrés oxidativo

Tabla 3 Características Demográficas y de Función Pulmonar

Tabla 4. Biometría hemática

Tabla 5. Perfil de Lípidos

Tabla 6. Caracterización de las PM₁₀ (fracción fina <2.5)

IV. Relación de Gráficas

Gráfica 1. Determinación plasmática de (A) Lipohidroperoxidos, (B) Malondiladehido MDA y (C) carbonilación de peroteínas, en pacientes con EPOC en sus diferentes estadios comparados con el grupo control.

Gráfica 2. (A) Actividad de paraoxonasa en los diferentes estadios de la EPOC, comparados con el grupo control, y su correlación con la carbonilación de proteínas (B) y con la concentración de LPH.

Gráfica 3. Cuantificación de (A) Dienes conjugados, (B) Lipohidróperoxidos, y (C) malondialdehido MDA en membranas de eritrocitos de pacientes con EPOC en sus diferentes estadios, comparados con el grupo control.

Gráfica 4. (A) cuantificación en la carbonilación de proteínas, (B) y de la actividad enzimática de la fosfotirosina Fosfatasa en membranas de eritrocito de pacientes con EPOC en sus diferentes estadios comparados con el grupo control.

Gráfica 5. Formación de dienos conjugados (A), Lipohidroperoxidos (B), y Malandialdehído (MDA), en eritrocitos de pacientes con EPOC y del grupo control expuestos a las PM y a la reacción de Fentón

Gráfica 6. Determinación de la carbonilación en membranas de eritrocitos y su correlación con la actividad de la G6PD, antes y después de ser expuestas a PM, así como la reacción de Fentón.

Gráfica 7. Concentración de grupos SH no-proteicos (A) y su correlación con la actividad de la G6PD (B) en membranas de eritrocitos, (C) Actividad de la G6PD, comparada con dos estados de la EPOC, antes y después de la exposición con PM y con la reacción de Fentón.

Gráfica 8. Actividad enzimática de la Fosfotirosina Fosfatasa en membranas de eritrocitos de pacientes con EPOC (moderado y severo), antes y después de ser expuestos a la reacción de Fentón.

IV. Resumen.

Los pacientes con EPOC, presentan como parte de su padecimiento un aumento en la producción de especies reactivas de oxígeno/nitrógeno EROS/ERON originadas en diferentes tejidos. La generación de moléculas reactivas es concomitante a la disminución en la eficiencia de los sistemas antioxidantes, dando lugar a una condición metabólica que propicia un desequilibrio de la homeostasis oxido-reductora denominado estrés oxidativo (EO).

Como consecuencia del EO se presentan modificaciones estructurales y funcionales en prácticamente todos los sistemas celulares tejidos incluyendo a los eritrocitos en los que se presenta una disminución en su capacidad de transportar y difusión del oxígeno hacia los tejidos, ya que la hemoglobina, presenta una capacidad disminuida de oxigenación como consecuencia de la oxidación del hierro al estado ferrico (metahemoglobina). La unión del oxígeno con la hemoglobina es cooperativa y es afectada por diversos factores, como son: temperatura, pH y algunos efectores alostericos (2,3-bisfosfoglicerato). Para evitar la inactivación de la hemoglobina (Hb) debido al cambio redox, el eritrocito cuenta con una eficiente maquinaria reductora, que es un proceso que evita la oxidación de la Hb que requiere de la oxidación concertada del glutatión reducido (L- γ -glutamil-L-cisteinil-glicina GSH) a glutatión oxidado (GSSG), así como del proceso de reducción de esta última molécula que a su vez requiere de la disponibilidad del NADPH+H generado por la vía de las pentosas. Por otro lado el eritrocito necesita mantener la integridad de su membrana sustentada en la función catalítica de las proteínas que conforman la denominada banda 3; constituida por el mayor agregado de proteínas embebido en su membrana y que dada su estructura, también es susceptible de ser afectada por el estrés oxidativo durante la EPOC.

V. Abstract

The patients with COPD, present/display as she leaves from his suffering an increase in the production of reactive species of I oxygenate/nitrogen ROS/RNS originated in different weaves involved in the suffering. The reactive molecule generation is concomitant to the diminution in the efficiency of the systems antioxidants, originating a metabolic condition that causes a metabolic imbalance denominated oxidating stress. As a result of oxidating stress structural modifications appear and functional in practically all the weaves including the erythrocytes in which there is a diminution in the capacity to transport and to spread oxygen towards weaves, because the hemoglobina, presents/displays one diminished capacity of oxygenation by its change of potential redox oxidizing to the ferrous state (metahemoglobina) the union of oxygen with the hemoglobina is cooperative and is affected by diverse factors, eg: alostericos temperature, pH and some effectors (2,3-bisfosfoglicerato) to avoid the inactivity of the hemoglobina (Hb) due to the change redox, the erythrocyte counts on an efficient reducing machinery, that is a process that it avoids oxidation of the Hb and requires of the arranged oxidation of the glutati3n reduced (L- γ -glutamyl-L-cisteinyl-gycine GSH) to oxidized glutati3n (GSSG), and the process of reduction of this last molecule requires the availability of the NADPH+H generated by the way of pentoses. On the other hand the erythrocyte needs to maintain the integrity of its membrane sustained in the catalytic function of the proteins that conform denominated band 3; constituted by the added protein major shrunk in the membrane and that given its structure, also is susceptible to be affected by oxidating stress during the COPD.

1. INTRODUCCIÓN

En los últimos años se han incrementado los estudios médicos que destacan la importancia de las especies reactivas de oxígeno (ERO), que incluyen a los radicales libres (RL) del oxígeno y/o nitrógeno y a las especies moleculares precursoras de las mismos, debido a su participación en diversas enfermedades.

1.1 RADICALES LIBRES (RL)

Los orbitales atómicos son regiones del espacio que rodean a un núcleo y se consideran como zonas de probabilidad en las que pueden encontrarse los electrones. En un átomo cada orbital puede contener como máximo dos electrones, los cuales tienen tres números cuánticos iguales (n , l , m) y se diferencian en el cuarto número, que es el spin (s), correspondiente al giro. Los valores del giro son de $+\frac{1}{2}$ y de $-\frac{1}{2}$, dos electrones en el mismo orbital deben presentar giros antiparalelos (de $+\frac{1}{2}$ y $-\frac{1}{2}$). De acuerdo con el principio de exclusión de Pauli (no pueden existir en un átomo dos electrones con los cuatro números cuánticos iguales, ya que estarían en el mismo lugar en el espacio).

Los radicales libres (RL) son átomos o moléculas, que en el orbital más externo de su estructura tienen a un electrón no apareado, por lo tanto les falta otro electrón para lograr su estabilidad energética, como consecuencia, el radical tiene avidez por la captura de un electrón de cualquier molécula accesible, al incorporar a su orbital un electrón de otro átomo, ocasionando que la entidad afectada quede inestable, generando una reacción en cadena. (Bergendi et al., 1999)

La característica física del radical libre se expresa en la fórmula semidesarrollada por un punto a la derecha del compuesto, como superíndice, y puede preceder a una carga. (Olivares, et al 2006), por ejemplo: radical hidroxilo (HO^\bullet), y anión superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$).

1.1.1 Mecanismo de formación de los radicales libres

Los RL pueden formarse por tres mecanismos fundamentales:

- a) Por el rompimiento homolítico de un enlace covalente de una molécula normal. En este caso cada fragmento resultante retiene un electrón previamente apareado (de los dos que formaban el enlace).
- b) Por la pérdida de un electrón de una molécula estable.

c) Por la adición de un electrón a una molécula estable.

La fisión homolítica y la transferencia de electrones se realizan por uno de los siguientes mecanismos:

a) absorción de energía de diversos tipos, como la radiación ionizante, ultravioleta, visible y térmica.

b) por reacciones de óxido-reducción, en las que se transfieren de manera no enzimática electrones, como es el caso de reacciones en las que intervienen metales de transición como son el hierro y cobre, hacia el oxígeno contenido en moléculas estables.

c) reacciones catalizadas por enzimas, entre las que destacan la formación de óxido nítrico por la óxido nítrico sintasa, la de anión superóxido por el complejo enzimático de la membrana citoplásmica de los fagocitos, denominado NADPH oxidasa involucrada en el estallido respiratorio, así como la formación de algunas especies reactivas del oxígeno como es el caso de la formación de peróxido de hidrógeno, por la superóxido dismutasa.

1.2 PRINCIPALES ESPECIES REACTIVAS DERIVADAS DEL OXÍGENO (ERO) Y/O ESPECIES REACTIVAS DE OXIDOS DE NITRÓGENO (ERON)

1.2.1. Oxígeno molecular (O_2)

La molécula de oxígeno es considerada un birradical por el hecho de que sus electrones están distribuidos de tal forma que dos de ellos no están apareados. La toxicidad del O_2 se basa en la formación de las ERO.

Entre las principales ERO producidas de forma endógena se encuentran: singulete de oxígeno, anión superóxido, peróxido de hidrógeno, hidroxilo, y la más importante producida de forma exógena es el ozono ^(Cleeter et al., 2001).

1.2.2 Singulete de oxígeno ($^1O_2^*$)

El singulete de oxígeno ($^1O_2^*$) se forma cuando uno de los dos electrones libres del O_2 capta energía y cambia de giro. Cuando eso sucede, inmediatamente se aparea con el otro electrón libre, pero en diferente orbital (Py y Pz). Se forma, cuando algunos pigmentos biológicos se iluminan por excitación electrónica en presencia de oxígeno. El singulete tiene

gran capacidad oxidante frente a muchas moléculas biológicas, sobre todo lípidos de membrana. Se forma en cantidades importantes en tejidos y órganos sometidos a radiaciones ionizantes (Yu, 1994).

Otra fuente del singulete son los fagocitos, los cuales contienen a la enzima mieloperoxidasa (MPO), hemoproteína perteneciente a la familia de las peroxidasas, es la proteína más abundante en los neutrófilos (polimorfonucleares), durante el estallido respiratorio presenta dos actividades principales: halogenación y lipoperoxidación, en la primera, esta enzima cataliza la formación de ácido hipocloroso, que es un importante agente bactericida reactivo con diferentes moléculas incluyendo los grupos amino libres (RNH_2) para formar cloraminas.

1.2.3 Anión superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$)

El $\text{O}_2^{\bullet-}$ es el producto de la incorporación de un electrón a la molécula de oxígeno, el cual lo convierte en un radical con carga negativa.

Las principales fuentes de $\text{O}_2^{\bullet-}$ son:

- a) La reacción de varias moléculas con el oxígeno por ejemplo; la adrenalina, la dopamina, el tetrahidrofolato y citocromos.
- b) La xantina oxidasa, genera $\text{O}_2^{\bullet-}$ al reducir O_2 a H_2O durante el catabolismo de las bases púricas (Desco et al., 2002).
- c) La NADPH oxidasa, complejo enzimático inducido por los polimorfonucleares, producido durante el estallido respiratorio (aumento súbito del consumo de oxígeno), (Babior et al., 2002) cataliza la transferencia de un electrón desde el NADPH hacia el O_2 con la formación del radical superóxido, en los procesos fagocíticos (neutrófilos, monocitos, macrófagos, eosinófilos), como parte del mecanismo empleado para destruir organismos extraños, generalmente bacterias (Cohen et al., 1998).
- d) La autoxidación de la coenzima Q semireducida (ubisemiquinona) en la cadena transportadora de electrones localizada en el interior de la membrana. La mayor parte de los RL producidos por la mitocondria provienen de esta coenzima (Sohal et al., 1989).

1.2.4 Peróxido de hidrógeno (H_2O_2)

Estrictamente el H_2O_2 no es un radical libre porque no posee electrones no apareados. El H_2O_2 se forma por la dismutación del anión superóxido, catalizada por la enzima superóxido dismutasa (SOD). En medio acuoso el anión superóxido se dismuta de manera espontánea

generando H₂O₂ y oxígeno molecular. La vida media del H₂O₂ depende de la presencia o ausencia de las enzimas encargadas de removerlo del medio ^(Bannister & Rotillo, 1987), como la catalasa o la glutatión peroxidasa.

El H₂O₂ es un agente que puede difundir a través de las membranas celulares al espacio extracelular, en donde existen pocos mecanismos de defensa antioxidante y puede participar en la formación del radical hidroxilo. A pesar de no ser un radical, es de vital importancia en biología, ya que en presencia de metales de transición reducidos como cobre o hierro da lugar a la reacción de Fenton (reacción 1) con la producción del radical hidroxilo (HO•).

Reacción 1

$$\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+} \longrightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{HO}^\bullet + \text{HO}^\bullet$$

Haber, Wilatatter y Weiss describen que el HO• en presencia de H₂O₂ forma O₂•⁻ el cual, ante un exceso de peróxido de hidrógeno da lugar a la generación de una cantidad adicional de radical hidroxilo (reacción 2).

Reacción 2

$$\text{HO}^\bullet + \text{H}_2\text{O}_2 \longrightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2^{\bullet -} + \text{H}^+$$

$$\text{O}_2^{\bullet -} + \text{H}^+ + \text{H}_2\text{O}_2 \longrightarrow \text{O}_2 + \text{HO}^\bullet + \text{H}_2\text{O}$$

El conjunto de las reacciones descritas, constituye el ciclo de **Haber-Weiss** ^(Koopenol, 2001). La coexistencia del anión superóxido y de peróxido de hidrógeno, en un medio biológico que inevitablemente contienen hierro, es muy peligroso ya que el (HO•) formado, es un oxidante en extremo reactivo que interacciona con casi todas las moléculas que se encuentran en los organismos ^(Koopenol, 2001).

1.2.5 Radical hidroxilo (HO•) y óxido nítrico (NO•)

El radical hidroxilo puede formarse también al reaccionar el O₂•⁻ y el H₂O₂ en un medio biológico que contiene hierro o cobre. El HO• es un oxidante en extremo reactivo, interacciona a una velocidad muy alta con casi todas las moléculas biológicas: carbohidratos, proteínas, lípidos y ácidos nucleicos, formando entre otros productos, radicales libres de aquellas moléculas con las que reaccionó. Tiene una vida media de 10⁻⁹ seg, y también puede generarse por la ruptura homolítica del enlace oxígeno-oxígeno del peróxido de hidrógeno ^(Janssen et al., 1993).

El radical HO• también se produce por las radiaciones provenientes del medio, ya sean naturales, como las radiaciones cósmicas o del gas radón, o bien de otras fuentes creadas

por el hombre. Las radiaciones electromagnéticas con baja longitud de onda puedan romper el agua y generar radicales HO•.

Por otra parte, el O₂^{•-} puede reaccionar con el óxido nítrico (NO•), este es un RL diatómico, de vida media corta y sintetizado en los organismos vivos a partir de L-arginina por una familia de enzimas denominadas óxido nítrico sintasas (NOS) (Gow et al., 1998). Debido a que el NO• posee un electrón desapareado, es capaz de reaccionar con el oxígeno molecular (O₂) y anión superóxido (O₂^{•-}). De hecho, las reacciones del NO• con el O₂ resulta en la generación de oxidantes reactivos tales como el dióxido de nitrógeno (NO₂) y el trióxido de dinitrógeno (N₂O₃) (Albert et al., 1997). Al reaccionar el NO• con O₂^{•-} forma la especie reactiva peroxinitrito (ONOO⁻), el cual se escinde en una molécula de radical hidroxilo y una de bióxido de nitrógeno (reacción 3).

Reacción 3



En condiciones patológicas el NO• parece mediar sus efectos a través de diversas reacciones con algunas ERO para dar lugar a la formación de ERON que pueden reaccionar de manera específica e irreversible con residuos que son críticos para el funcionamiento de las enzimas de la cadena respiratoria, lo que culmina con un decaimiento en la producción de energía y de todos los procesos que dependen de ella (Cleeter et al., 2001).

1.2.6 Ozono (O₃)

A pesar de que el ozono no es producido de manera fisiológica, es una ERO proveniente de fuentes exógenas, la cual está involucrada en el desarrollo de diversas enfermedades.

La luz ultravioleta y las descargas eléctricas rompen los dos enlaces covalentes en la molécula del O₂ produciendo oxígeno atómico (O), que se combina inmediatamente con el O₂ para producir el ozono (O₃). Este gas en la estratosfera evita que la luz ultravioleta llegue a la superficie terrestre, impidiendo el daño a los organismos por este tipo de radiación. Sin embargo, el O₃ también se puede generar a nivel de la superficie terrestre por efecto de la luz sobre el dióxido de nitrógeno (NO₂). Esta molécula se genera por la combustión de la materia orgánica, principalmente en los automotores y en presencia de algunos hidrocarburos contaminantes de la atmósfera.

El NO₂ se descompone en NO y O y este último reacciona con el O₂ para formar el O₃, que a su vez puede reaccionar con biomoléculas como son los lípidos y las proteínas, e incluso adicionalmente puede generar otras especies reactivas.

La exposición a altas concentraciones de NO₂ y O₃ provoca daños en el epitelio respiratorio humano, e induce la liberación de diversas moléculas proinflamatorias que incrementan la permeabilidad endotelial, influjo de neutrófilos en el espacio alveolar y daño de las células alveolares afectando su función, incluso llega a constituir barreras en los sacos alveolares, en la interacción aire-sangre. El ozono se considera un contaminante urbano del aire, ejerciendo su efecto en las vías respiratorias, por lo general junto con partículas contaminantes (PM).

Para contrarrestar el efecto de los oxidantes el organismo cuenta con sistemas antioxidantes.

1.3 ANTIOXIDANTES

Los antioxidantes son los sistemas reguladores de la actividad de las especies reactivas y se define como aquella sustancia que presente en concentraciones muy pequeñas comparadas con las de un sustrato oxidable, disminuye o evita la oxidación del sustrato. En bioquímica puede considerarse como un donador de electrones capaz de evitar una reacción en cadena de oxidorreducción. Los antioxidantes han sido clasificados de diferentes maneras, de las cuales la más utilizada es la que establece las diferencias de acuerdo con la estructura química y función biológica, dividiéndolos en enzimáticos y no enzimáticos.

1.3.1 Antioxidantes enzimáticos

Las defensas antioxidantes consisten primeramente en evitar la reducción univalente del oxígeno mediante sistemas enzimáticos. Este proceso lo lleva a cabo el sistema citocromo-oxidasa, que reduce más del 90% del oxígeno en el organismo humano.

Además Se ha descrito un grupo de enzimas especializadas en inactivar a las ERO por diferentes mecanismos, como es el caso de la superóxido dismutasa (SOD), la catalasa (CAT) y las glutatión peroxidasa (GSH-Px), entre otras.

1.3.1.1 Superóxido dismutasa (SOD)

Las isoenzimas de SOD son metaloenzimas que catalizan la dismutación del anión superóxido para producir oxígeno molecular y peróxido de hidrógeno. En mamíferos se han

identificado tres isoenzimas de la SOD, productos de genes diferentes (Ho et al., 1991). Una isoenzima contiene Cu y Zn (CuZnSOD) y se localiza principalmente en citoplasma de eucariotes, la SOD que contiene manganeso (MnSOD) se encuentra principalmente en las mitocondrias, mientras que la isoenzima extracelular (ECSOD) que también contiene cobre y zinc en su sitio activo se localiza en un 99% en los espacios extracelulares (Marklund et al., 1982).

Las isoenzimas que contienen cobre, catalizan la dismutación del anión superóxido a través de la oxido-reducción alternativa del cobre y la que contiene manganeso, cambia su estado de oxidación al interactuar con $O_2^{\bullet-}$ (Tainer et al., 1983).

La SOD no es considerada como una eficiente enzima desintoxicante, ya que el producto de su actividad catalítica, que es el H_2O_2 , es un agente tóxico. Sin embargo, la dismutación del $O_2^{\bullet-}$, es el primer paso de la cascada enzimática que conduce a la inactivación completa del $O_2^{\bullet-}$ formado. El segundo paso, depende de la catalasa.

1.3.1.2 Catalasa (CAT)

La CAT es una enzima antioxidante, la cual cataliza la transformación de peróxido de hidrógeno a agua (reacción 4). En mamíferos esta enzima está presente en hígado y riñón en altas concentraciones y en bajas concentraciones en tejido conectivo (Nakashima et al., 1989). En las células se ha localizado en el citosol, mitocondrias y organelos subcelulares como los peroxisomas (abundantes en las células epiteliales de túbulo proximal del riñón), mientras que en los eritrocitos la enzima existe en una forma soluble.

Reacción 4



1.3.1.3 Glutación peroxidasa (GSH-Px)

Las peroxidasas son enzimas que catalizan la reducción de H_2O_2 por diversos donadores de electrones. Se han identificado hasta ahora cuatro tipos de GSH-Pxs, todas dependientes de selenio (Hill et al., 1992).

- a) La enzima citosólica (cGSH-Px) tiene la función de almacenamiento del elemento traza en condiciones en que se presentan cantidades elevadas de H_2O_2 o hidroperóxidos de lípidos que son producidos en el citosol (Burk, 1991).

- b) La enzima plasmática (pIGSH-Px) es la responsable de la actividad de peroxidasa en el plasma, se cree que juega un papel clave en el sistema de defensa antioxidante del plasma ^(Maddipati & Marnett, 1987).
- c) La enzima gastrointestinal (gIGSH-Px), el ARNm para gIGSH-Px se ha encontrado en hígado de humano y colon, pero no en otros tejidos. En ratas el ARNm se ha detectado solo en el tracto gastrointestinal. La localización de esta isoenzima de glutatión peroxidasa sugiere que tiene un papel en la protección contra los efectos adversos de los hidroperóxidos de la dieta.
- d) La enzima de fosfolípidos (PLGSH-Px) es abundante en los testículos y puede ser regulada por gonadotropinas ^(Roveri et al., 1992). También tiene un sitio de fosforilación, el cual puede tener un papel en la regulación de la actividad de la enzima.

Las cuatro isomorfos catalizan la oxidación del glutatión reducido (GSH) a glutatión oxidado (GSSG), el cual, a su vez, es reducido por la enzima glutatión reductasa en presencia de NADPH impidiendo así que se agoten las reservas de GSH.

1.3.1.4 Paraoxonasa (esterasa A)

Existen mecanismos enzimáticos que interrumpen el proceso de lipoperoxidación de los cuales se han descrito dos familias de proteínas: las carboxilesterasas y paraoxonasas (esterasas A). A estas últimas también se les han denominado genéricamente como grupo PON, de las cuales existen un subgrupo denominado PON-1, PON-2 y PON-3, el nombre de paraoxonasa se debe al sustrato utilizado para poder cuantificarla, el paraoxón,

La paraoxonasa se encuentra asociada a las HDL (Figura 1), es dependiente de calcio y se le confieren propiedades antioxidantes sobre las LDL ^(Ferreti et al., 2001, Aviram et al., 1998). La Paraoxonasa es capaz de hidrolizar cierto número de sustratos, como el paraoxón, fenil acetato, peróxidos de lípidos esteres de colesterol, hidroperóxidos y H₂O₂, sin embargo su sustrato fisiológico es desconocido. ^(Macknes et al., 1996). La paraoxonasa realiza una actividad protectora importante para el organismo, ya que hidroliza los hidroperóxidos formados durante la lipoperoxidación de las LDL, de esa forma interrumpen la continuidad reactiva de una cadena de lipoperoxidación o daño oxidante de ácidos grasos insaturados, que se ha iniciado debido a la inducción del proceso por el radical hidroxilo.

La paraoxonasa es una enzima inducible y, en consecuencia, su actividad es mínima en individuos con dietas ricas en ácidos grasos saturados, mientras que se incrementa en

presencia de un aporte enriquecido en ácidos grasos insaturados. Se ha demostrado que la administración de vitamina E induce y aumenta su actividad.

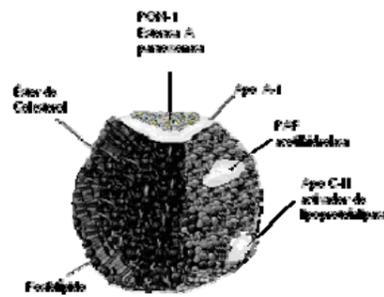


Fig. 1 Molécula de HDL. En la parte superior de la lipoproteína se representa a la Apo-I, que esta asociada a otra proteína: la enzima esterasa A (paraoxonasa).

1.3.2 Antioxidantes no enzimáticos

Los antioxidantes no enzimáticos, se pueden clasificar como endógenos (los que sintetiza el organismo) o como exógenos (los que se adquieren en la dieta).

Entre los endógenos se encuentran: el glutatión en su forma reducida (GSH), ácido úrico, bilirrubina, albúmina, etc. Y entre los endógenos se encuentran: ácido ascórbico (vitamina C) y α -tocoferol (vitamina E), algunos minerales como selenio, zinc, manganeso, estos son esenciales para la defensa contra el daño oxidante debido a que actúan como cofactores de las enzimas antioxidantes. (Krinski, 1992).

1.4 ESTRÉS OXIDATIVO

El estrés oxidativo, se define como el desequilibrio entre los sistemas oxidantes y los antioxidantes a favor de un daño potencial (William, 2000). Con el fin de considerar la intensidad y el grado de afectación en la salud, el proceso de estrés oxidante puede dividirse en tres etapas o niveles de evolución o intensidad (adaptación, agudo y crónico), tomando en consideración, las características del daño estructural y funcional de las diversas biomoléculas, así como al tiempo de exposición a las ERO.

1.4.1 Adaptación al estrés oxidante

La adaptación es la respuesta de la célula o del organismo para equilibrar por medio de procesos de sobre expresión genética y activación enzimática la sobreproducción de especies reactivas que ya han superado a los sistemas antioxidantes estableciendo las condiciones de estrés oxidante. El resultado de la adaptación, es una protección parcial o total contra el daño

el cual no es cuantificable e incluso puede llegar a crear una condición de resistencia a niveles intensos y constantes. En esta etapa ya existe el estrés oxidante dado que se superaron los mecanismos antioxidantes. En contraste, cuando no es posible lograr esta adaptación o se agota la sobreexpresión antioxidante, se presenta el daño que puede ser de intensidad y duración muy variable.

1.4.2 Estrés oxidante agudo

Proceso mediado principalmente por las ERO; como el anión superóxido ($O_2^{\bullet-}$) y el peróxido de hidrógeno (H_2O_2); moléculas que a concentraciones y actividades controladas tienen una importante participación fisiológica, (ovulación, mecanismos de defensa etc.), pero que al generarse en una proporción mayor a la funcional afectan las características de procesos intracelulares vitales de regulación y suele acompañar también a procesos crónicos.

1.4.3 Estrés oxidante crónico

Proceso mediado fundamentalmente por el radical hidroxilo (HO^{\bullet}), se manifiesta por rompimiento o modificación de biomoléculas (hidroxilación) con la consecuente liberación de una segunda generación de productos de oxidación que a su vez son moléculas muy reactivas, amplificando y propagando el daño que se manifiesta como daño celular y tisular.

1.5 DAÑO A BIOMOLÉCULAS

1.5.1 Oxidación de Lípidos (Lipoperoxidación)

La lipoperoxidación principia con el ataque de un radical libre a alguno de los carbonos vecinos a los dobles enlaces de los ácidos grasos no saturados debido a que la unión carbono-hidrógeno se debilita por la presencia de un doble enlace carbono-carbono. El radical HO^{\bullet} sustrae un hidrógeno (H^{\bullet} , protón y electrón) que constituía un enlace covalente ($C^{\bullet}H$) en la cadena del ácido graso, dejando el carbono con un solo electrón dando lugar a un radical orgánico.

A continuación se presenta un rearrreglo interno que resulta en que el carbón vecino queda como radical orgánico (C^{\bullet}). El átomo de carbono transformado en un radical dentro del ácido graso, tiende a estabilizarse mediante un rearrreglo molecular (Figura 2) para producir un dieno conjugado (dobles enlaces en arreglo secuencial).

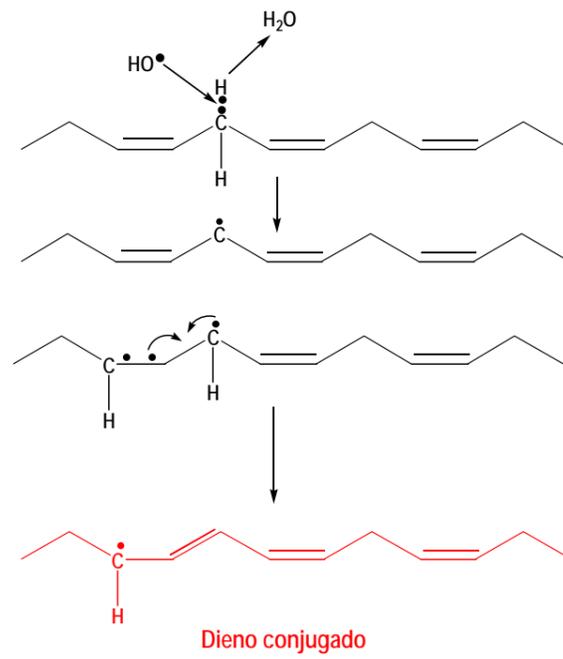


Figura 2. Fase de Iniciación en el proceso de lipoperoxidación.

El radical formado en la cadena del ácido graso, reacciona rápidamente con el O_2 para dar origen a un radical peróxilo:

Tanto los radicales *peróxilos* como los *alcóxilos* estimulan la reacción en cadena al sustraer átomos de hidrógeno de otros lípidos en una reacción similar a la que realiza el hidroxilo. Por la adición de un hidrógeno al peróxilo, se forma, un hidroperóxido (Figura 3): Los hidroperóxidos lipídicos son moléculas relativamente estables, pero algunos compuestos de hierro reducido catalizan su descomposición (reacción de tipo Fenton) para dar origen a radicales alcóxilo (Lípido- O^\bullet):

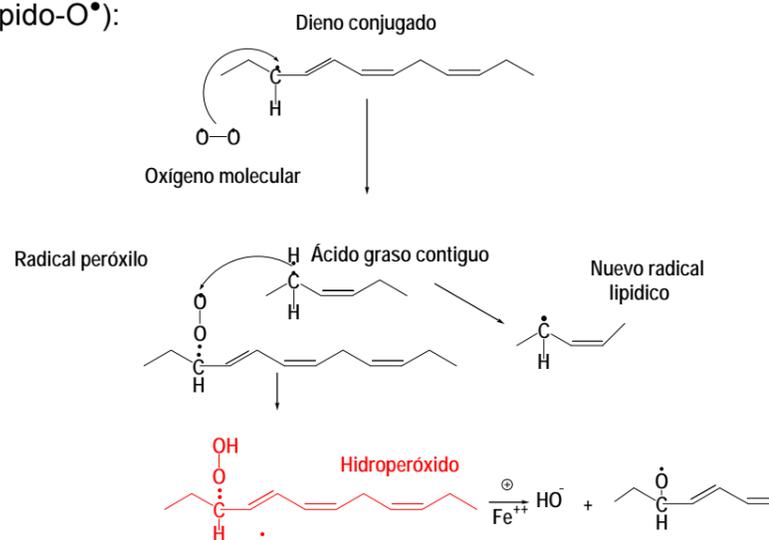


Figura 3. Fase de Propagación en el proceso de lipoperoxidación

1.5.3 Oxidación de ácidos nucleicos

La interacción de las especies reactivas con los ácidos nucleicos puede conducir al rompimiento de una cadena de polinucleótidos, eludiendo al sistema de reparación y al presentar una mutación antes de la replicación (Luczaj, 2003). La desoxorribosa del DNA es también blanco para el ataque del HO[•]. El centro preferente de ataque es el C-4, en el que presenta una sustracción de un hidrógeno, conduciendo a un arreglo que eventualmente permite la pérdida de la base y el rompimiento de la cadena con dos tipos de terminaciones: fosforilo y fosfoglicolato (Fraga et al., 1990, Olivares et al., 2006).

El daño que puede causar el estrés oxidante en los organismos se ha vinculado a diversas fisiopatologías, como lo son las enfermedades pulmonares un ejemplo de ello es la EPOC.

1.6 ENFERMEDAD PULMONAR OBSTRUCTIVA CRÓNICA (EPOC).

La **Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica** (EPOC) es una causa importante de morbimortalidad entre las enfermedades crónicas de todo el mundo y su prevalencia y mortalidad se incrementarán en las próximas décadas. Se estima que 60 millones la padecen, y de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud la prevalencia estimada para hombres es de 11.6/1000 y de 8.77/1000 en las mujeres. En la zona metropolitana de la ciudad de México el 7.8% de la población de más de 40 años la padece y se ubica en el 5to lugar de mortalidad.

1.6.1 Epidemiología de la EPOC en México

La EPOC es una enfermedad que va en aumento. Los factores de riesgo más frecuentes causantes de la enfermedad son, en México, el tabaquismo y la exposición a biomateriales y carbón. La prevalencia es variable de acuerdo con la gravedad. En el estadio 0 (riesgo de EPOC) fue del 23%, mientras que la etapa más avanzada (estadio IV); del 0.3%.

En el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias "Ismael Cosío Villegas" (INER), fue la cuarta causa de consulta externa de primera vez y se ubica en el 5to lugar de morbilidad y mortalidad hospitalaria en el año 2005.

1.6.2 Definición de la EPOC.

La definición más reciente es la propuesta por las guías de la Iniciativa Global para la EPOC (GOLD: **G**lobal Initiative for Chronic **O**bstructive **L**ung **D**isease) y la define como: "Un estado de enfermedad caracterizado por la limitación de flujo respiratorio que no es completamente

reversible. La limitación de flujo respiratorio es normalmente progresiva y se asocia con la respuesta anormal e inflamatoria de los pulmones a las partículas y gases nocivos". Por primera vez esta definición engloba la idea de que EPOC es una enfermedad inflamatoria crónica y buena parte de las investigaciones recientes se han centrado en la naturaleza de esta respuesta inflamatoria ^(Di Stefano, 2002).

1.6.3 Clasificación de la EPOC

Es importante determinar la gravedad de la enfermedad, porque de acuerdo con ésta se podrá dar un tratamiento y pronóstico adecuado.

El mismo consenso del GOLD ha propuesto una nueva clasificación (Tabla 1) que creemos considera la gravedad de la enfermedad, porque además de la función pulmonar, incluye síntomas. En este sentido, la disnea desempeña un papel primario para que un paciente pase de un estadio a otro ^(Repine, 1997).

Tabla 1. Clasificación clínica funcional de la EPOC

GRADO	CARACTERÍSTICAS
0	Síntomas (pero no disnea). Espirometría normal
I	Síntomas con FEV ₁ normal pero FEV ₁ /FVC < 70%
IIA	Síntomas con FEV ₁ > 50%
IIB	Síntomas con FEV ₁ > 30% y < 50%
III	FEV ₁ < 30%, ó 50% con presencia de insuficiencia respiratoria (PaO ₂ < 55 mmHg con o sin PaCO ₂ > 50 mmHg) y/o presencia de <i>Cor Pulmonale</i>

De acuerdo a la GOLD. Tomado de Romain A, Sonia Buist, Meter M. A, Calverley, Christine R, Jenkins, and Suzanne S. Hurd. Am J Respir Crit Care Med; 163: 1256-1276, 2001.

1.6.4 Factores de riesgo para padecer EPOC

1.6.4.1 Tabaquismo

Es el factor de riesgo más frecuente; a mayor intensidad , el riesgo aumenta y la proporción hombre:mujer, ha tenido modificaciones debido a que el número de mujeres fumadoras va en aumento. Uno a dos de cada 10 fumadores susceptibles desarrollaran la enfermedad.

1.6.4.2 Humo de Leña

Factor de riesgo frecuente en la población mexicana, y esta exposición debe investigarse en mujeres que viven en el campo y que han cocinado con leña u otros materiales en espacios cerrados por décadas. El riesgo exposición al humo de leña u otros biomateriales para adquirir EPOC es a partir de 200 horas/año.

1.6.4.3 Exposición laboral.

La exposición laboral a polvos, humos, gases y sustancias químicas pueden ser causa de EPOC. En estados Unidos, la causa laboral es del 19%. Los trabajadores más afectados son los de industrias manufactureras del caucho, plástico, piel, construcción, fábricas textiles, fuerzas armadas y la elaboración de productos alimenticios.

1.6.4.4 Contaminación ambiental

La exposición crónica al polvo, ozono y a gases o químicos, como el humo y dióxido de sulfuro emanados del tráfico, incrementa su riesgo de desarrollar COPD y puede empeorar los síntomas de la enfermedad.

1.7 EFECTOS DE LA CONTAMINACIÓN ATMOSFÉRICA

La definición más adecuada de contaminación ambiental es la que se refiere a la acción de alterar nocivamente la pureza o las condiciones normales de un ambiente o un medio por agentes químicos o físicos. Las formas principales y más frecuentes de este proceso se manifiestan en la calidad del aire, el agua y las tierras.

La contaminación atmosférica involucra la presencia de moléculas distintas a las que constituyen la composición actual de la biosfera así como el incremento de algunas de ellas, alterando la proporción de moléculas integrantes de la misma, Este tipo de contaminación debido a la extensión y volumen que representa es sui generis si se compara con las otras formas de contaminación, tanto por sus particularidades cualitativas y cuantitativas, por su distribución en zonas urbanas, industriales o despobladas de especies animales, por sus fuentes contaminantes por la difusión y dilución debidas a las corrientes de aire. En el primer caso se presenta incluso diferencias entre las que destacan la densidad poblacional y la vehicular. Adicionalmente debe considerarse la temperatura ambiente y la altura a la que se haga referencia, siendo muy distinta a nivel de suelo que a 50 metros de altura.

Los agentes contaminantes se pueden clasificar de dos maneras: considerando la fuente que los origina, o dependiendo del lugar donde se localizan, aunque algunos contaminantes pueden encontrarse en ambos escenarios.

Generalmente, los individuos pasan la mayor parte del tiempo en lugares cerrados como en las viviendas, trabajo, escuelas, etc. El porcentaje de tiempo que las personas pasan fuera de estos sitios es solo del 10 al 20%. La contaminación en los ambientes cerrados casi siempre están más concentrada que en el exterior. La acumulación de los contaminantes intramuros en países en vías de desarrollo se debe principalmente a una ventilación inadecuada, producto de la pobreza, falta de inversión en tecnología. Pero también propiciada por una legislación ambiental deficiente.

Impacto de la contaminación del aire en la salud.

La posible afectación para los seres vivos de los diversos contaminantes de la atmósfera depende de las siguientes factores:

1.7.1 Contaminantes de la atmósfera

1.7.1.1 Material particulado

Las PM son una mezcla compleja de partículas, ya sea sólidas o líquidas, que incluyen ácidos inorgánicos, humos, polvo fino, residuos de plomo y asbestos, carbón elemental y organismo; así como una gran variedad de metales, los cuales permanecen suspendidos en el aire por horas o días, especialmente durante el invierno, durante el cual se presenta el fenómeno llamado inversión térmica. Las actividades que elevan la cantidad de partículas son la combustión de la biomasa (materia orgánica, combustibles fósiles), la limpieza y la renovación.

Las PM se clasifican de acuerdo con su diámetro en: PM_{10} , $PM_{2.5}$ y ultrafinas $PM_{<0.1}$. (Figura 5) Las partículas con diámetro mayor de 10 a $15\mu m$ no penetran en los mamíferos superiores más allá de la vía aérea superior. Están constituidas por pólenes y polvos de origen natural provocado por las polvaderas. Estas partículas no se han relacionado con la evolución o etiología de enfermedades a pesar de la exposición a largo plazo; sin embargo se ha hecho referencia a una posible asociación con cáncer.

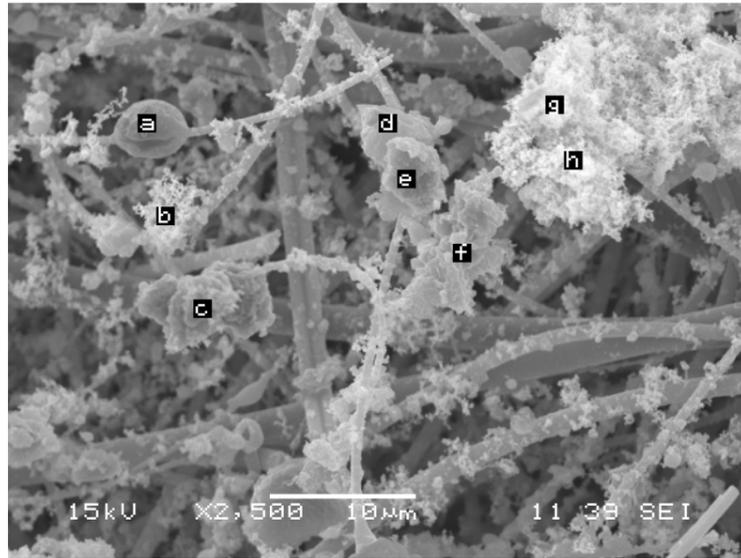


Figura 5. Microscopia electrónica de reflexión de superficie de Material Particulado (PM)

La combustión de materiales orgánicos y los procesos industriales generan las partículas menores de $10\ \mu\text{m}$ (PM_{10}), denominadas fracción gruesa, las cuales resultan de la condensación de gases, humos y vapores; además de actividades de molienda y aplastamiento. Su composición química se caracteriza por la presencia de elementos de la corteza terrestre (sílice, aluminio, hierro). Durante la inhalación puede depositarse en las regiones más altas del aparato respiratorio. Por su tamaño, que es relativamente grande, tienen una velocidad de sedimentación alta y son removidas del aire en horas.

El siguiente grupo de partículas está formado por aquellas menores a $2.5\ \mu\text{m}$, también llamado fracción fina ($\text{PM}_{2.5}$). La capacidad de llegar a la vía aérea inferior determina su mayor grado de toxicidad. Son generados por nucleación (aglomeración) homogénea y heterogénea, y por la degradación de las PM_{10} . Su vida media en la atmósfera es de días y pueden viajar grandes distancias.

Existe un último grupo de partículas, las ultrafinas (UFP), las cuales tienen un diámetro menor a $0.1\ \mu\text{m}$ o $100\ \mu\text{m}$. Se distinguen por tener una mayor posibilidad por su tamaño para depositarse en el pulmón estableciendo una mayor superficie de contacto. Las UFP tienen una forma especial. Ya que constituyen conglomerados que no son estructuras esféricas; debido a su tamaño son transportadas a través de grandes distancias y tienen las características de absorber otros contaminantes tóxicos, incluyendo gases.

1.8 EFECTO DE LAS PARTICULAS CONTAMINANTES SOBRE EL PULMÓN.

Las partículas tienen una mayor posibilidad de establecer contacto con la superficie alveolar y atravesar la barrera alveolo capilar por translocación, y en consecuencia pueden causar efectos a nivel sistémico. Dado su contenido rico en compuestos químicos oxirreductores y su habilidad para dañar a la mitocondria, estas partículas producen una gran respuesta inflamatoria en tejidos pulmonares y extrapulmonares, como el endotelio vascular, incluyendo el de los vasos coronarios. El aparato cardiovascular experimenta cambios relacionados con la exposición a este tipo de partículas destacando el aumento de la frecuencia cardiaca y de la presión arterial. Las modificaciones a la función endotelial y a la estructura vascular se manifiesta a largo plazo, por lo que se reflejan en una disminución en la expectativa de vida fundamentalmente a la aterosclerosis que provoca. El mecanismo de daño también está asociado a alteraciones en el sistema nervioso autónomo (afecta la conductividad cardiaca), reflejándose incluso en aumentos en la concentración sérica de ciertos marcadores de riesgos cardiovascular, como es el caso de fibrinógeno.

En publicaciones recientes se ha demostrado la asociación entre la contaminación del aire (por partículas y/o CO) y la mortalidad entre la población de riesgo que es la postneonatal, con bajo peso al nacer y parto de pretérmino.

Las concentraciones de partículas que la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (US EPA) considera como límite de la norma son de $65 \mu\text{g} / \text{m}^3$ (promedio 24 horas) y $15 \mu\text{g} / \text{m}^3$ (promedio anual) para las $\text{PM}_{2.5}$ y para las PM_{10} el promedio anual es de $50 \mu\text{g} / \text{m}^3$ y de $150 \mu\text{g} / \text{m}^3$ en 24 horas. Estos valores coinciden con las normas mexicanas.

Los niveles de PM en países en desarrollo son muy grandes, llegando a $1000\text{-}2500 \mu\text{g} / \text{m}^3$ en áreas cerradas como son las cocinas en países como Nepal, India, Kenia y China entre otros.

Las células pulmonares, cuando son estimuladas por oxidantes liberan gran cantidad de ERO. Existen varios mecanismos por lo que las ERO pueden causar alteraciones en el pulmón.

Durante la EPOC se presenta por una dificultad de aporte de oxígeno al pulmón y a los tejidos, y un incremento de ERO a nivel pulmonar conduciendo al estrés oxidativo que afecta entre otros sistemas en primera instancia a los eritrocitos^(Joppa et al., 2007), dificultando el transporte y la difusión del oxígeno, evento que podría correlacionarse con los eventos extrapulmonares

(sistémicos), que se asocian a la EPOC^(Rabe, 2007). Entre estos efectos sistémicos destacan la inflamación sistémica, en la cual se presenta una producción excesiva de especies reactivas de oxígeno, involucrando al estrés oxidativo, y a la presencia de alteraciones nutricionales (fundamentalmente pérdida de peso) y la disfunción muscular esquelética.

1.8.1 Células inflamatorias circulantes

En pacientes con EPOC se han observado alteraciones de células inflamatorias circulantes, neutrófilos y linfocitos. Debido a su participación en la respuesta inflamatoria^(Hoffmeyer et al., 2009). Los neutrófilos circulantes responden al estímulo de un factor quimiotáctico con mayor respuesta quimiotáctica y tienen mayor capacidad proteolítica. Esto sugiere que, aunque se produzcan cantidades normales de factores quimiotácticos en el pulmón, la respuesta de los neutrófilos puede ser excesiva y, con el tiempo, provocar una mayor acumulación de estas células en el órgano y mayor destrucción tisular. Otros estudios han demostrado mayor expresión de la molécula de adhesión Mac-1 en los neutrófilos circulantes de pacientes con EPOC y mayor producción de especies reactivas de Oxígeno (ERO) a través del estallido respiratorio. Uno de los primeros procedimientos que tiene lugar en la respuesta inflamatoria es un cambio cualitativo en las interacciones entre neutrófilos circulantes y endotelio vascular. En condiciones normales, los neutrófilos interaccionan poco con el endotelio pues determinados factores hemodinámicas e interacciones electrostáticas tienden a mantenerlos lejos de la pared vascular^(Bathoorn et al., 2009). Oponiéndose a estas fuerzas dispersantes, la expresión de moléculas de adhesión específicas en la superficie de neutrófilos y endotelio favorece la adhesión leucocitaria^(Morgan and Rashid et al., 2009), que permitirá que estos neutrófilos atraviesen el endotelio vascular y lleguen al foco inflamatorio.

La inflamación sistémica asociada a la EPOC puede ocasionar la aparición de algunos cuadros de anemia^(Schols and Wouters et al., 2000). En los últimos años se ha demostrado que la EPOC, acarrea muchos efectos extrapulmonares, entre los que destacan la pérdida de masa y la disfunción muscular.

Los términos malnutrición y caquexia se utilizan indistintamente en la discusión de las alteraciones nutricionales de la EPOC; sin embargo, son dos términos diferentes, ambos conceptos comparten alteraciones bioquímicas, pero su origen y respuesta al tratamiento dietético es diferente. Muchas de estas observaciones sugieren que pacientes con EPOC

podrían presentar caquexia en lugar de malnutrición. Por ejemplo. La ingesta calórica en pacientes con EPOC es normal o incluso algo mayor, no menor, que en la malnutrición: el metabolismo basal suele estar incrementado, mientras que está disminuyendo en la malnutrición^(Hopkinson, et al., 2007), y su respuesta a suplementos dietéticos es escasa.

Los mecanismos que subyacen en estas alteraciones son en gran parte desconocidos. Conceptualmente se produce pérdida de peso siempre que el gasto energético sea superior a la ingesta calórica^(Haider, et al., 2009). En teoría, por tanto, puede producirse pérdida de peso siempre que:

Disminuya la ingesta calórica: el déficit de ingesta calórica no es relevante en estos pacientes excepto durante las exacerbaciones^(Haider, et al., 2009), ya que la mayoría comen la misma cantidad (o más) que los sujetos control.

Aumente el gasto energético total: en este punto deben diferenciarse los tres componentes principales del gasto energético total:

La termogénesis inducida por la dieta

La termogénesis relacionada con el ejercicio

El gasto energético basal (GEB)

De estos tres factores, los dos primeros parecen poco relevantes. En cambio, diversos estudios muestran claramente que el GEB está elevado en pacientes con EPOC^(Alvar and Celli, 2005)

La mayoría de los pacientes con EPOC presentan un aumento en su metabolismo basal, pero no va acompañado de un aumento proporcional en la ingesta calórica^(Franssen et al., 2008). Clásicamente se ha interpretado en el contexto de un aumento en el consumo de oxígeno (VO_2) de los músculos respiratorios debido al aumento del trabajo de éstos en este grupo de pacientes^(Alvar, 2005). Sin embargo, hay que señalar que la medición del VO_2 resp basal (en reposo) es extremadamente difícil (al menos en un individuo no ventilado mecánicamente), y que el superior VO_2 resp descrito durante el ejercicio en el paciente con EPOC no contribuye al GEB sino al gasto energético total^(Franssen et al., 2008). Además, el VO_2 de los músculos no respiratorios es mayor, a diferentes cargas, que el de sujetos sanos, lo que indica que las alteraciones bioenergéticas también están presentes en los músculos periféricos, y que estas alteraciones también pueden contribuir a explicar el aumento en el metabolismo basal de los pacientes con EPOC^(Alvar and Celli, 2005, Franssen et al., 2008).

1.9 HIPOXIA TISULAR

Se ha demostrado una relación directa entre el grado de hipoxemia arterial y la actividad de la enzima citocromo oxidasa (enzima clave de la cadena respiratoria mitocondrial que acopla al oxígeno (O_2) a los electrones y protones para formar agua como producto de la respiración) en el músculo esquelético de pacientes con EPOC. Esta observación tiene relación con el GEB porque la citocromo oxidasa es la enzima mitocondrial causante del VO_2 , a su vez causante directo del GEB^(Santiworakul et al., 2009). Los linfocitos de pacientes con EPOC también presentan aumento de esta enzima, lo que indica que esta alteración bioenergética puede afectar a otros órganos.

La pérdida de peso es un factor pronóstico importante en los pacientes con EPOC y su valor pronóstico es independiente de otras variables pronósticas, como el FEV_1 o la PAO_2 , que informan sobre el grado de disfunción pulmonar. Por lo tanto, es importante considerar la pérdida de peso como una variable sistémica de valor pronóstico en la EPOC^(Raguso et al., 2004). En este sentido, es destacar que el pronóstico de esta enfermedad mejora al recuperar peso con tratamiento adecuado sin cambios en la función pulmonar. Por lo tanto, estos datos indican que en la evaluación clínica de los pacientes con EPOC debería tenerse en cuenta para evaluar la severidad de la enfermedad y las consecuencias sistémicas extrapulmonares, donde la pérdida de peso desempeñaría un papel importante.

1.9.1 Disfunción del músculo esquelético

Los pacientes con EPOC a menudo presentan intolerancia al ejercicio físico^(Lai et al., 2009). En la actualidad se acepta que la disfunción del músculo esquelético (DME) es algo común en pacientes con EPOC y contribuye a limitar su capacidad de ejercicio con un impacto negativo y significativo en su calidad de vida^(Joppa et al., 2007, Decramer et al., 2005).

1.9.2 Mecanismos de compensación de la EPOC a la hipoxemia

a) Disminución de la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno. Este es uno de los ajustes más precoces y posibilita una mayor extracción de oxígeno a nivel de los tejidos.

b) Redistribución de la perfusión. La redistribución de la sangre desde tejidos con bajos requerimientos de oxígeno, como la piel, a otros, como miocardio y cerebro, provee de un mecanismo eficaz de protección a estas estructuras vitales.

c) Aumento del gasto cardiaco. Su aumento en respuesta a la hipoxemia, debido a un aumento de la frecuencia cardiaca y del gasto sistólico, es un eficaz mecanismo de compensación aunque no aparece hasta que los niveles de hemoglobina caen bajo 7g/dL.

d) Aumento de la producción de eritrocitos. El mecanismo compensatorio más eficaz, pero más lento, es el aumento de la masa eritrocítica. La hipoxia tisular debida a la anemia provoca un aumento en la producción de eritropoyetina, que estimula la eritropoyesis.

1.10 ERITROCITO

Uno de los ejemplos más llamativos de la relevancia del proceso evolutivo y la eficiencia de los sistemas biológicos se encuentra en los eritrocitos. Los eritrocitos, son los elementos formes (células) más abundantes de la sangre, cuya función principal es transportar y suministrar el oxígeno a los tejidos, por medio de la [hemoglobina](#).

Los eritrocitos carecen de núcleo y pierden sus mitocondrias en la medida en que maduran, los eritrocitos maduros no poseen una maquinaria celular que les permita obtener energía, (Figura 6). sintetizar proteínas y ácidos nucleicos como el resto de las células del organismo por lo que el eritrocito utiliza vías alternas para mantener estables los niveles de ATP y el poder reductor necesarios para cumplir sus funciones vitales, así como el mantener la integridad de su membrana^(Rutes et al., 1993)

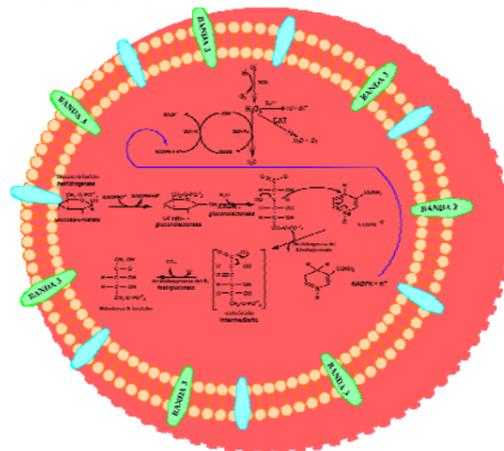


Figura 6. Vías metabólicas del eritrocito involucradas para mantener su capacidad antioxidante.